

ラミクタール錠小児用 2mg

ラミクタール錠小児用 5mg

ラミクタール錠 25mg

ラミクタール錠 100mg

製造販売承認申請書添付資料

第2部（モジュール2） CTDの概要（サマリー）

2.6. 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.1. 緒言

2.6.2. 薬理試験の概要文

2.6.3. 薬理試験概要表

グラクソ・スミスクライン株式会社

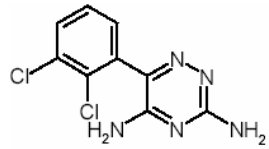
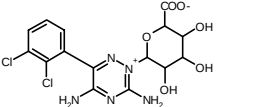
非臨床概要 薬理試験の目次

	頁
2.6. 非臨床試験の概要文及び概要表	1
2.6.1. 緒言	1
2.6.2. 薬理試験の概要文	3
2.6.2.1. まとめ	3
2.6.2.2. 効力を裏付ける試験	9
2.6.2.2.1. 抗痙攣作用	9
2.6.2.2.1.1. マウスの最大電撃痙攣に対する作用	9
2.6.2.2.1.2. 薬物誘発痙攣に対する作用（PTZ誘発痙攣）	10
2.6.2.2.1.3. 扁桃核キンドリングラットに対する作用	10
2.6.2.2.1.3.1. 扁桃核キンドリングラットにおける発作抑制作用	11
2.6.2.2.1.3.2. キンドリングの形成に対する作用	11
2.6.2.2.1.4. 遺伝的てんかんモデル動物での評価（ELマウス）	13
2.6.2.2.1.5. 反復投与による抗痙攣作用の変化	14
2.6.2.2.1.5.1. マウスでの検討	14
2.6.2.2.1.5.2. ラットでの検討	14
2.6.2.2.2. 作用機序	16
2.6.2.2.2.1. 電位依存性Na ⁺ チャネルに対する作用	16
2.6.2.2.2.1.1. Na ⁺ 電流抑制作用	17
2.6.2.2.2.1.1.1. 電流－電圧曲線	17
2.6.2.2.2.1.1.2. 用量反応性	18
2.6.2.2.2.1.2. Na ⁺ チャネルの活性化に対する作用	18
2.6.2.2.2.1.3. Na ⁺ チャネルの不活性化に対する作用	19
2.6.2.2.2.1.3.1. 速い不活性化に対する作用	19
2.6.2.2.2.1.3.2. 遅い不活性化に対する作用	20
2.6.2.2.2.1.4. 遅い不活性化からの回復に対する作用	21
2.6.2.2.2.1.5. Na ⁺ 電流の電位依存的抑制及び頻度依存的抑制	22
2.6.2.2.2.1.5.1. Na ⁺ 電流の電位依存的抑制	22
2.6.2.2.2.1.5.2. Na ⁺ 電流の頻度依存的抑制	24
2.6.2.2.2.2. グルタミン酸遊離に対する作用	25

2.6.2.2.2.3. てんかん様バーストに対する作用	26
2.6.2.2.2.3.1. 海馬におけるシナプス伝達及び てんかん様バーストに対する作用	26
2.6.2.2.2.3.2. ベラトリジン誘発てんかん様バーストに対する作用	27
2.6.2.2.3. 代謝物の薬効薬理試験	27
2.6.2.3. 副次的薬理試験	28
2.6.2.3.1. 各種受容体に対する親和性	28
2.6.2.3.2. 一般薬理試験	28
2.6.2.3.2.1. 一般症状及び中枢神経系に及ぼす影響	28
2.6.2.3.2.2. 自律神経系及び平滑筋に及ぼす影響	29
2.6.2.3.2.3. 呼吸・循環器系に及ぼす影響	29
2.6.2.3.2.4. 消化器系に及ぼす影響	29
2.6.2.3.2.5. 水及び電解質代謝に及ぼす影響	29
2.6.2.4. 安全性薬理試験	29
2.6.2.4.1. hERG電流に及ぼす影響	29
2.6.2.5. 薬力学的薬物相互作用試験	30
2.6.2.5.1. 他の抗てんかん薬との併用効果	30
2.6.2.6. 考察及び結論	31
2.6.2.7. 図表	34
2.6.2.8. 参考文献	35
2.6.3. 薬理試験概要表	37
2.6.3.1. 薬理試験：一覧表	37
2.6.3.2. 効力を裏付ける試験	39
2.6.3.3. 副次的薬理試験	40
2.6.3.4. 安全性薬理試験	42
2.6.3.5. 薬力学的薬物相互作用試験	42

2.6.1 および 2.6.2 の略号等一覧

化学名及び構造式

名 称	化学名	構造式
ラモトリギン／Lamotrigine (JAN) 略号：LTG/BW430C/ 430C78	3,5-Diamino-6-(2,3-dichlorophenyl)-1,2,4-triazine	
M1/GW277841A (代謝物)	ラモトリギン-N 2-グルクロン 酸抱合体	

略号及び略称

略語 (略称)	内 容
ACh	アセチルコリン
A _{fast}	速い回復成分の割合
A _{slow}	遅い回復成分の割合
AMPA	α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazol propionic acid
CHO-K1 細胞	チャイニーズハムスター卵巣細胞
C _{max}	最高血漿中濃度
$\Delta V_{1/2}$	コントロールにおける $V_{1/2}$ とラモトリギン存在下における $V_{1/2}$ の差
DMCM	6,7-dimethoxy-4-ethyl- β -carboline-3-carboxylate
ED ₅₀ 値	50%有効用量
EPSP	興奮性シナプス後電位
GABA	γ -アミノ酪酸
GEP ラット	genetically epilepsy-prone ラット
Glu	グルタミン酸
His	ヒスタミン
5-HT	セロトニン
IC ₅₀ 値	50%阻害濃度
I _{Na}	ピーク電流に対する相対値
IPSP	抑制性シナプス後電位
k	不活性化曲線の勾配
K _C	保持電位 -90mV で観察されたチャネルへの親和性
K _I	遅く不活性化されたチャネルへの親和性
L	ラモトリギン濃度
NE	ノルエピネフリン
NMDA	N-methyl-D-aspartate
PTZ	ペンチレンテトラゾール
t	回復時間
τ_{fast}	速い回復成分の時定数
τ_{slow}	遅い回復成分の時定数
V _{1/2}	相対値を 0.5 にするテストパルス電圧
V _h	保持電位
y	回復電流の相対値

抗てんかん薬の略号

略号	一般名
CBZ	カルバマゼピン (Carbamazepine)
DZP	ジアゼパム (Diazepam)
ESM	エトスクシミド (Ethosuximide)
PB	フェノバルビタール (Phenobarbital)
PHT	フェニトイン (Phenytoin)
VPA	バルプロ酸ナトリウム (Sodium Valproate)

2.6. 非臨床試験の概要文

2.6.1. 緒言

ラモトリギンはトリアジン骨格を有する新規抗てんかん薬である（図 2.6.1-1）。その作用は電位依存性 Na^+ チャネルの遅い不活性化に作用して、不活性化からの回復を遅延させることにより Na^+ チャネルを抑制し、神経細胞膜を安定化してグルタミン酸などの興奮性神経伝達物質遊離を抑制する結果、神経細胞のてんかん様バーストを抑制することによると考えられている。

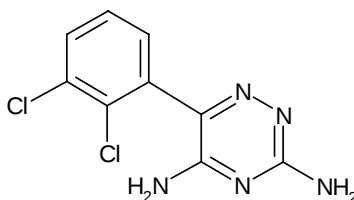


図 2.6.1-1 ラモトリギンの構造式

本剤は 1990 年にアイルランドで成人部分てんかん患者に対する add-on 療法薬として承認を取得して以来、現在（2008 年 3 月）までに世界中で 500 万人以上のてんかん患者に投与されており、2008 年 1 月時点で成人については 104 カ国で、小児については 93 カ国で承認を取得している。また、欧州を中心に単剤療法薬として市販されている国もあり、特に小児領域の難治てんかんとして知られている Lennox-Gastaut 症候群のてんかん発作に対する治療薬としても 50 カ国で承認されている。更に、双極性障害の治療薬としても、2002 年 11 月以降 68 カ国で承認されている。

今回、「部分発作及び全般発作（Lennox-Gastaut 症候群における全般発作を含む）における他の抗てんかん薬との併用療法」を効能・効果として、以下の用法・用量で申請を行った。

成人（ラミクタール錠 25mg、ラミクタール錠 100mg）：

・バルプロ酸ナトリウムを併用する場合：

通常、ラモトリギンとして最初の 2 週間は 1 回 25mg を隔日に経口投与し、次の 2 週間は 1 日 25mg を 1 回経口投与する。その後は、1～2 週間毎に 25～50mg ずつ漸増する。維持用量は 1 日 100～200mg とし、2 回に分割して経口投与する。

・バルプロ酸ナトリウムを併用しない場合：

(1) 本剤のグルクロン酸抱合を誘導する薬剤^{註1)}を併用する場合：

通常、ラモトリギンとして最初の 2 週間は 1 日 50mg を 1 回経口投与し、次の 2 週間は 1 日 100mg を 2 回に分割して経口投与する。その後は、1～2 週間毎に最大 100mg ずつ漸増する。維持用量は 1 日 200～400mg とし、2 回に分割して経口投与する。

(2) (1)以外の抗てんかん薬^{註2)}を併用する場合：

バルプロ酸ナトリウムを併用する場合に従う。

小児（ラミクタール錠小児用 2mg、ラミクタール錠小児用 5mg、ラミクタール錠 25mg、ラミクタール錠 100mg）：

・バルプロ酸ナトリウムを併用する場合：

通常、ラモトリギンとして最初の 2 週間は 1 日 0.15mg/kg を 1 回経口投与し、次の 2 週間は 1 日 0.3mg/kg を 1 回経口投与する。その後は、1～2 週間毎に最大 0.3mg/kg ずつ漸増する。維持用量は、バルプロ酸ナトリウムに加えて本剤のグルクロン酸抱合を誘導する薬剤^{注1)}を併用する場合は 1 日 1～5mg/kg とし、本剤のグルクロン酸抱合を誘導する薬剤^{注1)}を併用していない場合は 1 日 1～3mg/kg とし、2 回に分割して経口投与する。なお、1 日用量は最大 200mg までとする。

・バルプロ酸ナトリウムを併用しない場合：

(1) 本剤のグルクロン酸抱合を誘導する薬剤^{注1)}を併用する場合：

通常、ラモトリギンとして最初の 2 週間は 1 日 0.6mg/kg を 2 回に分割して経口投与し、次の 2 週間は 1 日 1.2mg/kg を 2 回に分割して経口投与する。その後は、1～2 週間毎に最大 1.2mg/kg ずつ漸増する。維持用量は 1 日 5～15mg/kg とし、2 回に分割して経口投与する。なお、1 日用量は最大 400mg までとする。

(2) (1)以外の抗てんかん薬^{注2)}を併用する場合：

バルプロ酸ナトリウムを併用する場合に従う。

注1) フェニトイン、カルバマゼピン、フェノバルビタール、プリミドン、その他本剤のグルクロン酸抱合を誘導する薬剤

注2) ゾニサミド、ガバペンチン、トピラマート、その他本剤のグルクロン酸抱合に対し影響を及ぼさない又は影響が明らかでない薬剤

2.6.2. 薬理試験の概要文

2.6.2.1. まとめ

効力を裏付ける試験として各種てんかん動物モデルを用いた抗痙攣作用及び作用機序に関する試験成績を示した。また、代謝物の薬理試験成績、並びに副次的薬理試験として、各種受容体に対する親和性及び一般薬理試験（中枢神経系、自律神経系及び平滑筋、呼吸・循環器系、消化器系、水及び電解質代謝に及ぼす影響）に関する試験成績を示した。さらに、安全性薬理試験として、hERG 電流に及ぼす影響に関する試験成績、薬力学的薬物相互作用試験として、各種抗てんかん薬の抗痙攣作用及び保護係数に及ぼす影響に関する試験成績を示した。

試験はラモトリギンの遊離塩基あるいはラモトリギンイセチオン酸塩を用いて実施し、投与量は遊離塩基換算量として示した。

効力を裏付ける試験

抗痙攣作用

ラモトリギンは部分発作の動物モデルである最大電撃痙攣、複雑部分発作の動物モデルである EL マウスの痙攣、複雑部分発作及び二次性全般化発作の動物モデルである扁桃核キンドリング発作を抑制した。また、扁桃核キンドリングモデルにおいてはキンドリングの形成も抑制した。

ラモトリギンは強直間代発作の動物モデルである最大電撃痙攣及びペンチレンテトラゾール (PTZ) による全身性間代性痙攣を抑制した。欠神発作の動物モデルと考えられている PTZ による twitch の発現潜時に対しては作用を示さなかった。

ラモトリギンの最大電撃痙攣に対する抑制作用は反復投与しても変化しなかった。

作用機序

組換えラット脳 typeIIA Na^+ チャンネルを発現させた CHO-K1 細胞において、ラモトリギンは持続的脱分極によって生じる電位依存性 Na^+ チャンネルの遅い不活性化に作用して、不活性化からの回復を遅延させることにより、 Na^+ 電流を電位依存のかつ頻度依存的に抑制した。

ラモトリギンはラット大脳皮質スライス標本において、グルタミン酸 (Glu) の基礎遊離及び高濃度 K^+ 誘発 Glu 遊離に対しては影響せずに、電位依存性 Na^+ チャンネルを活性化するベラトリンで誘発した Glu 遊離を抑制した。また、ラット海馬スライス標本においてベラトリン誘発てんかん様バーストに対しても抑制作用を示した。

更に、ラモトリギンはラット海馬スライス標本の CA1 細胞において通常のシナプス伝達に対しては影響せずに、灌流液からの Mg^{2+} の除去及びピククリン添加により、相対的に Glu による興奮性シナプス伝達系が増強された条件下での電気刺激誘発てんかん様バーストを抑制した。

代謝物の薬効薬理試験

ラモトリギンのヒトにおける主代謝物である N2-グルクロン酸抱合体 (M1) は、ラモトリギンの 10 倍量 (モル用量) でも抗痙攣作用を示さなかった。

副次的薬理試験

ラモトリギンは 5-HT₃ 受容体に対して結合親和性を示したが、その他の 16 種の受容体には親和性を示さなかった。

一般薬理試験において、一般症状及び行動に及ぼす影響では、30mg/kg の経口投与で軽度な自発運動の減少を示した以外に影響は認められなかった。中枢神経系に及ぼす影響では、自発運動量に対する作用、睡眠増強作用、鎮痛作用及び体温に対する作用は認められなかった。自律神経系及び平滑筋に及ぼす影響では、6.7µg/mL 以上で摘出回腸の静止張力の低下がみられ、67µg/mL では自動運動の減少、アセチルコリン (ACh)、ヒスタミン (His) 及び塩化バリウム (BaCl₂) 誘発収縮の抑制が認められた。また、摘出血管のノルエピネフリン (NE) 及び K⁺ 誘発収縮をそれぞれ 6.7µg/mL 以上で抑制した。摘出輸精管及び摘出胃に対しては影響を示さなかったが、摘出気管の静止張力を 6.7µg/mL 以上で低下させた。呼吸・循環器系に及ぼす影響では、6.7mg/kg の静脈内投与で影響を示さなかった。消化器系に及ぼす影響では、マウスでは 11mg/kg 以上の経口投与により消化管輸送を抑制したが、ラットでは 40mg/kg の経口投与で影響を示さなかった。また、30mg/kg の経口投与で生体位胃及び小腸運動に影響を示さなかった。水及び電解質代謝に及ぼす影響では、30mg/kg の経口投与で影響を示さなかった。

