

プレガバリン

リリカ[®]カプセル 25 mg

リリカ[®]カプセル 75 mg

リリカ[®]カプセル 150 mg

第 2 部（モジュール 2）CTD の概要

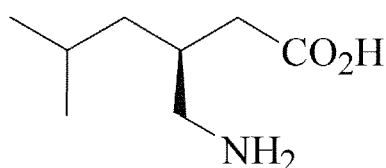
2.6 非臨床試験の概要文

2.6.1 緒言

ファイザー株式会社

2.6.1 緒言

プレガバリン (CI-1008 または PD 0144723 ; 商標名 : リリカ) は, 電位依存性カルシウムチャネルの補助的サブユニットである $\alpha_2\text{-}\delta$ 蛋白と高親和性で結合し, 海外において鎮痛作用, 抗けいれん作用および抗不安作用を併せ持つ薬剤として開発されている。プレガバリンは, 天然型アミノ酸の L - ロイシンおよび γ - アミノ酪酸 (gamma-aminobutyric acid, GABA) の構造類似化合物であるが, GABA またはベンゾジアゼピン受容体には結合しない。また, GABA の分解に影響せず, 脳神経細胞への GABA の再取り込みに対して急性的な影響を及ぼさない。プレガバリンの化学名は (S)-3-(aminomethyl)-5-methylhexanoic acid, 分子量は 159.23, 分子式は $\text{C}_8\text{H}_{17}\text{NO}_2$ である (図 1)。



分子式 : $\text{C}_8\text{H}_{17}\text{NO}_2$

分子量 : 159.23

図 1 プレガバリンの化学構造式

プレガバリンは, 国内において末梢性神経障害性疼痛である帯状疱疹後神経痛の治療薬として開発されている。プレガバリンは経口的に投与され, 国内および外国臨床試験における忍容性および有効性の結果に基づいて決定されたプレガバリンの最大臨床用量は 600 mg/日である。日本人に最大臨床用量 (300 mg, 1 日 2 回) を反復経口投与したとき, 定常状態における最高血漿中濃度 (C_{max}) は 10.3 $\mu\text{g/mL}$, 推定 AUC_{0-24} は約 118 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/mL}$ であった (2.5.3.1.2 項参照, 治験 No.A0081087, AUC_{0-12} 58.8 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/mL}\times 2$)。また, 国内外の臨床試験において, 150 mg/日から 600 mg/日の用量範囲で帯状疱疹後神経痛に対する有効性が確認されている。

今回の申請にあたり, プレガバリンの有効性および安全性に関する特徴を明らかにする目的で, 薬理, 薬物動態および毒性の各非臨床試験を実施した。プレガバリンについて予定している効能・効果および用法・用量を次頁に示す。

プレガバリンの効能・効果（案）および用法・用量（案）

【効能・効果（案）】

帯状疱疹後神経痛

【用法・用量（案）】

通常、成人には初期用量としてプレガバリン 1 日 150 mg を 1 日 2 回に分けて経口投与し、その後 1 週間以上かけて 1 日用量として 300 mg まで漸増する。なお、年齢、症状により適宜増減するが、1 日最高用量は 600 mg を超えないこととし、いずれも 1 日 2 回に分けて経口投与する。

【用法・用量に関連する使用上の注意】

- (1) 本剤の投与を中止する場合には、少なくとも 1 週間以上かけて徐々に減量すること。[「重要な基本的注意」の項参照]
- (2) 腎機能障害患者に本剤を投与する場合は、下表に示すクレアチニンクリアランス値を参考として本剤の投与量及び投与間隔を調節すること。また、血液透析を受けている患者では、クレアチニンクリアランス値に応じた 1 日用量に加えて、血液透析を実施した後に本剤の追加投与を行うこと。複数の用量が設定されている場合には、低用量から開始し、忍容性が確認され、効果不十分な場合に増量すること。なお、ここで示している用法・用量はシミュレーション結果に基づくものであることから、各患者ごとに慎重に観察しながら、用法・用量を調節すること。[「薬物動態」の項参照]

クレアチニン クリアランス (mL/min)	≥60	≥30 - <60	≥15 - <30	< 15	血液透析後の 補充用量*
1 日投与量	150～600 mg	75～300 mg	25～150 mg	25～75 mg	
初期用量	1 回 75 mg 1 日 2 回	1 回 25 mg 1 日 3 回 又は 1 回 75 mg 1 日 1 回	1 回 25 mg 1 日 1 回 もしくは 2 回 又は 1 回 50 mg 1 日 1 回	1 回 25 mg 1 日 1 回	25 又は 50 mg
維持量	1 回 150 mg 1 日 2 回	1 回 50 mg 1 日 3 回 又は 1 回 75 mg 1 日 2 回	1 回 75 mg 1 日 1 回	1 回 25 又は 50 mg 1 日 1 回	50 又は 75 mg
最高投与量	1 回 300 mg 1 日 2 回	1 回 100 mg 1 日 3 回 又は 1 回 150 mg 1 日 2 回	1 回 75 mg 1 日 2 回 又は 1 回 150 mg 1 日 1 回	1 回 75 mg 1 日 1 回	100 又は 150 mg

* 2 日に 1 回、本剤投与 6 時間後から 4 時間血液透析を実施した場合のシミュレーション結果に基づく。

プレガバリン

リリカ[®]カプセル 25 mg

リリカ[®]カプセル 75 mg

リリカ[®]カプセル 150 mg

第 2 部（モジュール 2）CTD の概要

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.2 薬理試験概要文

ファイザー株式会社

目 次

2.6.2	薬理試験の概要文	5
2.6.2.1	まとめ	5
2.6.2.2	効力を裏付ける試験	12
2.6.2.3	副次的薬理試験	38
2.6.2.4	安全性薬理試験	50
2.6.2.5	薬力学的薬物相互作用	56
2.6.2.6	考察および結論	57
2.6.2.7	図表	65

略語および用語の定義一覧

略号・用語	省略していない表現または用語の定義
5-HT	5-Hydroxytryptamine (serotonin)：セロトニン
95%-C.I.	95%信頼区間
AMPA	Alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid
APV	DL-2-Amino-5-phosphonovaleric acid
AUC	Area under the concentration-time curve：血漿中濃度 - 時間曲線下面積
AUC _{0-12h}	0 時間から濃度測定が可能な最終時間までの血漿中濃度 - 時間曲線下面積： AUC ₀₋₂₄ は、0 時間から投与後 24 時間までの血漿中濃度 - 時間曲線下面積
[Ca ²⁺] _i	細胞内カルシウムイオン濃度
CCI	Chronic constrictive injury：慢性絞扼神経損傷
CDP	Chlordiazepoxide：クロルジアゼポキシド
CGRP	Calcitonin gene-related peptide：カルシトニン遺伝子関連ペプチド
CHO	Chinese hamster ovary：チャイニーズハムスター卵巣
CNQX	6-Cyano-7-nitroquinoxaline-2,3-dione
COX	Cyclooxygenase：シクロオキシゲナーゼ
C _{max}	最高血漿中濃度
DRG	Dorsal root ganglion：脊髄後根神経節
DRR	Dorsal root reflex：後根反射
ED ₅₀ 値	50%有効用量
EPSP	Excitatory post-synaptic potential：興奮性シナプス後電位
GABA	Gamma-aminobutyric acid：γ-アミノ酪酸
HEK	Human embryonic kidney：ヒト胎児腎臓
hERG	Human ether-a-go-go related gene：ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子
IC ₅₀ 値	50%阻害濃度
IPSP	Inhibitory post-synaptic potential：抑制性シナプス後電位
K _d 値	解離定数
K _i 値	阻害定数
LPS	Lipopolysaccharide：リポポリサッカライド
LTP	Long-term potentiation：長期増強
MED	Minimum effective dose：最小有効用量
NMDA	N-methyl-D-aspartic acid：N-メチル-D-アスパラギン酸
SNL	Segmental spinal nerve ligation：脊髄神経結紮

2.6.2 薬理試験の概要文

2.6.2.1 まとめ

帯状疱疹後神経痛は、帯状疱疹急性期における神経系の一次障害または機能異常を原因とする代表的な神経障害性疼痛の一つである。痛覚感受性の一次求心性ニューロン（A δ 線維，C 線維）の損傷は、その投射部位に A β 線維の異常突起伸展をもたらす、また一次求心性ニューロンの異常興奮はこれに引き続く二次侵害受容ニューロンの反応性亢進を引き起こすと考えられている。これらにより、帯状疱疹に侵された皮膚分節において、通常では痛みとは認知しない軽微な触刺激により痛みが惹起される接触性アロディニアや、刺激には依存しない自発痛などが発現すると考えられている。

そこで、プレガバリンの効力を裏付ける試験として、アロディニアを発症する神経障害性疼痛モデルおよび炎症性もしくは組織損傷性に自発痛または痛覚過敏を発症する疼痛モデルを作成し、これらの動物モデルにおける鎮痛作用を評価した。また、プレガバリンは、本邦において抗けいれん薬として承認されているガバペンチンと構造的、薬理的に類似している。プレガバリンの作用機序としては、ガバペンチンの結合蛋白であり、電位依存性カルシウムチャネルの補助的サブユニットである $\alpha_2\delta$ サブユニットの関与を中心に検討した。副次的薬理試験においては、標準的な薬物、神経伝達物質の作用部位への活性を検討し、加えて海外において臨床的な有効性が確認されている抗けいれん作用と抗不安作用について評価した。さらに、自然睡眠に対する影響および薬物乱用の可能性を検討した。安全性薬理試験として記載したほとんどの試験は安全性薬理試験ガイドライン通知以前に実施されたため、一部の試験では GLP 非適用下で実施されている。しかし、これらの試験は安全性薬理試験ガイドラインに照らして、検討すべき作用を十分評価しうる試験デザインで実施していることから、安全性薬理試験の項目に記載した。すなわち、Heter-a-go-go 関連遺伝子（hERG）チャネル電流に対する影響を *in vitro* で評価し、S7A ガイドラインに規定されたコアバッテリー（中枢神経系、心血管系、呼吸系）に該当する試験項目に加え、消化管運動、腎臓に対する影響を *in vivo* で検討した。

また、プレガバリンはヒトではほとんど代謝されず、主に未変化体のまま尿中に排泄されることから、代謝物の薬理試験は実施しなかった。

(1) 神経障害性疼痛モデルにおける薬効薬理試験

接触性アロディニアは、さらに静的アロディニア（軽く点状に圧することで生じる）および動学的アロディニア（鈍い軽擦で生じる）に分類される。ラット坐骨神経の慢性絞扼神経損傷（CCI）モデルおよび脊髄神経結紮（SNL）モデルにおいて、プレガバリンの経口投与は手術側後肢に発生した静的アロディニアを用量依存的に抑制し、最小有効用量（MED）は CCI モデルで 3 mg/kg、SNL モデルで 10 mg/kg であった。一方、神経損傷を与えていない側での正常な痛覚閾値には影響を与えなかった。また低用量のプレガバリン（100 μ g/rat）を髄腔内に投与してもアロディニアは抑制され、プレガバリンの作用点は脊髄組織にあることが示唆された。さらにプレガバリンは、両モデルにおける動学的アロディニアに対しても用量依存的な抑制作用を示し、10 mg/kg（経口投与）以上の用量にて有意な効果を示した。一方、1, 3 mg/kg にて皮下投与したモルヒネは用量依

存的に静的アロディニアを抑制したが、正常側後肢の痛覚閾値も上昇させた。またモルヒネ（1, 3 mg/kg, 皮下投与）は、動のアロディニアに対する抑制作用は示さなかった。

(2) その他の自発痛および痛覚過敏モデルにおける有効性

1) ホルマリンテスト

ラット足蹠にホルマリンを投与することにより二相性の疼痛関連行動（自発痛）が発生した。本モデルにおいて、プレガバリン（1, 10, 30, 100 mg/kg）の皮下投与により、第 1 相には変化はなかったが、第 2 相が用量依存的に抑制され、MED は 10 mg/kg であった。一方、プレガバリンのエナンチオマーである PD 0144550 の場合は、100 mg/kg を皮下投与しても第 2 相がわずかに抑制されるのみであった。プレガバリン（3, 10, 30 mg/kg）は、経口投与によっても第 2 相を選択的、用量依存的に抑制し、MED は 10 mg/kg, 50%有効用量（ED₅₀ 値）は 19.1 ± 7.3 mg/kg（平均値±標準誤差）であった。

2) カラゲニン誘発痛覚過敏モデル

カラゲニンをラット足蹠に投与することにより誘発した熱刺激および圧力刺激に対する痛覚過敏に対し、プレガバリン（皮下投与）は用量依存的な抑制作用を示し、MED は 3 mg/kg であった。また本モデルにおいても、PD 0144550（10, 30, 100 mg/kg, 皮下投与）は抑制効果を示さなかった。

3) 術後痛モデル

ラット足蹠を切開縫合することにより生じた熱性痛覚過敏および接触性（静的）アロディニアに対して、プレガバリン（皮下投与）は用量依存的な抑制作用を示し、MED はそれぞれ、3 および 10 mg/kg であった。一方、モルヒネ（1, 3, 6 mg/kg, 皮下投与）は、熱性痛覚過敏に対する抑制作用を示したものの、接触性（静的）アロディニアに対しては 6 mg/kg にて一過性に抑制したのみであった。

4) サブスタンス P および N-メチル-D-アスパラギン酸（NMDA）誘発痛覚過敏モデル

サブスタンス P をラットの髄腔内投与することによって生じた熱性痛覚過敏は、プレガバリンをラットの腹腔内（1, 3, 10, 30, 100 mg/kg）もしくは髄腔内（1, 3, 10, 30, 100 µg/rat）に投与することにより用量依存的に抑制された。また、プレガバリン（30 mg/kg, 腹腔内投与）は NMDA 髄腔内投与で誘発した痛覚過敏も抑制した。

(3) 作用機序

1) $\alpha_2\delta$ サブユニット結合

プレガバリンは、 $\alpha_2\delta$ サブユニットと高い親和性で結合した。 $\alpha_2\delta$ サブユニットは電位依存性カルシウムチャンネルを構成し、その発現と機能に補助的な役割をなすサブユニットであり、ガバペ

ンチンの結合蛋白は $\alpha_2\delta$ サブユニットであると同定されている。プレガバリンは、ブタ大脳皮質から調製した形質膜において $[^3\text{H}]$ ガバペンチン結合を著明に阻害し、阻害定数(K_i 値)は $0.019 \pm 0.003 \mu\text{mol/L}$ ($0.003 \pm 0.0005 \mu\text{g/mL}$, 平均値 $\pm$ 標準誤差)であった。また、ブタ脳からクローニングした $\alpha_2\delta_1$ サブユニット^{注1)}に対する $[^3\text{H}]$ プレガバリン結合の解離定数(K_d 値)は $0.033 \mu\text{mol/L}$ ($0.005 \mu\text{g/mL}$)であった。プレガバリンはラット大脳皮質においても $[^3\text{H}]$ ガバペンチン結合を阻害し、その50%阻害濃度(IC_{50} 値)は $0.037 \mu\text{mol/L}$ ($0.006 \mu\text{g/mL}$)であった。一方、PD 0144550 の IC_{50} 値は $0.62 \mu\text{mol/L}$ ($0.099 \mu\text{g/mL}$)であり、約 1/20 の活性であった。

2) $\alpha_2\delta$ サブユニット結合活性と薬理学的活性の相関性

PD 0144550 は、ラットホルマリンテスト第2相およびカラゲニン誘発痛覚過敏に対する抑制作用が著しく減弱していた。さらにプレガバリンおよびその構造類似化合物の、 $\alpha_2\delta$ サブユニットへの結合活性とカラゲニン誘発痛覚過敏モデルにおける抑制率の間に、有意な相関関係が認められた。

3) $\alpha_2\delta$ サブユニット遺伝子改変マウスにおける作用

$\alpha_2\delta_1$ サブユニットの217番目のアルギニンをアラニンに置換(R217A)することにより、ガバペンチンの結合能が低下することが報告されている。 $\alpha_2\delta_1$ サブユニットの遺伝子にR217A変異を有するマウス(R217A変異マウス)では、CCIによる接触性(静的)アロディニアに対して、プレガバリンの抑制作用が認められなかった。

4) カルシウムイオン流入に対する作用

ラットおよびサルの大脳新皮質より調製したシナプトソームを用いて、カルシウムイオン流入に対するプレガバリンの作用を検討した。脱分極刺激による細胞内カルシウム濃度($[\text{Ca}^{2+}]_i$)上昇に対して、プレガバリン [$100 \mu\text{mol/L}$ ($16 \mu\text{g/mL}$)] は、それぞれ、17% (ラット) および 19% (サル) 抑制した。

5) 神経伝達物質放出に対する作用

ラット三叉神経核、大脳皮質、小脳、海馬、脊髄の切片標本を用いて、脱分極、カプサイシンまたは電気刺激による神経伝達物質の放出に対するプレガバリンの作用を検討した。 $100 \mu\text{mol/L}$ ($16 \mu\text{g/mL}$) 以下のプレガバリンは、グルタミン酸、セロトニン、ドパミン、サブスタンス P またはカルシトニン遺伝子関連ペプチドの放出を抑制した。三叉神経核においては、脱分極刺激によるグルタミン酸放出のサブスタンス P による増強部分を著明に抑制した。また、カプサイシンによる脊髄からのサブスタンス P およびカルシトニン遺伝子関連ペプチドの放出に対しては、フロイント完全アジュバントにより予め末梢性炎症を惹起した側から採取した切片のみ抑制作用を示した。このように、プレガバリンの神経伝達物質の放出抑制作用は、*in vitro* での疼痛関連神経

注1) 哺乳類では $\alpha_2\delta$ サブユニットに4つのサブタイプが存在し、そのうちガバペンチンは $\alpha_2\delta_1$ および $\alpha_2\delta_2$ サブユニットに高い親和性で結合することが報告されている。

ペプチドの適用や *in vivo* での末梢性炎症などで、予め刺激された条件下で顕在化した。

6) 電気生理学的検討

CCI モデルを適用したラットの末梢神経の神経活動におけるプレガバリンの作用を検討した。この動物では、処置側肢への機械的痛覚刺激に反応して知覚神経の異常な遠心性活動電位（後根反射）が惹起された。プレガバリン（静脈内投与）は 10 mg/kg 以上の用量で、後根反射を有意に抑制した。

7) その他

プレガバリンはシステム L を介したロイシンの細胞内取り込みを競合的に阻害した [IC₅₀ 値：103 μmol/L (16 μg/mL)]。この特性は本薬の腸管および血液脳関門の透過性に関与していることが示唆される。

プレガバリンはγ-アミノ酪酸（GABA）輸送系に対して、急性的な作用は示さなかったが、長時間（60 分以上）のインキュベーションにより GABA トランスポーター（GAT-1）の細胞膜上（機能発現部位）への移行を増大させた。

また、プレガバリンはシクロオキシゲナーゼ、電位依存性ナトリウムチャネル、ドパミン、オピオイド、GABA もしくは興奮性アミノ酸受容体およびノルアドレナリン・ドパミン・セロトニンの再取り込みに作用せず、既存の鎮痛薬が有する薬理学的特性は有していなかった。

(4) 副次的薬理試験

1) 放射性リガンド結合アッセイ

38 種の一般的な薬物や神経伝達物質の放射性リガンド結合に対して、プレガバリン [0.01, 1, 100 μmol/L (0.0016, 0.16, 16 μg/mL)] は 30%を超える阻害または増強を示さなかった。また、ラット神経組織において神経伝達物質の再取り込みを変化させなかった。

2) 抗けいれん作用

プレガバリンの抗けいれん作用を、げっ歯類を用いた最大電撃けいれんモデルにおいて検討した。プレガバリンの ED₅₀ 値はおよそ 1~30 mg/kg であり、鎮痛作用の有効用量と一致した。

3) 抗不安作用

プレガバリンの抗不安作用は、ベンゾジアゼピンが有効性を示すげっ歯類を用いた Geller および Vogel コンフリクト試験、高架式十字迷路試験および尾懸垂試験において検討した。プレガバリンは 3~30 mg/kg の用量にて、これらのモデルで有効性を示した。

4) 睡眠への影響

類薬であるガバペンチンの副作用として、傾眠が認められていることから、ラットの自然睡眠

に対する影響を検討した。低用量のプレガバリン（3, 10, 30, 100 mg/kg, 経口投与）は総睡眠時間に大きく影響することなく、非急速眼球運動（ノンレム）睡眠を増加させ脳波における徐波活動を増加させた。この作用は、断眠の次に続く睡眠への影響に似ており、プレガバリンは生理的な睡眠を誘発することが示唆された。

5) 薬物乱用の可能性

プレガバリンは薬物乱用の危険性がある分子（GABA_A, GABA_B, オピオイド, グルタミン酸, カンナビノイドおよびニコチン受容体またはドパミンおよびセロトニン再取り込みトランスポーター）との結合活性を示さず、電気生理学的試験においてもベンゾジアゼピン, バルビツール酸またはグルタミン酸拮抗薬と共通の作用を示さなかった。ラットを用いたモルヒネ弁別試験において、プレガバリン（1~100 mg/kg, 皮下投与）はモルヒネ様自覚効果を示さなかった。また、ミダゾラムと生理食塩水を識別できるよう訓練されたアカゲザル弁別試験においてもプレガバリン（30~300 mg/kg, 経口投与）は般化されなかった。さらにサルを用いた静脈内自己摂取試験では、プレガバリン（1, 2, 4, 8 mg/kg/注射）を14日間かけて自己摂取させたところ、いずれの用量でも強化作用は認められなかった。ラットにおける退薬症候も、ペントバルビタールと比較して軽度であった。これらの結果から、プレガバリンは薬物乱用や身体依存性を起こす可能性は低いと考えられた。

(5) 安全性薬理試験

1) hERG カリウムチャネル

hERG カリウムチャネル電流に対して、60 および 600 $\mu\text{mol/L}$ （9.6 および 96 $\mu\text{g/mL}$ ）のプレガバリンは、ほとんど影響を及ぼさなかった。

2) 中枢神経系への影響

プレガバリンをマウスに経口投与後の30分間にて、行動および中枢作用を検査（耳介および角膜反射, 瞳孔径, tail pinch 反応, カタレプシー, 体温および電撃痙攣抑制）したところ、1000 mg/kg まで明らかな徴候は見られなかった。プレガバリンをラットに経口投与すると、100 mg/kg 以上の用量で自発運動が低下したが、低用量では明らかな変化は認められなかった。マウスにおいても自発運動を低下させたが、統計的な有意差が認められたのは 300 mg/kg 静脈内投与または 1000 mg/kg 経口投与した群のみであった。ラットでの運動失調を調べた試験では、25 mg/kg（経口投与）より高い用量から軽度の運動失調が認められた。また、Beam walking 法を用いて、プレガバリンの影響をさらに詳細に検討したところ、10 mg/kg（経口投与）から歩行運動の協調性の有意な減弱や平衡機能の障害との関連が示唆された。さらに、リスザルにおいて、プレガバリンの30および100 mg/kgの経口投与により、登る、つかむ行動および運動協調性の低下が用量依存的に認められた。

3) 心血管系への影響

覚醒ラットにおいて、プレガバリンの 300 mg/kg までの経口投与により、心拍数および血圧に変化はなかった。また、覚醒イヌにおいても、プレガバリンの 50 mg/kg の経口投与により、動脈圧、心拍数、心拍出量、末梢血管抵抗、左室収縮性および心電図に変化はなかった。さらにサルに 10 および 40 mg/kg のプレガバリンを静脈内投与したとき、一般症状に異常は見られず、薬物に関連する心血管系の変化もなかった。

4) 呼吸系への影響

麻酔イヌに対し、プレガバリンを 4 mg/kg/min を 50 分間静脈内持続注入したときの（累積 200 mg/kg）、肺気流、肺内外圧差を測定し、全肺抵抗、動的コンプライアンス、1 回換気量、呼吸数および分時換気量を算出した結果、肺機能に変化は認められなかった。

5) 消化管運動への影響

ラットに 100 および 300 mg/kg を経口投与した場合、胃排出能および小腸内輸送能の低下が認められた。また、30 および 100 mg/kg を経口投与した場合、大腸内容物の保持時間を有意に増大させた。しかしながら、ラットに最大 2 年間、日本人に最大臨床用量を投与したときの約 25 倍^{注1)}の曝露量となるプレガバリンを投与した試験において (2.6.6.5(2)3)項参照)、消化管への有害作用は認められていない。したがって、臨床用量においてプレガバリンが有害な消化管作用を示す可能性は低いと考えられた。

6) 腎臓への影響

ラットに 15 mg/kg および 150 mg/kg のプレガバリンを静脈内投与したとき、15 mg/kg では腎および心血管系パラメータに影響は認められなかったが、150 mg/kg では 8 例中 1 例で尿による被毛の汚れが認められた。また、150 mg/kg 静脈内投与により、心拍数、摂水量、尿量が有意に増加した。しかし本用量でのプレガバリンの最大血漿中濃度 (C_{max}) は 210 $\mu\text{g/mL}$ であり^{注2)}、日本人に最大臨床用量 (300 mg, 1 日 2 回) を投与したときの C_{max} ^{注3)} の約 20 倍であること、および血圧または尿中電解質排泄の変化は認められなかったことから、これらの影響は意味のある生理的有害作用とは考えられなかった。

以上プレガバリンは、生理的な痛みの発生を妨げることなく、神経障害や炎症、組織損傷などにより感作された異常な痛覚感受性を改善することが期待される。このような薬理作用機序は、既存の鎮痛薬とは異なり、 $\alpha_2\delta$ サブユニットとの結合により発現することが示唆された。また、安

注1) ラットのがん原性試験において、雌にプレガバリンの 900 mg/kg を混餌投与したときの AUC_{0-24} (2960 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/mL}$, 表 2.6.7.10D 参照) を、日本人に最大臨床用量 (300 mg, 1 日 2 回) を経口投与したときの定常状態における AUC_{0-12} (58.8 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/mL}$, 2.7.2.2.1.1(2)項参照) の 2 倍で除した。

注2) 7 日間静脈内投与毒性試験における、雌雄の血漿中濃度の平均。2.6.6.3(1)1)(b)項参照。

注3) 日本人に最大臨床用量 (300 mg, 1 日 2 回) を経口投与したとき、定常状態における C_{max} は 10.3 $\mu\text{g/mL}$ であった (2.7.2.2.1.1(2)項参照)。

全性薬理試験の結果から、プレガバリンの副作用として中枢神経系の抑制が予想されるが、薬効用量に近い用量での作用は軽度であったことから重篤な副作用は発現しないことが示唆される。これらの結果から、プレガバリンは安全性の高い新規な鎮痛薬となることが期待される。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

(1) 神経障害性疼痛モデルにおけるプレガバリンの有効性(4.2.1.1.1 報告書番号 RR 770-00294, 4.3.1 参考資料 RR 770-00312)

帯状疱疹後神経痛は、帯状疱疹急性期における神経系の一次障害または機能異常を原因として起こる神経障害性疼痛であり、臨床症状としては刺激には依存しない自発的な疼痛（自発痛）や通常では無害で軽微な機械的刺激（触刺激）により惹起される痛み（アロディニア）が特徴的である。触刺激によるアロディニア（接触性アロディニア）は、さらに静的アロディニア（皮膚を軽く点状に圧することで生じる）および動のアロディニア（皮膚への鈍い軽擦で生じる）に分類される^{注1)}が、どちらのタイプのアロディニアも、患者の通常の活動に関連して発生する痛みであり、正常な生活機能を損なうものと考えられる。

そこで、効力を裏付ける試験として神経障害性疼痛（神経損傷に関連する痛み）の動物モデルを作成し、静的および動のアロディニアに対するプレガバリンの作用を評価した。動物モデルは、ラットの末梢神経結紮による神経障害性疼痛モデルである坐骨神経の慢性絞扼神経損傷（CCI）モデル^{注2)}および脊髄神経結紮（SNL）モデル^{注3)}を用いた。

雄性 Sprague-Dawley 系ラットを用い、CCI モデルは片側の坐骨神経を緩く縛ること（絞扼）により作成した。また、SNL モデルは片側の第 5 および第 6 腰部脊髄神経を強く結紮することにより作成した。静的アロディニアは、刺激強度が徐々に増加するように von Frey hair を後肢足趾に押し当て、後肢の逃避行動（引っ込め）を示す最小の圧力刺激（閾値、g）を測定することにより評価した。3.63 g 以下の圧力で反応した場合、静的アロディニアと判断した。動のアロディニアは後肢足趾を綿球で軽く撫でたときに逃避行動を示すまでの時間（反応潜時、秒）を測定し、潜時 8 秒以下の場合、動のアロディニアを発症していると考えた。一方、無処置ラットでは、von Frey hair の 3.63 g 以下の刺激に対し逃避行動は認めらず、綿球の刺激に対しては 15 秒以下で逃避行動はほとんど示さなかった。

プレガバリン（3, 10, 30 mg/kg, 1 群 n = 8~10）の経口投与は、それぞれのモデルにおいて静的アロディニアを抑制し、CCI モデルでは 3 mg/kg, SNL モデルで 10 mg/kg 以上の用量で用量依存かつ有意な効果を示した。さらにプレガバリン 30 mg/kg では、両モデルともアロディニアは完全に抑制され、有意な効果は投与後 5 時間以上持続した。また、プレガバリンは、反対側肢の正常な痛覚閾値に対しては影響を与えなかった（図 1）。

注1) Ochoa JL, Yarnitsky D. Mechanical hyperalgesias in neuropathic pain patients; dynamic and static subtypes. *Ann Neurol* 1993; 33: 465-72.

注2) Bennett GJ, Xie Y-K. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. *Pain* 1988; 33: 87-107.

注3) Kim SH, Chung JM. An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat. *Pain* 1992; 50: 355-63.

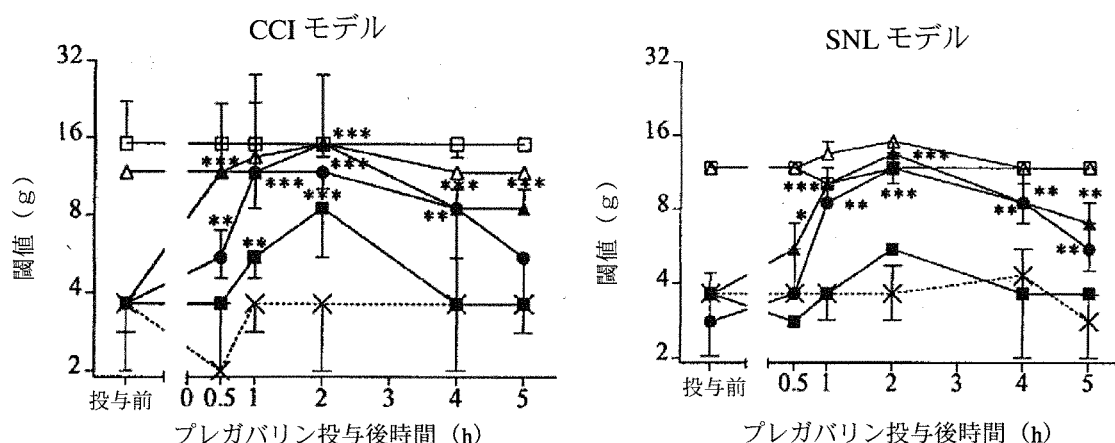


図 1 ラット CCI および SNL モデルにおける静的アロディニアに対するプレガバリンの作用

左図は CCI モデル、右図は SNL モデルにおいて、溶媒またはプレガバリンを経口投与したときの、病態側肢閾値への溶媒 (×)、プレガバリン 3 mg/kg (■)、10 mg/kg (●)、30 mg/kg (▲) の効果、反対側肢閾値への溶媒 (□)、プレガバリン 30 mg/kg (△) の効果を表す。* $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$, 溶媒群との比較, Mann-Whitney の U 検定。図中の点は各群 8-10 例の閾値の中央値、エラーバーは 25% および 75% 分位点を表す。(出典：報告書番号 RR 770-00294, Figure 2 より)

CCI モデルにおいて (1 群 $n=6\sim8$)、プレガバリン (30 mg/kg) 経口投与による静的アロディニアの抑制作用は、1 日 2 回投与の 2 日目でも確認された。また、低用量のプレガバリン (100 $\mu\text{g}/\text{rat}$) 髄腔内投与によってもアロディニアは抑制されたことから、プレガバリンの作用点は脊髄組織に存在していることが示唆された。(参考資料 RR 770-00312)。プレガバリン (6 mg/kg) を経口投与したときの脳内細胞外液 (ECF) 中濃度推移は、投与後約 60 分で最高濃度付近を示し、100 分で最高濃度に達した後、緩やかに減少しながら 300 分以上にわたって ECF 中に分布していたと報告されており^{注1)}、抗アロディニア作用の経時推移と一致する傾向を示したと考えられる。また、ECF は脳軟膜と脳室上衣を介して脳室および脳脊髄くも膜下腔を満たす脳脊髄液と自由に交通することから^{注2) 注3)}、脊髄組織におけるプレガバリンの薬物濃度時間推移は ECF 中と類似するものと推察される。したがって、本薬の作用点が脊髄に存在していることは脊髄組織への分布時間の点からも支持される。

モルヒネ (1, 3 mg/kg, 1 群 $n=8\sim10$) の皮下投与によっても静的アロディニアは抑制され、CCI モデルでは 1 mg/kg 以上、SNL モデルでは 3 mg/kg の用量で有意であった。一方、モルヒネの反対側肢における作用はプレガバリンとは異なり、モルヒネ (3 mg/kg) 皮下投与により正常であった閾値が上昇した (図 2)。

注1) Feng MR, Turluck D, Burleigh J, et al. Brain microdialysis and PK/PD correlation of pregabalin in rats. Eur J Drug Metab Pharmacokinet 2001;26(1-2):123-8.

