

目次

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表	2
2.6.1 緒言	8
参考文献	10

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

略語及び名称一覧表

略語 (名称)	内容	
% IR	Percentage of cells with at least 5 ng (net grains/nucleus)	少なくとも5個以上の純核内粒子を含む細胞の割合
4-DAMP	4-diphenylacetoxy-N-methylpiperidine methiodide	4-ジフェニルアセトキシ-N-メチルピペリジンメチオジド
aa	Ante applicationem	投与前
AB	Apical to basolateral	頂端膜側から側底膜側
ACSF	Artificial cerebrospinal fluid	人工脳脊髄液
ADME	Absorption, distribution, metabolism, and excretion	吸収、分布、代謝、排泄
AED	Antiepileptic drug	抗てんかん薬
A/G	Albumin/globulin	アルブミン/グロブリン
AGS	Audiogenic seizure	聴原性発作
ALP	Alkaline phosphatase	アルカリホスファターゼ
ALT	Alanine aminotransferase	アラニンアミノトランスフェラーゼ
AMMC	3-[2-(N,N-diethyl-N-methylammonium)ethyl]-7-methoxy-4-methylcoumarin	3-[2-(N,N-ジエチル-N-メチルアンモニウム)エチル]-7-メトキシ-4-メチルクマリン
AMPA	α -amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionic acid	α -アミノ-3-ヒドロキシ-5-メチル-4-イソオキサゾールプロピオン酸
AMPK	AMP-activated protein kinase	AMP 活性化プロテインキナーゼ
ANP	Atrial natriuretic peptide	心房性ナトリウム利尿ペプチド
AP	Action potential	活動電位
APD ₅₀ , APD ₇₀ , APD ₉₀	Action potential duration at 50%, 70% and 90% repolarization	50、70及び90%活動電位持続時間
APTT	Activated partial thromboplastin time	活性化部分トロンボプラスチン時間
AST	Aspartate aminotransferase	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
ATP	Adenosine-5'-triphosphate	アデノシン三リン酸
AUC	Area under the curve	曲線下面積
AUC _{0-inf}	AUC extrapolated to infinity	0時間から無限時間までの曲線下面積
AUC _{0-x h}	AUC for 0-x hours	投与後0からx時間までの曲線下面積
AUC _{0-x h, ss}	AUC for 0-x hours at steady state	定常状態における投与後0からx時間までの曲線下面積
AUC _{last}	AUC to the last sampling time with a quantifiable concentration	時間0から濃度定量可能最終時点までの曲線下面積
AV	Atrio-ventricular	房室
AVP	Arginine · vasopressin	アルギニン・バソプレッシン
b.w.	Body weight	体重
BA	Basolateral to apical	側底膜側から頂端膜側
BDNF	Brain-derived neurotrophic factor	脳由来神経栄養因子
BFC	7-benzoyl-4-(trifluoromethyl) coumarin	7-ベンゾイル-4-トリフルオロメチルクマリン
BFH	Benign fibrous histiocytoma	良性線維性組織球腫
BIC	Bicuculline	ビククリン
bid	Bis in die (twice daily)	1日2回投与
BLQ	Below lower limit of quantification	定量下限未満
BP	Blood pressure	血圧
bpm	Beats per minute	1分間の拍動数
BUN	Blood urea nitrogen	血中尿素窒素
CAC	Carcinogenicity Assessment Committee	発がん性評価委員会
CBF	Cerebral blood flow	脳血流量
CBZ	Carbamazepine	カルバマゼピン
CCK-8	Cholecystokinin 8	コレシストキニン-8
cDNA	Complementary DNA (deoxyribonucleic acid)	相補的DNA
CEC	3-cyano-7-ethoxycoumarin	3-シアノ-7-エトキシクマリン
CGRP	Calcitonin gene related peptide	カルシトニン遺伝子関連ペプチド
CHC	3-cyano-7-hydroxycoumarin	3-シアノ-7-ヒドロキシクマリン
CHMP	Committee for Medicinal Products for Human Use	医薬品委員会

略語 (名称)	内容	
CHO cells	Chinese hamster ovary cells	チャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 細胞
CL	Clearance	クリアランス
CL/F	Oral clearance	(経口) クリアランス
CL _{int}	Intrinsic clearance	固有クリアランス
C _{max}	Maximal observed plasma concentration of drug	最高血漿中濃度
C _{max, ss}	Maximal observed plasma concentration of drug at steady state	定常状態における最高血漿中濃度
CMC	Carboxymethylcellulose	カルボキシメチルセルロース
CNQX	6-cyano-7-nitroquinoxaline-2,3-dione	6-シアノ-7-ニトロキノキサリン-2,3-ジオン
CNS	Central nervous system	中枢神経系
CO	Cardiac output	心拍出量
CRMP-2	Collapsing response mediator protein-2 (also known as DRP-2, TOAD-64 or Ulip2)	コラプシン応答メディエータたん白質-2 (別名: DRP-2、TOAD-64 又は Ulip2)
CSD	Cortical spreading depression	皮質拡張性抑制
CTD	Common technical document	コモンテクニカルドキュメント
CV	Coefficient of variation	変動係数
CYP	Cytochrome p450	チトクローム P450
D, d	Day	日
DA	Dopamine	ドパミン
DADLE	[D-Ala2, D-Leu5] enkephalin	D-アラニン (2) -D-ロイシン (2) -エンケファリン
DAP	Diastolic arterial pressure	拡張期動脈圧
dATPαS	2'-deoxyadenosine 5'-O-(1-thiotriphosphate), sodium	2'-デオキシアデノシン 5'-O- (1-チオ三リン酸) ナトリウム
DBF	Dibenzylfluorescein	ジベンゾイルフルオレセイン
DC	Direct current	直流電流
DCKA	5,7-dichlorokynurenic acid	5,7-ジクロロキヌレン酸
ddC	Dideoxycytidine	ジデオキシシチジン
DDTC	Sodium diethyldithiocarbamate hydrate	ジエチルジチオカルバミン酸ナトリウム水和物
DMSO	Dimethylsulfoxide	ジメチルスルホキシド
DNA	Desoxyribonucleic acid	デオキシリボ核酸
+dP/dt	Velocity of pressure rise	左心室内圧上昇速度
-dP/dt	Velocity of pressure descent	左心室内圧下降速度
DPCPX	8-cyclopentyl-1,3-dipropylxanthine	8-シクロペンチル-1,3-ジプロピルキサンチン
DRP-2	Dihydropyrimidinase-related protein-2 (also known as CRMP-2, TOAD-64 or Ulip2)	ジヒドロピリミジナーゼ関連たん白質-2 (別名: CRMP-2、TOAD-64 または Ulip2)
DTG	1,3-di-o-tolylguanidine	1,3-ジ- <i>o</i> -トリルグアニジン
E. coli	<i>Escherichia Coli</i>	大腸菌
EC	European Commission	欧州委員会
EC ₂₀ ; EC ₅₀ ; EC ₈₀	Concentration of test substance showing 20, 50, 80% of maximal response	20、50、80%効果濃度
ECG	Electrocardiogram	心電図
ED ₅₀	Effective dose of 50% maximal response	50%効果用量
EEG	Electroencephalogram	脳波図
EFC	7-Ethoxy-4-(trifluoromethyl)coumarin	7-エトキシ-4-トリフルオロメチルクマリン
eg	Exempli gratia (for example)	例えば
EGF	Epidermal growth factor	上皮成長因子
EMA	European Agency for the Evaluation of Medicinal Products	欧州医薬品審査庁
EPM	Elevated plus maze	高架式十字迷路
EPSP	Excitatory postsynaptic potential	興奮性シナプス後電位
eq	Equivalents	当量
EROD	Ethoxyresorufin-O-deethylation	エトキシレゾルフィン O-脱エチル化
et al	At alia (and others)	及びその他
F, f	Female	雌
F ₀ , F ₁ , F ₂	Number of generation with F ₀ being the parent generation	親世代、第1世代、第2世代

略語 (名称)	内容	
FDA	Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
fEPSP	Field excitatory post synaptic potentials	フィールド興奮性シナプス後電位
G	Gestation day	妊娠日
GABA	Gamma- aminobutyric acid	γ -アミノ酪酸
GAERS	Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg	ストラスブール遺伝性欠神てんかんラット
GBP	Gabapentine	ガバペンチン
GGT	Gamma- glutamyltransferase	γ -グルタミルトランスフェラーゼ
GI	Gastrointestinal	胃腸
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施基準
GTCS	Generalized tonic-clonic seizures	全般性強直間代性発作
H. & E. stained	Haematoxylin-eosin stained	ヘマトキシリン・エオジン染色
hCGRP α	Human α -calcitonin gene-related peptide	ヒト α カルシトニン遺伝子関連ペプチド
Hb	Hemoglobin	ヘモグロビン
HCT	Hematocrit	ヘマトクリット値
HEK293 cells	Human embryonic kidney cells	ヒト胎児腎細胞
hERG	Human ether-a-go-go related gene	ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子
HFC	7-hydroxy-4- (trifluoromethyl)coumarin	7-ヒドロキシ-4- (トリフルオロメチル) クマリン
HLM	Human liver microsomes	ヒト肝ミクロソーム
HPLC	High-performance liquid chromatography	高速液体クロマトグラフィー
HPMC	Hydroxypropyl methylcellulose	ヒドロキシプロピルメチルセルロース
HR	Heart rate	心拍数
I/Ki	Maximum therapeutic inhibitor concentration over inhibition constant	阻害定数 (Ki) に対する最高治療濃度 (I) の比
I/V	Current-voltage	電流/電圧
ia	Intraarterial	動脈内
ic	Intracutaneous	皮内
IC ₅₀	Concentration of test substance which shows 50% of the maximum inhibition	50%阻害濃度
ICC	Interstitial cells of cajal	カハール介在細胞
ICH	International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use	日米 EU 医薬品規制調和国際会議
ie	Id est (in other words/that is)	つまり
IgG	Immunoglobulin G	免疫グロブリン G
IgM	Immunoglobulin M	免疫グロブリン M
IL-8	Interleukin-8	インターロイキン 8
im	Intramuscular	筋肉内
INN	International nonproprietary name	国際一般名
ip	Intraperitoneal	腹腔内投与
IP3	Inositol triphosphate	イノシトール三リン酸
ISE	Integrated Summary of Efficacy	統合有効性概要
ISS	Integrated Summary of Safety	統合安全性概要
iv	Intravenous	静脈内投与
K _D	Dissociation constant	解離定数
K _{des,OC}	Organic carbon normalized desorption coefficient	有機炭素脱離係数
K _i	Inhibition constant	阻害定数
K _m	Michaelis constant	ミカエリス定数
K _{OC}	Organic carbon normalized adsorption coefficient	有機炭素吸着係数
L	Lactation day	哺育日
LC	Liquid chromatography	液体クロマトグラフィー
LCM	Lacosamide	ラコサミド
LC-MS	Liquid chromatography-mass spectrometry	液体クロマトグラフィー質量分析法
LC-MS/MS	Liquid chromatography-tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィータンデム質量分析法
LD ₅₀	Dose of test substance which shows 50% mortality	50%致死量
LDH	Lactate dehydrogenase	乳酸脱水素酵素
LEV	Levetiracetam	レベチラセタム

略語 (名称)	内容	
LLOQ	Low limit of quantification	定量下限
LOEC	Lowest-observed-effect-concentration	最低影響濃度
Log K _{ow}	Common logarithm of the n-octanol/water partition coefficient	オクタノール/水 分配係数
LSC	Liquid scintillation counter	液体シンチレーションカウンター
LSD	Lysergic acid dimethylamide	リゼルグ酸ジエチルアミド
LTG	Lamotrigine	ラモトリギン
LTP	Long-term potentiation	長期増強
LUC	Large unstained cells	大型非染色細胞
LVEDP	Left ventricular enddiastolic pressure	左心室拡張終末期圧
LVP	Left ventricular pressure	左心室圧
M, m	Male; M: metabolite; m: meta	雄; 代謝物; メタ
MAP	Mean arterial pressure	平均動脈圧
MC	Methylcellulose	メチルセルロース
MCAO	Middle cerebral artery occlusion	中大脳動脈閉塞
MCH	Mean corpuscular hemoglobin	平均赤血球ヘモグロビン量
MCHC	Mean corpuscular hemoglobin concentration	平均赤血球血色素濃度
MCV	Mean corpuscular volume	平均赤血球容積
MES	Maximal electroshock seizure	最大電気ショック発作
MET	Metrazol	メトラゾール
MFC	7-methoxy-4-trifluoromethylcoumarin	7-メトキシ-4-トリフルオロメチルクマリン
MFH	Malignant fibrous histiocytoma	悪性線維性組織球腫
MIA	Monosodium iodoacetate	ヨード酢酸モノナトリウム
MIP-1 α	Macrophage inflammatory protein-1 α	マクロファージ炎症性たん白質-1 α
MRHD	Maximum recommended human dose	最高臨床推奨用量
MRMT-1	Rat cell line derived from mammary carcinoma	ラット乳がん由来する細胞株
MTD	Maximum tolerated dose	最大耐量
n	Number	例数
n.t.	Not tested	試験せず
NIE-115	Mouse neuroblastoma cell line	マウス神経芽細胞腫細胞株
NA	Not applicable	該当なし
NADPH	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate	還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸
Nav 1.x	Voltage-gated sodium channel type 1.X	1.x 型電位開口型 Na ⁺ チャネル
ND	Not detected	検出せず
NE	Norepinephrine	ノルエピネフリン
n.e.	Not examined	検査せず
NECA	5'-N-ethylcarboxamideadenosine	5'-N-エチルカルボキサミドアデノシン
NIH	National institutes of health	国立衛生研究所 (米)
NINDS	National Institute of Neurological Disorders and Stroke	国立神経疾患・脳卒中研究所 (米)
NKA	Neurokine A	ニューロキニン A
NKB	Neurokine B	ニューロキニン B
NLT	Not less than	多くても
NMDA	N-methyl-D-aspartate	N-メチル-D-アスパラギン酸
NMT	Not more than	少なくとも
NNG	Net nuclear grain count	純核内粒子数
NOAEL	No observed adverse effect level	無毒性量
NOEC	No observed effect concentration	無影響濃度
NOEL	No observed effect level	無影響量
nr	Not reported	報告なし
NS	No samples; not significant	サンプル欠損; 有意差なし
NSV	Not specifically visible	明確に見えず
NT-3	Neurotrophin-3	ニューロトロフィン-3
NZW	New Zealand white	ニュージーランドホワイト
o	Ortho	オルト