安全性薬理試験

hERG 試験において、ラモトリギンはテール電流を濃度依存的に抑制した。

薬力学的薬物相互作用試験

他剤との併用試験において、ラモトリギンは臨床で既に抗てんかん薬として広く使用されている CBZ、DZP、PHT、PB 及び VPA の抗痙攣作用を増強した。また、保護係数は抗てんかん薬単独投与群と比較して同等もしくは大きかった。

表 2.6.2-1 効力を裏付ける試験一覧

試験の種類		投与方法/投与量	結果	資料番号
抗痙攣作用	マウスの最大電撃刺激痙攣に対する作用 [#]	静脈内 10mg/kg	強直性伸展痙攣を抑制した。	4.2.1.1.1
	マウスのベンチレンテトラゾール誘発痙攣に対する作用	腹腔内 3, 10, 30mg/kg	全身性間代性痙攣の発現潜時を延長した (ED ₅₀ 値; ラモトリギン: 8mg/kg, PHT: 8mg/kg, CBZ: 63mg/kg)。 Twitch の発現潜時は延長しなかった。	4.2.1.1.2
	扁桃核キンドリングラットにおける発作抑制作用	経口 5, 10, 20mg/kg	キンドリング発作ステージを低下させ、後発射持続時間を短縮させた (後発射持続短縮作用の ED ₅₀ 値; 14.1mg/kg)。	4.2.1.1.3
	ラット扁桃核キンドリングの形成に対する作用	腹腔内、16 日間 20mg/kg/日	経日的なキンドリング発作ステージの上昇及び後発射持続時間の増加を抑制した。	4.2.1.1.4
	EL マウスの痙攣に対する作用	腹腔内 2, 6, 20mg/kg	放り上げ刺激による痙攣を抑制した (ED ₅₀ 値; ラモトリギン: 6.3mg/kg, PHT: 32mg/kg, CBZ: 40.5mg/kg)。	4.2.1.1.5
	反復投与による抗痙攣作用の変化 (マウス) (最大電撃痙攣に対する作用)	経口 28 日間	反復投与しても抗痙攣作用の ED ₅₀ 値は変化しなかった (ED ₅₀ 値; 2.2~3.8mg/kg)。	4.2.1.1.6/ref
	反復投与による抗痙攣作用の変化 (ラット) (最大電撃痙攣に対する作用)	経口 26 日間	反復投与しても抗痙攣作用の ED ₅₀ 値は変化しなかった (ED ₅₀ 値; 2.6~3.5mg/kg)。	
作用機序	CHO-K1 細胞における Na ⁺ 電流抑制作用	<i>in vitro</i> 1~1000μmol/L	Na ⁺ 電流の最大振幅を濃度依存的に抑制した (-90mV の保持電位で IC ₅₀ 値; 約 500μmol/L)。	4.2.1.1.7/ref
	CHO-K1 細胞における Na ⁺ チャネルの活性化に対する作用	<i>in vitro</i> 50μmol/L	作用なし	
	CHO-K1 細胞における Na ⁺ チャネルの速い不活性化に対する作用	<i>in vitro</i> 50μmol/L	作用なし	
	CHO-K1 細胞における Na ⁺ チャネルの遅い不活性化に対する作用	<i>in vitro</i> 50μmol/L	遅い不活性化曲線を過分極側に移動し、遅い不活性化チャネルへの親和性は 12μmol/L と推定された。	
	CHO-K1 細胞における Na ⁺ チャネルの遅い不活性化からの回復に対する作用	<i>in vitro</i> 50μmol/L	遅い不活性化からの回復を遅延させた。	
	CHO-K1 細胞における電位依存性 Na ⁺ チャネル抑制作用	<i>in vitro</i> 0.1~100μmol/L	保持電位を浅くすると Na ⁺ 電流抑制作用が増強された (-60mV の保持電位で IC ₅₀ 値; 約 100μmol/L)。	
	CHO-K1 細胞における頻度依存性 Na ⁺ チャネル抑制作用	<i>in vitro</i> 50μmol/L	チャネルの遅い不活性化を誘発する刺激の回数を増加させると Na ⁺ 電流抑制作用が増強された。	

: ラモトリギンイセチオン酸塩を用いて実施し、投与量は遊離塩基換算量として示した。

PHT : フェニトイン、CBZ : カルバマゼピン、CHO-K1 細胞 : 組換えラット脳 typeIIA Na⁺チャネルを発現させたチャイニーズハムスター卵巣細胞

表 2.6.2-1 効力を裏付ける試験一覧（続き）

試験の種類		投与方法/投与量	結果	資料番号
作用機序	ラット大脳皮質スライスにおけるグルタミン酸遊離抑制作用	<i>in vitro</i> 10～300 μ mol/L	ベラトリン誘発グルタミン酸遊離を濃度依存的に抑制した（ED ₅₀ 値；21 μ mol/L）。基礎遊離及び高濃度 K ⁺ 誘発グルタミン酸遊離には作用しなかった。	4.2.1.1.8/ref
	ラット海馬スライスにおける Shaffer 側枝—交連線維刺激によるシナプス伝達及びてんかん様バーストに対する作用	<i>in vitro</i> 50 μ mol/L	てんかん様バーストの後半成分を選択的に抑制した。通常のシナプス伝達には作用しなかった。	4.2.1.1.7/ref
	ラット海馬スライスにおけるベラトリジン誘発てんかん様バーストに対する作用	<i>in vitro</i> 10 μ mol/L	てんかん様バーストを抑制した。	4.2.1.1.9/ref
代謝物の薬効薬理試験	N2-グルクロン酸抱合体（M1）の最大電撃痙攣に対する作用（マウス）	静脈内 17, 51, 170mg/kg	作用なし	4.2.1.1.1

表 2.6.2-2 副次的薬理試験一覧

試験の種類		投与方法/投与量	結果	資料番号
各種受容体に対する親和性		<i>in vitro</i>	5-HT ₃ 受容体に対して親和性を示した（IC ₅₀ 値；18 μ mol/L）が、その他の 16 種の受容体には親和性を示さなかった。	4.2.1.2.1

表 2.6.2-2 副次的薬理試験一覧（続き）

試験の種類	試験方法/観察項目		動物種/系統	投与方法	投与量 (mg/kg)	性別及び 動物数	特記すべき所見	GLP 適用	資料番号
一般症状 及び 中枢神経系	一般症状及び行動に及ぼす影響		ICR マウス	経口	3, 10, 30	♂6	30mg/kg で自発運動の減少	非適	4.2.1.2.2
	自発運動量に対する作用						作用なし		
	睡眠増強作用 (チオペンタール誘発睡眠)						作用なし		
	鎮痛作用 (酢酸 writhing 法)						作用なし		
	体温に対する作用		Wistar ラット	経口	3, 10, 30	♂6	作用なし		
自律神経系 及び平滑筋 [#]	摘出回腸に対する作用	自動運動	Hartley モルモット	in vitro	0.67, 6.7, 67 μg/mL	♂4	6.7μg/mL で静止張力の軽度な低下、67μg/mL で静止張力の低下、自動運動の減少		
		ACh 収縮					67μg/mL で軽度な収縮抑制		
		His 収縮					67μg/mL で軽度な収縮抑制		
		BaCl ₂ 収縮					67μg/mL で軽度な収縮抑制		
	摘出輸精管に対する作用	静止張力	Wistar ラット	in vitro	0.67, 6.7, 67 μg/mL	♂4	作用なし		
		NE 収縮					作用なし		
	摘出血管に対する作用	静止張力	Wistar ラット	in vitro	0.67, 6.7, 67 μg/mL	♂4	作用なし		
		NE 収縮					6.7μg/mL 以上で収縮抑制		
		K ⁺ 収縮					6.7μg/mL 以上で収縮抑制		
	摘出気管に対する作用	静止張力	Hartley モルモット	in vitro	0.67, 6.7, 67 μg/mL	♂4	6.7μg/mL 以上で静止張力の低下		
		ACh 収縮					作用なし		
	摘出胃に対する作用	自動運動	Wistar ラット	in vitro	0.67, 6.7, 67 μg/mL	♂4	作用なし		
		5-HT 収縮					作用なし		
呼吸・ 循環器系 [#]	呼吸、血圧、心拍数、血流量、心電図に及ぼす影響		麻酔 カニクイザル	静脈内	0.67, 2.01, 6.7	♂3	作用なし		

ACh : アセチルコリン、His : ヒスタミン、NE : ノルエピネフリン、5-HT : セロトニン

[#] : ラモトリギンイセチオン酸塩を用いて実施し、投与量は遊離塩基換算量として示した。

表 2.6.2-2 副次的薬理試験一覧（続き）

試験の種類	試験方法/観察項目	動物種/系統	投与方法	投与量 (mg/kg)	性別及び 動物数	特記すべき所見	GLP 適用	資料番号
消化器系	生体位胃運動に対する作用	Wistar ラット	経口	3, 10, 30	♂6	作用なし	非適	4.2.1.2.2
	生体位小腸運動に対する作用	Hartley モルモット	経口	3, 10, 30	♂6	作用なし		
	消化管輸送能に及ぼす影響 (炭末法)	No.1 マウス	経口	4.5, 11, 55	♂6	11mg/kg 以上で炭末輸送を抑制	非適	4.2.1.2.3/ref
		Wistar ラット	経口	5, 10, 20, 40	♀5	作用なし		
水及び 電解質代謝	尿量、Na ⁺ 、K ⁺ 、Cl ⁻ 排泄量	Wistar ラット	経口	3, 10, 30	♂6	作用なし	非適	4.2.1.2.2

表 2.6.2-3 安全性薬理試験一覧

試験の種類	試験方法/観察項目	動物種/系統	投与方法	濃度 (μmol/L)	例数	特記すべき所見	GLP 適用	資料番号
循環器系	hERG 電流に及ぼす影響	HEK-293 細胞	<i>in vitro</i>	7.1677, 21.5031, 71.677, 215.031, 716.77	4～6	テール電流を濃度依存的に抑制 した（IC ₅₀ 値；323μmol/L）。	適	4.2.1.3.1

表 2.6.2-4 薬力学的薬物相互作用試験一覧

試験の種類	投与方法/投与量	結果	資料番号
他の抗てんかん薬との併用効果	腹腔内 0.5, 1.25mg/kg	試験した全ての薬物（PHT、CBZ、VPA、PB、DZP）の抗痙攣作用は、ラモトリギンとの併用によって増強された。保護係数は抗てんかん薬単独投与群と比較して同等もしくは大きかった。	4.2.1.4.1/ref

PHT：フェニトイン、CBZ：カルバマゼピン、VPA：バルプロ酸、PB：フェノバルビタール、DZP：ジアゼパム

2.6.2.2. 効力を裏付ける試験

2.6.2.2.1. 抗痙攣作用

新規抗てんかん薬の薬効評価には、各種てんかん動物モデルが用いられている。これらのモデルは、臨床発作型と完全には対応しないものの、てんかんの病態生理や既存の薬物の作用様式から各発作型に対する有効性を予測する評価系として以下のように分類されている^{1, 2, 3, 4)} (表 2.6.2-5)。そこで、これらのてんかん動物モデルにおけるラモトリギンの作用を検討した。

表 2.6.2-5 てんかん発作型と各種てんかん動物モデル

発作型	動物モデル
部分発作	最大電撃痙攣
単純部分発作	—
複雑部分発作	EL マウスの痙攣、キンドリング発作
二次性全般化発作	キンドリング発作
全般発作	
強直間代発作	最大電撃痙攣 PTZ 誘発全身性間代性痙攣発現潜時
欠伸発作 ミオクロニー発作	PTZ 誘発 twitch の発現潜時

2.6.2.2.1.1. マウスの最大電撃痙攣に対する作用

4.2.1.1.1

部分発作、強直間代発作の動物モデルとして知られている最大電撃痙攣^{1, 2)} に対するラモトリギンの作用を検討した。

〔方法〕

雄 ICR マウスにラモトリギンイセチオン酸塩を静脈内投与し、15 分後に角膜電極を介して最大電撃刺激 (50mA、200msec) を与え、強直性伸展痙攣の発現の有無を検討した。

〔結果〕

ラモトリギンイセチオン酸塩 10mg/kg 投与群では全例で強直性伸展痙攣の発現が抑制された (表 2.6.2-6)。

表 2.6.2-6 マウスの最大電撃痙攣に対する作用

4.2.1.1.1 の表 1 より抜粋

被験物質	投与量 (mg/kg)	強直性伸展痙攣発現動物数/ 使用動物数
媒体 (生理食塩液)	—	10 / 10
ラモトリギンイセチオン酸塩	10 [#]	0 / 10 **

: 遊離塩基換算量

** : p<0.01 vs 媒体群 (Fisher の直接確率計算法)

2.6.2.2.1.2. 薬物誘発痙攣に対する作用（PTZ 誘発痙攣）

4.2.1.1.2

PTZ により誘発される twitch に対する抑制作用は臨床でのミオクロニー発作や欠伸発作に対する抑制作用と、また全身性の間代性痙攣に対する抑制作用は臨床での強直間代発作に対する抑制作用と比較的よく対応することが知られている²⁾。そこで、PTZ により誘発される痙攣に対するラモトリギンの作用を検討した。

〔方法〕

雄 ICR マウスに PTZ（10mg/mL、50μL/min）を静脈内に持続注入し、twitch 及び全身性間代性痙攣の発現潜時を最大 300 秒まで測定した。被験物質は PTZ 持続注入の 60 分前に腹腔内投与した。

〔結果〕

ラモトリギンは 30mg/kg の用量でも PTZ による twitch の発現潜時に対して影響を示さなかった。一方、全身性間代性痙攣の発現潜時に対してラモトリギンは 10mg/kg で 61%、30mg/kg で 86%延長し、その ED₅₀ 値は 8mg/kg であった（表 2.6.2-7）。

フェニトイン（PHT）及びカルバマゼピン（CBZ）はラモトリギンと同様に twitch の発現潜時に対して影響を示さず、全身性間代性痙攣の発現潜時を延長させた。

表 2.6.2-7 マウスの PTZ 誘発痙攣に対する作用

4.2.1.1.2 の表 1 より抜粋

被験物質	投与量 (mg/kg)	Twitch の発現潜時に対する作用	全身性間代性痙攣の発現潜時 延長作用（ED ₅₀ 値 ¹⁾ ；mg/kg
ラモトリギン	3～30	作用なし	8
PHT	3～100	作用なし	8
CBZ	30～150	作用なし	63

(n=5)

1) ED₅₀ 値：媒体群での全身性間代性痙攣の発現潜時の平均値を 0%、カットオフ値である 300 秒を 100%として、全身性間代性痙攣の発現潜時を 50%延長するのに必要な被験物質の用量を算出。
媒体：0.25%メチルセルロース溶液(ラモトリギン)、生理食塩液(PHT、CBZ)

