サノフィ株式会社

サブリル散分包 500 mg

CTD 第二部 ー 非臨床概要

2.4 非臨床試験の概括評価

Total number of pages: 27

目　　次

略号と用語の定義 5

1　非臨床試験計画概略 7

1.1　緒言 7

1.2　薬理試験 8

1.3　薬物動態試験 8

1.4　毒性試験 8

2　薬理試験 10

2.1　効力を裏付ける試験 10

2.2　副次的薬理試験 12

2.3　安全性薬理試験 12

3　薬物動態試験 14

3.1　吸収 14

3.2　分布 14

3.3　代謝 15

3.4　排泄 15

3.5　薬物動態学的薬物相互作用 15

3.6　その他の薬物動態試験 15

4　毒性試験 16

4.1 単回投与毒性試験 16

4.2 反復投与毒性試験 16

4.3 遺伝毒性試験 16

4.4 がん原性試験 16

4.5 生殖発生毒性試験 16

4.6 新生児を用いた試験 17

4.7 その他の毒性試験 17

5 総括及び結論 18

5.1 薬理試験 18

5.2 薬物動態試験 20

5.3 毒性試験 21

参 考 文 献 26

図　目　次

図 1 - ビガバトリン及び GABA の構造式 7

略号と用語の定義

略号	英名	和名
ACTH	adrenocorticotropic hormone	副腎皮質刺激ホルモン
ALT	alanine aminotransferase	アラニンアミノ基転移酵素
AST	aspartate aminotransferase	アスパラギン酸アミノ基転移酵素
AUC	area under the blood concentration-time curve	血漿又は組織中濃度－時間曲線下面積
AVP	arginine vasopressin	アルギニンバソプレシン
CHO	Chinese hamster ovary	チャイニーズハムスターの卵巣
C_{max}	maximum concentration	最高血漿中濃度又は最高組織中濃度
CL_r	renal clearance	腎クリアランス
CRF	corticotropin releasing factor	副腎皮質刺激ホルモン放出因子
CSF	cerebrospinal fluid	脳脊髄液
CYP	cytochrome P450	チトクローム P450
DOX	doxorubicin	ドキソルビシン
ED_{50}	50% effective dose	50%有効用量
GABA	γ-aminobutyric acid	γ-アミノ酪酸
GABA-T	GABA transaminase	GABA アミノ基転移酵素
GAD	glutamate decarboxylase	グルタミン酸脱炭酸酵素
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
GPT	glutamic pyruvic transaminase	グルタミン酸ピルビン酸転移酵素
GVG	γ-vinyl GABA	ビガバトリン
hERG	human ether-a-go-go related gene	ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子
IC_{50}	50% inhibitory concentration	50%阻害濃度
LD_{50}	lethal dose 50%	半数致死量
LPS	lipopolysaccharide	リポ多糖
MES	maximal electroshock seizure	最大電撃痙攣
MPA	3-mercaptopropionic acid	3-メルカプトプロピオン酸
MRI	magnetic resonance imaging	核磁気共鳴画像法

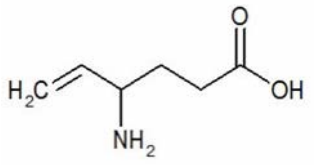
略号	英名	和名
NMDA	N-methyl D-aspartate	N-メチル D-アスパラギン酸
NZW	New Zealand White	ニュージーランドホワイト系
OAT	ornithine aminotransferase	オルニチンアミノ基転移酵素
PTX	picrotoxin	ピクロトキシン
PAT1	H+/amino acid transporter 1	H+依存性アミノ酸共輸送体 1
PTZ	pentylenetetrazole	ペンチレンテトラゾール
RNA	ribonucleic acid	リボ核酸
SD	Sprague-Dawley	ラット系統名
SEP	somatosensory evoked potentials	体性感覚誘発電位
SER	spontaneously epileptic rat	自然発症てんかんラット
TK	toxicokinetics	トキシコキネティクス
t_{max}	time-to-maximum	最高血漿中濃度又は最高組織中濃度到達時間
VEP	visual evoked potentials	視覚誘発電位
V_{ss}	steady state volume of distribution	定常状態における分布容積

1　非臨床試験計画概略

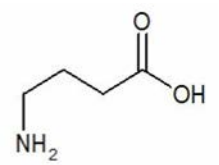
1.1　緒言

ビガバトリン（化学名：(±)-4-アミノ-5-ヘキセン酸）は、脳における抑制性神経伝達物質 γ-アミノ酪酸（GABA）の γ 位にビニール基が結合した物質（図 1）で、GABA の異化に関わる酵素 GABA 転移酵素（GABA-T）の不可逆的阻害剤であり、脳内の GABA 濃度を増加させることにより抗てんかん作用を発揮すると考えられている。

図 1 - ビガバトリン及び GABA の構造式



ビガバトリン



GABA

ビガバトリンは、小児及び成人の「難治性部分発作の併用療法」に対して 1989 年に最初に英国で承認され、点頭てんかんに対しては 1996 年に最初に英国で承認されている。その後、1997 年に視野狭窄発現が報告されたことにより、当時、既にビガバトリンが販売されていた欧州では、リスク&ベネフィットの再検討がなされ、1999 年 5 月に「成人では他剤無効例に限って最終選択肢としての他剤との併用療法に」、また「小児では点頭てんかん（West 症候群）に対する単独療法に」と限定して使用することを厳守することで、本剤の使用を継続することが確認された。

米国では 1994 年に Marion Merrell Dow 社（当時）より成人の部分てんかんに対して NDA が行われ、その後、2004 年に Aventis 社（当時）から米国における開発並びに販売権利を取得した[redacted]（[redacted]）より、成人に対する申請の NDA Amendment が 2006 年 10 月と 2007 年 3 月に、小児の点頭てんかんに対する新たな申請が 2007 年 12 月に提出され、2009 年 8 月に小児の点頭てんかんと成人の難治性複雑部分発作の治療薬として同時に承認された。ビガバトリンの使用は欧州と同様に非常に限定されており、加えてリスクを最小限にするために厳重な販売管理体制が求められている。現在では世界中の 50 か国以上で発売されている。

本邦においては、19[redacted]年にメレル・ダウ製薬株式会社（当時）が成人の難治性てんかんを対象に開発を開始し、1996 年に国内第 3 相試験を終了した。申請の準備を進めていた 1997 年に、上述したビガバトリンの海外安全性情報としての不可逆性の視野狭窄発現の報告があり、それに対する欧米での状況を踏まえ、20[redacted]年にアベンティス株式会社（当時）は、開発中であった成人の難治性てんかんに

対する適応での申請を断念し、また、その他の適応症での開発も行わないこととした。しかし、本邦では小児の点頭てんかんに対する有効な治療薬がなく、米国で承認を受けたことや関連学会からの要望を受け、「医療上の必要性の高い未承認薬･適応外薬検討会議」にて医療上の必要性が高い薬剤と評価され、早期に国内で製造販売承認を取得し、医療現場で使用することができるよう、2010 年 12 月 13 日に厚生労働省より開発要請を受けた。

以下に、本申請に使用した非臨床試験のデータ・パッケージについて示す。

1.2 薬理試験

ビガバトリンの *in vitro* での GABA-T 阻害作用及び *in vivo* での GABA-T 阻害作用とそれに伴う脳内 GABA 濃度の増加をマウス及びラットで検討した。ビガバトリンの抗痙攣作用を、幼若ラットを含む種々の動物モデルで検討した。更に、ビガバトリンはラセミ体であることから、エナンチオマーの薬理活性を *in vitro* 及び *in vivo* で検討した。副次的薬理試験として鎮痛作用及び抗不安作用を評価した。ビガバトリンの安全性薬理試験は、「安全性薬理試験ガイドライン」（平成 13 年 6 月 21 日 医薬審発第 902 号）発出前の 1996 年以前に、「一般薬理試験ガイドライン」（平成 3 年 1 月 29 日薬新薬第 4 号薬務局新医薬品課長通知の別添）に従って一般薬理試験（非 GLP）として実施した。本薬の一般薬理試験では、安全性薬理試験ガイドライン（S7A）におけるコアバッテリー項目である中枢神経系、心血管系、呼吸系について概ね充足していた。しかしながらその後に発出された S7B ガイドラインを鑑み、GLP 適用下に *in vitro* でヒト ether-a-go-go 関連遺伝子（hERG）チャネル及びウサギ心臓のプルキンエ線維の活動電位に対する作用を検討した。これらのことから、ヒトの安全性に関連すると思われる本薬の薬理作用について評価は可能であると判断された。なお、データパッケージを充足させるため、社内で実施された試験だけでなく、公表された論文の情報も用いて評価した。