注2) 美馬達夫, 高倉公明. 脳脊髄液循環と電解質輸送系. 日本臨床 1987;45:263-72.

注3) Abbott NJ. Evidence for bulk flow of brain interstitial fluid: significance for physiology and pathology. Neurochemistry International 2004;45(4):545-52.

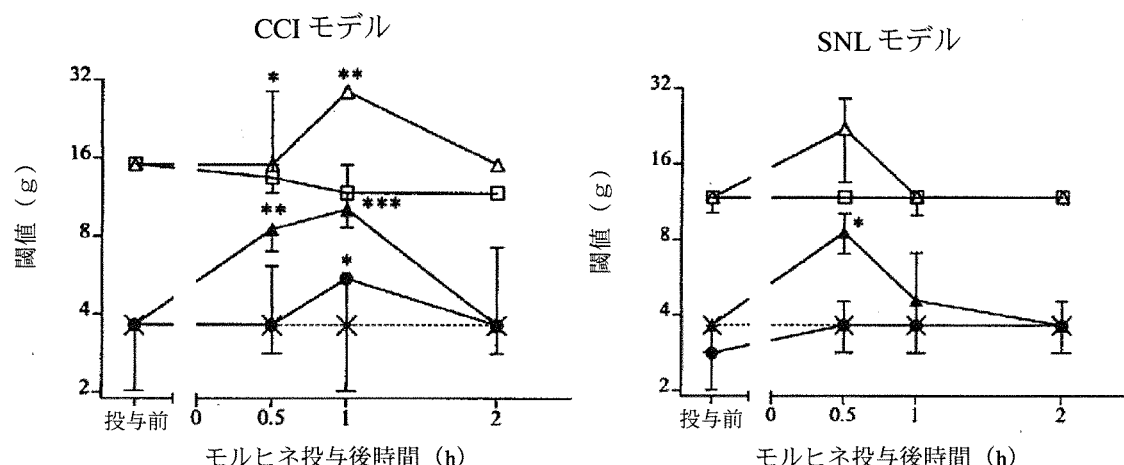


図 2 ラット CCI および SNL モデルにおける静的アロディニアに対するモルヒネの作用

左図は CCI モデル、右図は SNL モデルにおいて、溶媒またはモルヒネを皮下投与したときの、病態側肢閾値への溶媒 (×)、モルヒネ 1 mg/kg (●)、3 mg/kg (▲) の効果、反対側肢閾値への溶媒 (□) モルヒネ 3 mg/kg (△) の効果を表す。* $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$, 溶媒群との比較, Mann-Whitney の U 検定。図中の点は各群 8-10 例の閾値の中央値, エラーバーは 25% および 75% 分位点を表す。(出典: 報告書番号 RR 770-00294, Figure 2 より)

動的アロディニアに対しても、プレガバリン (3, 10, 30 mg/kg, 経口投与, 1 群 $n=6\sim8$) は CCI および SNL の両モデルで抑制効果を示し、10 mg/kg 以上の用量で用量依存的かつ有意な効果を示した (図 3)。この効果は投与後 2 時間以上持続した。一方、モルヒネ (1, 3 mg/kg, 皮下投与, 1 群 $n=6\sim8$) は CCI および SNL モデルどちらにおいても、動的アロディニアを抑制しなかった (図 4)。

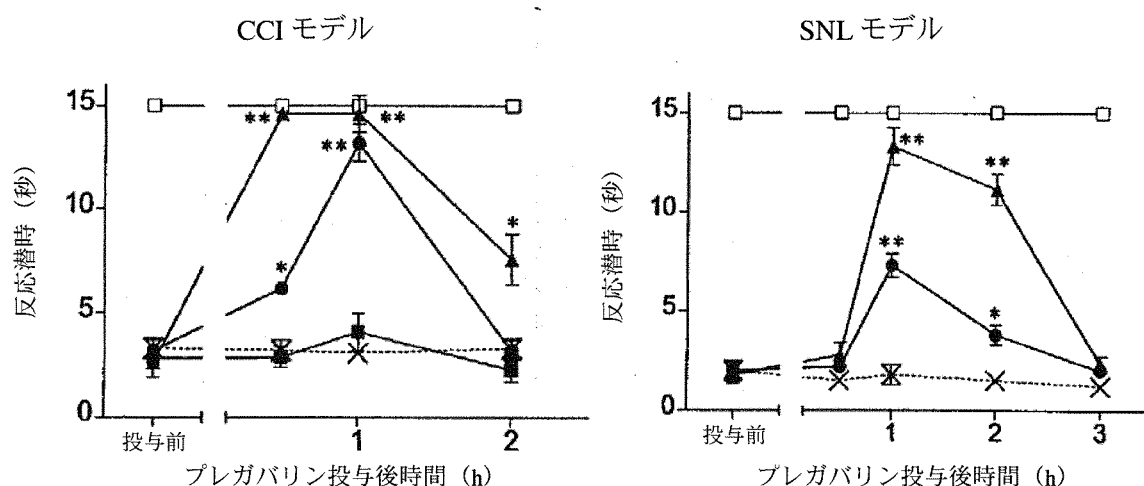


図 3 ラット CCI および SNL モデルにおける動的アロディニアに対するプレガバリンの作用

左図は CCI モデル、右図は SNL モデルにおいて、溶媒またはプレガバリンを経口投与したときの、病態側肢反応潜時への溶媒 (×)、プレガバリン 3 mg/kg (■)、10 mg/kg (●)、30 mg/kg (▲) の効果、反対側肢反応潜時への溶媒 (□) の効果を表す。* $P<0.05$, ** $P<0.01$, 溶媒群との比較, 一元配置分散分析の後, Dunnett の検定。図中の点は各群 6-8 例の反応潜時の平均値, エラーバーは標準誤差を表す。(出典: 報告書番号 RR 770-00294, Figure 3 より)

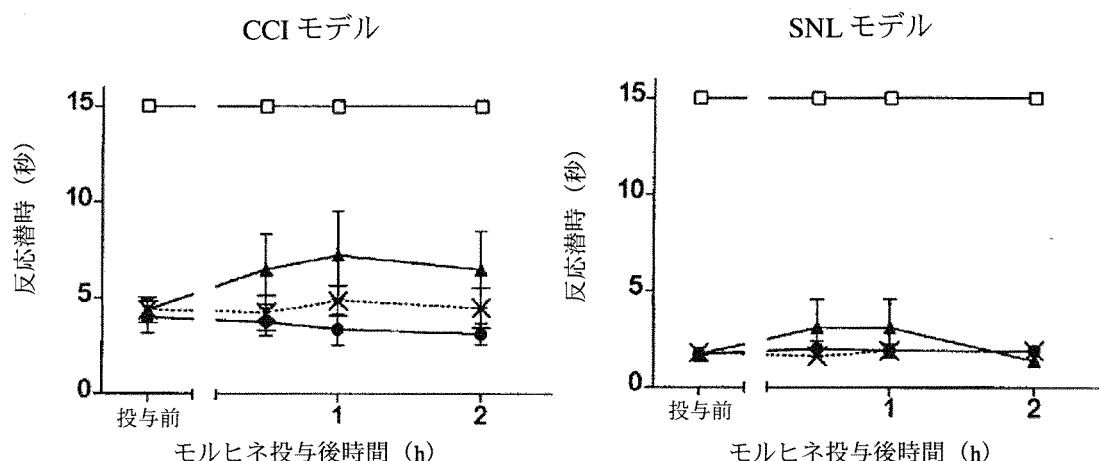


図 4 ラット CCI および SNL モデルにおける動的アロディニアに対するモルヒネの作用

左図は CCI モデル、右図は SNL モデルにおいて、溶媒またはモルヒネを皮下投与したときの、病態側肢反応潜時への溶媒 (×)、モルヒネ 1 mg/kg (●)、3 mg/kg (▲) の効果、反対側肢反応潜時への溶媒 (□) の効果を表す。図中の点は各群 6-8 例の反応潜時の平均値、エラーバーは標準誤差を表す。(出典: 報告書番号 RR 770-00294, Figure 3 より)

これらの結果から、プレガバリンは、正常な痛覚には影響を与えず、末梢神経損傷に起因した、軽く点状に圧する触刺激および鈍い軽擦による触刺激に対するアロディニア（それぞれ静的および動的アロディニア）を共に抑制することが示された。一方、モルヒネは軽擦触刺激に対するアロディニアには有効ではないと考えられた。

(2) その他の痛覚過敏モデルにおけるプレガバリンの有効性

1) ラット足蹠ホルマリンテストにおけるプレガバリンの有効性 (4.2.1.1.2, 4.3.2 参考資料 RR 770-00297, 740-03479)

げっ歯類の後肢足蹠にホルマリンを投与すると、疼痛（自発痛）に関連した二相性の行動反応（後肢を激しく舐めたり噛んだりする）が生じる。第 1 相（投与後 10 分以内）は、ホルマリンによる直接の末梢神経への刺激に起因すると考えられている。これに対して、第 2 相（投与後 10～45 分）は、第 1 相の侵害刺激で惹起された脊髄後角神経細胞の感受性増大が関連した疼痛であると考えられている^{注1) 2)}。ラットを用いた本モデルでの、プレガバリンの有効性を検討した。

雄性 Sprague-Dawley 系ラット（1 群 n = 8～10）の左後肢足蹠に 5%ホルマリンを皮下投与した（50 μ L）。その後投与足を舐めたり噛んだりする行動の時間を投与後 45 分まで測定した。溶媒、プレガバリン（1, 10, 30, 100 mg/kg）、またはプレガバリンのエナンチオマーである PD 0144550（1, 10, 30, 100 mg/kg）をホルマリン投与の 1 時間前に皮下投与し、効果を検討した。プレガバリンの投与により、第 1 相の疼痛関連行動に変化は認められなかったが、第 2 相が用量依存的に抑制され、最小有効用量（MED）は 10 mg/kg であった。一方、PD 0144550 は、100 mg/kg の皮下投与でごく軽度の第 2 相の抑制作用が認められたのみであった（図 5, 参考資料 RR 770-00297）。

注1) Dubuisson D, Dennis SG. The formalin test: A quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. Pain 1977; 4: 161-74.

注2) Wheeler-Aceto H, Cowan A. Standardization of the rat paw formalin test for the evaluation of analgesics. Psychopharmacology 1991; 104: 35-44.

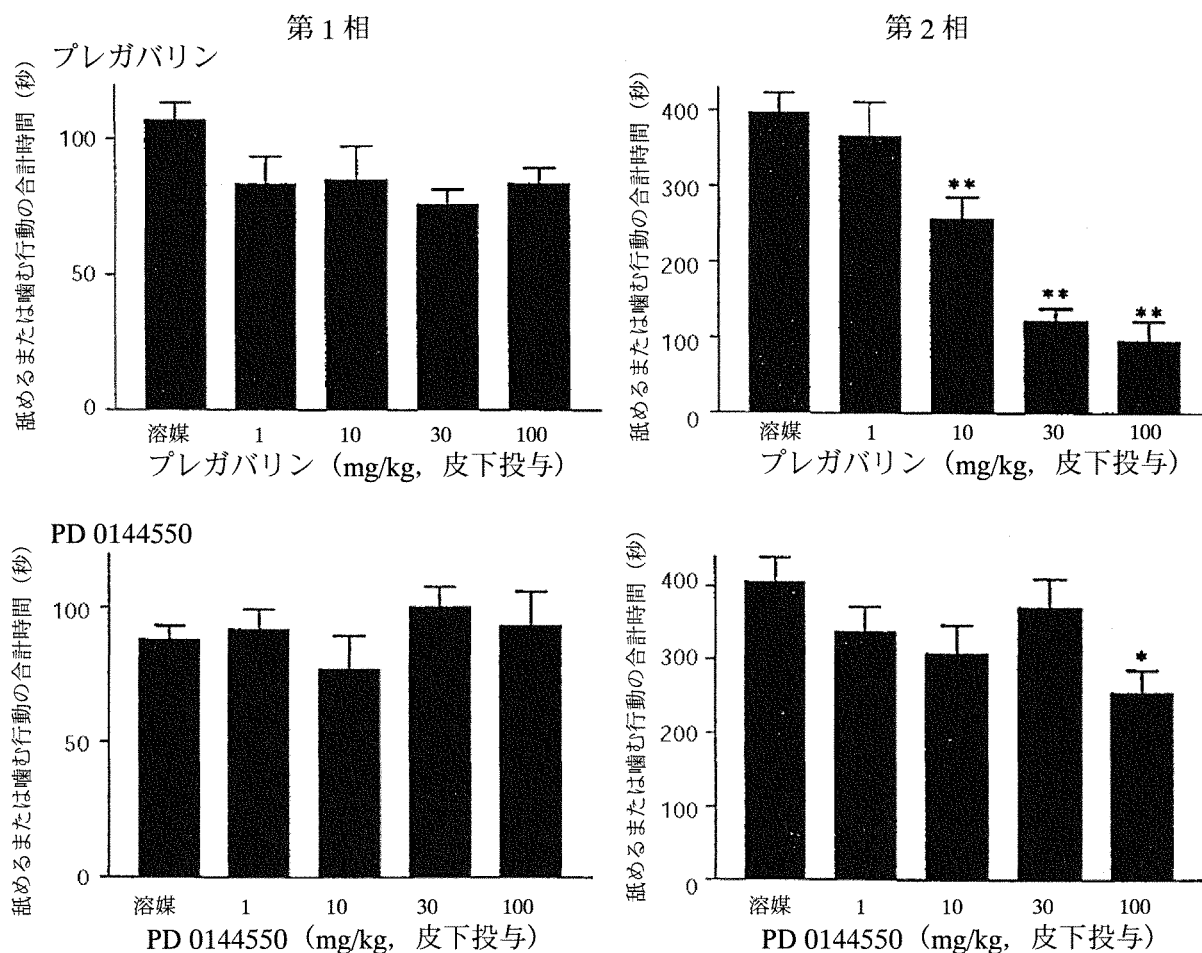


図 5 ラット足蹠ホルマリンテストにおける疼痛行動に対するプレガバリンおよび PD 0144550 の抑制効果

足蹠ホルマリン投与による第1相（左図）および第2相（右図）疼痛行動に対するプレガバリン（上図）および PD 0144550（下図）の1時間前皮下投与の効果。* $P<0.05$, ** $P<0.01$, 溶媒投与群との比較, 一元配置分散分析の後 Dunnett の検定。図中の棒は各群 8~10 例の平均値, エラーバーは標準誤差を表す。(出典: 参考資料 RR 770-00297, Figure 1 より)

雄性 Wistar 系ラット (1 群 $n=8$) の左後肢足蹠に 2.5%ホルマリンを皮下投与した (50 μ L) 試験において, プレガバリン (3, 10, 30 mg/kg) をホルマリン投与の2時間前に経口投与した。この試験においても, 第2相が用量依存的に抑制され(図 6), MED は 10 mg/kg, 50%有効用量 (ED_{50} 値) は 19.1 ± 7.3 mg/kg (平均値 $\pm$ 標準誤差) であった (参考資料 RR 740-03479)。

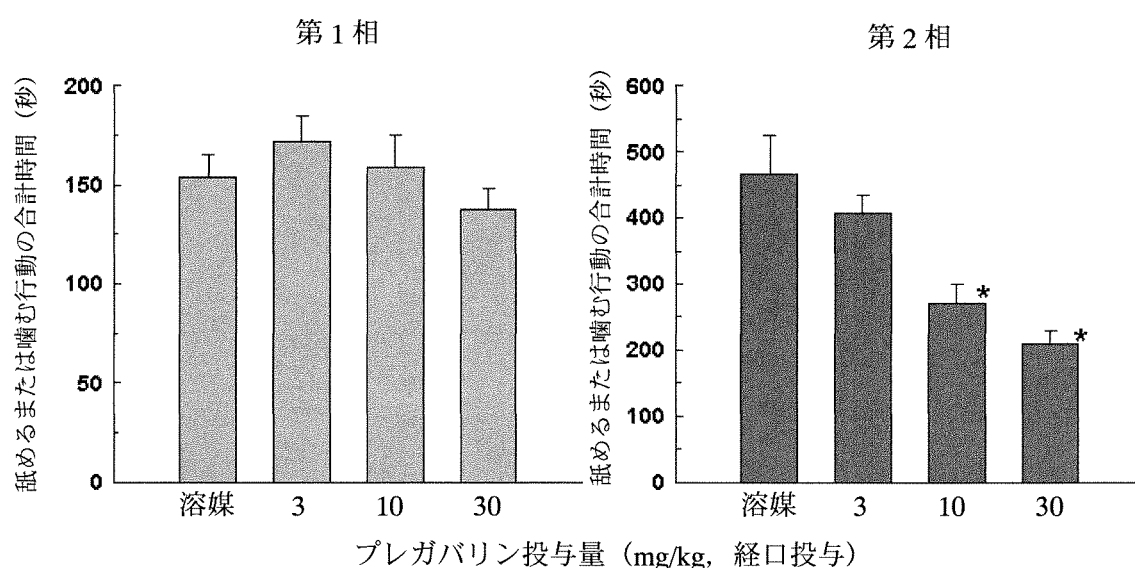


図 6 ラット足蹠ホルマリンテストにおける疼痛行動に対するプレガバリンの抑制効果

足蹠ホルマリン投与による第1相（左図）および第2相（右図）疼痛関連行動に対する、プレガバリンの2時間前経口投与の効果。* $P < 0.05$, 溶媒投与群との比較, 一元配置分散分析の後 Dunnett の検定。図中の棒は各群8例の平均値, エラーバーは標準誤差を表す。(出典: 参考資料 RR 740-03479, Figure 3 より)

プレガバリンはホルマリンテストにおいて第1相を抑制することなく第2相を選択的に抑制したことから、生理的な痛みの発生を妨げることなく、脊髄後角への持続的な侵害入力により惹起される異常な痛覚感受性を改善することが示唆される。

2) ラット足蹠カラゲニン誘発痛覚過敏モデルにおけるプレガバリンの有効性 (4.2.1.1.2 参考資料 RR 770-00297)

カラゲニンのラット足蹠投与は、炎症反応の進展に伴い、投与後2～3時間をピークとして数時間持続する、熱性または機械的痛覚過敏を誘発する^{注1) 2)}。この炎症性痛覚過敏モデルに対するプレガバリンの効果を検討した。

雄性 Sprague-Dawley 系ラット (1群 $n = 8 \sim 10$) の右後肢足蹠にカラゲニン (20 mg/mL, 100 μ L) を投与した。カラゲニン投与前および投与後2, 3, 4時間にて足蹠へ赤外線照射し (熱刺激), 後肢逃避行動の潜時を測定した。被験薬はカラゲニン投与2.5時間後に皮下投与した。カラゲニン投与前での潜時は約10秒であったが、カラゲニン投与2時間後に潜時は3秒程度にまで減少し、その後4時間以上持続する熱性痛覚過敏が発生した。プレガバリン (1, 3, 10, 30 mg/kg, 皮下投与) は用量依存的な熱性痛覚過敏に対する抑制作用を有し、MED は3 mg/kg であった。一方、PD 0144550 (10, 30, 100 mg/kg, 皮下投与) に作用は認められなかった (図 7)。

注1) Hargreaves K, Dubner R, Brown F, et al. A new and sensitive method for measuring thermal nociception in cutaneous hyperalgesia. Pain 1988; 32: 77-88.

注2) Kayser V, Guilbaud G. Local and remote modifications of nociceptive sensitivity during carrageenin-induced inflammation in the rat. Pain 1987; 28: 99-107.

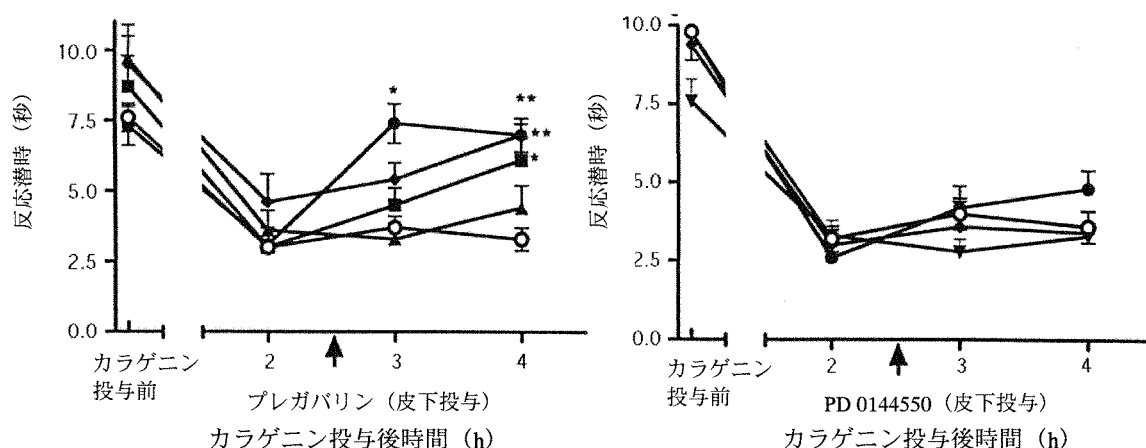


図 7 ラット足蹠カラゲニン誘発痛覚過敏モデルにおける熱性痛覚過敏に対するプレガバリンおよび PD 0144550 の抑制効果

カラゲニン誘発痛覚過敏モデルにおいて、左図はプレガバリン、右図は PD 0144550 を皮下投与したときの熱刺激による反応潜時に対する効果を表す (○: 溶媒投与群, ▲: 被験薬 1 mg/kg, ■: 3 mg/kg, ◆: 10 mg/kg, ●: 30 mg/kg, ▼: 100 mg/kg 投与群)。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 溶媒投与群との比較, 二元配置分散分析の後 Dunnett の検定。図中の点は各群 8~10 例の平均値, エラーバーは標準誤差を表す。(出典: 参考資料 RR 770-00297, Figure 2 より)

カラゲニンによる痛覚過敏の 2 つ目の評価項目として、侵害的な圧力刺激に対する逃避行動の閾値を測定した (1 群 $n = 8 \sim 10$)。Randall and Selitto 法を用いて、ラット後肢に徐々に圧力を負荷して、逃避行動を示す閾値 (g) を測定した。被験薬はカラゲニン足蹠投与 3.5 時間後に皮下投与した。カラゲニン投与前の閾値は約 150 g であったが、カラゲニンの投与 3 時間後より閾値は低下し、機械的痛覚過敏の発生が示された。プレガバリン (1, 3, 10, 30, 100 mg/kg) 皮下投与により、用量依存的に後肢逃避行動の閾値が上昇し、MED は 3 mg/kg であった。また、モルヒネ (3 mg/kg, 皮下投与) によっても閾値は有意に上昇した。一方、PD 0144550 (10, 30, 100 mg/kg, 皮下投与) に作用は認められなかった (図 8, 参考資料 RR 770-00297)。

これらの結果から、プレガバリンは末梢性炎症により亢進した痛覚過敏を改善することが示された。

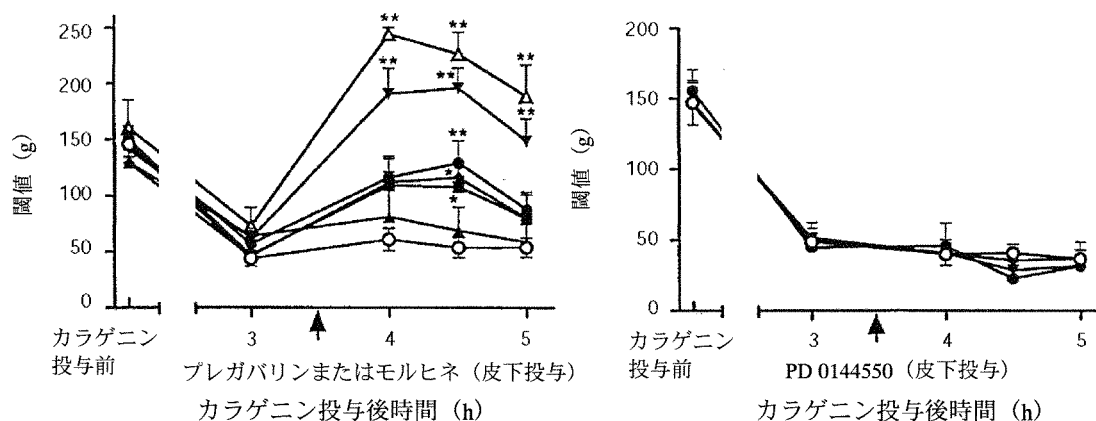


図 8 ラット足蹠カラゲニン誘発痛覚過敏モデルにおける圧力刺激による痛覚過敏に対するプレガバリン、PD 0144550 およびモルヒネの抑制効果

カラゲニン誘発痛覚過敏モデルにおいて、左図はプレガバリンまたはモルヒネ、右図は PD 0144550 を皮下投与したときの圧力刺激による反応閾値に対する効果を表す (○: 溶媒投与群, ▲: プレガバリンまたは PD 0144550 1 mg/kg, ■: 3 mg/kg, ◆: 10 mg/kg, ●: 30 mg/kg, ▼: 100 mg/kg, △: モルヒネ 3 mg/kg 投与群)。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 溶媒投与群との比較, 二元配置分散分析の後 Dunnett の検定。図中の点は各群 8~10 例の平均値, エラーバーは標準誤差を表す。(出典: 参考資料 RR 770-00297, Figure 3 より)

3) ラット外科手術後疼痛モデルにおけるプレガバリンの有効性 (4.2.1.1.3 報告書番号 RR 770-00296)

Brennan らが報告したラット外科手術後疼痛 (術後痛) モデルは^{注1)} 手術後数日間に及ぶ痛覚過敏やアロディニアが見られ、臨床で見られる術後痛に近い状態が見られることが知られている。本モデルにおけるプレガバリンの有効性を検討した。

雄性 Sprague-Dawley 系ラットに、麻酔下で右後肢足蹠表面の皮膚、筋膜および足底筋を縦に 1 cm 切開し、傷口を縫合する外科手術を施した。手術前および後に、熱性痛覚過敏を評価するため赤外線照射による後肢逃避行動までの潜時を測定した。また、接触性アロディニアを検討する場合には von Frey hair を用いて静的アロディニアを評価した。プレガバリン (3, 10, 30 mg/kg, 1 群 $n = 8 \sim 10$) を手術 1 時間前に単回皮下投与したとき、痛覚過敏およびアロディニアに対する用量依存的な抑制作用が認められ、MED はそれぞれ 3 mg/kg および 10 mg/kg であった。プレガバリンの最高用量 (30 mg/kg, 皮下投与) は、術後 3 日間の痛覚過敏反応を完全に抑制した (図 9)。

注1) Brennan TJ, Vandermeulen EP, Gebhart GF. Characterization of a rat model of incisional pain. Pain 1996; 64: 493-501.

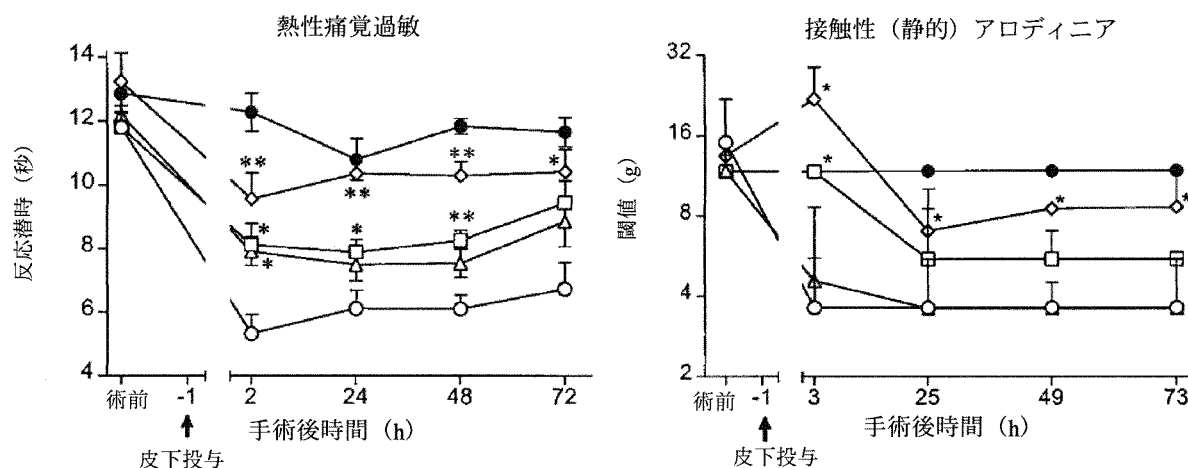


図 9 ラットの外科手術後疼痛モデルにおける熱性痛覚過敏および接触性 (静的) アロディニアにおけるプレガバリン前投与の有効性 (報告書番号 RR 770-00296)

術後痛モデルにおいて、溶媒またはプレガバリンを手術 1 時間前に皮下投与したときの、熱性痛覚過敏 (左図) および接触性 (静的) アロディニア (右図) に対する、反対側肢における溶媒 (●), および手術側肢における溶媒 (○), プレガバリン 3 mg/kg (△), 10 mg/kg (□), および 30 mg/kg (◇) 投与の効果。左図中の各点は各群 8~10 例の熱刺激に対する反応潜時の平均値, エラーバーは標準誤差を表し, 右図中の各点は各群 8~10 例の von Frey hair を適用したときの閾値の中央値, エラーバーは 25%および 75%分位点を表す。* $P<0.05$, ** $P<0.01$, 溶媒投与群 (手術側肢) との比較, 分散分析の後 Dunnett の検定 (左図) または Mann-Whitney の U 検定 (右図)。 (出典: 報告書番号 RR 770-00296, Figure 1 および 2 より)

同様に、手術 1 時間後にプレガバリンを皮下投与 (30 mg/kg, 1 群 $n=6$) したときも、痛覚過敏およびアロディニアは完全に消失したが、その作用持続時間は約 3 時間と短かった (図 10)。モルヒネは、手術 30 分前に皮下投与 (1, 3, 6 mg/kg, 1 群 $n=8\sim10$) したとき、熱性痛覚過敏を用量依存的に抑制した (MED: 1 mg/kg) もの、アロディニアでは最高用量 (6 mg/kg) で、一過性に抑制したのみであった (図 11)。本モデルにおける痛覚過敏およびアロディニアは末梢組織傷害による持続的な一次求心性ニューロンからの入力により、脊髄において異常な痛覚感受性の亢進が惹起されているものと考えられている。プレガバリンはこのような術後の痛覚異常に対しても、有効であることが示唆された。