2.6.2.2.1.3. 扁桃核キンドリングラットに対する作用

キンドリング現象は、大脳辺縁系やその関連部位に対し一定の微弱な電気刺激を反復することにより発作反応と後発射の進行性増強がみられた後、安定した全身痙攣発作症状が出現する現象である。特に扁桃核や海馬焦点のキンドリング発作はヒトの複雑部分発作と二次性全般化に類似しており、抗痙攣作用の検討に広く利用されている^{3,4)}。また、キンドリング形成過程は、てんかん原性の獲得や進行に対する薬物の効果を検討するのに有用であると考えられている⁵⁾。そこで、扁桃核キンドリングラットを用いてラモトリギンの抗痙攣作用を検討した。

2.6.2.2.1.3.1. 扁桃核キンドリングラットにおける発作抑制作用

4.2.1.1.3

〔方法〕

雄 Hooded Lister ラットの右側扁桃核に刺激用及び記録用双極電極を植え込み、2週間以上の回復期間後、1日1回 125%後発射閾値の強度で電気刺激（1msec、60Hz）を1秒間与え、Racine の分類⁶⁾ の変法でステージ5の全身痙攣（転倒を伴う両側前肢の間代性痙攣及び立ち上がり反応、あるいは両側後肢の間代性痙攣）が3回連続して起こった時点をキンドリングの完成とみなした。キンドリング完成後、ラモトリギンを経口投与し、投与2時間後に刺激を与えてキンドリング発作ステージ及び後発射持続時間に対する作用を検討した。

〔結果〕

ラモトリギンはキンドリング発作及び後発射持続時間を抑制した。後発射持続時間抑制作用は 10mg/kg より発現し、その ED₅₀ 値は 14.1mg/kg であった（図 2.6.2-1）。

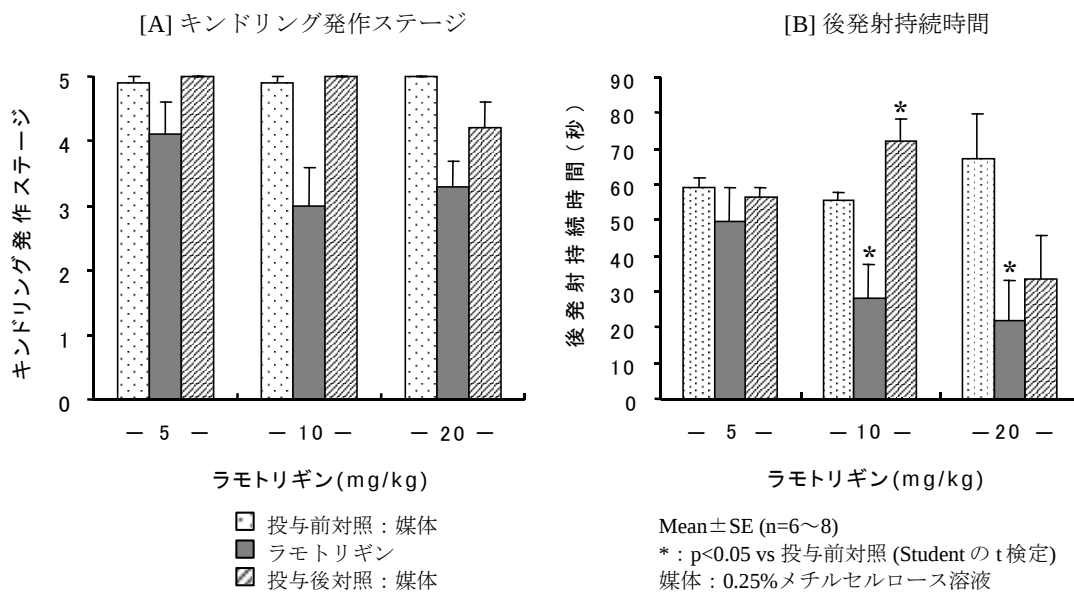


図 2.6.2-1 扁桃核キンドリングラットに対する作用

4.2.1.1.3 の表 2, 3, 4 のデータより作成

2.6.2.2.1.3.2. キンドリングの形成に対する作用

4.2.1.1.4

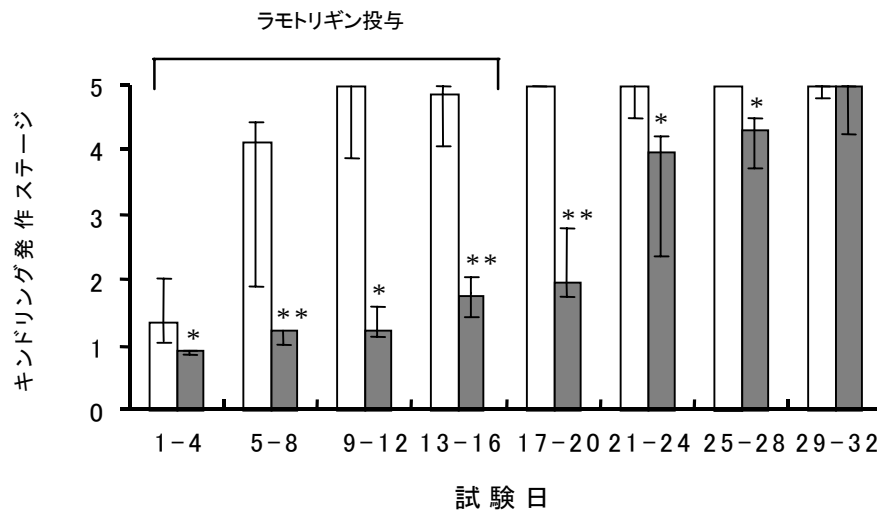
〔方法〕

雄 Hooded Lister ラットの右側扁桃核に刺激用及び記録用双極電極を植え込み、2週間以上の回復期間後、1日1回 32日間 125%後発射閾値強度の電気刺激（1msec、60Hz）を1秒間与えた。最初の16日間は電気刺激の2時間前にラモトリギンを腹腔内投与し、キンドリング発作の強度及び後発射持続時間を記録して、キンドリング形成に対するラモトリギンの作用を検討した。また、17日目以降はラモトリギン投与中止後の変化について検討した。

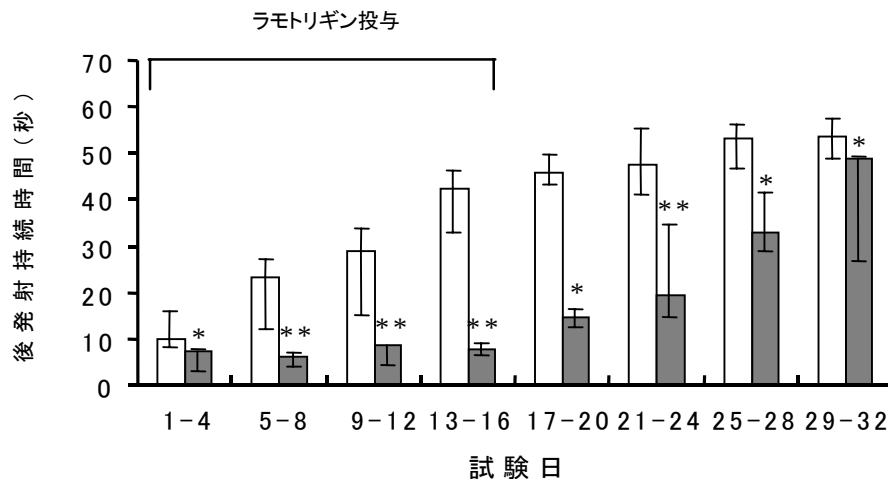
〔結果〕

媒体群では刺激回数の増加に従ってキンドリング発作ステージが上昇し、後発射持続時間が増加して、刺激 16 日目にはキンドリングが形成された。ラモトリギン 20mg/kg 群では発作ステージの上昇及び後発射持続時間の増加はいずれも有意に抑制された。しかし、ラモトリギン投与を中止すると、媒体群で認められた時間経過と同様にキンドリングが形成された(図 2.6.2-2)。

〔A〕キンドリング発作ステージ



〔B〕後発射持続時間



□ 媒体

■ ラモトリギン 20mg/kg

データは中央値を示す(n=6~7)

誤差線はそれぞれ第1四分位値、第3四分位値を示す

媒体: 0.25%メチルセルロース溶液

*: p<0.05, **: p<0.01 vs 媒体群(ノンパラメトリック片側順位和検定)

図 2.6.2-2 ラット扁桃核キンドリングの形成に対する作用

4.2.1.1.4 の図 1 を一部改変

2.6.2.2.1.4. 遺伝的てんかんモデル動物での評価（EL マウス）

4.2.1.1.5

EL マウスは放り上げなどの前庭刺激により強直間代痙攣を起こす遺伝的てんかんマウスであり、複雑部分発作のモデルとして知られている²⁾。そこで EL マウスを用いてラモトリギンの抗痙攣作用を検討した。

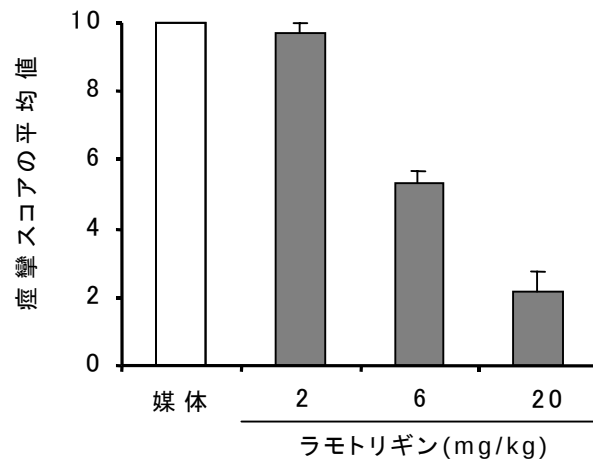
〔方法〕

5～8 週齢の EL マウスに週 2 回 10～15cm の放り上げ刺激を加え、痙攣を安定して発現するようになったマウスを試験に用いた。

マウスに被験物質を腹腔内投与し、60 分後に放り上げ刺激を加えて誘発される痙攣をスコア化し、媒体群の痙攣スコアを 50%抑制するために必要な被験物質の用量（ED₅₀ 値）を算出した。

〔結果〕

ラモトリギンは放り上げ刺激によって誘発される EL マウスの痙攣を用量依存的に抑制し、その ED₅₀ 値は 6.3mg/kg であった（図 2.6.2-3、表 2.6.2-8）。PHT 及び CBZ の ED₅₀ 値は、ラモトリギンのそれぞれ 5 倍及び 6 倍であった（表 2.6.2-8）。



(n=5)

媒体：0.25%メチルセルロース溶液

図 2.6.2-3 EL マウスの痙攣に対する作用

4.2.1.1.5 の図 6 を一部改変

表 2.6.2-8 EL マウスの痙攣に対する各種抗痙攣薬の作用

4.2.1.1.5 の表 1 より一部改変

被験物質	投与量 (mg/kg)	n	抗痙攣作用 (ED ₅₀ 値 ; mg/kg)
ラモトリギン	2～20	5	6.3
PHT	10～100	5	32
CBZ	10～100	6	40.5

媒体：0.25%メチルセルロース溶液(ラモトリギン)、生理食塩液(PHT、CBZ)

2.6.2.2.1.5. 反復投与による抗痙攣作用の変化

4.2.1.1.6/ref

マウス及びラットの最大電撃痙攣に対するラモトリギンの抑制作用が反復投与した場合に減弱するか否かについて検討した。

2.6.2.2.1.5.1. マウスでの検討

〔方法〕

雄 CFLP マウスに被験物質を 1 日 1 回 28 日間経口投与した。1、7、14、21、28 日目の被験物質投与 2 時間後に角膜電極を介して最大電撃（25mA、250msec）を与え、強直性伸展痙攣の有無を調べた。

〔結果〕

各電撃試験日において、ラモトリギン群の ED₅₀ 値に変動はみられなかった（ED₅₀ 値；2.2～3.8mg/kg）。PHT 群の ED₅₀ 値にも変動はみられなかったが、PB 群では反復投与により ED₅₀ 値のわずかな上昇が認められた（表 2.6.2-9）。

表 2.6.2-9 反復投与による最大電撃痙攣抑制作用（マウス）

4.2.1.1.6/ref の表 1 より作成

被験物質 [#]	抗痙攣作用 ED ₅₀ 値；mg/kg（95%信頼限界）				
	1 日目	7 日目	14 日目	21 日目	28 日目
ラモトリギン	3.8 (2.9～4.8)	2.2 (1.7～2.8)	2.5 (1.9～3.1)	3.0 (1.9～4.7)	3.3 (2.6～4.1)
PHT	6.6 (5.1～8.6)	7.1 (5.5～9.2)	6.9 (5.5～8.8)	7.3 (4.8～12.4)	8.4 (6.6～11.0)
PB	11.4 (8.4～15.6)	16.8 (12.8～22.5)	14.1 (10.9～18.3)	15.9 (9.5～27.5)	17.9 (14.0～23.4)

媒体：0.25%メチルセルロース溶液（ラモトリギン、PHT）、生理食塩液（PB）

#：被験物質の投与用量は不明

2.6.2.2.1.5.2. ラットでの検討

〔方法〕

雄 Wistar ラットに被験物質を 1 日 1 回 26 日間経口投与した。1、5、12、26 日目の被験物質投与 2 時間後に角膜電極を介して最大電撃（150mA、250msec）を与え、強直性伸展痙攣の有無を調べた。

〔結果〕

各電撃試験日において、ラモトリギン群の ED₅₀ 値に変動はみられなかった（ED₅₀ 値；2.6～3.5mg/kg）。PHT 群の ED₅₀ 値にも変動はみられなかったが、PB 群では反復投与により ED₅₀ 値のわずかな上昇が認められた（表 2.6.2-10）。

表 2.6.2-10 反復投与による最大電撃痙攣抑制作用（ラット）

4.2.1.1.6/ref の表 2 より作成

被験物質 [#]	抗痙攣作用 ED ₅₀ 値；mg/kg（95%信頼限界）			
	1 日目	5 日目	12 日目	26 日目
ラモトリギン	3.2 (2.2～4.7)	2.7 (1.9～3.7)	3.5 (2.6～4.9)	2.6 (1.8～3.6)
PHT	42.8 (29.8～63.3)	50.7 (35.1～79.5)	35.7 (24.2～50.7)	43.2 (22.0～59.3)
PB	8.5 (5.7～12.2)	12.5 (9.0～17.5)	13.6 (9.8～18.7)	12.7 (9.3～17.1)

媒体：0.25%メチルセルロース溶液（ラモトリギン、PHT）、生理食塩液（PB）

[#]：被験物質の投与用量は不明

2.6.2.2. 作用機序

2.6.2.2.1. 電位依存性 Na⁺チャネルに対する作用

神経細胞膜に存在する電位依存性 Na⁺チャネルは、膜電位に応じて構造を変化させることによって Na⁺の透過性を調節し、活動電位の発生及び軸索伝導の中心的役割を担っている。

Na⁺チャネルの開閉機構を図 2.6.2-4 に示した。細胞膜が静止状態にあるとき、チャネルは閉じている（Closed）が、細胞膜が脱分極すると開口（Open）し、Na⁺の透過性が急激に上昇する。Na⁺電流がピークに達するとチャネルは急速に閉じて不活性化し（速い不活性化）、1msec 程度で静止状態へ戻り再び活性化が起こり得る状態となる。