略語 (名称)	内容	
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development	経済協力開発機構
OGD	Oxygen glucose deprivation	酸素グルコース欠乏
p	Para	パラ
pa	Post applicationem	投与後
P _{app}	Apparent coefficient of permeation	みかけの透過係数
PBS	Phosphate buffered saline	リン酸緩衝生理食塩液
PCE	Polychromatic erythrocytes	多染色性赤血球
PDBU	Phorbol 12,13-dibutyrate	ホルボール 12,13 ジブチラート
PFC test	Plaque-forming colony test	プラーク形成細胞試験
Pgp	P-glycoprotein	P-糖たん白質
pH	Negative common logarithm of the proton concentration	水素イオン指数
PHT	Phenytoin	フェニトイン
PIC	Picrotoxin	ピクロトキシン
PND	Postnatal day	生後日数
po	Per os (orally)	経口投与
PPI	Prepulse inhibition	プレパルス抑制
PPS	Perforant path stimulation	貫通路刺激
PTZ	Pentylentetrazole	ペンチレンテトラゾール
pV	Paravenous	静脈傍
QTc	QT interval duration corrected for heart rate variation	心拍数の変化で補正した QT 間隔
QWBA	Quantitative whole body autoradiography	定量的全身オートラジオグラフィ
R	Accumulation factor	累積係数
RAF	Relative activity factors	相対的活性係数
RH-a	Rat hepatocytes adherent	ラット接着型肝細胞
RH-s	Rat hepatocytes suspension	ラット浮遊型肝細胞
RLM	Rat liver microsomes	ラット肝ミクロソーム
RT	Retention time	保持時間
RUF	Rufinamide	ルフィナミド
S. typhimurium	<i>Salmonella typhimurium</i>	ネズミチフス菌
S9	Rat liver homogenate (submitochondrial fraction)	肝ホモジネートミトコンドリア亜分画
SAP	Systolic arterial pressure	収縮期動脈圧
SBA	Summary Basis of Approval	新医薬品承認審査概要
sc	Subcutaneous	皮下投与
SCN5A	Sodium channel type 5A (cardiac sodium channel)	5A 型 Na ⁺ チャネル (心筋 Na ⁺ チャネル)
SD	Sprague-Dawley; standard deviation	Sprague-Dawley ; 標準偏差
S.E.M.	Standard error of the mean	標準誤差
sEPSC/sIPSC	Spontaneous excitatory/inhibitory postsynaptic current	自発性興奮性シナプス後電流/抑制性シナプス後電流
Sf9 cell	Invertebrate cell line derived from spodoptera frugiperda	Spodoptera frugiperda 由来無脊椎細胞株
SHR	Spontaneously hypertensive rats	自然発症高血圧ラット
SIH	Stress-induced hyperthermia	ストレス性高体温症
SkM1	Skeletal voltage-gated sodium channel (Na _v 1.4)	骨格筋型電位開口型 Na ⁺ チャネル (Na _v 1.4)
SNL	Spinal nerve ligation	脊髄神経結紮
SOD1	Superoxide dismutase 1	スーパーオキシドジスムターゼ 1
SOP	Standard operating procedure	標準操作手順書
SRBC	Sheep red blood cells	ヒツジ赤血球
SRF	Sustained repetitive firing	持続的連続発火
SSSE	Self-sustaining status epilepticus	自発性てんかん重積
SV	Stroke volume	1 回拍出量
SWD	Spike wave discharges	棘徐波発射
T _{1/2}	Terminal half-life	終末相半減期
TCP	Tranlycypromine (trans-2-phenylcyclopropylamine)	トラニルシプロミン
TD	Test day	試験日

略語 (名称)	内容	
TEAE	Treatment-emergent adverse events	試験治療下で発生した有害事象
TK	Toxicokinetics, thymidine kinase	トキシコキネティクス、チミジンキナーゼ
T _{max}	Time to reach C _{max}	最高血漿中濃度到達時間
TNF	Tumor necrosis factor	腫瘍壊死因子
TPM	Topiramate	トピラマート
TPT	Thromboplastin time	トロンボプラスチン時間
TTX	Tetrodotoxin	テトロドトキシン
TW	Test week	試験週
UDS	Unscheduled DNA synthesis	不定期 DNA 合成
UGT	Uridine diphosphate glucuronosyltransferase	ウリジン二リン酸グルクロノシルトランスフェラーゼ
Ulip-2	Unc-33 like protein-2 (also known as DRP-2, TOAD-64 or CRMP-2)	unc-33 様たん白質-2 (別名 : DRP-2、CRMP-2 又は TOAD-64)
UV	Ultraviolet light	紫外線
v/v	Volume/volume	体積/体積
V ₅₀	Voltage at half-maximal ion channel availability	最大利用度の 50%を示す不活性化電位
V _d , V _d /F	Volume of distribution	分布容積
VGSC	Voltage-gated sodium channel	電位依存性 Na ⁺ チャネル
VIP	Vasoactive intestinal peptide	血管作動性腸管ペプチド
V _{max}	Maximal rate of depolarization; maximal upstroke velocity; maximum velocity	最大脱分極速度、最大立ち上がり速度、最大反応速度
VPA	Valproic acid	バルプロ酸
W	Week	週
w/w	Weight/weight	重量/重量
WBC	White blood cell	白血球
WBP	Whole body plethysmography	全身プレチスモグラフィ
ZNS	Zonisamide	ゾニサミド

2.6.1 緒言

ラコサミド（開発コード SPM927、以前の別名 harkoseride、ADD234037）は機能性アミノ酸の一種として合成され、開発された。ラコサミドは、てんかんを有する患者の部分発作（二次性全般化発作を含む）に対する他の抗てんかん薬との併用療法として長期使用するために SCHWARZ BIOSCIENCES 社（合併により現在ベルギー国 UCB 社）によって開発された。

てんかんは世界中で最も一般的な神経学的疾患のひとつである。およそ世界の人口の 1% に当たる 6000 万人以上の人々がてんかんに罹患している¹⁾。てんかんは、脳の正常な電氣的活動を自然発生的で防ぎようがなく障害することを特徴とするような慢性疾患群のひとつである。

てんかんを有するほとんどの患者は長期の薬物療法を必要としている²⁾。過去 10 年間に、てんかんの治療のために新規の抗てんかん薬及び迷走神経刺激療法を含めいくつかの新しい選択肢が提供されてきた。新規の抗てんかん薬は、薬物動態及び副作用プロファイルを含めて、作用機序及び活性のスペクトラム等が古い薬剤とは異なる^{3,4)}。しかしながら、いまだに患者の 30% 以上において、現在市販されている抗てんかん薬では発作制御は不十分であり⁵⁾、重大な薬物副作用が生じている。そのため、有効性及び忍容性を改善した抗てんかん薬に対する要求は依然として高い^{3,6)}。

ラコサミドの化学名は (2R)-2-Acetamido-N-benzyl-3-methoxypropanamide である。

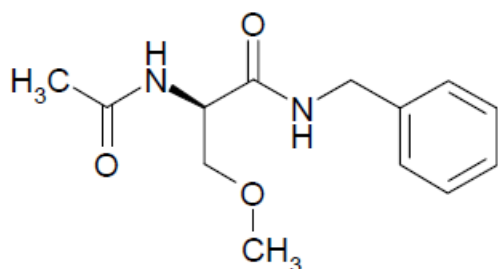


図 2.6.1-1 ラコサミドの化学構造

ラコサミドの分子量は 250.29 で、分子式は $C_{13}H_{18}N_2O_3$ である。ラコサミド原薬の一般情報は 3.2.S.1 項に記載されている。

ラコサミドの薬理活性は、ユタ大学における国立神経疾患・脳卒中研究所 (NINDS) の抗けいれん薬のスクリーニングプログラムにより特定されてきた。このプログラム及びその後の実験において、ラコサミドは様々なげっ歯類モデルにおける、全般性及び部分発作並びにてんかん重積に対する効果を示した。すなわち、最大電気ショック発作 (MES)、キンドリング発作、聴原性発作 (AGS)、自発性てんかん重積 (SSSE) 及び化学的けいれん発作モデル等で発作抑制作用が認められた (2.6.2.2 (1) 項)。

ラコサミドの新規の作用機序として、電位依存性 Na^+ チャネル (VGSC) の緩徐な不活性化の選択的促進が明らかにされている。

【効能・効果】

他の抗てんかん薬で十分な効果が認められないてんかん患者の部分発作（二次性全般化発作を含む）に対する抗てんかん薬との併用療法

【用法・用量】

通常、成人にはラコサミドとして1日100 mgより投与を開始し、その後1週間以上の間隔をあけて増量し、維持用量を1日200 mgとするが、いずれも1日2回に分けて経口投与する。なお、症状により1日400 mgを超えない範囲で適宜増減するが、増量は1週間以上の間隔をあけて1日用量として100 mg以下ずつ行うこと。

参考文献

- 1) Dichek B. Epilepsy: an ancient ailment that still eludes a cure. *Scrip Magazine* 1999 Feb; 9-11.
- 2) Perucca E. The new generation of antiepileptic drugs: advantages and disadvantages. *Br J Clin Pharmacol.* 1996;42 (5):531-43.
- 3) Schmidt D, Rogawski MA. New strategies for the identification of drugs to prevent the development or progression of epilepsy. *Epilepsy Res.* 2002;50 (1-2):71-8.
- 4) Herman ST, Pedley TA. New options for the treatment of epilepsy. *JAMA.* 1998 Aug 26;280 (8):693-4.
- 5) EMEA (The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products). Note for the guidance on clinical investigation of medicinal products in the treatment of epileptic disorder. CPMP/EWP/566/98 rev 1 (16 Nov 2000).
- 6) Sander JW. New drugs for epilepsy. *Curr Opin Neurol.* 1998;11 (2):141-8.

目次

2.6.2	薬理試験の概要文	2
2.6.2.1	まとめ	2
2.6.2.2	効力を裏付ける試験	5
2.6.2.3	副次的薬理試験	36
2.6.2.4	安全性薬理試験	38
2.6.2.5	薬力学的薬物相互作用試験	53
2.6.2.6	考察及び結論	53
2.6.2.7	図表	60
参考文献	61

2.6.2 薬理試験の概要文

2.6.2.1 まとめ

(1) 効力を裏付ける試験

ラコサミド（開発コード SPM 927、以前の別名 harkoseride、ADD234037）の抗てんかん作用について種々のてんかんモデルを用いて評価した。ラコサミドは聴原性発作マウスの発作を 0.63 mg/kg の 50%効果用量（ED₅₀）で抑制した。マウス扁桃核キンドリング及びラット海馬キンドリングの発作をそれぞれ 20 mg/kg（70%抑制）及び 13.5 mg/kg（ED₅₀）で抑制した。また、ラット扁桃核キンドリングモデルにおいて、キンドリング進展を抑制した。マウス及びラットの最大電気ショック発作（MES）モデルで、それぞれ 4.5 mg/kg（腹腔内投与）及び 3.9 mg/kg（経口投与）の ED₅₀ で後肢伸筋の強直性けいれんを抑制した。これは既存の抗てんかん薬で報告されている作用用量と同様の範囲であった。マウス 6 Hz てんかんモデルにおいて、ラコサミドは、10.0 mg/kg（腹腔内投与）の ED₅₀ で発作を抑制した。けいれん誘発化学物質であるピククリン、ピクロトキシン又はペンチレンテトラゾール（PTZ）の皮下投与により誘発されたマウス及びラットの化学的けいれん発作に対する抑制作用は認められなかったが、ラコサミドは、4.5 mg/kg（腹腔内投与）でマウスの PTZ の点滴静脈内投与により誘発された発作発現の閾値を上昇させ、更に N-メチル-D-アスパラギン酸（NMDA）誘発発作に対して 10、20 及び 50 mg/kg（腹腔内投与）で用量依存的な抑制作用を示した。ラコサミドは各種のてんかん重積モデルにおいても発作抑制作用がみられた。欠神てんかんラットの欠神発作に対する抑制作用はみられなかった。

以上の結果、ラコサミドは種々のてんかんモデルにおいて発作抑制作用を示し、化学的けいれん発作及び電氣的に誘発した発作に対しても作用が認められた。これらのモデルの結果より、ラコサミドは部分発作、全般発作（欠神発作は除く）及びてんかん重積に対する有効性が期待される。

作用機序

ラコサミドの作用機序解明のため、複数の *in vitro* 試験を実施した。

ラコサミドは試験された 100 以上の受容体、酵素、トランスポータ及びイオンチャネルのいずれに対しても明らかな結合親和性は示さなかった。ラコサミドは電位依存性 Na⁺チャネルの急速な不活性化に対する作用を示さなかったが、緩徐な不活性化に対する選択的な促進作用を示した。種々の電位依存性 Ca²⁺又は K⁺チャネルに対するラコサミドの作用は認められなかった。以前の研究では、コラプシン応答メディエータたん白質-2（CRMP-2）とラコサミドの直接的な相互作用が示唆されたが、最近の研究では、CRMP-2 との相互作用は確認できなかった。

