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

2.6.1 緒言

Total number of pages: 4

目　　次

1　　緒言 **4**

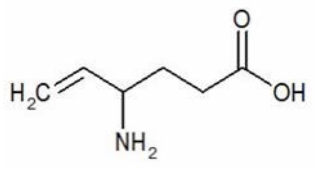
図　目　次

図 1 - ビガバトリンの構造式 4

1　緒言

サブリル散分包 500 mg はビガバトリンを 1 包あたり 500 mg 含有する。ビガバトリンは 2 つのエナンチオマーからなる (±)4-amino-5-hexenoic acid であり、相対分子量は 129.16 である（図 1）。

図 1 - ビガバトリンの構造式



相対分子量：129.16

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で、GABA の異化に関わる酵素 GABA アミノ基転移酵素（GABA-T）に擬似基質として酵素活性中心に特異的かつ不可逆的に結合することにより酵素活性を阻害し、脳内の GABA 濃度を増加させ、GABA の神経伝達を促進させる。

本申請において予定している「効能又は効果」及び「用法及び用量」を以下に示す。

効能又は効果

点頭てんかん

用法及び用量

通常、小児にはビガバトリンとして 1 日 50 mg/kg を開始用量として、1 日 2 回に分けて経口投与する。安全性に問題がなく、攣縮の改善が認められない場合には、3 日毎に 1 日投与量として 25～50 mg/kg ずつ漸増し、攣縮の改善が認められる有効投与量を維持用量とする。ただし、1 日投与量として 150 mg/kg（1 日の総投与量として 3 g）を超えないこと。

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

2.6.2 薬理試験の概要文

Total number of pages: 52

目　　次

略号と用語の定義 7

1　まとめ 8

2　効力を裏付ける試験 15

2.1　GABA-T 阻害作用 15

2.1.1　*In vitro* におけるビガバトリンの GABA-T 阻害作用 16

2.1.2　マウスにおけるビガバトリン単回投与での脳内 GABA 濃度、GAD、GABA-T 活性 17

2.1.3　マウスにおけるビガバトリン反復投与での脳内 GABA-T 活性及び GABA 濃度（用量反応） 19

2.1.4　マウスにおけるビガバトリン反復投与での脳内 GABA-T 活性及び GABA 濃度（投与期間） 19

2.1.5　ラットにおけるビガバトリン単回投与での脳各部位の GABA 濃度、GABA-T 活性及び GAD 活性 20

2.1.6　ビガバトリンの神経末端を含む黒質画分及び神経末端を含まない黒質画分の GABA 濃度に及ぼす影響 20

2.2　ラットにおけるビガバトリンの脳内及び脳脊髄液中 GABA 濃度に対する作用 22

2.3　GABA の取込み及び遊離に対する作用 22

2.3.1　ビガバトリンのシナプトソームにおける GABA の取込み及び遊離に対する作用 22

2.3.2　ビガバトリンの GABA 代謝、脳シナプス膜への結合及びミトコンドリアへの GABA 取込みに対する作用 23

2.4　ビガバトリンのてんかん動物モデルにおける作用 23

2.4.1　幼若ラットにおける攣縮モデル 23

2.4.2　幼若ラットにおける NMDA 誘発発作モデル 24

2.4.3 DBA/2 系マウスにおける聴原発作モデル 25
2.4.4 薬物誘発痙攣モデル 28
2.4.5 電撃痙攣発作モデル 28
2.4.6 高圧酸素誘発痙攣発作モデル 29
2.4.7 光過敏性ヒヒのてんかん発作モデル 30
2.4.8 扁桃核キンドリングモデル 31
2.4.9 自然発症てんかんラット（SER）モデル 33
2.4.10 自然発症てんかんラット（SER）での作用メカニズム 34
2.5 エナンチオマーの薬理活性 34
2.5.1 GABA-T 阻害活性 34
2.5.2 抗てんかん作用 37
2.5.2.1 ビククリン誘発痙攣モデル 37
2.5.2.2 3-メルカプトプロピオン酸誘発痙攣モデル 37
3 副次的薬理試験 38
3.1 抗疼痛作用 38
3.2 抗不安作用 39
4 安全性薬理試験（一般薬理試験） 40
4.1 ラットの一般症状及び行動に及ぼす影響 40
4.2 中枢神経系に及ぼす影響 40
4.3 自律神経系及び体性神経系に及ぼす影響 43
4.4 心血管系及び呼吸系に及ぼす影響 44
4.5 マウス消化管輸送に及ぼす影響 45
4.6 水及び電解質代謝に及ぼす影響 46
4.7 その他（内分泌系に及ぼす影響） 46

5 薬力学的薬物相互作用試験 48

6 考察及び結論 49

7 図表 51

参 考 文 献 52

表　目　次

表 1 - ビガバトリンに関する薬理試験の一覧 8

表 2 - マウスにおける脳内 GABA-T 活性、GAD 活性及び GABA 濃度に対するビガバトリンの投与経路の影響 19

表 3 - ラットにおける脳各部位の GABA-T 活性、GAD 活性及び GABA 濃度に対するビガバトリンの作用20

表 4 - DBA/2 マウスの聴原発作に対するビガバトリンの作用 26

表 5 - 薬物誘発痙攣に対するビガバトリンの作用 28

表 6 - マウスにおける電撃痙攣発作閾値に対するビガバトリンの作用 29

表 7 - マウスにおける高圧酸素下（5.44 気圧）での痙攣発作に対するビガバトリンの作用 29

表 8 - ラット扁桃核キンドリングモデルにおける後発射持続時間に対するビガバトリンの作用 32

表 9 - マウスにおける圧刺激の疼痛閾値に対するビガバトリンの影響 38

図　目　次

図 1 - GABA-T による GABA の代謝 15

図 2 - ビガバトリンによる GABA-T 阻害の作用機序 16

図 3 - ラット脳 GABA-T、GAD、AST 及び ALT 活性に対するビガバトリンの作用 17

図 4 - マウスにおけるビガバトリン単回腹腔内投与後の脳内 GABA-T 活性、GAD 活性及び GABA 濃度の推移 18

図 5 -ラットの黒質神経末端部及び神経末端を含めない黒質の GABA 濃度に対するビガバトリンの作用 . 21

図 6 - ラットにおける脳内 GABA 濃度及び脳脊髄液中 GABA 濃度 に対するビガバトリンの作用 22

図 7 - 幼若ラットにおける DLP 誘発攣縮に対するビガバトリンの作用 24

図 8 - 12 日齢ラットにおける NMDA 誘発屈曲痙攣及び CTS に対するビガバトリン及び valproate の作用 25

図 9 - CD-1 マウス脳内 GABA 濃度及び DBA/2 マウスの聴原発作に対するビガバトリンの作用 27

図 10 - 光過敏性ヒヒにおけるミオクローヌス反応に対するビガバトリンの作用 31

図 11 - ラット扁桃核キンドリングモデルにおける運動発作に対するビガバトリンの作用 32

図 12 - SER における強直性痙攣発作及び欠神様発作に対するビガバトリンの作用 33

図 13 - GABA-T 活性に対するビガバトリン（ラセミ体）及びエナンチオマーの阻害作用 35

図 14 - マウスにおけるビガバトリン（ラセミ体）及びエナンチオマー単回腹腔内投与後の脳内 GABA-T 活性、GAD 活性及び GABA 濃度の推移 36

図 15 - マウスにおける 3-メルカプトプロピオン酸誘発痙攣に対する ビガバトリン（ラセミ体）及び S 体の作用 37

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 transaminase	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
AVP	arginine vasopressin	アルギニンバソプレシン
CRF	corticotropin releasing factor	副腎皮質刺激ホルモン放出因子
DOX	Doxorubicin	ドキソルビシン
CTS	clonic-tonic seizure	間代性－硬直性発作
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
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
LPS	lipopolysaccharide	リポ多糖
MPA	3-mercaptopropionic acid	3-メルカプトプロピオン酸
NMDA	N-methyl D-aspartate	N-メチル-D-アスパラギン酸
OAT	ornithine aminotransferase	オルニチンアミノ基転移酵素
PCPA	p-chlorophenylalanine	p-クロロフェニルアラニン
PTX	picrotoxin	ピクロトキシン
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
S.E.M.	standard error of mean	標準誤差
SER	spontaneously epileptic rat	自然発症てんかんラット
TTX	tetrodotoxin	テトロドトキシン

1　まとめ

ビガバトリンは、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で、GABA の異化に関わる酵素 GABA アミノ基転移酵素（GABA-T）に擬似基質として不可逆的に結合することにより酵素活性を阻害し、脳内の GABA 濃度を増加させ、GABA の神経伝達を促進させる。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 阻害作用とそれにともなう脳内 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。

実施したビガバトリンの薬理試験の一覧を表 1 に示す。

表 1 - ビガバトリンに関する薬理試験の一覧

試験の種類	試験系	投与方法	資料番号 [Module]
1.1 効力を裏付ける試験			
In vitro での GABA-T 活性に対する作用	ラット脳	*in vitro*	参[4.2.1.1-1]
単回投与での GABA-T 活性に対する作用	マウス	腹腔内、静脈内、筋肉内、皮下、経口	参[4.3-17]
反復投与での GABA-T 活性に対する作用	マウス	腹腔内	参[4.2.1.1-2]
脳での GABA 代謝	マウス	腹腔内	参[4.2.1.1-3]
脳各部位での GABA 代謝	ラット	腹腔内	参[4.2.1.1-1]
神経末端の GABA 濃度	ラット	腹腔内	参[4.3-13]
脳脊髄液中及び脳内 GABA 濃度	ラット	腹腔内	参[4.3-3]
GABA の取込み及び遊離に対する作用	ラット	*in vitro*、腹腔内	参[4.2.1.1-4]
GABA の生成、結合、取込み及び代謝に対する作用	マウス、ラット	*in vitro*	参[4.3-22]

試験の種類	試験系	投与方法	資料番号 [Module]
幼若ラットにおける攣縮モデル	ラット	腹腔内	参[4.3-32]
幼若ラットにおける NMDA 誘発発作モデル	ラット	腹腔内	参[4.3-18]
聴原発作モデル	マウス	腹腔内	参[4.2.1.1-1] 参[4.3-33]
薬物誘発痙攣モデル	マウス	経口	[4.2.1.1-5]
電撃発作モデル	マウス	経口 腹腔内	参[4.2.1.1-1]
高圧酸素誘発発作モデル	マウス	筋肉内	参[4.2.1.1-1]
光過敏性てんかん発作モデル	ヒヒ	静脈内	参[4.3-23]
扁桃核キンドリングモデル	ラット	腹腔内	参[4.3-35]
自然発症てんかんラット（SER）	ラット	経口	[4.2.1.1-6]
自然発症てんかんラット（SER）での作用メカニズム	ラット	*in vitro*	[4.2.1.1-7]
GABA-T 阻害活性	ブタ脳、マウス	*in vitro*、腹腔内	参[4.2.1.1-8]
ビククリン誘発痙攣	マウス	腹腔内	参[4.2.1.1-9]
3-メルカプトプロピオン酸誘発痙攣	マウス	腹腔内	参[4.2.1.1-10]
1.2 副次的薬理試験			
痛覚に及ぼす影響	マウス	経口	参[4.2.1.2-1]
鎮痛作用	マウス、ラット	腹腔内	参[4.3-4]
抗不安作用	マウス	腹腔内、経口	参[4.3-34]
1.3 安全性薬理試験			
一般症状及び行動に及ぼす影響	ラット	経口	参[4.2.1.3-1]
中枢神経系に及ぼす影響			
自発運動量に及ぼす影響	マウス	経口	参[4.2.1.2-1]
睡眠（ヘキソバルビタール睡眠）に及ぼす影響	マウス	経口	参[4.2.1.2-1]
体温に及ぼす影響	ラット	経口	参[4.2.1.2-1]
協調運動に及ぼす影響	マウス	経口	参[4.2.1.2-1]
痛覚に及ぼす影響	マウス	経口	参[4.2.1.2-1]
脳波に及ぼす影響	ウサギ	経口	参[4.2.1.2-1]
脊髄反射に及ぼす影響	ラット	静脈内	参[4.2.1.3-1]
ジスキネジア様作用	ラット	線条体内	参[4.2.1.3-2]
フェンサイクリジン（PCP）誘発多動に対する作用	マウス	腹腔内	参[4.2.1.3-3]
摂食行動	ラット	腹腔内	参[4.3-12]
攻撃性	ラット	腹腔内	参[4.3-30]

試験の種類	試験系	投与方法	資料番号 [Module]
自律神経系及び体性神経系に及ぼす影響			
瞳孔径に及ぼす影響	ラット	経口	参[4.2.1.3-4]
神経筋接合部に対する作用	ラット	静脈内	参[4.2.1.3-1]
筋弛緩作用	マウス	腹腔内	参[4.2.1.3-5]
心血管系に及ぼす影響			
hERG カリウムチャネルへの影響（GLP 試験）	HEK293 細胞	*in vitro*	[4.2.1.3-6]
心臓プルキンエ線維活動電位への影響（GLP 試験）	ウサギ	*in vitro*	[4.2.1.3-7]
イヌの血行動態への影響	イヌ	静脈内	参[4.2.1.3-1]
イヌの血行動態及び心電図への影響	イヌ	静脈内 経口	参[4.2.1.3-8]
イヌ及びラットの血行動態への影響	ラット、イヌ	静脈内	参[4.2.1.3-9]
呼吸器系に及ぼす影響	イヌ	静脈内	参[4.2.1.3-1]
消化器系に及ぼす影響	マウス	経口	参[4.2.1.3-1]
水及び電解質代謝に及ぼす影響			
尿量及び電解質排泄に及ぼす影響	ラット	経口	参[4.2.1.2-1]
尿量、電解質排泄及び血清電解質に及ぼす影響	ラット	経口	参[4.2.1.3-1]
その他			
副腎皮質刺激ホルモン分泌	ラット	腹腔内	参[4.2.1.3-10]
プロラクチン産生に及ぼす影響	ラット	腹腔内	参[4.2.1.3-11]
1.4 薬力学的薬物相互作用試験			
該当なし			

参：参考資料

効力を裏付ける試験

1）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）活性に対しては殆んど又は全く阻害しなかった。

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。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/日以上で脳内 GABA-T 及び GAD 活性を低下させ、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。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。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。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 時間及び 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発作抑制作用と相関していた。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。

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。

2）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。一方、Cosyntropin（$ACTH_{1-24}$）の 0.0125 mg/kg/日の腹腔内投与では抑制作用は見られなかった。

幼若ラットにおける屈曲発作モデル：12 日齢ラットに N-メチル-D-アスパラギン酸（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。

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 50%有効用量（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。

薬物誘発発作モデル（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 の経口投与で強直性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。

電撃痙攣発作モデル（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）は対照群の 29.5 mA に対し、40 mA に上昇させた。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発作を抑制した。

高圧酸素誘発発作モデル（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。

光過敏性てんかん発作モデル（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抑制した。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 時間後においても抑制作用が認められた。

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。

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 の強直性発作及び欠神様発作を抑制した。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。

3）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 体ビガバトリンの 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 ラセミ体ビガバトリン 1500 mg/kg 及び S 体ビガバトリン 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 体ビガバトリン 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、殆んど影響がなかった。

てんかん動物モデル：ビククリン誘発発作モデル（マウス）において、ラセミ体ビガバトリン及び S 体ビガバトリンは発作を抑制し、ED_{50} はそれぞれ 221 mg/kg 及び 85 mg/kg であったが、R 体ビガバトリンは 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、ラセミ体ビガバトリン及び S 体ビガバトリン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。

副次的薬理試験

1）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。

2）抗不安作用：マウスにおける強制水泳試験で、生理食塩液と比較し、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。

安全性薬理試験

1）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 で胸腺の萎縮が 1 例ずつに認められた。

2）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見られ、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たが、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、フェンシクリジン誘発多動（マウス）を抑制した。

3）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を低下させた（ED_{50}：674 mg/kg）。

4）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。

5）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。

6）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。

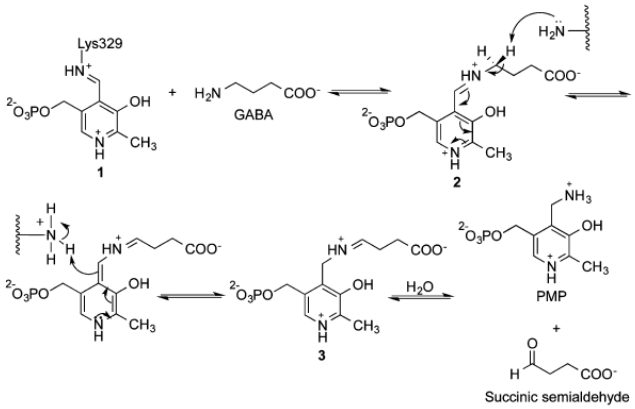
7）その他（内分泌系）：ラットにおいて、ビガバトリンは 1000 mg/kg の腹腔内投与で、下垂体の基礎及び副腎皮質刺激ホルモン放出因子（CRF）あるいはアルギニンバソプレシン（AVP）刺激による副腎皮質刺激ホルモン（ACTH）遊離を抑制した。ラットにおいて、ビガバトリンの 800 mg/kg の単回腹腔内投与により、下垂体前葉のプロラクチンメッセンジャーリボ核酸（mRNA）量の減少（35%）が認められた。

2　効力を裏付ける試験

2.1　GABA-T 阻害作用

GABA-T はピリドキサルリン酸（PLP）依存性の酵素であり、脱アミノ反応によりケト酸を生成させることにより GABA を分解する（図 1 ）(1)。PLP は GABA-T のリジン残基（Lys329）のアミノ基とシッフ塩基を形成し補酵素として作用する（図 1 の 1）。