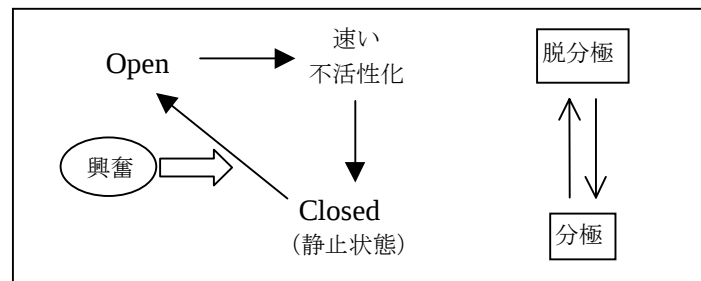


図 2.6.2-4 Na⁺チャネルの開閉機構

一方、てんかん性神経活動に代表されるような過興奮状態（持続的脱分極状態）が生じると、通常の興奮伝達の速い不活性化とは異なる遅い不活性化が出現することが知られている⁷⁾（図 2.6.2-5）。遅い不活性化は速い不活性化よりも持続時間が長く（約 10msec）、静止状態への移行を遅延させることから、過剰興奮を制御するための内因性メカニズムであると考えられている。しかし、この程度の移行遅延ではてんかん性神経細胞でみられるような活動電位の反復発射を十分に制御することができず、異常興奮が持続して、てんかん発作が発現すると考えられる。

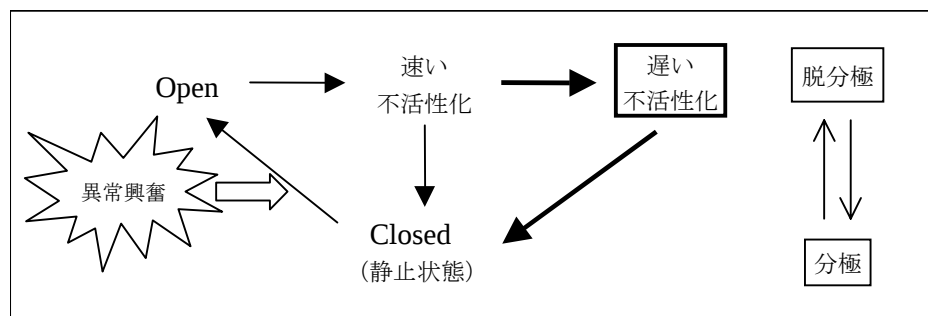


図 2.6.2-5 持続的脱分極状態での Na⁺チャネル開閉機構

このように、電位依存性 Na⁺チャネルは、てんかんの本質的な要素である活動電位の反復発射の生成に関与すると考えられ、PHTやCBZなど既存の抗てんかん薬の作用標的としても知られている。

2.6.2.2.1.1. Na⁺電流抑制作用

4.2.1.1.7/ref

2.6.2.2.1.1.1. 電流－電圧曲線

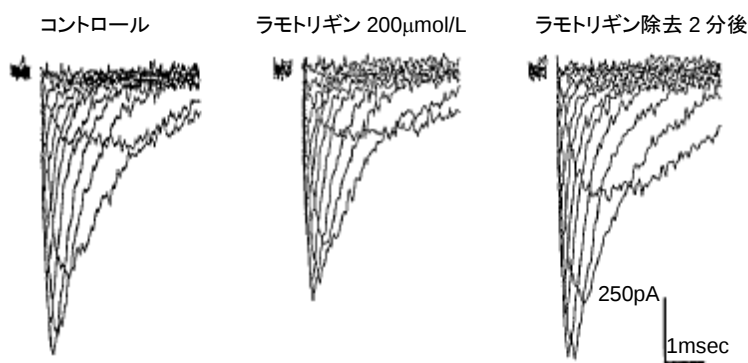
〔方法〕

組換えラット脳 typeIIA Na⁺チャンネルを発現させたチャイニーズハムスター卵巣細胞（CHO-K1 細胞）を用いて、Whole cell パッチクランプ法での膜電位固定法により Na⁺電流を記録した。CHO-K1 細胞の膜電位を－90mV に保持し、ラモトリギン存在下で－90mV から＋70mV まで 10mV ステップで脱分極パルス（10msec、0.1～0.5Hz）を与え、生じた Na⁺電流を記録した。なお、電極内液の組成は CsF 120mmol/L、Cs-EGTA 10mmol/L、NaCl 12mmol/L、HEPES 10mmol/L；pH7.2 とし、細胞外液の組成は NaCl 140mmol/L、KCl 4.7mmol/L、MgCl₂ 1.2mmol/L、CaCl₂ 1mmol/L、glucose 11mmol/L、HEPES 5mmol/L；pH7.4 とした。

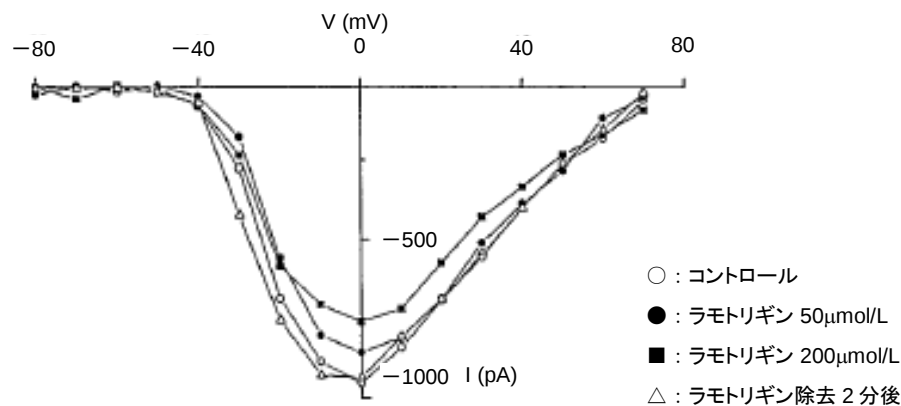
〔結果〕

ラモトリギンは電流－電圧曲線の形状に影響を与えずに Na⁺電流を抑制した。また、ラモトリギンを除去すると抑制作用は速やかに消失した（図 2.6.2-6）。

[A] 電流の記録



[B] 電流－電圧曲線

図 2.6.2-6 Na⁺電流に対する抑制作用と電流－電圧曲線

4.2.1.1.7/ref の図 1A、1B を一部改変

2.6.2.2.1.1.2. 用量反応性

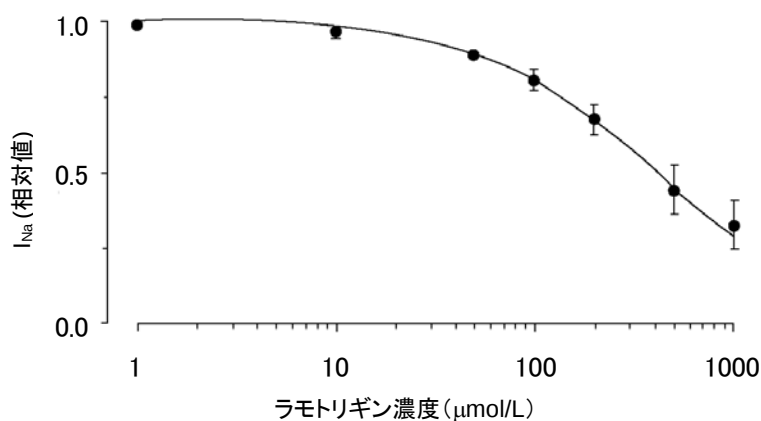
4.2.1.1.7/ref

〔方法〕

組換えラット脳 typeIIA Na^+ チャネルを発現させた CHO-K1 細胞を用いて、Whole cell パッチクランプ法での膜電位固定法により Na^+ 電流を記録した。CHO-K1 細胞の膜電位を -90mV に保持し、ラモトリギン存在下で、 -90mV から -10mV もしくは 0mV までの脱分極パルス (10msec) を 30 秒ごとに与え、発生した Na^+ 電流のピーク電流を記録した。結果はラモトリギン非存在下におけるピーク電流に対する相対値 (I_{Na}) として示し、相対値を 0.5 にするラモトリギンの濃度 (IC_{50} 値) を算出した。

〔結果〕

ラモトリギン $1\sim 1000\mu\text{mol/L}$ は Na^+ 電流のピーク電流を濃度依存的に抑制し、その IC_{50} 値は約 $500\mu\text{mol/L}$ であった (図 2.6.2-7)。

Mean $\pm$ SE (n=5~14)図 2.6.2-7 Na^+ 電流抑制の濃度－反応曲線

4.2.1.1.7/ref の図 1C を一部改変

2.6.2.2.1.2. Na^+ チャネルの活性化に対する作用

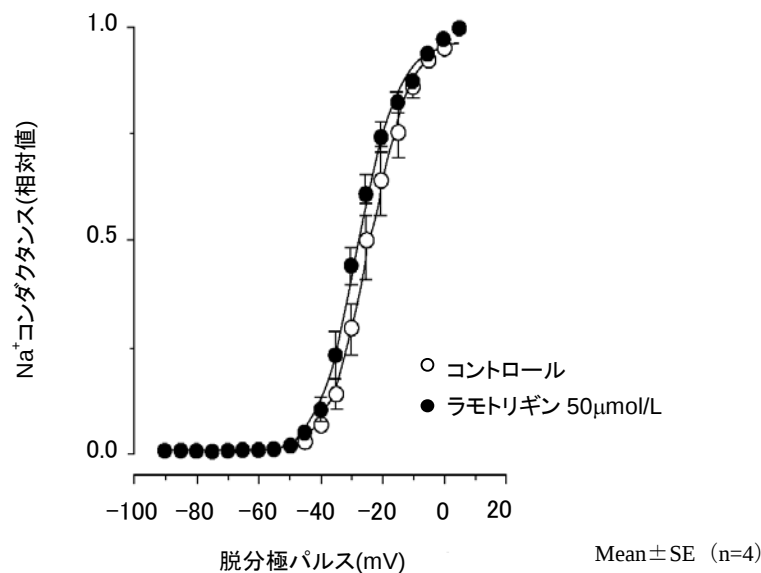
4.2.1.1.7/ref

〔方法〕

組換えラット脳 typeIIA Na^+ チャネルを発現させた CHO-K1 細胞を用いて、Whole cell パッチクランプ法での膜電位固定法により Na^+ 電流を記録した。ラモトリギン存在下あるいは非存在下における Na^+ 電流のピーク電流と駆動力から Na^+ コンダクタンスを算出し、最大コンダクタンスに対する相対値として表した。更に、 Na^+ コンダクタンスの相対値を 0.5 にするテストパルス電圧 ($V_{1/2}$ 値) を求めた。

〔結果〕

ラモトリギンは Na^+ コンダクタンス活性化曲線の形状及び勾配に影響を与えなかった (図 2.6.2-8)。また、 $V_{1/2}$ 値はラモトリギン $50\mu\text{mol/L}$ 存在下で -27.7mV であり、コントロールの -27.4mV と同程度であった。

図 2.6.2-8 Na⁺チャネルの活性化に対する作用

4.2.1.1.7/ref の図 2A を一部改変

2.6.2.2.2.1.3. Na⁺チャネルの不活性化に対する作用

2.6.2.2.2.1.3.1. 速い不活性化に対する作用

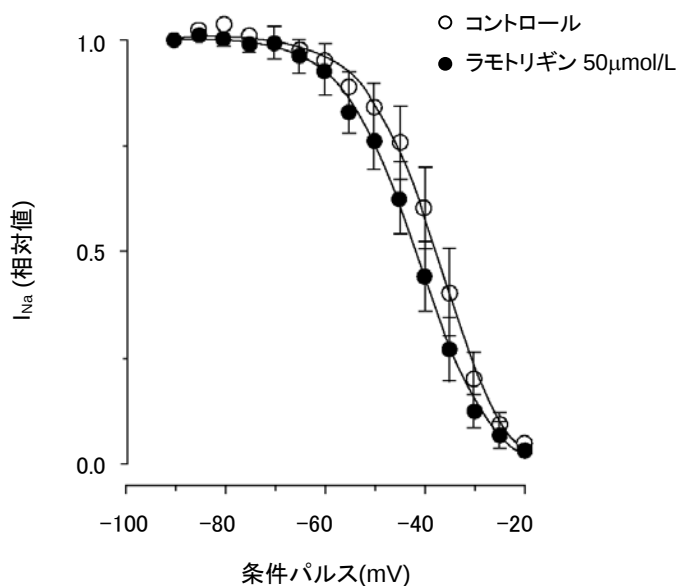
4.2.1.1.7/ref

〔方法〕

組換えラット脳 typeIIA Na⁺チャネルを発現させた CHO-K1 細胞を用いて、Whole cell パッチクランプ法での膜電位固定法により Na⁺電流を記録した。CHO-K1 細胞の膜電位を−90mV に保持し、ラモトリギン存在下で−90mV から−20mV までの条件パルス（10msec）を与えた後、0mV のテストパルス（5msec）によって惹起される Na⁺電流を記録した。結果は、ラモトリギン非存在下において−120mV の条件パルスから与えたテストパルスによって生じた Na⁺電流に対する相対値（I_{Na}）として表し、相対値を 0.5 にする条件パルス電圧（V_{1/2} 値）を求めた。

〔結果〕

ラモトリギン 50μmol/L は Na⁺チャネルの速い不活性化曲線をわずかに過分極側（左方）に移動させたが、V_{1/2} 値はコントロールで−37±2.5mV、ラモトリギン存在下で−41±2mV であり、ラモトリギンによる影響は認められなかった（図 2.6.2-9）。



Mean ± SE (n=4)

図 2.6.2-9 Na⁺電流の速い不活性化に対する作用

4.2.1.1.7/ref の図 1C を一部改変

2.6.2.2.2.1.3.2. 遅い不活性化に対する作用

4.2.1.1.7/ref

〔方法〕

組換えラット脳 typeIIA Na⁺チャネルを発現させた CHO-K1 細胞を用いて、Whole cell パッチクランプ法での膜電位固定法により Na⁺電流を記録した。CHO-K1 細胞の膜電位を -120mV に保持し、ラモトリギン存在下で -120mV から -30mV までの条件パルス (60sec) を与えた後、0mV のテストパルス (5msec) によって惹起される Na⁺電流を記録した。結果は、ラモトリギン非存在下において -90mV の条件パルスから与えたテストパルスによって生じた Na⁺電流に対する相対値 (I_{Na}) として表し、相対値を 0.5 にする条件パルス電圧 ($V_{1/2}$ 値) を求めた。また、以下の式⁸⁾ により遅い不活性化チャネルへの親和性を算出した。

$$K_I = L / \{ (1 + L / K_C) / \exp (\Delta V_{1/2} / k) - 1 \}$$

K_I : 遅く不活性化されたチャネルへの親和性

L : ラモトリギン濃度

K_C : 保持電位 (V_h) = -90mV で観察されたチャネルへの親和性 $\Delta V_{1/2}$: コントロールにおける $V_{1/2}$ とラモトリギン存在下における $V_{1/2}$ の差

k : 不活性化曲線の勾配

〔結果〕

ラモトリギン 50 μ mol/L は遅い不活性化曲線を過分極側（左方）に移動させた（図 2.6.2-10）。 $V_{1/2}$ 値はコントロールで -54 ± 1.8 mV、ラモトリギン存在下では -65 ± 1.6 mV であり、有意差（Student の t 検定、 $p < 0.05$ ）が認められた。また、遅い不活性化チャンネルへの親和性は 12 μ mol/L と推定された。