したがって、ラコサミドの作用機序は Na⁺チャネルの緩徐な不活性化の促進と考えられる。

ラコサミドの分子レベルの活性化機序の推定模式図を [図 2.6.2.1-1](#) に示した。

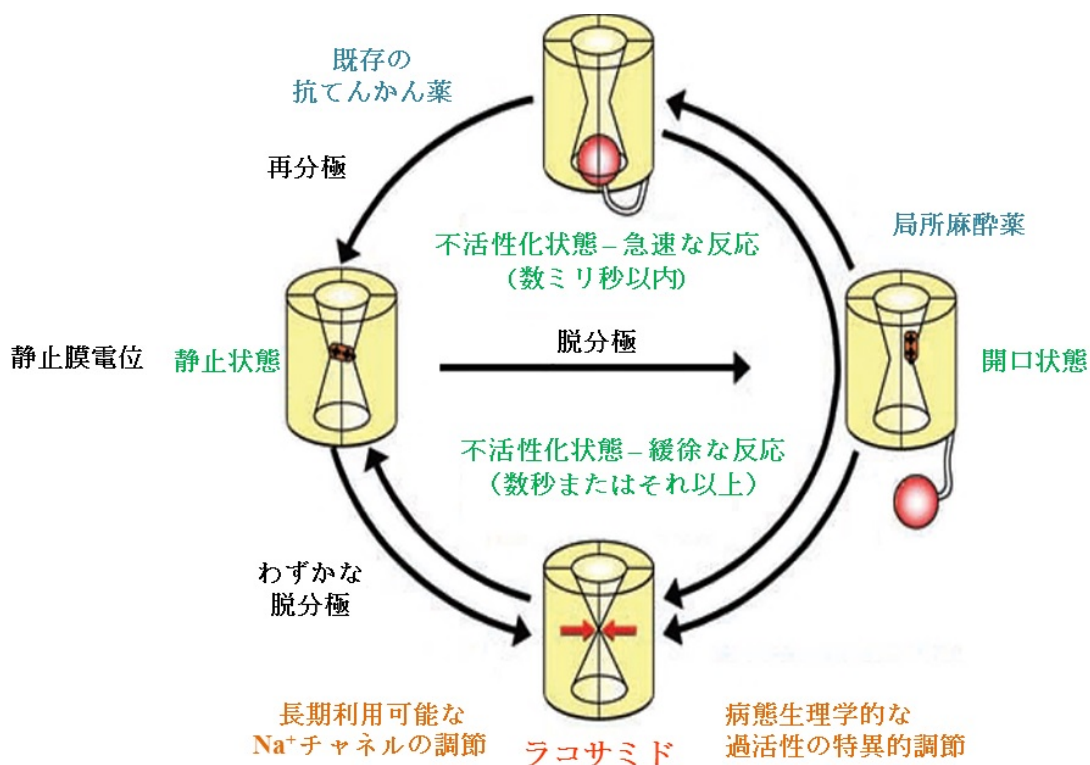


図 2.6.2.1-1 ラコサミドの電位依存性 Na^+ チャンネルに対する分子レベルの活性化機序の推定模式図

(CNS Drug Reviews 2007;13(1):21-42、Fig.2 より) ¹⁾

(2) 副次的薬理試験

ラコサミドは、*in vitro* 及び筋萎縮性側索硬化症を含む *in vivo* の神経変性疾患モデルにおいて、神経保護作用を示した。また、ラコサミドは本態性振戦の動物モデルにおいて有効性を示した。

ラコサミドは統合失調症モデルにおいてクロザピンとの併用により有効性の増強を示し、また、ストレス誘発性不安モデルにおいては抗不安作用を示した。一方、他の2つの不安モデル（高架式十字迷路法及びソーシャル・インタラクション試験）では作用は認められず、強制水泳試験における抗うつ作用及びd-アンフェタミン/クロルジアゼポキシド試験における抗躁作用も認められなかった。

(3) 安全性薬理試験

ラコサミドの中樞神経系、心血管系、呼吸器系、消化器系及び腎臓に対する影響を評価するために安全性薬理試験を実施した。

マウス及びラットを用いた中樞神経系に及ぼす影響を検討した結果、ラコサミドは行動抑制作用を示した。高用量では運動失調、振戦がみられ、時々けいれんも認められた。

心血管系に対しては、ラコサミドは麻酔イヌ及び麻酔サルを用いたいくつかの試験で心抑制作用を示し、血圧の低下、心筋の収縮性及び心拍出量の低下が認められた。また、心房及び心室伝導性の遅延、あるいは房室 (AV) ブロック及び AV 解離が認められた。*In vitro* 試験では、ラコサミド

はプルキンエ線維における心筋活動電位の持続時間を短縮させ、活動電位最大立ち上がり速度を低下させた。また、組換えヒト心臓 5A 型 Na⁺チャネル (SCN5A) により介在される心臓 Na⁺電流を阻害した。これらの作用は日本人における予定最高用量で到達する血漿中濃度の上限付近から認められた。*In vitro* 試験におけるヒト ether-a-go-go 関連遺伝子 (hERG) 電流及び *in vivo* 試験での QT 間隔に対してラコサミドは臨床的に意味のある作用を示さなかった。更に、心臓 Ca²⁺チャネルに対する作用も認められなかった。以上の *in vitro* 試験の結果から、*in vivo* 試験でみられた陰性変伝導及び変力作用はラコサミドの心臓 Na⁺チャネルとの相互作用によるものと考えられる。

動物試験における実験条件（麻酔下で外科的な処置が施された動物）と臨床条件との直接的な比較は出来ないが、ラコサミドの心臓伝導に対する作用は、ヒト（アジア人）に 200 mg を 1 日 2 回 3.5 日間経口投与したときに到達する血漿中濃度（12.0 µg/mL、CV%：16.8 5.3.3.3.3 報告書番号 SP661）において認められた。よって、臨床試験では心電図（ECG）のモニタリングの実施が推奨された。

呼吸器系、消化器系及び腎臓において、ラコサミドは全く又はほとんど影響を示さなかった。いくつかの毒性試験及び行動試験では高用量で呼吸数の減少がみられたが、ラットにおけるプレシモグラフでの測定ではヒトでの治療薬物血漿中濃度が得られる用量では呼吸に対する作用はみられなかった。また、自律神経作動薬（アセチルコリン、エピネフリン、ノルエピネフリン、イソプレテレンール及びヒスタミン）の血圧に対する作用又はアセチルコリン、ヒスタミン及びセロトニン誘発による回腸収縮に対して一貫した相互作用は認められなかった。ラコサミドはラットの腎臓に影響を及ぼさなかった。*In vitro* の摘出回腸ではラコサミドによる鎮痙作用はみられなかったが、*in vivo* ではラコサミドによりラットの消化管運動の低下が認められた。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

(1) てんかんモデルでの試験

ラコサミドは国立神経疾患・脳卒中研究所（NINDS、米）の抗けいれん薬スクリーニングプログラムにおいて評価された。

1) 聴原性発作モデル（参考 4.2.1.1.1 報告書番号 NO1-NS-4-2311、表 2.6.3.2A）

雌雄の聴原性発作（AGS）マウスを用いた音響誘発発作に対するラコサミドの作用を検討した。

AGS マウスを用い、ラコサミド（腹腔内投与）の音響刺激（110 dB、11 kHz、20 秒間）による後肢伸筋の強直性けいれんに対する作用を検討した。ラコサミドは刺激を与える 30 分前に投与した。

その結果、ラコサミドは雌雄マウスにおける音響誘発発作を抑制し、その ED₅₀ は 0.63 mg/kg であった。

2) キンドリング発作に対する作用

i) マウス扁桃核キンドリング発作に対する作用（4.2.1.1.2 報告書番号 CNS10006、表 2.6.3.2A）

ラコサミドのマウス扁桃核キンドリング発作に対する作用を検討した。

雄マウス（C57BL6J、各群 9～10 例）を用い、麻酔下で扁桃核に双極電極を植え込み、10 日間の回復期間後、双極電極を介して電気刺激（单相パルス、250 μA、1 ミリ秒、50 Hz、1 秒間）によりキンドリングを誘発させた。発作スコア（Racine スケール）5 の発作が少なくとも 5 回連続発現することによりキンドリング完成とした。キンドリング完成マウスに、ラコサミドの 3、10、15 及び 20 mg/kg を腹腔内投与し、30 分後に同一の電気刺激により発現する発作を観察した。

その結果、二次性全般発作（スコア≥3 の割合）に対して、20 mg/kg では有意な抑制（70%）がみられた（図 2.6.2.2-1 : A）。

発作スコアの中央値は 3 mg/kg から有意に低下したが、用量依存性はみられなかった（図 2.6.2.2-1 : B）。20 mg/kg 投与では発作スコアは、投与前の 5 から 1 まで明らかな減少を示した。後発射持続時間については 10 mg/kg 以上で、用量依存的で有意な短縮がみられた（図 2.6.2.2-1 : C）。

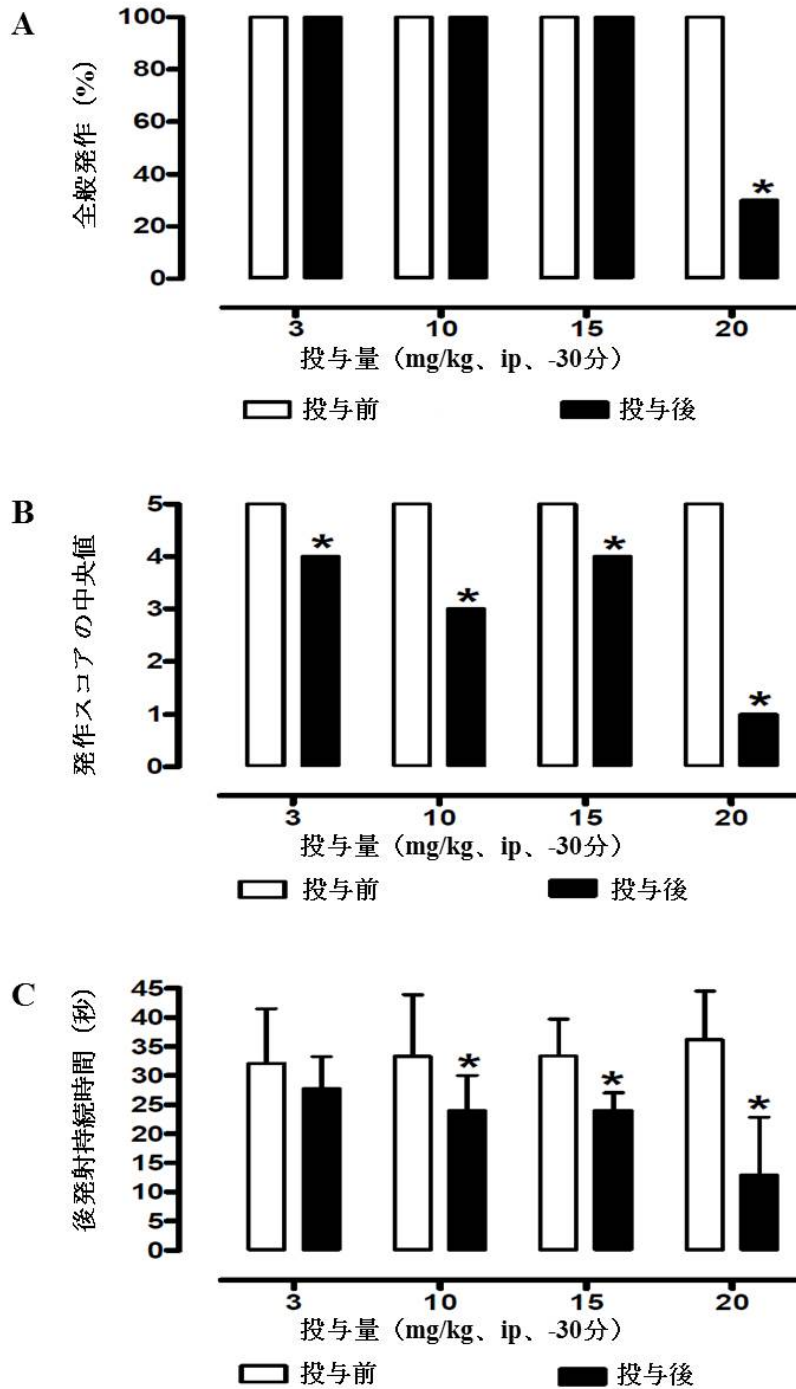


図 2.6.2.2-1 扁桃核キンドリングマウスにおけるラコサミドの発作パラメータに対する作用

* p < 0.05 (投与前値を対照)

A: 全般発作 (Fisher's 正確確率検定)

B: 発作スコア(Racine スケール) (Wilcoxon 符号付き順位検定)

C: 後発射持続時間: (t 検定)

(報告書番号 CNS10006、Fig. 6:1 より)

ii) ラット海馬キンドリング発作に対する作用 (参考 4.2.1.1.1 報告書番号 NO1-NS-4-2311、表 2.6.3.2A)

雄ラット (Sprague-Dawley : SD、各群 7~8 例) を用い、海馬腹側部に双極性電極を植え込んだ。1 週間の回復期間後、双極性電極を介して 6 時間の間に 30 分間隔で刺激 (二相パルス、200 μ A、1 ミリ秒、50 Hz、10 秒トレイン、1 日 12 回) を、1 日おきに 5 日間 (全 60 回刺激) 繰り返し、Racine スケール Stage 5 のキンドリングラットを作成した。電気刺激を 1 週間中止後ラコサミド (7、13、19 及び 25 mg/kg) を単回腹腔内投与し、発作スコア (Racine スケール) 及び後発射持続時間を指標としてその作用を評価した。更に、海馬キンドリングラットに対するラコサミド 25 mg/kg の単回腹腔内投与による作用を既存の抗てんかん薬の最大有効量 (フェニトイン 150 mg/kg、カルバマゼピン 50 mg/kg、バルプロ酸 250 mg/kg 及びエトスクシミド 250 mg/kg) における作用と比較検討した。

その結果、ラコサミドの発作スコアの低下 (5 から 3 以下) 作用の ED₅₀ は 13.5 mg/kg であった。ラコサミドは 25 mg/kg で、Stage 5 の発作に対し効果的であり、更に、後発射持続時間を用量依存的に抑制した (表 2.6.2.2-1)。