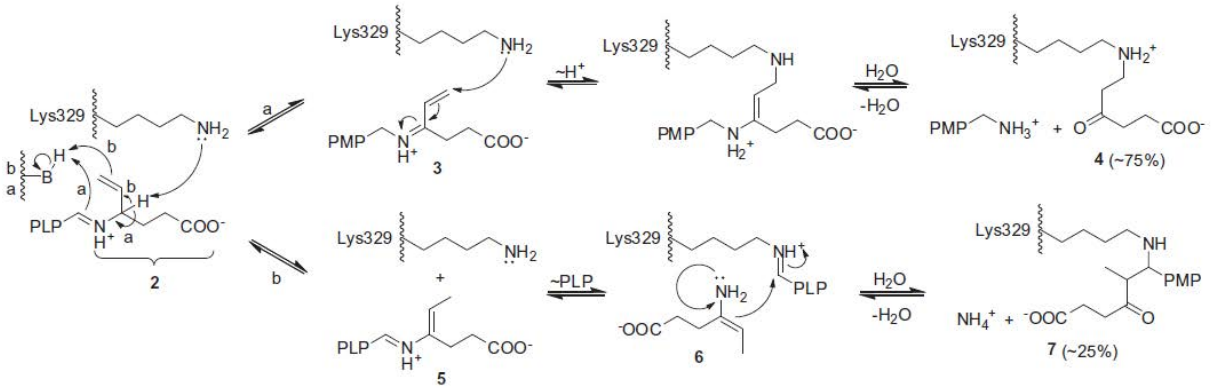
図 1 - GABA-T による GABA の代謝



（出典：[Module 4.3-47, Scheme 2]）

ビガバトリンは、GABA のγ位にビニール基が結合した物質で、GABA 分解酵素である GABA-T に擬似基質として作用し，特異的かつ不可逆的に酵素活性中心に結合することにより酵素活性を阻害する。その阻害機序にはマイケル付加反応（図 2 の a）とエナミン反応（図 2 の b）の 2 経路あり、およその比率は 75：25 であると考えられている(1)(2)。ビガバトリンは PLP とシッフ塩基を形成して結合する（図 2 の 2）。マイケル付加反応経路では、脱プロトン反応及び異性化が生じて反応性に富むマイケル受容体となる（図 2 の 3）。これが GABA-T のリジン残基と反応し、共有結合付加物を形成して酵素を失活させる（図 2 の 4）。一方、エナミン反応経路では、異性化によりエナミン付加物形成後（図 2 の 5）、エナミンを遊離し（図 2 の 6）、酵素と結合した PLP に共有結合にて再度結合し、酵素を失活させる（図 2 の 7）。

図 2 - ビガバトリンによる GABA-T 阻害の作用機序



（出典：[Module 4.3-48, Scheme 1]）

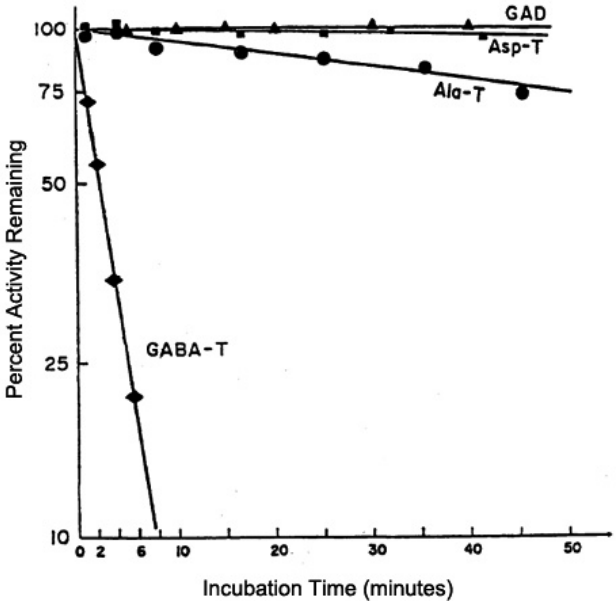
2.1.1 *In vitro* におけるビガバトリンの GABA-T 阻害作用

参考資料 [Module 4.2.1.1-1]

ビガバトリンの GABA-T に対する阻害作用を、他のアミノ酸アミノ基転移酵素（AST 及び ALT）、オルニチンアミノ基転移酵素（OAT）及び GABA 生成酵素のグルタミン酸脱炭酸酵素（GAD）に対する作用と比較した。GABA-T、AST、ALT 及び GAD はラット脳から部分精製した。Pseudomonas fluorescens の GABA-T は Sigma より購入した。OAT はラットの肝臓あるいは脳から精製した酵素又はホモジネートを用いた。

ビガバトリンはラット脳の GABA-T 活性を反応時間に相関して抑制した（図 3）。ビガバトリンの濃度を 0.05 mmol/L から 1 mmol/L に上げた場合、酵素活性の半減期は 11 分から 1 分となった。ビガバトリンで抑制されたラット脳の GABA-T を、ピリドキサルリン酸（0.1 mmol/L）及び 2-ケトグルタール酸（0.1 mmol/L）を含む pH 5～9 の緩衝液で 4 日間透析しても、GABA-T 活性は 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 及び AST 活性はビガバトリン 10 mmol/L を 40 分間以上作用させても影響を受けなかった。ALT はビガバトリンの 10 mmol/L によってわずかに抑制されたが、その反応速度は GABA-T に対するものより約 1000 倍遅かった。OAT に対しては 10 mmol/L で酵素活性及びオルニチンからグルタミン酸の生成に影響を及ぼさなかった。Pseudomonas fluorescens から精製された GABA-T 活性に対しては 1～10 mmol/L の濃度で影響がなく、ビガバトリンは哺乳動物の GABA-T に対して選択性が高いことが示された。

図 3 - ラット脳 GABA-T、GAD、AST 及び ALT 活性に対するビガバトリンの作用



（出典：[Module 4.2.1.1-1、Fig.1]）
ビガバトリンを GAD、AST 及び ALT に対しては 10 mmol/L、GABA-T に対しては 0.5 mmol/L を反応系に加え、経時的に残存酵素活性を測定した。

2.1.2　マウスにおけるビガバトリン単回投与での脳内 GABA 濃度、GAD、GABA-T 活性

参考資料[Module 4.3-17]

ビガバトリン投与による脳内 GABA-T 活性、GAD 活性及び GABA 濃度の変化を検討した。

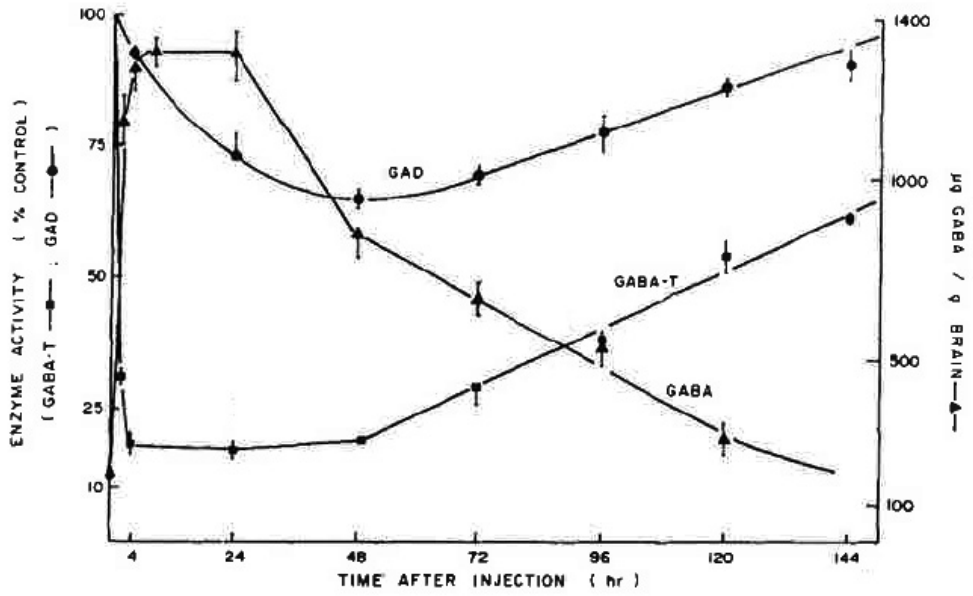
試験には CD-1 系雄マウス（n=3～5/群）を用いた。ビガバトリンの用量相関効果は 100、200、400、800、1600 及び 3200 mg/kg を腹腔内投与し、8 時間後に脳を摘出した。ビガバトリンのタイムコース試験では 1500 mg/kg を腹腔内投与し、投与 144 時間後までの脳内 GABA-T 活性、GAD 活性及び GABA 濃度を測定した。投与経路の影響は 1500 mg/kg を静脈内、腹腔内、筋肉内、皮下及び経口投与し、投与 4 時間後に脳を摘出して評価した。

ビガバトリンは投与 8 時間後において、GABA-T 活性を用量依存的に低下させ、100 mg/kg においても対照群（n=51）の 55%に低下させた。GABA 濃度も用量依存的に増加した。GAD 活性に対する作用は弱く、3200 mg/kg においても 16%の低下であった。

ビガバトリンのタイムコース試験では、1500 mg/kg 単回腹腔内投与により、脳内 GABA-T 活性は急速に低下し、投与後 3～4 時間以内に対照群（n=20）の約 20%に低下した（図 4）。この低下は少なくとも 48 時間持続し、その後ゆるやかに回復した。GABA-T 活性の回復速度から、脳内 GABA-T の半減期は約 3.5 日と考えられた。脳内 GABA 濃度はビガバトリン投与後急速に増加し、投与後 3～4 時間で最大となり、対照の 5～6 倍になった。この GABA 濃度の増加レベルは 24 時間持続し、その後ゆる

やかに減少したが、投与 4 日後においても、対照群の 2 倍以上であった。GAD 活性はビガバトリン投与後徐々に低下し、48 時間後には最小値（対照群の 65%）に達し、96 時間後より徐々に回復した。

図 4 - マウスにおけるビガバトリン単回腹腔内投与後の脳内 GABA-T 活性、GAD 活性及び GABA 濃度の推移



（出典：[Module 4.3-17、Fig.2]）
マウスにビガバトリン 1500 mg/kg を腹腔内投与し、経時的に脳内 GABA-T 活性、GAD 活性及び GABA 濃度を測定した。酵素活性はコントロール活性（プールした 20 例の平均）に対する百分率を示す（平均 ± 標準誤差[S.E.M.]、n=5）。コントロールの GABA-T 活性は 77.0 ± 0.8 µmol/g/h、GAD 活性は 45.1 ± 0.6 µmol/g/h。

ビガバトリンは、静脈内、腹腔内、筋肉内、皮下及び経口のいずれの投与経路においても、マウスの脳内 GABA-T 活性を抑制し、脳内 GABA 濃度を増加させた（表 2）。

表 2 - マウスにおける脳内 GABA-T 活性、GAD 活性及び GABA 濃度に対するビガバトリンの投与経路の影響

投与経路	GABA-T 活性 （% of control）	GAD 活性 （% of control）	GABA 濃度 （µg/g brain）
静脈内	16.9 ± 1.0	89.0 ± 3.3	1705 ± 37
腹腔内	20.0 ± 2.0	95.0 ± 2.0	1602 ± 76
筋肉内	15.0 ± 1.0	89.0 ± 5.4	1565 ± 52
皮下	21.5 ± 1.6	88.5 ± 2.0	1880 ± 65
経口	28.1 ± 0.3	96.0 ± 1.5	1175 ± 33

（出典：[Module 4.3-17、Table 1]）
ビガバトリン 1500 mg/kg を単回投与し、4 時間後に脳を摘出した。
GABA-T 及び GAD 活性はコントロールに対する百分率の平均 ± S.E.M.（n=5/群）。コントロール（n=25）の GABA-T 活性は 83 ± 0.6 µmol/g/h、GAD 活性は 43.5 ± 0.6 µmol/g/h、GABA 濃度は 211 ± 5 µg/g brain。

2.1.3 マウスにおけるビガバトリン反復投与での脳内 GABA-T 活性及び GABA 濃度（用量反応）

参考資料[Module 4.2.1.1-2]

CD-1 系雄マウス（n=10～15/群）にビガバトリンの 10、25、50、100、200、300、400、500、600、750、1000 及び 1250 mg/kg を 1 日 1 回 10 日間反復腹腔内投与し、最終投与 24 時間後に脳を摘出し GABA-T 活性、GAD 活性及び GABA 濃度を測定した。

ビガバトリンは 10 mg/kg/日以上で脳内 GABA-T 活性を低下させ、400 mg/kg/日以上で最大効果を示した。GAD 活性にも程度は小さいが、400 mg/kg/日以上で最大となる低下が見られた。脳内 GABA 濃度は 100 mg/kg/日以上の用量で急激に増加した。1000 mg/kg/日では 10 例中 2 例、1250 mg/kg/日では 10 例中 7 例が死亡した。

2.1.4 マウスにおけるビガバトリン反復投与での脳内 GABA-T 活性及び GABA 濃度（投与期間）

参考資料[Module 4.2.1.1-3]

Swiss Albino CD 系マウス（n=5/群）にビガバトリン 100 及び 500 mg/kg を 1、2、4、6、8、10 又は 12 日間反復腹腔内投与し、それぞれ投与 24 時間後に脳を摘出し、GABA-T 活性、GAD 活性及び GABA 濃度を測定した。

脳内 GABA-T 活性はビガバトリン 4 日間投与以降に定常状態となり、100 及び 500 mg/kg/日でそれぞれ対照群の 42%及び 20%に低下した。脳内 GABA 濃度は GABA-T 活性の低下と相関しており、ビガバトリン 4 日間投与以降にほぼ定常状態となり、100 mg/kg/日で対照群の 2 倍、500 mg/kg/日で 4 倍に達した。GAD 活性は 100 及び 500 mg/kg/日で、それぞれ対照群の 72%及び 60%に低下した。

2.1.5 ラットにおけるビガバトリン単回投与での脳各部位の GABA 濃度、GABA-T 活性及び GAD 活性

参考資料[Module 4.2.1.1-1]

ビガバトリンの脳各部位に対する作用を検討した。

ラットにビガバトリン 1500 mg/kg を単回腹腔内投与し、投与 6 時間後に脳を摘出し、脳を 10 部位に分けて GABA 濃度、GABA-T 活性及び GAD 活性を測定した（n=5/群）。

GABA 濃度の増加には脳の部位により違いが認められ、延髄では対照群の 242%、海馬では対照群の 825%であった。GABA-T 活性は検討したすべての脳部位で低下した。GAD 活性は嗅結節で残存活性が最も低かった（対照群の 56%）（表 3）。

表 3 - ラットにおける脳各部位の GABA-T 活性、GAD 活性及び GABA 濃度に対するビガバトリンの作用

部位	GABA 濃度 (g/mg protein)			GABA-T 活性 (nmol/mg/hr)			GAD 活性 (nmol/mg protein/hr)		
	対照群	投与群	%	対照群	投与群	%	対照群	投与群	%
延髄	3.57 ± 1.05	8.60 ± 1.60	242	627 ± 103	112 ± 25	18	200 ± 11	218 ± 6	110
小脳	2.17 ± 0.19	9.10 ± 1.70	420	675 ± 109	160 ± 23	24	221 ± 72	180 ± 30	81
黒質	5.20 ± 0.63	21.64 ± 1.73	416	600 ± 94	223 ± 55	37	1210 ± 243	1139 ± 352	94
腹側内側域	3.40 ± 0.30	22.8 ± 4.3	670	903 ± 206	254 ± 25	28	455 ± 110	447 ± 59	98
海馬	1.55 ± 0.16	12.8 ± 1.6	825	416 ± 48	167 ± 34	40	364 ± 21	296 ± 16	81
線条体	3.19 ± 0.47	13.55 ± 1.85	410	-	-	-	-	-	-
前頭皮質	2.02 ± 0.22	9.77 ± 1.61	485	375 ± 49	119 ± 26	32	372 ± 48	292 ± 26	78
嗅結節	4.23 ± 0.30	12.40 ± 2.96	294	846 ± 112	179 ± 63	21	849 ± 65	477 ± 68	56
側坐核	5.0 ± 0.5	19.5 ± 3.9	390	787 ± 76	189 ± 25	24	530 ± 36	355 ± 60	67
視床下部	4.46 ± 0.22	15.14 ± 2.50	340	744 ± 94	107 ± 18	19	773 ± 78	538 ± 72	69

（出典：[Module 4.2.1.1-1、Table 2.2]）
各値は平均 ± 標準偏差、%は対照群に対する投与群の百分率を示す（n=5/群）。

2.1.6 ビガバトリンの神経末端を含む黒質画分及び神経末端を含まない黒質画分の GABA 濃度に及ぼす影響

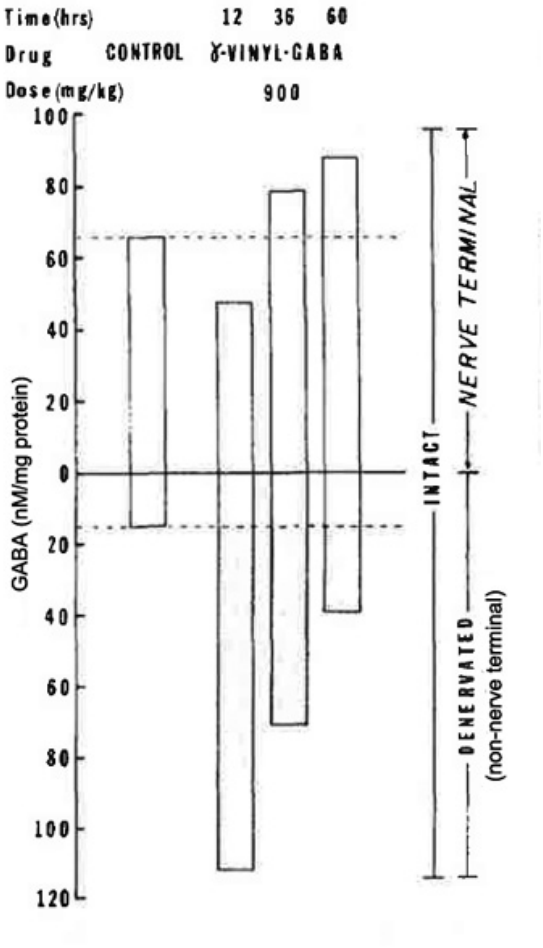
参考資料[Module 4.3-13]

ビガバトリン投与後の神経末端を含む黒質及び神経末端を含まない黒質の GABA 濃度の推移と抗痙攣作用との関連性を検討した。

脳の片側の黒質後部を切断した Sprague-Dawley（SD）系雄ラット（n ≥ 6/群）に蒸留水（媒体）又はビガバトリン 900 mg/kg を腹腔内投与し、12～60 時間後に黒質を採取し、GABA 濃度を測定した。神経末端部の GABA 濃度は正常側黒質の GABA 濃度から除神経側黒質の GABA 濃度を差し引いて求めた。最大電撃痙攣発作モデルでは、SD 系雄ラットの角膜に電撃（60 Hz、150 mA、0.2 秒）を与え、後肢の強直性伸展痙攣の持続時間を測定した。

ビガバトリン投与後、神経末端部を含めない黒質の GABA 濃度は 12 時間後に増加し、その後は減少した。一方、神経末端部の GABA 濃度は投与 36 時間後に増加し、60 時間後には更に増加した（図 5）。最大電撃痙攣モデルでは、ビガバトリン投与 12 時間後では影響が見られなかったが、36 時間及び 60 時間後では痙攣持続時間をそれぞれ 28%及び 45%減少させた。このことより、最大電撃痙攣発作抑制作用は神経末端の GABA 濃度に相関していることが示された。