1.3 薬物動態試験

ラット、イヌ又はサルを用いてビガバトリンの吸収、分布、代謝及び排泄を明らかにするために、放射能で標識したビガバトリン（^{14}C-ビガバトリン）又は非標識のビガバトリンを用いて、血漿中濃度、体内分布、*in vivo* での代謝、尿及び糞中排泄などの検討を行った。また、*in vitro* 及び *in vivo* での薬物代謝酵素誘導及び薬物動態学的薬物相互作用を検討した。

1.4 毒性試験

マウス及びラットを用いた単回投与毒性試験、ラット及びイヌを用いた最長 12 ヵ月間経口投与毒性試験、サルを用いた最長 6 年間経口投与毒性試験、*in vitro* 及び *in vivo* の遺伝毒性試験、マウス及びラットを用いたがん原性試験、ラット及びウサギを用いた生殖発生毒性試験、ラット及びイヌの新生児を用いた試験、ラット及びサルを用いた依存性試験に加え、脳への影響をみる検討試験、眼毒性試験及びエナンチオマーの反復投与毒性試験などを実施した。なお、非げっ歯類の急性毒性は、イヌを用

いた 2 週間経口投与試験及びサルを用いた 1 ヵ月間経口投与試験の初回投与又は投与初期の観察結果に基づいて評価した。重要な試験については米国、英国、仏国又は日本の GLP 基準に従って実施した。また、トキシコキネティクス（TK）はラット、イヌ及びサルを用いた試験において評価した。不純物に関する毒性試験は実施していない。

2　薬理試験

2.1　効力を裏付ける試験

GABA-T 阻害、GABA 取込み阻害、GABA 遊離作用

ビガバトリン（0.05～1.0 mmol/L）はラット脳の GABA-T 活性を反応時間及び濃度に依存して不可逆的に阻害した。グルタミン酸脱炭酸酵素（GAD）、アスパラギン酸アミノ基転移酵素（AST）、アラニンアミノ基転移酵素（ALT）及びオルニチンアミノ基転移酵素（OAT）活性に対してはほとんど又は全く阻害しなかった（[Module 2.6.2.2.1.1]）。

マウスへのビガバトリン 1500 mg/kg の単回腹腔内投与により、脳内 GABA-T 活性は投与後 3～4 時間以内に対照群の約 20%に低下し、この作用は少なくとも 48 時間持続した。ビガバトリンは静脈内、腹腔内、筋肉内、皮下及び経口投与で同等の作用を示した（[Module 2.6.2.2.1.2]）。マウスへの 10 日間反復腹腔内投与で、ビガバトリンは 10 mg/kg/日以上で脳の GABA-T 及び GAD 活性を減少させ、400 mg/kg/日以上で最大効果を示した。脳内 GABA 濃度は 100 mg/kg/日以上の用量で急激に増加した（[Module 2.6.2.2.1.3]）。更に、マウスへのビガバトリンの腹腔内反復投与（1～12 日間）では 4 日間投与以降に脳内 GABA-T 及び GAD 活性の低下がほぼ定常状態となり、脳内 GABA 濃度はビガバトリン投与 12 日目には 100 mg/kg/日で対照群の 2 倍、500 mg/kg/日でほぼ 4 倍に達した（[Module 2.6.2.2.1.4]）。また、ラットへのビガバトリン投与により GABA-T 活性の 60～80%の低下がすべての脳領域で認められた（[Module 2.6.2.2.1.5]）。片側の脳黒質後部を切断したラットにおいて、ビガバトリンは 900 mg/kg の腹腔内投与 36 及び 60 時間後に正常側黒質神経末端の GABA 濃度を増加させた。この神経末端の GABA 濃度の増加は最大電撃痙攣防御作用と相関していた（[Module 2.6.2.2.1.6]）。ラットで、脳内 GABA 濃度は脳脊髄液中の結合型 GABA 濃度と直線的に相関し、脳脊髄液中の遊離型 GABA 濃度とは指数関数的な相関が見られた（[Module 2.6.2.2.2]）。

ビガバトリンは GABA-T 活性の阻害に加え、シナプトソームにおいて GABA の取込み阻害及び GABA 遊離作用を示した（[Module 2.6.2.2.3.1]）。

動物モデルにおける作用

幼若ラットにおける攣縮モデル：ドキソルビシン（DOX）及びリポ多糖（LPS）を生後 3 日のラット脳内に注入し、5 日に p-クロロフェニルアラニン（PCPA）を腹腔内投与して誘発した攣縮を、ビガバトリンは 20 mg/kg（1 日 2 回）の腹腔内投与で、一過性ながら生理食塩液（溶媒）に比べ有意に抑制した（[Module 2.6.2.2.4.1]）。

幼若ラットにおける NMDA 誘発発作モデル：12 日齢ラットに NMDA を腹腔内投与して誘発した屈曲発作（対照群の発症率 92.6%）を、ビガバトリンは 600 及び 1200 mg/kg の腹腔内投与で発症率をそれぞれ 55.6%及び 41.7%に減少させた（[Module 2.6.2.2.4.2]）。

聴原発作モデル（マウス）：ビガバトリンは DBA/2 系マウスの聴原発作を抑制し、単回腹腔内投与 4 時間後における発作頻度及び発作強度抑制の ED_{50} はそれぞれ 990 及び 540 mg/kg であった。これら発作に対する作用は、ビガバトリンの反復投与により増強された（[Module 2.6.2.2.4.3]）。

薬物誘発モデル（マウス）：ペンチレンテトラゾール（PTZ）誘発発作モデルにおいて、ビガバトリンは 1000 及び 1500 mg/kg の経口投与で強直発作を顕著に減少させた。ビガバトリンは 500 mg/kg 以上で、3-メルカプトプロピオン酸（MPA）誘発発作モデルにおける間代性発作を抑制し、ピクロトキシン（PTX）誘発発作モデルにおける攣縮及び間代性発作を抑制した（[Module 2.6.2.2.4.4]）。

電撃痙攣モデル（マウス）：ビガバトリンは 160～640 mg/kg の単回経口投与で、最大電撃痙攣（MES）を抑制しなかったが、発作閾値（50%のマウスに痙攣を誘発する電流）を対照群の 29.5 mA に対し、40 mA に上昇させた（[Module 2.6.2.2.4.5]）。別の試験では、ビガバトリンは 900 mg/kg の腹腔内投与 36 及び 60 時間後に最大電撃痙攣を抑制した（[Module 2.6.2.2.1.6]）。

高圧酸素誘発モデル（マウス）：ビガバトリンは 800 mg/kg の単回筋肉内投与で、4 時間後に発作を 90%抑制したが、24 時間後には作用が消失した（[Module 2.6.2.2.4.6]）。

光過敏性ヒヒモデル（ヒヒ）：ビガバトリンは 360～900 mg/kg の単回静脈内投与で、光過敏性ヒヒの光刺激によるてんかん発作を防御した。450 又は 900 mg/kg では投与 2 時間後より発作を防御し、4～5 時間後に最大となり、24 時間後においても防御作用が認められた（[Module 2.6.2.2.4.7]）。

扁桃核キンドリングモデル（ラット）：ビガバトリンは 900、1200 及び 1500 mg/kg の腹腔内投与で、全身運動発作を抑制し、後発射の持続時間を短縮した（[Module 2.6.2.2.4.8]）。