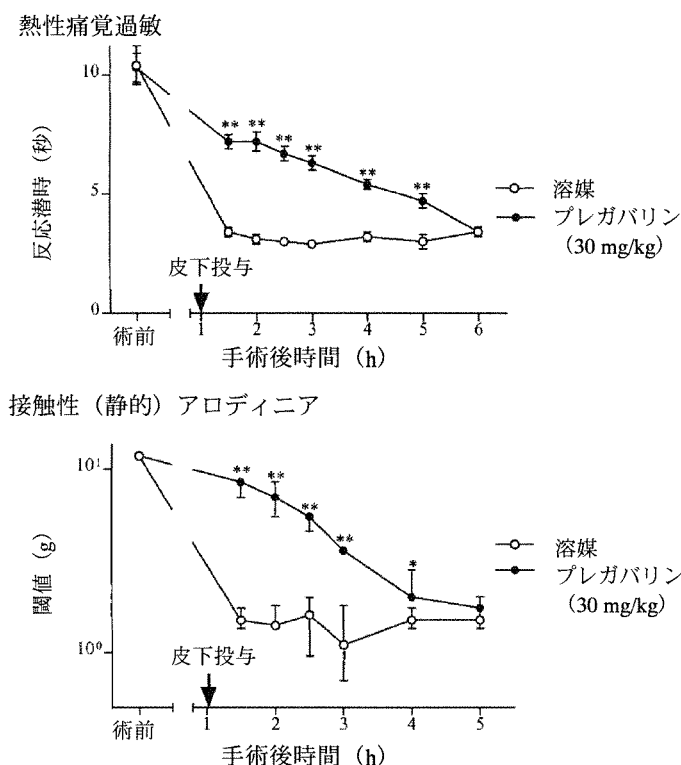


図 10 ラットの外科手術後疼痛モデルにおける熱性痛覚過敏および接触性 (静的) アロディニアにおけるプレガバリンの後投与の有効性

術後痛モデルにおける手術 1 時間後に溶媒 (○) またはプレガバリン 30 mg/kg (●) を皮下投与したときの、熱性痛覚過敏 (上図) および接触性 (静的) アロディニア (下図) に対する効果。上図中の各点は、熱刺激時反応潜時の各群 6 例の平均値、エラーバーは標準誤差を表す。** $P < 0.01$ (対応のない t 検定)。下図は von Frey hair 適用時の反応閾値の各群 6 例の中央値、エラーバーは 25% または 75% 分位点を表す。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 溶媒投与群との比較, Mann-Whitney の U 検定。(出典: 報告書番号 RR 770-00296, Figure 3 より)

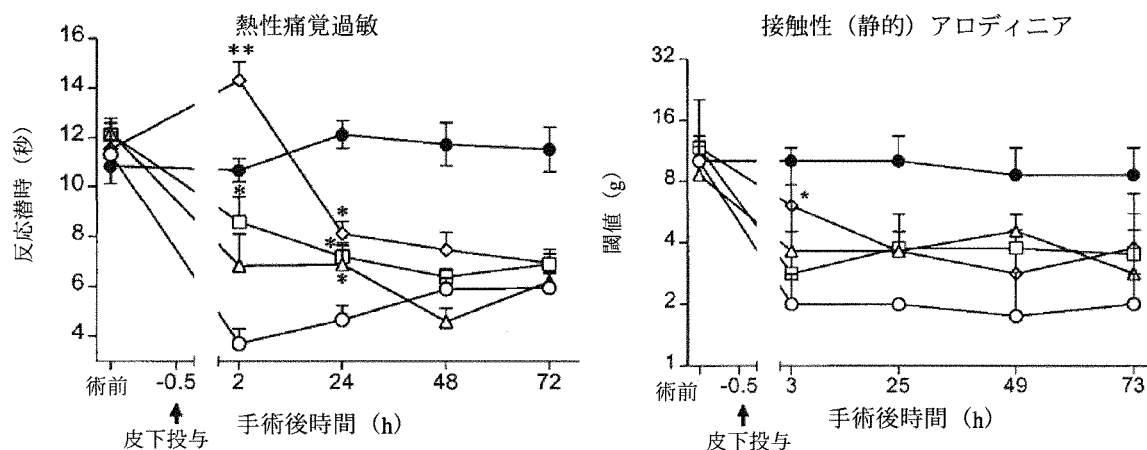


図 11 ラットの外科手術後疼痛モデルにおける熱性痛覚過敏および接触性 (静的) アロディニアにおけるモルヒネ前投与の有効性

術後痛モデルにおいて、溶媒またはモルヒネを手術 30 分前に皮下投与したときの、熱性痛覚過敏 (左図) および接触性 (静的) アロディニア (右図) に対する、反対側肢における溶媒 (●), および手術側肢における溶媒 (○), モルヒネ 1 mg/kg (△), 3 mg/kg (□), および 6 mg/kg (◇) 投与の効果。左図中の各点は各群 8~10 例の熱刺激に対する反応潜時の平均値、エラーバーは標準誤差を表し、右図中の各点は各群 8~10 例の von Frey hair を適用したときの閾値の中央値、エラーバーは 25% および 75% 分位点を表す。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 溶媒投与群 (手術側肢) との比較, 分散分析の後 Dunnett の検定 (左図) または Mann-Whitney の U 検定 (右図)。(出典: 報告書番号 RR 770-00296, Figure 1 および 2 より)

4) サブスタンス P および N-メチル-D-アスパラギン酸 (NMDA) 誘発痛覚過敏モデルにおけるプレガバリンの有効性 (4.3.3 参考資料 PGL-PD-2)

サブスタンス P およびグルタミン酸は、脊髄後角に投射する痛覚感受性の一次求心性ニューロン終末に共存する神経伝達物質である^{注1) 2)}。サブスタンス P (30 nmol) またはグルタミン酸受容体作動薬である N-メチル-D-アスパラギン酸 (NMDA, 2 nmol) を、留置カテーテルを介して髄腔内投与したところ、赤外線照射に対する後肢逃避反応の潜時が短縮した (熱性痛覚過敏)。この動物に対してプレガバリンを腹腔内投与 (1, 3, 10, 30, 100 mg/kg, 1 群 n = 4~6, サブスタンス P 投与 60 分前)、または、髄腔内投与 (1, 3, 10, 30, 100 µg, 1 群 n = 4~6, サブスタンス P 投与 15 分前) したところ、用量依存的に痛覚過敏が抑制された。また、プレガバリンの腹腔内投与 (30 mg/kg, 1 群 n = 6) により、NMDA の髄腔内投与による痛覚過敏が抑制された (参考資料 PGL-PD-2)。

この結果は、一次求心性ニューロンからの入力によって痛覚過敏が発生し、この痛覚感受性の異常に対してプレガバリンが抑制作用を示すことを、さらに強く支持するものと考えられる。また、髄腔内投与によって低用量のプレガバリンで有効であったことより、プレガバリンの作用点は脊髄内にあることが示唆される。

(3) 作用機序

1) $\alpha_2\delta$ サブユニット結合

(a) 放射性リガンド結合アッセイ (4.2.1.1.4, 5, 報告書番号 RR 740-03602, -03614, 4.3.4 参考資料 RR 740-03239)

プレガバリンは、抗けいれん作用、抗不安作用、鎮痛作用を有するガバペンチンと、構造的および薬理学的に類似している。 $[^3\text{H}]$ ガバペンチンはラット大脳皮質から調製した形質膜において特異的に結合することが報告されており^{注3)}、その結合蛋白は生化学的手法により単離精製され^{注4)}、 $\alpha_2\delta$ サブユニットと同一であることが示された^{注5)}。 $\alpha_2\delta$ サブユニットは、複数の蛋白ユニットから構成される電位依存性カルシウムチャネルの構成蛋白のひとつであり、カルシウムチャネルの細胞膜への発現および機能に補助的な役割をなすサブユニットである。 $\alpha_2\delta$ サブユニットは、脳組織、骨格筋、心筋などの組織に存在が認められている^{注6) 7)}。哺乳類では、別個の遺伝子配列コードを有する 4 種の $\alpha_2\delta$ サブユニットが存在し^{注8)}、 $[^3\text{H}]$ ガバペンチンとの高い結合活性が認められている

注1) Ueda M, Kuraishi Y, Sugimoto K, et al. Evidence that glutamate is released from capsaicin-sensitive primary afferent fibers in rats: Study with on-line continuous monitoring of glutamate. *Neurosci Res* 1994; 20: 231-7.

注2) Levine JD, Fields HL, Basbaum AI. Peptides and the primary afferent nociceptor. *J Neurosci* 1993; 13: 2273-86.

注3) Suman-Chauhan N, Webdale L, Hill DR, Woodruff GN. Characterization of $[^3\text{H}]$ gabapentin binding to a novel site in rat brain: Homogenate binding studies. *Eur J Pharmacol* 1993; 244: 293-301.

注4) Brown JP, Dissanayake VU, Briggs AR, et al. Isolation of the $[^3\text{H}]$ gabapentin-binding protein/ $\alpha_2\delta$ Ca^{2+} channel subunit from porcine brain: Development of a radioligand binding assay for $\alpha_2\delta$ subunits using $[^3\text{H}]$ leucine. *Anal Biochem* 1998; 255: 236-43.

注5) Gee NS, Brown JP, Dissanayake VU, et al. The novel anticonvulsant drug, gabapentin (Neurontin), binds to the $\alpha_2\delta$ subunit of a calcium channel. *J Biol Chem* 1996; 271: 5768-76.

注6) Gong HC, Hang J, Kohler W, et al. Tissue-specific expression and gabapentin-binding properties of calcium channel $\alpha_2\delta$ subunit subtypes. *J Membr Biol* 2001; 184: 35-43.

注7) Marais E, Klugbauer N, Hofmann F. Calcium channel $\alpha_2\delta$ subunits - Structure and gabapentin binding. *Mol Pharmacol* 2001; 59: 1243-8.

注8) Benoff S, Chu CC, Marmar JL, et al. Voltage-dependent calcium channels in mammalian spermatozoa revisited. *Front Biosci* 2007; 12: 1420-49.

のはタイプ 1 ($\alpha_2\delta_1$) およびタイプ 2 ($\alpha_2\delta_2$) である^{注1) 2)}。

プレガバリンは、ブタ大脳皮質を用いた *in vitro* 試験で [^3H] ガバペンチン結合を著明に阻害し、阻害定数 (K_i 値) は $0.019 \pm 0.003 \mu\text{mol/L}$ ($0.003 \pm 0.0005 \mu\text{g/mL}$, 平均値 $\pm$ 標準誤差, 以下同じ) であった (報告書番号 RR 740-03602)。さらに、プレガバリンは $\alpha_2\delta_1$ サブユニットおよび $\alpha_2\delta_2$ サブユニットを発現する遺伝子組換え細胞を用いた試験で、 [^3H] ガバペンチンの結合を阻害した。すなわち、ブタ脳からクローニングした $\alpha_2\delta_1$ サブユニットにおける K_i 値は $0.042 \pm 0.013 \mu\text{mol/L}$ ($0.007 \pm 0.002 \mu\text{g/mL}$)、ヒト脳からクローニングした $\alpha_2\delta_2$ サブユニットにおける K_i 値は $0.044 \pm 0.006 \mu\text{mol/L}$ ($0.007 \pm 0.001 \mu\text{g/mL}$) であった (報告書番号 RR 740-03602)。したがって、プレガバリンは $\alpha_2\delta$ サブユニットのタイプ 1 およびタイプ 2 サブタイプに対して等しい親和性で結合し、いずれか一方のサブタイプに対する選択性は認められていない。プレガバリンと $\alpha_2\delta$ サブユニットが結合することは、ブタ脳からクローニングした $\alpha_2\delta_1$ サブユニットの発現細胞を用いた [^3H] プレガバリン結合のスカッチャードプロット解析からも確認されており、解離定数 (K_d 値) は $0.033 \mu\text{mol/L}$ ($0.005 \mu\text{g/mL}$) であった (図 12)。また、プレガバリンはラット大脳皮質においても [^3H] ガバペンチンの結合を著明に阻害し、50%阻害濃度 (IC_{50} 値) は $0.037 \mu\text{mol/L}$ ($0.006 \mu\text{g/mL}$) であった。一方、プレガバリンのエナンチオマーである PD 0144550 のラット大脳皮質 [^3H] ガバペンチン結合に対する IC_{50} 値は $0.62 \mu\text{mol/L}$ ($0.099 \mu\text{g/mL}$) であり、約 1/20 の活性であった (参考資料 RR 740-03239)。

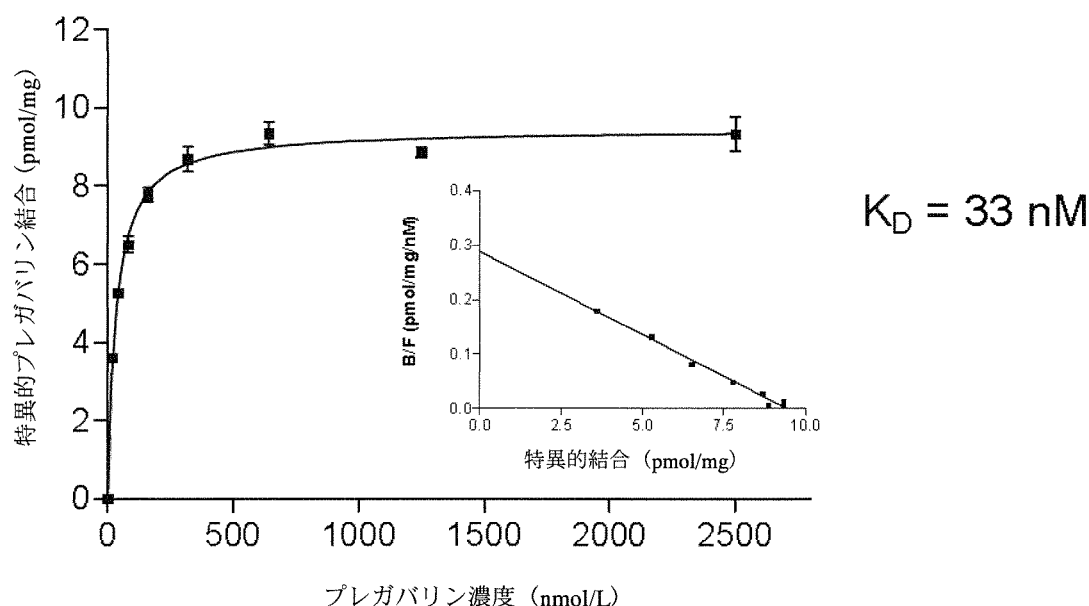


図 12 $\alpha_2\delta_1$ サブユニット発現細胞における [^3H] プレガバリン結合のスカッチャードプロット解析

(出典：報告書番号 RR 740-03614, Figure 3 より)

注1) Gong HC, Hang J, Kohler W, et al. Tissue-specific expression and gabapentin-binding properties of calcium channel $\alpha_2\delta$ subunit subtypes. J Membr Biol 2001; 184: 35-43.

注2) Marais E, Klugbauer N, Hofmann F. Calcium channel $\alpha_2\delta$ subunits - Structure and gabapentin binding. Mol Pharmacol 2001; 59: 1243-8.

(b) $\alpha_2\delta$ サブユニット結合活性と薬理学的活性の相関性 (4.3.5 参考資料 RR 740-03576)

プレガバリンのエナンチオマー (PD 0144550) は、ラット大脳皮質から調製した形質膜における [^3H] ガバペンチン結合に対する阻害活性がプレガバリンの約 1/20 であった [2.6.2.2(3)1(a)項参照]。また、PD 0144550 の高濃度 K^+ イオンによる脱分極性刺激によるラット三叉神経核切片におけるグルタミン酸放出 [2.6.2.2(3)3(a)項参照] およびラット大脳新皮質シナプトソームでのカルシウム流入 [2.6.2.2(3)2)項参照] に対する阻害作用は、認められないかプレガバリンと比較して弱かった。*in vivo* においても、ホルマリンまたはカラゲニンをラット足蹠に投与することによって惹起した疼痛行動または痛覚過敏に対し、プレガバリン (皮下投与) は抑制作用を示したが、PD 0144550 (皮下投与) では同様の効果が認められないか、非常に弱かった [2.6.2.2,(2)1)2)項参照]。

さらに、プレガバリンの構造類似化合物の $\alpha_2\delta$ サブユニットへの結合活性と、*in vivo* での薬理活性との相関性を検討した (図 13)。ブタ脳から調製した形質膜における [^3H] ガバペンチン結合に対する阻害活性の IC_{50} 値を横軸 (対数スケール) に、また、カラゲニン誘発痛覚過敏モデルにおいて、その化合物を 30 mg/kg の用量で経口投与したときの痛覚過敏抑制率を調べ (1 群 $n = 8$)、縦軸にプロットしたところ、抑制率が 20% 以上の化合物において両者の間に有意 ($p=0.0016$) な相関関係が認められた。また、いくつかの化合物の例外を除き、 [^3H] ガバペンチンに対する IC_{50} 値が 300 nmol/L 以上の化合物は、本モデルで *in vivo* 薬理活性を示さなかった。これらの結果から、プレガバリンとその構造類似化合物に関して、本モデルにおける鎮痛作用の効力は $\alpha_2\delta$ サブユニットへの結合の強さに依存していると考えられる。なお、 IC_{50} 値が小さいにもかかわらず、痛覚過敏抑制効果を示さない化合物については、プレガバリンの血液脳関門透過性に関与していると考えられるトランスポーター蛋白 (システム L) ^{注1)} に対する親和性が低い等の理由が考えられる。

注1) 2.6.2.2(3)5(a)項

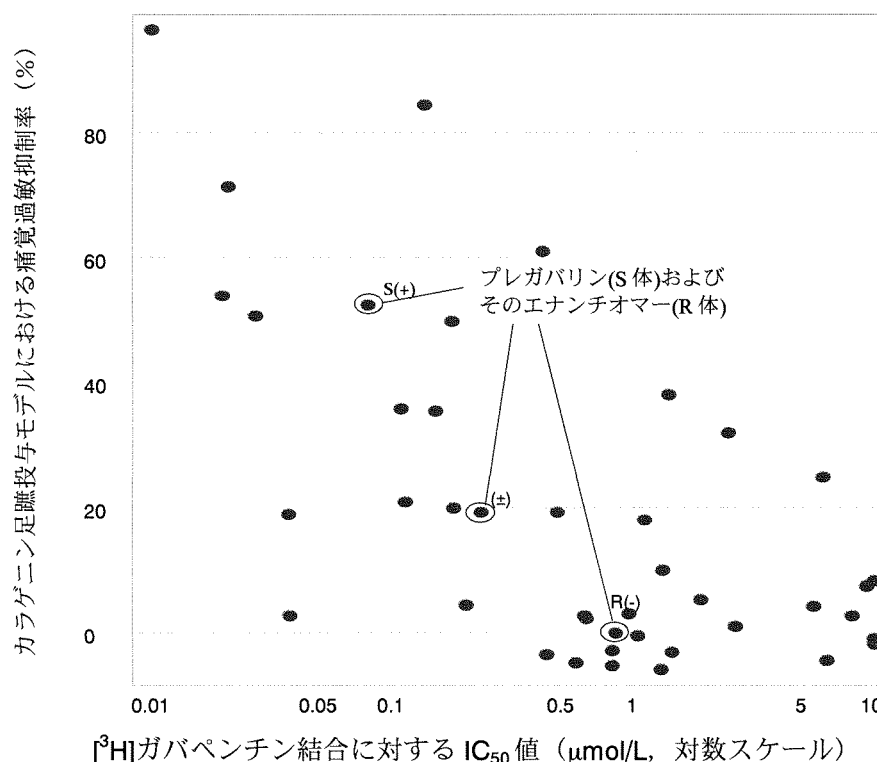


図 13 $[^3\text{H}]$ ガバペンチン結合を阻害する IC_{50} 値とラットのカラゲニン足蹠痛覚過敏モデルにおける抑制率との相関性

図中各点は、プレガバリンとその構造類似化合物の $[^3\text{H}]$ ガバペンチン結合に対する IC_{50} 値を横軸（対数スケール）に、カラゲニン足蹠投与モデルにおける熱刺激に対する痛覚過敏抑制率を縦軸にプロットした。カラゲニン投与2時間後に痛覚過敏発症を確認し、その30分後に被験化合物（30 mg/kg）または溶媒を経口投与し、さらにその60分後に痛覚過敏の抑制率を評価した。痛覚過敏抑制率は、被験化合物投与群と溶媒投与群のカラゲニン投与前後での反応潜時変化の比（抑制割合、%）で表した。（出典：参考資料 RR 740-03576, Figure 1 より）

(c) $\alpha_2\delta$ サブユニット遺伝子改変マウスにおけるプレガバリンの作用（4.2.1.1.6 報告書番号 PGL-PD-1）

$\alpha_2\delta_1$ サブユニットをコードする遺伝子配列の特定領域を欠損^{注1)} または変異^{注2)} させることにより、 $[^3\text{H}]$ ガバペンチンの結合性が低下することが報告されている。すなわち、 $\alpha_2\delta_1$ サブユニットの217番目のアルギニンをアラニンに置換（R217A）させると、 $[^3\text{H}]$ ガバペンチンの結合は大幅に低下することが報告されている^{注1)}。そこで $\alpha_2\delta_1$ サブユニットの遺伝子に R217A 変異を有するマウス（R217A 変異マウス）を作成し、プレガバリンの作用を調べることにより、本薬の薬理作用発現に $\alpha_2\delta$ サブユニットへの結合が必須であるという仮説を検証した。

R217A 変異マウスは、明白な表現型は認められず、疼痛反応も正常であった。しかし、R217A 変異マウスにおいては、脳および脊髄における $[^3\text{H}]$ プレガバリンの結合能が著しく減弱していた。次に、R217A 変異マウスおよび野生型マウスの坐骨神経に慢性絞扼神経損傷（CCI）を作成し（1群 n = 6~7）、von Frey hair を用いて接触性（静的）アロディニアを評価した。R217A 変異マウスにおいても野生型と同様のアロディニアが発生した。プレガバリン（30 および 100 mg/kg）の皮

注1) Brown JP, Gee NS. Cloning and deletion mutagenesis of the $\alpha_2\delta$ calcium channel subunit from porcine cerebral cortex: Expression of a soluble form of the protein that retains $[^3\text{H}]$ gabapentin binding activity. J Biol Chem 1998; 273: 25458-65.

注2) Wang M, Offord J, Oxender DL, et al. Structural requirement of the calcium-channel subunit $\alpha_2\delta$ for gabapentin binding. Biochem J 1999; 342: 313-20.

下投与は、野生型マウスにおいては用量依存的にアロディニアを抑制したが、この作用は R217A 変異マウスでは認められなかった。(図 14)。

この結果から、プレガバリンの鎮痛作用発現に、 $\alpha_2\delta$ サブユニットへの結合が必要であるという仮説が支持された。

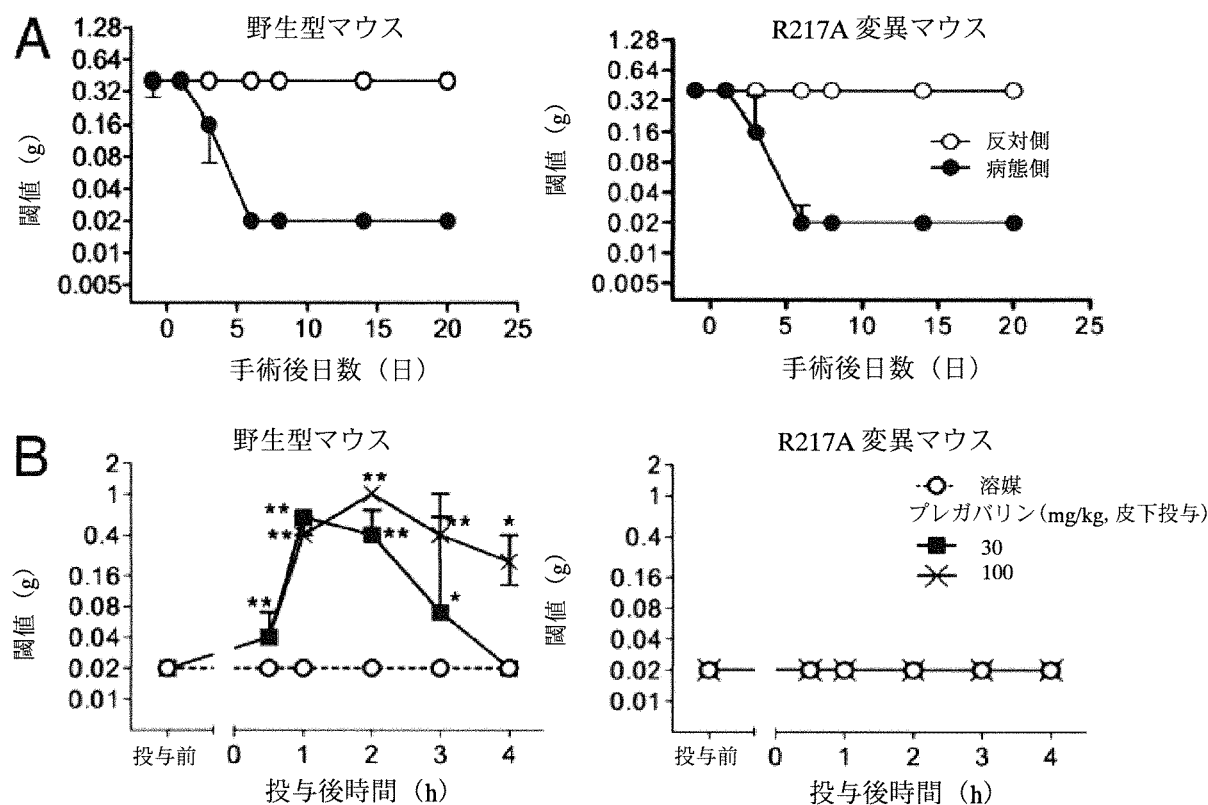


図 14 野生型および $\alpha_2\delta_1$ サブユニット R217A 変異マウスにおける慢性絞扼神経損傷 (CCI) モデルによる接触性 (静的) アロディニアの発生とプレガバリンの抑制効果

野生型 (左図) および R217A 変異マウス (右図) における、図 A は CCI モデルでの病態側肢 (●) および反対側肢 (○) における von Frey hair 適用に対する閾値の変化を表す。図 B は溶媒 (○)、プレガバリン 30 mg/kg (■)、または 100 mg/kg (×) 皮下投与の病態側肢閾値に対する効果を表す。図中の各点は各群 6~7 例の中央値、エラーバーは 25% または 75% 分位点を表す。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, Mann-Whitney の U 検定、溶媒投与群との比較。(出典: 報告書番号 PGL-PD-1, Figure 5 より)

2) 中枢神経におけるカルシウムイオン流入に対するプレガバリンの抑制作用 (4.3.6, 7 参考資料 RR 740-03538, PGL-PD-3)

プレガバリンの作用機序に関与する $\alpha_2\delta$ サブユニットは、電位依存性カルシウムチャネルを構成する補助的サブユニットであり、カルシウムイオンの細胞への流入を調節していることが示唆されている。そこで、プレガバリンが中枢神経において細胞内カルシウムイオン濃度 ($[Ca^{2+}]_i$) 上昇に対して影響を与えるかどうか生化学的に検討した。

ラットおよびサルの大脳新皮質よりシナプトソームを調製し、カルシウムイオン感受性蛍光プローブである Fura-PE3 を用いてカルシウムイオン流入 ($[Ca^{2+}]_i$ 上昇) を測定した。 $[Ca^{2+}]_i$ 上昇は、高濃度カリウムイオン (15 mmol/L) による脱分極刺激により誘発した。ラットのシナプトソームにおける高濃度カリウムイオン誘発 $[Ca^{2+}]_i$ 上昇は、プレガバリン [100 μ mol/L (16 μ g/mL)] によ

り $17 \pm 2\%$ (平均値 $\pm$ 標準誤差, 以下同じ) 抑制された。また, プレガバリンのエナンチオマーである PD 0144550 [$100 \mu\text{mol/L}$ ($16 \mu\text{g/mL}$)] による抑制率は $8 \pm 2\%$ であった。また, サル大脳新皮質から調製したシナプトソームにおいても同様に, プレガバリンは高濃度カリウムイオン誘発 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 上昇を $19 \pm 3\%$ 抑制し, PD 0144550 での抑制率は $8 \pm 3\%$ であった(参考資料 RR 740-03538)。これらの結果より, プレガバリンは中枢神経から調製したシナプトソームにおいてカルシウムイオン流入を部分的に抑制することが示された。また, その作用は PD 0144550 で弱く, $\alpha_2\delta$ サブユニットへの結合能を反映していると考えられた。

さらに Fink らは, プレガバリンの作用をヒト大脳新皮質から調製したシナプトソームで検討した。プレガバリンは高濃度カリウムイオン (30 mmol/L) で誘発したカルシウムイオン流入に対して濃度依存的な抑制作用を示し, 最大抑制率は 35% , IC_{50} 値は $16.8 \mu\text{mol/L}$ ($2.7 \mu\text{g/mL}$) であった(図 15, 参考資料 PGL-PD-3)。

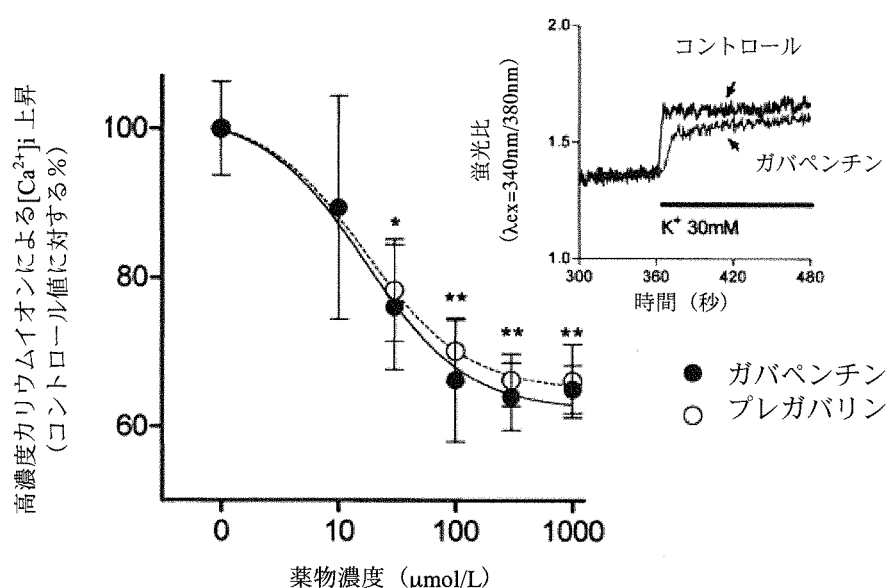


図 15 ヒト大脳新皮質から調製したシナプトソームにおけるカルシウムイオン流入に対するプレガバリンの効果

カルシウムイオン流入は高濃度カリウムイオン (30 mmol/L) によって誘起した。データはプレガバリン各濃度添加時の細胞内カルシウムイオン濃度 ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) 上昇をコントロール値に対する百分率で示した。図中の各点は, 1 濃度あたり 2 検体で実施した 5~23 の実験の平均値, エラーバーは標準誤差を示す。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, コントロール群との比較, 一元配置分散分析の後 Dunnett の方法。(出典: 参考資料 PGL-PD-3, Figure 2 より)

3) 神経伝達物質の放出

(a) サブスタンス P によるラット三叉神経核からのグルタミン酸放出増大に対する効果 (4.2.1.1.7 報告書番号 RR 770-00311)

プレガバリンのラット脳幹切片からのグルタミン酸放出に対する作用を *in vitro* で検討した。雄性 Hooded Lister ラットから調製した切片標本には, 三叉知覚神経に対する脊髄後角に相当する三叉神経脊髄路核の尾側部亜核が含まれている。切片を $[\text{H}]$ グルタミン酸でプレインキュベートし, 高濃度カリウムイオン (30 mmol/L) で誘発された放射性標識物の放出を測定した ($n = 3 \sim 7$)。さらに興奮性神経ペプチドであるサブスタンス P ($1 \mu\text{mol/L}$) の存在下では, $[\text{H}]$ グルタミン酸の放

出量が対照群（高濃度カリウムイオン添加単独）の 150%程度にまで上昇した。プレガバリン〔脱分極 5 分前より適用, 30 $\mu\text{mol/L}$ (4.8 $\mu\text{g/mL}$)〕は, サブスタンス P (1 $\mu\text{mol/L}$) と高濃度カリウムイオン (30 mmol/L) 併用によるグルタミン酸放出を高濃度カリウムイオン単独でのレベル付近まで抑制した。(図 16)。このプレガバリンの抑制作用の詳細な機序は不明であるが, サブスタンス P によるセカンドメッセンジャー経路の活性化が作用発現に必要であることが示唆された。

一方, プレガバリンのエナンチオマーであり, $\alpha_2\delta$ サブユニットに対する親和性がプレガバリンの約 1/20 である^{注1)} PD 0144550 の場合, サブスタンス P によるグルタミン酸放出の増加は抑制されなかった。むしろ見かけ上わずかに上昇する傾向が認められたが, 統計学的な有意差はなく無影響と考えられた (図 16)。その他の試験系においても, プレガバリンと PD 0144550 の作用が比較されており^{注2) 注3)}, PD 0144550 はプレガバリンと類似の作用を有さないか, より高濃度では類似の作用を有することが示された。これら複数の試験の結果を通じて, PD 0144550 では作用が認められなかったことは, $\alpha_2\delta$ サブユニットへの親和性低下と関連しているものと考えられる。したがって, PD 0144550 の結果から, プレガバリンのグルタミン酸放出の抑制作用に $\alpha_2\delta$ サブユニットの関与が考えられた。また, 三叉神経脊髄路核が顔面および頭部からの疼痛伝達に重要な役割を果たすことから, この抑制作用はプレガバリンの鎮痛作用と関連性があるものと考えられる。

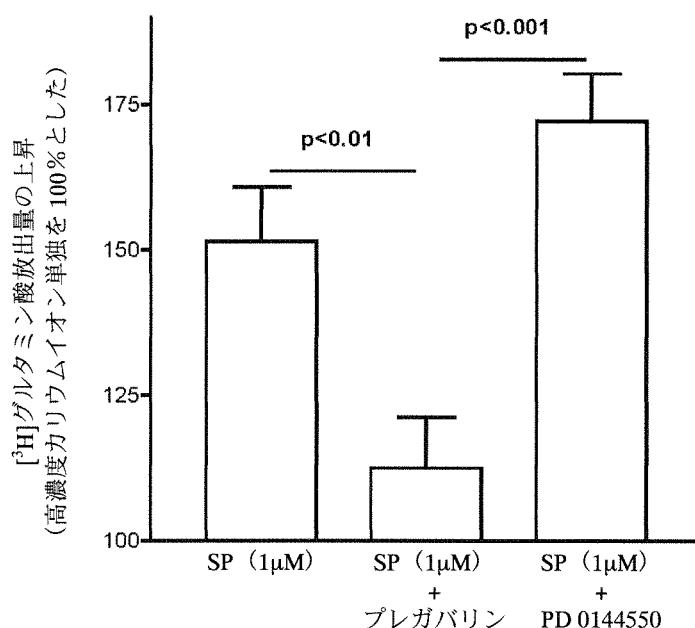


図 16 ラット三叉神経核組織切片における高濃度カリウムイオン添加によるグルタミン酸放出へのサブスタンス P による増強作用に対するプレガバリンおよび PD 0144550 の抑制効果

切片は人工脳脊髄液で灌流し, 5 分毎の灌流液を回収し^[3H]グルタミン酸放出量を測定した。サブスタンス P (SP, 1 $\mu\text{mol/L}$) は人工脳脊髄液に含有させ, 高濃度カリウムイオンは 5 分間適用し, プレガバリンまたは PD 0144550 (どちらも 30 $\mu\text{mol/L}$) は高濃度カリウムイオン適用 5 分前から添加した。データは, ^[3H]グルタミン酸放出量の最大値を, 平行実施した高濃度カリウムイオン単独群での^[3H]グルタミン酸放出量を 100%とした百分率で表示した。図中の棒は各群 3~7 例の平均値を表す。統計的有意性は分散分析の後 Tukey の多重比較検定による。(出典: 報告書番号 RR 770-00311, Figure 9 より)

注1) 2.6.2.2(3)1(a)項

注2) Dooley DJ, Donovan CM, Pugsley TA. Stimulus-dependent modulation of ^[3H]norepinephrine release from rat neocortical slices by gabapentin and pregabalin. J Pharmacol Exp Ther 2000;295:1086-93.