更に、ラコサミド 25 mg/kg では海馬キンドリングラットにおいて、発作スコアの低下ではスコアを 1 以下まで低下させたバルプロ酸とほぼ同程度の効果を示し、後発射持続時間の減少 (>85%) は、他の抗てんかん薬より大きかった (図 2.6.2.2-2)。

表 2.6.2.2-1 海馬キンドリングラットにおけるラコサミド (腹腔内投与) の抗けいれん作用

測定 時間	用量 (mg/kg)	発作スコア ^a		ED ₅₀ (mg/kg)	後発射持続時間 (秒) (平均値±S.E.M.)
		各個体の個別値	平均値		
15 分間	7	4, 4, 5, 5, 0, 4, 5, 4	3.9	13.5 (9.11~17.8) ^b	64.5 ± 4.5
	13	4, 4, 4, 0, 1, 4, 5, 0	2.7		34.6 ± 8.3*
	19	0, 0, 1, 0, 5, 0, 1	1.0*		13.4 ± 10.1*
	25	0, 1, 0, 0, 4, 0, 1, 0	0.8*		11.0 ± 10.2*

a : Racine スケール

Stage 1 : 口及び顔の動作

Stage 2 : Stage 1 の症状 + 點頭けいれん

Stage 3 : Stage 2 の症状 + 前肢の間代性けいれん

Stage 4 : Stage 3 の症状 + 立ち上がり

Stage 5 : Stage 4 の症状 + 転倒

b : 95%信頼区間

*p < 0.05、投与前値と比較して有意

(発作スコア : Mann-Whitney の U 検定、後発射持続時間 : Student の t 検定)

(報告書番号 NO1-NS-4-2311、Table 2 より)

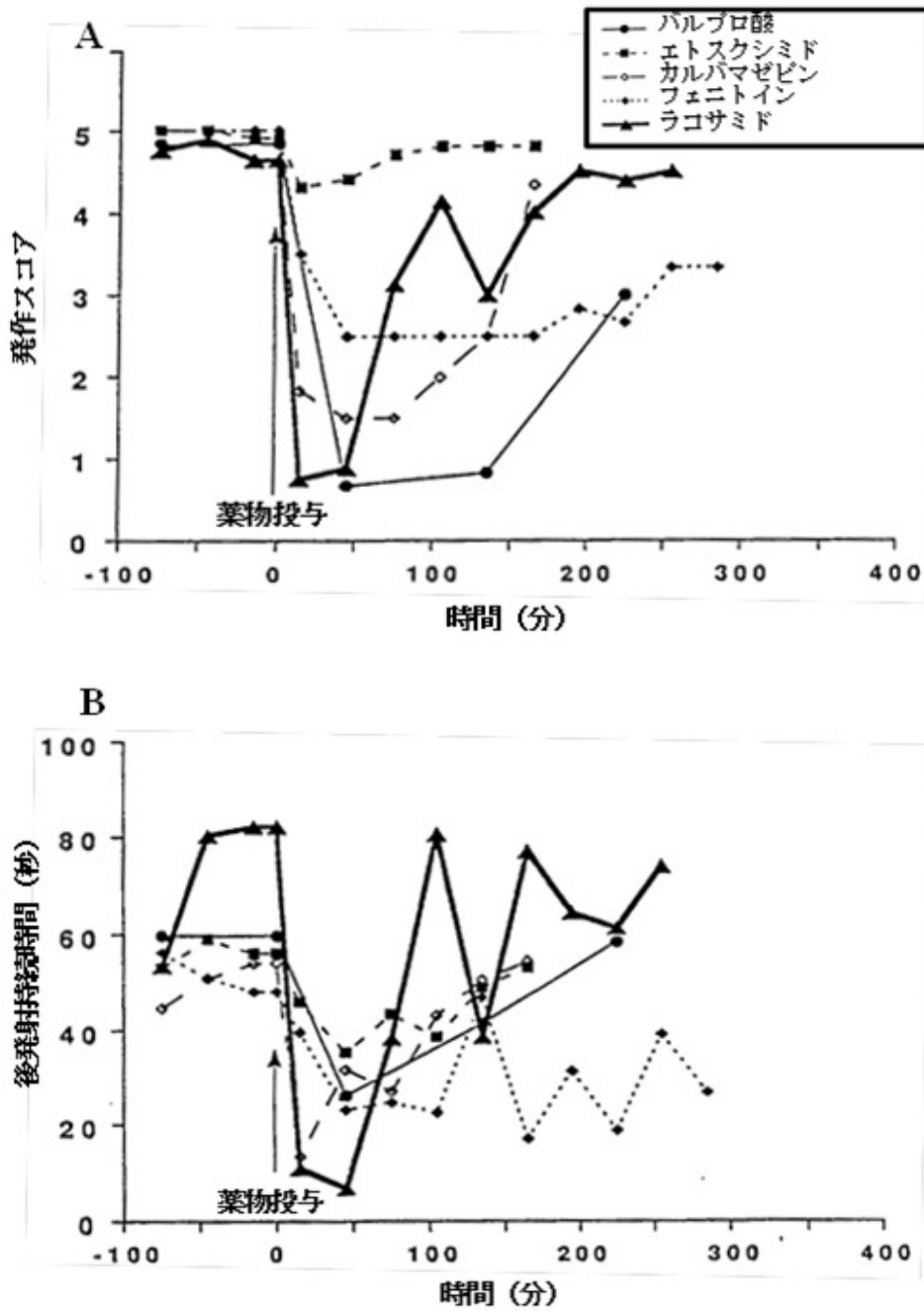


図 2.6.2.2-2 海馬キンドリングラットにおけるラコサミド (25 mg/kg、腹腔内投与) 投与による発作スコア (A) 及び後発射持続時間 (B) に対する他剤との作用比較

(報告書番号 NO1-NS-4-2311、Fig.3 より)

iii) ラット扁桃核キンドリング発作に対する作用 (4.2.1.1.3 報告書番号 Brandt et al, 2006、表 2.6.3.2A)

ラコサミドのラット扁桃核キンドリング進展に対する作用を検討した。

雌ラット (Wistar、各群 9~10 例) を用い、右側扁桃核基底外側核に植え込んだ双極性電極を介して電気刺激した。刺激電流は 50 μ A より開始し、電流の強さは約 20% ずつ、1 分間隔で少なくと

も3秒間の後発射が誘発されるまで増強した。プレキンドリング後発射閾値 (ADT) が測定された日より溶媒 (生理食塩液)、ラコサミド 3、10 及び 30 mg/kg/日を1日1回、週に5回、22~23日間、腹腔内投与した。各投与日の投与後30分に1回、扁桃核を電気刺激 (单相方形波パルス、各個体の最初の ADT より開始し約 20% ずつ増強、1 ミリ秒、50 Hz、1 秒間、週に5回) による発作スコア (Racine スケール) 及び後発射持続時間について評価した。

その結果、キンドリング進展期間中、ラコサミドの 3 mg/kg/日では作用はみられなかったが (図 2.6.2.2-3 : A、D)、10 mg/kg/日ではキンドリングの進展 (発作スコア及び後発射持続時間) に対する抑制作用がみられ (図 2.6.2.2-3 : B、E)、キンドリング基準 (発作スコア 5) に達するまでの平均刺激回数が 90% 超増加した。30 mg/kg/日ではキンドリング進展に対する明らかな抑制作用がみられたが、この用量では副作用 (自発的発作) を伴っていた (図 2.6.2.2-3 : C、F)。

ラコサミドは抗けいれん作用に加え、キンドリング進展の抑制が認められたことより、てんかん原性の抑制作用を有する可能性が示された。

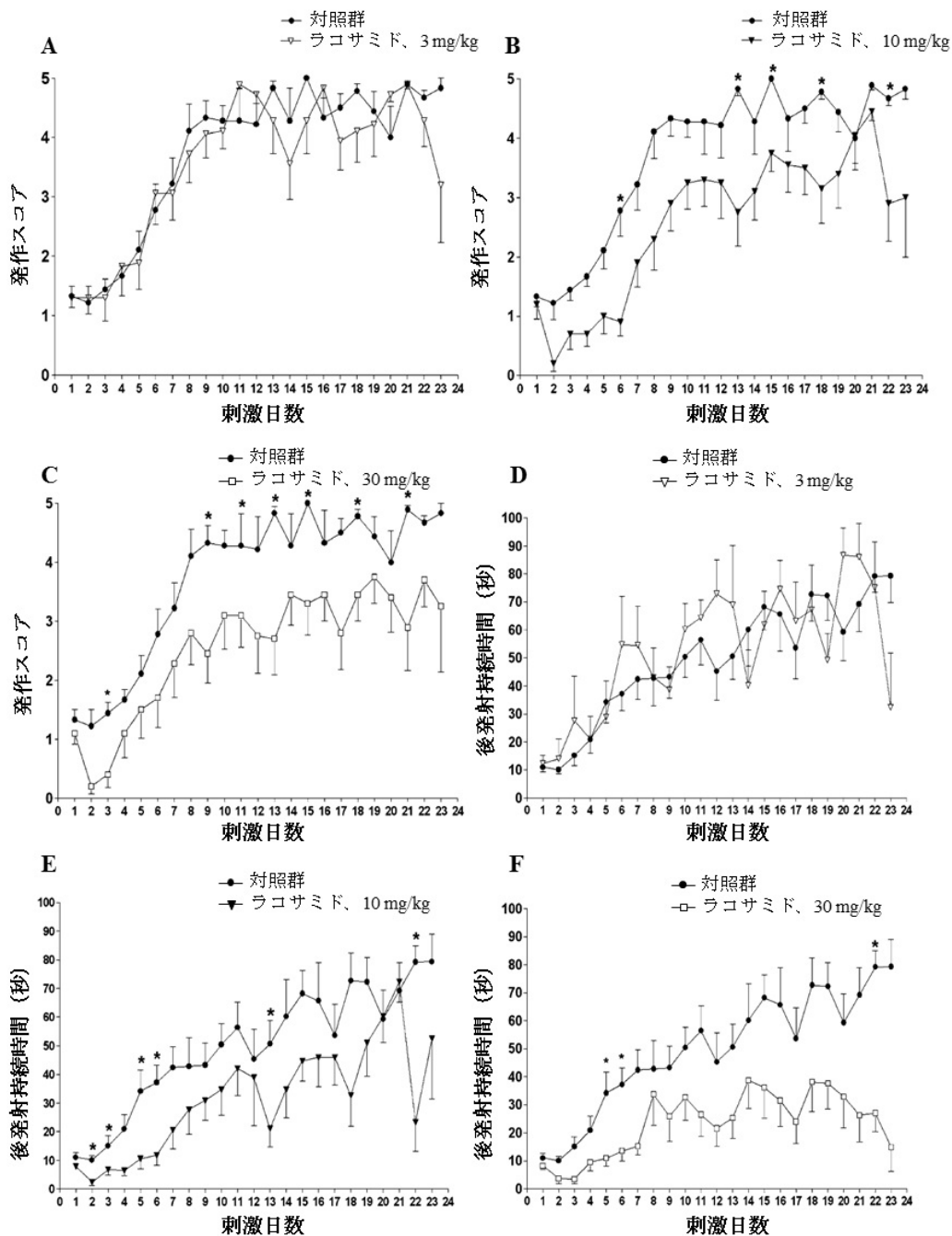


図 2.6.2.2-3 ラット扁桃核モデルにおけるラコサミドの連日投与による
キンドリング進展に対する作用

A~C: 発作スコア、D~F: 後発射持続時間 (平均値±S.E.M.)、*p < 0.05 (分散分析後に多重比較検定)
(報告書番号 Brandt et al, 2006、Fig.1 より)

3) 最大電気ショック発作 (MES) モデルのけいれんに対する作用

i) マウス及びラットにおける抗けいれん作用 (参考 4.2.1.1.1 報告書番号 NO1-NS-4-2311、表 2.6.3.2A)

全般性強直間代性発作 (GTCS) に対する作用を検討するため、雄マウス (CFNo.1) 及び雄ラット (SD) を用いて、角膜電極を介した最大電気刺激 (マウスでは 50 mA、60 Hz、ラットでは 150 mA、60 Hz をそれぞれ 0.2 秒間) により誘発した後肢伸筋の強直性けいれんに対する作用について検討し

た。ラコサミドをマウスでは腹腔内投与、ラットでは経口投与した。両動物種ともラコサミドは刺激を与える 30 分前に投与した。

その結果、最大電気ショック発作による後肢伸筋の強直性けいれんに対するラコサミドの抑制作用の ED₅₀ は、マウスでは 4.5 mg/kg（腹腔内投与）、ラットでは 3.9 mg/kg（経口投与）であった。

ii) ラコサミド、S-光学異性体 (SPM 6953) 及び O-脱メチル体 (SPM 12809) のマウスにおける抗けいれん作用 (4.2.1.1.4 報告書番号 02.274/2、表 2.6.3.2A)

雄マウス (Rj:NMRI、各群 10 例) を用いて、角膜電極を介した最大電気ショック (50 mA、50 Hz、0.4 秒) により誘発した強直性けいれんに対するラコサミド、SPM 6953 及び SPM 12809 の作用について比較検討した。ラコサミドは 1.5、5 及び 15 mg/kg、SPM 6953 は 10、30 及び 100 mg/kg、SPM 12809 は 1.5、5 及び 15 mg/kg、対照薬としてジアゼパム 2 mg/kg をいずれも電気ショックの 30 分前に腹腔内投与した。

その結果、ラコサミドでは 5 mg/kg 以上で強直性けいれんの完全な抑制がみられた (表 2.6.2.2-2)。ラコサミドの S-光学異性体 (SPM 6953) では最高用量の 100 mg/kg まで、O-脱メチル体 (SPM 12809) では 15 mg/kg までの用量で作用は認められなかった。ジアゼパムはけいれん発現例数を 60% 抑制した。