図 5 -ラットの黒質神経末端部及び神経末端を含めない黒質の GABA 濃度に対するビガバトリンの作用



（出典：[Module 4.3-13、Fig.1]を改変）
ビガバトリンは 900 mg/kg を単回腹腔内投与した。
NERVE TERMINAL：神経末端の GABA 濃度
DENERVTED：神経末端を含まない黒質の GABA 濃度
神経末端の GABA 濃度は正常黒質側の GABA 濃度から除神経側黒質の GABA 濃度を差し引いて求めた。
（n ≥ 6/群）

2.2　ラットにおけるビガバトリンの脳内及び脳脊髄液中 GABA 濃度に対する作用

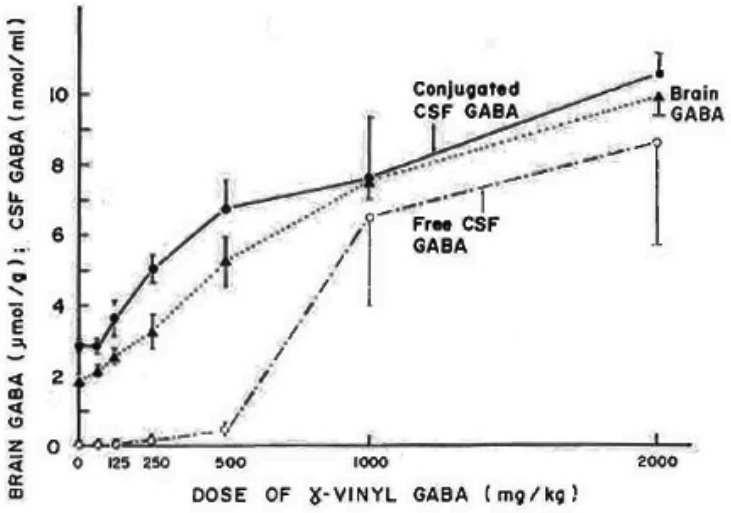
参考資料[Module 4.3-3]

ビガバトリン投与後の脳内 GABA 濃度が脳脊髄液 GABA 濃度に反映するかを検討した。

SD 系雄ラットの硬膜内にハミルトン針を挿入し脳脊髄液及び血液を採取した後、脳を摘出した。ビガバトリン（62.5～2000 mg/kg）は腹腔内投与した（n≥5）。結合型 GABA 濃度は全 GABA 濃度から遊離型 GABA 濃度を差し引いた。

脳脊髄液中の遊離型及び結合型 GABA 濃度はビガバトリンの用量に依存して増加した（図 6）。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。

図 6 - ラットにおける脳内 GABA 濃度及び脳脊髄液中 GABA 濃度 に対するビガバトリンの作用



（出典：[Module 4.3-3、Fig.2]）

ビガバトリン腹腔内投与 18 時間後に脳内 GABA 濃度及び脳脊髄液中の遊離型 GABA 濃度及び結合型 GABA 濃度を測定した。各値は平均 ± S.E.M.（n ≥5）。

2.3　GABA の取込み及び遊離に対する作用

2.3.1　ビガバトリンのシナプトソームにおける GABA の取込み及び遊離に対する作用

参考資料[Module 4.2.1.1-4]

シナプトソームでのビガバトリンの GABA の取込み及び遊離に対する作用を検討した。

GABA 遊離試験：*In vitro* 試験では SD 系雌ラットの大脳皮質シナプトソームを調製した。シナプトソームを 10 μmol/L [U-^{14}C]-GABA と 20 分間インキュベートした後、Ca^{2+}あるいはベラパミル（100 μmol/L）を含むリン酸緩衝液に再懸濁して 30 分間インキュベートし、ビガバトリン（0.25～5 mmol/L）又はテトロドトキシン（TTX; 1.0 μmol/L）の存在下又は非存在下に 10 分間インキュベートした。*In vivo* 試験では、ラットに生理食塩液又はビガバトリン 1000 mg/kg を腹腔内投与し、14 時間後

に大脳皮質シナプトソームを調製した。シナプトソーム懸濁液を TTX（1 µmol/L）又はベラパミル（75 µmol/L）と 10 分間インキュベートした後、アミノ酸（アスパラギン酸、スレオニン、セリン、グルタミン、グルタミン酸、グリシン、アラニン、GABA）を測定した。

ビガバトリンはラット大脳皮質シナプトソームから、前負荷した[U-^{14}C]-GABA を濃度依存的に遊離させ、250 µmol/L で 22%、1 mmol/L で 57%、5 mmol/L で 96%遊離させた。ビガバトリンのこの遊離作用は TTX 及びベラパミルにより抑制された。ビガバトリン 1000 mg/kg を腹腔内投与し、14 時間後に調製した大脳皮質シナプトソームでは GABA の含量が 3～4 倍増加し、遊離量も増加した。他のアミノ酸には変化がなかった。

GABA の取込み試験：シナプトソーム懸濁液をビガバトリン又は TTX（1 µmol/L）の存在下又は非存在下で 5 分間インキュベートした後、[U-^{14}C]-GABA（終濃度 1 µmol/L）を添加し、更に 2 又は 5 分間インキュベートした。

ビガバトリンは 5 mmol/L で[U-^{14}C]-GABA の取込みを 52%阻害した。TTX はこのビガバトリンの GABA 取込み阻害作用を抑制した。

ビガバトリンは GABA-T 阻害作用に加え、シナプトソームへの GABA 取込み阻害及び GABA 遊離作用を有し、これらの作用に TTX 感受性の Na^+チャネル及びベラパミル感受性の Ca^{2+}受容体あるいはチャネルの関与が示唆された。

2.3.2 ビガバトリンの GABA 代謝、脳シナプス膜への結合及びミトコンドリアへの GABA 取込みに対する作用

参考資料[Module 4.3-22]

ビガバトリンの GABA-T 活性、GAD 活性、脳シナプス膜への結合及びミトコンドリア画分の GABA 取込みに対する作用を検討した。NMRI 系雄マウス（n=3～5）の脳ホモジネートを用い、GABA-T 活性及び GAD 活性を蛍光法で測定した。

ビガバトリンは GABA-T 活性を阻害し、50%阻害濃度（IC_{50}）は 350 µmol/L であった。GAD 活性に対しては 8 mmol/L までの濃度で影響がなかった。

Wistar 系雌ラット（n=3～5）の脳シナプス膜で[^{3}H]GABA 結合、更に、脳ミトコンドリア画分での GABA 取込みに対する作用を検討した。ビガバトリンは GABA の取込みを抑制し、IC_{50} は 110 µmol/L であった。GABA 受容体に対しては弱い結合阻害を示し、IC_{50} は 4.1 mmol/L であった。

2.4 ビガバトリンのてんかん動物モデルにおける作用

2.4.1 幼若ラットにおける攣縮モデル

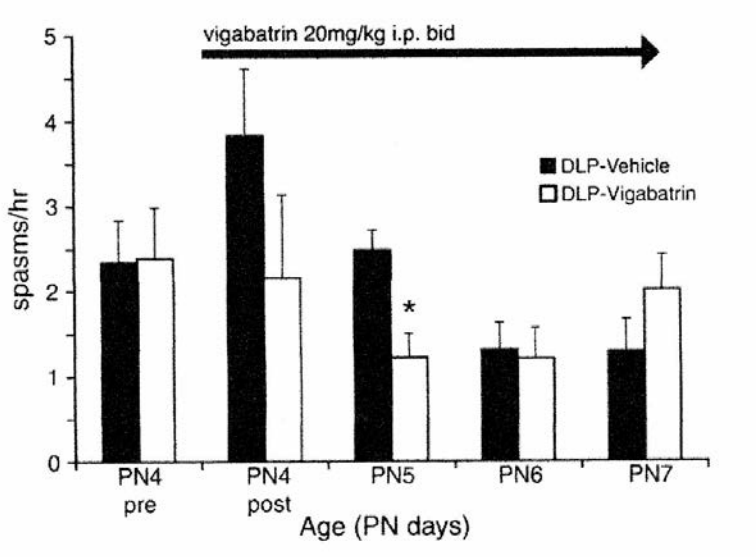
参考資料[Module 4.3-32]

幼若ラットにおける攣縮モデルで、点頭てんかんに用いられる ACTH とビガバトリンの作用を検討した。

SD 系雄幼若ラット（n=6～9/群）を用いた。出産日を生後 0 日とし生後 20 日まで観察した。生後 3 日に DOX（5 µg/2.5 µL）を右側脳室、LPS（3 µg/1.5 µL）を頭頂葉皮質に注入した。生後 5 日にセロトニンの生成を阻害する PCPA（200 mg/kg）を腹腔内投与した。行動は 1 日 2 回 2 時間、攣縮及びその他の発作を観察した。更に、脳波を左内嗅皮質及び筋電図を僧帽筋から記録した。Cosyntropin（$ACTH_{1-24}$）は 0.0125 mg/kg/日を生後 4～13 日に腹腔内投与した（n=8）。ビガバトリンは 20 mg/kg/日を生後 4～11 日に 1 日 2 回腹腔内投与した（n=6）。

攣縮は生後 4 日をピークとし、生後 4～13 日に発生した。強直性痙攣、ミオクローヌスなどの他の発作は生後 9～20 日に認められた。Cosyntropin には攣縮に対する抑制作用は認められなかったが、ビガバトリンは生後 5 日において攣縮を有意に抑制した（図 7）。しかし、鎮静作用が見られ、生後 8 日までに 50%、生後 11 日までに 100%死亡した。

図 7 - 幼若ラットにおける DLP 誘発攣縮に対するビガバトリンの作用



（出典：[Module 4.3-32、Fig. 7]）
生後 3 日目のラットに DOX（5 µg）を右側脳室、LPS（3 µg）を頭頂葉皮質に注入し、5 日目に PCPA（200 mg/kg）を腹腔内投与した（DLP: DOX/LPS/PCPA）。PN：生後 XX 日。
ビガバトリンは 20 mg/kg/日（1 日 2 回）を生後 4～11 日に腹腔内投与した（ビガバトリン n=6、媒体 n=9）。*P=0.0058

2.4.2 幼若ラットにおける NMDA 誘発発作モデル

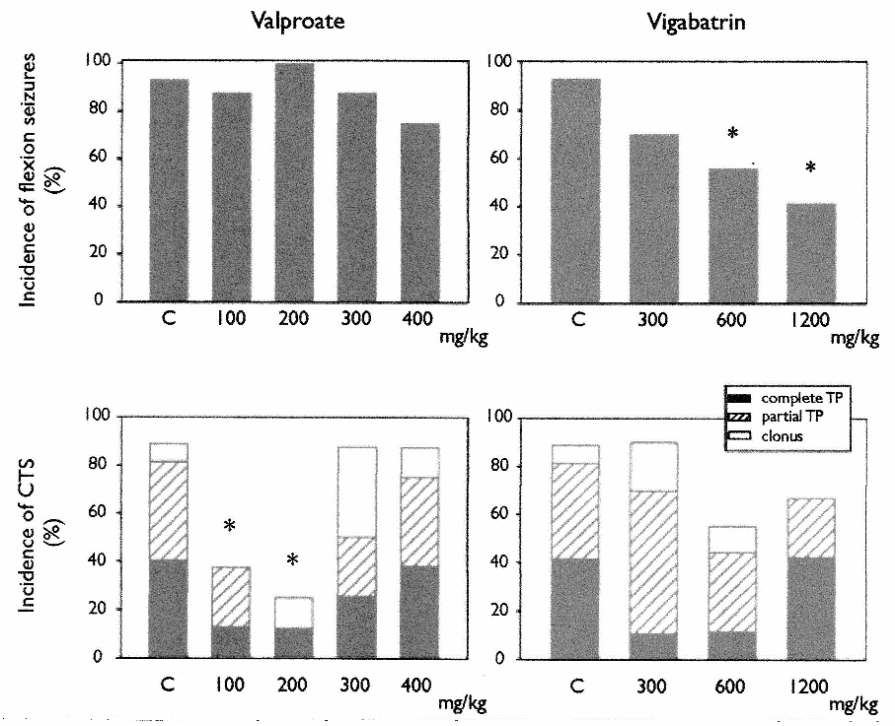
参考資料[Module 4.3-18]

幼若ラットを用いた NMDA 誘発発作モデルで、ビガバトリンの作用を抗てんかん薬の valproate と比較した。

12 日齢の Wistar 系ラットに、NMDA 60 mg/kg を単回腹腔内投与した。ビガバトリンは 300、600 及び 1200 mg/kg を NMDA 投与 24 時間前に単回腹腔内投与し、valproate は 100、200、300 及び 400 mg/kg を NMDA 投与 15 分前に単回腹腔内投与した（n ≥ 8）。対照群には生理食塩液を腹腔内投与した。評価は屈曲発作及び間代性ー強直性発作（CTS）の発現により行った。

NMDA 投与ラットの対照群（生理食塩液）では屈曲発作が 25/27 例（92.6%）に認められたが、ビガバトリンの 600 及び 1200 mg/kg 投与ではそれぞれ 55.6%及び 41.7%の発症率に減少した（図 8）。一方、valproate には効果が見られなかった。CTS は NMDA 投与ラットの対照群（生理食塩液）では 24/27 例（89%）に認められた。ビガバトリンは高用量で CTS に対し抑制傾向を示した。Valproate は 100 及び 200 mg/kg で CTS を抑制したが、高用量では効果が見られなかった。

図 8 - 12 日齢ラットにおける NMDA 誘発屈曲痙攣及び CTS に対するビガバトリン及び valproate の作用



（出典：[Module 4.3-18、Fig. 1]）
CTS は強直相の存在で細分化した。黒：完全強直。斜線：強直部位が限定、白：強直なし。*: p<0.05（NMDA 単独との比較）

2.4.3　DBA/2 系マウスにおける聴原発作モデル

参考資料[Module 4.2.1.1-1]

参考資料[Module 4.3-33]

遺伝的に音に敏感な DBA/2 系マウスの聴原発作に対するビガバトリンの作用を検討した。聴原発作試験には 15～23 日齢の DBA/2 系雌雄マウス（n=10～13/群）を用い、生化学的試験には CD-1 系雄マ

ウスを用いた。ビガバトリンは単回、24 時間毎 3 回又は 12 時間毎 5 回腹腔内投与し、最終投与 4 時間後、20 KHz、101 db の強さの音を 30 秒間発生させて聴原発作を惹起した。発作の程度を 0：発作なし、1：Wild running（ミオクローヌスを伴わない、目的のない急激な協調運動）、2：軽度の間代性発作、3：中間的間代性発作、4：強い間代性発作、6：強直性発作、8：死亡とし、これらのポイントを合計した。

ビガバトリンは DBA/2 系マウスの聴原発作に対して時間及び用量に依存した抑制効果を示した。単回腹腔内投与後 4 時間における発作頻度及び発作強度減弱の ED_{50}（50%有効用量）はそれぞれ 990 及び 540 mg/kg であった。発作頻度及び強度に対する作用はビガバトリンの反復投与によって著しく増強され、24 時間間隔で 3 回腹腔内投与した時の ED_{50} はそれぞれ 280 及び 146 mg/kg/日、12 時間間隔で 5 回腹腔内投与した時は、それぞれ 36 及び 30 mg/kg/日であった（表 4）。ビガバトリンの 1500 mg/kg を投与した場合、投与 4 時間後にほぼ完全に発作が抑制され、72 時間後においても 56%の抑制が見られた。この発作抑制の持続時間は脳内 GABA 濃度の増加と対応しており、脳内 GABA 濃度と聴原性発作頻度の抑制及び発作強度の減弱との間で有意な相関性が認められた（図 9）。この結果より、ビガバトリンによって脳内 GABA 濃度が対照群の 264%に増加した時、発作強度は 50%減弱され、324%に増加した時、発作頻度は 50%抑制されることが示された。

表 4 - DBA/2 マウスの聴原発作に対するビガバトリンの作用

投与回数	ED_{50} (mg/kg, i.p.)［95%信頼限界］[a]	
	発作完全抑制	発作強度減弱
単回投与 [b]	990［750－1307］	540［367－794］
連日投与×3 回 [c]	280［197－ 398］	146［100－213］
12 時間毎投与×5 回 [d]	36［ 19－ 68］	30［ 17－ 53］