注3) 2.6.2.2(3)2)項

(b) ラット脳切片におけるモノアミン神経伝達物質に対する効果（4.3.8, 9 参考資料 RR 740-03489, -03578）

雄性 Sprague-Dawley 系ラットから調製した大脳新皮質切片標本を用いて（ $n = 6$ 以上）、高濃度カリウムイオン（25 mmol/L）添加（120 秒間適用，細胞膜脱分極刺激）による放射性標識したモノアミン神経伝達物質の放出に対する，プレガバリンの作用を *in vitro* で検討した。脱分極 15 分前からプレガバリンを共存させたところ，脱分極刺激によるノルアドレナリン放出は濃度依存的に抑制されたが，抑制率は最大で 40%程度だった。（図 17）。この最大抑制を 100%としたときの IC_{50} 値は 11.8 μ mol/L（1.9 μ g/mL）[4.4 – 31.9 μ mol/L（0.7 – 5.1 μ g/mL），95%-C.I.]であり，100 μ mol/L（16 μ g/mL）でほぼ最大に達した。また，大脳新皮質切片の電気刺激（3 Hz 刺激 30 秒間）による [3 H]ノルアドレナリン放出もプレガバリンにより減少したが，この作用は脱分極刺激時に比べて小さかった（参考資料 RR 740-03489）。また，プレガバリンの神経伝達物質放出抑制作用は，大脳新皮質，小脳，海馬，脊髄の切片での [3 H]ノルアドレナリン， [3 H]セロトニン，または [3 H]アセチルコリン放出においても見られた。（参考資料 RR 740-03578）。しかし，線条体組織切片標本においては，脱分極刺激による [3 H]セロトニン， [3 H]ドパミン， [3 H]アセチルコリン放出に対してプレガバリンは影響を及ぼさなかったが，電気刺激による [3 H]ドパミン放出はプレガバリンにより有意に抑制された（参考資料 RR 740-03489）。

プレガバリンの [3 H]ノルアドレナリン放出に対する抑制効果は，ガバペンチンによる同様の効果の最大作用を増加させることはなかった。このことから，プレガバリンとガバペンチンは共通の作用機序により *in vitro* での神経伝達物質放出抑制作用を示しているものと考えられた（参考資料 RR 740-03489）。

最近の研究から，プレガバリンまたはガバペンチンのノルアドレナリン放出抑制作用は，ペプチド毒素 ω -アガトキシン IVA 感受性である P/Q 型電位依存性カルシウムチャネルを介した細胞内へのカルシウム流入に依存したノルアドレナリン放出に選択的であることが示唆され，L および N 型カルシウムチャネル，ナトリウムチャネル， α_2 アドレナリン受容体およびノルアドレナリンの再取り込みトランスポーターは関与していないことが示唆されている^{注1)}。一方，ラット大脳新皮質および DRG の神経細胞を用いてガバペンチンの電位依存性カルシウムチャネル電流に対する作用を電気生理学的（全細胞記録パッチクランプ法）に検討した報告では，大脳新皮質においてはガバペンチンの作用は L 型カルシウムチャネルに比較的選択的であり^{注2)}，DRG では主に N 型に作用するものの P/Q および L 型にも影響することが報告されている^{注3)}。また，シナプトソーム標本を用いて高濃度カリウムイオン添加によるカルシウムイオン流入に対するガバペンチンの抑制効果を検討した場合は，ラット海馬から調製したシナプトソームでは，N 型および P/Q 型の両方のカルシウムチャネルに作用し^{注4)}，ラット大脳新皮質^{注5)} またはてんかん患者から切除した

注1) Dooley DJ, Donovan CM, Meder WP, et al. Preferential action of gabapentin and pregabalin at P/Q-type voltage-sensitive calcium channels: inhibition of K^+ -evoked [3 H]-norepinephrine release from rat neocortical slices. *Synapse* 2002; 45: 171-90.

注2) Stefani A, Spadoni F, Bernardi G. Gabapentin inhibits calcium currents in isolated rat brain neurons. *Neuropharmacology* 1998;37:83-91.

注3) Sutton KG, Martin DJ, Pinnock RD, et al. Gabapentin inhibits high-threshold calcium channel currents in cultured rat dorsal root ganglion neurones. *Br J Pharmacol* 2002;135:257-65.

注4) van Hoof JA, Dougherty JJ, Endeman D, et al. Gabapentin inhibits presynaptic Ca^{2+} influx and synaptic transmission in rat hippocampus and neocortex. *Eur J Pharmacol* 2002;449:221-8.

注5) Fink K, Meder W, Dooley DJ, et al. Inhibition of neuronal Ca^{2+} influx by gabapentin and subsequent reduction of neurotransmitter release from rat neocortical slices. *Br J Pharmacol* 2000;130:900-6.

大脳新皮質^{注1)}ではP/Q型カルシウムチャンネルに選択的であると報告されている。これらの報告から、プレガバリンおよびガバペンチンはいくつかの実験条件においてはP/Q型電位依存性カルシウムチャンネルに選択的に作用すると考えられるものの、 $\alpha_2\delta_1$ および $\alpha_2\delta_2$ サブユニットの幅広い発現分布、ならびに異なった α_1 サブユニットとも複合体を形成しうること^{注2) 注3)}を反映して、本薬は他のカルシウムチャンネルサブタイプにも作用している可能性もあると考えられた。

また、プレガバリンは各種中枢神経領域から数種類の興奮性神経伝達物質の放出を減少させることから、ひとつの神経伝達物質に特異的に作用するのではなく、興奮性神経伝達物質の放出に対して全般的に作用するものと考えられた。これらの神経伝達物質放出に対する作用は、プレガバリンの *in vivo* での薬理作用に寄与していることが示唆される。

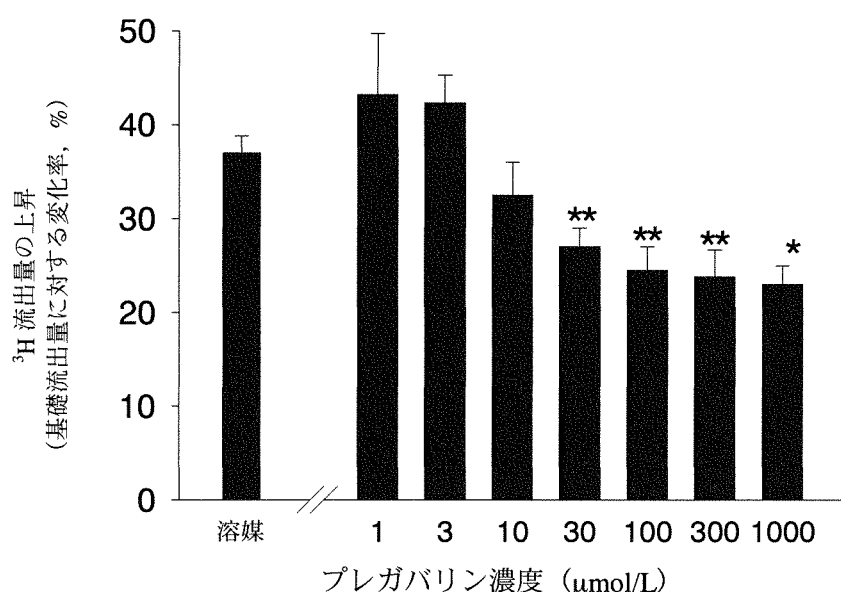


図 17 ラット大脳新皮質切片標本における高濃度カリウムイオン添加による^[3H]ノルアドレナリン放出に対するプレガバリンの効果

標本は予め^[3H]ノルアドレナリンを含有する緩衝液でプレインキューベーションした後、表面灌流した。5分間の灌流液中に含まれる³H量を測定し、基礎流出量に対する上昇分の割合を求めた。³H流出は高濃度カリウムイオンを添加することにより刺激した(25 mmol/L, 120秒間の細胞膜脱分極性刺激)。図中の棒は6回以上の実験の平均値、エラーバーは標準誤差を示す。* $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, 溶媒投与群との比較, Dunnettの検定。(出典: 参考資料 RR 740-03489, Figure 2 より)

(c) ラット脊髄からのサブスタンス P およびカルシトニン遺伝子関連ペプチドの放出に対する効果 (4.2.1.1.8 報告書番号 RR 740-03537)

ラット脊髄の切片標本からの疼痛関連神経ペプチド [サブスタンス P およびカルシトニン遺伝子関連ペプチド (CGRP)] の放出に対するプレガバリンの効果を検討した。カプサイシンは痛覚感受性の一次求心性ニューロンを特異的に興奮させる。

雄性 Sprague-Dawley 系ラットを用い、予めフロイント完全アジュバント投与により炎症を惹起

注1) 参考資料 PGL-PD-3

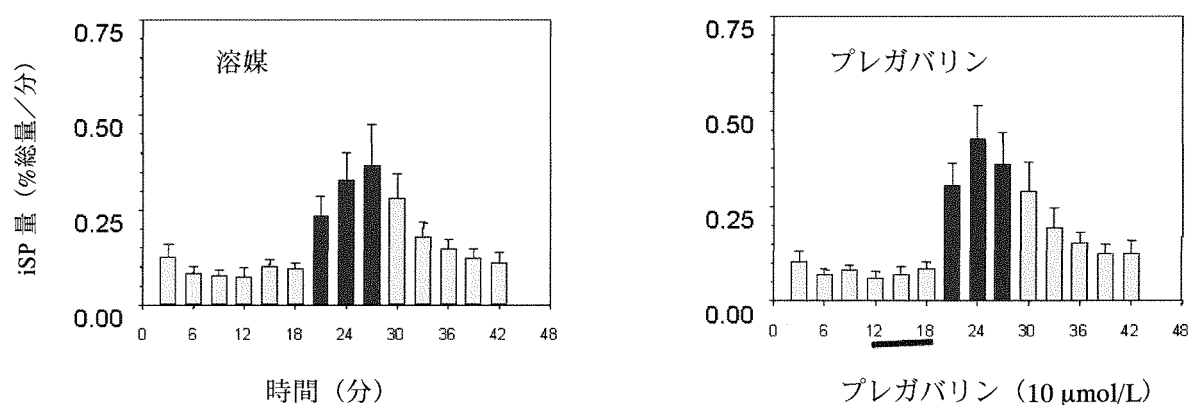
注2) Davies A, Hendrich J, Van Minh AT, et al. Functional biology of the $\alpha_2\delta$ subunits of voltage-gated calcium channels. Trends Pharmacol Sci 2007;28:220-8.

注3) Klugbauer N, Marais E and Hofmann F. Calcium channel $\alpha_2\delta$ subunits: differential expression, function, and drug binding. J Bioenerg Biomembr 2003;35:639-47.

させた後、脊髄を採取し組織切片標本を作製した ($n = 14$)。標本を灌流し、灌流液中のサブスタンス P および CGRP 含量を放射免疫測定法にて定量した。フロイント完全アジュバント処置の反対側から採取した脊髄組織切片標本においては、カプサイシン (500 nmol/L) 刺激によるサブスタンス P または CGRP の放出に対して、プレガバリン [10 $\mu\text{mol/L}$ (1.6 $\mu\text{g/mL}$)] 添加の影響は認められなかった。しかし、炎症を惹起した側から採取された標本においては、プレガバリン [10 $\mu\text{mol/L}$ (1.6 $\mu\text{g/mL}$)] は免疫反応性サブスタンス P (図 18) および CGRP (図 19) の放出をそれぞれ約 65%および約 55%低下させた (報告書番号 RR 740-03537)。

プレガバリンの同様の効果は、プロテインキナーゼ C 活性化物質であるホルボール-12,13-ジブチレート *in vitro* で処置した脊髄組織切片標本でも報告されている^{注1)}。これらの結果から、プレガバリンは通常の状態では痛覚神経ペプチドの放出に対して影響を及ぼさないが、炎症やプロテインキナーゼ C の活性化といった病的な状態では、これらの放出を調整する作用を示すことが示唆される。

アジュバント投与の反対側脊髄切片標本におけるプレガバリンの効果



アジュバント投与側 (炎症側) の脊髄切片標本におけるプレガバリンの効果

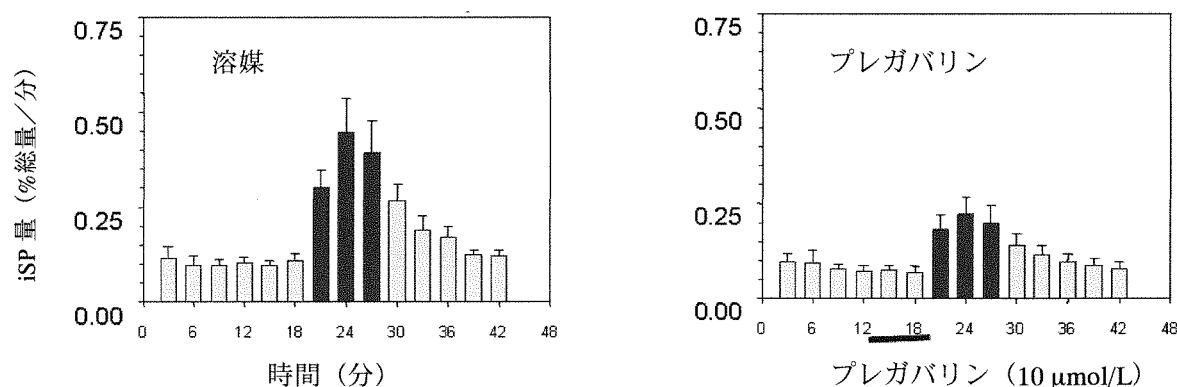


図 18 ラット脊髄切片標本における免疫反応性サブスタンス P 放出に対するプレガバリンの効果

縦軸は、灌流液を 3 分毎に回収しフラクション中に含まれる免疫反応性サブスタンス P (iSP) 含量の灌流液中および組織総含量に対する割合 (%総量/分) を示す。図中の棒は 14 回の繰り返し実験の平均値、エラーバーは標準誤差を表す。カプサイシン (500 nmol/L) は図中の濃色縦棒で表示した 9 分間適用し、プレガバリン (10 $\mu\text{mol/L}$) はその前の 9 分間 (横棒で表示) に適用した。上図にフロイント完全アジュバント投与と反対側の脊髄切片標本における結果、下図は同じ側 (炎症側) の標本における結果を示す。(出典: 報告書番号 RR 740-03537, Figure 2 より)

注1) Fehrenbacher JC, Taylor CP, Vasko MR. Pregabalin and gabapentin reduce release of substance P and CGRP from rat spinal tissues only after inflammation or activation of protein kinase C. Pain 2003;105:133-41.

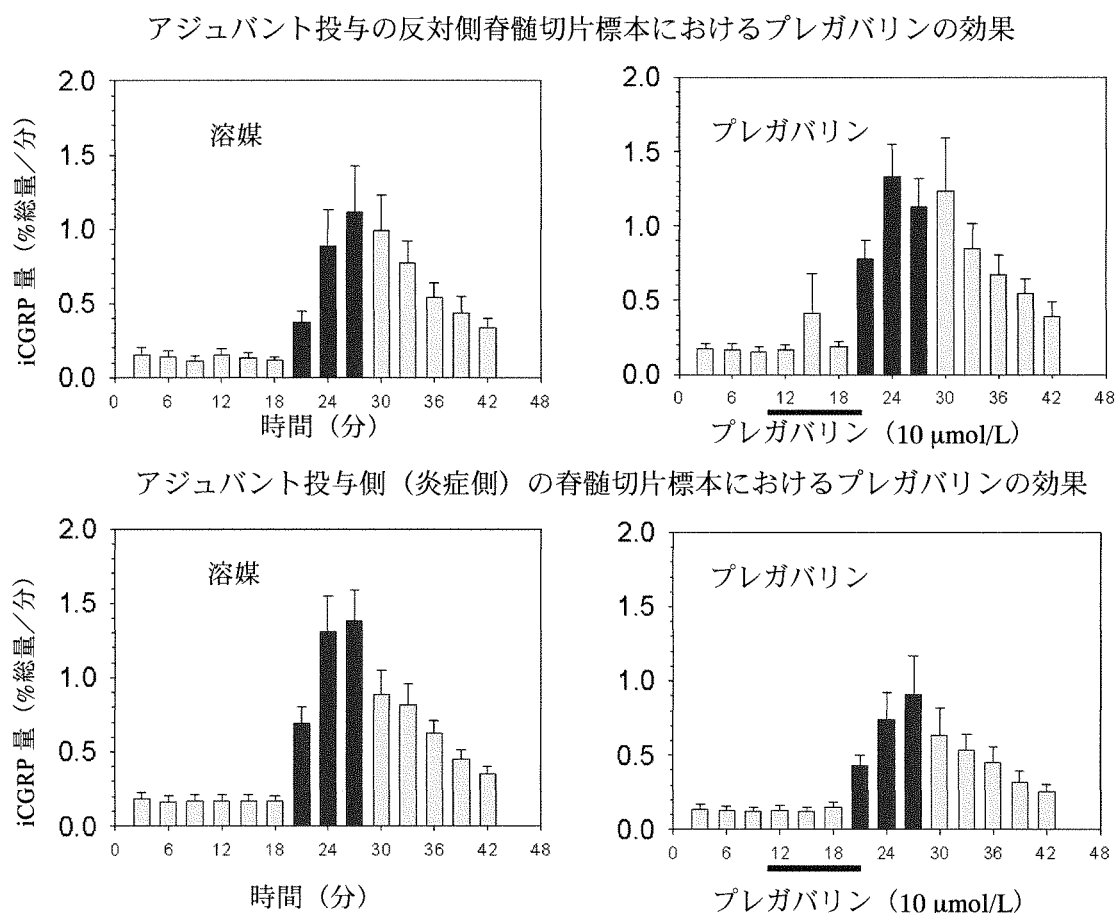


図 19 ラット脊髓切片標本における免疫反応性 CGRP 放出に対するプレガバリンの効果

縦軸は、灌流液を 3 分毎に回収しフラクション中に含まれる免疫反応性 CGRP (iCGRP) 含量の灌流液中および組織総含量に対する割合 (%総量/分) を示す。図中の棒は 14 回の繰り返し実験の平均値、エラーバーは標準誤差を表す。カプサイシン (500 nmol/L) は図中の濃色縦棒で表示した 9 分間適用し、プレガバリン (10 μ mol/L) はその前の 9 分間 (横棒で表示) に適用した。上図はフロイント完全アジュバント投与と反対側の脊髓切片標本における結果、下図は同じ側 (炎症側) の標本における結果を示す。(出典: 報告書番号 RR 740-03537, Figure 1 より)

4) 電気生理学的検討 (4.2.1.1.9 報告書番号 RR 770-00322)

末梢からの知覚神経を介した持続的な侵害刺激入力は一アロディニアや痛覚過敏につながる脊髓感作を引き起こすことがある。このような感作を生じた動物では、一次求心性ニューロン終末の過剰な脱分極が生じており、さらなる刺激に応答して知覚神経を逆行性に (末梢に向かって) 伝播する活動電位が認められる。これは脊髓後根反射 (DRR) と呼ばれ、この活動電位は中枢側へも侵入し過度な痛覚伝達の原因になると考えられている。プレガバリンの接触性アロディニアに対する抑制作用が行動薬理的に認められていることから、脊髓後根反射におけるプレガバリンの効果を検討するため、麻酔ラットにおける末梢での機械刺激に対する知覚神経の遠心性の活動を測定した。

本検討では、雄性 Sprague-Dawley 系ラットを用い、坐骨神経の CCI 誘発神経障害性疼痛モデルを適用し、ペントバルビタール麻酔下にて末梢の機械的刺激に反応した遠心性の神経活動を腓腹神経にて測定した。この神経障害性の前処置によって、機械的痛覚刺激 (足趾ピンチ刺激) に反応して知覚神経の異常な遠心性活動電位 (DRR) が惹起された。この後根反射はプレガバリンの

静脈内投与 (30 mg/kg) により抑制され、投与 1 時間後ではほぼ回復した (図 20)。また、プレガバリンの用量依存性を検討したところ (1 群 $n = 4$)、10 mg/kg 以上の静脈内投与により有意に DRR が抑制された (報告書番号 RR 770-00322)。

これらの結果から、脊髄後角から発生する知覚神経の異常興奮をプレガバリンは抑制し、このことは *in vivo* での薬理学的作用 (鎮痛作用) に関連していることが示唆される。

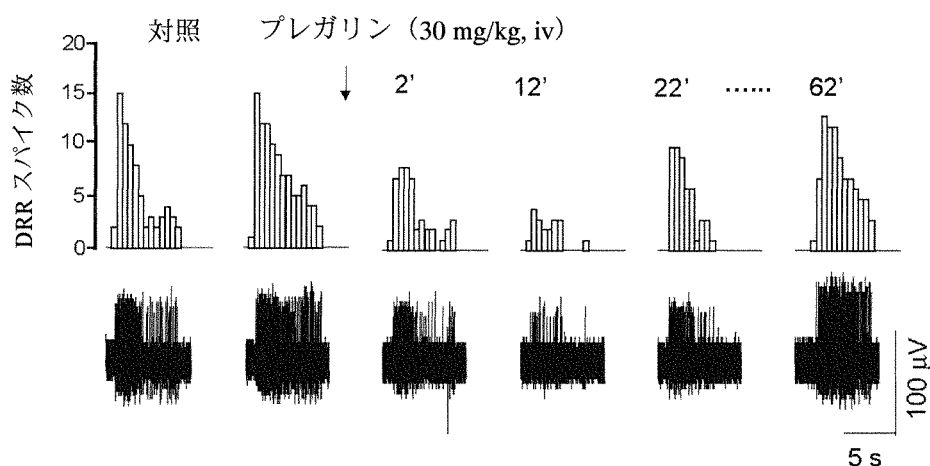


図 20 ラット CCI モデルにおける末梢機械的刺激により誘発された後根反射に対するプレガバリンの抑制効果

図はラット CCI モデル腓腹神経における、末梢機械的刺激 (足趾ピンチ刺激) に反応して発生した後根反射 (DRR) に対するプレガバリン (30 mg/kg, 静脈内投与) の抑制効果の典型例を示す。足趾ピンチ刺激は 5 分間隔で 5 秒間ずつ与えた。プレガバリン投与前ならびに投与後 2, 12, 22 および 62 分後の反応および DRR スパイクのヒストグラムを示す。(出典: 報告書番号 RR 770-00322, Figure 4 より)

5) その他

(a) システム L によるプレガバリンの細胞内への取り込み (4.3.10 参考資料 RR 761-00007)

γ -アミノ酪酸 (GABA) は、生理的な pH 環境下ではアミノ基およびカルボキシル基に電荷を持ち、また血液脳関門 (BBB) に輸送担体を欠くため、BBB を通過することはできない (図 21)。

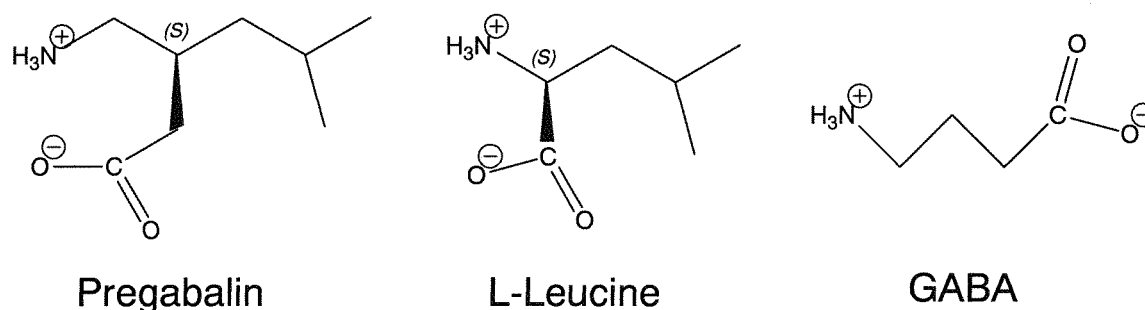


図 21 プレガバリン, L-ロイシン, GABA の構造式

しかし、代謝上重要なアミノ酸を細胞内へ輸送するためのトランスポーター蛋白の存在が知られている。チャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 細胞およびラット大脳皮質神経細胞の初代培養系を用いて、プレガバリンの [3 H]ロイシンの細胞内取り込みに対する作用を検討した。プレガバ

リンは CHO 細胞における $[^3\text{H}]$ ロイシン流入を阻害し、 IC_{50} 値は $103\ \mu\text{mol/L}$ ($16\ \mu\text{g/mL}$) であった。Dixon プロット解析の結果から、この阻害作用は競合的であることが示された [K_i 値 = $86\ \mu\text{mol/L}$ ($14\ \mu\text{g/mL}$)]。また、 $[^3\text{H}]$ ロイシンを前負荷した CHO 細胞にて非標識のロイシン、ガバペンチンまたはプレガバリンは $[^3\text{H}]$ ロイシン流出を促進させた。この結果から、ロイシン、ガバペンチンおよびプレガバリンは同じ取り込みシステム (システム L)^{注1)}を共用しているものと考えられる。さらに培養神経細胞を用いた試験系では、 $[^3\text{H}]$ プレガバリンは $[^3\text{H}]$ ロイシンより多量に細胞内に集積した (参考資料 RR 761-00007)。このことからプレガバリンのシステム L を介した流出速度が流入速度に比べて遅いことが示唆され、プレガバリンは脳細胞の細胞外間隙よりも細胞質内に高濃度を集積することが示唆される。またこれらの特性は、プレガバリンの腸管^{注2)} および血液脳関門^{注3)}通過性に関与しているものと考えられる。

一方、培養神経細胞において、プレガバリン [$100\ \mu\text{mol/L}$ ($16\ \mu\text{g/mL}$)] の 1 時間プレインキュベーションによって、GABA の細胞内への取り込みに変化は見られなかった。この結果からプレガバリンは、GABA 輸送系に急性的な作用は有さないと考えられ、脳内 GABA 取り込み阻害薬としての作用は持たないものと考えられる (参考資料 RR 761-00007)。

(b) GABA トランスポーターの細胞内輸送 (4.3.11 参考資料 RR 740-03516)

脳内 GABA トランスポーターである GAT1 は細胞膜に局在する場合のみ機能し、その細胞質 - 細胞膜間での局在変化は高度に制御されていることが報告されている^{注4)}。培養ラット海馬神経細胞における、GAT1 の細胞質から細胞膜への細胞内輸送および GABA 細胞膜輸送速度に対するプレガバリンの影響を調べた。プレガバリンの短時間インキュベーションによっては、GABA 輸送速度に急性的な影響を及ぼさなかった。しかし、培養神経細胞をプレガバリンと 60 分以上プレインキュベートすると、トランスポーター蛋白は細胞質プールから細胞膜へと移行するとともに、GABA の細胞膜輸送 (取り込み) も増大し、120 分では最大量 (初期値の 2 倍) に到達した (図 22)。GABA 輸送速度増大効果における EC_{50} 値 (120 分後) は $15 \pm 1.6\ \mu\text{mol/L}$ ($2.4 \pm 0.3\ \mu\text{g/mL}$, 平均値 $\pm$ 標準誤差) であった (参考資料 RR 740-03516)。これらの結果から、プレガバリンの長時間の共存により、GAT1 GABA トランスポーターが細胞質から細胞膜上の機能発現部位に移行し神経細胞内の GABA 量を増加させ、結果的にシナプスでの GABA 遊離を増大させることが期待されるが、この作用機序が鎮痛効果に関与しているか否かについては、実証に欠けるものと考えられる。2.6.2.2(3)1(c)項にも記載したとおり、本薬との結合能が低下するよう $\alpha_2\delta_1$ サブユニットを変異 (R217A 変異) させた遺伝子改変マウスにおいては、神経障害性疼痛モデルにおける本薬の鎮痛作用が完全に消失したことから、本薬の鎮痛作用は $\alpha_2\delta_1$ サブユニットとの相互作用によるものであり、GAT1 の細胞表面への発現増加と関連する可能性は小さいものと考えられた。

注1) Christensen HN. Role of amino acid transport and countertransport in nutrition and metabolism. *Physiol Rev* 1990; 70: 43-77.

注2) Mircheff AK, van Os CH, Wright EM. Pathways for alanine transport in intestinal basal lateral membrane vesicles. *J Membrane Biol* 1980; 52: 83-92.

注3) James JH, Fischer JE. Transport of neutral amino acids at the blood-brain barrier. *Pharmacology* 1981; 22: 1-7

注4) Beckman ML, Quick MW. Neurotransmitter transporters: Regulators of function and functional regulation. *J Membrane Biol* 1998; 164: 1-10.