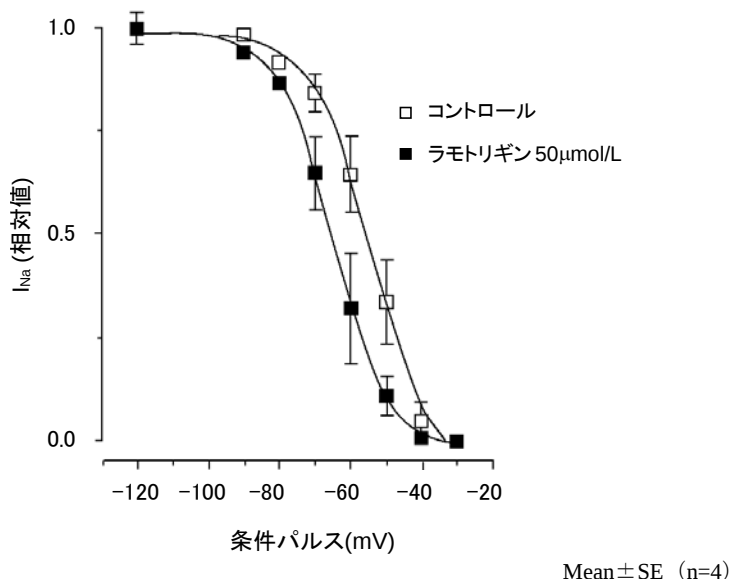


図 2.6.2-10 Na^+ 電流の遅い不活性化に対する作用

4.2.1.1.7/ref の図 1D を一部改変

2.6.2.2.2.1.4. 遅い不活性化からの回復に対する作用

4.2.1.1.7/ref

〔方法〕

組換えラット脳 typeIIA Na^+ チャンネルを発現させた CHO-K1 細胞を用いて、Whole cell パッチクランプ法での膜電位固定法により Na^+ 電流を記録した。CHO-K1 細胞の膜電位を -90 mV に保持し、ラモトリギン存在下で 0 mV までの条件パルス（100 msec）を与えた後、 -90 mV へ再分極させ、種々の回復時間（ ~ 110 msec）の後に 0 mV までのテストパルス（5 msec）を与え、惹起される Na^+ 電流を記録した。結果は、ラモトリギン存在下あるいは非存在下において条件パルスによって生じた Na^+ 電流に対する相対値（ I_{Na} ）で示し、以下の式により不活性化からの回復の時間経過を検討した。

$$y = 1 - A_{fast} \exp(-t/\tau_{fast}) - A_{slow} \exp(-t/\tau_{slow})$$

y : 回復電流の相対値

A_{fast} : 速い回復成分の割合

A_{slow} : 遅い回復成分の割合 ($A_{fast} + A_{slow} = 1$)

t : 回復時間

τ_{fast} : 速い回復成分の時定数

τ_{slow} : 遅い回復成分の時定数

〔結果〕

コントロールでは、95%以上が速い時定数 τ_{fast} (4msec) で不活性化から回復した。一方、ラモトリギン 50 $\mu\text{mol/L}$ 存在下では速い時定数での回復成分が 85%に減少し、遅い時定数 τ_{slow} (150msec) で表される回復成分が出現した。

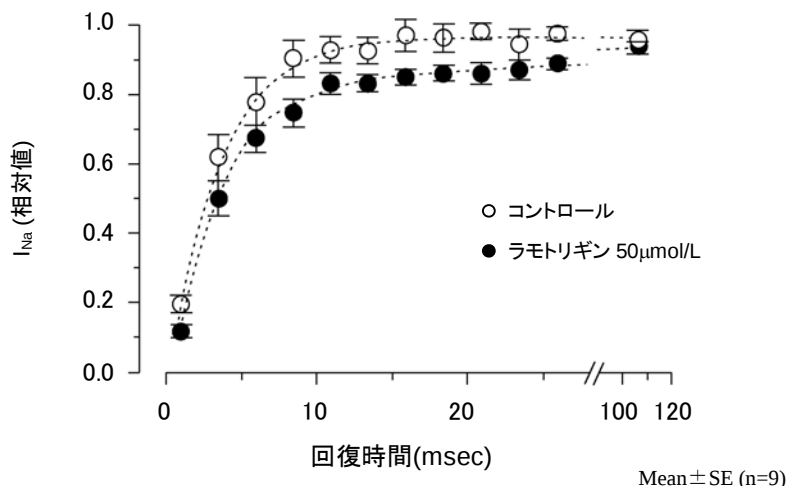


図 2.6.2-11 Na^+ 電流の遅い不活性化からの回復に対する作用

4.2.1.1.7/ref の図 5B を一部改変

2.6.2.2.2.1.5. Na^+ 電流の電位依存的抑制及び頻度依存的抑制

Na^+ チャネルの抑制により抗痙攣作用を示すと考えられている PHT や CBZ の作用強度は、静止電位の大きさや神経の興奮の程度によって異なり、静止膜電位を浅くすると抑制作用が強く（電位依存性）、高頻度に刺激された神経に感受性が高くなる（頻度依存性）ことが知られている。そこで、ラモトリギンの Na^+ 電流抑制作用も同様の性質を示すか否かについて検討した。

2.6.2.2.2.1.5.1. Na^+ 電流の電位依存的抑制

4.2.1.1.7/ref

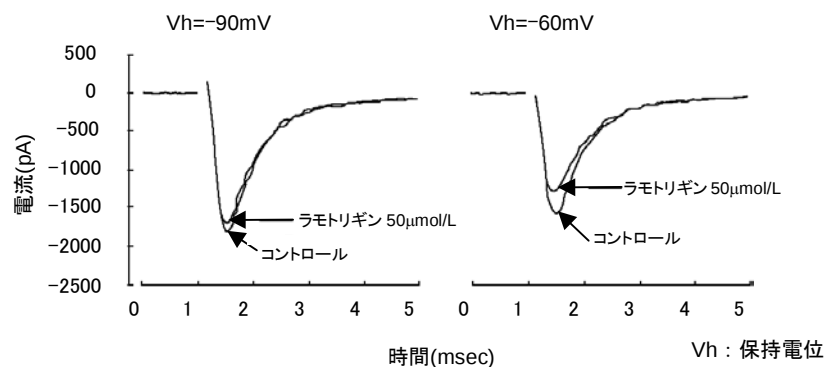
〔方法〕

組換えラット脳 typeIIA Na^+ チャネルを発現させた CHO-K1 細胞を用いて、Whole cell パッチクランプ法での膜電位固定法により Na^+ 電流を記録した。CHO-K1 細胞の膜電位を -90mV に保持し、ラモトリギン存在下で -60mV への条件パルス (30sec) を与えた後、 0mV への脱分極パルス (10msec) により惹起される Na^+ 電流を記録した。結果は、ラモトリギン非存在下での Na^+ 電流に対する相対値 (I_{Na}) で示し、相対値を 0.5 にするラモトリギンの濃度 (IC_{50} 値) を算出した。

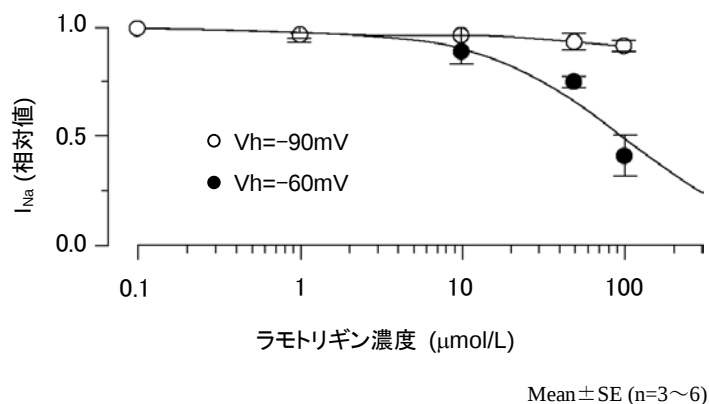
〔結果〕

ラモトリギン $50\mu\text{mol/L}$ は条件パルスを与えなかった場合には、 Na^+ 電流を 6%抑制し、 -60mV の条件パルスを与えた場合には 22%抑制した（図 2.6.2-12 [A]）。ラモトリギンの Na^+ 電流抑制作用は、 -60mV の条件パルスを与えた場合の方が与えなかった場合よりも強く、その IC_{50} 値は約 $100\mu\text{mol/L}$ であった（図 2.6.2-12 [B]）。

[A] 単一細胞から得られた電流の記録



[B] 濃度－反応曲線

図 2.6.2-12 Na^+ 電流抑制作用の電位依存性

4.2.1.1.7/ref の図 3A、3C を一部改変

2.6.2.2.1.5.2. Na⁺電流の頻度依存的抑制

4.2.1.1.7/ref

〔方法〕

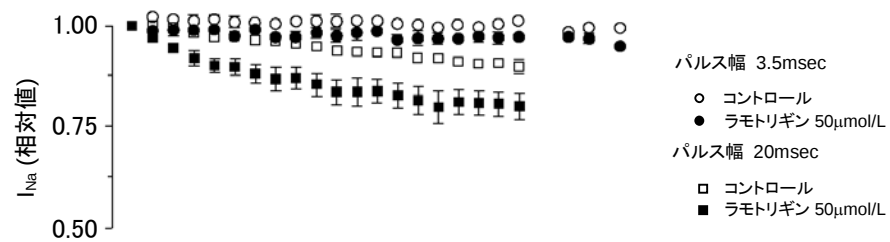
組換えラット脳 typeIIA Na⁺チャンネルを発現させた CHO-K1 細胞を用いて、Whole cell パッチクランプ法での膜電位固定法により Na⁺電流を記録した。CHO-K1 細胞の膜電位を -90mV に保持し、ラモトリギン存在下で 0mV への脱分極パルス（3.5 あるいは 20msec）を 11Hz の頻度で与え、パルスごとに生じる Na⁺電流を記録した。また、脱分極パルス（3.5msec）を 50Hz の頻度で与えた場合についても検討した。結果は、最初の脱分極パルスで誘発される Na⁺電流に対する相対値（I_{Na}）で表した。

〔結果〕

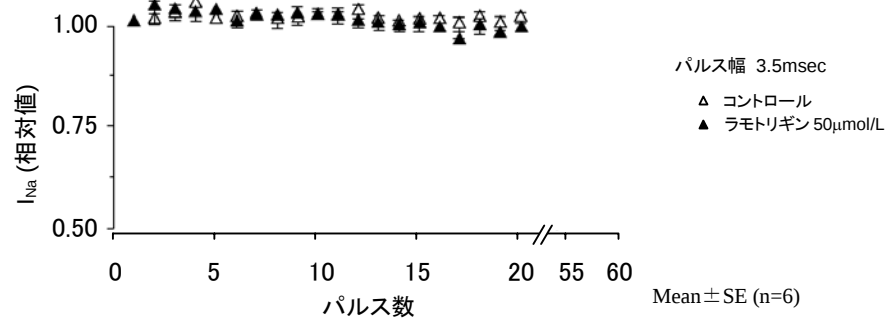
3.5msec の脱分極パルスを 11Hz の頻度で 60 発与えた場合、ラモトリギンの Na⁺電流抑制作用はほとんど増強されなかった。一方、20msec の脱分極パルスを与えた場合には、Na⁺電流は 3 発目から抑制され、20 発目のパルスでは約 20%抑制された（図 2.6.2-13 [A]）。

また、3.5msec の脱分極パルスでは、刺激頻度を 50Hz にしてもラモトリギンの Na⁺電流抑制作用は増強されなかった（図 2.6.2-13 [B]）。

[A] パルス頻度 11Hz



[B] パルス頻度 50Hz

図 2.6.2-13 Na⁺電流抑制作用の頻度依存性

4.2.1.1.7/ref の図 4B を一部改変

2.6.2.2.2. グルタミン酸遊離に対する作用

4.2.1.1.8/ref

てんかん焦点では興奮性神経と抑制性神経のバランスが破綻し、興奮性神経活動が相対的に優位な状態にあると考えられている。興奮性伝達物質の1つである Glu は、種々のてんかん動物モデルにおいて発作発現と脳内 Glu 濃度が相関すること⁹⁾、ヒトのてんかん焦点で Glu 濃度が上昇していること¹⁰⁾ などからてんかんと関連性が示唆されている。そこで、ラット大脳スライス標本を用いて、脱分極刺激による Glu 遊離に及ぼすラモトリギンの影響を検討した。

〔方法〕

Wistar ラットの大脳皮質スライスをラモトリギン存在下あるいは非存在下、37℃でプレインキュベートした後、塩酸ベラトリン (10μg/mL) 又は 55mmol/L K⁺を添加して 10 分間インキュベートし、上清中の Glu 量を測定した。Glu は *o*-フタルアルデヒド誘導体として、蛍光光度計を用いて検出した。

〔結果〕

ラモトリギンは、Glu の基礎遊離及び 55mmol/L K⁺による Glu 遊離に対しては影響を示さなかったが、塩酸ベラトリンによる Glu 遊離を濃度依存的に抑制し、その ED₅₀ 値は 21μmol/L であった (図 2.6.2-14)。

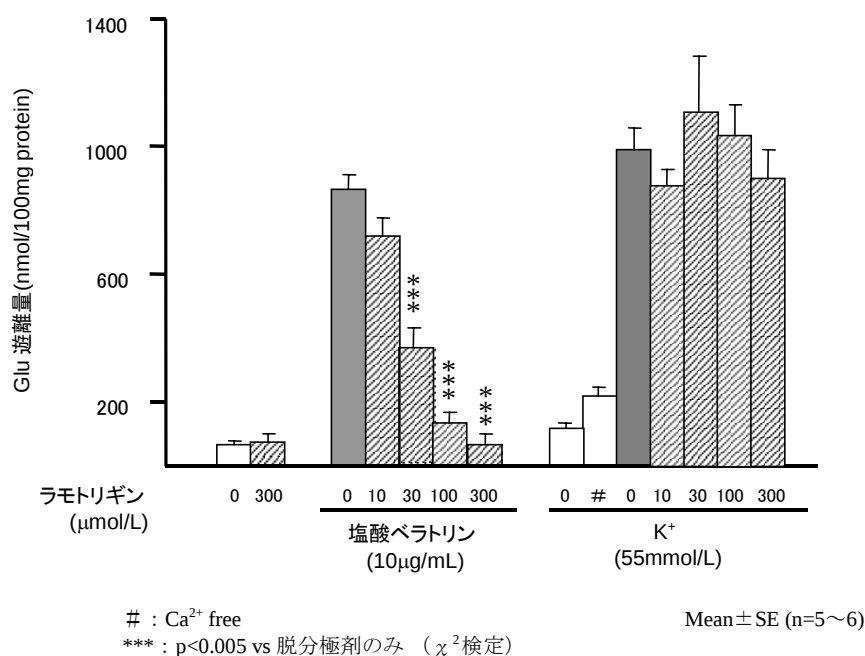


図 2.6.2-14 大脳皮質スライスからの Glu 遊離に対する作用

4.2.1.1.8/ref の図 1 を一部改変

2.6.2.2.3. てんかん様バーストに対する作用

電位依存性 Na^+ チャネル依存性にてんかん様バーストに対するラモトリギンの作用を、2種類のモデルを用いて検討した。

2.6.2.2.3.1. 海馬におけるシナプス伝達及びてんかん様バーストに対する作用

4.2.1.1.7/ref

〔方法〕

Wistar ラットの海馬スライスを用いて、ラモトリギン存在下あるいは非存在下で Schaffer 側枝-交連線維を電気刺激し、CA1 領域の錐体細胞に誘発される活動電位を細胞内記録法により測定した。また、灌流液から Mg^{2+} を除去し、 Ca^{2+} 及び K^+ 濃度をそれぞれ 4 及び 5mmol/L に上げ、更にピククリン (20 $\mu\text{mol/L}$) を添加した後に、同様の電気刺激を与えててんかん様バーストを誘発した。