（出典：[Module 4.3-33、Table 1]を改変）

ビガバトリンを腹腔内投与し、最終投与 4 時間後に音刺激による発作を惹起した。

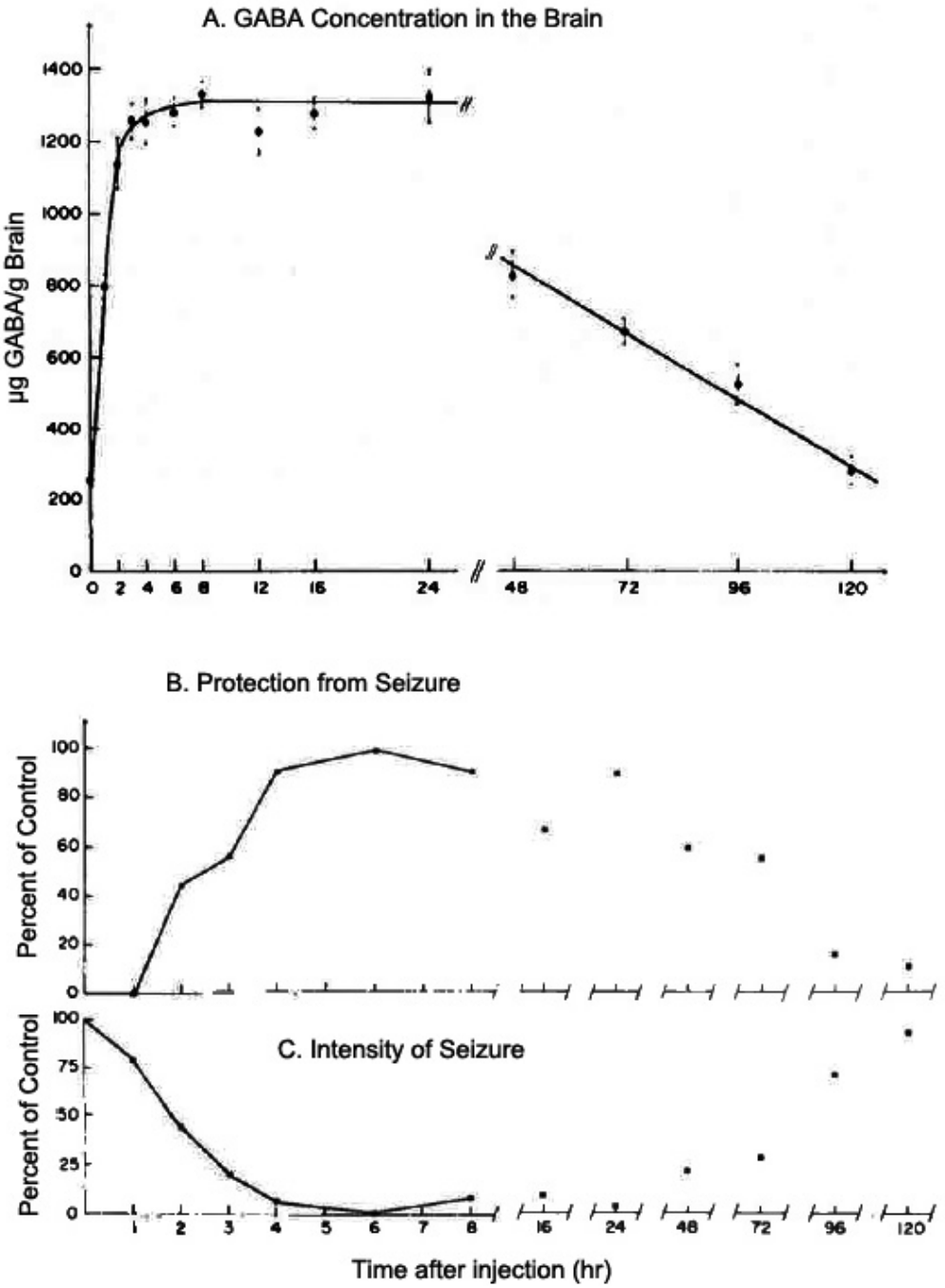
a 4～9 ポイント（10～13 マウス/ポイント）を用いて、Litchfield and Wilcoxon 法で算出した。

b コントロールの発作頻度=100%、発作強度=61（n=20）

c コントロールの発作頻度=93%、発作強度=61（n=15）

d コントロールの発作頻度=95%、発作強度=68（n=20）

図 9 - CD-1 マウス脳内 GABA 濃度及び DBA/2 マウスの聴原発作に対するビガバトリンの作用



（出典：[Module 4.3-33、Fig.1]と[Module 4.3-33、Fig.4]から作成）

A：ビガバトリン 1500 mg/kg を CD-1 マウスに腹腔内投与し、各時間後の脳内 GABA 濃度を示す（n=6）。対照群の GABA 濃度は 258.6 ± 10.5 µg/g（平均 ± S.E.M. 、n=24）。

B：ビガバトリン 1500 mg/kg を DBA/2 マウスに腹腔内投与し、各時間後の対照群に対する完全発作抑制%を示す。対照群の発作頻度=93.6 ± 1.5%（平均 ± S.E.M. ）。

C：ビガバトリン 1500 mg/kg を DBA/2 マウスに腹腔内投与し、各時間後の対照群に対する発作強度%を示す。対照群の発作強度=57.2 ± 3.0（平均 ± S.E.M. ）。

2.4.4 薬物誘発痙攣モデル

[Module 4.2.1.1-5]

中枢興奮性を有する PTZ、GABA 合成酵素阻害剤の MPA 及び $GABA_A$ 受容体阻害薬の PTX で誘発される痙攣に対する作用を検討した。

6 週齢の CD-1 系雄マウス（n=10/群）に蒸留水（媒体）又はビガバトリン 500、1000 及び 1500 mg/kg を経口投与した。投与 4 時間後に痙攣誘発剤の PTZ（100 mg/kg）、MPA（40 mg/kg）又は PTX（4.0 mg/kg）を腹腔内投与し、下記の定義に基づき、攣縮、間代性痙攣、強直性痙攣及び死亡の有無を PTZ 及び MPA 投与後 30 分間、PTX 投与後 45 分間観察した。

攣縮：前肢を突っ張って、顔面から胸部及び前肢にかけての瞬間的な震え

間代性痙攣：前肢、後肢あるいは両方を激しく動かす状態

強直性痙攣：体躯、前肢及び後肢をともに伸展した状態

死亡：体躯及び四肢に認められる緊張が解け、耳介が開き、呼吸が停止した状態

ビガバトリンの薬物誘発痙攣に対する作用を表 5に示した。

PTZ 誘発痙攣では、対照群のほとんどの動物で攣縮、間代性痙攣及び強直性痙攣が観察され、10 例中 7 例が死亡した。ビガバトリンは強直性痙攣の発現を減少させたが、他の観察項目には変化を与えなかった。MPA 誘発痙攣では、ビガバトリンは攣縮の発現には影響を及ぼさなかったが、間代性痙攣の発現を減少させた。PTX 誘発痙攣では、ビガバトリンは攣縮及び間代性痙攣の発現を抑制した。なお、この試験では対照群に強直性痙攣及び死亡は認められなかった。

表 5 - 薬物誘発痙攣に対するビガバトリンの作用

		PTZ 誘発痙攣				MPA 誘発痙攣				PTX 誘発痙攣	
	mg/kg, po	攣縮	間代	強直	死亡	攣縮	間代	強直	死亡	攣縮	間代
ビガバトリン	control	9/10	10/10	8/10	7/10	3/10	9/10	0/10	0/10	10/10	7/10
	500	10/10	10/10	7/10	7/10	0/10	3/10	3/10	0/10	2/10	0/10
	1000	10/10	9/10	2/10	2/10	0/10	1/10	1/10	1/10	0/10	0/10
	1500	10/10	9/10	5/10	5/10	1/10	2/10	2/10	2/10	0/10	0/10

（出典：[Module 4.2.1.1-5、Table 1]を改変）

各値は発現例数/使用動物数を示す。

2.4.5 電撃痙攣発作モデル

参考資料[Module 4.2.1.1-1]

1）マウスにおける最大電撃痙攣発作

Swiss Albino マウス（n=10/群）にビガバトリン 160、320 及び 640 mg/kg を単回経口投与し、4 時間後に耳介に最大電撃刺激を与え、間代性及び強直性痙攣の持続時間、回復時間及び死亡率を評価した。

ビガバトリンの 160～640 mg/kg 単回経口投与は、マウスでの最大電撃痙攣発作を抑制しなかった。

2）マウスにおける電撃痙攣発作閾値

CD-1 系雄マウス（n=9～10/群）にビガバトリン 1500 mg/kg を単回腹腔内投与し、4 時間後に刺激の強さを 30～50 mA に変化させながら、0.4 msec 50 Hz の電気ショックを 0.3 秒間耳介に与え、強直性痙攣が誘発される閾値を測定した。

30 mA の電気ショックで、対照群では 50%に痙攣が見られたが、ビガバトリン投与では 10%の発現率であった。50%のマウスに痙攣を誘発する電流は対照群が 29.5 mA であったのに対し、ビガバトリン投与では 40 mA となり、発作閾値の上昇が見られた（表 6）。

表 6 - マウスにおける電撃痙攣発作閾値に対するビガバトリンの作用

mA	% of convulsions（発作例数/使用動物数）	
	対照	ビガバトリン
30	50（5/10）	10（1/10）
40	90（9/10）	40（4/10）
45	90（9/10）	88.9（8/9）
50	90（9/10）	90（9/10）
ETC_{50}	29.5 mA	40 mA
（95%信頼限界）	（24.0 – 36.3）	(36.0 – 44.4)

（出典：[Module 4.2.1.1-1、Table 3.3]を改変）（n=9～10）

2.4.6 高圧酸素誘発痙攣発作モデル

参考資料[Module 4.2.1.1-1]

Swiss Albino 雄マウス（n=10～20/群）を 18 時間絶食し、ビガバトリン 800 mg/kg を単回筋肉内投与した。投与 4 時間後又は 24 時間後にマウスをチャンバー内に入れ、空気圧を 5.44 気圧まで上昇させ、全身痙攣発作出現までの時間を測定した。

ビガバトリンは投与 4 時間後に痙攣発作を 90%抑制した（表 7）。この作用は 24 時間後には消失した。

表 7 - マウスにおける高圧酸素下（5.44 気圧）での痙攣発作に対するビガバトリンの作用

処置	痙攣発作例数	発作発現潜時時間（分）
コントロール	20/20	20.7 ± 1.4
ビガバトリン（800 mg/kg i.m.；4 時間）	1/10	—
ビガバトリン（800 mg/kg i.m.；24 時間）	10/10	17.1 ± 1.8

（出典：[Module 4.2.1.1-1、Table 3.11]を改変）
発作発現潜時時間は平均 ± S.E.M.

ラットにおいても、ビガバトリンは 180 mg/kg（i.p.）投与 4 時間後に高圧酸素下での脳波の放電を完全に抑制し、250 mg/kg では 24 時間後まで効果の持続することが報告されている(3)。

2.4.7　　光過敏性ヒヒのてんかん発作モデル

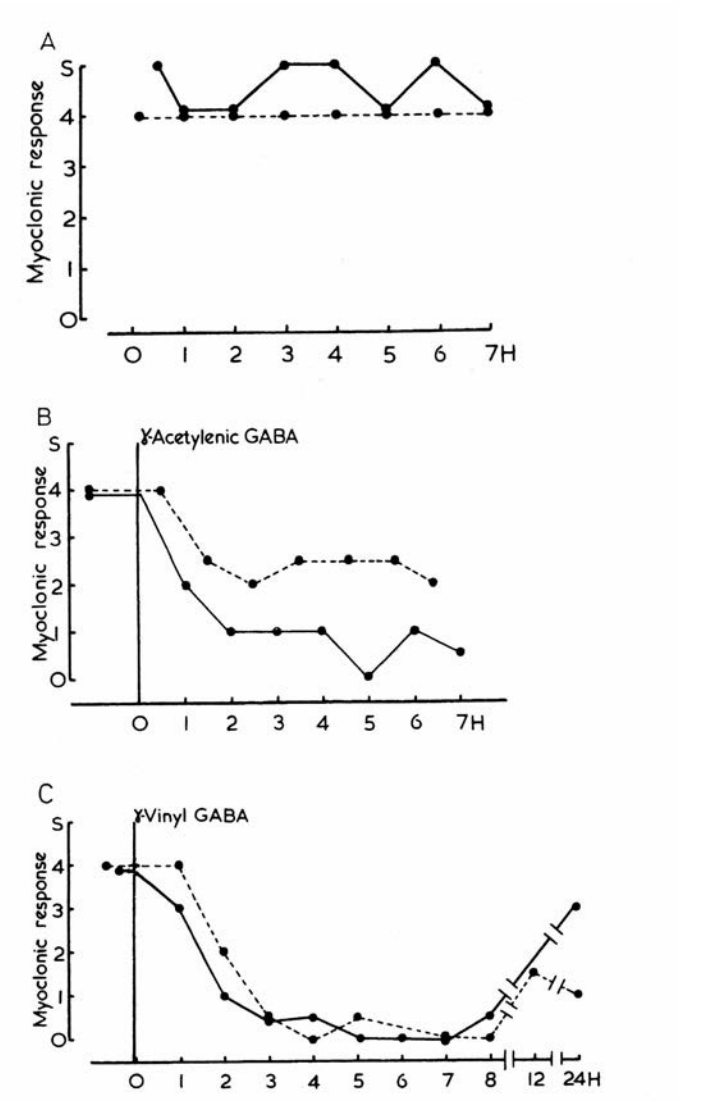
参考資料[Module 4.3-23]

セネガルの Casamance 地方に生息する光過敏性雌ヒヒ *Papio papio* を用い、抗てんかん作用を検討した。

光過敏性ヒヒに 5 分間の光刺激（最初 25 Hz 続いて 15～45 Hz）の段階的刺激を与え、ミオクローヌスを 0：痙攣なし、1：眼瞼のミオクローヌス、2：顔と首のミオクローヌス、3：体幹と四肢のミオクローヌス、4：光刺激終了後も持続するミオクローヌス、5：強直-間代発作にスコア化した。ビガバトリンは 360、450 及び 900 mg/kg を単回静脈内投与した。対照薬物として、γ-Acetylenic GABA を 100 及び 200 mg/kg の用量で単回静脈内投与した。

ビガバトリンは360～900 mg/kgの単回静脈内投与により光刺激によるヒヒのてんかん発作を抑制した。ビガバトリン 450 又は 900 mg/kg では投与 2 時間後より発作を抑制し、4～5 時間後に最大となり、24 時間後においても抑制作用が認められた（図 10）。このてんかん発作抑制作用は γ-Acetylenic GABA の 100 及び 200 mg/kg においても認められた。

図 10 - 光過敏性ヒヒにおけるミオクローヌス反応に対するビガバトリンの作用



（出典：[Module 4.3-23、Fig. 1A - C]）
A：溶媒投与（生理食塩液又は生理食塩液と酒石酸の混液）
B：γ-acetylenic GABA（点線；100 mg/kg、実線；200 mg/kg）
C：ビガバトリン（γ-vinyl GABA）（点線；450 mg/kg、実線；900 mg/kg）

2.4.8 扁桃核キンドリングモデル

参考資料[Module 4.3-35]

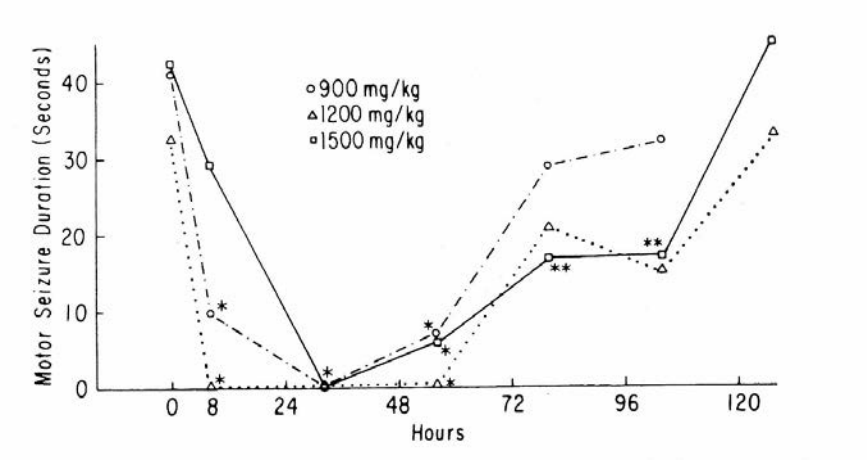
SD 系雄ラット（n=5～7/群）の扁桃核に双極性電極を麻酔下に埋め込んだ。手術回復後、電気刺激（60 Hz、1 msec の二相性矩形波刺激）を与えた。完全なキンドリング発作に対する作用を検討するため、100 µA で 1 日 2～4 回一定のキンドリングスコアに達するまで刺激を与えた。その後 7 日間刺激を中断した後、安定した全身発作閾値が得られるまで再度連日刺激を与え、ビガバトリン 900、1200

及び 1500 mg/kg を単回腹腔内投与した。投与 8 時間後及びその後連日、スコア 4 あるいは 5 の発作持続時間がベースライン値に戻るまで全身発作閾値の 10%以上の刺激を与えた。

全身発作行動は、1：顔面クローヌス、2：首ふり、3：前肢クローヌス、4：立ち上がり、5：立ち上がり及び転倒にスコア化した。

ビガバトリン（900、1200 及び 1500 mg/kg）は全身運動発作を抑制し、投与 32 時間後にはすべての用量で発作が消失し、56 時間後においても著しい抑制が認められた（図 11）。電気的発作は後発射持続時間で測定した。すべての用量で後発射持続時間を短縮し、1500 mg/kg では最も強い作用が投与 1 日後に認められた（表 8）。ビガバトリンはキンドリング形成の遅延作用も示した。

図 11 - ラット扁桃核キンドリングモデルにおける運動発作に対するビガバトリンの作用



（出典：[Module 4.3-35、Fig. 1]）
ビガバトリンは腹腔内投与した（n=5～7/群）。
*: P<0.01, **: P<0.05

表 8 - ラット扁桃核キンドリングモデルにおける後発射持続時間に対するビガバトリンの作用

	投与前	ビガバトリン投与後時間					
		8 時間	1 日	2 日	3 日	4 日	5 日
ADD	76 ± 13	83 ± 23	3 ± 2**	20 ± 18*	29 ± 20	59 ± 12	61
Fraction with ADD > 20s	6/6	5/6	0/6	1/6	2/5	3/3	1/1

（出典：[Module 4.3-35、Table 1]を改変）
ビガバトリン 1500 mg/kg を腹腔内投与した（n=6）。
ADD：後発射持続時間。Fraction with ADD>20s：発作スコアが 4 あるいは 5 に達した動物は、刺激を中断したため、例数が減少した。
*: P < 0.05, **: P < 0.01

ラット黒質へのビガバトリン 20 µg の投与によっても、扁桃核キンドリングの後発射持続時間を短縮させることが報告されている(4)。

2.4.9 自然発症てんかんラット（SER）モデル

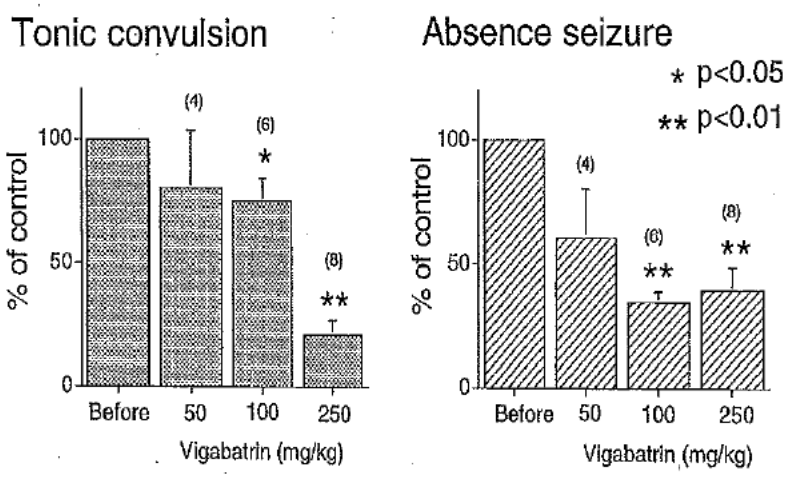
[Module 4.2.1.1-6]

12～16 週齢の SER（zi/zi, tm/tm、n=4～8）の大脳皮質と海馬に電極を埋め込み、5 分毎に息吹きかけ刺激を与え、30 分間に 4 回以上の強直性痙攣発作を起こした動物を実験に用いた。薬物投与前 30 分間の発作回数をコントロールとし、ビガバトリン 50、100 及び 250 mg/kg の単回経口投与後、15 分、1、2、3、4 及び 5 時間並びに 1、2、3、4 日後に息吹きかけ刺激による発作回数を測定した。欠神様発作については、脳波チャートより 1.5 秒以上持続する 5～7 Hz の棘徐波複合を同定し、30 分間の回数を測定した。ビガバトリン投与 4 時間後にビククリン 1 mg/kg を腹腔内投与し、5 時間後に息吹きかけ刺激による強直性痙攣発作回数を測定し、拮抗作用を検討した。更に、ビガバトリン 200 mg/kg/日を 5 日間経口投与し、投与 1 及び 6 時間後の発作回数を測定した。