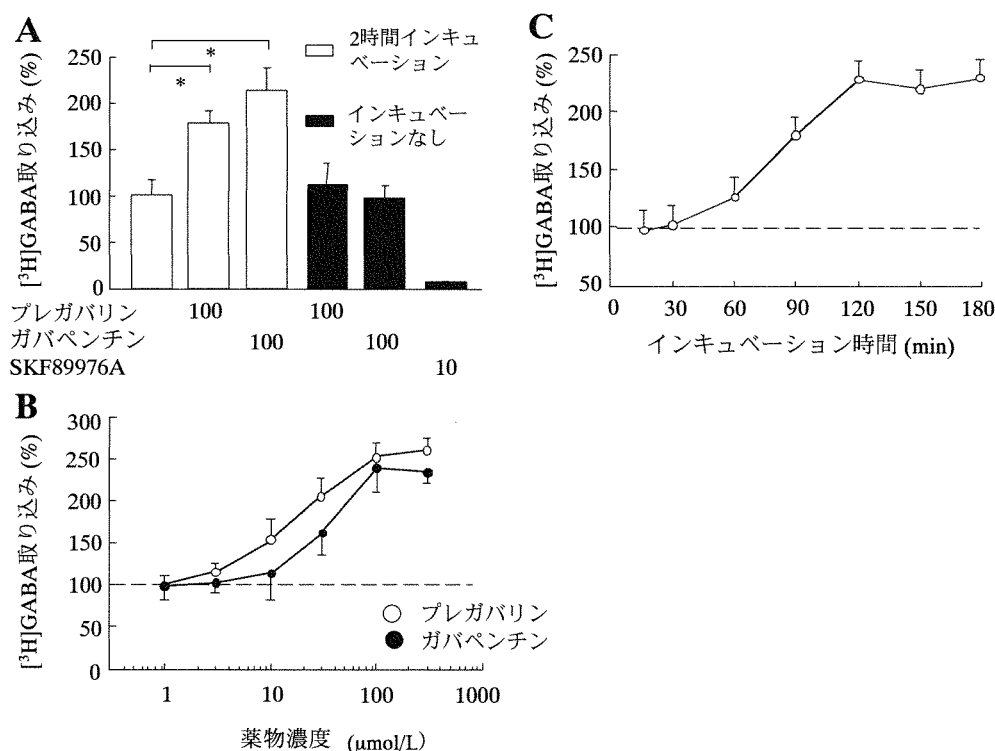


図 22 培養ラット海馬神経細胞における GABA 取り込み（細胞膜輸送）に対するプレガバリンの長時間処理の影響

A: プレガバリンまたはガバペンチンの 100 $\mu\text{mol/L}$ と 2 時間にわたるプレインキュベーション（白棒）時とプレガバリンまたはガバペンチン添加直後（黒棒）の GABA 取り込みを示す。薬物濃度 ($\mu\text{mol/L}$) は横座標軸の下に示した。SKF89976A は GABA 取り込み阻害薬である。各棒は、1 条件あたり 4~6 検体からなる 3 実験から得られた平均値、エラーバーは標準誤差を表す。群間の有意差は*で表す (* $p < 0.05$, 一元配置分散分析の後 Tukey の多重比較)。B: プレガバリン（白点）またはガバペンチン（黒点）の 2 時間プレインキュベーション後の GABA 取り込みの濃度依存性を示す。図中の各点は、1 測定濃度あたり 3 検体からなる 3 実験から得られた平均値、エラーバーは標準誤差を示す。C: プレガバリン処置後の GABA 輸送の経時的増加を示す。1 測定時間あたり 3~6 検体からなる 2 実験を行った。（出典：参考資料 RR 740-03516, Figure 2 より）

(c) GABA トランスアミナーゼ活性に対する影響（4.3.12 参考資料 RR 761-00012）

GABA の主要な分解酵素である GABA トランスアミナーゼ活性に対するプレガバリンおよび PD 0144550 の作用を検討した。10 mmol/L (1600 $\mu\text{g/mL}$) の濃度のプレガバリンおよび PD 0144550 は GABA トランスアミナーゼ活性を有意に低下させることはなかった。この結果から、プレガバリンが *in vivo* において GABA トランスアミナーゼ活性を抑制することはないと考えられる。

(d) シクロオキシゲナーゼ活性に対する作用（4.2.1.1.10 報告書番号 RR 760-00132）

シクロオキシゲナーゼ (COX) は、疼痛および炎症のメディエーターであるプロスタグランジンの合成に重要な役割を果たす酵素である。そこで、プレガバリンの COX 活性に対する効果を *in vitro* で検討した。プレガバリンは、LPS 刺激を施した J744A.1 細胞において 20 $\mu\text{mol/L}$ (3.2 $\mu\text{g/mL}$) までの濃度で COX-2 の活性を変化させなかった。一方、U-937 細胞において COX-1 活性に対する効果を検討したところ、100 $\mu\text{mol/L}$ (16 $\mu\text{g/mL}$) で弱い阻害作用を認めたが、ヒト血小板を用いた検討では 100 $\mu\text{mol/L}$ (16 $\mu\text{g/mL}$) までの濃度で COX-1 阻害活性は示されず、プレガバリンは

COX-1 に対しても有意な阻害作用を示さないものと判断した。このことから、疼痛モデルにおけるプレガバリンの鎮痛作用は、プロスタグランジン合成阻害とは関連しないと考えられた。

(e) 電位依存性ナトリウムおよび N 型カルシウムチャネルに対する作用 (4.2.1.1.11 報告書番号 RR 740-03220, 4.3.13 参考資料 RR 740-03519)

プレガバリンが、抗てんかん薬であるフェニトイン、カルバマゼピンまたは局所麻酔薬リドカインと同様に哺乳類のナトリウムチャネルと相互作用するかどうかを検討するため、ラット脳 IIA 型ナトリウムチャネル遺伝子を導入した CHO 細胞を用い電気生理学的試験にて検討した。薬物添加前に総ナトリウム電流の約 20%が不活性化状態になるようわずかに脱分極させた細胞（保持電位：-60 mV, テストパルス：0 mV）に対して、プレガバリン 200 または 500 $\mu\text{mol/L}$ (32 または 80 $\mu\text{g/mL}$) をそれぞれ 1.25 分間適用したところ、ナトリウム電流に有意な変化は認められなかった。一方、リドカイン 10, 30 または 100 $\mu\text{mol/L}$ の添加により、ナトリウム電流は著明かつ可逆的に減少した。これらの結果から、500 $\mu\text{mol/L}$ (80 $\mu\text{g/mL}$) までのプレガバリンは、電位依存性ナトリウムチャネルを阻害しないことが示された（報告書番号 RR 740-03220）。また、ラット培養交感神経細胞を用いた電位固定パッチクランプ実験でも、プレガバリンを適用する実験を行った（参考資料 RR 740-03519）。交感神経細胞においても、100 $\mu\text{mol/L}$ (16 $\mu\text{g/mL}$) のプレガバリンは電位依存性ナトリウム電流およびカリウム電流に対して有意な変化を与えなかった。加えて、遺伝子組み換え細胞系を用いて、ラット脳 IIA 型ナトリウムチャネルの定常状態における電位依存性の不活性化に対する影響を検討した。抗けいれん薬のフェニトインや局所麻酔薬のテトラカインはナトリウム電流不活性化の電位依存性を変化させたが、100 $\mu\text{mol/L}$ (16 $\mu\text{g/mL}$) の濃度のプレガバリンは無作用であり、300 $\mu\text{mol/L}$ (48 $\mu\text{g/mL}$) ではわずかに影響が認められたが、フェニトインやテトラカインと比較するとその作用は弱かった（参考資料 RR 740-03519）。

さらに、クラス B (N 型) カルシウムチャネルを安定発現させた細胞株を用いて、カルシウム電流に対する影響を検討したところ、プレガバリンの 100 $\mu\text{mol/L}$ (16 $\mu\text{g/mL}$) は弱い抑制効果 [$13 \pm 4\%$ (平均値 $\pm$ 標準誤差) 抑制] しか示さず、この抑制は可逆的ではなかった。（参考資料 RR 740-03519）。

これらの結果から、プレガバリンはナトリウムチャネルに対する急性的な遮断作用を有さないことが示された。さらに、電位依存性カルシウムチャネルに対する作用も、貝毒様の急性的遮断作用とは異なっていることが示された。

(f) 培養神経細胞における GABA_A 受容体反応 (4.2.1.1.12 報告書番号 RR 740-03539)

ラット新生児から採取した培養大脳皮質神経細胞を用いて、GABA_A 受容体反応に対するプレガバリンの作用を電気生理学的に検討した。初代培養神経細胞体において電位固定記録による内向きのイオン電流を測定したところ、プレガバリンの 100 $\mu\text{mol/L}$ (16 $\mu\text{g/mL}$) の適用による様々な濃度の GABA に対する反応に変化は見られなかった。一方、ジアゼパムおよびヘキソバルビタールは濃度依存的に GABA に対する反応を増強した。加えて、ジアゼパム (100 nmol/L) は GABA の濃度反応関係を低濃度側にシフトさせたが、プレガバリンにそのような作用はなかった。これらの結果から、プレガバリンはベンゾジアゼピン類、バルビツール酸類ならびに GABA_A 受容体

作動薬とは異なり、GABA_A受容体に対する作用は有していないことが確認された。

(g) ラット海馬切片標本における興奮性アミノ酸および GABA によるシナプス後電位および長期増強に対する作用 (4.2.1.1.13 報告書番号 RR 740-03517)

プレガバリンは中枢神経系に作用して、種々の神経伝達物質の放出に影響することが分かっている。ラット海馬 CA1 領域における、興奮性アミノ酸による興奮性シナプス後電位 (EPSP), GABA による抑制性シナプス後電位 (IPSP) およびテタヌス電気刺激による長期増強 (LTP) に対するプレガバリンの作用を検討した (n = 5~16)。シナプス後電位は CA1 錐体細胞における細胞内記録法により測定した。NMDA および AMPA による EPSP に対して、プレガバリン [100 μmol/L (16 μg/mL)] は影響を与えなかった。一方、それぞれの受容体拮抗薬 (APV 100 μmol/L および CNQX 100 μmol/L) は著明に EPSP を抑制した。また、GABA_A受容体および GABA_B受容体を介した IPSP に対しても、プレガバリン [100 μmol/L (16 μg/mL)] は影響を示さなかった。さらに CA1 放射線維層の細胞外記録により測定した LTP に対して、プレガバリン [100 μmol/L (16 μg/mL)] は影響を与えなかった。これらの結果から、プレガバリンはグルタミン酸受容体および GABA 受容体に対する直接的作用はないものと考えられた。

2.6.2.3 副次的薬理試験

(1) 放射性リガンド結合アッセイ (4.3.14, 15, 16, 17, 18, 10 参考資料 RR 740-03076, -03547, -03548, 770-00350, 740-03545, 761-00007)

プレガバリンおよびそれよりも活性の低いエナンチオマー (PD 0144550) について、38 種類の放射性リガンド結合試験を濃度範囲 0.01, 1, 100 $\mu\text{mol/L}$ (0.0016, 0.16, 16 $\mu\text{g/mL}$, $n = 2$) で検討した (参考資料 RR 740-03076)。この測定系で検討した受容体は、アデノシン受容体 (A_1 , A_2)、ノルアドレナリン受容体 (アドレナリン作動性 α_1 , α_2 , β ; リガンドのサブタイプ選択性はなし)、グルタミン酸受容体 (NMDA, キスカル酸, カイニン酸, ストリキニーネ非感受性グリシン, フェンシクリジン), GABA 受容体 ($GABA_A$, $GABA_B$, ベンゾジアゼピン), ストリキニーネ感受性グリシン受容体, ドパミン受容体 (D_1 , D_2), ヒスタミン (H_1) 受容体, セロトニン受容体 ($5HT_1$, $5HT_2$), アセチルコリン受容体 (M_1 , M_2 , ニコチン非選択的), オピオイド受容体 (μ , δ , κ), ロイコトリエン受容体 (B_4 , D_4), トロンボキサン A_2 受容体, ノルアドレナリンとセロトニンおよびドパミンの再取り込み阻害薬の結合部位, アデニル酸シクラーゼ (フォルスコリン), プロテインキナーゼ C (ホルボールエステル), 電位依存性カルシウム (N 型, T/L 型), クロライドおよびカリウムチャンネル, ならびに nmol/L 単位のハロペリドールによって置換されるいわゆる σ 結合部位であった。その結果, プレガバリンおよび PD 0144550 は溶媒処置対照に比べて 30% を超える特異的結合の阻害または増強を示さなかった。また, プレガバリンは, $GABA_B R1a/R2$ および $GABA_B R1b/R2$ の受容体サブタイプに対しても親和性を示さず (K_i 値 $> 1 \text{ mmol/L}$, 参考資料 RR 740-03547), カンナビノイド受容体 CB_1 および CB_2 受容体における放射性リガンド結合に対しても, 100 $\mu\text{mol/L}$ で阻害率は 20% 未満であった (参考資料 RR 740-03548, 770-00350)。さらに, プレガバリンは, 神経組織における神経伝達物質 (ノルアドレナリン, セロトニンおよびドパミン) の再取り込みに影響しなかった (参考資料 RR 740-03545)。また, GABA の再取り込みに対しても急性的な影響を及ぼさなかった (参考資料 RR 761-00007)。これらの結果から, 両化合物は通常の濃度では, これらの既知の脳内の結合部位を介した有意な薬理作用を発現する可能性は低いと考えられる。

(2) てんかん発作に関連する薬力学的効果

1) マウスおよびラットにおける最大電撃けいれん (4.2.1.2.1 報告書番号 RR 740-03090, 4.2.1.2.2, 4.3.19, 20 参考資料 RR 740-03224, -03172, -03081)

角膜の電気ショック後に発現する後肢の強直 - 伸展性発作 (電撃けいれん発作) の消失は, 抗けいれん作用のエンドポイントとなる^{注1)}。マウスおよびラット (1 群 $n = 8 \sim 10$) の最大電撃けいれん誘発強直 - 伸展性発作におけるプレガバリンの抗けいれん効果を表 1 に示す。経口または静脈内投与による ED_{50} 値は同等であり, マウスおよびラットでの経口投与時のバイオアベイラビリティが高いこと (2.6.4.3(1)項参照) と一致した。同様に, マウスの腹腔内または静脈内投与による ED_{50} 値は同等であり, 高い腹腔内投与でのバイオアベイラビリティが示唆された。げっ歯類に

注1) Krall RL, Penry JK, White BG, et al. Antiepileptic drug development: II. Anticonvulsant drug screening. *Epilepsia* 1978;19:409-28.

において最大電撃けいれん発作が抑制されたことは、本剤に抗けいれん作用があることを示している。

表 1 マウス、ラットにおける最大電撃けいれん誘発強直性発作に対するプレガバリンの効果

動物種	電撃刺激	投与経路	投与後時間 ^a (分)	ED ₅₀ 値	報告書番号
マウス	最大電撃	経口	120	20 mg/kg (13 - 30) ^b	RR 740-03090
マウス	最大電撃	静脈内	120	20 mg/kg (13 - 29)	RR 740-03090
マウス	最大電撃 (低電撃刺激)	静脈内	120	0.65 mg/kg (0.33 - 1.3)	RR 740-03172
マウス	最大電撃	腹腔内	120	28 mg/kg (20 - 37)	RR 740-03224
ラット	最大電撃	経口	240	1.3 mg/kg (0.8 - 1.9)	RR 740-03224
ラット	最大電撃	経口	240	1.5 mg/kg (1.0 - 2.3)	RR 740-03081
ラット	最大電撃	静脈内	240	2.2 mg/kg (1.2 - 4.0)	RR 740-03081

ED₅₀ 値：50%有効用量（この場合、使用動物の 50%で発作の消失が観察される用量）

a：予備実験結果に基づき、投与後最大効果が認められる時点で ED₅₀ 値を算出した。

b：括弧内の数値は ED₅₀ 値の 95%信頼区間（95%-C.I.）を示す。

マウス（雄性 CF-1 系，1 群 n = 10）にプレガバリン（30 mg/kg）を単回経口または静脈内投与したときの最大電撃けいれん試験の結果から、抗けいれん作用は投与後約 120 分に最大になることが示された。また、エナンチオマーである PD 0144550（300 mg/kg，静脈内投与）には、効果がなかった（報告書番号 RR 740-03090）。マウスに低強度の電気刺激を与えたとき、多くの既知の抗てんかん薬は低用量で抗けいれん作用を発現することが報告されている^{注1)}。プレガバリンの静脈内投与はマウスにおける低強度の電気誘発強直 - 伸展性発作の予防により低用量で有効（ED₅₀ 値 = 0.65 mg/kg）であった（参考資料 RR 740-03172）。ラットおよびマウスにおいて最大電撃けいれん発作が予防されたことは、プレガバリンが有意な抗けいれん作用を持つことを示しており、事実、部分および全般性の強直性間代性発作を予防することが知られている他の抗けいれん薬を用いたときにも、最大電撃けいれん発作の予防が認められる。また、PD 0144550 は、げっ歯類の抗けいれんモデルにおいても実効的な有効性が認められなかった。

(3) 抗不安作用

1) ラットを用いたコンフリクト試験（4.3.21，22 参考資料 RR 770-01316，740-03464）

プレガバリンの抗不安作用を、ラットを用いた 2 つのコンフリクト試験で検討した。Geller コンフリクト試験は雄性 Hooded Lister 系ラットを用いて実施した（1 群 n = 5 以上）。ラットはオペラント実験装置のレバーを押すと報酬として食餌が与えられる。実験装置内のライトが点灯することを非罰期の合図とし、ライトが消灯することを罰期の合図とした（罰期には食餌が与えられるが同時に足から電気ショックを受ける）。電気ショックは各々のラットにおいて、非罰期に比べて罰期のレバー押し反応が約 80%～90%抑制される強さに調節した。試験 40 分前にプレガバリンを皮下投与（1，3，10，30，100 mg/kg）すると、用量依存的に罰期のレバー押しが増加し、

注1) Piredda SG, Woodhead JH, Swinyard EA. Effect of stimulus intensity on the profile of anticonvulsant activity of phenytoin, ethosuximide and valproate. J Pharmacol Exp Ther 1985; 232: 741-5.

MED は 3 mg/kg であった (図 23)。一方, PD 0144550 の皮下投与 (3, 10, 30, 100 mg/kg) は, 100 mg/kg においてわずかに効果を示すのみであった (参考資料 RR 770-01316)。また, ラットを用いた中枢神経系に関する安全性薬理試験の成績から^{注1) 注2)}, 100 mg/kg のプレガバリン投与で非罰期および罰期にみられたレバー押しの増加が減少したのは鎮静あるいは運動失調に起因する可能性がある。

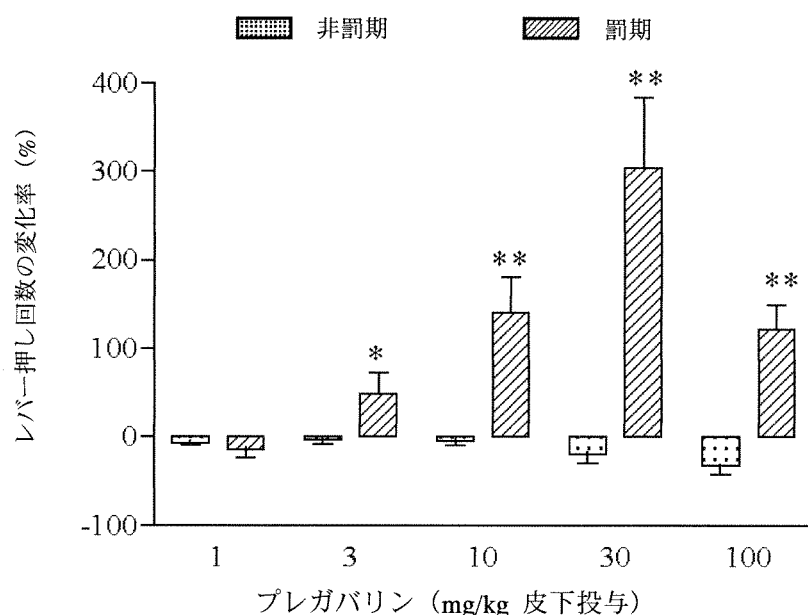


図 23 ラットの Geller コンフリクト試験におけるプレガバリンの作用

被験物質は試験 40 分前に皮下投与した。図中の棒は、溶媒を投与した試験前 2 日間の平均レバー押し数を 100% として、各群 5 例以上における試験日のレバー押しの平均変化率 (増加率/減少率) を表す。* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, 溶媒群との比較, 対応のある Student の t 検定。(出典: 参考資料 RR 770-01316, Figure 2 より)

Vogel Water-Lick コンフリクト試験においては、雄性 Wistar 系ラット (1 群 $n = 10 \sim 20$) に飲水の制限を 48 時間行った後、給水器から 5mL を自由飲水させ溶媒 (1 mL/kg) を経口投与した。翌日の試験開始前に被験物質または溶媒をラットに投与し、試験開始後は飲水 (水舐め) を 10 回行うたびに、給水器からの電気ショックを与えた。この嫌悪刺激により、電気ショックを受けない場合に比べて飲水回数が低下した。クロルジアゼポキシドを投与したラットでは溶媒投与群に比較して試験時の飲水回数が増加した。プレガバリンの 10, 30 および 100 mg/kg 経口投与したラットにおいても飲水回数の有意な増加が認められたが (図 24)、低用量では認められなかった。この作用はクロルジアゼポキシドの 10 mg/kg 経口投与時の作用と同様であった。プレガバリンの作用の発現時間および持続時間を検討するため、プレガバリン 30 mg/kg を試験開始 30 分, 1, 2, 4, 6 および 8 時間前に経口投与したところ、投与後 1 時間で飲水回数が増加しこの作用は 8 時間まで持続した (参考資料 RR 740-03464)。

注1) 2.6.2.4 (3) 1) 項

注2) 2.6.2.4 (3) 2) 項

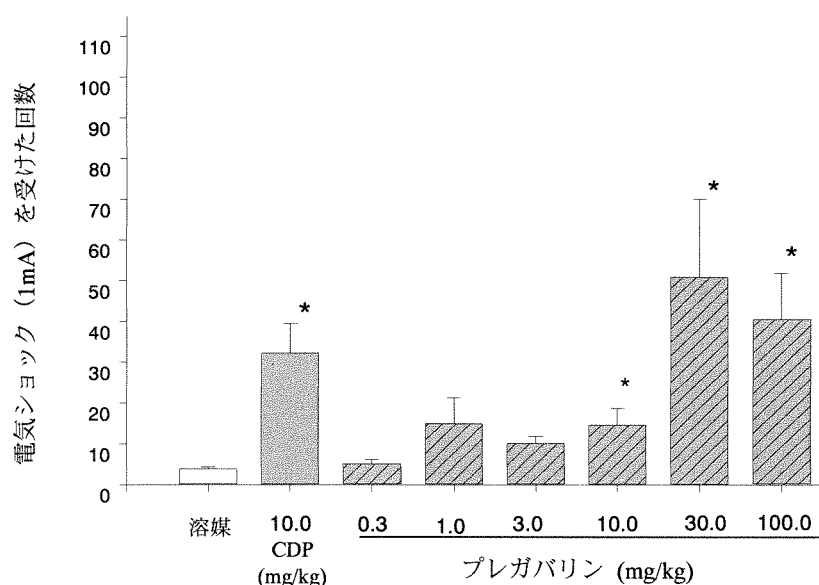


図 24 ラットにおける Vogel 試験における罰反応へのプレガバリンの効果

クロルジアゼポキシド (10 mg/kg) およびプレガバリン (0.3, 1, 3, 10, 30 および 100 mg/kg) の経口投与 (試験開始の 120 分前に投与) による飲水報酬を用いた Vogel 試験での罰反応の増加作用。* $P < 0.05$, 溶媒投与群との比較。図中の棒は 10~20 例の平均値, エラーバーは標準誤差を表す。(出典: 参考資料 RR 740-03464, Figure 5 より)

2) ラットを用いた高架式十字迷路試験 (4.3.21 参考資料 RR 770-01316)

高架式十字迷路は抗不安作用を予測するために用いられている別の非臨床モデルである。この試験において, ラットは両端が閉鎖されたアームと開放されたアームから構成される高架式十字迷路内を自由に探索する。無処置ラットは閉鎖アームに長く滞在するが, 抗不安薬は開放アームを探索する時間を延長させる。雄性 Hooded Lister 系ラット (1 群 $n = 7 \sim 10$) にプレガバリン (3, 10 および 30 mg/kg) を試験開始 40 分前に皮下投与したところ, ラットが開放アームに滞在する時間は有意に延長し, MED は 10 mg/kg であった (参考資料 RR 770-01316)。プレガバリンのこの作用はクロルジアゼポキシド (3 mg/kg, 皮下投与) によるものと同等であった。

3) マウスを用いた尾懸垂試験 (4.3.22 参考資料 RR 740-03464)

CD-1 系マウス (1 群 $n = 10$) の尾にテープを貼り付け, マウスを吊るした。抗不安薬のロラゼパムを尾懸垂の前に投与すると無動化時間を延長させ, 動く力を低下させた。プレガバリンの 30, 100 または 300 mg/kg を経口投与すると無動化時間は延長した (3 または 10 mg/kg ではこの作用は認められなかった)。また, 動く力は 300 mg/kg 群では低下した (図 25)。プレガバリンと抗不安薬であるロラゼパムの作用は, 抗うつ薬であるセルトラリンの作用 (無動化時間の短縮および動く力の上昇) とは異なっていた。尾懸垂試験におけるこのような行動変化から, プレガバリンは抗不安様作用をマウスに生じさせることが示唆される。(参考資料 RR 740-03464)。

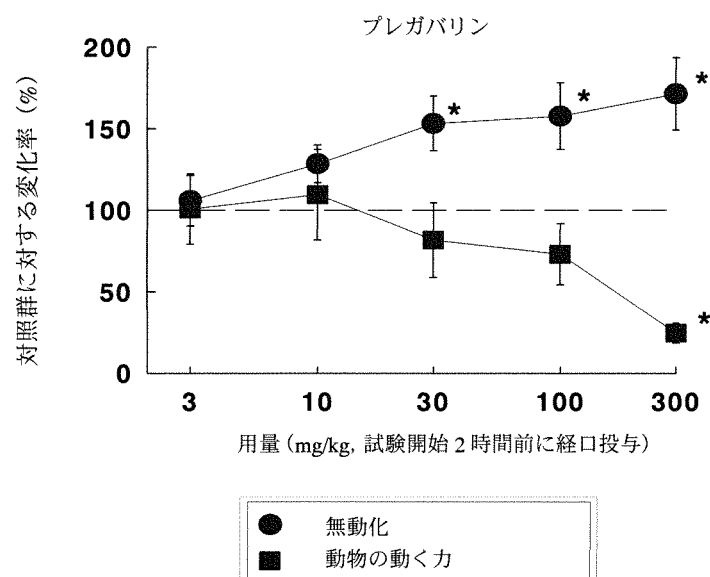


図 25 マウスの尾懸垂試験における動物の動く力および無動化時間に対するプレガバリンの効果

試験開始 120 分前にプレガバリン (3, 10, 30, 100, 300 mg/kg) を経口投与したときの、尾を懸垂したマウスにおける、無動化の総時間および動物の動く力に対する効果。結果は対照群に対する変化率 (%) で示した。図中の各点は 10 例のマウスの平均値を表す。* $P < 0.05$, 同時に実施した溶媒投与の対照群との比較, 分散分析の後, Tukey の Multiple Range Test。(出典: 参考資料 RR 740-03464, Figure 1 より)

(4) 睡眠への影響 (4.3.23 参考資料 RR 740-03527)

プレガバリンの睡眠に対する影響をラット (雄性 Sprague-Dawley 系, 1 群 $n = 8$) において検討した。プレガバリンを明暗サイクルの明期の開始直前にラットに投与したところ, 非急速眼球運動 (ノンレム睡眠) は用量依存的かつ有意に増加した。12 時間の総ノンレム睡眠時間を増加させる MED は 10 mg/kg (経口投与) であった。また, ノンレム睡眠のエピソード持続時間の増加 (図 26) およびエピソードの回数減少は 3 mg/kg (経口投与) でも認められた。これらのデータからプレガバリン投与によりいくつかのノンレム睡眠が統合され, 結果として 1 回のノンレム睡眠時間が増加したことが示唆される。プレガバリンの 30 および 100 mg/kg 経口投与により, 睡眠時間は大きくは変わらず, 総急速眼球運動 (レム睡眠) 時間が有意に減少した。すなわち, 30 mg/kg (経口投与) ではレム睡眠のエピソード時間が減少し, 100 mg/kg (経口投与) ではレム睡眠のエピソード時間とその回数がともに減少した。プレガバリンの効果は明暗サイクルの暗期にまでは持ち越されなかった (すなわち, 薬物投与 12 時間以降は薬物の効果は認められなかった)。プレガバリンはノンレム睡眠の開始潜時や睡眠サイクルの長さには影響しなかった。

ノンレム睡眠時間の増大はベンゾジアゼピン系の睡眠導入剤であるトリアゾラムでも報告されている^{注1)}。しかし, プレガバリンとトリアゾラムの脳波に対する作用に明確な相違点も見出されており, プレガバリンは低周波数 (0.5~4 Hz, 徐波成分) のパワー密度 (徐波パワー密度) を増大させたが, トリアゾラムはこれを減少させた。睡眠・覚醒周期および脳波に対するプレガバリンの薬理作用機序について完全には解明されていないが, 本薬が結合する $\alpha_2\delta$ サブユニットは脳内

注1) Kubota T, Fang J, Meltzer LT, et al. Pregabalin enhances nonrapid eye movement sleep. J Pharmacol Exp Ther 2001;299:1095-105.

にも分布し大脳皮質および海馬に高い結合活性が認められており^{注1)}、脳波の活動に影響を及ぼしている可能性が考えられる。

以上のプレガバリンの効果は睡眠の増強効果と一致しており、断眠の次の睡眠に対する作用に似ている。また、このことは12時間の観察時間の総睡眠時間を大きくは変えることなしに、プレガバリンが生理的な睡眠に類似の睡眠を誘発することを示唆している。プレガバリンのノンレム睡眠エピソード時間、睡眠サイクル時間に対する作用、レム睡眠の抑制はこの仮説と一致する。例えばラットを断眠させた後は、ノンレム睡眠時間、1回のノンレム睡眠エピソード時間および脳波における徐波パワー密度が増加し、レム睡眠の障害が最初の回復期に起こる。プレガバリンは照明点灯（ラットの正常睡眠期に相当）後の最初のノンレム睡眠開始までの時間、すなわち、睡眠潜時を変化させなかった。睡眠潜時が変化しなかったのは、ラットの睡眠潜時が比較的短い（約20分）ため、および経口投与時のプレガバリンの最大血漿中濃度到達時間（T_{max}）が0.5～1時間であるという薬物動態上の特性による可能性がある。

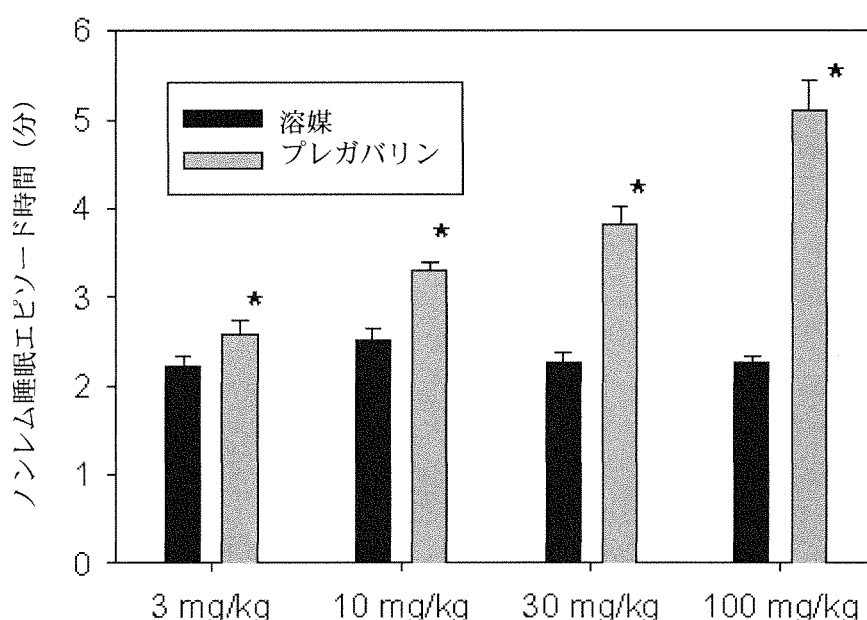


図 26 プレガバリンのラットのノンレム睡眠のエピソードの持続時間への影響

黒棒は明暗サイクルの明期（非活動期）直前に溶媒を経口投与したラットでのノンレム睡眠エピソードの平均時間を示す。灰色の棒はプレガバリンを経口投与した（用量を図中に示した）ラットでのノンレム睡眠の平均時間を示す。各用量とも8例の平均値±標準誤差を表す。* $p < 0.05$, 溶媒投与群との比較, 反復測定二元配置分散分析後 Student-Newman-Keuls 検定。（出典：参考資料 RR 740-03527, Table 1 より作図）

(5) 薬物乱用の可能性

多くの中樞神経系に作用する放射性リガンドの受容体結合に対するプレガバリンの作用を検討した（2.6.2.3(1)項参照）。プレガバリンは、既知の乱用薬物とは相異なる結合活性を示した。すなわち、プレガバリンは GABA_A 受容体、GABA_B 受容体、オピオイド受容体、NMDA、フェンサイ

注1) Hill DR, Suman-Chauhan N, Woodruff GN. Localization of [³H]gabapentin to a novel site in rat brain: autoradiographic studies. Eur J Pharmacol 1993;244:303-9.