〔結果〕

ラモトリギン 50 $\mu\text{mol/L}$ は CA1 錐体細胞に誘発されたシナプス後電位 (EPSP 及び IPSP) に対して影響を示さなかった (図 2.6.2-15 [A])。一方、灌流液からの Mg^{2+} の除去及びピククリン添加により、相対的に Glu による興奮性シナプス伝達系が増強された条件下で電気刺激を与えると、活動電位の後にてんかん様バーストが誘発されたが、ラモトリギン 50 $\mu\text{mol/L}$ は活動電位及びバーストの前半部分には影響せずに後半部分 (後発射) を抑制した (図 2.6.2-15 [B])。

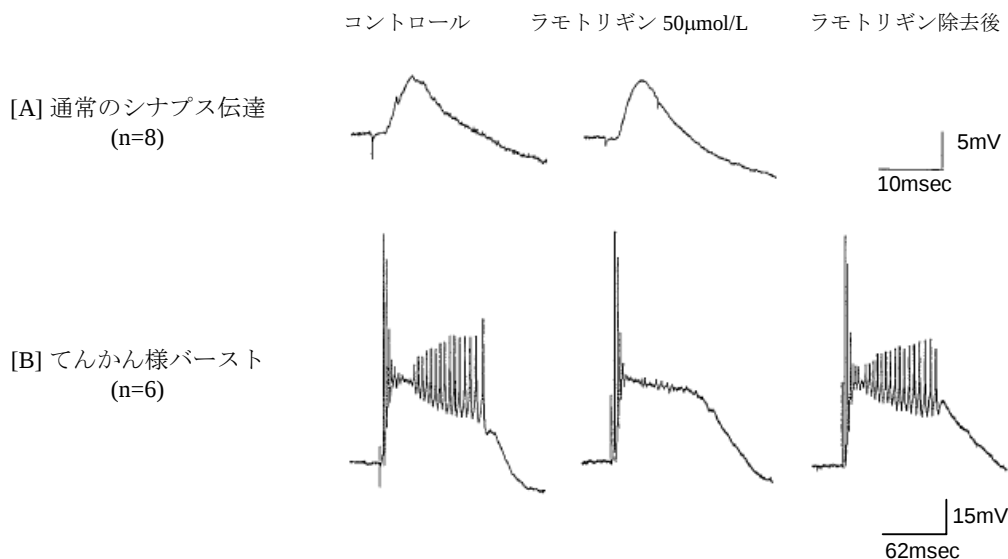


図 2.6.2-15 ラット海馬スライスにおける通常のシナプス伝達及びてんかん様バーストに対する作用

4.2.1.1.7/ref の図 6B を一部改変

2.6.2.2.3.2. ベラトリジン誘発てんかん様バーストに対する作用

4.2.1.1.9/ref

〔方法〕

SD ラットの海馬スライスを用いて、ラモトリギン存在下でベラトリジン 0.3 μ mol/L を含有する灌流液中でパルス電気刺激（0.2～0.5nA、20msec）を与えた際に、CA1 領域の錐体細胞に誘発されるてんかん様バーストを細胞内記録法により測定した。

〔結果〕

ラモトリギン 10 μ mol/L はベラトリジン誘発てんかん様バーストを抑制した（図 2.6.2-16）。



図 2.6.2-16 ラット海馬スライスにおけるベラトリジン誘発てんかん様バーストに対する作用

4.2.1.1.9/ref の図 1 より抜粋

2.6.2.2.3. 代謝物の薬効薬理試験

4.2.1.1.1

ラモトリギンのヒトにおける主代謝物である M1 の抗痙攣作用を、最大電撃痙攣試験を用いて検討した。

〔方法〕

雄 ICR マウスに被験物質を静脈内投与し、15 分後に角膜電極を介して最大電撃刺激（50mA、200msec）を与え、強直性伸展痙攣の有無を調べた。

〔結果〕

M1 は 170mg/kg の用量でも強直性伸展痙攣の発現を抑制しなかったが、ラモトリギンイセチオン酸塩 10mg/kg 投与群では全例で強直性伸展痙攣の発現が抑制された（表 2.6.2-11）。

表 2.6.2-11 マウスの最大電撃痙攣に対する M1 の作用

4.2.1.1.1 の表 1 を一部改変

被験物質	投与量 (mg/kg)	強直性伸展痙攣発現動物数/ 使用動物数
媒体（生理食塩液）	—	10 / 10
M1	17	10 / 10
	51	10 / 10
	170	10 / 10
ラモトリギンイセチオン酸塩	10 [#]	0 / 10 ^{**}

#：遊離塩基換算量

**：p<0.01 vs 媒体群(Fisher の直接確率計算法)

2.6.2.3. 副次的薬理試験

2.6.2.3.1. 各種受容体に対する親和性

4.2.1.2.1

〔方法〕

各種放射性リガンドを用いて、脳に存在する各種受容体に対するラモトリギンの親和性を検討した。

〔結果〕

ラモトリギンは 5-HT₃ 受容体に対して親和性を示した (IC₅₀ 値 ; 18μmol/L)。しかし、試験したその他の 16 種の受容体に対しては親和性を示さなかった (表 2.6.2-12)。

表 2.6.2-12 各種受容体に対する結合親和性

4.2.1.2.1 の表 1 を一部改変

受 容 体		リガンド	脳組織	n	IC ₅₀ 値
アデノシン	A ₁	[³ H]-cyclohexyladenosine	ウシ尾状核	1	>100μmol/L
	A ₂	[³ H]-cyclohexyladenosine (+ 50nmol/L cyclopentyladenosine)	ウシ尾状核	1	>100μmol/L
アドレナリン	α ₁	[³ H]-prazosin	ラット皮質	2	>100μmol/L
	α ₂	[³ H]-idazoxan	ラット皮質	2	>100μmol/L
	β	[³ H]-dihydroalprenolol	ラット皮質	2	>100μmol/L
ドーパミン	D ₁	[³ H]-SCH23390	ラット線条体	2	>100μmol/L
	D ₂	[³ H]-spiperone (+50nmol/L ketanserin)	ラット線条体	1	>100μmol/L
GABA	GABA _A	[³ H]-GABA	ラット皮質	1	>100μmol/L
	GABA _B	[³ H]-baclofen	ラット皮質	1	>100μmol/L
ヒスタミン	H ₁	[³ H]-pyrilamine	ラット皮質	2	>100μmol/L
オピオイド	κ	[³ H]-U-69593	モルモット脳	1	>100μmol/L
セロトニン	5-HT ₂	[³ H]-ketanserin	ラット前頭皮質	2	>100μmol/L
	5-HT ₃	[³ H]-BRL 43694	ラット皮質	5	18μmol/L
アセチルコリン	ムスカリン	[³ H]-quinuclidinylbenzylate	ウシ尾状核	2	>100μmol/L
グルタミン酸	AMPA 型	[³ H]-CNQX	ラット皮質	1	>100μmol/L
	NMDA 型	[³ H]-CGS 19755	ラット前脳	3	>100μmol/L
		[³ H]-thienylcyclohexylpiperidine	ラット前脳	1	>100μmol/L
シグマ	σ	[³ H]-ditolylguanidine	モルモット脳	2	>100μmol/L

GABA : γ-アミノ酪酸、AMPA : α-amino-3-hydroxy-5- methyl-4-isoxazol propionic acid、NMDA : N-methyl-D-aspartate

2.6.2.3.2. 一般薬理試験

ラモトリギンの一般薬理作用を、マウス、ラット、モルモット及びカニクイザルを用いて検討した。試験はラモトリギンの遊離塩基あるいはラモトリギンイセチオン酸塩（自律神経系及び平滑筋に及ぼす影響並びに呼吸・循環器系に及ぼす影響）を用いて実施し、投与量は遊離塩基換算量として示した。経口投与試験ではラモトリギン 30 又は 55mg/kg を最高用量とし、静脈内投与試験では 6.7mg/kg を最高用量とした。また、*in vitro* 試験では 67μg/mL を最高濃度に設定した。

2.6.2.3.2.1. 一般症状及び中枢神経系に及ぼす影響

4.2.1.2.2

マウスの一般症状及び行動に対しては、30mg/kg の経口投与で軽度な自発運動の減少が認められたが、自発運動量に対しては 30mg/kg の経口投与で影響を示さなかった。また、30mg/kg の経口投与で睡眠増強作用及び鎮痛作用を示さず、体温に対しても影響を示さなかった。

2.6.2.3.2.2. 自律神経系及び平滑筋に及ぼす影響

4.2.1.2.2

モルモット摘出回腸の自動運動に対して、6.7µg/mL 以上で軽度な静止張力の低下、67µg/mL で自動運動の減少を示した。ACh、His 及び BaCl₂ 誘発収縮に対しては 67µg/mL で軽度な抑制を示した。ラット摘出輸精管の NE 誘発収縮に対しては、67µg/mL でも影響を示さなかったが、ラット摘出血管の NE 及び K⁺ 誘発収縮をそれぞれ 6.7µg/mL 以上で抑制した。モルモット摘出気管に対しては、6.7µg/mL 以上で静止張力を低下させたが、ACh 誘発収縮には影響を示さなかった。また、ラット摘出胃の 5-HT 誘発収縮に対しては、67µg/mL でも影響を示さなかった。

2.6.2.3.2.3. 呼吸・循環器系に及ぼす影響

4.2.1.2.2

麻酔カニクイザルの呼吸、血圧、心拍数、血流量及び心電図に対して、6.7mg/kg の静脈内投与で影響を示さなかった。

2.6.2.3.2.4. 消化器系に及ぼす影響

4.2.1.2.2, 4.2.1.2.3/ref

マウスの消化管輸送を 11mg/kg 以上の経口投与により抑制したが、ラットでは 40mg/kg の経口投与で影響を示さなかった。また、ラット生体位胃運動及びモルモット生体位小腸運動に対しては 30mg/kg の経口投与でも影響を示さなかった。

2.6.2.3.2.5. 水及び電解質代謝に及ぼす影響

4.2.1.2.2

ラットの尿量及び尿中電解質量に対して、30mg/kg の経口投与で影響を示さなかった。

2.6.2.4. 安全性薬理試験

安全性薬理試験として、hERG 電流に及ぼす影響を検討した。ラモトリギンの遊離塩基を用い、7.1677~716.77µmol/L の濃度で実施した。なお、一般薬理試験の結果は副次的薬理試験の項に記載した (2.6.2.3.2 参照)。

2.6.2.4.1. hERG 電流に及ぼす影響

4.2.1.3.1

hERG 試験において、ラモトリギンはテール電流を濃度依存的に抑制し、その IC₅₀ 値は 323µmol/L (82.7µg/mL) であった。

2.6.2.5. 薬力学的薬物相互作用試験**2.6.2.5.1. 他の抗てんかん薬との併用効果**

4.2.1.4.1/ref

ラモトリギンは他の抗てんかん薬では十分な効果が認められないてんかん患者に対して他剤と併用する薬剤である。ラモトリギンの他剤との併用効果を、遺伝的てんかんモデルである DBA/2 マウスを用いて検討した。

〔方法〕

DBA/2 マウスに、単独では痙攣に影響を与えない用量のラモトリギンと各種抗てんかん薬を同時に腹腔内投与し、45 分後に音刺激（12-16kHz, 109dB）を加え、間代性痙攣の有無を最大 1 分まで観察した。

また、Rotarod test を用いて協調性運動に及ぼす影響についても検討し、保護係数（Rotarod test において協調性運動障害作用を示す ED₅₀ 値／間代性痙攣に対する ED₅₀ 値）を算出した。

〔結果〕

試験した全ての薬物の抗痙攣作用は、ラモトリギンとの併用によって増強された。また、併用により協調性運動障害作用も増強されたものの、保護係数は抗てんかん薬単独投与群と比較して同等もしくは大きかった（表 2.6.2-13）。

表 2.6.2-13 ラモトリギン併用時の各種抗てんかん薬の痙攣抑制作用と運動障害への影響

4.2.1.4.1/ref の表 2 および表 3 より作成

処置群 (mg/kg)		抗痙攣作用 ED ₅₀ 値 ; mg/kg (95%信頼限界)	協調性運動障害作用 ED ₅₀ 値 ; mg/kg (95%信頼限界)	保護 係数
PHT	+ 生理食塩液	2.5 (1.8-3.5)	48.3 (50.9-68.4)	19.3
	+ ラモトリギン (0.5)	1.6* (1.2-2.1)	28.6 (21.2-38.6)	17.9
	+ ラモトリギン (1.25)	1.3** (0.9-1.9)	25.9 (18.3-36.6)	19.9
CBZ	+ 生理食塩液	4.4 (3.6-5.4)	46.5 (37.9-57)	15.5
	+ ラモトリギン (0.5)	2.8* (2.4-3.3)	24.2 (14.6-40.1)	12.7
	+ ラモトリギン (1.25)	2.5** (2.1-3.0)	18.7 (12.1-28.9)	13.3
VPA	+ 生理食塩液	43 (33-56)	290 (240-351)	7.3
	+ ラモトリギン (0.5)	25.1* (18.5-33.7)	208 (163-265)	8.3
	+ ラモトリギン (1.25)	19** (13.1-27.6)	194 (156-241)	10.2
PB	+ 生理食塩液	3.4 (2.3-5)	139 (115-168)	40.9
	+ ラモトリギン (0.5)	2.2* (1.7-2.8)	89 (67-118)	40.5
	+ ラモトリギン (1.25)	1.8** (1.5-2.2)	79.5 (65.4-96.6)	44.2
DZP	+ 生理食塩液	0.28 (0.2-0.39)	3.8 (3.0-4.8)	41.4
	+ ラモトリギン (0.5)	0.15* (0.13-0.18)	2.7 (2.0-3.8)	54
	+ ラモトリギン (1.25)	0.14** (0.12-0.17)	2.5 (2.0-3.8)	62

PHT : フェニトイン、CBZ : カルバマゼピン、VPA : バルプロ酸、PB : フェノバルビタール、
DZP : ジアゼパム

*p<0.05,**p<0.01 vs 生理食塩液併用投与群

(Chi-squared analysis for position of parallel lines following probit transformation)