自然発症てんかんラット（SER）モデル：ビガバトリンは 100 及び 250 mg/kg の経口投与で、息吹きかけ刺激による SER の強直発作及び欠神様発作を抑制した（[Module 2.6.2.2.4.9]）。発作を発現している SER の海馬スライス標本において、ビガバトリン（1 及び 10 mmol/L）は苔状線維刺激による持続性の脱分極シフトとこれに伴う頻回発射を抑制した（[Module 2.6.2.2.4.10]）。

エナンチオマーの薬理活性

GABA-T 阻害活性：*In vitro* での GABA-T 活性に対し、ビガバトリン（ラセミ体）の 1 mmol/L と S 体ビガバトリンの 0.5 mmol/L は同等の阻害作用を示したが、R 体の 5 及び 10 mmol/L は弱い阻害作用を示したにすぎなかった。*In vivo* において、マウスへのビガバトリン 1500 mg/kg 及び S 体 750 mg/kg の単回腹腔内投与は、同程度に脳内 GABA-T 及び GAD 活性を低下させ、GABA 濃度を増加させた。R 体 750 mg/kg は GABA-T 活性に対し一過性で弱い抑制を示したが、GAD 活性及び GABA 濃度に対しては、ほとんど影響がなかった（[Module 2.6.2.2.5.1]）。

動物モデル：ビククリン誘発発作モデル（マウス）において、ビガバトリン及び S 体は発作を防御し、ED_{50} はそれぞれ 221 mg/kg 及び 85 mg/kg であったが、R 体は 1000 mg/kg で防御効果を示さなかった。3-メルカプトプロピオン酸誘発痙攣モデル（マウス）において、ビガバトリン及び S 体は用量依存的に発作例数を減少させ ED_{50} はそれぞれ 200 及び 100 mg/kg であった（[Module 2.6.2.2.5.2]）。

2.2 副次的薬理試験

鎮痛作用：マウスにおける圧刺激試験で、ビガバトリンは 2000 mg/kg 投与後 240～480 分に疼痛閾値を上昇させた。マウスにおける 52°C のホットプレート熱刺激試験で、ビガバトリンは 600 及び 800 mg/kg で肢舐め及び逃避反応までの時間を延長させた。更に、マウスにおいて、ビガバトリンは単独では鎮痛作用を示さない 56°C のホットプレート熱刺激試験で、800 mg/kg の用量でモルヒネの鎮痛作用を増強した。ラットにおける電気刺激による鎮痛試験で、ビガバトリンは 1120 及び 1600 mg/kg で電気刺激閾値を上昇させた（[Module 2.6.2.3.1]）。

抗不安作用：マウスにおける強制水泳試験で、ビガバトリンは 400 及び 800 mg/kg の単回腹腔内投与により、生理食塩液（溶媒）に比較し有意に不動時間を短縮させた（[Module 2.6.2.3.2]）。

2.3 安全性薬理試験

一般症状及び行動に及ぼす影響：ラットにおいて、ビガバトリンの経口投与により、250 mg/kg 以上で流涙、1000 mg/kg 以上では流涎も認められた。2000 mg/kg では体温下降、1000 及び 2000 mg/kg では呼吸数の減少が認められた。更に、2000 mg/kg では眼球の突出の抑制、警戒性の低下及び立毛が認められた。投与 1 週間後の剖検では 125 mg/kg で脾臓の肥大、1000 mg/kg で十二指腸あるいは空腸と大腸との間の部分的癒着、2000 mg/kg で胸腺の委縮が 1 例ずつに認められた（[Module 2.6.2.4.1]）。

中枢神経系に及ぼす影響：ビガバトリンの経口投与により、125 mg/kg 以上で自発運動量の減少（マウス）、500 mg/kg 以上でヘキソバルビタール睡眠時間の延長（マウス）及び正常体温の低下（ラット）、2000 mg/kg で協調運動の抑制（マウス）が認められた。また、マウスでの別の試験で、モルヒネによる挙尾反応の抑制及びロータロッド試験における運動能低下が認められ、作用はビガバトリン投与 4 時間後が最も強く（ED_{50}：挙尾反応 813 mg/kg、ロータロッド試験 674 mg/kg）、16 時間後には減弱し、24 時間後には消失した。ウサギにおいて、ビガバトリンは 500 mg/kg で行動的に鎮静を示し、脳波上で覚醒期の減少及び紡錘波睡眠期の増加を示した。2000 mg/kg では行動的に鎮静を示す例と安静覚醒を示す例がみられ、脳波上で覚醒期の減少、安静覚醒又は軽睡眠期の増加傾向と逆説睡眠期の減少傾向が認められた。ビガバトリンの一側線条体内投与は、ラットに特徴的なジスキネジア症状を引き起こし、この症状はビガバトリン（1000 mg/kg）の腹腔内前処置及び GABA 又はムシモールの線条体内投与によって抑制された。ビガバトリンは 200～700 mg/kg で、フェンサイクリジン誘発多動（マウス）を抑制した（[Module 2.6.2.4.2]）。

自律神経系及び体性神経系に及ぼす影響：ラットの瞳孔径に対し、ビガバトリンは 300 mg/kg の経口投与で影響を及ぼさなかった。ラットの坐骨神経電気刺激による腓腹筋の収縮に対し、ビガバトリンは 400 mg/kg までの静脈内投与で影響を及ぼさなかった。マウスにおいてビガバトリンは腹腔内投与でモルヒネによる挙尾反応（ED_{50}：813 mg/kg）及びロータロッド試験における運動能（ED_{50}：674 mg/kg）を低下させた（[Module 2.6.2.4.3]）。

心血管系及び呼吸系に及ぼす影響：*In vitro* において、ビガバトリンは 300 µg/mL までの濃度で hERG 電流及びウサギ心臓プルキンエ線維の活動電位に影響を及ぼさなかった。*In vivo* において、麻酔下のイヌで、ビガバトリンは 3～80 mg/kg の単回静脈内投与で心血管系に影響を及ぼさなかった。また、150 mg/kg（1 日 2 回）の 5 日間経口投与において心電図に影響を及ぼさなかった。麻酔下のイヌにおける別の試験では、ビガバトリンは、50、100 及び 200 mg/kg の静脈内投与で、大腿動脈血流量を増加させ、呼吸数を増加させた。ラットでビガバトリンは 50 mg/kg の静脈内投与で血圧上昇を示したが、用量を上げても作用は増強されなかった（[Module 2.6.2.4.4]）。

消化器系に及ぼす影響：ビガバトリンはマウス消化管輸送能に影響を及ぼさなかった（[Module 2.6.2.4.5]）。

水及び電解質代謝に及ぼす影響：ラットでビガバトリンは 500～2000 mg/kg の経口投与で尿量及び電解質（Na^+、K^+及び Cl^-）の排泄量を増加させた（[Module 2.6.2.4.6]）。

その他（内分泌系）：ラットにおいて、ビガバトリンは 1000 mg/kg の腹腔内投与で、下垂体のプロラクチン及び副腎皮質刺激ホルモン放出因子（CRF）あるいはアルギニンバソプレシン（AVP）刺激による副腎皮質刺激ホルモン（ACTH）遊離を抑制した。ラットにおいて、ビガバトリンの 800 mg/kg の単回腹腔内投与により、下垂体前葉のプロラクチンメッセンジャーリボ核酸（mRNA 量）の減少（35%）が認められた（[Module 2.6.2.4.7]）。