表 2.6.2.2-2 マウス MES 試験におけるラコサミド、S-光学異性体 (SPM 6953) 及び O-脱メチル体 (SPM 12809) の作用

投与 (mg/kg)		強直性けいれん発現例数	抑制率 (%)
溶媒		10	-
ラコサミド	1.5	8	20
	5	0***	100
	15	0***	100
SPM 6953	10	9	10
	30	10	0
	100	10	0
SPM 12809	1.5	9	10
	5	10	0
	15	10	0
ジアゼパム	2	4*	60

*p < 0.05、***p < 0.001 (Fisher の正確確率検定) (n=10)

溶媒：0.2% ヒドロキシプロピルメチルセルロース (生理食塩液に溶解)

(報告書番号 02.274/2、Table 1, 2, 3 を統合)

iii) 6 Hz てんかんモデルにおける辺縁系けいれんに対する作用 (参考 4.2.1.1.1 報告書番号 NO1-NS-4-2311-Addendum 1、表 2.6.3.2A)

治療抵抗性発作モデルである 6 Hz てんかんモデルを用いて、マウスの辺縁系けいれんに対するラコサミドの抗けいれん作用を検討した。マウス (各群 8 例) にラコサミドの 6、9、12 及び 20 mg/kg を腹腔内投与し、投与後 30 分に角膜電気刺激 (32 mA、6 Hz、3 秒) による間代性けいれんに対する作用を評価した。

その結果、ラコサミドは電気刺激誘発による間代性けいれんを抑制し、その ED₅₀ は 10.0 mg/kg であった。

4) その他のてんかんモデルにおける作用

i) 化学的けいれん発作に対する作用 (参考 4.2.1.1.1 報告書番号 NO1-NS-4-2311、表 2.6.3.2A)

ラコサミドの化学的けいれん発作に対する作用を種々のモデルで検討した。

雄マウス (CF No1、各群 10 例) を用いて、ペンチレンテトラゾール (PTZ 85 mg/kg、皮下投与)、A 型ガンマアミノ酪酸受容体 (GABA_A) 拮抗薬ピククリン (2.7 mg/kg、皮下投与) 及びクロライドチャンネル阻害剤ピクロトキシン (2.5 mg/kg、皮下投与) 投与により誘発されるけいれんに対するラコサミドの作用について検討した。ラット (SD) では PTZ 70 mg/kg を皮下投与した。マウスモデルではラコサミドは PTZ の場合刺激を与える 15 分前、ピククリンとピクロトキシンの場合はそれぞれ 60 分前に投与した。ラットモデルではラコサミドは PTZ の場合刺激を与える 30 分前に投与した。更に、ラコサミドの作用を解明するために、マウスを用いて、ヘパリン添加生理食塩液に溶解した 0.5% PTZ の持続的点滴静脈内投与 (0.34 mL/分) によるけいれん閾値に対する作用を検討した。ラコサミドは PTZ 投与開始の 30 分前に投与した。

その結果、ラコサミドではピククリン及びピクロトキシン投与により誘発される GTCS に対する抑制作用は認められなかった。また、ラコサミドではマウス及びラットにおける PTZ の急速皮下投与による間代性けいれんに対しても作用は認められなかったが、マウスにおける PTZ の点滴静脈内持続投与によって誘発させた発作発現の閾値を、有意に上昇させた。

ii) NMDA 誘発けいれんに対する作用 (参考 4.2.1.1.5 報告書番号 D00.161/3、表 2.6.3.2A)

雄マウス (Rj:NMRI、各群 12 例) を用いて、NMDA (6 µg/マウス) 脳室内投与により誘発したけいれんに対するラコサミドの作用を検討した。ラコサミドは 10、20 及び 50 mg/kg、比較対照薬として NMDA 受容体拮抗薬 MK-801 を 0.125、0.25 及び 0.5 mg/kg の用量でいずれも NMDA 投与の 30 分前に腹腔内投与した。

NMDA 投与により、間代性けいれんは 83%、強直性けいれんは 42% の動物で誘発され、死亡は 58% で認められた。ラコサミドの 10、20 及び 50 mg/kg では用量依存的なけいれん及び死亡の抑制がみられた。20 及び 50 mg/kg では完全な強直性けいれんの抑制 (100%) が認められ、50 mg/kg では間代性けいれんの抑制は部分的 (50%) であったが、死亡は完全に抑制 (100%) された。MK-801 は 0.25 mg/kg 以上で強直性けいれんを完全に抑制 (100%) し、死亡を明らかに抑制 (71~84%) したが、間代性けいれんを最高用量 (0.5 mg/kg) でも抑制しなかった。NMDA 誘発けいれん及び死亡に対するラコサミドと MK-801 の作用を表 2.6.2.2-3 に示した。

表 2.6.2.2-3 NMDA 誘発けいれん及び死亡に対するラコサミドの作用

用量 (mg/kg)	NMDA 投与 (脳室内) (μg /マウス)	間代性けいれん (#)		強直性けいれん (#)		死亡 (#)	
		動物数	抑制率 (%)	動物数	抑制率 (%)	動物数	抑制率 (%)
ラコサミド 10	溶媒	0	-	0	-	0	-
ラコサミド 20	溶媒	0	-	0	-	0	-
ラコサミド 50	溶媒	0	-	0	-	0	-
	溶媒	6	-	5	-	7	-
ラコサミド 10	6	8	20	1	80	4	43
ラコサミド 20	6	9	10	0*	100	2	71
ラコサミド 50	6	5	50	0*	100	0**	100
MK-801 0.125	6	8	20	1	80	2	71
MK-801 0.25 ^a	6	11/11	-20	0/11*	100	1/11*	84
MK-801 0.5	6	11	-10	0*	100	2	71

* $p < 0.05$ 、** $p < 0.01$ (Fisher の正確確率検定)、(#): 投与後 60 分間で観察 (n=12/群)

a: 雄 1 例については、腹腔内投与後に死亡した。

注: 抑制率が負の値 (間代性けいれん) は増強作用を示す。

(報告書番号 D00.161/3、Table より)

iii) てんかん重積に対する作用

てんかん重積に対するラコサミドの作用をラット自発性てんかん重積 (SSSE) モデルを用い脳波図 (EEG) 及び海馬の病理組織学的検査を指標として他剤との比較により検討した。

貫通路の角束の電気刺激による EEG に対する作用 (参考 4.2.1.1.6 報告書番号 Wasterlain 2、表 2.6.3.2A)

雄ラット (Wistar) の貫通路の角束 (angular bundle of the perforant path) に双極刺激電極を、また同側の歯状回顆粒層に双極記録電極を植え込んだ。術後 7 日に覚醒状態で、30 分間、毎分 10 秒、20 Hz (1 ミリ秒方形波、20 V) の刺激と共に 2 Hz の連続刺激を加え、歯状回からの脳波図

(Electroencephalogram、EEG) を記録した。ラコサミド及び陽性対照薬のホスフェニトインでは各々 50 mg/kg (5 例/群) を、対照群 (6 例) には 10 % ジメチルスルホキシド (DMSO) を貫通路刺激 (PPS) 10 分後に静脈内投与した。

ラットにおける SSSE により誘発される辺縁系発作は、ラコサミド投与後 15 分以内に停止し、その後 24 時間にわたり再発はみられなかった。スパイク頻度は有意に減少し、単独のスパイクのみが SSSE の誘発後 12 時間、記録された。ホスフェニトイン群でもスパイク頻度は減少したが、同じ記録時間で比較した場合、ラコサミド群より頻度が高かった。対照群では、6 例中 3 例が死亡したが、ラコサミド及びホスフェニトイン投与群では、全例生存した。

てんかん重積ラットにおけるラコサミド投与による EEG の変化を図 2.6.2.2-4 に示した。

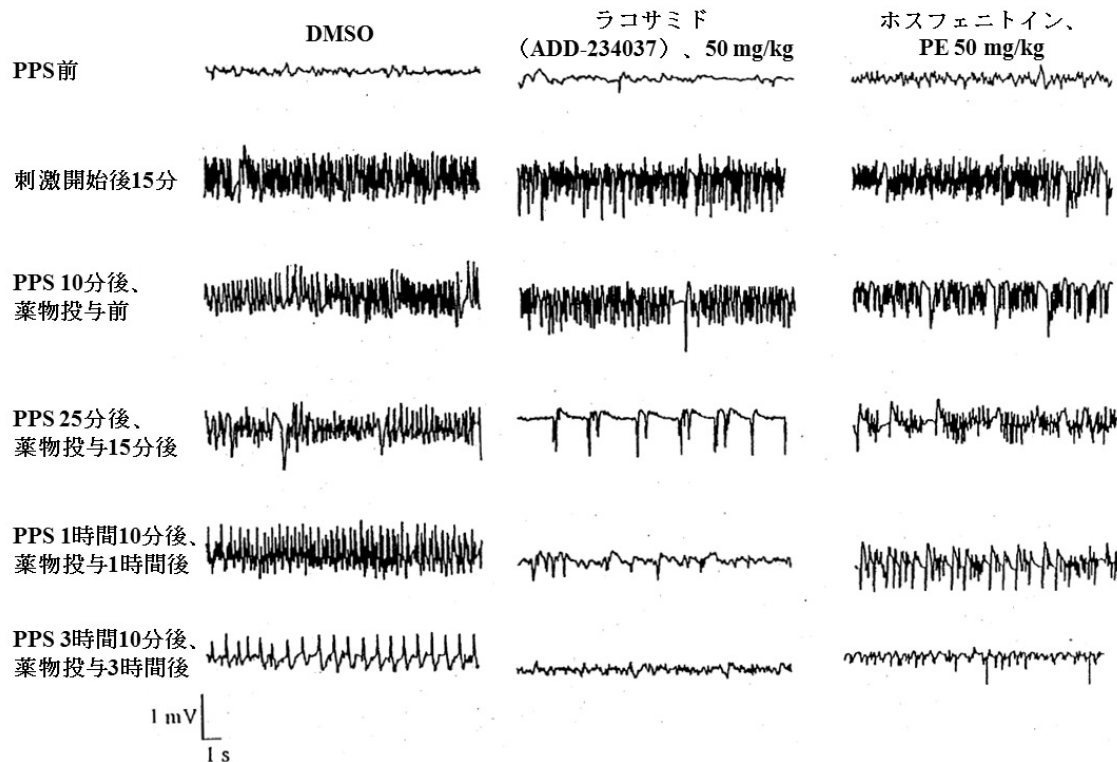


図 2.6.2.4 てんかん重積ラットにおけるラコサミド (ADD-234037) 及び
ホスフェニトイン投与による EEG の変化

ホスフェニトインの用量：フェニトインとして 50 mg/kg 相当量
PPS：貫通路刺激

(報告書番号 Wasterlain 2、Fig.1 より)

海馬の病理組織学的検査 (参考 4.2.1.1.7 報告書番号 Wasterlain 3、表 2.6.3.2A)

前述した試験 (報告書番号 Wasterlain 2) で用いたラットからてんかん重積後 72 時間に脳を摘出し、パラフィン包埋後、ヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製し、光学顕微鏡で海馬の損傷を観察した。海馬背側の海馬台、CA1、CA3、CA3c 及び海馬歯状回門 (hilus) における損傷したニューロンの計数により錐体細胞層の傷害を海馬損傷として以下の 6 段階で評価した。

- 0=損傷ニューロンなし。
- 1=損傷ニューロン 5%未満。
- 2=損傷ニューロン 5~10%未満。
- 3=損傷ニューロン 10~25%未満。
- 4=損傷ニューロン 25~50%未満。
- 5=損傷ニューロン 50%以上。

てんかん重積後 72 時間における脳スライス標本（海馬背側）の組織学的検査では、ラコサミド投与群は対照群と比較し、CA1 及び CA3 領域において有意に傷害の程度は弱かった（表 2.6.2.2-4）。このことから、ラコサミドは神経保護作用を有する可能性が示唆された。

表 2.6.2.2-4 貫通路刺激による海馬神経細胞に対するラコサミドの作用

	海馬台	CA1	CA3	CA3c	歯状回門
対照群刺激側 (n=4)	4.75 ± 0.5	5 ± 0	2.5 ± 0.6	1.75 ± 0.9	1.5 ± 0.6
ラコサミド群刺激側 (n=5)	1 ± 0*	1 ± 0*	1 ± 0*	1 ± 0	1.2 ± 0.4
対照群反対側	4.25 ± 0.5	4.75 ± 0.5	3.25 ± 1.2	2.25 ± 1.8	2.25 ± 1.9
ラコサミド群反対側	1 ± 0*	1.2 ± 0.4*	1 ± 0*	1.2 ± 0.4	1.4 ± 0.5

平均値±SD、*p<0.05 (t検定)

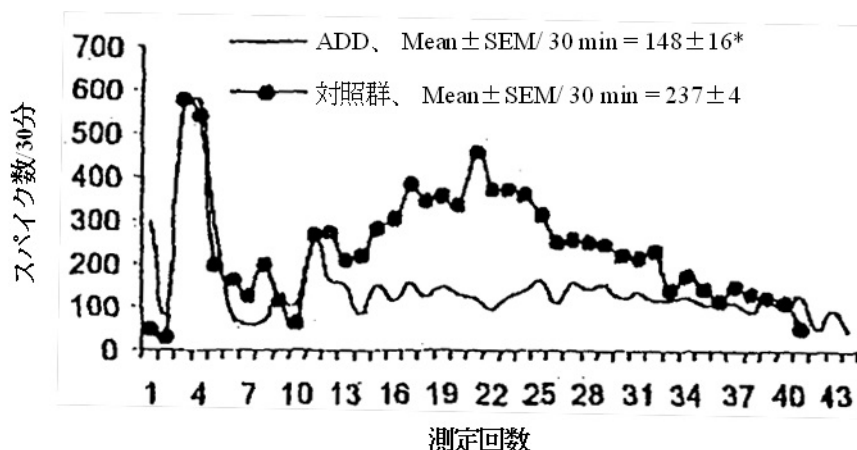
(報告書番号 Wasterlain 3 より)