クリジンによって認識されるグルタミン酸受容体、カンナビノイド受容体、ニコチン性アセチルコリン受容体、または、ドパミンやセロトニンの再取り込みトランスポーターを含む、薬物乱用の危険性がある結合部位に活性を有しない。これらの結果から、プレガバリンは、乱用薬物として知られているベンゾジアゼピン系薬剤、バルピツール酸誘導体、アヘン剤、および NMDA 受容体拮抗薬とは相異なるものと考えられる（表 2）。

さらに、プレガバリンの薬理作用機序として、電位依存性カルシウムチャネルの補助サブユニットである $\alpha_2\delta$ サブユニットとの結合が示唆されている（2.6.2.2(3)1項参照）。この結合は、興奮性神経伝達物質の放出を抑制する（2.6.2.2(3)3項参照）。また、プレガバリンは、神経細胞膜と細胞質間を移動する GABA 輸送体（GAT1）の活性を調節する（2.6.2.2(3)5(b)項参照）。これらのプレガバリンの作用機序は、既知の乱用薬物のいずれとも異なる。

乱用物質あるいは生理学的依存に関する動物モデルの結果を以下に要約した。これらの結果から、プレガバリンは広い範囲の用量において薬物乱用あるいは依存性を起こす可能性は低いことが示唆される。

表 2 既知の乱用薬物とプレガバリンの薬理的比較

薬物あるいは薬物分類	細胞あるいは分子標的	プレガバリンの活性
プレガバリンおよび ガバペンチン	[³ H]ガバペンチン結合	放射性リガンドに対する K _i 値= 19 nmol/L [RR 740-03602] ^a IC ₅₀ 値= 37 nmol/L [RR 740-03239]
	高濃度 K ⁺ 誘発神経伝達 物質放出	IC ₅₀ 値= 12 μmol/L [RR 740-03489] IC ₅₀ 値<30 μmol/L [RR 770-00311]
	GABA トランスポーター 細胞内輸送	EC ₅₀ 値= 15 μmol/L [RR 740-03516]
アヘン剤（鎮痛薬および 麻酔薬）	オピオイド μ 受容体作動 活性	μ , δ , κ 受容体結合に活性なし [RR 740-03076]
鎮静催眠薬および 抗不安薬	アロステリックな GABA _A 増強反応	[³ H]フルニトラゼパム結合および ニューロンの電気生理で活性なし [RR 740-03076, -03539, -03517]
コカイン、アンフェタミ ンおよびその他の中枢神 経系刺激	ドパミン取り込み阻害	ドパミン、セロトニンまたはノル アドレナリン取り込みに対し活性 なし[RR 740-03545]
幻覚剤、フェンサイクリ ジンおよび同様の薬物	NMDA 阻害またはセロ トニン作動活性	NMDA, フェンサイクリジン, グ リシン, セロトニン-1 またはセロ トニン-2 放射性リガンド結合部位 に活性なし NMDA 依存性シナプス電位または 長期増強に対し活性なし [RR 740-03076, -03517]
大麻類(マリファナおよ び関連化合物)	カンナビノイド受容体結 合	カンナビノイド放射性リガンド結 合において活性なし [RR 740-03548, RR 770-00350]
ニコチン様薬物	ニコチン受容体結合	ニコチン放射性リガンド結合にお いて活性なし[RR 740-03076]

^a: 報告書番号

1) モルヒネおよびミダゾラムの薬物弁別試験 (4.2.1.1.2, 4.3.24 参考資料 RR 770-00297, 740-03524)

正しいレバーを選択することにより餌が与えられる状況で訓練し、モルヒネと生理食塩水を弁別できるようになったラット（雄性 Hooded Lister 系, 1 群 $n = 6$ ）を用いた。このモルヒネ弁別試験において、プレガバリン（1～100 mg/kg, 皮下投与）は、モルヒネと般化することではなく、モルヒネ様自覚効果を示さなかった（参考資料 RR 770-00297）。また、ミダゾラムと生理食塩液とを識別できるように訓練されたアカゲザル（雄性, $n = 4$ ）の弁別試験においても、プレガバリン（30, 100, 180, 300 mg/kg, 経口投与）は般化されなかった（参考資料 RR 740-03524）。他のベンゾジアゼピン系薬物およびバルビツール酸誘導体に対する、サルを用いた同様の試験では、これらの薬物はミダゾラムに対して般化する自覚効果を示すことが報告されている^{注1)}。これらの結果から、プレガバリンはラットではアヘン剤と類似の自覚効果を生じず、サルではベンゾジアゼピン系薬物およびバルビツール酸誘導体と類似の自覚効果を生じないことが示唆された。

2) 条件づけ場所嗜好性試験 (4.3.25 参考資料 RR 770-00314)

プレガバリンがモルヒネと同様の嗜好性を誘発するかどうかを評価するため、雄性 Hooded Lister 系ラット（1 群 $n = 9 \sim 24$ ）を用いて条件づけ場所嗜好性試験を実施した。この行動試験において、ラットは入ると生理食塩液が投与される部屋とモルヒネが投与される部屋を、空間情報（床の材質、壁の視覚的模様など）を手がかりに識別し、2 つの部屋を自由に往来できるようにすると、生理食塩液が投与される部屋に比べモルヒネが投与される部屋に長く滞在するようになる。モルヒネ（0.3, 1, 2, 3 mg/kg, 皮下投与）は著明かつ有意な場所嗜好性を示したが、プレガバリン（3, 10, 30 mg/kg, 経口投与）は認められなかった。これらの結果から、プレガバリンはモルヒネ様嗜好性を有さないと考えられる。

3) コカインまたはアンフェタミン投与による歩行運動の増加 (4.3.26 参考資料 RR 740-03441)

ラット（雄性 Sprague-Dawley 系, 1 群 $n = 4 \sim 5$ ）にプレガバリン（10, 30 mg/kg, 腹腔内投与）を投与すると、コカインあるいはアンフェタミンによって誘発される自発歩行運動の増加を用量依存的に減少させた。また、プレガバリン単独で投与したとき自発歩行運動は増加しなかった（2.6.2.4(3)1項参照）。これらの結果から、プレガバリンはラットにおいて興奮薬様作用を有さないと考えられる。また、コカインあるいはアンフェタミンによる歩行運動増加に対する本薬の抑制作用は、モノアミン神経伝達物質の放出に対する抑制作用が寄与している可能性が考えられた。

4) サルを用いた静脈内自己摂取試験 (4.2.1.2.3 報告書番号 RR 745-03278, 4.3.27 参考資料 RR 740-03525)

サルを用いた 2 つの静脈内自己摂取試験で、プレガバリンの精神依存性を検討した。

注1) McMahon LR, France CP. Combined discriminative stimulus effects of midazolam with other positive GABA_A modulators and GABA_A receptor agonists in rhesus monkeys. Psychopharmacology 2005; 178: 400-9.

アカゲザル（雌雄，各 $n=2$ ）に，ペントバルビタールを用いた 24 時間自己摂取を訓練した。この試験では，7 日間連続して 1 日 10 回以上自己摂取した場合を「強化効果あり」と定義した。次にペントバルビタールの代わりに，プレガバリン（1, 2, 4, 8 mg/kg/注射）を 1 用量につき 14 日間かけて自己摂取させた（報告書番号 RR 745-03278）。プレガバリンは，いずれの検討用量でも強化作用は認められなかった。本試験では，プレガバリンの 2 mg/kg/注射以上の用量群で中枢神経系の症状が認められたが，一部の動物で認められたのみであった。特に自発運動の低下，観察者への反応の低下，運動失調および緩慢な動作は，4 mg/kg/注射群の 4 例において認められず，2 mg/kg/注射群の 4 例中 1 例，8 mg/kg/注射群の 1 例中 1 例で認められた。したがって，1, 2 および 4 mg/kg/注射群のほとんどの動物では，強化作用の評価に影響を与える可能性のある中枢神経系の症状は見られなかった。加えて，2 mg/kg/注射群および 8 mg/kg/注射群の 1 例において，一時的に 1 日 10 回を超える自己摂取が認められた試験日に，これらの中枢神経系の症状（緩慢な動作，運動失調または自発運動の低下）が認められた。このことは，中枢神経系の症状が現れたとしても，10 回以上の自己摂取行動を行うことは可能であったことを示唆しており，本薬の中枢神経系の症状が強化作用の評価に影響を与えた可能性は低いと考えられる。

別の試験では，アカゲザル（ $n=4$ ）にメトヘキシタールの自己摂取訓練を行った（参考資料 RR 740-03525）。メトヘキシタール（0.1 mg/kg/注射）は常に高頻度で自己摂取した。メトヘキシタールの代わりに，プレガバリン（1, 3.2, 10, 18 mg/kg/注射）を自己摂取させたところ，生理食塩水に比べ，高頻度で自己摂取を行うセッションもあったが，これは概ね，プレガバリンに初めて曝露された時に限られていた。プレガバリンの反復摂取時には，自己摂取頻度は生理食塩水と同レベルまで減少した（図 27）。したがって，総体的に，アカゲザルにおけるプレガバリンの自己摂取の強化作用に持続性は認められなかった。

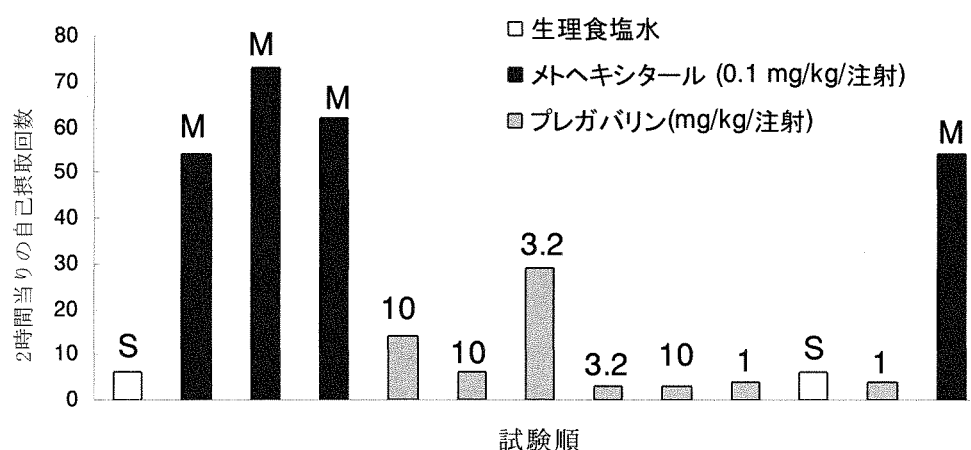


図 27 プレガバリンの自己摂取パターン（動物番号 3605，参考資料 RR 740-03525）

アカゲザルに生理食塩水（S），メトヘキシタール（M，0.1 mg/kg/注射），プレガバリン（投与量を棒に付記）を静脈内投与したときの，2 時間当りの自己摂取回数。動物番号 3605 における自己摂取パターンを，試験を行った順に示した。プレガバリンの自己摂取については，他の 3 例のアカゲザルでも同様な結果が得られた（データは示していない）。（出典：参考資料 RR 740-03525，Table 3 より作図）

5) 反復投与後の退薬症候 (4.3.28 参考資料 RR 740-03540)

雄性 Sprague-Dawley 系ラットにプレガバリンを 100, 200, 400 mg/kg/日を最終用量として 12 日間用量漸増的に腹腔内持続投与し (漸増投与の詳細は表 3 の下に説明), その後の退薬症候をペントバルビタール (最終用量 900~950 mg/kg/日) と比較した (1 群 $n = 4 \sim 6$)。プレガバリンの最高用量は, 行動薬理的試験 (プレガバリンの鎮痛作用) における MED の約 40 倍に相当する。退薬症候は, 退薬期間中の 8, 24, 32, 48, 56, 72, 80, 96 時間時点での, 体重減少および興奮性の行動を評価した。興奮性の行動は次の (a) から (d) の項目について下記のとおりスコア化し, 最大 7 点の評価スケールとした。(a) 頭部へ空気を吹いたときの反応; 0: 反応なし, 1: 跳び上がる (畏縮は含まない), 2: 跳び上がり発声する, (b) 鈍い器具でつついたときの嬌声; 0: 反応なし, 1: 発声する, (c) “高い” もしくは“攻撃的な”姿勢 (立毛し, または立毛せず, 四肢を伸ばして背を弓状にする); 0: “高い” 姿勢なし, 1: “高い” 姿勢あり, (d) 捕まえて数秒間徐々にしかし堅固に保持したときの反応; 0: 反応なし, 1: 身悶えまたは発声する, 2: 身悶えおよび発声する, 3: 身悶え, 発声, 鉤爪でひっかくおよび/または噛む。

退薬症候は, 生理食塩水群やプレガバリン群に比べ, ペントバルビタール群で有意に増強した。プレガバリンは退薬症候をわずかに増強したが, 用量相関性は認められず, 溶媒群と比較して有意差が認められたのは中用量群のみであった (表 3)。退薬症候は通常, 血中薬物レベルが薬理作用を発揮するのに必要なレベルを下回ったときに現れることを考慮すると, 高用量群において本薬の中枢神経系への作用が退薬期間中の興奮性の行動を阻害した可能性は小さいと考えられる。また, 各用量のプレガバリン退薬後における体重減少率は 10~11%^{注1)} であり, 溶媒群 (約 4%) に比べて大きかったが, ペントバルビタール群 (約 14%) の体重減少率より少なかった。概して, プレガバリンの退薬症候はペントバルビタールに比べて小さく, プレガバリンによる身体依存性は軽度であることが示唆される。

本試験では血漿中薬物濃度を測定していないが, 毒性 (用量設定) 試験 [2.6.6.3 (1) 1) (d) 項] においてプレガバリン 3 mg/kg/hr をラットに 96 時間持続静脈内投与したときの血漿中薬物濃度 (雄) は 16.3 $\mu\text{g/mL}$ であった。この結果より, 本試験において退薬症候がみられた本薬の低用量群 (4 mg/kg/hr 持続腹腔内投与) での血漿中濃度は, およそ 16 $\mu\text{g/mL}$ であることが推測された。一方, 種々の薬物および神経伝達物質の結合部位に対する放射性リガンド結合アッセイ [2.6.2.3 (1) 項] において, 本薬 100 $\mu\text{mol/L}$ (16 $\mu\text{g/mL}$) はリガンドの結合阻害または増強作用を示さなかった。したがって, 本薬投与によりみられた退薬症候は, 既知の薬物依存性もしくは退薬症候と関連のある部位 (例えば, GABA_A, ドパミン D₁, カンナビノイド CB₁, ニコチン性アセチルコリン, μ オピオイド, 5-HT_{2A} 受容体およびドパミン再取り込み部位) に作用したために発現した可能性は低いものと考えられた。

注1) 個体ごとの最大体重減少率 (断薬時体重に対する%) から求めた平均値 (参考資料 RR 740-03540 Table 1 より)。

表 3 溶媒、ペントバルビタールあるいは異なった用量のプレガバリンを持続的に腹腔内投与したラットにおける行動退薬症候の比較

処置（動物数）	96 時間の累積退薬症候
溶媒 (6)	1.1 ± 0.4 ^a
ペントバルビタール(4)	14.1 ± 0.55 ^b
プレガバリン低用量(5)	3.6 ± 1.11 ^a
プレガバリン中用量(5)	6.0 ± 1.26 ^{a,b}
プレガバリン高用量 (6)	4.2 ± 1.41 ^a

表中の値は、各投与群における平均値±標準誤差を表す。各群の投与量は以下のとおり。ペントバルビタール：初日投与量 100 mg/kg/日、1 日当たり増加量 0 から 100 mg/kg、最終投与量 900～950 mg/kg/日、プレガバリン低用量：初日投与量 25 mg/kg/日、1 日当たり増加量 7.5 mg/kg/日、最終投与量 100 mg/kg/日、同中用量：初日投与量 50 mg/kg/日、1 日当たり増加量 15 mg/kg/日、最終投与量 200 mg/kg/日、同高用量：初日投与量 100 mg/kg/日、1 日当たり増加量 30 mg/kg/日、最終投与量 400 mg/kg/日。^a p ≤0.05, ペントバルビタール処置ラットとの比較, ^b p ≤0.05, 溶媒処置ラットとの比較。(出典：参考資料 RR 740-03540 Table 2 より)

6) サルにおけるベンゾジアゼピンの軽度退薬に関係する自覚効果の抑制（4.3.24 参考資料 RR 740-03524）

低用量のベンゾジアゼピン投与で生じる退薬効果をプレガバリンが変化させるか否か雄性アカゲザルを用いて検討した。5.6 mg/kg/日のジアゼパムを 3 例のサルに経口投与し、フルマゼニル（ベンゾジアゼピン拮抗薬、ジアゼパム投与 3 時間後に 0.32 mg/kg を皮下投与）処置で生じるベンゾジアゼピンの退薬症候を溶媒処置と弁別するよう学習させた（各処置に対して正しいレバーを押すことにより、餌が与えられる）。プレガバリンがベンゾジアゼピンの退薬症候を変化させるかどうかは、フルマゼニルの弁別効果の用量反応曲線をプレガバリンが変化させるか否かで判定した。2 例のサルではプレガバリン（30, 100, 180, 300 mg/kg, 4 時間前に経口投与）はフルマゼニルの弁別刺激を減弱させた。このことは、プレガバリンがベンゾジアゼピンの退薬症候を何かの点で減弱させている可能性がある。しかしながら、別の 1 例ではジアゼパムを 27 時間退薬したとき、フルマゼニルのレバー押し反応をプレガバリンは誘発した。以上のように、プレガバリンにはベンゾジアゼピンの退薬を抑制する明らかな効果は認められないものと考えられる。

プレガバリンとフルマゼニル（0.1 mg/kg, 皮下投与）の両方を投与した 1 例のサルでは、プレガバリンの投与（300 mg/kg, 経口投与）の約 6 時間後（フルマゼニル投与の約 30 分後）に痙攣様の症状が認められた。別のサル 1 例ではプレガバリンの投与（100 mg/kg, 経口投与；このサルにはフルマゼニルを投与せず）の約 6 時間後に痙攣様の症状が認められた。これらのサルが痙攣様症状を示したのはジアゼパムの退薬後約 31 時間であった。これらの痙攣様症状の発現時間は短く、薬物投与をすることなく消失した。ジアゼパム依存性サルにおける退薬症候には痙攣発作が含まれ、ジアゼパム投与中止により自発的に発症する^{注1)}ほか、ベンゾジアゼピン拮抗薬投与によって促進される^{注2)}。1 例目のサルではフルマゼニル投与により、痙攣発作が促進された可能性が考えられた。一方、別のサルではフルマゼニルの投与なしで発作が生じているが、このサルでも前述の通りレバー押し反応が見られており、退薬症候が発現していた可能性がある。そのうえ、

注1) Yanagita T, Takahashi S. Dependence liability of several sedative-hypnotic agents evaluated in monkeys. J Pharmacol Exp Ther 1973;185:307-16.

注2) Lukas SE, Griffiths RR. Precipitated withdrawal by a benzodiazepine receptor antagonist (Ro 15-1788) after 7 days of diazepam. Science 1982;217:1161-3.

これらのサルは、本試験および訓練期間を通じて、繰り返しフルマゼニル投与によるジアゼパム
退薬症候を経験しており、退薬の繰り返しは、マウスおよびサルにおいて痙攣を含む退薬症候の
発現可能性と重篤度を増加させることが報告されている^{注1)} ^{注2)}。一方、その他の正常動物を用い
た毒性試験においてプレガバリンによる痙攣は、幼若ラットの発達神経毒性試験およびカニクイ
ザルを用いた反復投与毒性試験で認められた。幼若ラット試験では、7週間連日プレガバリン(50,
100, 250, 500 mg/kg, 16 例/性/群)を強制経口投与し、痙攣は 250 mg/kg 群の雌 1 例(2 回)、500
mg/kg 群の雌 1 例(1 回)で認められた(2.6.6.6(2)4項)。このときの最高血漿中薬物濃度(C_{max})
はトキシコキネティクス試験結果から、250 mg/kg および 500 mg/kg 群(雌)で、それぞれ 208 $\mu\text{g/mL}$
および 368 $\mu\text{g/mL}$ であり(表 2.6.7.15B)、日本人に最大臨床用量を投与したときの C_{max} の 20~
36 倍であった。またカニクイザル試験では、4 週間連日プレガバリン(10, 40, 200 mg/kg, 3 例/
性/群)を静脈内投与し、痙攣は 40 mg/kg 群の雄 1 例(投与 22 日)および 200 mg/kg 群の雌 1 例
(投与初日)に認められた(2.6.6.3(1)2)(d)項)。これら 2 動物の投与直後の血漿中プレガバリン濃
度は、それぞれ 231 $\mu\text{g/mL}$ および 732 $\mu\text{g/mL}$ (報告書番号 RR-MEMO 764-03162) であり、日本人
に最大臨床用量を投与したときの C_{max} の 22~71 倍であった。以上のように、ジアゼパム依存性
アカゲザルを用いた試験において認められた痙攣様作用は、本薬に起因するというより、むしろ
ジアゼパム依存性動物の退薬症候に関連しているものと考えられる。また、痙攣様作用は、この
特殊な試験(ベンゾジアゼピン退薬試験)の他は、高用量・高曝露で極めてまれに認められるの
みであった。したがって、プレガバリンが臨床用量において痙攣を引き起こす可能性は低いと考
えられる。

注1) Dunworth SJ, Stephens DN. Sensitisation to repeated withdrawal, in mice treated chronically with diazepam, is blocked by an NMDA receptor antagonist. *Psychopharmacol* 1998;136:308-10.

注2) Martin JR, Moreau J-L, Jenck F. Precipitated withdrawal in squirrel monkeys after repeated daily oral administration of alprazolam, diazepam flunitrazepam or oxazepam. *Psychopharmacol* 1995;118:273-9.

2.6.2.4 安全性薬理試験

プレガバリンの安全性薬理試験は、*in vitro* 試験系においては hERG カリウムチャネル電流に対するプレガバリンの影響を検討し、また、*in vivo* では、中枢神経系、心血管系および呼吸系に加え、消化管運動および腎臓に対する影響を評価した。

(1) hERG カリウムチャネル (4.2.1.3.1 報告書番号 PD144723/IC/001/05, 表 2.6.3.4)

60 および 600 $\mu\text{mol/L}$ のプレガバリンの hERG カリウムチャネルへの影響を whole-cell パッチクランプ法で検討した (報告書番号 PD144723/IC/001/05)。プレガバリンはこれらの濃度でカリウムチャネルのピーク振幅にほとんど影響を及ぼさなかった (各々, $6.13 \pm 1.65\%$ および $11.32 \pm 1.04\%$ 抑制, 平均値 $\pm$ 標準誤差, $n = 5$)。

(2) 中枢神経系への影響

1) マウスおよびラット (4.2.1.3.4 報告書番号 745-02928, 4.2.1.3.2, 4.2.1.2.2, 4.2.1.3.3 参考資料 RR 740-03074, -03224, -03215, 表 2.6.3.4)

雄性マウス (Swiss-Webster 系, 1 群 $n = 4$) にプレガバリンの 100, 300, 1000 mg/kg を経口投与あるいは 30, 100, 300 mg/kg を静脈内投与後の 30 分間に、行動および中枢作用を検査 (通常の耳介および角膜反射, 瞳孔径, tail pinch 反応, カタレプシー, 体温および電撃痙攣抑制) した (参考資料 RR 740-03074)。経口投与では 1000 mg/kg まで明らかな徴候はみられなかった。また、静脈内投与では 300 mg/kg でわずかに活動性が低下したのみであった。

12, 120, 1200 mg/kg (経口投与) のプレガバリンをマウス (雄性 Swiss-Webster 系, 1 群 $n = 10$) に投与した時の中枢神経系の症状を投与後 96 時間まで評価した結果、活動性のわずかな低下が 1200 mg/kg 群で投与直後から 1 時間および投与後 4 時間にみられた (参考資料 RR 740-03074)。

プレガバリンの 25, 50, 100 あるいは 125 mg/kg を経口投与したラット (雄性 Sprague-Dawley 系, 1 群 $n = 8$) において、筋肉の緊張性あるいは後肢の踏み直り反応には変化はみられなかった (報告書番号 RR 740-03224)。しかしながら、平坦な場所を歩行させて歩行運動を観察した試験では、投与後 4 時間にすべての薬物投与群で異常歩行がみられ、その発生率は用量依存的に上昇した。また、その時の ED_{50} 値は 61 mg/kg ($36 - 89$ mg/kg, 95%-C.I.) であった (参考資料 RR 740-03224)。

雄性ラット (Sprague-Dawley 系, 1 群 $n = 8$) において、100, 300, 1000 mg/kg のプレガバリンを経口投与して、正向反射を評価した (参考資料 RR 740-03215)。100 mg/kg の 1 例, 300 mg/kg の 3 例および 1000 mg/kg の全例において、仰臥位から通常の姿勢となる正向反射に要する時間が 1 秒以上であり、 ED_{50} 値は 257mg/kg ($138 - 480$ mg/kg, 95%-C.I.) であった。歩行運動や骨格筋緊張には変化はなかった。

神経学的作用をさらに評価するために、マウス (雄性 B6C3F1 系) とラット (雄性 Wistar 系) に、プレガバリンの 50 あるいは 300 mg/kg を静脈内投与した (1 群 $n = 8$) (報告書番号 RR 745-02928)。高用量は生理食塩水への溶解性から決定した。神経機能および反射の検査は、投与後 60 分に行った。観察評価として動物の毒性症状について投与後 60 分まで行った。その後、動物をオープンフィールドに 5 分間置いて、外観、探索行動、歩行および一般的な活動を評価した。神経機能評価

は投与後 60 分に行い、空中の立ち直り反応、視覚性踏み直り反応、聴覚性驚愕反応、握力、カタレプシー、鎮痛および協調性を検査した。また、後肢の外側方向への開脚も評価した。投与後 60 分に行った反射／自発運動評価では、動物を 10 分間の暗順応の後、耳介反射（マウスのみ）、角膜反射および瞳孔反射を観察し、体温変化を検査した。自発運動は反射試験の直後の 60 分間の活動性をモニターして評価した。

300 mg/kg の投与後 45 および 60 分に 4 例のマウスに尿による被毛の汚れまたは自発活動の減少がみられた。このうち 3 例はオープンフィールドの観察でも尿による被毛の汚れがみられた（報告書番号 RR 745-02928）。300 mg/kg の別の 1 例はオープンフィールドの観察で活動性の低下がみられ、他の 1 例では運動失調が投与後 45 および 60 分ならびにオープンフィールドの観察で認められた。50 mg/kg では一般状態の異常は認められなかった。体温は両群で 2%～4% 低下した。50 および 300 mg/kg を投与したマウスでは、活動性の全般的な減少を反映して、それぞれ、垂直方向の動きが 40% および 63% 減少し、常同運動の時間が 34% および 46% 減少した。総移動距離は影響を受けなかった。

50 および 300 mg/kg を投与したラットでそれぞれ、3 および 8 例に自発活動の低下がみられ、300 mg/kg の 1 例でオープンフィールドの観察で運動失調がみられた（報告書番号 RR 745-02928）。尾の疼痛反応に異常（刺激に対し無反応）を示すラットの割合は対照群に比し薬物投与群で高率であったが、300 mg/kg 群のみで有意差を示した。肢の外側方向への開脚も両用量で増加した。50 および 300 mg/kg を投与したラットでは、活動性の全般的な減少を反映して、それぞれ、総移動距離が 54% および 83%、垂直方向の動きが 69% および 88%、常同運動の時間が 54% および 79% 減少した。

マウスでは鎮痛反応および耳介反射には影響がみられず、両動物種で視覚性踏み直り反応、握力、カタレプシー、聴覚性驚愕反応、協調性、空中の立ち直り反応、角膜反射および瞳孔反射に影響はみられなかった（報告書番号 RR 745-02928）。静脈内投与後 5 分の血漿中薬物濃度は 50 および 300 mg/kg 群で、マウスでは $96.0 \pm 3.41 \mu\text{g/mL}$ （平均値 $\pm$ 標準偏差、以下同じ）および $499 \pm 118 \mu\text{g/mL}$ 、ラットでは $104 \pm 3.21 \mu\text{g/mL}$ および $591 \pm 60.1 \mu\text{g/mL}$ であった。

2) リスザル（4.3.29 参考資料 RR 740-03483, 表 2.6.3.4）

リスザル（雄性, 1 群 $n = 6$ ）を用いた Sidman 回避法において、プレガバリンの 3, 10, 30, 100 mg/kg を経口投与したところ、30 および 100 mg/kg 投与群で、止まり木へ登る、つかむ、およびバランスをとる行動が減少した。これらの効果は重症度（軽度～中等度）に用量依存性がみられた。以上の結果から、プレガバリンはこれらの用量で、筋緊張低下作用を有し、運動協調性を低下させるものと思われる。

(3) 自発運動の低下および運動失調

1) マウスおよびラットの自発運動への影響（4.2.1.3.5, 2 参考資料 RR 740-03472, -03074, 表 2.6.3.4）

雄性 CD-1 系マウス（1 群 $n = 8$ ）において、プレガバリンの 3, 30 および 300 mg/kg を経口投

与2時間後より低照明環境下でチャンバー内を移動した距離を120分間測定した試験では、30および300 mg/kg投与群で自発運動の低下が見られたが、有意な差ではなかった。一方、ロラゼパム（1群 n = 8）の1および3 mg/kgの経口投与はマウスの自発運動を有意に抑制した（参考資料 RR 740-03472）。また、雄性 Swiss-Webster 系マウス（1群 n = 12）にプレガバリンの10, 30, 100, 300 mg/kgを静脈内投与した直後または1, 10, 100, 300, 1000 mg/kgを経口投与した1時間後に自発運動を評価した試験（参考資料 RR 740-03074）でも自発運動の低下が発現したが、統計学的に溶媒対照群と有意差が認められたのは300 mg/kgを静脈内投与または1000 mg/kgを経口投与した群のみであった。さらに、雄性ラット（Sprague-Dawley 系, 1群 n = 5~12）を用い、プレガバリンの3, 10, 30, 100 および 300 mg/kgを経口投与した2時間後より低照明環境下でチャンバー内を移動した距離を60分間測定した。比較的高用量（100 および 300 mg/kg）のプレガバリンを経口投与すると、自発運動は有意に低下したが、低用量では明らかな変化はみられなかった。また、抗不安薬であるロラゼパム（1群 n = 6~18）の1 mg/kg以上の経口投与により、自発運動は低下した（参考資料 RR 740-03472）。

2) マウスおよびラットにおける運動失調（4.2.1.3.6, 5, 2, 4.2.1.2.2, 4.2.1.1.2, 4.3.30 参考資料 RR 740-03217, -03472, -03074, -03224, 770-00297, -01317, 表 2.6.3.4）

反転させた10 cm四方の金網にマウス（雄性 CF-1 系）が30秒間逆さの状態ではつかまっている能力を試験した。金網からの落下例数は1000 mg/kgを経口投与した群で10例中2例、300 mg/kgを静脈内投与した群で10例中1例であった（参考資料 RR 740-03217）。300または1000 mg/kgまでの経口投与で同様の試験をマウス（雄性 CD1 または Swiss-Webster 系, 1群 n = 10 または 12）で実施した結果、落下は認められなかった（参考資料 RR 740-03472, RR 740-03074）が、ロラゼパム（1, 3, 10 および 30 mg/kg 経口投与）は用量依存的な金網からの落下頻度の増加を誘発した（1群 n = 10~20）。また、マウスを回転式ロッド上を歩かせる運動失調の試験（ロータロッド試験）を実施し、300 mg/kgを腹腔内投与した群では8例中2例、500 mg/kgを腹腔内投与した群では8例中1例が落下した（参考資料 RR 740-03224）。これらの結果から、プレガバリンはマウスに対しては、鎮痛あるいはてんかんのモデルに有効な用量よりもより高い用量において、中等度の頻度にもみ検出可能な運動失調を引き起こすものと推察される。

反転させた13 cm四方の金網にラット（雄性 Sprague-Dawley 系, 1群 n = 6）が30秒間逆さの状態ではつかまっている能力を試験した。金網からの落下回数はプレガバリンの300 mg/kgを経口投与した群で有意に増加したが、10, 30 および 100 mg/kgを経口投与した群では有意な差はなかった（参考資料 RR 740-03472）。抗不安薬であるロラゼパム（1群 n = 6~18）は30あるいは100 mg/kgの経口投与により、プレガバリンの300 mg/kg投与と同程度の金網からの落下を引き起こした。

回転式ロッドの上で平行を維持するように訓練したラット（雄性 Sprague-Dawley 系, 1群 n = 7~10）での試験（ロータロッド試験）では、プレガバリンを投与（100 mg/kg, 皮下投与）したラットは溶媒を投与したラットよりもロッド上にいる時間が約30%短かったが、より低用量（1, 10 および 30 mg/kg 皮下投与）ではロータロッド上の滞在時間に変化はなかった（参考資料 RR 770-00297）。

三番目の運動失調の評価試験では、熟練した観察者が、平らな実験台上で歩行運動中のラット

（雄性 Sprague-Dawley 系）の体位の異常をスコア化した（参考資料 RR 740-03224）。プレガバリン 25, 50, 100 および 125 mg/kg の経口投与後 4 時間において、それぞれ 8 例中、1, 3, 6 および 7 例に軽度の歩行運動失調が認められた。歩行運動失調の ED₅₀ 値は 61 mg/kg (36 – 89 mg/kg, 95%-C.I.) であった。