3　薬物動態試験

3.1　吸収

ラット及びイヌのいずれにおいても単回経口投与したとき、ビガバトリンは速やかに吸収された。両動物種における $AUC_{0-\infty}$ 値は投与量にほぼ比例して増加した。ラット及びイヌにおいて、ビガバトリンを経口投与したときのバイオアベイラビリティはほぼ 100%であった。一方、サルにビガバトリンを単回経口投与したときの t_{max}（1～3 時間）はラット及びイヌに比べて遅く、サルにおける C_{max} はラット、イヌに比べて低かった。サルに単回経口投与したときの AUC_{0-24hr} 値は用量に依存して増加した（[Module 2.6.4.3.1]）。ラット及びサルの TK 試験においてビガバトリンを反復投与したとき、曝露量又は血漿中濃度に性差は認められなかった。ラットにラセミ体であるビガバトリンを 1 日 1 回 1 週間反復経口投与したとき、血漿中 S-（活性型）及び R-エナンチオマー濃度はすべての時点でほぼ等しかった（[Module 2.6.4.4.1.2]）。

3.2　分布

SD ラットに ^{14}C-ビガバトリンを経口投与したとき、放射能の分布は速やかであった。検討した大部分の組織（血漿及び赤血球を含む）において、放射能濃度は投与後 0.5 時間以内に最高値に達した。また、放射能濃度が最も高かった組織は胃であり、次いで腎臓、小腸、肝臓の順であった。赤血球及び脾臓で放射能の $t_{1/2z}$ が長かったことから、^{14}C-ビガバトリン又は代謝物が赤血球成分に対して親和性を有することが示唆された。また、有色ラットでは眼及び皮膚組織への曝露量がアルビノラットと比べて高く、消失半減期が長く、^{14}C-ビガバトリン又はその代謝物が眼又は皮膚の色素成分に対して親和性を有することが示唆された（[Module 2.6.4.4.1.1]）。ラットに 1 日 1 回反復経口投与したとき、ビガバトリンは脳内に移行し、投与 3 日目までに定常状態に達したと考えられた。このとき、活性型エナンチオマーである S 体の方が、不活性型エナンチオマーである R 体に比べて脳内濃度が高い傾向を示した（[Module 2.6.4.4.1.2]）。ラット及びイヌにビガバトリンを 1 日 1 回反復経口投与したとき、脳脊髄液（CSF）中のビガバトリン濃度は 2 週間以内に定常状態に達した（[Module 2.6.4.4.1.4]）。また、サルにビガバトリンを反復経口投与（50 又は 100 mg/kg/日投与群の場合 6 年間、300 mg/kg/日投与群の場合 16 ヵ月間）したときの CSF 中ビガバトリン濃度は、投与量の増加とともに上昇した（[Module 2.6.4.4.1.5]）。ビガバトリンは血清タンパクにほとんど結合しなかった（[Module 2.6.4.4.2]）。妊娠マウスにビガバトリンを単回腹腔内投与したときの胎児への移行はわずかであった（[Module 2.6.4.4.3]）。

3.3 代謝

ラット、イヌ及びサルのいずれにおいても、ビガバトリンは投与後、大部分は未変化体として尿中に排泄され、いずれの動物種においても、ビガバトリンの代謝は極めて少ないことが示された（[Module 2.6.4.5]）。

3.4 排泄

ラット、イヌ及びサルにおいて、循環血からのビガバトリンの主な消失メカニズムは腎クリアランス（CL_r）であると考えられた（[Module 2.6.4.6]）。

3.5 薬物動態学的薬物相互作用

ビガバトリンは CYP3A に基づくカルバマゼピン代謝を阻害しなかった（[Module 2.6.4.7.1]）。また、ビガバトリンはラットの肝薬物代謝酵素の誘導能が低いことが示唆された（[Module 2.6.4.7.2]）。

3.6 その他の薬物動態試験

雌雄幼若ラット（4 日齢）にビガバトリンを 4 週間及び 9 週間反復経口投与したときの TK 試験では、C_{max} 及び AUC いずれも投与量に比例して増加し、明らかな雌雄差は見られなかった。17 日齢ラットにおける曝露量は 65 日齢に比較して、やや高かった（[Module 2.6.4.8.1]）。雌雄幼若イヌ（22 日齢）にビガバトリンを 91 日間反復経口投与したときの TK 試験では、C_{max} 及び AUC はいずれも用量依存的に増加し、明らかな雌雄差は見られなかった。また反復投与したとき、曝露量は投与日数に応じて増加することはなく、蓄積又は生後日数による変化は見られなかった（[Module 2.6.4.8.2]）。

4　毒性試験

4.1　単回投与毒性試験

単回経口投与による概略致死量はマウス、ラットとも 2500 mg/kg であった。非げっ歯類の反復経口投与試験の初回投与又は投与初期の観察結果から、イヌ、サルとも概略致死量は 1000 mg/kg を超える用量と考えられた（[Module 2.6.6.2]）。

4.2　反復投与毒性試験

ラット、イヌ、サルとも摂餌量減少を伴う体重増加抑制が認められ、死亡又は安楽殺例がラットでは 3 ヵ月間投与の 300 mg/kg/日、12 ヵ月間投与の 200 mg/kg/日、イヌの 3 ヵ月間投与の 300 mg/kg/日で認められた。ラットでは痙攣が 3 ヵ月間投与で 300 mg/kg/日、12 ヵ月間投与では 100 mg/kg/日で認められたが、3～4 ヵ月間休薬後には消失した。マウス、ラット及びイヌでは脳白質の空胞化（髄鞘内浮腫）が認められ、ラットでは網膜変性も見られた。反復経口投与試験における無毒性量は、ラット、イヌ及びサルで各々30 mg/kg/日未満（12 ヵ月間投与試験）、50 mg/kg/日（12 ヵ月間投与試験）及び 100 mg/kg/日（6 年間投与試験）と考えられた（[Module 2.6.6.3]）。

4.3　遺伝毒性試験

細菌を用いる復帰突然変異試験、ほ乳類細胞を用いる染色体異常試験及びマウスを用いる小核試験の標準的組み合わせ試験、更に酵母菌又は CHO 細胞を用いる遺伝子突然変異試験の結果はいずれも陰性で、ビガバトリンは遺伝毒性を示さなかった（[Module 2.6.6.4]）。

4.4　がん原性試験

マウス 18 ヵ月間投与がん原性試験及びラット 24 ヵ月間投与がん原性試験では、いずれも 150 mg/kg/日投与によってもビガバトリンはがん原性を示さなかった（[Module 2.6.6.5]）。

4.5　生殖発生毒性試験

ラットの授／受胎能試験では、雄の生殖能に及ぼす影響は高用量の 150 mg/kg/日でも認められなかったが、雌では高用量の 150 mg/kg/日で黄体数及び着床数の減少に伴う生存胎児数の減少が見られた。ラットの胚･胎児発生試験では 150 mg/kg/日投与によっても胎児･出生児への影響は見られなかったが、ウサギでは 150 mg/kg/日の用量で催奇形性（口蓋裂）が認められた。ラットの出生前･出生後発生試験においては母動物の生殖能に関する影響は見られなかったが、出生児では 50 mg/kg/日以上で脳の空胞化、100 mg/kg/日以上で妊娠動物における黄体数の減少が認められた（[Module 2.6.6.6.2]）。

4.6　新生児を用いた試験

幼若ラット（生後 4 日齢）を用いた反復経口投与毒性試験においては、痙攣、体重増加抑制など、成獣とほぼ同様の所見が得られた。また、脳の空胞化は、幼若ラットでは成熟ラットよりも低用量で認められた。同様に、幼若イヌでも成熟イヌより低用量で脳の空胞化が認められた。網膜障害も幼若ラットでは 50 mg/kg/日の 2 週間投与により認められた。痙攣と体重への影響など全身への影響だけでなく、網膜あるいは脳への影響についても、幼若動物の方が成熟動物より感受性が高い傾向が見られた。一方、ビガバトリンの曝露量については、ラットでは幼若動物の方が成熟動物よりやや高かったが、イヌではむしろ幼若動物の方がやや低い傾向が見られた（[Module 2.6.6.6.3]）。

4.7　その他の毒性試験

依存性試験として、ラットを用いた身体依存性試験、サルを用いた薬物自己投与試験及び退薬症候抑制効果の検討を実施した。いずれの試験においてもビガバトリンの依存性を示唆する結果は得られなかった（[Module 2.6.6.8.1]）。