2.6.2.6. 考察及び結論

効力を裏付ける試験

抗痙攣作用

ラモトリギンは部分発作の動物モデルである最大電撃痙攣、複雑部分発作の動物モデルである EL マウスの痙攣、複雑部分発作及び二次性全般化発作の動物モデルである扁桃核キンドリング発作を抑制した。また、ラモトリギンは強直間代発作の動物モデルである最大電撃痙攣及び PTZ による全身性間代性痙攣に対しても抑制作用を示した。

各種てんかん動物モデルにおけるラモトリギンの抗痙攣作用については既に多くの論文が公表されており、部分発作の動物モデルである最大電撃痙攣試験（マウス及びラット）¹¹⁾、海馬後発射試験（ラット及びイヌ）¹²⁾、複雑部分発作及び二次性全般化発作の動物モデルである海馬並びに扁桃核キンドリングラット¹³⁾ において抑制作用を示すことが報告されている。また、全般発作の動物モデルである DBA/2 マウス¹⁴⁾ 及び genetically epilepsy-prone (GEP) ラット¹⁵⁾、強直間代発作の動物モデルである最大電撃痙攣試験（マウス及びラット）¹¹⁾、4-アミノピリジン¹⁶⁾ 及び 6,7-dimethoxy-4-ethyl-β-carboline-3-carboxylate (DMCM) 誘発¹⁷⁾ 痙攣試験（マウス）においても抑制作用を示すことが報告されている。

一方、ラモトリギンは PTZ 誘発 twitch の発現潜時に対しては作用を示さなかった。PTZ 誘発痙攣試験は、臨床において欠神発作及びミオクロニー発作に有効な薬物群が twitch の発現潜時延長作用を示すという経験から、新規抗てんかん薬のこれらの発作型への有効性を評価する動物モデルの一つと考えられている。しかし、PB のように PTZ 誘発 twitch の発現潜時延長作用を有するものの、欠神発作に対する有効性が認められていない薬物も報告されてお

り¹⁸⁾、そのモデルとしての妥当性が議論されている。ラモトリギンは別の欠神発作の動物モデルである *lethargic (lh/lh)* マウスの欠神発作様痙攣に対して抑制作用を示すことが報告されていることから¹⁹⁾、欠神発作に対しても有効である可能性が示唆された。

このように、ラモトリギンは部分発作及び全般発作に対応すると考えられる動物モデルにおいて広く抗痙攣作用を示したことから、臨床において様々なタイプのでんかん発作の治療に有用である可能性が示唆された。また、ラモトリギンの最大電撃痙攣に対する抑制作用は反復投与しても変化しなかったことより、抗痙攣作用に耐性は生じないことが示唆された。

ラモトリギンの抗痙攣作用の発現時間及び持続時間については、最大電撃痙攣試験、扁桃核及び海馬キンドリング試験において検討されており、いずれのモデルにおいてもラモトリギンの抗痙攣作用は作用発現が早く、持続的で、少なくとも投与 24 時間後までは作用が持続することが示されている^{11, 13)}。更に、ラモトリギンは抗痙攣作用を示す用量で、鎮静及び運動失調などの副作用を示さないことが報告されている^{11, 13, 14)}。

一方、扁桃核キンドリングラットにおいてはキンドリングの形成も抑制したことから、ラモトリギンは臨床においててんかん原性の獲得や進行も防止できる可能性が示された。

幼若動物でのラモトリギンの作用については、ラットの PTZ 誘発痙攣試験において検討されており、ラモトリギンは PTZ による強直性痙攣を抑制し、幼若ラットと成熟ラットにおけるラモトリギンの抗痙攣作用には差がないことが報告されている²⁰⁾。また、幼若ラットにおいても、抗痙攣作用を示す用量では運動失調などの副作用を示さないことが報告されている²⁰⁾。これらのことから、ラモトリギンは小児てんかんの治療にも有効である可能性が示唆された。

ラモトリギンはラット扁桃核キンドリングモデルにおいて 10mg/kg を単回経口投与することにより抗痙攣作用を示した。ラットに 4mg/kg を単回経口投与した際の C_{max} 値は 2.16µg/mL であり (2.6.5.3.1 参照)、血漿中ラモトリギン濃度は 50mg/kg まで投与量の増加に伴って増加したことから (2.6.4.3.2.1.2 参照)、ラットに 10mg/kg を単回経口投与した際の血漿中ラモトリギンの C_{max} 値は 5.4µg/mL と推定された。また、体内に吸収されたラモトリギンの血漿中及び脳内濃度は投与量との間に線形性が確認されていること (2.6.4.4.1.1.2 参照) 及び雄ラットに 10mg/kg/日を単回及び 30 日間経口投与したときの投与 1 日目の脳/血漿比が 1.875 であったこと (2.6.4.4.1.1.2 参照) から、ラットに 10mg/kg を経口投与したときのラモトリギンの脳内濃度は約 10 (5.4µg/mL × 1.875) µg/mL と推定された。一方、健康成人にラモトリギンの推定臨床最大用量である 200mg (体重 50kg として 4mg/kg) を単回経口投与した際の C_{max} 値 (3.075µg/mL、2.7.2.2.2.1.1 参照) はラットにおいて抗痙攣作用を示す用量を経口投与した際の推定 C_{max} 値と同程度であり、ラモトリギンは受動拡散により脳内に移行すること (2.6.4.4.1.1.2 参照) から、ヒトでの脳内ラモトリギンの濃度は血漿中濃度と同程度以上であると考えられた。これらのことから、臨床においてラモトリギンが抗てんかん作用を発現する可能性が示唆された。

ラモトリギンのてんかん動物モデルにおける試験成績を既存の抗てんかん薬と比較すると、複雑部分発作の動物モデルである EL マウスにおける痙攣抑制作用は PHT 及び CBZ よりも強かった。また、部分発作及び強直間代発作の動物モデルである最大電撃痙攣試験における強直性伸展痙攣抑制作用の ED_{50} 値は、ラモトリギン=DZP=PHT<CBZ<PB<VPA<<エト

スクシミド (ESM) の順で¹¹⁾、部分発作の動物モデルである海馬後発射試験におけるラモトリギンの抑制作用は PHT 及び PB よりも強く¹²⁾、強直間代発作の動物モデルである PTZ 誘発痙攣試験における強直性伸展痙攣抑制作用の ED₅₀ 値は、DZP < ラモトリギン = PHT = PB < CBZ < VPA < ESM の順であることが報告されている¹¹⁾。更に、GEP ラットにおいて算出したラモトリギンの保護係数は、PHT 及び DZP に比べてそれぞれ 2 及び 1.5 倍高く¹⁵⁾、PHT 抵抗性扁桃核キンドリングラットに対しても抑制作用を示すことが報告されている²¹⁾。

以上の成績から、ラモトリギンは臨床において成人及び小児の様々なタイプのでんかん発作の治療に有用であり、てんかん原性の獲得や進行も防止できる可能性も示唆された。

作用機序

組換えラット脳 typeIIA Na⁺チャネルを発現させた CHO-K1 細胞において、ラモトリギンは持続的脱分極によって生じる遅い不活性化チャネルと相互作用し（親和性 12µmol/L (3.1µg/mL)）、不活性化からの回復を遅延させることにより、Na⁺電流を電位依存的かつ頻度依存的に抑制した。ラットにおいて抗痙攣作用を示す用量を投与した際のラモトリギンの脳内濃度（約 10µg/mL）は、遅い不活性化チャネルと相互作用するのに十分な濃度に達していると考えられることから、ラモトリギンによる痙攣抑制作用が遅い不活性化チャネルとの相互作用によるものであることが示唆された。

ラモトリギンはラット大脳皮質スライス標本において、Glu の基礎遊離及び高濃度 K⁺誘発 Glu 遊離に対しては影響せずに、ベラトリンで誘発した Glu 遊離を抑制した。ベラトリンは、電位依存性 Na⁺チャネルを持続的に開口させることによって膜を脱分極させ、Glu 遊離を誘発することが知られている²²⁾。一方、高濃度 K⁺は Na⁺チャネルとは無関係に膜を脱分極させ、伝達物質を遊離することが知られている。これらのことから、ラモトリギンは電位依存性 Na⁺チャネルを抑制して神経膜を安定化させ、その結果として Glu の遊離を抑制することが示唆された。

更に、ラモトリギンはラット海馬スライス標本の CA1 細胞において通常のシナプス伝達に対しては影響せずに、灌流液からの Mg²⁺の除去及びピククリン添加により、相対的に Glu による興奮性シナプス伝達系が増強された条件下での電気刺激誘発てんかん様バーストの後半部分のみを抑制し、ラット海馬スライス標本においてベラトリン誘発てんかん様バーストに対しても抑制作用を示したことから、遅い不活性化状態のチャネルに作用して過剰な興奮伝達を抑制する可能性が示唆された。

以上の成績から、ラモトリギンは電位依存性 Na⁺チャネルの遅い不活性化に作用して、不活性化からの回復を遅延させることにより Na⁺チャネルを抑制し、神経細胞膜を安定化して Glu などの興奮性神経伝達物質遊離を抑制する結果、神経細胞のてんかん様バーストを抑制することが示唆された。

代謝物の薬効薬理試験

ラモトリギンのヒトにおける主代謝物である M1 は、ラモトリギンの 10 倍量（モル用量）でも抗痙攣作用を示さなかった。健康成人にラモトリギンの推定臨床最大用量である 200mg を単回経口投与した際の M1 の C_{max} 値はラモトリギンの約 1/5（モル用量）であったことから（2.7.2.2.3.3 参照）、M1 はラモトリギンの抗痙攣作用に関与しないと考えられた。

副次的薬理試験

ラモトリギンは 5-HT₃ 受容体に対して親和性を示した。しかし、試験したその他の 16 種の受容体に対しては親和性を示さなかった。一般薬理試験において、ラモトリギンは自律神経系及び平滑筋に対しては高濃度で作用が認められたものの、抗痙攣作用を示す用量において、鎮静及び運動失調などの副作用を示さなかったこと、並びに中枢神経系、呼吸・循環器系、消化器系、水及び電解質代謝に対しては影響を示さなかったことから、臨床上重篤な副作用を発現する可能性は低いと考えられた。

安全性薬理試験

ラモトリギンは hERG 試験において、テール電流を抑制したものの、その IC₅₀ 値は、健康成人にラモトリギンの推定臨床最大用量である 200mg を単回経口投与した際の C_{max} 値 (3.075µg/mL、2.7.2.2.2.1.1 参照) の約 27 倍であったこと、並びに *in vivo* 試験において呼吸・循環器系に影響がみられなかったことから、臨床において QT 延長を引き起こす可能性は低いと考えられた。

薬力学的薬物相互作用試験

他剤との併用試験において、ラモトリギンは臨床で既に抗てんかん薬として広く使用されている CBZ、DZP、PHT、PB 及び VPA の抗痙攣作用を増強した。また、併用により協調性運動障害作用も増強されたものの、保護係数は抗てんかん薬単独投与群と比較して同等もしくは大きかった。このことから、他の抗てんかん薬では十分な効果が認められないてんかん患者に対してラモトリギンを併用した場合、良好な治療効果が期待できるものと考えられた。

2.6.2.7. 図表

図表は本文中に記載した。

2.6.2.8. 参考文献

-
- 1) 伊藤継孝. 病態動物モデル. In: 福田英臣、渡辺和夫編、続医薬品の開発 2 巻、東京: 廣川書店、1993.p.17-32.
 - 2) Loscher W, Schmidt D. Which animal models should be used in the search for new antiepileptic drugs? A proposal based on experimental and clinical considerations. *Epilepsy Res.* 1988;2:145-81.
 - 3) 猪ノ坂孝雄、佐藤光源. てんかんの実験モデルー痙攣準備性の神経機序ー: 医学のあゆみ 1991;156:361-5.
 - 4) 大月三郎、秋山一文、森本清. 逆耐性現象・キンドリング現象と精神医学: 岡山大学医学雑誌 1991;103:187-96.
 - 5) Silver JM, Shin C, McNamara JO. Antiepileptogenic effects of conventional anticonvulsants in the kindling model of epilepsy. *Ann Neurol.* 1991;29:356-63.
 - 6) Racine RJ. Modification of seizure activity by electrical stimulation. II. Motor seizure. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1972;32:281-94.
 - 7) Rudy B. Slow inactivation of the sodium conductance in squid giant axons. Pronase resistance. *J Physiol.* 1978;283:1-21.
 - 8) Bean BP, Cohen CJ, Tsien RW. Lidocaine block of cardiac sodium channels. *J Gen Physiol.* 1983;81:613-42.
 - 9) Coutinho-Netto J, Abdul-Ghani AS, Collins JF, Bradford HF. Is glutamate a trigger factor in epileptic hyperactivity? *Epilepsia.* 1981;22:289-96.
 - 10) During MJ, Spencer DD. Extracellular hippocampal glutamate and spontaneous seizure in the conscious human brain. *Lancet.* 1993;341:1607-10.
 - 11) Miller AA, Wheatley P, Sawyer DA, Baxter MG, Roth B. Pharmacological studies on lamotrigine, a novel potential antiepileptic drug: I. Anticonvulsant profile in mice and rats. *Epilepsia.* 1986;27:483-9.
 - 12) Wheatley PL, Miller AA. Effects of lamotrigine on electrically induced afterdischarge duration in anaesthetised rat, dog, and marmoset. *Epilepsia.* 1989;30:34-40.
 - 13) Otsuki K, Morimoto K, Sato K, Yamada N, Kuroda S. Effects of lamotrigine and conventional antiepileptic drugs on amygdala- and hippocampal-kindled seizures in rats. *Epilepsy Res.* 1998;31:101-12.
 - 14) De Sarro G, Nava F, Aguglia U, De Sarro A. Lamotrigine potentiates the antiseizure activity of some anticonvulsants in DBA/2 mice. *Neuropharmacology.* 1996;35:153-8.
 - 15) Smith SE, al-Zubaidy ZA, Chapman AG, Meldrum BS. Excitatory amino acid antagonists, lamotrigine and BW 1003C87 as anticonvulsants in the genetically epilepsy-prone rat. *Epilepsy Res.* 1993;15:101-11.
 - 16) Cramer CL, Stagnitto ML, Knowles MA, Palmer GC. Kainic acid and 4-aminopyridine seizure models in mice: evaluation of efficacy of anti-epileptic agents and calcium antagonists. *Life Sci.* 1994;54:PL271-5.
 - 17) Dalby NO, Nielsen EB. Comparison of the preclinical anticonvulsant profiles of tiagabine, lamotrigine, gabapentin and vigabatrin. *Epilepsy Res.* 1997;28:63-72.
 - 18) 高橋明比古. 抗てんかん薬: 医学と薬学 2000;44:883-9.

-
- ¹⁹⁾ Hosford DA, Wang Y. Utility of the lethargic (*lh/lh*) mouse model of absence seizures in predicting the effects of lamotrigine, vigabatrin, tiagabine, gabapentin, and topiramate against human absence seizures. *Epilepsia*. 1997;38:408-14.
- ²⁰⁾ Stankova L, Kubova H, Mares P. Anticonvulsant action of lamotrigine during ontogenesis in rats. *Epilepsy Res*. 1992;13:17-22.
- ²¹⁾ Ebert U, Reissmuller E, Loscher W. The new antiepileptic drugs lamotrigine and felbamate are effective in phenytoin-resistant kindled rats. *Neuropharmacology*. 2000;39:1893-903.
- ²²⁾ Levi G, Gallo V, Raiteri M. A reevaluation of veratridine as a tool for studying the depolarization-induced release of neurotransmitters from nerve endings. *Neurochem Res*. 1980;5:281-95.