ビガバトリンは、投与前に比べ 250 mg/kg で投与 2 時間後から強直性痙攣を有意に抑制し、この効果は 1 日後最大となり、約 3 日間持続した。欠神様発作に対しては、投与前に比べて 100 mg/kg で投与 2 時間後から有意に抑制したが、1 日後には作用は消失した。ビガバトリン投与 5 時間後における強直性痙攣発作及び欠神様発作に対する効果を図 12に示した。ビガバトリンの発作抑制作用はビククリンにより拮抗された。

ビガバトリン 200 mg/kg/日を 5 日間反復投与した場合、強直性痙攣発作の有意な抑制は 2 日後より認められ、最終投与 2 日後まで認められた。

図 12 - SER における強直性痙攣発作及び欠神様発作に対するビガバトリンの作用



（出典：[Module 4.2.1.1-6、図 6]）

縦軸はビガバトリン投与前 30 分間の発作回数に対するビガバトリン経口投与 5 時間後から 30 分間の発作回数の百分率を示す。括弧内は使用動物数。

2.4.10　自然発症てんかんラット（SER）での作用メカニズム

[Module 4.2.1.1-7]

発作（強直性けいれん、欠神発作）を発現している 12～17 週齢の SER の海馬スライス標本（厚さ：400 µm、n=3～6 スライス/群）を作製し、人工脳脊髄液を還流した水槽内に保持した。刺激電極を海馬歯状回の顆粒細胞層内（苔状線維）に置き、単一矩形波（0.1 msec 持続、6～10 V）を 5 秒に 1 回の頻度で与えた。海馬 CA3 野錐体細胞より 3KCl ガラス微小電極を用い細胞内電位を測定した。ビガバトリンは 0.1、1 及び 10 mmol/L を 15 分間作用させた。

苔状線維刺激により持続性の脱分極シフトとこれに伴う頻回発射を示す標本に、ビガバトリンを 15 分間作用させた場合、1 及び 10 mmol/L で用量依存的に脱分極シフトは抑制され、頻回発射も抑制された。このビガバトリンの抑制作用はビククリン（10 µmol/L）により拮抗された。

2.5　エナンチオマーの薬理活性

ビガバトリン はラセミ体であることから、R-エナンチオマー（以下 R 体）及び S-エナンチオマー（以下 S 体）の薬理活性を検討した。

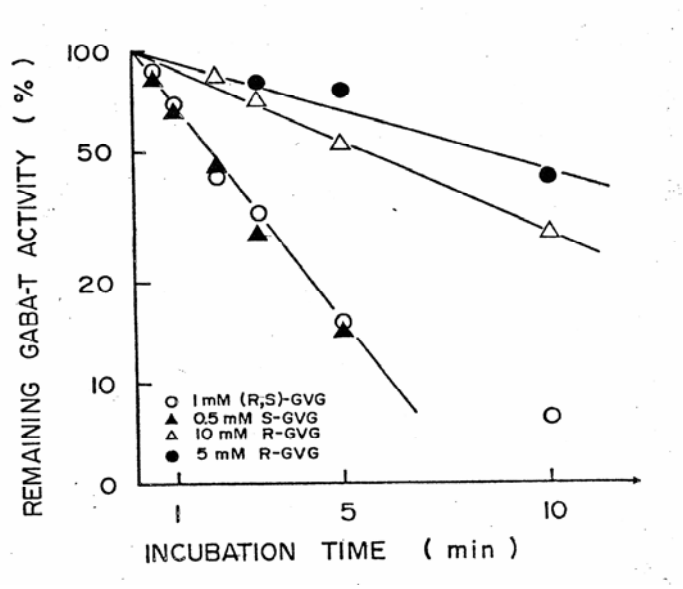
2.5.1　GABA-T 阻害活性

参考資料[Module 4.2.1.1-8]

In vitro 試験では GABA-T をブタ脳から精製し、酵素活性を測定した。*In vivo* 試験では Swiss albino マウス（n=5/群）に生理食塩水液（媒体）、ビガバトリン（ラセミ体）の 1500 mg/kg、R 体又は S 体の 750 mg/kg を腹腔内投与し、投与後 5 日間の脳内 GABA-T 活性、GAD 活性及び脳内 GABA 濃度を測定した。

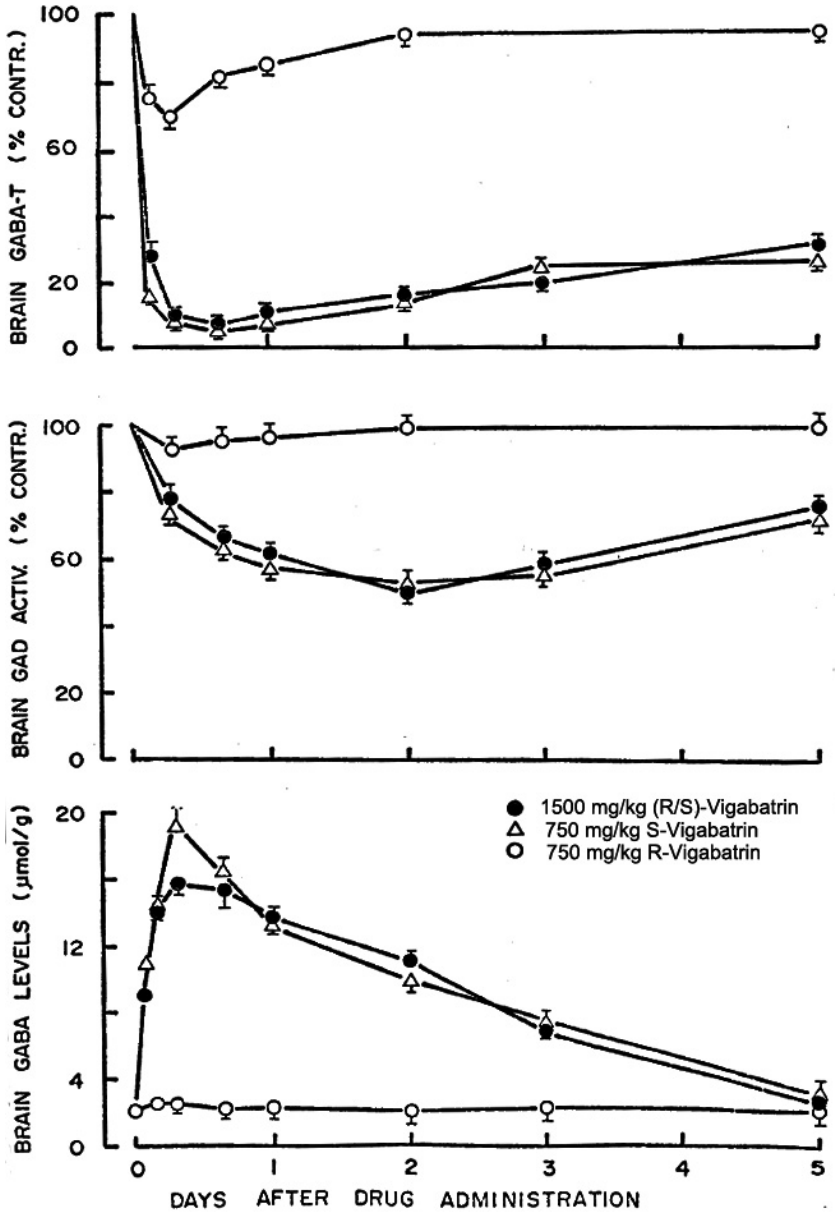
GABA-T 活性に対し、ラセミ体の 1 mmol/L と S 体の 0.5 mmol/L は同様のタイムコースで酵素活性を低下させた（図 13）。R 体は 5 及び 10 mmol/L で弱い阻害作用を示した。マウスにおいて、ビガバトリン（ラセミ体）の 1500 mg/kg と S 体の 750 mg/kg 単回腹腔内投与は、同程度に脳内 GABA-T 及び GAD 活性を低下させ、GABA 濃度を増加させた（図 14）。一方、R 体の 750 mg/kg では GABA-T 活性に一過性の弱い抑制が見られたが、GAD 活性及び GABA 濃度に対しては、殆んど影響が認められなかった。

図 13 - GABA-T 活性に対するビガバトリン（ラセミ体）及びエナンチオマーの阻害作用



（出典：[Module 4.2.1.1-8、Fig. 1]を改変。GVG: ビガバトリン）

図 14 - マウスにおけるビガバトリン（ラセミ体）及びエナンチオマー単回腹腔内投与後の脳内 GABA-T 活性、GAD 活性及び GABA 濃度の推移



（出典：[Module 4.2.1.1-8、Fig. 3]を改変）
マウスにビガバトリン及びエナンチオマーを投与し、経時的に脳内 GABA-T 活性、GAD 活性及び GABA 濃度を測定した（n=5/群）。

2.5.2 抗てんかん作用

2.5.2.1 ビククリン誘発痙攣モデル

参考資料[Module 4.2.1.1-9]

CD-1 系雌マウス（n=10～20 匹/群）にビククリン（0.55 mg/kg）を単回静脈内投与し、投与後 2 分間痙攣の有無を観察した。ビガバトリン（ラセミ体）は 100、150、200、250、300 mg/kg、S 体は 25、50、75、100、125 mg/kg、R 体は 1000 mg/kg をビククリン投与 5 時間前に腹腔内投与した。対照群には生理食塩液を腹腔内投与した。

ビガバトリン（ラセミ体）及び S 体はビククリン誘発痙攣を抑制し、ED_{50} はそれぞれ 221 mg/kg 及び 85 mg/kg であった。R 体は 1000 mg/kg で痙攣抑制作用を示さなかった。

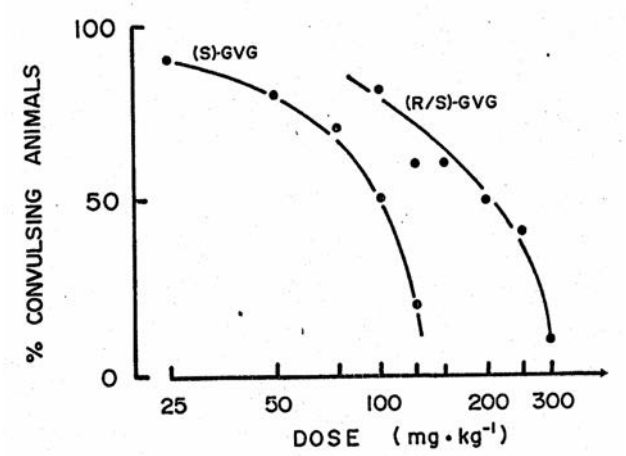
2.5.2.2 3-メルカプトプロピオン酸誘発痙攣モデル

参考資料[Module 4.2.1.1-10]

CD-1 系雄マウス（n=10/群）に生理食塩液、ビガバトリン（ラセミ体）（100、125、150、200、250 及び 300 mg/kg）又は S 体（25、50、75、100 及び 125 mg/kg）を単回腹腔内投与した。5 時間後 3-メルカプトプロピオン酸 40 mg/kg を腹腔内投与し、間代性痙攣、強直性痙攣及び死亡を 30 分間観察した。

ビガバトリン（ラセミ体）及び S 体は用量依存的に痙攣を抑制し（図 15）、ED_{50} はそれぞれ 200 及び 100 mg/kg であった。

図 15 - マウスにおける 3-メルカプトプロピオン酸誘発痙攣に対する ビガバトリン（ラセミ体）及び S 体の作用



（出典：[Module 4.2.1.1-10、Fig. 1]）

ビカバトリン及びエナンチオマーの腹腔内投与 5 時間後に MPA（40 mg/kg）を腹腔内投与し、30 分間痙攣発作を観察した（n=10/群）。

3　副次的薬理試験

3.1　抗疼痛作用

1）マウスの痛覚に及ぼす影響（圧刺激法）

参考資料[Module 4.2.1.2-1]

一般薬理試験の一環として実施した。

5 週齢の CD-1 系雄マウス（n=10/群）を約 17 時間絶食して用いた。蒸留水（媒体）又はビガバトリン 125、500 及び 2000 mg/kg を単回経口投与し、投与後 60～480 分間に 8 時点で尾根部の疼痛閾値を測定した。

ビガバトリンは 2000 mg/kg で、投与後 180～480 分に蒸留水群と比較し有意に疼痛閾値を上昇させた（表 9）。

表 9 - マウスにおける圧刺激の疼痛閾値に対するビガバトリンの影響

グループ	用量 mg/kg p.o.	疼痛閾値（mmHg）								
		投与後時間（分）								
		投与前	60	120	180	240	300	360	420	480
蒸留水		69 ± 2	65 ± 2	59 ± 3	56 ± 2	68 ± 3	61 ± 4	59 ± 2	65 ± 2	60 ± 2
ビガバトリン	125	69 ± 3	67 ± 3	64 ± 4	68*± 3	65 ± 3	66 ± 4	62 ± 2	62 ± 3	64 ± 3
	500	69 ± 3	64 ± 2	61 ± 2	67*± 3	72 ± 4	64 ± 3	75**± 4	73 ± 4	67 ± 3
	2000	69 ± 3	63 ± 4	69 ± 2	71**± 4	103**± 7	118**± 6	115**± 4	102**± 5	83**± 4

（出典：[Module 4.2.1.2-1、Table 5]）
各値は平均 ± 標準誤差（n=10/群）。
*P < 0.05, **P < 0.01（蒸留水との比較）

2）鎮痛作用

参考資料[Module 4.3-4]

マウスにおける鎮痛試験

CD-1 系雌マウス（n=10/群）に 52°C のホットプレートで熱刺激を与え、前肢を舐めるまで及び逃避するまでの時間を測定した。ビガバトリンは 1～8 時間前に腹腔内投与した。運動機能に対する検討はロータロッド試験で行った。また、ビガバトリンの S 体及び R 体についても検討した。

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し、投与後 4～6 時間で最大作用となった。ビガバトリンは運動機能には影響しなかった。ビガバトリンの S 体は 400 及び

800 mg/kg で強い鎮痛作用を示したが、R 体は作用を示さなかった。ビガバトリンは 50°C のホットプレートを用いた試験においても持続した鎮痛作用を示すことが報告されている(5)。

ラットにおける鎮痛試験

SD 系雄ラット（n=6～12/群）の尾部を 2V から 2V ずつ増加させて電気刺激を行い、後肢の動き及び発声までの閾値を測定した。ビガバトリンは刺激 6 時間前、ビククリンは 15 分前に腹腔内投与した。

ビガバトリンは 1120 及び 1600 mg/kg で発声するまでの電気刺激閾値を上昇させ、この作用はビククリンにより拮抗された。

モルヒネの鎮痛作用に及ぼす影響

マウス（n=10/群）にビガバトリンを腹腔内投与し、4.5 時間後にモルヒネを皮下投与し、30 分後に 56°C のホットプレートで鎮痛試験を行った。

ビガバトリンが鎮痛作用を示さない条件の 56°C のホットプレートで、ビガバトリンは 800 mg/kg でモルヒネの鎮痛作用を増強した。モルヒネの鎮痛作用に対するビガバトリンの増強作用は Contreras らによっても報告されている(6)。

3.2 抗不安作用

参考資料[Module 4.3-34]

CD-1 系雄マウス（n=10～14/群）に生理食塩液（媒体）又はビガバトリン 200、400 及び 800 mg/kg を単回腹腔内投与し、5 時間後強制水泳試験（6 分間強制水泳させ、最後 4 分間の不動時間を測定）を行った。ビガバトリンの 0.05%及び 0.15%を 20 日間飲水投与した際についても検討した。

生理食塩液（溶媒）と比較し、ビガバトリンは 400 及び 800 mg/kg の単回腹腔内投与で有意に不動時間を短縮させた。飲水投与した場合、投与 10 日目には不動時間の短縮が認められたが、20 日目には認められなかった。

4　安全性薬理試験（一般薬理試験）

4.1　ラットの一般症状及び行動に及ぼす影響

参考資料[Module 4.2.1.3-1]

6 週齢の SD 系雄ラット（n=5/群）を 18 時間絶食し、蒸留水（媒体）又はビガバトリン 125、250、500、1000 及び 2000 mg/kg を経口投与し、8 時間後まで Irwin 法で一般症状を観察した。生存動物は 1 週間後に安楽死させ、剖検した。

ビガバトリンの 250 及び 500 mg/kg で 1/5 例に流涙、1000 mg/kg では 3/5 例に流涙、2/5 例に流涎、2000 mg/kg では 3/5 例に流涙及び流涎が認められた。2000 mg/kg では投与前に比べ 2～6 時間に有意な体温下降、1000 及び 2000 mg/kg では呼吸数の有意な減少が認められた。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。500 mg/kg 以上で体重増加抑制が認められた。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 で胸腺の萎縮が 1 例ずつに認められたが、これらの変化に用量依存性はなかった。

4.2　中枢神経系に及ぼす影響

1）自発運動量に及ぼす影響

参考資料[Module 4.2.1.2-1]

5 週齢 CD-1 系雄マウス（n=10/群）を約 17 時間絶食し、注射用水（媒体）又はビガバトリン 31、125、500 及び 2000 mg/kg を経口投与した。運動量は投与後 45 分～480 分間に 8 回それぞれ 15 分間測定した。

ビガバトリンの 125 mg/kg 以上で自発運動量の減少が認められた。

2）ヘキソバルビタール睡眠に及ぼす影響

参考資料[Module 4.2.1.2-1]

5 週齢 CD-1 系雄マウス（n=10/群）を約 18 時間絶食し、注射用水（媒体）又はビガバトリン 125、500 及び 2000 mg/kg を経口投与した。続いて、240 分後にヘキソバルビタール 70 mg/kg を腹腔内投与して、正向反射が再出現するまでの時間（睡眠時間）を測定した。

対照群の睡眠時間が 32 ± 3.9 分であったのに対し、ビガバトリンの 500 及び 2000 mg/kg ではそれぞれ 68 ± 8.6 分及び 89 ± 7.1 分の睡眠時間となり、有意な延長が認められた。

3）正常体温に及ぼす影響

参考資料[Module 4.2.1.2-1]

7 週齢 SD 系雄ラット（n=8/群）を約 17 時間絶食し、注射用水（媒体）又はビガバトリン 125、500 及び 2000 mg/kg を経口投与した。投与後 60～480 分間に 8 回（60 分間隔）直腸温を測定した。