マウス、ラット、イヌで認められた脳の空胞化について追加検討した結果、イヌではビガバトリンによる脳内の GABA 濃度の上昇が確認され、脳の空胞化と符合する核磁気共鳴画像（MRI 像）の変化、視覚誘発電位及び体性感覚誘発電位の変化が認められた（[Module 2.6.6.8.2]）。また、ラット 3 ヵ月間投与毒性試験やマウス 18 ヵ月間投与がん原性試験で網膜変性が認められたことから、網膜への影響について検討した結果、ビガバトリン投与に加えて光照射が網膜変性の発症に関与している可能性が示唆された。この網膜変性に対し、タウリン補助投与による保護作用は認められなかった（[Module 2.6.6.8.3]）。更に、エナンチオマーによる毒性発現の検討の結果、ビガバトリンによる毒性は S 体によるものと考えられた（[Module 2.6.6.8.4]）。

5　総括及び結論

5.1　薬理試験

ビガバトリン（0.05～1.0 mmol/L）はラット脳の GABA-T 活性を反応時間及びビガバトリン濃度に依存して阻害し、この作用は pH5～9 の緩衝液で 4 日間透析しても、酵素活性が 5～19%回復したにすぎなかった。このことより、ビガバトリンは GABA-T と結合して不可逆的に阻害することが示唆された。GAD、AST、ALT 及び OAT 活性はビガバトリンによりほとんど影響を受けず、ビガバトリンは GABA-T に選択的であることが示された。ビガバトリンはマウス脳の培養神経細胞及び星状細胞の GABA-T に対しても阻害作用を示し、それぞれにおける IC_{50} は 89 及び 132 µmol/L であることが報告されている(1)。

ビガバトリンはマウスで 1500 mg/kg の単回腹腔内投与により、脳内 GABA-T 活性は投与後 3～4 時間以内に対照群の約 20%に低下し、この作用は少なくとも 48 時間持続した。このことより、*in vivo* においてもビガバトリンが GABA-T を不可逆的に阻害することが示唆された。更に、ビガバトリン投与後 GAD 活性も徐々に低下し、48 時間後には最小値（対照値の 65%）に達した。*In vitro* 試験ではビガバトリンはGADに対し阻害作用を示さないことから、*in vivo* における脳内GAD活性の低下はGABA濃度の上昇による、GAD 酵素生合成に対するフィードバック抑制の可能性が考えられる。

ビガバトリンは GABA-T 活性の阻害に加え、神経終末の GABA 取込み阻害及び GABA 遊離促進作用を有しており、これらの作用を介して脳内 GABA 濃度が増加すると考えられる。

ビガバトリンの抗痙攣作用を種々の動物モデルで検討したところ、聴原発作、薬物誘発発作、電撃痙攣発作、高圧酸素誘発発作、光過敏性ヒヒのミオクローヌス、自然発症てんかんラットの発作及び扁桃核キンドリング発作を抑制した。更に、幼若ラットにおける発作モデルにおいても抑制作用が認められたことから、ビガバトリンは点頭てんかんにも有用である可能性が示唆された。

In vitro での GABA-T 活性に対し、ビガバトリン（ラセミ体）の 1 mmol/L と S 体の 0.5 mmol/L は同等の阻害作用を示したが、R 体の 5 及び 10 mmol/L は弱い阻害作用を示したにすぎなかった。*In vivo* で、ビガバトリン（ラセミ体）1500 mg/kg 及び S 体 750 mg/kg のマウスへの単回腹腔内投与は、同等に脳内 GABA-T 及び GAD 活性を低下させ、GABA 濃度を増加させたが、R 体 750 mg/kg にはほとんど影響が認められなかった。ビククリン誘発痙攣モデル及び 3-メルカプトプロピオン酸誘発痙攣モデルにおいてもビガバトリンの活性体は S 体であることが示された。

一般薬理試験において、ビガバトリンをラットに経口投与し、一般症状の変化を観察したところ、250 mg/kg 以上で投与 1 時間前後から、体温下降、呼吸数の減少及び食欲不振等の中枢神経抑制作用ならびに流涙、流涎などの副交感神経興奮作用が用量依存的に認められた。マウスへの経口投与におい

て、125 mg/kg 以上で自発運動量の減少、500 mg/kg 以上でヘキソバルビタール睡眠の延長、ラットにおいて 500 mg/kg 以上の経口投与で正常体温の低下が見られた。GABA は中枢神経系において抑制的に作用し、GABA（75、200 及び 600 µg）のラット脳室内投与あるいは GABA-T 阻害剤の投与は、運動量及び探索行動の抑制あるいは体温下降をもたらすことが報告されている(2)(3)。このことより、ビガバトリンは GABA-T 活性を阻害して、脳内 GABA レベルを上昇させることにより、中枢神経抑制作用を発現したものと考えられる。ウサギにおいてもビガバトリンは 500 mg/kg の経口投与で行動的に鎮静を示し、脳波上で覚醒期の減少と紡錘波睡眠期の増加が示された。ビガバトリンは協調運動を抑制し、モルヒネによる挙尾反応を抑制したが、ラットの脊髄反射及び神経筋標本の収縮に影響を及ぼさなかったことから、これらの作用はビガバトリンの中枢抑制作用に基づく二次的なものと考えられる。ビガバトリンは一側線条体内投与で、ラットに特徴的なジスキネジア症状を引き起こしたが、この症状はビガバトリン（1000 mg/kg）の腹腔内前処置、GABA 又はムシモールの線条体内投与によって抑制された。このことより、ビガバトリンは GABA 作動系に対して 2 つの相反する作用、すなわち GABA-T 活性の阻害による脳内 GABA 濃度の増加と、高用量での GABA 受容体拮抗作用が示唆された。*In vitro* 試験では GABA 受容体に対して弱いながら親和性（IC_{50}=4.1 mmol/L）を有することが示されている。

麻酔イヌにおいて、ビガバトリン（50、100 及び 200 mg/kg）は静脈内投与で血圧及び心拍数にはほとんど影響を及ぼさなかったが、投与直後呼吸数及び大腿動脈血流量を用量依存的に増加させ、末梢血管抵抗を低下させた。これらの作用は $GABA_B$ 拮抗薬である 5-aminovaleic acid（10 mg/kg，静脈内）の前処置によって抑制されたことより、$GABA_B$ 受容体を介する作用であることが示された。ビガバトリンは 300 µg/mL までの濃度で hERG 電流及びウサギ心臓プルキンエ線維の活動電位に影響を及ぼさなかった。また、イヌで心電図に影響が見られなかったことより、催不整脈作用はないものと考えられる。ビガバトリン（500 及び 1000 mg/kg、経口）はラットの尿量並びに尿への Na^+、K^+及び Cl^-排泄を増加させ、利尿作用を示した。体液の維持に関与する抗利尿ホルモンであるバソプレシンの視床下部における分泌が、GABA 及びムシモール（GABA 作動薬）により抑制されることが報告されており(4)、ビガバトリンの利尿作用は脳内 GABA 濃度の増加を介する抗利尿ホルモンの分泌抑制が考えられる。

結論として、ビガバトリンは GABA-T 活性を不可逆的に阻害し、脳内 GABA 濃度を増加させ、幼若ラットモデルを含むてんかん動物モデルで発作を抑制することが示された。安全性薬理では脳内 GABA 濃度の上昇によると考えられる抑制性の行動が認められ、イヌで大腿動脈血流量の増加及び呼吸数の増加が認められたが、ヒト臨床用量よりも高い用量での変化であり、ビガバトリンは既に海外で多くの患者に投与されており、これらの作用は臨床上特に注目すべき有害事象にはならないと考えられる。