Beam walking 法を用いて、ラット（雄性 Sprague-Dawley 系, 1 群 n = 9）の微妙な行動障害へのプレガバリンの影響を評価した（参考資料 RR 770-01317）。ラットは暗室内で、長方形の木製の梁（長さ 1.5 m, 断面 2.5 x 2.5 cm）を渡るように訓練された。試験日には長さ 2.5 m の梁を用い、投与前の測定では梁を渡る時間が 10 秒より短く、肢が滑る回数が 2 回以下であった個体が試験に用いられた。しかしながら、プレガバリン（10, 30, 100 mg/kg）の経口投与により梁を渡る時間、肢が滑る回数が用量依存的に有意に増大した。また、プレガバリンの 30 および 100 mg/kg 投与群では落下頻度が増加した（図 28）。より低用量の試験は実施していない。これらの結果より、プレガバリンはラットにおいて歩行運動の協調性の減弱や平衡機能の障害と関連している可能性が示唆される。

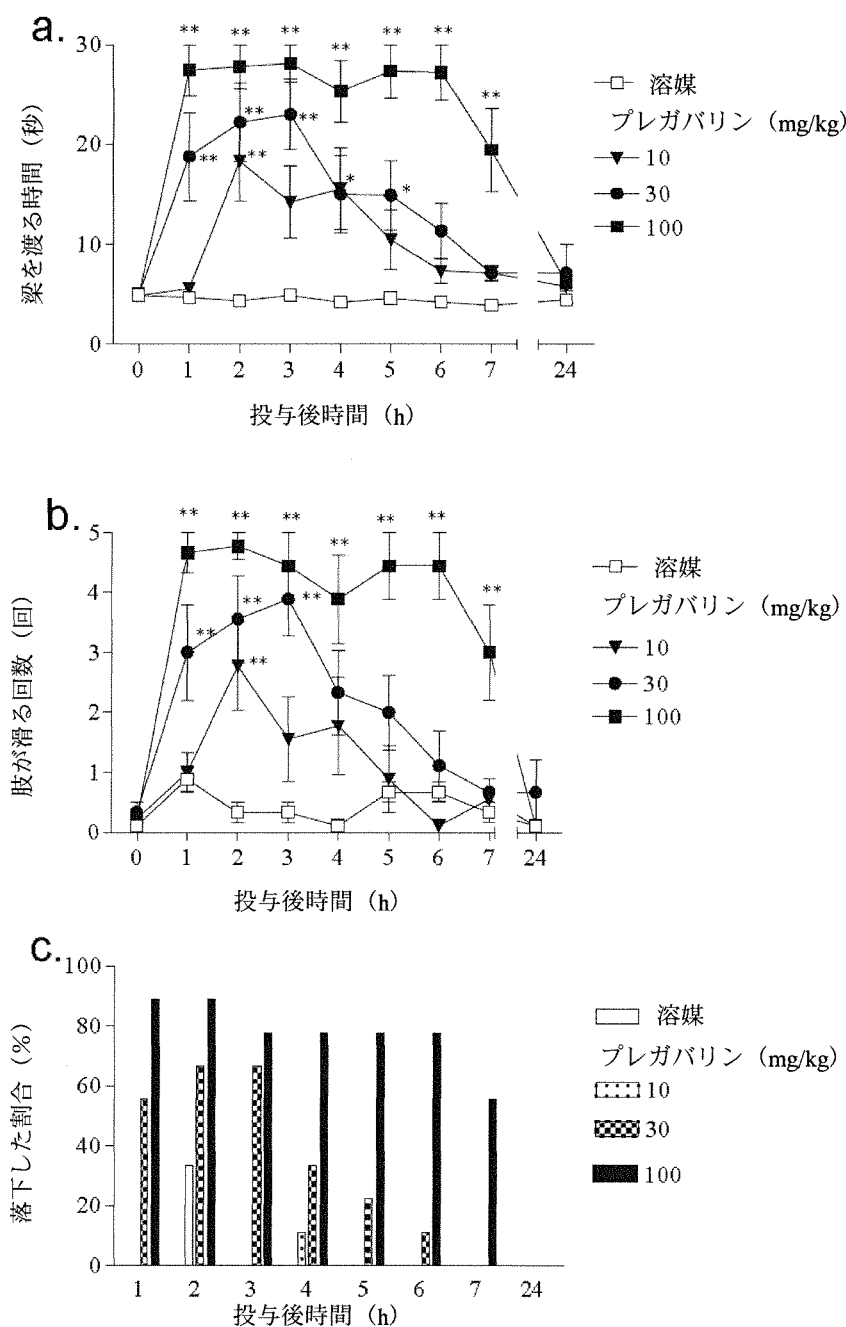


図 28 ラット Beam Walking Test における (a) 梁を渡る時間, (b) 肢が滑る回数, および (c) 落下した割合に対するプレガバリンの影響 (参考資料 RR 770-01317)

溶媒またはプレガバリン (10, 30, 100 mg/kg) を経口投与した後, 動物を経時的に繰り返し検査した。図 a の各点は梁を渡るのに要した時間の平均値 (秒), 図 b は肢が滑る回数の平均値 (回), 図 c の棒は梁から落下した動物の割合 (%) を表す。それぞれの横軸は, 投与後の時間を表す。* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, 溶媒投与群との比較。一元配置分散分析後, Dunnett の方法。(出典: 参考資料 RR 770-01317, Figure 2 より)

(4) 心血管系への影響

1) ラット (4.3.31 参考資料 RR 740-03115, 表 2.6.3.4)

覚醒ラット (雄性, $n = 10$) に, プレガバリンの 30, 100 および 300 mg/kg を漸増経口投与し,

各投与の 20 時間後まで心拍数および血圧を測定する試験を実施した結果、心拍数および血圧に変化はみられなかった。

2) イヌ (4.3.32 参考資料 RR 742-00010, 表 2.6.3.4)

覚醒イヌ (雄性) にプレガバリンの 50 mg/kg を経口投与し、6 時間後まで 1 時間毎に、動脈圧、心拍数、心拍出量、末梢血管抵抗 (計算により算出)、左室収縮性、心電図および血漿中薬物濃度を測定した (n = 3~4)。投与後 6 時間までの 1 時間毎に測定した血漿中プレガバリン濃度は、1 頭の 2 時間後および別の 1 頭の 5 時間後を除いて、4 頭間で概ね等しく、平均血漿中濃度はおよそ 100 µg/mL であった。心血管系のパラメーターに変化はみられなかった。

3) サル (4.2.1.3.7 報告書番号 RR 745-02988, 表 2.6.3.4)

プレガバリンが心血管系に及ぼす影響を、カニクイザル (雄性, n = 3) を用い 10 および 40 mg/kg の静脈内投与で評価した。用量はサルでの 4 週間静脈内投与毒性試験に基づいており、当該試験での血漿中プレガバリンの C_{max} は 10 および 40 mg/kg でそれぞれ、約 60 および 200 µg/mL であった^{注1)}。これらの血漿中薬物濃度は、日本人に最大臨床用量を投与したときの C_{max} ^{注2)} のおよそ 6 倍および 19 倍に相当する。心拍数、血圧 (平均血圧、収縮期血圧および拡張期血圧) および心電図を投与後 24 時間連続して記録した。心電図は約 1 分間分の心電図記録を、投与後 30, 60, 90, 120 および 150 分ならびに 24 時間に、ディスプレイ上で解析した。10 および 40 mg/kg では一般状態に異常はみられず、薬物に関連する心血管系の変化もなかった。

(5) 呼吸系への影響 (4.2.1.3.8 参考資料 RR 760-00073, 表 2.6.3.4)

プレガバリンを 4 mg/kg/min (累積で 200 mg/kg) で 50 分間静脈内投与した麻酔イヌ (雑種, n = 2) において、肺気流および肺内外圧差を測定し、全肺抵抗、動的コンプライアンス、1 回換気量、呼吸数および分時換気量を算出した結果、プレガバリンは肺機能を変化させなかった。

(6) 消化管運動への影響 (4.3.33, 34 参考資料 RR 6051-00006, -00007, 表 2.6.3.4)

一夜絶食した雄性ラット (Sprague-Dawley 系, 1 群 n = 10) にプレガバリンを投与し 2 時間後に液状飼料を与え、さらに 15 分後に屠殺して、胃内容排出および腸管輸送を測定した。100 または 300 mg/kg のプレガバリンを経口投与したところ、排出した胃内容物の割合が低下 (対照群に比しそれぞれ、39.0% および 64.3% の抑制) した。しかしながら、プレガバリンの 30 mg/kg を経口投与した場合には、胃内容排出の低下はわずかであった (12.0% 低下, 有意差なし)。プレガバリンによる胃内容排出の低下はナロキソン (µ-オピオイド拮抗薬) 処置によっても回復しなかったことより、オピオイド様メカニズムによっては生じていないことが示唆された。さらに、小腸内に排出された餌の平均距離はプレガバリンの 30 mg/kg を経口投与しても変わらなかったが、100

注1) 当該用量における雌雄の血漿中濃度の平均。2.6.6.3(1)2)(d)項参照。

注2) 日本人に最大臨床用量 (300 mg, 1 日 2 回) を経口投与したとき、定常状態における C_{max} は 10.3 µg/mL であった (2.7.2.2.1.1(2)項参照)。

mg/kg の経口投与では 13.8%短縮し、300 mg/kg の経口投与では 36.8%短縮した（参考資料 RR 6051-00006）。

大腸内容物の保持時間は雄性 Wistar 系ラット（1 群 $n = 6$ ）を用いて検討した。ラットには 1 日 3 時間ずつ給餌を行った。試験日の給餌後、被験薬を投与して、直後に放射標識を近位大腸に投与し、糞中に排泄された放射標識を測定した。プレガバリンの 30 および 100 mg/kg の経口投与により、平均大腸保持時間は溶媒を投与したときの 5.91 ± 0.45 （平均値 $\pm$ 標準誤差、以下同じ）および 6.03 ± 1.98 時間からそれぞれ 8.91 ± 0.96 および 16.42 ± 1.46 時間に有意に増大した（参考資料 RR 6051-00007）。

一方、ラットに最大 2 年間、日本人に最大臨床用量を投与したときの約 25 倍^{注1)} の曝露量となるプレガバリンを投与した試験において (2.6.6.5(2)3)項参照)、消化管への有害作用は認められていない。したがって、臨床用量においてプレガバリンが有害な消化管作用を示す可能性は低いと考えられた。

(7) 腎臓への影響 (4.2.1.3.9 報告書番号 RR 745-02986, 表 2.6.3.4)

プレガバリンの心血管系および腎臓への影響をラット（雄性 Wistar 系）で評価した。8 頭の動物には、溶媒またはプレガバリンの 15 および 150 mg/kg を 7 日間の間隔で静脈内投与し、同一個体による溶媒対照群を設定した。用量はラットの 7 日間静脈内投与毒性試験に基づいており、この試験での 150 mg/kg 静脈内投与時のプレガバリンの C_{max} は 210 $\mu\text{g/mL}$ であり^{注2)}、日本人における最大臨床用量投与時の C_{max} ^{注3)} のおよそ 20 倍である。心拍数、血圧（平均血圧、収縮期血圧および拡張期血圧）および心電図を投与後 24 時間連続して記録した。記録された心電図データから 30 分毎に約 1 分間分の心電図記録が作成され、投与後 1.5 時間までおよび投与後 24 時間の前 1 時間にディスプレイ上で解析を行った。腎臓への影響は投与後 24 時間の摂水量および尿量によって検討した。24 時間尿を用いて、尿中 Na^+ 、 K^+ および Cl^- 濃度を測定した。

150 mg/kg を投与したすべてのラットでみられた運動失調は 24 時間以内に消失した。また、150 mg/kg の 1 例に尿による被毛の汚れがみられた。15 mg/kg では一般状態の異常または心血管系および腎パラメーターへの影響は認められなかった。150 mg/kg では心拍数が投与後 9 時間まで 9~19% 増加し、摂水量が 29% 増加し、尿量が 82% 増加した。しかしながら、血圧または尿中電解質排泄の変化はみられなかったため、上記の影響は意味のある生理的有害反応とは考えられなかった。

2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用

プレガバリンの薬力学的相互作用の可能性に関連する実験動物を用いた試験は実施していない。

注1) ラットのがん原性試験において、雌にプレガバリンの 900 mg/kg を混餌投与したときの AUC_{0-24} (2960 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/mL}$, 表 2.6.7.10D 参照) を、日本人に最大臨床用量 (300 mg, 1 日 2 回) を経口投与したときの定常状態における AUC_{0-12} (58.8 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/mL}$, 2.7.2.2.2.1.1(2)項参照) の 2 倍で除した。

注2) 当該用量における雌雄の血漿中濃度の平均。2.6.6.3(1)1)(b)項参照。

注3) 日本人に最大臨床用量 (300 mg, 1 日 2 回) を経口投与したとき、定常状態における C_{max} は 10.3 $\mu\text{g/mL}$ であった (2.7.2.2.2.1.1(2)項参照)。

2.6.2.6 考察および結論

(1) 有効性

プレガバリンは急性侵害刺激（正常な痛覚）に対する逃避行動は妨げないが，末梢神経結紮による神経障害性疼痛モデル，およびホルマリン投与，カラゲニン投与，外科手術処置による炎症性や組織損傷性に惹起した疼痛モデルにおいて，アロディニア，痛覚過敏または自発痛を抑制した。

急性侵害刺激においては，熱，機械的または化学物質による刺激が細い一次求心性ニューロン（A δ およびC線維）を興奮させ，痛み刺激を脊髄に伝達する。一方，末梢神経損傷に起因する神経障害性疼痛の発生機序として，有髄神経線維（A線維）が痛み刺激を伝えるC線維投射部位（脊髄後角II層）へ発芽することが知られている^{注1)}。特に太い有髄神経線維であるA β 線維は触刺激や可動刺激に応答する神経線維であり，末梢からA β 線維に輸入された刺激（触刺激，可動刺激）が脊髄レベルでは痛み情報として伝わるようになり^{注2)}，神経障害性疼痛時にみられるアロディニアの発症に重要な役割を果たしていると考えられている。

神経障害性疼痛モデルとして用いた2種の末梢神経結紮モデル（CCIおよびSNLモデル）において，プレガバリンは静的（軽く点状に圧することで生じる）および動的（鈍い軽擦により生じる）のどちらのタイプの接触性アロディニアも有意に抑制し，両者に対するMEDは，CCIモデルでは3～10 mg/kg（経口投与），SNLモデルでは10 mg/kg（経口投与）であった。また，プレガバリンはアロディニアを発症していない反対側肢の正常な痛覚閾値には影響を与えなかった。

一方，鎮痛用量のモルヒネ（1, 3 mg/kg，皮下投与）は，静的アロディニアを抑制したものの，同用量で動のアロディニアは抑制しなかった。モルヒネの鎮痛作用は，末梢および中枢に存在する μ オピオイド受容体が活性化され，痛覚伝達の脊髄後角での直接的な抑制と中脳からの下行性抑制系の活性化により生じることが知られている^{注3)}。モルヒネは脊髄後角において，A δ およびC線維を刺激することにより惹起される反応を抑制するもののA α およびA β 線維刺激による反応に対する作用は弱いことが報告されている^{注4)} ^{注5)}。一方，神経障害性疼痛においては，前述のようにA β 線維がアロディニアの発症に重要な役割を果たしていること，また，神経障害性疼痛時には下行性抑制系の機能異常などの変化が生じていることも報告されている^{注1)}。これらの理由により，モルヒネは正常な痛覚に影響する一方で，神経障害性疼痛モデルで発生するアロディニアに対しては十分な効果が得られなかったものと考えられ，静的アロディニアではA δ またはC線維が，動のアロディニアではA β 線維の関与が示唆される。

帯状疱疹後神経痛は末梢性神経障害性疼痛の代表的な疾患の一つであり，その臨床症状は刺激には依存しない自発的な疼痛（自発痛）とアロディニアに代表される刺激誘発性疼痛が特徴的で，患者においては静的，動的どちらのアロディニアも通常の生活に関連して発生するものと考えら

注1) 井上誠，植田弘師. 病態としての“痛み”研究. 脳 21, 2003;6(1):34-41.

注2) 2.5.1.1 項

注3) グッドマンギルマン薬理書（上）第10版

注4) Le Bars D, Rivolt JP, Guilbaud G, et al. The depressive effect of morphine on the C fibre response of dorsal horn neurones in the spinal rat pretreated or not by pCPA. Brain Res 1979;176:337-53.

注5) Dickenson AH, Sullivan AF. Electrophysiological studies on the effects of intrathecal morphine on nociceptive neurons in the rat dorsal horn. Pain 1986;24:211-22.

れる。CCI および SNL モデルにおいて認められる静的アロディニアおよび動のアロディニアはともに臨床と同様の手法で惹起され、ヒトのアロディニアと同様に正常動物では反応を示さない弱い触刺激に対する反応であることから、これらのモデルは神経障害性疼痛の臨床病態を反映したモデルと考えられる^{注1) 注2)}。したがって、プレガバリンは神経障害性疼痛患者においてモルヒネと比較してより有効性が高いことが示唆される。

プレガバリンの鎮痛作用はその他の疼痛モデルにおいても認められた。ホルマリン投与による二相性の疼痛関連行動（自発痛）に対して、モルヒネは両相に対してほぼ同用量で鎮痛効果を示すことが報告されているが^{注3) 注4)}、プレガバリンは第 2 相を選択的に抑制した。第 1 相ではホルマリンの化学的刺激が知覚神経を直接刺激し、一方第 2 相は第 1 相の侵害刺激（痛覚入力）による脊髄後角での感作が関与していると考えられている。この結果からも、プレガバリンはモルヒネなどの抗侵害受容薬とは異なり、急性的・生理的な痛みの発生を妨げることなく、慢性的な痛覚感受性異常を改善することが期待される。さらに、プレガバリンはカラゲニン投与による炎症や外科手術等に誘発される痛覚過敏モデルにおいても有効性を示した。これらの疼痛モデルは神経障害性疼痛モデルとは位置付けられていないものの、末梢からの刺激により脊髄後角細胞の過敏化が生じている。このような中枢感作も神経障害性疼痛の発生機序のひとつとして考えられており^{注5)}、これらのモデルにおける有効性も帯状疱疹後神経痛に対する本薬の有効性を支持するものと考えられる。また、脊髄後角に投射する痛覚感受性の一次求心性ニューロンから放出される神経伝達物質として、サブスタンス P およびグルタミン酸が知られている。サブスタンス P およびグルタミン酸の受容体作動薬である NMDA をラットの髄腔内に投与することによって痛覚過敏が誘発され、プレガバリンはこれを抑制した。このことは、プレガバリンが末梢からの過剰入力によって発生する痛覚異常に対して抑制作用を示すことをさらに支持する結果である。

(2) 作用機序

プレガバリンは内因性の抑制性神経伝達物質である GABA と構造的に類似しているが、GABA_A、GABA_B およびベンゾジアゼピン受容体に対する作用はなかった。また、脳神経細胞への GABA の取り込みに対しても急性的には影響しなかった。

プレガバリンは電位依存性カルシウムチャネルの補助的サブユニットである $\alpha_2\delta$ サブユニットと高親和性で結合することが認められた。プレガバリンのエナンチオマーであり $\alpha_2\delta$ サブユニットへの親和性がプレガバリンの約 1/20 である PD 0144550 は、ホルマリンおよびカラゲニン投与による疼痛行動および痛覚過敏に対して、有効性が減弱もしくは消失した。また、カラゲニン誘発痛覚過敏モデルにおいて、プレガバリンの類縁化合物の有効性と $\alpha_2\delta$ サブユニットへの親和性の相関性を調べたところ、有意な相関関係が認められた。さらに、プレガバリンとの結合能が低下す

注1) Bennett GJ, Xie YK. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. *Pain* 1988;33(1):87-107.

注2) Kim SH, Chung JM. An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat. *Pain* 1992;50(3):355-63.

注3) Jett MF, Michelson S. The formalin test in rat: validation of an automated system. *Pain* 1996;64(1):19-25.

注4) Wheeler-Aceto H, Cowan A. Standardization of the rat paw formalin test for the evaluation of analgesics. *Psychopharmacology* 1991;104(1):35-44.

注5) 2.5.1.1 項

るよう $\alpha_2\delta_1$ サブユニット^{注1)}に遺伝子改変を行ったマウスを用いると、野生型では見られたプレガバリンのアロディニアに対する抑制作用が認められなかった。これらの結果から、 $\alpha_2\delta$ サブユニットへの結合が本薬の薬理作用の本体であることが支持される。

さらに、末梢神経結紮による神経障害性疼痛モデルにおいて、脊髄または脊髄後根神経節 (DRG) にある $\alpha_2\delta_1$ サブユニットの発現が著しく上昇することが報告されている。Luo ら^{注2)}は、ラット SNL、CCIモデルにおいて接触性アロディニアが発現する時点で、 $\alpha_2\delta_1$ サブユニットの発現を検討した。SNLモデルにおいては脊髄および DRG で、CCIモデルでは DRG において、 $\alpha_2\delta_1$ サブユニットの発現が上昇した。また、 $\alpha_2\delta$ サブユニットを過剰発現させた遺伝子改変マウスにおいては痛覚感受性が亢進し、接触性アロディニアが発症していることが報告されている^{注3)}。これらの結果より、本サブユニットはプレガバリンの作用に介在しているのみならず、神経障害性疼痛の発生機序においても重要な役割を果たしていることが示唆されている。また、ラットに神経障害性疼痛モデルを作成し、その DRG 神経細胞における $\alpha_2\delta_1$ サブユニット mRNA の発現を検討した報告^{注4)}では、神経障害により全ての細胞サイズ (小型、中型および大型) において $\alpha_2\delta_1$ サブユニット mRNA を発現している割合が上昇し、A α/β 線維の細胞体であると考えられる大型細胞でその上昇率は最も大きかったことが示されている。このことは、前項で述べた本薬の A β 線維が関与するアロディニアに対する有効性を裏付けるものと考えられる。

$\alpha_2\delta_1$ サブユニットは、電位依存性カルシウムチャネルを構成し、その細胞膜上への発現や機能に影響を与える補助的サブユニットのひとつである。プレガバリンはラットおよびサル的大脑から調製したシナプトソームにおいて、カルシウムイオン流入を部分的に抑制した。またプレガバリンは中枢神経の切片標本において、興奮性アミノ酸、モノアミン神経伝達物質、および興奮性神経ペプチドの遊離を抑制する作用を示した。これらの結果から、 $\alpha_2\delta$ サブユニットに結合することにより、カルシウムイオン流入を減少させ、さらに細胞内カルシウムイオン濃度上昇に依存する神経伝達物質の放出を抑制することがプレガバリンの作用機序として考えられる。また、この神経伝達物質の放出抑制作用は神経組織を興奮性神経ペプチド、炎症惹起、プロテインキナーゼ C 活性化等により前刺激した場合に顕在化した。これらの知見および末梢神経障害性の疼痛モデルにおいて $\alpha_2\delta_1$ サブユニットの発現が著しく増加していることなどを考え合わせると、生理的な痛みの発生は妨げず、感作された異常な痛覚感受性を改善する本薬の特徴が裏付けられるものと考えられる。

さらに、本薬の作用機序は電気生理学的な研究においても検討されている。プレガバリンは、神経障害および炎症を有するラットにおいて発生する、知覚神経の異常な遠心性活動電位 (後根反射, DRR) を抑制した。DRR は中枢側へも侵入し、機械的痛覚刺激に対して過度な痛覚伝達の

注1) $\alpha_2\delta$ サブユニットには4つのサブタイプが存在するが、そのうちプレガバリンが結合するのは $\alpha_2\delta_1$ および $\alpha_2\delta_2$ サブユニットである。

注2) Luo ZD, Calcutt NA, Higuera ES, et al. Injury type-specific calcium channel $\alpha_2\delta$ -1 subunit up-regulation in rat neuropathic pain models correlates with antiallodynic effects of gabapentin. J Pharmacol Exp Ther 2002; 303: 1199-205.

注3) Li CY, Zhang XL, Matthews EA, et al. Calcium channel $\alpha_2\delta_1$ subunit mediates spinal hyperexcitability in pain modulation. Pain 2006; 125: 20-34.

注4) Newton RA, Bingham S, Case PC, et al. Dorsal root ganglion neurons show increased expression of the calcium channel $\alpha_2\delta$ -1 subunit following partial sciatic nerve injury. Brain Res Mol Brain Res 2001;95(1-2):1-8.

原因になると考えられている。プレガバリンは脊髄後角から発生する異常な神経興奮を抑制することが示された。一方、本薬が電位依存性カルシウムチャネル開閉に対してどのように影響しているかについては十分には解明されていない。しかし近年の研究から^{注1)}、カルシウムチャネル機能に直接的に作用する可能性に加え、電位依存性カルシウムチャネルの細胞表面への細胞内輸送を調節することにより、間接的にカルシウムチャネル機能に作用する可能性が示唆されている。すなわち、作用機序が類似しているガバペンチンは細胞内で $\alpha_2\delta$ サブユニットに作用して、 α_1 および $\alpha_2\delta$ サブユニットの細胞表面での発現量を減少させることにより、カルシウムチャネル電流を減少させていると報告されている。しかしながら、この作用はガバペンチンを長時間適用（40 時間）することによって得られたが、急性的（10 分から 6 時間）な適用では認められなかった。また、このカルシウムチャネル発現量に対する作用が個々のカルシウムチャネル複合体の機能にどのような影響を及ぼしているかは不明であるが、 α_1/β_4 サブユニットを発現させた細胞と $\alpha_1/\beta_4/\alpha_2\delta$ サブユニットを発現させた細胞で単一チャネル記録による解析を行ったところ、両者でチャネルの特性は同様であったことが報告されており^{注2)}、個々のカルシウムチャネルの開閉には影響を与えず、細胞表面のカルシウムチャネル複合体数を減少させることも考えられる。

既存の鎮痛作用を有する薬物とプレガバリンの作用機序の比較を表 4 に示す。プレガバリンは興奮性および抑制性アミノ酸によるシナプス後電位、もしくは長期増強には影響を与えず、電位依存性ナトリウムチャネルを介したイオン電流にも影響を与えなかった。また、オピオイド受容体に対する結合、シクロオキシゲナーゼおよびノルアドレナリンとセロトニンおよびドパミンの再取り込みに対する阻害作用も認められなかった。これらの結果から、プレガバリンの作用機序は、既存の鎮痛薬とは相異なっていることが示唆される。

注1) Hendrich J, Tran Van Minh A, Heblich F, et al. Pharmacological disruption of calcium channel trafficking by the $\alpha_2\delta$ ligand gabapentin. *Proc Natl Acad Sci* 2008;105:3628-33.

注2) Brodbeck J, Davies A, Courtney JM, et al. The ducky mutation in *Cacna2d2* results in altered Purkinje cell morphology and is associated with the expression of a truncated $\alpha_2\delta$ -2 protein with abnormal function. *J Biol Chem* 2002;277:7684-93.

表 4 既存の鎮痛作用を有する薬物とプレガバリンの作用機序の比較

作用機序	作用薬	プレガバリンの作用	プレガバリンの濃度	報告書番号
$\alpha_2\delta$ サブユニット結合	プレガバリン ガバペンチン	競合的に結合	0.019 $\mu\text{mol/L}$ (K_i 値)	RR 740-03602
GABA _A 受容体における反応増強作用	ジアゼパム ヘキソバルビタール	GABA _A 受容体活性化に無作用 (電気生理学的検討)	100 $\mu\text{mol/L}$	RR 740-03539
ナトリウムチャネル遮断	フェニトイン カルバマゼピン リドカイン	ナトリウムチャネル機能を遮断せず (電気生理学的検討)	500 $\mu\text{mol/L}$	RR 740-03220
オピオイド受容体の活性化	モルヒネ ヒドロコドン	オピオイド μ , δ , κ 受容体へのリガンド結合を阻害せず (阻害率 30%未満)	100 $\mu\text{mol/L}$	RR 740-03076
NMDA 受容体遮断	ケタミン	NMDA 受容体刺激による EPSP および LTP に影響せず (電気生理学的検討)	100 $\mu\text{mol/L}$	RR 740-03517
シクロオキシゲナーゼ酵素活性の阻害	イブプロフェン ナプロキセン セレコキシブ	シクロオキシゲナーゼ-2 (COX-2) およびシクロオキシゲナーゼ-1 (COX-1) 酵素活性を阻害せず	20 $\mu\text{mol/L}$ (COX-2) 100 $\mu\text{mol/L}$ (COX-1)	RR 760-00132
ノルアドレナリン, セロトニン, ドパミンの再取り込み阻害	アミトリプチリン	ノルアドレナリン, セロトニンおよびドパミンの再取り込みを阻害せず	>1 mmol/L (IC_{50} 値)	RR 740-03545

(3) 安全性

プレガバリンは 38 種実施した放射性リガンドの *in vitro* 結合試験に対して抑制活性を認めず、また幾つかの酵素 (GABA トランスアミナーゼ, シクロオキシゲナーゼ-1 および-2) 活性およびモノアミン (ノルアドレナリン, セロトニン, ドパミン) 再取り込みにも影響を与えなかった。したがって、プレガバリンがこれらの標的分子を介した作用を発現する可能性は低いと考えられる。

プレガバリンは薬物乱用と関連する標的分子に対して不活性であった。さらにプレガバリンは条件づけ場所嗜好性試験においてモルヒネ様嗜好性を示さないことが示され、アヘン剤、ベンゾジアゼピン系薬物およびバルビツール酸誘導体と類似の薬物弁別刺激効果は有していなかった。また、アカゲザルを用いた静脈内自己摂取において持続的な自己摂取の強化作用は認められなかった。これらの結果より、プレガバリンに薬物乱用の可能性は低いことが示唆された。

中枢神経系への影響を検討した安全性薬理試験において、最も多く見られた所見は自発運動の低下もしくは軽度の運動失調であり、ラットでは 25 mg/kg 以上の経口投与、マウスでは静脈内または腹腔内投与では 300 mg/kg 以上、経口投与では 1000 mg/kg の用量で認められた。また、リスザルにおいて、30 と 100 mg/kg の経口投与により用量依存的な筋緊張および運動協調性の低下作用が認められた。これらの中枢神経系の有害作用に関与する特異的な発現機序は解明されてい

いが、ガバペンチンが動物^{注1)} およびヒト^{注2)} においてプレガバリンと類似の中枢神経系の有害作用を示すことから、 $\alpha_2\delta$ サブユニットへの結合との関連が示唆される。また、プレガバリンはラットにおいて 3 mg/kg 以上の用量で用量依存的にノンレム睡眠を増加させ、30 mg/kg の用量では有意なレム睡眠の減少が認められた。但し、ノンレム睡眠開始までの潜時および睡眠サイクルの長さには影響を与えなかった。また、この作用は断眠の次に続く睡眠への影響と似ており、プレガバリンは総睡眠時間に大きな変化を与えることなしに生理的な睡眠を誘発することが示唆された。

プレガバリンは心血管系（ラット、イヌ、サル）、呼吸系（イヌ）のパラメーターに影響を与えず、腎臓（ラット）に対し意味のある有害作用を与えなかった。

消化管運動に対してはラットに 100 および 300 mg/kg を経口投与した場合、胃排出能および小腸内輸送能の低下が認められた。また、30 および 100 mg/kg を経口投与した場合、大腸内容物の保持時間を有意に増大させた。作用機序が類似しているガバペンチンの場合、マウスにおいて 100 mg/kg 以上で腸管炭末輸送能が抑制した^{注3)} が、モルモット摘出回腸の自発収縮およびアゴニストによる収縮反応に対して 1000 $\mu\text{g/mL}$ まで作用を示さなかったことから、炭末輸送能の抑制作用は、末梢性の作用ではなく中枢神経系を介したものと考えられた^{注4)}。プレガバリンの場合、摘出消化管を用いた試験は実施されていないが、消化管運動に関与する受容体等を含む広範なリガンド結合に対し、ほとんど影響を与えなかったことから（2.6.2.3(1)項参照）、ガバペンチン同様、中枢神経系を介したものであると推察される。しかしながら、日本人に最大臨床用量を投与したときの約 25 倍^{注5)} の曝露量となるプレガバリンを最大 2 年間投与した試験において（2.6.6.5(2)3) 項参照）、消化管への有害作用は認められていない。したがって、臨床用量において有害な消化管作用を示す可能性は低いと考えられた。

以上の結果から、臨床で予想される副作用は、傾眠、中枢神経系の抑制であった。薬効用量に近い用量でのこれらの作用は軽度であり、重篤な副作用は発現しないものと推察されるが、この結果も踏まえ、添付文書（案）の重要な基本的注意の項に、「本剤の投与により浮動性めまい、傾眠等があらわれることがあるので、本剤投与中の患者には、自動車の運転等危険を伴う機械の操作に従事させないよう注意すること。高齢者ではこれらの症状により転倒等を伴う可能性があるため、十分に注意させること。」と記載した。

(4) 血中濃度との関連

プレガバリンの薬理作用を検討した動物モデルにおける血漿中濃度は、ほとんどの試験で測定されていないので、測定値が得られていない場合には、以下の方法で可能な限り最大血漿中濃度を推定した。

ラットを用いた薬物動態試験において、5～150 mg/kg のプレガバリンを経口投与したときの

注1) Vartanian MG, Radulovic LL, Kinsora JJ, et al. Activity profile of pregabalin in rodent models of epilepsy and ataxia. *Epilepsy Res* 2006;68:189-205.