ビガバトリン 500 及び 2000 mg/kg で、それぞれ投与前の体温に対し最大 2.3℃ 及び 3.3℃ の有意な低下が認められた。

4）協調運動に及ぼす影響

参考資料[Module 4.2.1.2-1]

5 週齢 CD-1 系雄マウス（n=10/群）を約 18 時間絶食し、注射用水（媒体）又はビガバトリン 125、500 及び 2000 mg/kg を経口投与した。投与後 60～480 分間に 8 回ロータロッド（回転数：16 rpm）における滞留時間を測定した。

ビガバトリン 2000 mg/kg で 2/10 例に協調運動の低下が認められた。

5）痛覚に及ぼす影響（圧刺激法）

参考資料[Module 4.2.1.2-1]

マウスにおいてビガバトリンは 2000 mg/kg の経口投与で疼痛閾値を上昇させた。

詳細は副次的薬理試験 3.1 の 1）の項に記載した。

6）自発脳波に及ぼす影響

参考資料[Module 4.2.1.2-1]

10～11 週齢の JW 雄ウサギ（n=4/群）をペントバルビタール腹腔内投与により麻酔し、脳波及び筋電図測定用の電極を埋め込んだ。完全に手術創が治癒したウサギを 19 時間以上絶食し、注射用水（媒体、n=12）又はビガバトリン 125、500 及び 2000 mg/kg を経口投与した（n=4/群）（1 個体につき、注射用水及びビガバトリン 1 用量のデータを得た）。脳波は 30 秒間の脳波を覚醒期、安静覚醒ないし軽睡眠期、紡錘波睡眠期、逆説睡眠期の 4 段階のいずれかに割り当てて睡眠―覚醒サイクル図を作成し、8 時間での各段階の時間割合（%）を算出した。

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と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し、脳波上で覚醒期の減少、安静覚醒ないし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。

7）脊髄反射に及ぼす影響

参考資料[Module 4.2.1.3-1]

SD 系雄ラット（n=5～6/群）を用いた。Urethane 及び α-chloralose 腹腔内投与による麻酔下で第 5 腰髄の後根を切断し、その中枢側を 0.2 Hz、0.1 msec、0.26～1.56 V の矩形波で電気刺激し、同側の前根脊髄反射電位を記録した。生理食塩液又はビガバトリン 100、200 及び 400 mg/kg は大腿静脈内に投与した。

ビガバトリンは単シナプス反射電位及び多シナプス反射電位に影響を及ぼさなかった。

8）ジスキネジア様作用

参考資料[Module 4.2.1.3-2]

SD 系雄ラットの両側線条体にガイドカニューレを埋め込み、一側線条体にビガバトリンの 2～4 µL（129～1160 µg）を注入した（n=7～10/群）。ジスキネジア症状は異常な不随意運動をスコア化して評価した。ビガバトリンの作用に対する影響を検討するため、GABA（4 µmole）あるいはムシモール（0.03 µmole）の線条体内注入、あるいはビガバトリン 1000 mg/kg の腹腔内投与により前処置した（n=10～14/群）。

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た。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。

ラットにおけるジスキネジア症状の発現には、線条体 GABA 作動性神経系の抑制が関与していると考えられている。

したがって、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 受容体に対する拮抗作用を有する可能性が示唆された。

9）フェンサイクリジン誘発多動に及ぼす影響

参考資料[Module 4.2.1.3-3]

CD-1 系雄マウス（n=6～24/群）を用い、フェンサイクリジン（PCP）誘発多動における運動量を測定した。ビガバトリン 400 mg/kg の腹腔内投与 10 分後、又はビガバトリン 100、200、400、600、700 及び 800 mg/kg の腹腔内投与 5 時間後に、PCP（5 mg/kg）又は生理食塩液を腹腔内投与し、35 分間運動量を測定した。

ビガバトリン 400 mg/kg を PCP 投与 10 分前に投与した場合、運動量に影響は見られなかったが、ビガバトリン 200～700 mg/kg を PCP 投与 5 時間前に投与した場合、生理食塩液に比べて運動量が有意に抑制された。

10）摂食行動に及ぼす影響

参考資料[Module 4.3-12]

SD 系雄ラットに生理食塩液又はビガバトリン 125、250、500 及び 1000 mg/kg を単回（n=5～50/群）、又は 250 mg/kg を 13 日間（n=5/群）腹腔内投与して、摂餌量を測定した。反復投与試験では自発運動量及び体重も測定した。

ビガバトリンは単回腹腔内投与で、用量依存的に摂餌量を減少させた。反復投与においても摂餌量の持続した減少が見られ、投与の中止により対照群と比較し摂餌量の若干の増加が認められた。反復投与期間中には自発運動の低下及び体重の増加抑制が認められた。

11）攻撃モデルにおける作用

参考資料[Module 4.3-30]

2匹のSD系雄ラット（2 animals/pair、8 pairs/group）の片方にビガバトリン100及び200 mg/kg、又は生理食塩液を単回腹腔内投与し（もう片方は無処置）、4時間後にその2匹を同じチャンバーに入れ、その1分後から床に10分間電気刺激（2 mA、0.5秒、6回/分）を与え、ビガバトリンを投与したラットの防御的攻撃反応作用を検討した。

ビガバトリンは200 mg/kgで防御的攻撃反応を抑制した。

4.3　自律神経系及び体性神経系に及ぼす影響

1）ラットの瞳孔径に及ぼす影響

参考資料[Module 4.2.1.3-4]

SD系雄ラットに蒸留水又はビガバトリン300 mg/kgを経口投与し、30分、1、2、3及び4時間後に108 lux（10 foot-candles）又は431 lux（40 foot-candles）の光を照射し瞳孔径を測定した。対照としてアトロピン1.0 mg/kgを経口投与した。

アトロピンは蒸留水に比べ有意に瞳孔径を増大させたが、ビガバトリンは影響を及ぼさなかった。

2）神経筋接合部に及ぼす影響

参考資料[Module 4.2.1.3-1]

SD系雄ラット（n=5～6/群）を麻酔し、神経筋標本を作製した後、生理食塩液又はビガバトリン50、100、200及び400 mg/kgをカニューレを介して左大腿静脈より投与し、坐骨神経電気刺激による腓腹筋の収縮運動に対する作用を検討した。

ビガバトリンは神経筋標本の筋収縮運動に影響を及ぼさなかった。

3）筋弛緩作用

参考資料[Module 4.2.1.3-5]

CD-1系雄マウス（n=10/群）を用いてStraub挙尾反応及びロータロッド試験を行った。蒸留水（媒体）又はビガバトリン200、400、800及び1600 mg/kgを腹腔内投与し、1～60時間後にモルヒネ硫酸塩60 mg/kgを皮下投与し、15分後に挙尾反応を評価した。更に、媒体及びビガバトリン50、100及び200 mg/kgを1日2回3日間投与した最終投与16時間後、又は3日半投与（7回投与）した最終投与4時間後に挙尾反応を評価した。ビガバトリンを挙尾反応試験と同様の投与スケジュールでマウスに投与し、ロータロッド試験を行った。

ビガバトリンはモルヒネ硫酸塩60 mg/kg皮下投与で誘発される挙尾反応を用量依存的に抑制した。また、ロータロッド試験においても運動能低下が認められた。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時間後に減弱し、24時間以

降には消失した。一方、ビガバトリンを複数回投与した試験では、ほとんどあるいは全く影響が認められなかった。

4.4　心血管系及び呼吸系に及ぼす影響

1）hERG カリウムチャネルに及ぼす影響（GLP 適用）

[Module 4.2.1.3-6]

hERG チャネルを発現させた HEK293 細胞を用い、パッチクランプ法でビガバトリン 100 及び 300 μg/mL の hERG チャネルに及ぼす影響を検討した（n=3）。

ビガバトリンは検討した濃度において hERG 電流に影響を及ぼさなかった。

2）心臓プルキンエ線維活動電位に及ぼす影響（GLP 適用）

[Module 4.2.1.3-7]

ウサギ心臓プルキンエ線維の活動電位に対するビガバトリン 10、100 及び 300 μg/mL の影響を検討した（n=4）。

ビガバトリンは用いた濃度で、活動電位持続時間、静止膜電位、活動電位振幅及び最大伝導速度に影響を及ぼさなかった。

3）イヌの血圧、心拍数、血流量及び呼吸に及ぼす影響

参考資料[Module 4.2.1.3-1]

雄ビーグル犬においてペントバルビタールナトリウム麻酔下に、ビガバトリンの血圧、心拍数、大腿動脈血流量及び呼吸数に及ぼす影響を検討した。生理食塩液（1 mL/kg）をカニューレを介して右大腿静脈内に投与し、50 分後よりビガバトリン 50、100 及び 200 mg/kg を 1 mL/kg の容量で順次 50 分間隔で投与した（n=4）。GABA 拮抗薬を用いた試験では、5-aminovaleric acid（10 mg/kg）の静脈内投与 10 分後にビガバトリン 100 mg/kg を静脈内投与した。この試験では呼吸量（分時換気量）についても測定した（n=3）。

ビガバトリン 50、100 及び 200 mg/kg の静脈内投与により、4 例中 2 例に一過性の血圧下降が見られたが、4 例の平均値では有意な変化ではなかった。心拍数にはほとんど影響が見られなかった。ビガバトリンは大腿動脈血流量を 50、100 及び 200 mg/kg で用量依存的に増加させ、投与 1 分後における増加率はそれぞれ 81 ± 28、125 ± 38 及び 143 ± 44%であった。大腿動脈血管抵抗は血流量の変化に対応して減少した。ビガバトリンは呼吸数を増加させ、50、100 及び 200 mg/kg 投与後 1 分における増加率はそれぞれ 41 ± 13、106 ± 46 及び 143 ± 59%であった。ビガバトリン 100 mg/kg による大腿動脈血流量の増加、呼吸数及び分時換気量の増加並びに血管抵抗の減少は $GABA_B$ 受容体拮抗薬 5-aminovaleic acid により抑制された。

4）イヌの心血管系に及ぼす影響

参考資料[Module 4.2.1.3-8]

ペントバルビタールナトリウム麻酔下に雌雄雑種犬の迷走神経を切断し、血圧、心拍数並びに両側総頸動脈結紮あるいはノルエピネフリン、アセチルコリン及びイソプロテレノール静脈内投与による血圧又は心拍数の反応に対し、ビガバトリン3、10及び30 mg/kgの静脈内投与での影響を検討した（n=6/群）。ビガバトリンは両側総頸動脈結紮による血圧変化に 10 mg/kg で有意な影響を示したが、3 及び 30 mg/kg では影響を及ぼさなかった。その他に、血圧、心拍数に対するビガバトリンの影響は認められなかった。

また、雌雄雑種犬でペントバルビタールナトリウム麻酔下にビガバトリン 30 mg/kg 静脈内投与後の収縮期血圧、拡張期血圧、心拍数、心室内圧、dP/dt、心拍出量、末梢血管抵抗、1 回拍出量、左心房圧及び右心房圧を測定した（n=5）。更に、ビガバトリン 150 mg/kg を 1 日 2 回、5 日間経口投与し、心電図に及ぼす影響を検討した（n=4）。これらの試験において、ビガバトリンはイヌの心血管系に影響を及ぼさなかった。

5）イヌ及びラットの心血管系に及ぼす影響

参考資料[Module 4.2.1.3-9]

雌雄イヌにおいてペントバルビタールナトリウム麻酔下に、頸動脈圧、大動脈流量、心拍数、dp/dt、心室内圧、大腿動脈血流量、Power（血圧 x 大動脈流量）、Stroke work（Power/心拍数）及び末梢血管抵抗に対するビガバトリンの作用を検討した。ビガバトリンは 10、20、40 及び 80 mg/kg を 30～40 分毎に静脈内投与した（n=6）。更に、ビガバトリン投与 10 分後にノルアドレナリン、アセチルコリン、イソプルレナリン及びチラミンを静脈内投与した。

ビガバトリンは 10～80 mg/kg（累積 10～150 mg/kg）の用量で心血管系に影響を及ぼさなかった。

雄ラットにおいてペントバルビタールナトリウム麻酔下に、ビガバトリン 50、100 及び 200 mg/kg を静脈内投与し、動脈圧及び心拍数に及ぼす影響を検討した（n=5/群）。更に、ビガバトリン投与 10 分後にノルアドレナリン、アセチルコリン及びチラミンを静脈内投与した。

ビガバトリンは 50 mg/kg で最大 16%の血圧上昇を示したが、100 及び 200（累積でそれぞれ 150 及び 350 mg/kg）により、作用は増強されなかった。心拍数には影響がなかった。ビガバトリンはノルアドレナリン及びチラミンの血圧上昇作用を軽度に減弱させ、アセチルコリンの血圧低下作用を増強したが、これらの作用に用量依存性は認められなかった。

4.5　マウス消化管輸送に及ぼす影響

参考資料[Module 4.2.1.3-1]

5 週齢の CD-1 系雄マウス（n=8/群）を 20 時間絶食し、蒸留水（媒体）又はビガバトリン 500、1000 及び 2000 mg/kg を経口投与した。その 30 分後に 0.5%カルボキシメチルセルロース液に懸濁した 5%

活性炭末液 10 mL/kg を経口投与して 30 分後に安楽死させた。全消化管を摘出し胃幽門部から炭末の最先端部までの移動距離を測定し、小腸の全長に対する百分率を算出した

ビガバトリンはマウスの消化管輸送能に影響を及ぼさなかった。

4.6　水及び電解質代謝に及ぼす影響

1）ラットにおける尿量及び電解質排泄に及ぼす影響（1）

参考資料[Module 4.2.1.2-1]

7 週齢の SD 系雄ラット（n=8/群）を 18 時間以上絶食し、注射用水（媒体）又はビガバトリン 125、250、500 及び 2000 mg/kg を 10 mL/kg の容量で経口投与した直後に注射用水 25 mL/kg を投与。その後絶食絶水下で 8 時間にわたって尿を採取し、尿量、pH 及び尿電解質濃度（Na^+、K^+、Cl^-）を測定した。

ビガバトリン 2000 mg/kg で、尿量、Na^+、K^+及び Cl^-の排泄量の増加が認められた。

2）ラットにおける尿量及び電解質排泄に及ぼす影響（2）

参考資料[Module 4.2.1.3-1]

6 週齢の SD 系雄ラット（n=9/群）を 18 時間絶食し、生理食塩液（媒体）又はビガバトリン 125、250、500 及び 1000 mg/kg を 30 mL/kg の容量で経口投与した。その後、投与後 2 時間まで、投与後 2～6 時間及び投与後 6～24 時間の尿を採取し、尿量、pH 及び尿電解質濃度（Na^+、K^+、Cl^-）を測定した。

ビガバトリン 500 及び 1000 mg/kg で、投与後 2 時間の尿量、Na^+、K^+及び Cl^-の排泄量の増加が認められた。投与後 2～6 時間では 1000 mg/kg で K^+排泄量を増加させた以外は尿量及び各電解質量に影響は認められなかった。投与後 6～24 時間では 500 及び 1000 mg/kg で電解質量の減少、更に、1000 mg/kg では尿量の減少が見られた。

3）ラットにおける血清電解質濃度に及ぼす影響

参考資料[Module 4.2.1.3-1]

6 週齢の SD 系雄ラット（n=8～10/群）を 18 時間絶食し、生理食塩液（媒体）又はビガバトリン 250、500 及び 1000 mg/kg を経口投与した。投与 1 及び 4 時間後に採血して、血清中の Na^+、K^+及び Cl^-濃度を測定した。

ビガバトリン 500 及び 1000 mg/kg 投与 1 時間後に、生理食塩液投与群と比べて血清 Na^+濃度がそれぞれ 1.3 及び 2.2%有意に上昇し、投与 4 時間後では 1000 mg/kg で血清 Na^+濃度の有意な上昇（1.7%）、Cl^-濃度の有意な低下（3.0%）が認められた。

4.7　その他（内分泌系に及ぼす影響）

1）副腎皮質刺激ホルモン

参考資料[Module 4.2.1.3-10]

雄ラットにビガバトリン 250 及び 1000 mg/kg を単回腹腔内投与し、18 時間後に採血及び脳摘出を行った。一部の動物には安楽死前にエーテル麻酔下開腹ストレスを与えた。CRF 量及びアミノ酸量測定のために視床下部をホモジネートした。下垂体は Krebs 液中でインキュベートし、CRF（21.4 nmol/L）又は AVP（115 nmol/L）を加えて遊離 ACTH 量を測定した。

ビガバトリン 250 及び 1000 mg/kg 投与により、投与前に比べて視床下部の GABA 濃度は有意に増加し、1000 mg/kg 投与で CRF は約 50%減少し、ストレスによる血漿 ACTH の増加が抑制された。ビガバトリン 1000 mg/kg で下垂体の基礎及び CRF 又は AVP 刺激による ACTH 遊離が抑制された。

2）プロラクチン

参考資料[Module 4.2.1.3-11]

SD 系雄ラットの下垂体前葉をプロテアーゼ及びコラゲナーゼで処理し、細胞をプロタミンでコーティングしたプレートに播種して 2 日間培養した後、GABA 単独（10^{-5} mol/L）又は GABA（10^{-5} mol/L）及びビククリン（10^{-5} mol/L）を添加し、血清フリーの培養液で 3 日間培養した。プロラクチン mRNA は 800 塩基のラットプロラクチン cDNA を含む ^{32}P ラベルプラスミドとハイブリッドさせ測定した。

ラット下垂体前葉培養細胞を GABA（10^{-5} mol/L）と 3 日間培養することにより、プロラクチン mRNA は約 50%低下し、この作用はビククリンで抑制された。

SD 系雄ラットに生理食塩液又はビガバトリン 800 mg/kg を単回腹腔内投与し、2 日後に下垂体前葉を採取し、mRNA を測定した。

ビガバトリン 800 mg/kg 投与 2 日後に、下垂体前葉のプロラクチン mRNA 量は 35%減少した。

5　薬力学的薬物相互作用試験

該当なし

6　考察及び結論

効力を裏付ける試験

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(7)。

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 には殆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。

副次的薬理（一般薬理）及び安全性薬理試験

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(8)(9)。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（ヒトに 1000 mg 散を単回投与した際の C_{max} は 33.3 µg/mL [Module 2.7.1.2.3.3]）。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(10)、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各種てんかん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。

7　図表

図表は、本文中の適切な場所に記載した。

参 考 文 献

1. Lee H, Doud EH, Wu R, Sanishvili R, Juncosa JI, Liu D. et al. Mechanism of inactivation of γ‑ aminobutyric acid aminotransferase by (1S,3S)-3-amino-4-difluoromethylene-1-cyclopentanoic acid (CPP-115). J Am Chem Soc 2015; 137:2628-40.
2. Juncosa JI, Groves AP, Xia G, Silverman RB. Probing the steric requirements of the γ-aminobutyric acid aminotransferase active site with fluorinated analogues of vigabatrin. Bioorg Med Chem 2013;21:903-11.
3. Tzuk-Shina T, Bitterman N, Harel D. The effect of vigabatrin on central nervous system oxygen toxicity in rats. Eur J Pharmacol. 1991;202:171-5.
4. Le Gal la Salle G, Kaijima M, Feldblum S. Abortive amygdaloid kindled seizures following microinjection of γ-vinyl-GABA in the vicinity of substantia nigra in rats. Neurosci Lett. 1983;36:69-74.
5. Sawynok J, LaBella FS. On the involvement of GABA in the analgesia produced by baclofen, muscimol and morphin. Neuropharmacol. 1982;21:397-403.
6. Contreras E, Tamayo L, Quijada L. Effects of the irreversible inhibition of GABA transaminase upon some morphine effects. Neuropharmacol. 1979;18:309-13.
7. Gram L, Larsson OM, Johnsen A, Schousboe A. Experimental studies of the influence of vigabatrin on the GABA system. Br J Clin Pharmac. 1989;27:13S-17S.
8. Czajka R. Central effects of endogenous and exogenous GABA. Acta Physiol Pol. 1978;29:193-205.
9. Palfreyman MG, Schechter PJ, Buckett WR, Tell GP, Koch-Weser J. The pharmacology of GABA-transaminase inhibitors. Biochem Pharmacol. 1981;30:817-24.
10. 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.