5.2 薬物動態試験

ビガバトリンを 50 及び 300 mg/kg 経口投与したとき、ラット及びイヌにおいて、ビガバトリンは速やかにかつ完全に吸収されたが、サルにおいては高用量で吸収率が低下した。サルにビガバトリンを単回経口投与したときの t_{max}（1～3 時間）はラット及びイヌに比べて遅く、C_{max} はラット、イヌに比べて低かったことから、本薬の吸収が遅かったことによると推定される。ラット及びイヌにおいて、ビガバトリンを経口投与したときのバイオアベイラビリティはほぼ 100%であった。曝露量（AUC）は用量にほぼ比例して増加した。ラット及びサルの TK 試験においてビガバトリンを反復投与したとき、曝露量又は血漿中濃度に性差は認められなかった。

ラットにラセミ体であるビガバトリンを 1 日 1 回 1 週間反復経口投与したとき、血漿中 S-（活性型）及び R-エナンチオマー濃度はすべての時点でほぼ等しかった。なお、ヒトにおいて、ビガバトリンは生体内で光学変換を受けないことが示唆されている（Module 2.7.2）。

ビガバトリンはカルボキシル基及びアミノ基を持つため、両性イオン化合物として正味の電荷は中性である。ビガバトリンの分子量は小さく、生理学的 pH で中性であるため、血液－脳関門を通過すると考えられる。また、ビガバトリンは親水性化合物であるため、体液全体に分布すると予想される。ラット、イヌ及びサルのいずれも単回静脈内投与したときの V_{ss} が比較的大きかったことから、組織への高い移行性が示唆された。ラットにおける組織内分布試験から、^{14}C-ビガバトリンを単回経口投与したとき胃及び腎臓での放射能濃度が高く、赤血球へも移行することが示された。また、有色ラットでは眼及び皮膚組織への曝露量がアルビノラットと比べて大きく、消失半減期が長く、^{14}C-ビガバトリン又はその代謝物が眼又は皮膚の色素成分に結合する可能性が示唆された。網膜内にもビガバトリンの移行が認められ、網膜内濃度は用量依存的であった。

ラットにビガバトリンを 1 日 1 回 1 週間反復経口投与したとき、ビガバトリンは脳内に移行し、投与 3 日目までに定常状態に達すると考えられた。ラセミ体で経口投与されたビガバトリンの血漿中 S 体及び R 体の濃度時間推移に差異は認められなかったが、脳内濃度は、活性型エナンチオマーである S 体の方が、不活性型エナンチオマーである R 体に比べて高い傾向を示した。

ラット及びイヌにビガバトリンを 1 日 1 回反復経口投与したとき、脳脊髄液（CSF）中のビガバトリン濃度は 2 週間以内に定常状態に達した。また、サルにビガバトリンを最長 6 年間反復経口投与したときの CSF 中ビガバトリン濃度は、投与量の増加とともに上昇した。ビガバトリンは血清タンパクにほとんど結合しなかった。

ラット、イヌ及びサルのいずれにおいても、ビガバトリンは投与後、極めてわずかしか代謝されず、大部分は未変化体として尿中に排泄された。

ラット、イヌ及びサルにおいて、循環血からのビガバトリンの主な消失メカニズムは腎クリアランス（CL_r）であると考えられた。CL_r 値は個々の動物種の糸球体濾過率を反映していた。すなわち、ラットにおけるビガバトリンの CL_r 値と、糸球体濾過率（同じ亜系統のラットにおけるイヌリンの CL_r 報告値）との間に有意差はなかった。また、イヌ及びサルにおけるビガバトリンの CL_r とこれら各動物種の糸球体濾過率は同等であった(5)。

妊娠マウスにビガバトリンを単回腹腔内投与したときの胎児への移行はわずかであった。

動物におけるビガバトリンの乳汁中移行は検討していないが、ヒトにおいてビガバトリン服用後の乳汁中移行はわずかであったことが報告されている(6)。

ビガバトリンは *in vitro* においてウサギ肝ミクロソームの CYP3A 活性を阻害しなかった。また、ビガバトリンは *in vivo* においてラットの肝薬物代謝酵素の誘導能は低かった。

ラットにビガバトリンを経口投与したときの吸収速度が、PAT1 阻害剤で低下すること（一方 AUC の低下は見られず）、及び *in vitro* でのラット PAT1 発現系でビガバトリンが基質となることが確認されたことから、ビガバトリンの消化管からの吸収過程にトランスポーターPAT1 の関与が示された。

雌雄幼若ラット（4 日齢）にビガバトリンを 4 週間及び 9 週間反復経口投与した時の TK 試験では、C_{max} 及び AUC はいずれも投与量に比例して増加し、明らかな雌雄差は見られなかった。17 日齢ラットにおける曝露量は 65 日齢に比較して、やや高かった。雌雄幼若イヌ（22 日齢）にビガバトリンを 91 日間経口投与したときの TK 試験では、C_{max} 値及び AUC は雌雄とも、用量依存的に増加したが、雌雄差は見られなかった。幼若イヌにおいて、反復投与による血中濃度の蓄積又は生後日数に伴う変化は見られなかった。

5.3 毒性試験

ビガバトリンの単回経口投与により､げっ歯類では主な所見として抑うつ状態､軟便などが見られ、概略の致死量はマウス、ラットとも 2500 mg/kg であった。非げっ歯類の単回投与試験は実施していないが、反復投与試験の初回投与又は投与初期の観察結果において、イヌでは嘔吐、サルでは軟便、下痢などの症状が認められたが､イヌ､サルとも概略の致死量は 1000 mg/kg を超える用量と考えられた。

反復投与毒性試験ではラット、イヌ、サルとも摂餌量減少を伴う体重増加抑制が認められ、ラットでは 3 ヵ月間投与で 300 mg/kg/日、12 ヵ月間投与で 200 mg/kg/日、イヌの 3 ヵ月間投与では 300 mg/kg/日で一般状態の悪化による死亡又は安楽殺例が認められた。ラットでは痙攣が 300 mg/kg/日の 3 ヵ月間投与あるいは 100 mg/kg/日の 12 ヵ月間投与で認められたが、3～4 ヵ月間の休薬後には消失した。なお、この痙攣に対してピリドキシンによる抑制効果は認められず、発生原因も不明である。イヌでは 200 mg/kg/日の 12 ヵ月間投与、サルでは 150 mg/kg/日の 6 年間投与における忍容性は良好であった。なお、ラット、イヌ、サルの反復投与試験において共通して認められた一過性の ALT（GPT）低下については、Okamura らがラット血清 ALT 活性に及ぼすビガバトリンの影響を *in vitro* で検討し、ビガバトリンには 100 µg/mL 以上の濃度でラット血清と 15 分間インキュベートすると､ALT の基質である L-アラニンを競合的に阻害することにより ALT 活性の低下を引き起こすことを明らかにしている(7)。

ビガバトリンの反復経口投与により､脳白質の空胞化（髄鞘内浮腫）がマウス､ラット及びイヌで、各々100 mg/kg/日の 1 ヵ月間投与、30 mg/kg/日の 12 ヵ月間投与（あるいは 100 mg/kg/日の 6 ヵ月間投与、300 mg/kg/日の 3 ヵ月間投与）、50 mg/kg/日の 12 ヵ月間投与（あるいは 100 mg/kg/日の 3 ヵ月間投与）により認められた。空胞化は、髄鞘の解離の結果生じた脳白質における微細空胞で、投与期間が長くなるにつれ、空胞化が認められる用量は低下し、所見が見られる領域がより広範になる傾向が