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：ラモトリギン

試験の種類	試験系/動物種	投与方法	実施施設	報告書番号	資料番号
効力を裏付ける試験					
抗痙攣作用 最大電撃刺激痙攣に対する作用 ペンチレンテトラゾール誘発痙攣に対する作用 扁桃核キンドリング発作に対する作用 扁桃核キンドリングの形成に対する作用 EL マウスの痙攣に対する作用 反復投与による抗痙攣作用の変化	マウス	静脈内	■■■■	■■■■77-91	4.2.1.1.1
	マウス	腹腔内	GWR	SR1999/00095/00	4.2.1.1.2
	ラット	経口	GWRD	SR1998/00036/01	4.2.1.1.3
	ラット	腹腔内	GWR	SR2001/00032/00	4.2.1.1.4
	マウス	腹腔内	GWR	SR1999/00096/00	4.2.1.1.5
	マウス、ラット	経口	WR	BPHP85-38	4.2.1.1.6/ref
作用機序 Na ⁺ チャネルに対する作用 グルタミン酸遊離抑制作用 Shaffer 側枝－交連線維刺激によるシナプス伝達及びてんかん様バーストに対する作用 ベラトリジン誘発てんかん様バーストに対する作用	CHO-K1 細胞	<i>in vitro</i>	WR	-	4.2.1.1.7/ref
	ラット大脳皮質スライス	<i>in vitro</i>	WR	-	4.2.1.1.8/ref
	ラット海馬スライス	<i>in vitro</i>	WR	-	4.2.1.1.7/ref
	ラット海馬スライス	<i>in vitro</i>	UST	-	4.2.1.1.9/ref
代謝物の薬効薬理試験 N2-グルクロン酸抱合体（M1）の最大電撃痙攣に対する作用	マウス	静脈内	■■■■	■■■■77-91	4.2.1.1.1

CHO-K1 細胞：組換えラット脳 typeIIA Na⁺チャネルを発現させたチャイニーズハムスター卵巣細胞

■■■■：■■■■、GWR：Glaxo Wellcome Research (現 GlaxoSmithKline、英国)、GWRD：Glaxo Wellcome Research and Development (現 GlaxoSmithKline、英国)、WR：Wellcome Research Laboratories (現 GlaxoSmithKline、英国)、UST：University of Science and Technology, School of Medicine (ヨルダン)

2.6.3.1. 薬理試験：一覧表（続き）

被験物質：ラモトリギン

試験の種類	動物種	投与方法	実施施設	報告書番号	資料番号
副次的薬理試験					
各種受容体に対する親和性	モルモット、ウシ、 ラット脳膜分画	<i>in vitro</i>	WR	BBDR/94/0002	4.2.1.2.1
一般症状及び中枢神経系に及ぼす影響 一般症状及び行動に及ぼす影響 自発運動量に対する作用 睡眠増強作用（チオペンタール誘発睡眠） 鎮痛作用（酢酸 writhing 法） 体温に対する作用	マウス マウス マウス マウス ラット	経口 経口 経口 経口 経口	■■■■	■■■■77-51	4.2.1.2.2
自律神経系及び平滑筋に及ぼす影響 摘出回腸に対する作用 摘出輸精管に対する作用 摘出血管に対する作用 摘出気管に対する作用 摘出胃に対する作用	モルモット ラット ラット モルモット ラット	<i>in vitro</i> <i>in vitro</i> <i>in vitro</i> <i>in vitro</i> <i>in vitro</i>	■■■■	■■■■77-51	4.2.1.2.2
呼吸・循環器系に及ぼす影響 呼吸、血圧、心拍数、血流量、心電図に及ぼす影響	麻酔カニクイザル	静脈内	■■■■	■■■■77-51	4.2.1.2.2
消化器系に及ぼす影響 生体位胃運動に対する作用 生体位小腸運動に対する作用 消化管輸送能に及ぼす影響（炭末法）	ラット モルモット マウス、ラット	経口 経口 経口	■■■■ ■■■■ WR	■■■■77-51 ■■■■77-51 BPHP85-08	4.2.1.2.2 4.2.1.2.2 4.2.1.2.3/ref
水及び電解質代謝に及ぼす影響 尿量、Na ⁺ 、K ⁺ 、Cl ⁻ 排泄量	ラット	経口	■■■■	■■■■77-51	4.2.1.2.2
安全性薬理試験					
hERG 電流に及ぼす影響	HEK-293 細胞	<i>in vitro</i>	GSK	FD2005/00214/00	4.2.1.3.1
薬力学的薬物相互作用試験					
他の抗てんかん薬との併用効果	マウス	腹腔内	SMC	-	4.2.1.4.1/ref

■■■■：■■■■■■■■■■、WR：Wellcome Research Laboratories (現 GlaxoSmithKline、英国)、GSK：GlaxoSmithKline (英国)、SMC：School of Medicine Catanzaro (イタリア)

2.6.3.2. 効力を裏付ける試験

被験物質：ラモトリギン

試験の種類		投与方法/投与量	結果	資料番号
抗痙攣作用	マウスの最大電撃刺激痙攣に対する作用 [#]	静脈内 10mg/kg	強直性伸展痙攣を抑制した。	4.2.1.1.1
	マウスのペンチレンテトラゾール誘発痙攣に対する作用	腹腔内 3, 10, 30mg/kg	全身性間代性痙攣の発現潜時を延長した（ED ₅₀ 値；ラモトリギン：8mg/kg, PHT：8mg/kg, CBZ：63mg/kg）。Twitch の発現潜時は延長しなかった。	4.2.1.1.2
	扁桃核キンドリングラットにおける発作抑制作用	経口 5, 10, 20mg/kg	キンドリング発作ステージを低下させ、後発射持続時間を短縮させた（後発射持続短縮作用の ED ₅₀ 値；14.1mg/kg）。	4.2.1.1.3
	ラット扁桃核キンドリングの形成に対する作用	腹腔内、16 日間 20mg/kg/日	経日のキンドリング発作ステージの上昇及び後発射持続時間の増加を抑制した。	4.2.1.1.4
	EL マウスの痙攣に対する作用	腹腔内 2, 6, 20mg/kg	放り上げ刺激による痙攣を抑制した（ED ₅₀ 値；ラモトリギン：6.3mg/kg, PHT：32mg/kg, CBZ：40.5mg/kg）。	4.2.1.1.5
	反復投与による抗痙攣作用の変化（マウス） （最大電撃痙攣に対する作用）	経口 28 日間	反復投与しても抗痙攣作用の ED ₅₀ 値は変化しなかった（ED ₅₀ 値；2.2～3.8mg/kg）。	4.2.1.1.6/ref
	反復投与による抗痙攣作用の変化（ラット） （最大電撃痙攣に対する作用）	経口 26 日間	反復投与しても抗痙攣作用の ED ₅₀ 値は変化しなかった（ED ₅₀ 値；2.6～3.5mg/kg）。	
作用機序	CHO-K1 細胞における Na ⁺ 電流抑制作用	<i>in vitro</i> 1～1000μmol/L	Na ⁺ 電流の最大振幅を濃度依存的に抑制した（－90mV の保持電位で IC ₅₀ 値；約 500μmol/L）。	4.2.1.1.7/ref
	CHO-K1 細胞における Na ⁺ チャネルの活性化に対する作用	<i>in vitro</i> 50μmol/L	作用なし	
	CHO-K1 細胞における Na ⁺ チャネルの速い不活性化に対する作用	<i>in vitro</i> 50μmol/L	作用なし	
	CHO-K1 細胞における Na ⁺ チャネルの遅い不活性化に対する作用	<i>in vitro</i> 50μmol/L	遅い不活性化曲線を過分極側に移動し、遅い不活性化チャネルへの親和性は 12μmol/L と推定された。	
	CHO-K1 細胞における Na ⁺ チャネルの遅い不活性化からの回復に対する作用	<i>in vitro</i> 50μmol/L	遅い不活性化からの回復を遅延させた。	
	CHO-K1 細胞における電位依存性 Na ⁺ チャネル抑制作用	<i>in vitro</i> 0.1～100μmol/L	保持電位を浅くすると Na ⁺ 電流抑制作用が増強された（－60mV の保持電位で IC ₅₀ 値；約 100μmol/L）。	
	CHO-K1 細胞における頻度依存性 Na ⁺ チャネル抑制作用	<i>in vitro</i> 50μmol/L	チャネルの遅い不活性化を誘発する刺激の回数を増加させると Na ⁺ 電流抑制作用が増強された。	

#：ラモトリギンイセチオン酸塩を用いて実施し、投与量は遊離塩基換算量として示した。

PHT：フェニトイン、CBZ：カルバマゼピン、CHO-K1 細胞：組換えラット脳 typeIIA Na⁺チャネルを発現させたチャイニーズハムスター卵巣細胞

2.6.3.2. 効力を裏付ける試験（続き）

被験物質：ラモトリギン

試験の種類		投与方法/投与量	結果	資料番号
作用機序	ラット大脳皮質スライスにおけるグルタミン酸遊離抑制作用	<i>in vitro</i> 10～300 μ mol/L	ベラトリン誘発グルタミン酸遊離を濃度依存的に抑制した（ED ₅₀ 値；21 μ mol/L）。基礎遊離及び高濃度 K ⁺ 誘発グルタミン酸遊離には作用しなかった。	4.2.1.1.8/ref
	ラット海馬スライスにおける Shaffer 側枝—交連線維刺激によるシナプス伝達及びてんかん様バーストに対する作用	<i>in vitro</i> 50 μ mol/L	てんかん様バーストの後半成分を選択的に抑制した。通常のシナプス伝達には作用しなかった。	4.2.1.1.7/ref
	ラット海馬スライスにおけるベラトリジン誘発てんかん様バーストに対する作用	<i>in vitro</i> 10 μ mol/L	てんかん様バーストを抑制した。	4.2.1.1.9/ref
代謝物の薬効薬理試験	N2-グルクロン酸抱合体（M1）の最大電撃痙攣に対する作用（マウス）	静脈内 17, 51, 170mg/kg	作用なし	4.2.1.1.1

2.6.3.3. 副次的薬理試験

被験物質：ラモトリギン

試験の種類		投与方法/投与量	結果	資料番号
各種受容体に対する親和性		<i>in vitro</i>	5-HT ₃ 受容体に対して親和性を示した（IC ₅₀ 値；18 μ mol/L）が、その他の 16 種の受容体には親和性を示さなかった。	4.2.1.2.1

2.6.3.3. 副次的薬理試験（続き）

被験物質：ラモトリギン

試験の種類	試験方法/観察項目		動物種/系統	投与方法	投与量 (mg/kg)	性別及 び 動物数	特記すべき所見	GLP 適用	資料番号
一般症状及び 中枢神経系	一般症状及び行動に及ぼす影響		ICR マウス	経口	3, 10, 30	♂6	30mg/kg で自発運動の減少	非適	4.2.1.2.2
	自発運動量に対する作用						作用なし		
	睡眠増強作用 (チオペンタール誘発睡眠)						作用なし		
	鎮痛作用 (酢酸 writhing 法)						作用なし		
	体温に対する作用		Wistar ラット	経口	3, 10, 30	♂6	作用なし		
自律神経系 及び平滑筋 [#]	摘出回腸に対する作用	自動運動	Hartley モルモット	in vitro	0.67, 6.7, 67 μg/mL	♂4	6.7μg/mL で静止張力の軽度な低下、67μg/mL で静止張力の低下、自動運動の減少		
		ACh 収縮					67μg/mL で軽度な収縮抑制		
		His 収縮					67μg/mL で軽度な収縮抑制		
		BaCl ₂ 収縮					67μg/mL で軽度な収縮抑制		
	摘出輸精管に対する作用	静止張力	Wistar ラット	in vitro	0.67, 6.7, 67 μg/mL	♂4	作用なし		
		NE 収縮					作用なし		
	摘出血管に対する作用	静止張力	Wistar ラット	in vitro	0.67, 6.7, 67 μg/mL	♂4	作用なし		
		NE 収縮					6.7μg/mL 以上で収縮抑制		
		K ⁺ 収縮					6.7μg/mL 以上で収縮抑制		
	摘出気管に対する作用	静止張力	Hartley モルモット	in vitro	0.67, 6.7, 67 μg/mL	♂4	6.7μg/mL 以上で静止張力の低下		
		ACh 収縮					作用なし		
	摘出胃に対する作用	自動運動	Wistar ラット	in vitro	0.67, 6.7, 67 μg/mL	♂4	作用なし		
		5-HT 収縮					作用なし		
呼吸・ 循環器系 [#]	呼吸、血圧、心拍数、血流量、心電図に及ぼす影響		麻酔 カニクイザル	静脈内	0.67, 2.01, 6.7	♂3	作用なし		

ACh：アセチルコリン、His：ヒスタミン、NE：ノルエピネフリン、5-HT：セロトニン

[#]：ラモトリギンイセチオン酸塩を用いて実施し、投与量は遊離塩基換算量として示した。

2.6.3.3 副次的薬理試験（続き）

被験物質：ラモトリギン

試験の種類	試験方法/観察項目	動物種/系統	投与方法	投与量 (mg/kg)	性別及び 動物数	特記すべき所見	GLP 適用	資料番号
消化器系	生体位胃運動に対する作用	Wistar ラット	経口	3, 10, 30	♂6	作用なし	非適	4.2.1.2.2
	生体位小腸運動に対する作用	Hartley モルモット	経口	3, 10, 30	♂6	作用なし		
	消化管輸送能に及ぼす影響 (炭末法)	No.1 マウス	経口	4.5, 11, 55	♂6	11mg/kg 以上で炭末輸送を抑制	非適	4.2.1.2.3/ref
		Wistar ラット	経口	5, 10, 20, 40	♀5	作用なし		
水及び電解質 代謝	尿量、Na ⁺ 、K ⁺ 、Cl ⁻ 排泄量	Wistar ラット	経口	3, 10, 30	♂6	作用なし	非適	4.2.1.2.2

2.6.3.4. 安全性薬理試験

被験物質：ラモトリギン

試験の種類	試験方法/観察項目	動物種/系統	投与方法	濃度 (μmol/L)	例数	特記すべき所見	GLP 適用	資料番号
循環器系	hERG 電流に及ぼす影響	HEK-293 細胞	<i>in vitro</i>	7.1677, 21.5031, 71.677, 215.031, 716.77	4～6	テール電流を濃度依存的に抑制した（IC ₅₀ 値； 323μmol/L）。	適	4.2.1.3.1

2.6.3.5. 薬力学的薬物相互作用試験

被験物質：ラモトリギン

試験の種類	投与方法/投与量	結果	資料番号
他の抗てんかん薬との併用効果	腹腔内 0.5, 1.25mg/kg	試験した全ての薬物（PHT、CBZ、VPA、PB、DZP）の抗痙攣作用は、ラモトリギンとの併用によって増強された。保護係数は抗てんかん薬単独投与群と比較して同等もしくは大きかった。	4.2.1.4.1/ref

PHT：フェニトイン、CBZ：カルバマゼピン、VPA：バルプロ酸、PB：フェノバルビタール、DZP：ジアゼパム