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

2.6.3 薬理試験概要表

Total number of pages: 20

目　　次

1　薬理試験一覧表 3

2　効力を裏付ける試験 8

3　副次的薬理試験 14

4　安全性薬理試験（一般薬理試験） 15

5　薬力学的薬物相互作用試験 20

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/文献名	資料番号 [Module]
1.1 効力を裏付ける試験					
In vitro での GABA-T 活性に対する作用	ラット脳	in vitro	Merrell International Research Center (France) Merrell Research Center (USA) [redacted] (France)	F-[redacted]-11	[4.2.1.1-1]
単回投与でのGABA-T活性に対する作用	マウス	腹腔内、静脈内、筋肉内、皮下、経口	Merrell International Research Center (France)	Jung, 1977, J Neurochem	[4.3-17]
反復投与でのGABA-T活性に対する作用	マウス	腹腔内	Merrell International Research Center (France)	F-[redacted]-61	[4.2.1.1-2]
反復投与でのGABA-T活性に対する作用	マウス	腹腔内	Merrell International Research Center (France)	F-[redacted]-45	[4.2.1.1-3]
脳各部位での GABA 代謝	ラット	腹腔内	Merrell International Research Center (France) Merrell Research Center (USA) [redacted] (France)	F-[redacted]-11	[4.2.1.1-1]
神経末端の GABA 濃度	ラット	腹腔内	Georgetown University (USA)	Iadarola, 1980, Brain Res Bull	[4.3-13]
脳脊髄液中及び脳内 GABA 濃度	ラット	腹腔内	Merrell International Research Center (France)	Bohlen, 1979, Brain Res	[4.3-3]
GABAの取込み及び遊離に対する作用	ラット	in vitro 腹腔内	[redacted] (UK)	F-[redacted]-119	[4.2.1.1-4]

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	報告書番号/文献名	資料番号 [Module]
GABA の生成、結合、取込み及び代謝に対する作用	マウス ラット	in vitro	Free University of Berlin (Germany)	Loscher, 1980, J Neurochem	[4.3-22]
幼若ラットにおける攣縮モデル	ラット	腹腔内	Einstein Epilepsy Management Center (USA)	Scantlebury, 2010, Neurobiology Disease	[4.3-32]
幼若ラットにおける NMDA 誘発発作モデル	ラット	腹腔内	Academy of Science of the Czech Republic (Czech Republic)	Kubová, 2010, Epilepsia	[4.3-18]
聴原発作モデル	マウス	腹腔内	Merrell International Research Center (France) Merrell Research Center (USA) Université de Paris-Sud (France)	F-[redacted]-11 Schechter, 1977, Eur J Pharmacol	[4.2.1.1-1] [4.3-33]
薬物誘発発作モデル	マウス	経口	日本ヘキスト・マリオン・ルセル（日本）	[redacted]-LPH-003	[4.2.1.1-5]
電撃痙攣発作モデル	マウス	経口 腹腔内	Merrell International Research Center (France) Merrell Research Center (USA) [redacted] (France)	F-[redacted]-11	[4.2.1.1-1]
高圧酸素誘発発作モデル	マウス	筋肉内	Merrell International Research Center (France) Merrell Research Center (USA) [redacted] (France)	F-[redacted]-11	[4.2.1.1-1]
光過敏性てんかん発作モデル	ヒヒ	静脈内	Institute of Psychiatry (UK)	Meldrum, 1978, Psychopharmacol	[4.3-23]
扁桃核キンドリングモデル	ラット	腹腔内	Duke University Medical Center, Veterans Administration Medical Center (USA)	Shin, 1986, Brain Res	[4.3-35]
自然発症てんかんラット	ラット	経口	[redacted]（日本）	[redacted]-LPH-004-1	[4.2.1.1-6]

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	報告書番号/文献名	資料番号 [Module]
自然発症てんかんラットでの作用メカニズム	ラット	in vitro	[redacted]（日本）	[redacted]-LPH-004-2	[4.2.1.1-7]
エナンチオマーの薬理活性					
GABA-T 阻害活性	ブタ脳 マウス	in vitro 腹腔内	Merrell International Research Center (France)	[redacted]-B-01-ST	[4.2.1.1-8]
ビククリン誘発痙攣	マウス	腹腔内	Merrell International Research Center (France)	[redacted]-P-16-ST	[4.2.1.1-9]
3-メルカプトプロピオン酸誘発痙攣	マウス	腹腔内	Merrell International Research Center (France)	[redacted]-P-12-ST	[4.2.1.1-10]
1.2 副次的薬理試験					
痛覚に及ぼす影響	マウス	経口	[redacted]日本）	[redacted]-LPH-005	[4.2.1.2-1]
鎮痛作用	マウス ラット	腹腔内	Merrell International Research Center (France)	Buckett, 1980, Neuropharm.	[4.3-4]
抗不安作用	マウス	腹腔内 経口	東京医科歯科大学　医学部（日本）	Semba, 1989, Neuropsychobiology	[4.3-34]
1.3 安全性薬理試験（一般薬理試験）					
一般症状及び行動に及ぼす影響	ラット	経口	日本ヘキスト・マリオン・ルセル（日本）	J-[redacted]-0014-R	[4.2.1.3-1]
中枢神経系に及ぼす影響					
自発運動量に及ぼす影響	マウス	経口	[redacted]日本）	[redacted]-LPH-005	[4.2.1.2-1]
睡眠（ヘキソバルビタール睡眠）に及ぼす影響	マウス	経口	[redacted]日本）	[redacted]-LPH-005	[4.2.1.2-1]

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	報告書番号/文献名	資料番号 [Module]
体温に及ぼす影響	ラット	経口	[redacted] 日本）	[redacted]-LPH-005	[4.2.1.2-1]
協調運動に及ぼす影響	マウス	経口	[redacted] 日本）	[redacted]-LPH-005	[4.2.1.2-1]
痛覚に及ぼす影響	マウス	経口	[redacted] 日本）	[redacted]-LPH-005	[4.2.1.2-1]
脳波に及ぼす影響	ウサギ	経口	[redacted] 日本）	[redacted]-LPH-005	[4.2.1.2-1]
脊髄反射に及ぼす影響	ラット	静脈内	日本ヘキスト・マリオン・ルセル（日本）	J-[redacted]-0014-R	[4.2.1.3-1]
ジスキネジア様作用	ラット	線状体内	Merrell International Research Center (France)	F-[redacted]-03	[4.2.1.3-2]
フェンサイクリジン誘発多動に対する作用	マウス	腹腔内	Merrell Dow Research Institute (France)	F-[redacted]-0185	[4.2.1.3-3]
摂食行動	ラット	腹腔内	Merrell International Research Center (France)	Huot, 1982, Pharmacol Biochem Behav	[4.3-12]
攻撃性	ラット	腹腔内	University of Bradford (UK)	Rodgers, 1982, Pharmacol Biochem Behav	[4.3-30]
自律神経系及び体性神経に及ぼす影響					
瞳孔径に及ぼす影響	ラット	経口	Merrell Dow Research Institute (USA)	P-[redacted]-26	[4.2.1.3-4]
神経筋接合部に対する作用	ラット	静脈内	日本ヘキスト・マリオン・ルセル（日本）	J-[redacted]-0014-R	[4.2.1.3-1]
筋弛緩作用	マウス	腹腔内	Merrell Dow Research Center (USA)	E-[redacted]-29	[4.2.1.3-5]
心血管系に及ぼす影響					
hERG カリウムチャネルへの影響	HEK293 細胞	in vitro	[redacted] (USA)	[redacted]	[4.2.1.3-6]

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	報告書番号/文献名	資料番号 [Module]
心臓プルキンエ線維活動電位への影響	ウサギ	in vitro	[redacted] (USA)	[redacted]	[4.2.1.3-7]
イヌの血行動態への影響	イヌ	静脈内	日本ヘキスト・マリオン・ルセル（日本）	J-[redacted]-0014-R	[4.2.1.3-1]
イヌの血行動態及び心電図への影響	イヌ	静脈内 経口	Merrell Research Center (USA)	P-[redacted]-14	[4.2.1.3-8]
イヌ及びラットの血行動態への影響	ラット、イヌ	静脈内	Merrell International Research Center (France)	F-[redacted]-91	[4.2.1.3-9]
呼吸器系に及ぼす影響	イヌ	静脈内	日本ヘキスト・マリオン・ルセル（日本）	J-[redacted]-0014-R	[4.2.1.3-1]
消化器系に及ぼす影響	マウス	経口	日本ヘキスト・マリオン・ルセル（日本）	J-[redacted]-0014-R	[4.2.1.3-1]
水及び電解質代謝に及ぼす影響					
水及び電解質代謝に及ぼす影響	ラット	経口	[redacted] 日本）	[redacted]-LPH-005	[4.2.1.2-1]
尿量、電解質排泄及び血清電解質に及ぼす影響	ラット	経口	日本ヘキスト・マリオン・ルセル（日本）	J-[redacted]-0014-R	[4.2.1.3-1]
その他					
副腎皮質刺激ホルモン分泌	ラット	腹腔内	[redacted] (UK)	F-[redacted]-0043	[4.2.1.3-10]
プロラクチン産生に及ぼす影響	ラット	腹腔内	[redacted] (FRG)	F-[redacted]-158	[4.2.1.3-11]
1.4 薬力学的薬物相互作用試験					
該当なし					

GABA：γ-アミノ酪酸、GABA-T：GABA アミノ基転移酵素、hERG：ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子、NMDA：N-メチル D-アスパラギン酸。

2　効力を裏付ける試験

試験項目	動物種/系統	投与経路	投与量(mg/kg)	性別及び動物数/群	特記すべき所見	報告書番号/文献名[資料番号]
GABA-T 活性に対する作用	ラット 系統不明	in vitro	0.05, 0.5, 1.0 mmol/L	雌雄及び使用例数不明	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抑制した。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、アラニンアミノ基転移酵素及びオルニチンアミノ基転移酵素活性に対しては殆んど又は全く抑制しなかった。	F-[redacted]-11 [参考 4.2.1.1-1]
単回投与での GABA-T 活性	マウス CD-1	腹腔内 静脈内 筋肉内 皮下 経口	1500	雄 5/群 （ただし、20/対照群）	ビガバトリン 1500 mg/kg 投与後 3～4 時間以内に、脳内 GABA-T 活性は対照群の約 20%に低下した。この活性低下は 48 時間持続した。脳内 GABA 濃度はビガバトリ投与後 3～4 時間で最大となり（対照群の 5～6 倍）、投与後 4 日においても対照群の 2 倍以上であった。GAD 活性はビガバトリン投与後徐々に低下し、48 時間後には最小値に達した（対照群の 65%）。この GAD 活性の低下は GABA-T 活性の低下より小さかった。 ビガバトリンは静脈内、腹腔内、筋肉内、皮下及び経口のいずれの投与経路においても、マウスの脳内 GABA-T 活性を抑制し、GABA 濃度を増加させた。	Jung, 1977, J Neurochem [参考 4.3-17]
		腹腔内	100, 200, 400, 800, 1600, 3200	雄 3～5/群 （ただし、51/対照群）	ビガバトリンは投与 8 時間後において、GABA-T 活性を用量依存的に低下させ、100 mg/kg においても対照群の 55%に低下させた。GABA 濃度も用量依存的に増加した。GAD 活性に対する作用は弱く、3200 mg/kg においても 16%の低下であった。	

試験項目	動物種/系統	投与経路	投与量(mg/kg)	性別及び動物数/群	特記すべき所見	報告書番号/文献名[資料番号]
反復投与でのGABA-T 活性	マウス CD-1	腹腔内	10, 25, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 750, 1000, 1250（10日間）	雄 10～15/群 （ただし、33/対照群）	ビガバトリンは 10 日間の反復投与により 10 mg/kg/日以上で脳内 GABA-T 活性を減少させ、400 mg/kg/日以上で最大効果を示した。GAD 活性にも低下率は小さいが、400 mg/kg/日以上を最大とする低下が認められた。脳内 GABA 濃度は 100 mg/kg/日以上で急激に増加した。1000 mg/kg/日では 10 例中 2 例、1250 mg/kg/日では 10 例中 7 例が死亡した。	F-[redacted]-61 [参考 4.2.1.1-2]
反復投与でのGABA-T 活性	マウス Swiss Albino CD	腹腔内	100, 500 1～12 日	雌雄不明 5/群	脳の GABA-T 及び GAD 活性の低下は 4 日間投与以降定常状態となり、GABA-T は 100 及び 500 mg/kg/日でそれぞれ対照群の約 40%及び 20%に低下し、GAD 活性は 100 及び 500 mg/kg/日でそれぞれ対照群の約 70%及び約 60%に低下した。脳内 GABA 濃度は GABA-T 活性の低下と相関し、4 日間投与以降 100 及び 500 mg/kg/日で、それぞれ対照群の約 2 倍及び 4 倍に達した。	F-[redacted]-45 [参考 4.2.1.1-3]
脳各部位での GABA 代謝	ラット 系統不明	腹腔内	1500	雌雄不明 5/群	試験した 10 部位の脳で、60～80%の GABA-T 活性の低下が認められた。GABA 濃度の増加は脳の部位により違いが認められ、延髄では対照群の 242%、海馬では対照群の 825%であった。GAD 活性は嗅結節で残存活性が最も低かった（対照群の 56%）。	F-[redacted]-11 [参考 4.2.1.1-1]
神経末端の GABA 濃度	ラット SD	腹腔内	900	雄 ≥ 6/群	ビガバトリン投与により、脳黒質の GABA 濃度は、神経末端部を含まない黒質では 12 時間後に上昇し、その後減少した。一方、黒質神経末端部では投与 36 時間後に GABA 濃度の増加が認められ、60 時間後には更に増加した。最大電撃痙攣発作モデルでは、ビガバトリン投与 12 時間後では影響がなかったが、36 時間及び 60 時間後では痙攣持続時間をそれぞれ 28%及び 45%減少させた。このことより、最大電撃痙攣発作防御作用は神経末端の GABA 濃度に相関していることが示された。	Iadarola, 1980, Brain Res Bull [参考 4.3-13]

試験項目	動物種/系統	投与経路	投与量(mg/kg)	性別及び動物数/群	特記すべき所見	報告書番号/文献名[資料番号]
脳脊髄液中及び脳内GABA濃度	ラット SD	腹腔内	62.5～2000	雄 ≥ 5/群	ビガバトリン投与18時間後に、脳内GABA濃度及び脳脊髄液中の遊離型及び結合型GABA濃度はビガバトリンの用量に依存して増加した。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に相関していた。	Bohlen, 1979, Brain Res [参考 4.3-3]
GABAの取込み及び遊離に対する作用	ラット SD	in vitro	0.25～5 mmol/L TTX：1 µmol/L ベラパミル：100 µmol/L	雌 例数不明	ビガバトリンはラット大脳皮質シナプトソームに取込んだ[U-^{14}C]-GABAを濃度依存的に遊離させ、250 µmol/Lで22%、1 mmol/Lで57%、5 mmol/Lで96%遊離させた。ビガバトリンのこの遊離作用はTTX及びベラパミルにより抑制された。	F-[redacted]-119 [参考 4.2.1.1-4]
		in vivo 腹腔内	1000		ビガバトリン1000 mg/kgを腹腔内投与し、14時間後に調製した大脳皮質シナプトソームではGABAの含量が3～4倍増加し、遊離量も増加したが、他のアミノ酸には変化がなかった。 ビガバトリンは5 mmol/Lで[U-^{14}C]-GABAのシナプトソームへの取込みを52%阻害した。TTXはこのビガバトリンのGABA取込み阻害作用を抑制した。	
GABAの生成、結合、取込み及び代謝に対する作用	マウス NMRI ラット Wistar	in vitro	適用濃度不明	雄 3～5 雌 3～5	ビガバトリンはマウス脳ホモジネートのGABA-T活性を阻害し、IC_{50}は350 µmol/Lであった。GAD活性に対しては8 mmol/Lまでの濃度で影響がなかった。ビガバトリンはラット脳のミトコンドリア画分でのGABAの取込みを抑制し、IC_{50}は110 µmol/Lであった。ビガバトリンはラット脳シナプス膜のGABA受容体に対し、弱い結合阻害を示し、IC_{50}は4.1 mmol/Lであった。	Loscher, 1980, J Neurochem [参考 4.3-22]