見られた。しかしながら、いずれの動物種においても脊髄や末梢神経に空胞化は見られなかった。ラット及びイヌでは、脳の空胞化は 3～6 ヵ月間の休薬により回復傾向が確認された。また、ラットでは小脳室頂核に好酸性球状体や石灰化小体が 12 ヵ月間投与終了後及び 3 又は 6 ヵ月間の休薬後に見られ、髄鞘のターンオーバーの亢進、軸索の障害あるいは軽度なアストロサイトのグリオーシスを示唆する所見と考えられた。マウスでも 18 ヵ月間投与後に、空胞化に加えて小脳室頂核における限局性の石灰化が認められた。成熟動物においては脳の空胞化に関連すると考えられる明らかな行動異常は認められなかった。なお、ラットでは脳に空胞化が生じているにもかかわらず痙攣が生じていない時期があること、イヌでは脳に空胞化が認められたにもかかわらず痙攣は見られていないことから、ラットで認められた痙攣と髄鞘内浮腫には直接の関連はないと考えられた。マウス、ラット、イヌで髄鞘内浮腫が認められたことを踏まえ、より詳細な検討試験を実施した結果、イヌではビガバトリンによる脳内の GABA 濃度の上昇が確認され、脳の空胞化と符合する MRI の変化、VEP 及び SEP の変化が認められた。サルでは 100 mg/kg/日の 6 年間投与によっても明らかにビガバトリン投与によると言える脳の空胞化は認められなかったが、脳及び脳脊髄液中の GABA 濃度も上昇していなかった。このように脳内 GABA 濃度上昇と脳の空胞化に関連があるように思われた。

なお、幼若動物におけるビガバトリンによる脳神経細胞への影響については多くの論文が報告されている。最初に報告した Qiao ら（2000 年）によると、ラットにビガバトリンを 25～40 mg/kg/日の用量で生後 12 日から 2 週間皮下投与したところ、（1）行動への影響（自発運動亢進、冷水からの逃避までの潜時短縮）、（2）脳白質 MRI の T2 及び拡散強調像の高信号化、（3）脳梁の微細空胞、TUNEL 陽性核、軸索浮腫、（4）髄鞘染色観察で髄鞘低形成が認められた。2 週間の休薬により MRI には回復が認められ、微細空胞は消失し、髄鞘低形成は部分的に回復したが、視床下部での T2 緩和時間延長や逃避までの潜時短縮は残存していた(8)。Levav ら（2008 年）によると、マウスの生後 4～14 日にビガバトリン 50 mg/kg/日を皮下投与したところ､海馬及び大脳皮質の小胞結合膜タンパク質 II（VAMP II）とシナプトタグミン I（Synt I）の発現が一時的に低下した後、長期に亘って上昇した。この変化は興奮性シナプス後場電位（fEPSP）の低下と相関していた(9)。Levav-Rabkin ら（2010 年）によると、マウス海馬のビガバトリンに対する感受性は生後 1～7 日に比べ生後 4～14 日の方が高かった(10)。

動物での脳の変化はヒトでの臨床用量域で生じていること、ヒトにおいても本薬投与による可逆性の脳 MRI 像の異常が認められ､若齢及び高用量投与がリスクファクターであることが確認されていること(11)(12)から、添付文書においても中枢神経毒性の発生リスクについて注意喚起を行っている。

ラットを用いた反復経口投与眼毒性試験において、網膜中のビガバトリン濃度の上昇とともに網膜の変性（視細胞消失、外顆粒層崩壊）が 100 mg/kg/日以上の用量で認められた。アルビノ及び有色ラットを用いて光照射下と非照射下での比較を行った 3 ヵ月間経口投与眼毒性試験では、網膜変性の発現に光照射が関与している可能性が示唆された。有色ラットを用いて強光照射及びタウリン補助投与の影響を検討した 6 週間経口投与眼毒性試験では、ビガバトリン投与（30、150 mg/kg/日）した動物

への光照射により網膜の組織学的及び機能的変化が生じたが、タウリン補助投与による網膜保護作用は認められなかった。免疫組織化学的染色では、網膜の Müller 細胞で GABA の染色反応が強く認められた。Izumi ら（2004）は SD ラットから採取した網膜を用いた *ex vivo* の試験でビガバトリンも GABA も光照射（20000 lux 白色光）なしでは、あるいは光照射だけでは網膜障害がみられないこと、*in vivo* 試験ではビガバトリンの高用量単回投与（1000 mg/kg, i.p.）によっても動物を標準光下（12 時間照明[300～500 lux]／12 時間消灯[<10 lux]）に置いた場合には網膜障害は発生しないが、同一投与量を投与後 24 時間白色光下（6000～8000 lux）に置いた場合網膜障害が認められる（白色光の 24 時間照射のみでは網膜への影響は認められていない）ことを確認しており、ビガバトリンと光照射は、それぞれ単独ではなく、両方が存在した場合に網膜障害を誘発すると考察している(13)。なお、Jammoul ら（2009）によると、12 時間暗/12 時間明の照明サイクル下で、ビガバトリンを 6～7 週齢の Wistar ラットに 200 mg/kg/日の用量で 45 日間腹腔内投与したところ血漿中タウリン濃度の低下及び網膜毒性（網膜電図振幅減少、錐体視細胞密度低下）が生じたが、24 時間暗所飼育した動物では毒性は発現しなかった。また、200 mg/kg/日の 65 日間投与によりタウリン血漿中濃度が低下し、網膜毒性も認められたが、タウリン（0.1 mol/L）を併用投与した動物では血漿中タウリン濃度の低下は認められず，網膜毒性も軽減した。同様に、6～7 週齢の BALB/c マウスに 150 mg/kg/日の用量で 29 日間投与したところ網膜毒性が生じたが、0.1 mol/L タウリン飲水併用投与により軽減したと報告している(14)。同じく Jammoul ら（2010）によると、幼若 Wistar ラットにビガバトリンを 0.6 mg/日（約 50 mg/kg/日）の用量で生後 4～29 日に腹腔内投与すると錐体視細胞変性、視細胞層の構築の乱れ、神経膠症、網膜神経節細胞消失が生じたが、タウリンを 5 mg/日（約 420 mg/kg/日）腹腔内に併用投与することでその変化が軽減されたとされている(15)。最近では、Yang ら（2012）は光照射がビガバトリンによる網膜障害の重要な増強因子であり、この作用の一部は直接／間接的に視細胞（桿体及び錐体）における光伝達シグナルにより仲介されることを明らかにしている(16)。更に、Heim 及び Gidal（2012）や Gaucher ら（2012）はタウリンの欠乏がビガバトリンによる網膜神経細胞（錐体光受容体及び網膜神経節細胞）障害の原因と考えられるとしている(17)(18)。

以上のように、非臨床試験の結果から本薬投与による網膜障害が生じ、その発生メカニズムとして本薬だけでなく、光刺激及びタウリン欠乏も関与している可能性が認められた。タウリンの補助投与による網膜保護作用については、ラットで効果有り、無しの両方の結果が得られているが、Caco-2 及び MDCK 細胞を用いた *in vitro* 試験において、網膜障害が見られたときの曝露量に相当する本薬の高用量（30 mmol/L）の存在下でタウリンの細胞内へ の取り込みを阻害した結果と関連すると考えられる(19)。なお、臨床用量での Cmax の約 2 倍の濃度である 1 mmol/L ではタウリンの細胞内への取り込みの阻害が認められなかったことから、臨床用量では本薬によるタウリンの取り込み阻害の可能性は低いと考えられた。網膜障害については本薬投与による発生リスクを十分に認識する必要があることから、添付文書の「警告」として注意喚起を行っている。

遺伝毒性試験、マウス及びラットのがん原性試験の結果はいずれも陰性であり、本剤投与によるヒトでの発がんリスクはほとんどないものと考えられた。

ラットの授/受胎能試験では、雄の生殖能に及ぼす影響は高用量の 150 mg/kg/日でも認められなかったが、雌では 150 mg/kg/日で生存児の減少を伴う黄体数及び着床数の減少が見られた。ラットの胚・胎児発生に関する試験では150 mg/kg/日投与によっても胎児・出生児への明らかな影響は見られなかったが、ウサギでは 150 mg/kg/日の用量で催奇形性（口蓋裂）が認められた。ラットの出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験においては母動物の生殖能に関する影響は見られなかったが、F1 出生児（離乳後も投与継続）では 50 mg/kg/日以上で脳の空胞化、100 mg/kg/日以上で黄体数の減少が認められた。