ラコサミド、フェニトイン及びジアゼパムの作用比較（参考 4.2.1.1.8 報告書番号 Wasterlain 4、表 2.6.3.2A）

前述した SSSE モデルを用いて、ラコサミドのてんかん重積に対する作用をフェニトイン及びジアゼパムを陽性対照薬として検討した。ラコサミドは 50 mg/kg (8 例)、フェニトインは 50 mg/kg (5 例)、ジアゼパムは 10 mg/kg (5 例)、対照群は 10%DMSO (6 例) を投与した。全ての薬剤は PPS 10 分後に静脈内投与した。EEG は 24 時間記録し、スパイク数、発作持続時間 (EEG における発作持続時間) 及び総発作時間 (PPS から EEG における最終発作終了までの持続時間) について評価した。

ラコサミドは発作時のスパイク数を減少させ、発作持続時間及び総発作時間においては、陽性対照薬フェニトイン及びジアゼパムと同様に抑制作用を示した。

てんかん重積におけるラコサミドと他剤での結果を図 2.6.2.2-5 に示した。



*: 対照群と比較して $p < 0.05$, t検定

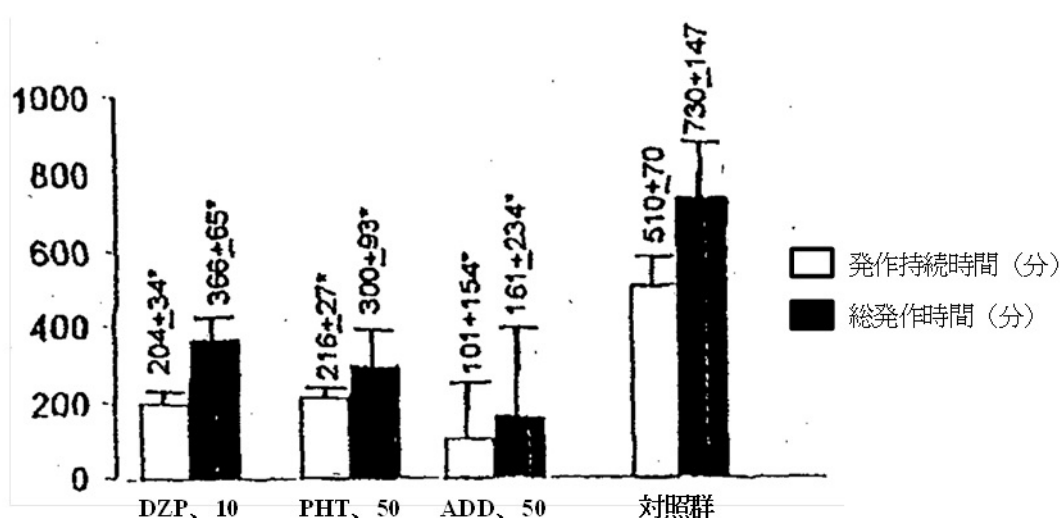


図 2.6.2.2-5 SSSE におけるラコサミドと他剤との EEG の比較

上図: スパイク数におけるラコサミド投与後群と対照群の比較

下図: 発作持続時間及び総発作時間におけるラコサミドと他剤との比較

ADD: ラコサミド、DZP: ジアゼパム、PHT: フェニトイン

Mean ± SD (n=8 又は 5)、* $p < 0.05$ (一元配置 ANOVA+Newman-Keuls)

(報告書番号 Wasterlain 4 より)

化学的に誘発した SSSE モデルに対する作用: コバルト/ホモシステイン及び塩化リチウム/ピロカルピン誘発 (参考 4.2.1.1.9 報告書番号 A1、表 2.6.3.2A)

コバルト/ホモシステイン誘発てんかんモデルでは、雄ラット (SD 系) の左前頭皮質表面に外科的にコバルト粉末を塗布し傷害を起し、その傷害部位に硬膜外記録電極を植え込み固定した。手術後 4~5 日より EEG を記録し、ホモシステインチオラクトン (5.5 mmol/kg) の腹腔内投与によりてんかん重積を誘発させた。ラット (8 例/群) にホモシステイン投与による第 2 回目の GTCS を誘導させた後、直ちにラコサミド 10、20、40、80 及び 100 mg/kg を腹腔内投与した。ラコサミドとジアゼパムとの併用投与試験では、ラット (10 例/群) に第 2 回目の GTCS 後、ラコサミド 0、2.5、5、10 及び 20 mg/kg を腹腔内投与し、その 5 分後にジアゼパム 0.75 mg/kg を腹腔内投与した。

ラコサミドは GTCS 抑制効果を示し、ED₅₀ は 45.4 mg/kg であった。ラコサミドとジアゼパムの併用試験において、ジアゼパムとの併用によりラコサミドの ED₅₀ は単剤と比較して 91.5% 減少した。

本モデルにおけるラコサミドとジアゼパムとの併用による増強作用の機序は不明である。ラコサミド単剤投与による GTCS に対する作用を表 2.6.2.2-5 に示した。

表 2.6.2.2-5 ラコサミドの GTCS に対する作用

ラコサミド 用量 (mg/kg)	投与後 30 分間の平均# GTCS (GTCS がみられた動物数)	投与から GTCS がみられるまでの 時間 (分)
10	4.8 (8)	6.6
20	2.7 (7)	8.9
40	3.8 (4)	5.6
80	2.7 (3)	14.0
100	N/A (0)	N/A

N/A : GTCS がみられた動物がないため、該当せず

(報告書番号 A1 より)

塩化リチウム／ピロカルピン誘発てんかんモデルでは、ラット (5 例) に塩化リチウム (3 mmol/kg) 投与後、20～24 時間にピロカルピン 40 mg/kg を投与した。EEG において高振幅で、急速な連続的スパイクの発現が誘発された 10 分後にラコサミド 50 mg/kg を腹腔内投与した。

ラコサミド 50 mg/kg を投与した 5 例では、運動発作症状の減少がみられたが、随伴する EEG の変化はみられなかった。投与日の夜に 1 例が死亡し、その他の動物には翌日に、てんかん様放電がみられた。

これらのモデルの試験の結果は、ラコサミドは化学的に誘発したてんかん重積において、神経保護作用を有する可能性を示唆している。

iv) 欠神てんかん発作に対する作用 (参考 4.2.1.1.10 報告書番号 PML 2002-C167、
4.2.1.1.11 報告書番号 CNS10004、表 2.6.3.2A)

ラコサミドの欠神てんかん発作に対する作用を遺伝性動物モデル (WAG/Rij ラット及びストラスブル遺伝性欠神てんかんラット) を用いて検討した。

WAG/Rij ラットにおける作用 (参考 4.2.1.1.10 報告書番号 PML 2002-C167、表 2.6.3.2A)

6 カ月齢雄ラット (WAG/Rij) を用い、外科的に前頭部及び頭頂部に EEG 測定用の電極を設置し、少なくとも 1 週間の回復期間後に試験に供した。ラコサミド 0 (生理食塩液)、3、10 及び 30 mg/kg を腹腔内投与 (各群 11～12 例) し、投与後の行動観察及び EEG 検査により評価した。

ラコサミド 3～30 mg/kg では、行動パラメータ (自発運動、無意識行動又は受動的行動及び睡眠) に何ら影響はみられなかった。平均棘徐波発射持続時間に対するラコサミドの明らかな影響はみられなかった。一方、いずれの用量においてもラコサミド投与後最初の 1 時間以内に棘徐波発射数の極軽度だが有意な増加がみられた。しかし、同じ動物モデルにおいて欠神誘発作用を有する tiagabine のような薬剤 (pro-absence drug) と比較し、作用は弱く持続時間も短かったことより、ラコサミドはこの欠神てんかん動物モデルでは欠神発作に対する作用を示さないものと考えられた。

ストラスブール遺伝性欠神てんかんラットにおける作用 (4.2.1.1.11 報告書番号 CNS10004、表 2.6.3.2A)

ラコサミド及びカルバマゼピンの自発性棘徐波発射 (SWD) に対する作用を、ストラスブール遺伝性欠神てんかんラット (GAERS) を用いて比較検討した。両薬剤共に Wistar ラットを用いた MES における各薬剤の ED₅₀ 値に基づき用量を設定した。すなわち、ラコサミド及びカルバマゼピン共に ED₅₀ 値 (それぞれ、5.2 及び 5.9 mg/kg) の 1/3、1、3 及び 6 倍の用量として、ラコサミドは 1.73、5.2、15.6 及び 31.2 mg/kg、カルバマゼピンは 1.97、5.9、17.7 及び 35.4 mg/kg をそれぞれ腹腔内投与した。

ラコサミドでは 15.6 mg/kg 以上で投与後 1 時間以内に有意な一過性の累積 SWD 持続時間の延長及び累積 SWD 数の増加がみられた。カルバマゼピンでも 17.7 mg/kg 以上で累積 SWD 持続時間及び累積 SWD 数に対しラコサミドと同様の増加作用がみられ、ラコサミドとカルバマゼピンの間で GAERS における SWD に対し、質的及び量的な差はみられなかった。

GAERS における累積 SWD 持続時間及び累積 SWD 数に対する作用を図 2.6.2.2-6 に示した。

以上の結果から、ラコサミド及びカルバマゼピンは欠神てんかんラットモデルにおける SWD の進行に対する抑制作用は認められず、むしろ高用量ではげっ歯類モデルにおいては SWD を悪化させる可能性が示唆された。

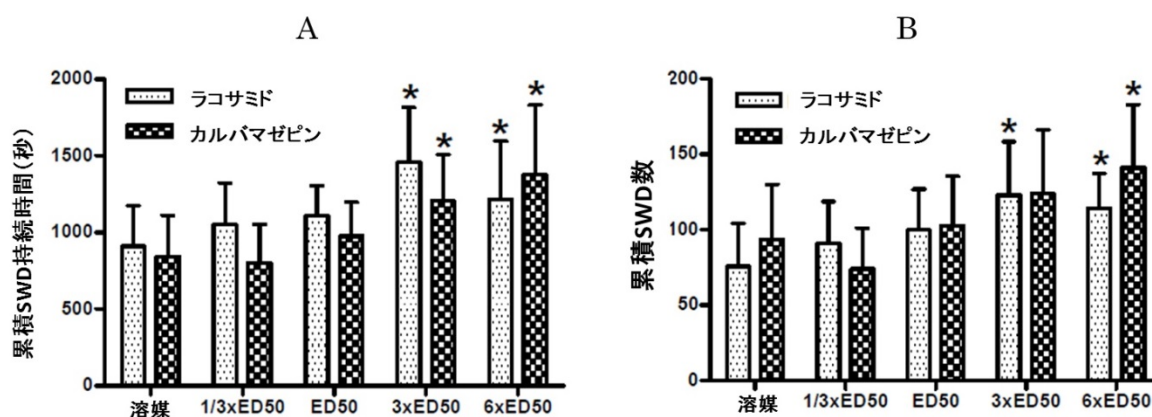


図 2.6.2.2-6 GAERS における累積 SWD 持続時間 (A) 及び累積 SWD 数 (B) に対する作用

用量はラコサミド及びカルバマゼピン共に Wistar ラット MES における各々の ED₅₀ (それぞれ、5.2 及び 5.9 mg/kg) の 1/3、1、3 及び 6 倍を示す。

*p < 0.05 (溶媒投与群と比較、Dunnett の検定)

(報告書番号 CNS10004、Fig6:1、Fig6:2 より)

5) ラコサミドと既存の抗てんかん薬との抗けいれん作用の比較(参考 4.2.1.1.1 報告書番号 NO1-NS-4-2311、表 2.6.3.2A)

種々の発作モデルにおけるラコサミドの抗けいれん作用プロファイルについて、既存の抗てんかん薬との比較を表 2.6.2.2-6 に示した。

これらの試験データは作用の比較を目的とした NINDS の抗けいれん薬スクリーニングプログラムにより得られた。これらのモデルにおけるラコサミドの作用の詳細は上述した。

表 2.6.2.2-6 マウス及びラットにおけるラコサミドと既存の抗てんかん薬との抗けいれん作用の比較

被験物質	マウス					ラット		
	AGS	MES	sc PTZ	sc BIC	sc PIC	キンドリング発作	MES	sc PTZ
ラコサミド	+	+	-	-	-	+	+	-
フェニトイン	+	+	-	-	-	±	+	-
ラモトリギン	+	+	-	-	-	ND	+	-
カルバマゼピン	+	+	-	-	±	±	+	-
ガバペンチン	+	+	+	-	-	ND	+	-
フェルバメート	+	+	+	-	+	+	+	+
バルプロ酸	+	+	+	±	±	+	+	±
クロナゼパム	+	-	+	+	+	+	±	+
エトスクシミド	+	-	+	±	+	-	-	+

+: 行動毒性がみられない用量でけいれん抑制作用
 ±: 行動毒性がわずかにみられる用量でけいれん抑制作用
 -: 試験に用いた最高用量で 50%未満のけいれん抑制作用

AGS: 聴原性発作、BIC: ピククリン、MES: 最大電気ショック発作、ND: 測定されず、PIC: ピクロトキシン、PTZ: ペンチレンテトラゾール、sc: 皮下

(報告書番号 NO1-NS-4-2311、Table 7 より)

(2) *In vitro* けいれんモデルでの作用

1) 海馬スライス標本における興奮性シナプス後電位に対する作用

定常状態の神経興奮に対するラコサミドの作用を、SD ラットの脳スライス標本を用いて検討した。シャッフアー側枝求心性神経を刺激し、低頻度フィールド興奮性シナプス後電位 (fEPSPs) を海馬の CA1 領域から記録した。ラコサミド濃度を 1 mmol/L まで上昇させても、CA1 領域の放線状層から記録した定常状態の fEPSPs の振幅及び持続時間には、薬物処置前と比較して有意な変化はみられなかった。ラコサミドは生理条件において、正常な神経伝達には影響を及ぼさないと結論された (4.2.1.1.12 報告書番号 Errington 2006、3.3.1 項、表 2.6.3.2A)。