注2) ガバペンチン医薬品インタビューフォーム（2008 年 1 月改訂第 3 版）

注3) ガバペンチン承認申請時提出資料 2.6.2.4(1)5) 項

注4) ガバペンチン承認申請時提出資料 2.6.2.6 項

注5) ラットのがん原性試験において、雌にプレガバリンの 900 mg/kg を混餌投与したときの $\text{AUC}_{(0-24)}$ (2960 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/mL}$, 表 2.6.7.10D 参照) を、日本人に最大臨床用量 (300 mg, 1 日 2 回) を経口投与したときの定常状態における $\text{AUC}_{(0-12)}$ (58.8 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/mL}$, 2.7.2.2.2.1.1(2)項参照) の 2 倍で除した。

$C_{\max}$ は用量に比例して増大しており (2.6.4.3(1)項, 報告書番号 RR 764-02204), この結果から 100 mg/kg 以下のプレガバリンをラットに経口投与したときの $C_{\max}$ を推定した。また, ラット生殖発生毒性試験において, プレガバリン 250 mg/kg を反復経口投与したときの $C_{\max}$ は 185 $\mu\text{g/mL}$ であったので (表 2.6.7.12B, 報告書番号 745-02829 のトキシコキネティクスパラメーター), 257 mg/kg および 300 mg/kg のプレガバリンをラットに経口投与したときの $C_{\max}$ にはこの値を代用した。一方, 1000 mg/kg のプレガバリンをマウスに経口投与したときの $C_{\max}$ には, マウス生殖発生毒性試験において, プレガバリン 500 mg/kg を反復経口投与したときの $C_{\max}$ (291 $\mu\text{g/mL}$) を代用した。上記の推定に基づき, 今回提出した薬理試験において *in vivo* で作用が認められた各試験での作用発現用量, 推定最大血漿中濃度および安全係数をまとめ, 表 5 に示す。

薬効薬理試験の結果から, プレガバリンの鎮痛作用は血漿中濃度が 9.3 から 15 $\mu\text{g/mL}$ 程度のときに発現することが示唆された。日本人に最大臨床用量である 300 mg (1 日 2 回) を投与した時の定常状態における $C_{\max}$ は 10.3 $\mu\text{g/mL}$ (2.7.2.2.2.1.1(2)項参照) であり, 臨床用量での有効性は期待できると考えられた。

副次的・安全性薬理試験においては, 中枢神経系, 消化管および腎臓への影響が認められた。これらに関するヒトでの安全性について, 以下に説明する。

中枢神経系では, 安全係数の観点から, 睡眠への影響 (安全係数 0.9) および中枢神経系の抑制 (安全係数 1.5) に関連した副作用が臨床で発現すると予想されるが, 上述したように (睡眠—2.6.2.3(4)項, 中枢神経系の抑制—2.6.2.4(3)2)項), これらの副作用は臨床で重篤ではないものと推察される。しかし, 得られている安全係数を考慮し, 前項で述べたように添付文書 (案) において注意喚起した。

一方, 消化管に対する副作用としては胃排出遅延および大腸保持時間の増加が認められており, その安全係数は 3.1~8.8 であった。しかし, 前項でも述べたとおり, 日本人に最大臨床用量を投与したときの約 25 倍^{注1)} の曝露量となるプレガバリンを最大 2 年間投与したラットがん原性試験において (2.6.6.5(2)3)項参照), 消化管への有害作用は認められていないことから, 臨床において重篤な消化管作用を示す可能性は低いと考えられた。

心血管および腎臓への影響 (心拍数, 摂水量, 尿量の増加) についても, 十分な安全係数が確保されており (安全係数 20), かつ, 血圧および尿中電解質排泄に変化が認められなかったことから (2.6.2.4(7)項), ヒトにおいて心血管および腎臓に関連した副作用が発現する可能性は低いものと考えられた。

以上のように, 安全性薬理試験で得られたデータの考察結果から, プレガバリンの臨床使用において, 安全性薬理試験で測定した項目および認められた所見に関連した重篤な副作用が発現する可能性は低いと考えられた。

注1) ラットがん原性試験で, 雌にプレガバリンの 900 mg/kg を混餌投与したときの $AUC_{(0-24)}$ (2960 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/mL}$, 2.6.7.10D 項) を, 日本人に最大臨床用量 (300 mg, 1 日 2 回) を経口投与したときの定常状態における $AUC_{(0-12)}$ (58.8 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/mL}$, 2.7.2.2.2.1.1(2)項) の 2 倍で除した。

表 5 各種動物モデルにおけるプレガバリンの作用とその作用発現用量，血漿中濃度および安全係数のまとめ

動物モデル，所見または測定項目	動物種	関連病態	作用発現用量 ^a	推定最大血漿中濃度 (C _{max}) ^b	安全係数 ^c
慢性絞扼神経損傷モデルでの鎮痛作用	ラット	神経障害性疼痛	3 mg/kg	約 9.3 µg/mL	
脊髄神経結紮モデルでの鎮痛作用	ラット		10 mg/kg	約 15 µg/mL	
ホルマリンテストでの鎮痛作用	ラット	炎症性疼痛	10 mg/kg	約 15 µg/mL	
抗けいれん作用 (最大電撃けいれん)	ラット	てんかん	1.3 mg/kg ^d	約 7.9 µg/mL	0.8
抗不安作用 (Vogel コンフリクトモデル)	ラット	不安障害	10 mg/kg	約 15 µg/mL	1.5
ノンレム睡眠の増加	ラット	中枢性副作用	3 mg/kg	約 9.3 µg/mL	0.9
正向反射の遅延	ラット	中枢性副作用	257 mg/kg ^d	約 185 µg/mL	18
体温低下	マウス	中枢性副作用	50 mg/kg ^e	96 µg/mL ^f	9.3
自発運動の低下	マウス	中枢性副作用	1000 mg/kg	> 291 µg/mL ^g	> 28
	ラット	中枢性副作用	100 mg/kg	約 91 µg/mL	8.8
反転させた金網からの落下回数増加	マウス	中枢性副作用	1000 mg/kg	> 291 µg/mL ^g	> 28
	ラット	中枢性副作用	300 mg/kg	> 185 µg/mL	> 18
梁 渡 り 時 間 の 延 長 (Beam walking 法)	ラット	中枢性副作用	10 mg/kg	約 15 µg/mL	1.5
胃排出遅延	ラット	消化管副作用	100 mg/kg	約 91 µg/mL	8.8
大腸保持時間の増加	ラット	消化管副作用	30 mg/kg	約 32 µg/mL	3.1
心拍数，摂水量および尿量の増加	ラット	心血管および腎臓への影響	150 mg/kg ^e	210 µg/mL	20

^a: 脚注が記載されている場合を除き，経口投与での用量を示す。

^b: ラットの場合，薬物動態試験 (2.6.4.3(1)項) で得られた結果から回帰法により，C_{max} を推定した。但し，257 mg/kg および 300 mg/kg 経口投与時の C_{max} は，ラット生殖発生毒性試験における 250 mg/kg 経口投与時のトキシコキネティクスデータを用いた (表 2.6.7.12B)。

^c: 各試験での推定最大血漿中濃度を，日本人に最大臨床用量 (300 mg，1 日 2 回) を経口投与したときの定常状態における C_{max} (10.3 µg/mL) で除した。

^d: ED₅₀ 値

^e: 静脈内投与

^f: 投与後 5 分の平均血漿中濃度

^g: マウス生殖発生毒性試験における 500 mg/kg 経口投与時のトキシコキネティクスデータを用いた (表 2.6.7.13A)。

(5) 結論

プレガバリンは，既存の鎮痛薬とは異なったα₂δサブユニットへの結合を介する作用機序を有し，生理的な痛みの発生は妨げず神経障害や炎症，組織損傷などにより感作された幅広い痛覚感受性異常を改善した。また，安全性薬理試験の結果から重篤な副作用は発現しないことが示唆されている。これらの結果を総じて，プレガバリンは高い新規性と安全性を有する新しいタイプの鎮痛薬であり，有効性の高い治療薬が望まれている末梢神経障害性疼痛の帯状疱疹後神経痛に対する改善効果が期待される。

2.6.2.7 図表

本文中に記載。

プレガバリン

リリカ[®]カプセル 25 mg

リリカ[®]カプセル 75 mg

リリカ[®]カプセル 150 mg

第 2 部（モジュール 2）CTD の概要

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.3 薬理試験概要表

ファイザー株式会社

目 次

2.6.3	薬理試験概要表	5
2.6.3.1	薬理試験：一覧表	5
2.6.3.2	効力を裏付ける試験.....	10
2.6.3.3	副次的薬理試験.....	11
2.6.3.4	安全性薬理試験.....	12
2.6.3.5	薬力学的薬物相互作用	17

2.6.3 薬理試験概要表

2.6.3.1 薬理試験：一覧表

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	報告書番号	記載箇所
効力を裏付ける試験					
神経障害性（末梢神経結紮）疼痛モデルにおける鎮痛作用	ラット	強制経口	Pfizer**	RR 770-00294	4.2.1.1.1
坐骨神経慢性絞扼神経損傷モデルにおける鎮痛作用	ラット	強制経口， 腹腔内	Pfizer	RR 770-00312	4.3.1
足蹠ホルマリンテストにおける鎮痛作用	ラット	皮下	Pfizer**	RR 770-00297	4.2.1.1.2
足蹠ホルマリンテストにおける鎮痛作用	ラット	強制経口	Pfizer*	RR 740-03479	4.3.2
足蹠カラゲニン誘発痛覚過敏モデルにおける作用	ラット	皮下	Pfizer**	RR 770-00297	4.2.1.1.2
外科手術後疼痛モデルにおける鎮痛作用	ラット	皮下	Pfizer**	RR 770-00296	4.2.1.1.3
サブスタンスPおよびNMDA誘発痛覚過敏モデルにおける作用	ラット	腹腔内， 腹腔内		PGL-PD-2	4.3.3
[³ H]ガバペンチン放射性リガンド結合に対する作用	ブタ脳ホモジネート，遺伝子組換え HEK 細胞株	<i>In vitro</i>	Pfizer	RR 740-03602	4.2.1.1.4
[³ H]プレガバリン放射性リガンド結合	遺伝子組換え HEK 細胞株	<i>In vitro</i>	Pfizer	RR 740-03614	4.2.1.1.5
[³ H]ガバペンチン放射性リガンド結合に対する作用	ラット脳ホモジネート	<i>In vitro</i>	Pfizer*	RR 740-03239	4.3.4
[³ H]ガバペンチン放射性リガンド結合に対する作用（ <i>in vivo</i> 鎮痛作用との相関性）	ブタ脳ホモジネート	<i>In vitro</i>	Pfizer	RR 740-03576	4.3.5
$\alpha_2\delta$ サブユニット遺伝子修飾マウスにおけるプレガバリンの作用	R217A 変異マウス	強制経口	Pfizer	PGL-PD-1	4.2.1.1.6

* : PARKE-DAVIS Pharmaceutical Research, ** : PARKE-DAVIS Neuroscience Research Centre

一覧表 (2/6)

試験の種類		試験系	投与方法	実施施設	報告書番号	記載箇所
効力を裏付ける試験 (続き)						
カルシウムイオン流入に対する作用	ラットおよびサル脳のシナプトソーム標本	In vitro	Pfizer		RR 740-03538	4.3.6
カルシウムイオン流入に対する作用	ヒト脳のシナプトソーム標本	In vitro			PGL-PD-3	4.3.7
[³ H]グルタミン酸放出に対する作用	ラット脳組織切片 (三叉神経核)	In vitro	Pfizer		RR 770-00311 ^b	4.2.1.1.7
[³ H]モノアミン神経伝達物質放出に対する作用	ラット脳組織切片 (新皮質, 線条体)	In vitro	Pfizer*		RR 740-03489 ^b	4.3.8
[³ H]ノルアドレナリン, [³ H]セロトニン, [³ H]アセチコリン, [³ H]ドパミン放出に対する作用	ラット脳組織切片 (新皮質, 線条体, 小脳, 海馬, 脊髄)	In vitro	Pfizer		RR 740-03578	4.3.9
サブスタンス P およびカルシトニン遺伝子関連ペプチドの放出に対する作用	ラット脊髄組織切片	In vitro			RR 740-03537	4.2.1.1.8
電気生理学的検討 (後根反射)	麻酔ラット	静脈内	Pfizer		RR 770-00322	4.2.1.1.9
[³ H]ロイシン取り込みに対する作用	ラット脳細胞 (初代培養) および CHO 細胞株	In vitro	Pfizer		RR 761-00007 ^b	4.3.10
GABA トランスポーター発現部位と機能に対する作用	ラット脳細胞 (初代培養)	In vitro			RR 740-03516 ^b	4.3.11
GABA トランスアミナーゼ活性に対する作用	ラット脳ホモジネート	In vitro	Pfizer		RR 761-00012	4.3.12

^b ガバペンチン承認申請時提出資料

* : PARKE-DAVIS Pharmaceutical Research, ** : PARKE-DAVIS Neuroscience Research Centre

一覧表 (3/6)

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	報告書番号	記載箇所
効力を裏付ける試験 (続き)					
シクロオキシゲナーゼ-1 およびシクロオキシゲナーゼ-2 活性に対する作用	ヒト血小板, U-937 細胞株, マウス J774A.1 マクロファージ細胞株	In vitro	Pfizer*	RR 760-00132	4.2.1.1.10
ラット IIA 型ナトリウムチャネル電流に対する作用 (電位固定電気生理学実験)	遺伝子組み換え CHO 細胞株	In vitro	Pfizer*	RR 740-03220	4.2.1.1.11
ナトリウム, カリウム, B-クラスカルシウムチャネル電流に対する作用 (電位固定電気生理学実験)	ラット自律神経節細胞 (初代培養), 遺伝子組み換え CHO, HEK 細胞株	In vitro	Pfizer*	RR 740-03519	4.3.13
GABA _A 受容体反応に対する作用	ラット大脳皮質神経細胞 (初代培養)	In vitro	Pfizer	RR 740-03539	4.2.1.1.12
興奮性アミノ酸および GABA によるシナプス後電位および長期増強に対する作用	ラット脳海馬組織切片	In vitro	Pfizer*	RR 740-03517	4.2.1.1.13
副次的薬理試験					
各種放射性リガンド結合に対する作用	各種細胞膜など	In vitro		RR 740-03076	4.3.14
[³ H]-CGP 54626A 放射性リガンド結合 (GABA _B 受容体サブタイプ) に対する作用	遺伝子組み換え CHO 細胞株	In vitro	Pfizer	RR 740-03547	4.3.15
[2,3,4- ³ H(N)]-CP 55,940 放射性リガンド結合 (カテナビノイド受容体) に対する作用	ラット脳シナプトソーム標本およびヒト CB ₁ 受容体発現細胞	In vitro	Pfizer	RR 740-03548	4.3.16

* : PARKE-DAVIS Pharmaceutical Research, ** : PARKE-DAVIS Neuroscience Research Centre

一覧表 (4/6)

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	報告書番号	記載箇所
副次的薬理試験 (続き)					
ヒトCB ₁ およびCB ₂ カンナビノイド受容体への放射性リガンド [³ H]WIN 55212-2 の結合に対する作用	遺伝子組み換え HEK 細胞株	In vitro		RR 770-00350	4.3.17
[³ H]ノルアドレナリン, [³ H]ドパミンおよび [³ H]セロトニン再取り込みに対する作用	ラット脳シナプトソーム	In vitro	Pfizer	RR 740-03545	4.3.18
GABA 取り込みに対する作用	ラット脳細胞 (初代培養)	In vitro	Pfizer	RR 761-00007 ^b	4.3.10
最大電撃による強直-伸展性発作に対する作用	マウス	強直経口, 静脈内	Pfizer*	RR 740-03090	4.2.1.2.1
低強度電撃による強直-伸展性発作に対する作用	マウス	静脈内	Pfizer*	RR 740-03172	4.3.19
最大電撃による強直-伸展性発作に対する作用	マウスラット	腹腔内 強直経口		RR 740-03224	4.2.1.2.2
最大電撃による強直-伸展性発作に対する作用	ラット	強直経口, 静脈内	Pfizer*	RR 740-03081	4.3.20
Geller コンフリクト試験における作用	ラット	皮下	Pfizer	RR 770-01316	4.3.21
Vogel コンフリクト試験における作用	ラット	強直経口	Pfizer*	RR 740-03464	4.3.22
高架式十字迷路試験における作用	ラット	皮下	Pfizer	RR 770-01316	4.3.21
尾懸垂試験における作用	マウス	強直経口	Pfizer*	RR 740-03464	4.3.22
自然睡眠に対する作用	ラット	強直経口		RR 740-03527	4.3.23
モルヒネ薬物弁別試験における作用	ラット	皮下	Pfizer**	RR 770-00297	4.2.1.1.2
ミダゾラム薬物弁別試験における作用	アカゲザル	強直経口		RR 740-03524	4.3.24
条件付け場所嗜好性試験における作用	ラット	強直経口	Pfizer	RR 770-00314	4.3.25

^b ガバペンチン承認申請時提出資料

*: PARKE-DAVIS Pharmaceutical Research, **: PARKE-DAVIS Neuroscience Research Centre

一覧表 (5/6)

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	報告書番号	記載箇所
副次的薬理試験 (続き)					
コカインもしくはアンフェタミン投与による自発運動亢進に対する作用	ラット	腹腔内	Pfizer*	RR 740-03441	4.3.26
ペントバルビタル自己摂取訓練サルにおけるプレガバリン自己摂取	アカゲザル	静脈内		RR 745-03278 ^a	4.2.1.2.3
メトヘキシターナル自己摂取訓練サルにおけるプレガバリン自己摂取	アカゲザル	静脈内		RR 740-03525	4.3.27
反復投与後の退薬症候	ラット	腹腔内		RR 740-03540	4.3.28
ベンゾジアゼピンの軽度退薬に係る自覚効果に対する作用	アカゲザル	強制経口		RR 740-03524	4.3.24
安全性薬理試験					
hERG カリウムチャネルに対する影響	遺伝子組み換え HEK 細胞	<i>In vitro</i>	Pfizer	PD144723/IC/001/05 ^a	4.2.1.3.1
中枢神経系症状の観察	マウス	静脈内, 強制経口	Pfizer*	RR 740-03074	4.2.1.3.2
筋緊張, 後肢踏み直り反応および歩行運動に対する影響	ラット	強制経口		RR 740-03224	4.2.1.2.2
正向反射, 歩行運動および筋緊張に対する影響	ラット	強制経口	Pfizer*	RR 740-03215	4.2.1.3.3
中枢神経系症状および自発運動の観察	マウス, ラット	静脈内	Pfizer*	RR 745-02928 ^a	4.2.1.3.4
中枢神経系症状の観察	リスザル	強制経口	Pfizer*	RR 740-03483	4.3.29
自発運動への影響	マウス, ラット	強制経口	Pfizer*	RR 740-03472	4.2.1.3.5
自発運動への影響	マウス	静脈内, 強制経口	Pfizer*	RR 740-03074	4.2.1.3.2

^a GLP に適合した報告書

*: PARKE-DAVIS Pharmaceutical Research, **: PARKE-DAVIS Neuroscience Research Centre

一覧表 (6/6)

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	報告書番号	記載箇所
安全性薬理試験 (続き)					
反転金網懸垂運動失調試験における作用	マウス	強制経口, 静脈内	Pfizer*	RR 740-03217	4.2.1.3.6
反転金網懸垂運動失調試験における作用	マウス	強制経口	Pfizer*	RR 740-03472	4.2.1.3.5
反転金網懸垂運動失調試験における作用	マウス	強制経口	Pfizer*	RR 740-03074	4.2.1.3.2
ロータロッド運動失調試験における作用	マウス	腹腔内	[REDACTED]	RR 740-03224	4.2.1.2.2
反転金網懸垂運動失調試験における作用	ラット	強制経口	Pfizer*	RR 740-03472	4.2.1.3.5
ロータロッド運動失調試験における作用	ラット	皮下	Pfizer**	RR 770-00297	4.2.1.1.2
運動失調試験 (歩行観察)における作用	ラット	強制経口	[REDACTED]	RR 740-03224	4.2.1.2.2
Beam Walking 法歩行運動失調試験における作用	ラット	強制経口	Pfizer	RR 770-01317	4.3.30
心血管パラメーターへの影響	ラット	強制経口	Pfizer*	RR 740-03115	4.3.31
心血管パラメーターへの影響	イス	強制経口	Pfizer*	RR 742-00010	4.3.32
心血管パラメーターへの影響	サル	静脈内	Pfizer*	RR 745-02988 ^a	4.2.1.3.7
肺機能への影響	イス	静脈内	Pfizer*	RR 760-00073	4.2.1.3.8
胃内容排出および小腸輸送への影響	ラット	強制経口	Pfizer*	RR 6051-00006	4.3.33
大腸保持時間への影響	ラット	強制経口	Pfizer*	RR 6051-00007	4.3.34
腎臓および心血管パラメーターへの影響	ラット	静脈内	Pfizer*	RR 745-02986 ^a	4.2.1.3.9

^a GLP に適合した報告書

*: PARKE-DAVIS Pharmaceutical Research, **: PARKE-DAVIS Neuroscience Research Centre

2.6.3.2 効力を裏付ける試験

概要文中に記載

2.6.3.3 副次的薬理試験

概要文中に記載

2.6.3.4 安全性薬理試験

被験物質：プレガバリン

評価対象となる組織	動物種/ 系統	適用 経路	投与量 ^a (mg/kg)	性別/各 群動物数	特記所見	GLP 適用	記載箇所 報告書番号
(1) hERG カリウムチャネル	ヒト/HEK 細胞	<i>in vitro</i>	60 600 μmol/L	各データ 5 回測定	60 μmol/L (9.6 μg/mL) : 6.13 ± 1.65%抑制 600 μmol/L (96 μg/mL) : 11.32 ± 1.04%抑制 (平均値 ± 標準誤差)	適用	4.2.1.3.1 PD144723/IC/0 01/05
(2) 中枢神経系への影響 脳	マウス/ Swiss-Webster	静脈内 強制経口	30 100 300 100 300 1000	雄/4	行動および中枢作用を検査した試験において、300 mg/kg 静脈内投与での活動性にもかかわらず低下以外には、プレガバリンによる中枢神経機能障害の徴候は認められなかった。	非適用	4.2.1.3.2 RR 740-03074 (参考資料)
脳	マウス/ Swiss-Webster	強制経口	12 120 1200	雄/10	12, 120, 1200 mg/kg を強制経口投与して中枢神経系の症状を投与後 96 時間まで評価した試験では、わずかな活動性の低下が投与後 4 時間で投与直後から 1 時間および投与後 12 時間にみられた。	非適用	4.2.1.3.2 RR 740-03074 (参考資料)
脳	ラット/ Sprague-Dawley	強制経口	25 50 100 125	雄/8	筋緊張や後肢踏み直り反応に対し作用は認められなかった。全用量において運動失調 (異常歩行) が用量依存的にみられ、ED ₅₀ 値は 61 mg/kg であった。	非適用	4.2.1.2.2 RR 740-03224 (参考資料)
脳	ラット/ Sprague-Dawley	強制経口	100 300 1000	雄/8	正向反射障害が 100 mg/kg で 1 例、300 mg/kg で 3 例、1000 mg/kg で全例に認められ、ED ₅₀ 値は 257 mg/kg であった。歩行運動や骨格筋緊張には変化はなかった。	非適用	4.2.1.3.3 RR 740-03215 (参考資料)

^a 特に記載のない限り単回投与

hERG : ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子, HEK : ヒト胎児腎臓

(続く)

被験物質：プレガバリン

安全性薬理試験 (2/6)

評価対象となる組織	動物種/ 系統	適用 経路	投与量 ^a (mg/kg)	性別/各 群動物数	特記所見	GLP 適用	記載箇所 報告書番号
(2) 中枢神経系への影響 脳	マウス/B6C3F1	静脈内	50 300	雄/8	観察試験やオープンフィールド試験において、300 mg/kg を投与したマウスで尿汚染、自発活動減少または運動失調が認められた。50 および 300 mg/kg で体温、垂直方向の動きおよび常同運動時間の減少が認められた。総移動距離は影響を受けなかった。	適用	4.2.1.3.4 RR 745-02928
脳	ラット/Wistar	静脈内	50 300	雄/8	ラットのオープンフィールド試験において、50 および 300 mg/kg で自発活動低下、300 mg/kg で運動失調が認められた。50 および 300 mg/kg で刺激に対する尾反応の欠失 (鎮痛)、開脚距離の増加、体温、総移動距離、垂直方向の動きおよび常同運動時間の減少が認められた。	適用	4.2.1.3.4 RR 745-02928
脳	サル/Saimiri sciurus (リスザル)	強制経口	3 10 30 100	雄/6	プレガバリン 30 又は 100 mg/kg 投与により、筋緊張および運動協調性の低下が認められた。	非適用	4.3.29 RR 740-03483 (参考資料)

^a 特に記載のない限り単回投与

(続く)

被験物質：プレガバリン

安全性薬理試験 (3/6)

評価対象となる組織	動物種/ 系統	適用 経路	投与量 ^a (mg/kg)	性別/ 群動物数	特記所見	GLP 適用	記載箇所 報告書番号
(3) 自発運動の低下および 運動失調 脳	マウス/CD1	強制経口	3 30 300	雄/8	プレガバリンは、投与2時間後から120分間の自発運動(移動距離)に対して有意な作用を示さなかった。しかしながら、総移動距離は30および300 mg/kg 経口投与により溶媒群の50%以下まで低下した。	非適用	4.2.1.3.5 RR 740-03472 (参考資料)
脳	マウス/ Swiss-Webster	静脈内 強制経口	10 30 100 300 1 10 100 300 1000	雄/12	プレガバリンは100 mg/kg 以下の用量の経静脈内もしくは300 mg/kg 以下の用量の経口投与では、60分間の自発運動に対して有意な作用を示さなかった。しかしながら、自発運動は300 mg/kg 静脈内投与および1000 mg/kg 経口投与群において有意に抑制され、溶媒群の約40%の値(60%阻害)であった。	非適用	4.2.1.3.2 RR 740-03074 (参考資料)
脳	ラット/ Sprague-Dawley	強制経口	3 10 30 100 300	雄/5~12	プレガバリンは100および300 mg/kg 経口投与において、投与2時間後から60分間の自発運動(移動距離)を有意に低下させ、100 mg/kg 投与群では溶媒群の約50%の値であった。	非適用	4.2.1.3.5 RR 740-03472 (参考資料)
脳	マウス/CF-1	強制経口 静脈内	1000 300	雄/10 雄/10	1000 mg/kg 経口投与1時間後に10例中2例、300 mg/kg 静脈内投与1および3時間後に10例中1例で懸垂運動失調試験における落下がみられた。	非適用	4.2.1.3.6 RR 740-03217 (参考資料)
脳	マウス/CD1	強制経口	3 10 30 100 300	雄/10	プレガバリン全投与群で、懸垂運動失調試験における落下は認められなかった。	非適用	4.2.1.3.5 RR 740-03472 (参考資料)

^a 特に記載のない限り単回投与

(続く)

被験物質：プレガバリン

安全性薬理試験 (4/6)

評価対象となる組織	動物種/ 系統	適用 経路	投与量 ^a (mg/kg)	性別/ 群動物数	特記所見	GLP 適用	記載箇所 報告書番号
(3) 自発運動の低下および 運動失調 (続き)	マウス/ Swiss-Webster	強制経口	1 10 100 300 1000	雄/12	プレガバリン全投与群で、懸垂運動失調試験における落下は認められなかった。	非適用	4.2.1.3.2 RR 740-03074 (参考資料)
脳	マウス/CF-1	腹腔内	300 500	雄/8	300 mg/kg で 2 例、500 mg/kg で 1 例、回転式ロッドからの落下がみられた。	非適用	4.2.1.2.2 RR 740-03224 (参考資料)
脳	ラット/ Sprague-Dawley	強制経口	10 30 100 300	雄/6	懸垂運動失調試験において、プレガバリンの 300 mg/kg 経口投与群で有意に落下回数が増加した。	非適用	4.2.1.3.5 RR 740-03472 (参考資料)
脳	ラット/ Sprague-Dawley	皮下	1 10 30 100	雄/7~10	プレガバリンは 100 mg/kg 皮下投与群においてのみ、回転式ロッドからの落下までの時間を有意に短縮した (約 30%短縮)。	非適用	4.2.1.1.2 RR 770-00297 (参考資料)
脳	ラット/ Sprague-Dawley	強制経口	25 50 100 125	雄/8	すべての用量で歩行運動失調が用量依存的に認められ、ED ₅₀ 値は 61 mg/kg であった。	非適用	4.2.1.2.2 RR 740-03224 (参考資料)
脳	ラット/ Sprague-Dawley	強制経口	10 30 100	雄	すべての用量において、用量依存的で有意な梁を渡る時間の遅延と肢が滑る回数の増加が認められた(溶媒群と比較 - 運動失調様作用)。梁から落下する動物の割合は 30 および 100 mg/kg 投与群で増加した。	非適用	4.3.30 RR 770-01317 (参考資料)

^a 特に記載のない限り単回投与

(続く)

被験物質：プレガバリン

安全性薬理試験 (5/6)

評価対象となる組織	動物種/ 系統	適用 経路	投与量 ^a (mg/kg)	性別/ 群動物数	特記所見	GLP 適用	記載箇所 報告書番号
(4) 心血管系への影響 心血管	ラット	強制経口	30 100 300	雄/10	心拍数および血圧に変化はみられなかった。	非適用	4.3.31 RR 740-03115 (参考資料)
心血管	イス	強制経口	50	雄/3~4	心血管パラメーターに変化はみられなかった。投与 1~6 時間後におけるプレガバリンの平均血漿中濃度は、約 100 µg/mL であった。	非適用	4.3.32 RR 742-00010 (参考資料)
心血管	サル/カニクイザ ル	静脈内	10 40	雄/3	心拍数、血圧、心電図波形に影響は認められなかった。	適用	4.2.1.3.7 RR 745-02988
(5) 呼吸系への影響 肺	イス/雑種	静脈内	200	2 ^b	肺機能に対する作用は認められなかった。	非適用	4.2.1.3.8 RR 760-00073 (参考資料)
(6) 消化管運動への影響 胃腸	ラット/ Sprague-Dawley	強制経口	30 100 300	雄/10	プレガバリンは 100 および 300 mg/kg 投与により、用量依存的に胃内容排出と腸管輸送を抑制した。	非適用	4.3.33 RR 6051-00006 (参考資料)
胃腸	ラット/Wistar	強制経口	30 100	雄/6	プレガバリンは両用量において、有意に大腸保持時間を延長した (30 mg/kg で 1.5 倍, 100 mg/kg で 2.7 倍に延長)。	非適用	4.3.34 RR 6051-00007 (参考資料)

^a 特に記載のない限り単回投与^b 性別不明

(続く)

被験物質：プレガバリン

安全性薬理試験 (6/6)

評価対象となる組織	動物種/ 系統	適用 経路	投与量 ^a (mg/kg)	性別/各 群動物数	特記所見	GLP 適用	記載箇所 報告書番号
(7) 腎臓への影響 腎臓および心血管	ラット/Wistar	静脈内	15 150	雄/8	150 mg/kg で一過性の運動失調と尿着色が認められた。15 mg/kg では一般状態、心血管系および腎パラメーターに無作用、150 mg/kg で心電図に無作用であった。150 mg/kg で9～19%の心拍数上昇 (投与後9時間まで)、29%の摂水量増加、82%の尿量増加が認められた。血圧、尿中電解質に変化はみられなかった。したがって、150 mg/kg での作用は意味のある生理的有害反応とは考えられなかった。	適用	4.2.1.3.9 RR 745-02986

^a 特に記載のない限り単回投与

2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用

関連試験の実施なし