ラット及びサルを用いた依存性試験の結果、ビガバトリンは脳移行性があるものの [Module 2.6.4.4.1.2]、ラットで身体依存性、サルで身体及び精神依存性を認めなかった。

更に、エナンチオマーによる毒性発現の検討の結果、ビガバトリンによる毒性は S 体によるものと考えられた。

成熟ラットで認められた死亡発生、一般状態の異常、摂餌量減少を伴う体重増加抑制など、主にビガバトリンのGABA分解酵素阻害作用に起因すると考えられる影響は幼若ラットにおいてもほぼ同様に認められた。しかしながら、その発生状況を比べると、死亡例の発生では幼若ラット 100 mg/kg/日の 2 週間投与により認められたのに対し、成熟ラット 1000 mg/kg/日の 2 週間投与あるいは 300 mg/kg/日の 3 又は 12 ヵ月間投与によっても見られなかった。自発運動の低下、体重増加抑制などの全身への影響では成熟ラット 200 mg/kg/日以上で認められたのに対し、幼若ラット 30 又は 50 mg/kg/日でも見られた。痙攣の発現でも幼若ラット 30 mg/kg/日で投与 23 日に認められたのに対し、成熟ラット 200 mg/kg/日の 3 ヵ月間投与あるいは 100 mg/kg/日の 6 ヵ月間投与によっても見られなかった。更に、幼若ラット 50 又は 100 mg/kg/日の 2 週間投与により認められた網膜障害は、成熟ラット 300 mg/kg/日の 13 週間投与で見られた。また、成熟ラットで 300 mg/kg/日の 3 ヵ月間投与、100 mg/kg/日の 6 ヵ月間投与あるいは 30 mg/kg/日の 12 ヵ月間投与により見られた脳の空胞化については、幼若ラット 15 mg/kg/日の 4 日間投与によって脳の神経網に空胞化が認められた。同様に、成熟イヌ 100 mg/kg/日の 3 ヵ月間投与あるいは 50 mg/kg/日の 12 ヵ月間投与により見られた脳の空胞化については、幼若イヌ 30 mg/kg/日の 14 日間投与によって脳の神経網に空胞化が認められた。以上のように、全身への影響だけでなく、網膜あるいは脳への影響についても、幼若動物の方が成熟動物より感受性が高い傾向が見られた。一方、ビガバトリンの曝露量については、ラットでは幼若動物の方が成熟動物よりやや高く、イヌでは生後日数に伴う変化は見られなかった[Module 2.6.4.8]。

毒性試験とヒトでの曝露量の比較から安全係数又は曝露量比を求めた。雄ラットの授胎能への影響を除き、AUC で評価した安全域はいずれも 1 を下回った。また、イヌでは幼若イヌの無毒性量及び安全域は成熟イヌのそれを下回った。なお、成熟ラットにおいては 30 mg/kg/日の 12 ヵ月間投与により脳の髄鞘内浮腫が認められたため無毒性量が得られていないことから、成熟ラットと幼若ラットでの安全域を適切に比較することはできなかった。

以上のビガバトリンの非臨床毒性試験で認められた成績から、本剤を小児へ投与する際のリスク評価に必要な情報が得られていると考えられた。

参 考 文 献

1. Gram L, Larsson OM, Johnsen A, Schousboe A. Experimental studies of the influence of vigabatrin on the GABA system. Br J Clin Pharmacol. 1989;27:13S-17S.
2. Czajka R. Central effects of endogenous and exogenous GABA. Acta Physiol Pol. 1978;29:193-205.
3. Palfreyman MG, Schechter PJ, Buckett WR, Tell GP, Koch-Weser J. The pharmacology of GABA-transaminase inhibitors. Biochem Pharmacol. 1981;30:817-24.
4. Chowdrey HS, Bisset GW. Central inhibition by γ-aminobutyric acid of the release of vasopressin by carbachol in the rat. Br J Pharmacol. 1988;93:349-56.
5. Altman P, Dittmer D. Total body water: Mammals other than man. In: Biology Data Handbook, volume III. Bethesda, MD: The Federation of American Societies for Experimental Biology; 1974. p.1989-2003.
6. Tran A, O'Mahoney T, Rey E, Mai J, Mumford JP, Olive G. Vigabatrin: placental transfer in vivo and excretion into breast milk of the enantiomers. Br J Clin Pharmacol. 1998;45:409-11.
7. Okumura H, Omote M, Takeshita S. In vitro effects of the novel anti-epileptic agent vigabatrin on alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase activities in rat serum. Arzneim Forsch Drug Res. 1996;46:459-62.
8. Qiao M, Malisza KL, Del Bigio MR, Kozlowski P, Sechisa SS, Tuor UI. Effect of long-term vigabatrin administration on the immature rat brain. Epilepsia. 2000;41:655-65.
9. Levav T, Wirthaim O, Weiss R, Grossman Y, Golan H. Impaired synaptogenesis and long-term modulation of behavior following postnatal elevation of GABA levels in mice. Neuropharmacology. 2008;54:387-98.
10. Levav-Rabkin T, Melamed O, Clarke G, Farber M, Cryan JF, Dinan TG, Grossman Y, Golan HM. A sensitive period of mice inhibitory system to neonatal GABA enhancement by vigabatrin is brain region dependent. Neuropsychopharmacology. 2010;35:1138-54.
11. Pearl PL, Vezina LG, Saneto RP, McCarter R, Molloy-Wells E, Heffron A, Trzcinski S, McClintock WM, Conry JA, Elling NJ, Goodkin HP, de Menezes MS, Ferri R, Gilles E, Kadom N, Gaillard WD. Cerebral MRI abnormalities associated with vigabatrin therapy. Epilepsia. 2009;50:184-94.
12. Milh M, Villeneuve N, Chapon F, Pineau S, Lamoureux S, Livet MO, Bartoli C, Hugonenq C, Mancini J, Chabrol B, Girard N. Transient brain magnetic resonance imaging hyperintensity in basal ganglia and brain stem of epileptic infants treated with vigabatrin. J Child Neurol. 2009;24:305-15.
13. Izumi Y, Ishikawa M, Benz AM, Izumi M, Zorumski CF, Thio LL. Acute vigabatrin retinotoxicity in albino rats depends on light but not GABA. Epilepsia. 2004;45:1043-8.
14. Jammoul F, Wang Q, Nabbout R, Coriat C, Duboc A, Simonutti M, Dubus E, Craft CM, Ye W, Collins SD, Dulac O, Chiron C, Sahel JA, Picaud S. Taurine deficiency is a cause of vigabatrin-induced retinal phototoxicity. Ann Neurol. 2009;65:98-107.

15. Jammoul F, Dégardin J, Pain D, Gondouin P, Simonutti M, Dubus E, Caplette R, Fouquet S, Craft CM, Sahel JA, Picaud S. Taurine deficiency damages photoreceptors and retinal ganglion cells in vigabatrin -treated neonatal rats. Molecular and Cellular Neuroscience. 2010;43:414-21.
16. Yang J, Naumann MC, Tsai Y-T, Tosi J, Erol D, Lin C-S et al. Vigabatrin-induced retinal toxicity is partially mediated by signaling in rod and cone photoreceptors. PLoS ONE. 2012;7:e43889.
17. Heim MK, Gidal BE. Vigabatrin-associated retinal damage: potential biochemical mechanisms. Acta Neurol Scand. 2012;126:219-28.
18. Gaucher D, Arnault E, Husson Z, Froger N, Dubus E, Gondouin P, Dherbécourt D, Degardin J, Simonutti M, Fouquet S, Benahmed MA, Elbayed K, Namer IJ, Massin P, Sahel JA, Picaud S. Taurine deficiency damages retinal neurones: cone photoreceptors and retinal ganglion cells. Amino Acids. 2012;43:1979-93.
19. Plum J, Nøhr MK, Hansen SH, Holm R, Nielsen CU. The anti-epileptic drug substance vigabatrin inhibits taurine transport in intestinal and renal cell culture models. Int J Pharm. 2014;473:395-7.