試験項目	動物種/系統	投与経路	投与量(mg/kg)	性別及び動物数/群	特記すべき所見	報告書番号/文献名[資料番号]
幼若ラットにおける攣縮モデル	ラット SD	腹腔内	20 1 日 2 回	雄 6～9/群	ドキソルビシン及びリポ多糖を生後 3 日のラット脳内に注入して誘発した攣縮を、ビガバトリンは一過性（生後 5 日）ながら有意に抑制した。	Scantlebury, 2010, Neurobiology Disease [参考 4.3-32]
幼若ラットにおける NMDA 誘発発作モデル	ラット Wistar	腹腔内	300, 600, 1200	雌雄不明 ≥8/群	生後 12 日ラットに NMDA を腹腔内投与して誘発した屈曲発作を、対照群の発症率 92.6%に対し、ビガバトリンは 600 及び 1200 mg/kg の腹腔内投与でそれぞれ 55.6%及び 41.7%の発症率に減少させた。	Kubová, 2010, Epilepsia [参考 4.3-18]
聴原発作モデル	マウス DBA/2 CD-1	腹腔内	100～2500	雌雄 10～13/群	DBA/2 系マウスの聴原性てんかん発作に対し、ビガバトリンは時間及び用量に依存した抑制効果を示し、投与 4 時間後における発作頻度及び発作強度減少の ED_{50}はそれぞれ 990 及び 540 mg/kg であった。ビガバトリンの作用は反復投与により増強された。ビガバトリンによる聴原発作抑制と脳内 GABA 濃度の増加は相関していた。	F-[redacted]-11 [参考 4.2.1.1-1] Schechter, 1977, Eur J Pharmacol [参考 4.3-33]
薬物誘発発作モデル	マウス CD-1	経口	500, 1000, 1500	雄 10/群	ペンチレンテトラゾール誘発痙攣では、対照群のほとんどの動物で攣縮、間代性痙攣及び強直性痙攣が観察され、10 例中 7 例が死亡した。ビガバトリンは強直性痙攣の発現を有意に減少させたが、他の観察項目には有意な変化を与えなかった。3-メルカプトプロピオン酸誘発痙攣では、攣縮の発現には有意な影響を及ぼさなかったが、間代性痙攣の発現を減少させた。ピクロトキシン誘発痙攣では、攣縮及び間代性痙攣の発現を減少させた。	[redacted]-LPH-003 [4.2.1.1-5]
電撃痙攣発作モデル	マウス Swiss Albino CD-1	経口	160, 320, 640	雌雄不明 10/群	ビガバトリンの単回経口投与は、マウスでの最大電撃痙攣発作を抑制しなかった。 発作閾値試験では、50%のマウスに痙攣を誘発する電流が対照群では 29.5 mA であったのに対し、ビガバトリン腹腔内投与では 40 mA に上昇した。	F-[redacted]-11 [参考 4.2.1.1-1]
		腹腔内	1500	雄 9～10/群		

試験項目	動物種/系統	投与経路	投与量(mg/kg)	性別及び動物数/群	特記すべき所見	報告書番号/文献名[資料番号]
高圧酸素誘発発作モデル	マウス Swiss Albino	筋肉内	800	雄 10～20/群	ビガバトリンは 5.44 気圧下での痙攣を投与 4 時間後に 90%抑制したが、24 時間後には効果が消失した。	F-[redacted]-11 [参考 4.2.1.1-1]
光過敏性てんかん発作モデル	ヒヒ Papio papio	静脈内	360, 450, 900	雌 例数不明	ビガバトリンはヒヒの光刺激によるてんかん発作を抑制した。450 及び 900 mg/kg では投与 2 時間後より発作を抑制し、4～5 時間後に最大となり、24 時間後においても抑制作用が認められた。	Meldrum, 1978, Psychopharmacol [参考 4.3-23]
扁桃核キンドリングモデル	ラット SD	腹腔内	900, 1200, 1500	雄 5～7/群	ビガバトリンはすべての用量で全身運動発作を抑制し、投与 32 時間後には完全に発作が消失し、56 時間後においても強い抑制が認められた。ビガバトリンは後発射持続時間も短縮した。更に、キンドリング形成遅延作用も示した。	Shin, 1986, Brain Res [参考 4.3-35]
自然発症てんかんラットモデル	ラット SER	経口	50, 100, 200, 250	4～8/群	SER ラットにおいてビガバトリンは 100 及び 250 mg/kg で強直性痙攣発作及び欠神様発作を抑制した。ビガバトリンの作用はビククリンにより抑制された。 ビガバトリン 200 mg/kg/日を 5 日間反復投与した場合、強直性痙攣発作の有意な抑制は 2 日後より認められ、最終投与 2 日後まで認められた。	[redacted]-LPH-004-1 [4.2.1.1-6]
自然発症てんかんラットでの作用メカニズム	ラット SER	in vitro	0.1, 1, 10 mmol/L	3～6 スライス/群	苔状線維刺激により長時間持続性の脱分極シフトと、これに伴う頻回発射を示す自然発症てんかんラットの海馬スライス標本に、ビガバトリンの 1 及び 10 mmol/L を 15 分間作用させた場合、用量依存的に脱分極シフトを抑制し、頻回発射も抑制した。このビガバトリンの抑制作用はビククリン（10 µmol/L）により拮抗された。	[redacted]-LPH-004-2 [4.2.1.1-7]

試験項目	動物種/系統	投与経路	投与量(mg/kg)	性別及び動物数/群	特記すべき所見	報告書番号/文献名[資料番号]
エナンチオマーの薬理活性						
GABA-T 阻害活性	ブタ脳	in vitro	R,S 体：1 mmol/L S 体：0.5 mmol/L R 体：5, 10 mmol/L	雌雄、例数不明	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 体は 5 及び 10 mmol/L で弱い阻害作用しか示さなかった。	[redacted]-B-01-ST [参考 4.2.1.1-8]
	マウス Swiss Albino	腹腔内	R 又は S 体：750 R,S 体：1500	雌雄不明 5/群	マウスにおいて、ビガバトリン（ラセミ体）1500 mg/kg と 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 活性に対し一過性の弱い抑制を示したが、GAD 活性及び GABA 濃度に対しては、殆んど影響がなかった。	
ビククリン誘発痙攣モデル	マウス CD-1	腹腔内	S 体：25, 50, 75, 100, 125 R,S 体：100, 150, 200, 250, 300 R 体：1000	雌 10～20/群	ビガバトリン（ラセミ体）及び S 体は痙攣を抑制し、ED_{50} はそれぞれ 221 mg/kg 及び 85 mg/kg であった。R 体は 1000 mg/kg で痙攣を抑制しなかった。	[redacted]-P-16-ST [参考 4.2.1.1-9]
3-メルカプトプロピオン酸誘発痙攣モデル	マウス CD-1	腹腔内	S 体 25, 50, 75, 100, 125 R,S 体：100, 125, 150, 200, 250, 300	雄 10/群	ビガバトリン（ラセミ体）及び S 体は痙攣を抑制し、ED_{50} はそれぞれ 200 及び 100 mg/kg であった。	[redacted]-P-12-ST [参考 4.2.1.1-10]

ED_{50}：50%有効用量、GABA：γ-アミノ酪酸、GABA-T：GABA アミノ基転移酵素、GAD：グルタミン酸脱炭酸酵素、NMDA：N-メチル D-アスパラギン酸、TTX：テトロドトキシン。

3　副次的薬理試験

試験項目	動物種/系統	投与経路	投与量	性別及び動物数/群	特記すべき所見	報告書番号/文献名[資料番号]
痛覚に及ぼす影響	マウス CD-1	経口	125, 500, 2000	雄 10/群	圧刺激試験で、ビガバトリンは 2000 mg/kg の投与後 240～480 分に疼痛閾値を上昇させた。	[redacted]-LPH-005 [参考 4.2.1.2-1]
鎮痛作用	マウス CD-1	腹腔内	600, 800	雌 10/群	52°C のホットプレートで、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し、この作用はナロキソンで拮抗されなかった。ビガバトリンが鎮痛作用を示さない 56°C のホットプレートで、ビガバトリンは 800 mg/kg でモルヒネの鎮痛作用を増強した。	Buckett, 1980, Neuropharm [参考 4.3-4]
	ラット SD	腹腔内	800, 1120, 1600	雄 6～12/群	ビガバトリンは 1120 及び 1600 mg/kg で発声するまでの電気刺激閾値を増加させ、この作用はビククリンにより拮抗された。	
抗不安作用	マウス CD-1	腹腔内 経口	200, 400, 800 0.05%, 0.15% 飲水（20 日間）	雄 10～14/群 雄 12～14/群	強制水泳試験において、ビガバトリンは 400 及び 800 mg/kg の単回腹腔内投与で有意に不動時間を短縮させた。飲水投与した場合、投与 10 日目には不動時間の短縮が認められたが、20 日目には認められなかった。	Semba, 1989, Neuropsychobiology [参考 4.3-34]

4　安全性薬理試験（一般薬理試験）

評価対照となる組織	動物種/系統	投与方法	投与量（mg/kg）	性別及び動物数/群	特記すべき所見	GLP適用	報告書番号/文献名[資料番号]
1)一般症状及び行動	ラット SD	経口	125, 250, 500, 1000, 2000	雄 5/群	250 及び 500 mg/kg で 1/5 例に流涙、1000 mg/kg で 3/5 例に流涙、2/5 例に流涎、2000 mg/kg で 3/5 例に流涙及び流涎が認められた。2000 mg/kg で 2～6 時間に体温下降、1000 及び 2000 mg/kg で呼吸数の減少が認められた。更に、2000 mg/kg では眼球の突出が抑制され、警戒性の低下及び立毛、500 mg/kg 以上で体重増加抑制が認められた。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 で胸腺の萎縮が 1 例ずつ認められたが、用量依存性はなかった。	不適	J-[redacted]-0014-R [参考 4.2.1.3-1]
2)中枢神経系							
自発運動量	マウス CD-1	経口	31, 125, 500, 2000	雄 10/群	125 mg/kg 以上で自発運動量を減少させた。	不適	[redacted]-LPH-005 [参考 4.2.1.2-1]
睡眠増強作用（ヘキソバルビタール睡眠）	マウス CD-1	経口	125, 500, 2000	雄 10/群	500 及び 2000 mg/kg で睡眠時間の延長が認められた。	不適	[redacted]-LPH-005 [参考 4.2.1.2-1]
体温	ラット SD	経口	125, 500, 2000	雄 8/群	500 及び 2000 mg/kg で体温の低下が認められた。	不適	[redacted]-LPH-005 [参考 4.2.1.2-1]
協調運動	マウス CD-1	経口	125, 500, 2000	雄 10/群	2000 mg/kg で協調運動を抑制した。	不適	[redacted]-LPH-005 [参考 4.2.1.2-1]

評価対照となる組織	動物種/系統	投与方法	投与量（mg/kg）	性別及び動物数/群	特記すべき所見	GLP適用	報告書番号/文献名[資料番号]
痛覚	マウス CD-1	経口	125, 500, 2000	雄 10/群	2000 mg/kg 投与後 240～480 分に、疼痛閾値の上昇が認められた。	不適	[redacted]-LPH-005 [参考 4.2.1.2-1]
脳波	ウサギ Kbs:JW	経口	125, 500, 2000	雄 4/群	500 mg/kg 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を示した。2000 mg/kg では行動的に鎮静を示す例が見られ、脳波上で覚醒期の減少、安静覚醒ないし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。	不適	[redacted]-LPH-005 [参考 4.2.1.2-1]
脊髄反射	ラット SD	静脈内	100, 200, 400	雄 5~6/群	単シナプス反射電位及び多シナプス反射電位に影響を及ぼさなかった。	不適	J-[redacted]-0014-R [参考 4.2.1.3-1]
ジスキネジア様作用	ラット SD	線条体内 腹腔内	129～1160 µg 1000	雄 7～10/群 雄 10～14/群	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た。この症状はビガバトリン（1000 mg/kg）の腹腔内前処置及びGABAあるいはムシモールの線条体内投与によって抑制された。	不適	F-[redacted]-03 [参考 4.2.1.3-2]
フェンサイクリジン誘発多動	マウス CD-1	腹腔内	100, 200, 400, 600, 700, 800	雄 6～12/群	PCP 投与 5 時間前にビガバトリン 200～700 mg/kg を投与した場合、フェンサイクリジン誘発多動を有意に抑制した。	不適	F-[redacted]-0185 [参考 4.2.1.3-3]
摂食行動	ラット SD	腹腔内	単回：125, 250, 500, 1000 反復：250（13 日間）	雄 5～20/群	単回腹腔内投与で、用量に依存した摂餌量の減少が認められた。また、反復投与期間中に摂餌量の持続した減少が見られ、投与の中止により対照群に比べ摂餌量が若干増加した。反復投与期間中には自発運動の低下及び体重の増加抑制が認められた。	不適	Huot, 1982, Pharmacol Biochem Behav [参考 4.3-12]
攻撃性	ラット SD	腹腔内	100, 200	雄 8 pairs/群	200 mg/kg で防御的攻撃反応を抑制した。	不適	Rodgers, 1982, Pharmacol Biochem Behav [参考 4.3-30]

評価対照となる組織	動物種/系統	投与方法	投与量（mg/kg）	性別及び動物数/群	特記すべき所見	GLP適用	報告書番号/文献名[資料番号]
3)自律神経系及び体性神経系							
瞳孔径	ラット SD	経口	300	雄	瞳孔径に影響はなかった。	不適	P-[redacted]-26 [参考 4.2.1.3-4]
神経筋接合部	ラット SD	静脈内	50, 100, 200, 400	雄 5~6/群	坐骨神経電気刺激による腓腹筋の収縮に影響はなかった。	不適	J-[redacted]-0014-R [参考 4.2.1.3-1]
筋弛緩	マウス CD-1	腹腔内	200, 400, 800, 1600	雄 10/群	モルヒネ硫酸塩 60 mg/kg 皮下投与で誘発される挙尾反応を用量依存的に抑制した。また、ロータロッド試験においても運動能低下が認められた。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）、24 時間後以降には消失した。一方、ビガバトリンを複数回投与した試験では、ほとんどあるいは全く影響は認められなかった。	不適	E-[redacted]-29 [参考 4.2.1.3-5]
		腹腔内	50, 100, 200 （1 日 2 回、3 又は 3.5 日間）				
4)心血管系							
hERG カリウムチャネル	HEK293	in vitro	100, 300 µg/mL	3 細胞/群	300 µg/mL までの濃度で影響はなかった。	適	[redacted] [4.2.1.3-6]
心臓プルキンエ線維活動電位	ウサギ	in vitro	10, 100, 300 µg/mL	4 線維/群	300 µg/mL までの濃度で影響はなかった。	適	[redacted] [4.2.1.3-7]
イヌの血行動態	イヌ ビーグル	静脈内	50, 100, 200	雄 4/群	50、100 及び 200 mg/kg で 4 例中 2 例に一過性の血圧下降が見られたが、4 例の平均値では有意な変化ではなかった。心拍数にはほとんど影響を及ぼさなかった。大腿動脈血流量を 50、100 及び 200 mg/kg で増加させ、投与後 1 分における増加率はそれぞれ 81 ± 28、125 ± 38 及び 143 ± 44%であった。大腿動脈血管抵抗は血流量の変化に対応して減少した。	不適	J-[redacted]-0014-R [参考 4.2.1.3-1]

評価対照となる組織	動物種/系統	投与方法	投与量（mg/kg）	性別及び動物数/群	特記すべき所見	GLP適用	報告書番号/文献名[資料番号]
イヌの血行動態及び心電図	イヌ 雑種 ビーグル	静脈内 経口	3, 10, 30 150（1日2回、5日間）	雌雄 6/群 4/群	10 mg/kgの静脈内投与により、両側総頸動脈結紮による血圧変化に有意な影響を示したが、30 mg/kgの静脈内投与では認められなかった。150 mg/kgの1日2回、5日間経口投与で、心電図に影響を及ぼさなかった。	不適	P-[redacted]-14 [参考 4.2.1.3-8]
イヌ及びラットの血行動態	イヌ 系統不明	静脈内	10, 20, 40, 80	雌雄 6/群	イヌにおいて、10～80 mg/kgで心血管系に影響を及ぼさなかった。	不適	F-[redacted]-91 [参考 4.2.1.3-9]
	ラット 系統不明	静脈内	50, 100, 200	雄 5/群	ラットで、50 mg/kgで最大16%の血圧上昇を示したが、100及び200 mg/kg（それぞれ累積で150及び350 mg/kg）で作用は増強されなかった。		
5)呼吸器系	イヌ ビーグル	静脈内	50, 100, 200	雄 4/群	呼吸数に対し増加作用を示し、50、100及び200 mg/kg投与後1分における増加率はそれぞれ41 ± 13、106 ± 46及び143 ± 59%であった。	不適	J-[redacted]-0014-R [参考 4.2.1.3-1]
6)消化器系	マウス CD-1	経口	500, 1000, 2000	雄 8/群	マウスの消化管輸送能に影響はなかった。	不適	J-[redacted]-0014-R [参考 4.2.1.3-1]
7)水及び電解質代謝							
水及び電解質代謝	ラット SD	経口	125, 500, 2000	雄 8/群	2000 mg/kgで尿量及び電解質（Na^+、K^+及びCl^-）の排泄を増加させた。	不適	[redacted]-LPH-005 [参考 4.2.1.2-1]

評価対照となる組織	動物種/系統	投与方法	投与量（mg/kg）	性別及び動物数/群	特記すべき所見	GLP適用	報告書番号/文献名[資料番号]
尿量、電解質排泄、血清電解質	ラット SD	経口	125, 250, 500, 1000	雄 9～10/群	500及び1000 mg/kgで投与後2時間の尿量、Na^+、K^+及びCl^-の排泄を増加させた。投与後2～6時間では1000 mg/kgでK^+排泄量を増加させた以外は尿量及び各電解質排泄量に影響がなかった。投与後6～24時間では500及び1000 mg/kgで電解質の減少、更に、1000 mg/kgでは尿量の減少が見られた。500及び1000 mg/kg投与後1時間に血清Na^+濃度の上昇、4時間後では1000 mg/kgで血清Na^+濃度の上昇、Cl^-濃度の低下が認められた。	不適	J-[redacted]-0014-R [参考 4.2.1.3-1]
8)その他							
副腎皮質刺激ホルモン	ラット 系統不明	腹腔内	250, 1000	雄 例数不明	250及び1000 mg/kg投与18時間後に視床下部のGABA含量が有意に増加し、1000 mg/kg投与ではCRFが約50%減少した。ストレスによる血漿ACTHの増加が抑制された。ビガバトリンは1000 mg/kgで下垂体の基礎及びCRF又はAVP刺激によるACTH遊離を抑制した。	不適	F-[redacted]-0043 [参考 4.2.1.3-10]
プロラクチン	ラット SD	腹腔内	800	雄 例数不明	ビガバトリン800 mg/kgの単回腹腔内投与2日後に、下垂体前葉のプロラクチンmRNA量が35%減少した。	不適	F-[redacted]-158 [参考 4.2.1.3-11]

ACTH：副腎皮質刺激ホルモン、AVP：アルギニンバソプレシン、CFR：副腎皮質刺激ホルモン放出因子、ED_{50}：50%有効用量、GABA：γ-アミノ酪酸、hERG：ヒト ether-a-go-go関連遺伝子、RNA：リボ核酸。

5　薬力学的薬物相互作用試験

該当なし