次に、汎用されている 4-アミノピリジン (4-AP) により誘発されるてんかん発作モデルに対するラコサミドの作用を検討した。ラコサミド溶液 (0、10、32、100 及び 320 µmol/L) により脳スライス標本を灌流した結果、視覚野から記録した 4-AP 添加による自発性の発作放電が濃度依存的に減弱した。すなわち、ラコサミド濃度を 100 µmol/L とした 8 切片中 3 切片では、発作放電のスパイク

が完全に消失した。他の5切片においては、放電開始時に生じる高頻度の強直性様の相が減少した。また、より高濃度の320 $\mu\text{mol/L}$ では発作放電が完全に消失した。ラコサミド100 $\mu\text{mol/L}$ では、全切片において、急峻な負電流に続く電場電位スパイクが重なるプラトー部分が著しく減少し、対照群でみられる強直及び間代発作様放電に類似する発火現象は観察されなくなった。ラコサミドの100 $\mu\text{mol/L}$ において発作放電が完全に消失しなかった切片において観察された残存事象は、4-AP処置により誘起されるマイナータイプであるGABA様の負方向電位あるいは間代性様の電場電位である可能性が考えられる(図2.6.2.2-7:A)。

4-AP処置時の自発性電場電位スパイクに対し、ラコサミドは濃度依存性の抑制作用を示した。すなわち、強直性の持続時間の減少に対する EC_{50} 値は41 $\mu\text{mol/L}$ 、また、最大発火頻度の減少に対する EC_{50} 値は71 $\mu\text{mol/L}$ であった(図2.6.2.2-7:B)(4.2.1.1.12 報告書番号Errington 2006、3.3.3項、表2.6.3.2A)。

ラコサミドのS-光学異性体であるSPM 6953(100~320 $\mu\text{mol/L}$)では、視覚野の自発性発作放電の持続時間又は強度に対する明らかな作用は示さなかった(4.2.1.1.12 報告書番号Errington 2006、3.3.4項、表2.6.3.2A)。

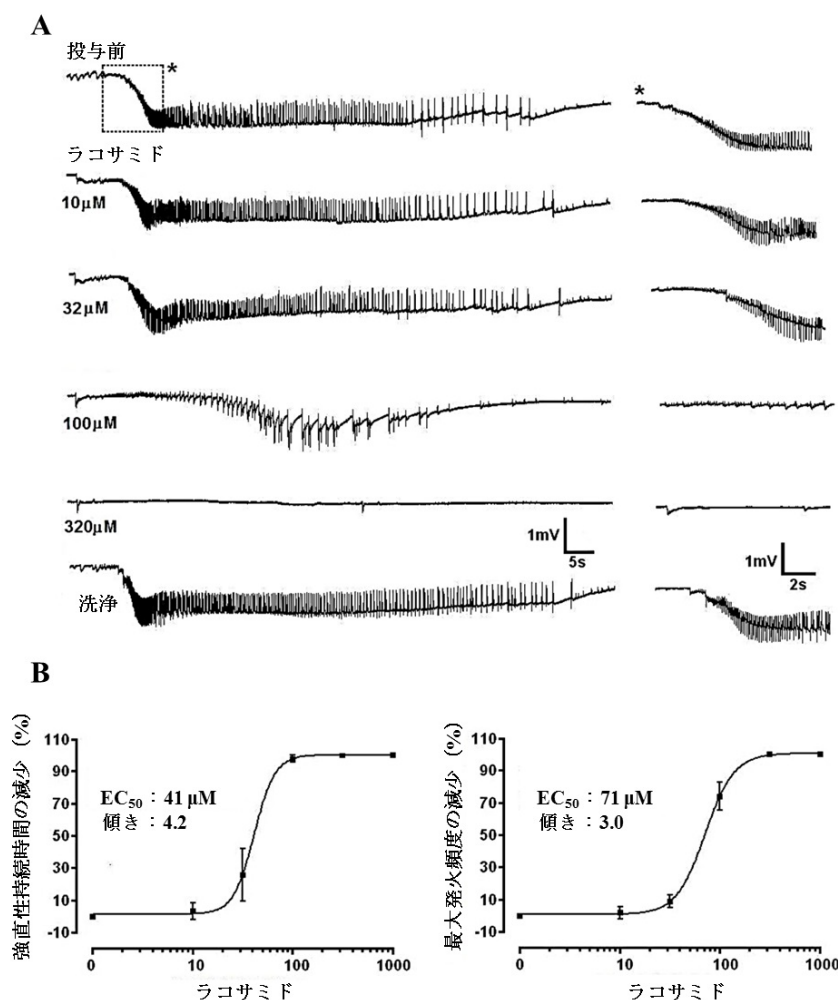


図 2.6.2.2-7 ラコサミドの自然発生的なてんかん様発作放電に対する作用

(報告書番号 Errington 2006、3.3.3 項、Fig 3.4 より)

(3) 作用機序

ラコサミドの分子レベルの作用機序を明らかにするため種々の方法で検討した。

- 1) Na^+ チャンネルに対する各種の試験を実施した。
- 2) 電気生理学的試験として、抗てんかん薬の共通した分子標的である電位依存性 Na^+ 、 Ca^{2+} 、 K^+ チャンネル並びに GABA 及びグルタミン酸伝達系に関する詳細な検討を実施した。

一般的な分子標的である神経伝達物質受容体、トランスポーター、シクロオキシゲナーゼを含む酵素及びオピオイド受容体等との結合親和性の試験を実施した。

- 3) 初期の予備的試験結果ではラコサミドの CRMP-2 に対する直接的な相互作用が示唆されたため、その後の追加試験として高比放射能の ^3H -ラコサミド標識体を用いたバインディング試験及び表面プラズモン共鳴による詳細な結合試験を実施した。

1)から 3)についてのラコサミドの作用機序に関する試験結果を以下に記載する。

1) 電位依存性 Na^+ チャンネルに対する作用

マウス培養神経芽腫細胞 N1E-115 を用いて、ホールセルパッチクランプ法によりラコサミドの Na^+ 電流阻害作用に対する電位依存性及び定常状態における急速あるいは緩徐な不活性化に対する作用について、以下の検討を実施した。

i) ラコサミドの Na^+ チャンネル阻害作用における電位依存性 (4.2.1.1.12 報告書番号 Errington 2006、5.3.4 項、報告書番号 Errington 2008、表 2.6.3.2B)

マウス神経芽腫細胞 N1E-115 を用いて、ラコサミドの Na^+ チャンネル阻害作用に対する電位依存性について、カルバマゼピン、ラモトリギン及びフェニトインと比較検討した。細胞を -60 mV の保持電位で維持し、 -100 mV まで 500 ミリ秒の条件パルスを与えたのち、 0.5 Hz で 0 mV まで 10 ミリ秒の標的パルスで脱分極させた。一方、 500 ミリ秒の条件パルスを与えず -60 mV に保持したまま、同様の標的パルスを与えた条件でも実施し、両者における標準化ピーク I_{Na} を比較した。4 種の抗てんかん薬の濃度は全て $100\text{ }\mu\text{mol/L}$ とした。

その結果、 -60 mV の保持電位で標的パルスを与えたとき、4 種の全ての抗てんかん薬で、 Na^+ チャンネル阻害作用により電流の減少がみられた。次いで、 -100 mV までの条件パルスを 500 ミリ秒前処置した場合は、カルバマゼピン、ラモトリギン及びフェニトインの Na^+ チャンネル阻害作用は著しく低下し、標準化ピーク I_{Na} がベースライン付近まで戻った。それに対し、ラコサミドによる Na^+ チャンネル阻害作用は、 -100 mV まで条件パルスで刺激した場合でも、 -60 mV の場合と比較して変化は認められず、ラコサミドによる Na^+ チャンネル阻害作用に電位依存性はみられなかった(図 2.6.2.2-8)。

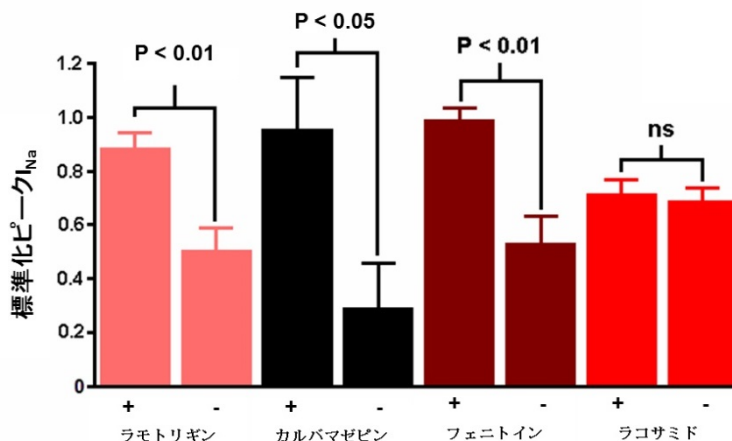


図 2.6.2.2-8 ラコサミド及び既存の抗てんかん薬の
電位依存性 Na⁺チャネル阻害作用

+: -100 mV までの 500 ミリ秒過分極パルス後に、0.5 Hz、10 ミリ秒の標的パルスで 0 mV に脱分極

-: -100 mV までの過分極パルスなしに -60 mV の保持電位のまま 0.5 Hz、10 ミリ秒の標的パルスで 0 mV に脱分極

検定は両側 t 検定

(報告書番号 Errington 2008、Fig. 5 より)

ii) 定常状態における Na⁺チャネルの急速な不活性化に対するラコサミドの作用

(4.2.1.1.12 報告書番号 Errington 2006、5.3.5 項、報告書番号 Errington 2008、表 2.6.3.2B)

Na⁺チャネルの急速な不活性化に対する作用を、マウス神経芽腫細胞 N1E-115 を用いたパッチクランプ法により、既存の抗てんかん薬と比較検討した。抗てんかん薬として、ラコサミドのほか、カルバマゼピン、ラモトリギン及びフェニトインを用い、それぞれの濃度は全て 100 μmol/L とした。

定常状態の急速な不活性化曲線は、-120 mV から -20 mV の電位で 500 ミリ秒の条件パルスを与え、直後に -10 mV で 30 ミリ秒の標的パルスで刺激することにより得られた。不活性化曲線に対する薬剤による影響は、5 分間処理した後、同様の条件で測定した。

その結果、カルバマゼピン、ラモトリギン及びフェニトイン存在下では、Na⁺電流の急速な不活性化の電位曲線、すなわち、最大利用度の 50% を示す不活性化電位 (V₅₀ 値) が、有意に過分極側へシフトした (対照: -65.84 mV、カルバマゼピン: -79.45 mV、フェニトイン: -77.17 mV、ラモトリギン: -72.30 mV) (図 2.6.2.2-9: A、B、C)。一方、ラコサミドにおいては Na⁺電流阻害作用の V₅₀ 値が対照条件とほぼ同様であり (-65.02 mV)、過分極側へのシフトは認められず、Na⁺電流の急速な不活性化に対する作用は示さなかった (図 2.6.2.2-9: D)。

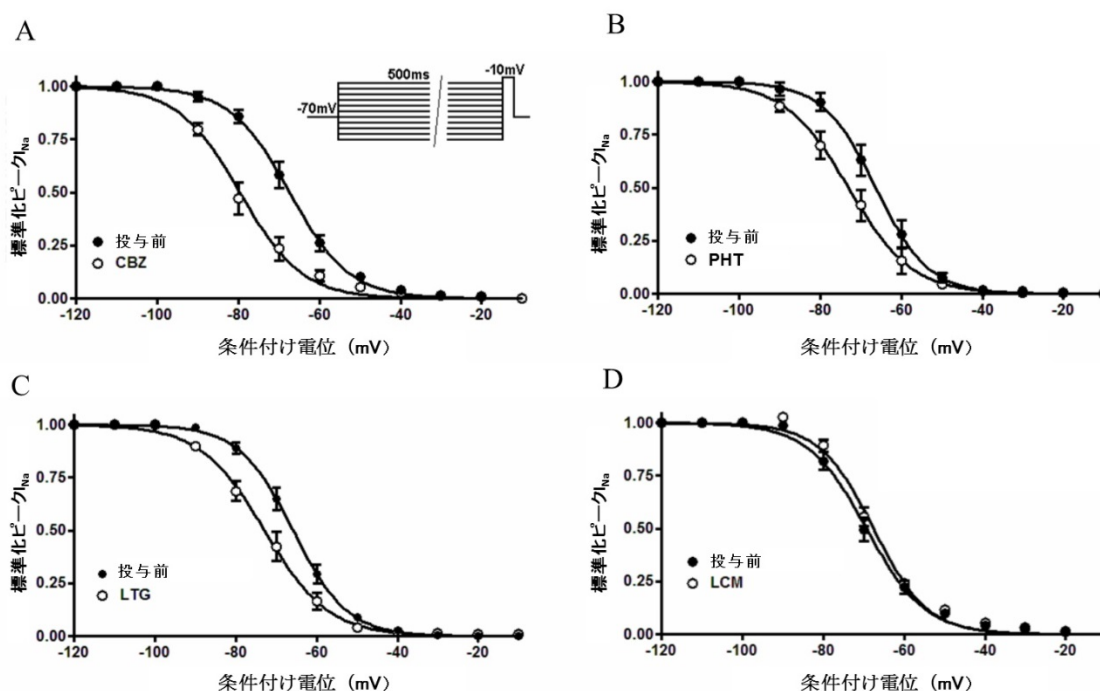


図 2.6.2.2-9 ラコサミド及び既存の抗てんかん薬の定常状態における Na^+ 電流の急速な不活性化に対する作用

CBZ: カルバマゼピン、LCM: ラコサミド、LTG: ラモトリギン、PHT: フェニトイン

(報告書番号 Errington 2006、5.3.5 項、Fig 5.6、報告書番号 Errington 2008、Fig 6 より)

iii) 定常状態における Na^+ チャンルの急速な不活性化からの回復速度に対するラコサミドの作用 (4.2.1.1.12 報告書番号 Errington 2006、5.3.7 項、Errington 2008、表 2.6.3.2B)

定常状態の急速な不活性化からの回復速度に対するラコサミド (100 $\mu\text{mol/L}$) の作用をカルバマゼピン (100 $\mu\text{mol/L}$) と比較検討した。マウス神経芽腫細胞 N1E-115 を -90 mV に保持し、初回の標的パルス (20 ミリ秒) を与えて、-10 mV まで脱分極させた。次いで、その電位を保持したまま 500 ミリ秒の条件パルスを与えた後、2 回目の標的パルスを与えるまでの回復時間の間に、各時点 (Δt) の電流を測定することにより Na^+ チャンルの回復速度を評価した。 Na^+ チャンルの緩徐な不活性化成分を除き、目的の急速な不活性化ゲートのプロセスを分離するため、適切な保持電位及び比較的短い条件パルスを設定した。2 回目の標的パルス後の各回復時点の電流分画を 1 回目の標的パルス後の対応する電流分画で除した値を標準化ピーク I_{Na} として示した。

その結果、対照条件では、 Na^+ 電流の比較的大部分は条件パルス後、短い回復時間 (50% 最大回復までの到達時間は約 4 ミリ秒) で再利用が可能であったのに対し、カルバマゼピン (100 $\mu\text{mol/L}$) を 3 分間適用すると、50% 最大回復までの到達時間は約 37.5 ミリ秒まで延長し、カルバマゼピンではチャンネルは不活性化状態に維持されていることが示された。一方、ラコサミドは定常状態の急速な不活性化からの Na^+ チャンルの回復に対する有意な遅延を示さなかった (50% 最大回復までの到達時間は約 4.3 ミリ秒) (図 2.6.2.2-10)。

i)、ii) 及び iii) の電位固定法による実験により、ラコサミドによる Na^+ チャンルの阻害作用は他の急速な不活性化促進剤の作用機序と異なっていることが示された。

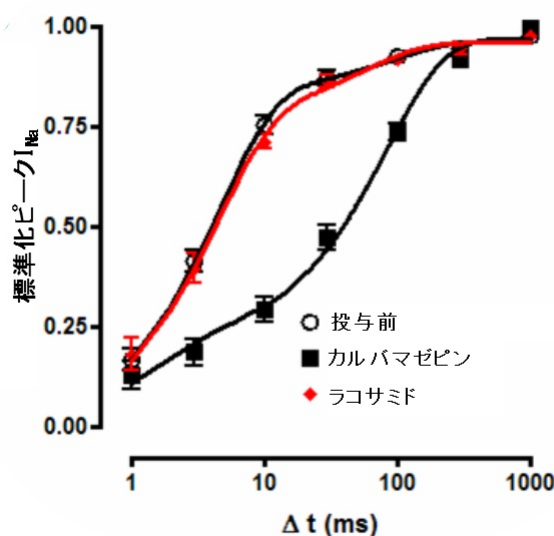


図 2.6.2.2-10 定常状態の Na⁺チャンネルの急速な不活性化からの回復速度に対するラコサミドの作用

(報告書番号 Errington 2006、5.3.7 項、Fig 5.8、Errington 2008、Fig 6 より)

iv) Na⁺チャンネルの緩徐な不活性化に対するラコサミドの作用 (4.2.1.1.12 報告書番号 Errington 2006、6.3.1 項、Errington 2008、表 2.6.3.2B)

ラコサミドによる Na⁺チャンネルの阻害作用は、カルバマゼピンのような急速な不活性化ゲートを修飾する薬剤の作用とは明らかに機序的に異なっていたことより、ラコサミドの Na⁺チャンネルの緩徐な不活性化に対する作用を検討した。マウス神経芽腫細胞 N1E-115 の Na⁺チャンネルは、持続性脱分極にさらされると、緩徐な不活性化の生理的プロセスを経る。すなわち、細胞を -80 mV に保持し、-10mV まで 10 又は 30 秒間脱分極させた後、1.5 秒の回復時間をおき標的パルスを与えることによりピーク電流を測定した。回復時間を 1.5 秒に設定した理由は、急速な不活性化を完全に回復させて、2 回目の標的パルスによる電流が緩徐な不活性化状態のみにより決定されるようにするためである。

その結果、ラコサミドは 32 μmol/L で有意ではないが不活性化状態の Na⁺チャンネルを増加 (I_{Na} を減少) させた。100 μmol/L では、10 秒間の脱分極パルス後、標準化ピーク I_{Na} は有意に減少し、320 μmol/L では、更に減少した (図 2.6.2.2-11)。ラコサミドは濃度依存的に Na⁺チャンネルにおける緩徐な不活性化を促進させた。

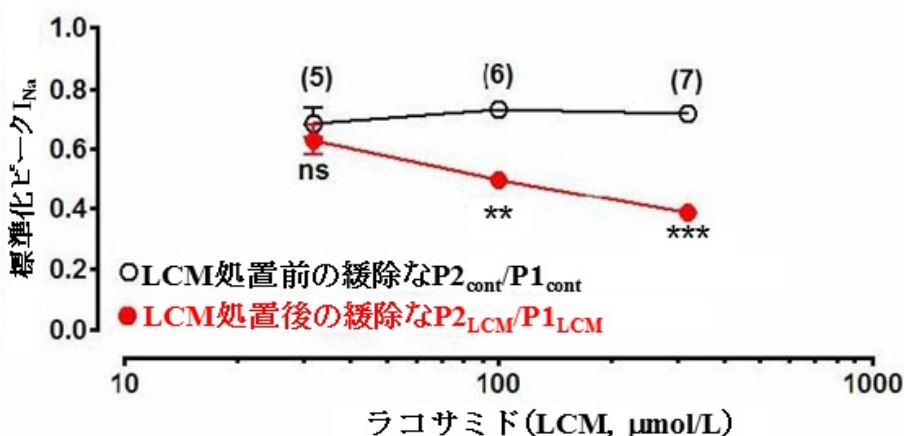


図 2.6.2.2-11 ラコサミドの Na^+ チャネルの緩徐な不活性化に対する促進作用

P1: 脱分極パルス前のピーク電流

P2: 脱分極パルス後のピーク電流

標準化ピーク I_{Na} : $P2/P1$

() 内の数字: 使用例数

** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ (Kruskal Wallis test)

(報告書番号 Errington 2006、6.3.1 項、Fig.6.1、報告書番号 Errington 2008、Fig 7 より)

v) Na^+ チャネルの緩徐な不活性化及び不活性化からの回復速度に及ぼすラコサミドの影響

マウス神経芽腫細胞 N1E-115 を用いてラコサミドの Na^+ チャネルの緩徐な不活性化に及ぼす影響及び不活性化状態からの回復速度に対する影響について検討した。

急速な不活性化と同様に、定常状態での Na^+ チャネルの緩徐な不活性化のプロセスは膜電位に依存する。不活性化電位曲線の回帰は Boltzmann の式を改変して行った。コントロール条件下における緩徐な不活性化が不完全であったため、チャネルの最大利用度の 50%を示す不活性化電位 (V_{50}) は約 64mV と推定された。ラコサミドは緩徐な不活性化電位曲線を更に過分極側へ濃度依存的にシフトさせた。すなわち、100 $\mu\text{mol/L}$ における V_{50} は -57 mV であった (図 2.6.2.2-12) (4.2.1.1.12 報告書番号 Errington 2006、6.3.3 項、Errington 2008、表 2.6.3.2B)。

不活性化からの回復時間に対するラコサミドの影響を、保持電位 -80 mV において、10 秒あるいは 30 秒間、-20 mV まで脱分極させる条件下で検討した。長期脱分極後、1.5 秒間の急速な不活性化の回復期間をおいた後、2 秒間隔で、-10mV まで 20 ミリ秒のパルスを与え、ラコサミドの存在及び非存在下におけるピーク電流のトレースを解析することにより回復時間を測定した。その結果、ラコサミドは脱分極の時間に関わらず、緩徐な不活性化チャンネルが回復するまでの時間に影響を与えなかった (4.2.1.1.12 報告書番号 Errington 2006、6.3.4 項、Errington 2008、表 2.6.3.2B)。

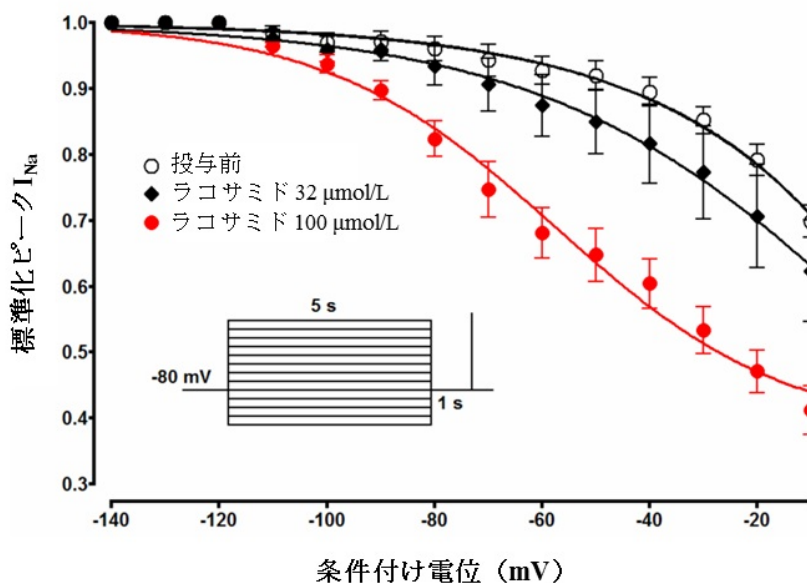


図 2.6.2.2-12 ラコサミドの緩徐な不活性化電位曲線に対する作用

(報告書番号 Errington 2006、6.3.3 項、Fig.6.4、報告書番号 Errington 2008、Fig 8 より)

- vi) ラットの Na^+ チャンネル α サブユニットを発現させたアフリカツメガエル卵母細胞における Na^+ 電流に対するラコサミドの作用 (4.2.1.1.12 報告書番号 Errington 2006、6.3.5 項、表 2.6.3.2B)

マウス神経芽腫細胞 N1E-115 に発現した Na^+ 電流の表現型は、共発現している Na^+ チャンネル α サブユニットの複合体より構成されていると考えられる。また、チャンネルの急速な活性化及び不活性化動態は 1 個以上の付属 β サブユニットの発現によって影響を受けることが示されている²⁾。すなわち、 Na^+ チャンネルの β サブユニットは神経細胞の Na^+ チャンネル複合体における活性化及び不活性化動態の決定に重要な役割を演じていると長年考えられている。今回、緩徐な不活性化の動態及び電位依存性に対するラコサミドの作用が、 Na^+ チャンネルの主要な孔 (ポア) を形成する α サブユニットとの相互作用によって決定されるか否かを、ラット II 型 ($Na_v1.2$) α サブユニットのみを発現させたアフリカツメガエル卵母細胞を用いて検討した。その結果、本発現細胞において、ラコサミド (320 μ mol/L) は電位依存性 Na^+ 電流を阻害した。これはラコサミドの Na^+ 電流の阻害には、 α サブユニットの存在のみが必要で付属 β サブユニットの共発現は必要としないことを示している。HEK293 細胞における組換え $Nav1.3$ 及び $Nav1.7$ チャンネルを用いた試験においても同様の観察が得られた³⁾。

対照条件下ではアフリカツメガエル卵母細胞に発現させた Na^+ チャンネルは緩徐に不活性化され、最大利用度の 50%を示す不活性化電位 (V_{50}) は -43 mV であった。ラコサミドの 320 μ mol/L では神経芽腫細胞 N1E-115 で観察されたと同様に α サブユニットのみを発現させたアフリカツメガエル卵母細胞においても V_{50} を有意に過分極電位側へシフトさせ、 V_{50} は -58 mV となった (4.2.1.1.12 報告書番号 Errington 2006、6.3.6 項、表 2.6.3.2.B)。

vii) Na⁺チャネルの緩徐な不活性化パラメータに対するラコサミド及びNa⁺チャネル阻害性抗てんかん薬の作用 (4.2.1.1.13 報告書番号 CNS10029、表 2.6.3.2B)

Na⁺チャネルの緩徐な不活性化に対するラコサミドの作用について、Na⁺チャネル阻害作用を有する既存の抗てんかん薬（カルバマゼピン、フェニトイン、ラモトリギン、ゾニサミド、ルフィナミド）及びSPM 6953（ラコサミドの*S*-光学異性体）と比較検討した。ラコサミドを含む全ての薬剤の濃度は100 µmol/Lとし、マウス神経芽腫細胞N1E-115を用いて、ホールセルパッチクランプ法にて、緩徐な不活性化曲線パラメータとして、V₅₀、緩徐な不活性化曲線の勾配及び標準化ピーク I_{Na}を記録した。

電気生理学的結果では、対照に比べ、ラコサミドでは緩徐な不活性化曲線においてV₅₀の明らかな過分極側へのシフトがみられ（ラコサミド ΔV₅₀= -33 mV ± 7 mV に対して 対照 ΔV₅₀= -8 mV ± 7 mV、P<0.0001 [平均値±SD]）、その結果、静止膜電位付近での利用できないNa⁺チャネル分画が増大した。一方、他の抗てんかん薬及びSPM 6953では、同様の実験条件で過分極側へのシフトはみられなかった。なお、ラコサミドは緩徐な不活性化チャネルの最大分画及び緩徐な不活性化曲線の勾配には影響を及ぼさなかった。

ラコサミドのNa⁺チャネルの緩徐な不活性化に対する作用及び、他の抗てんかん薬並びにSPM 6953との比較（ΔV₅₀不活性化）をそれぞれ図 2.6.2.2-13 及び図 2.6.2.2-14 に示した。

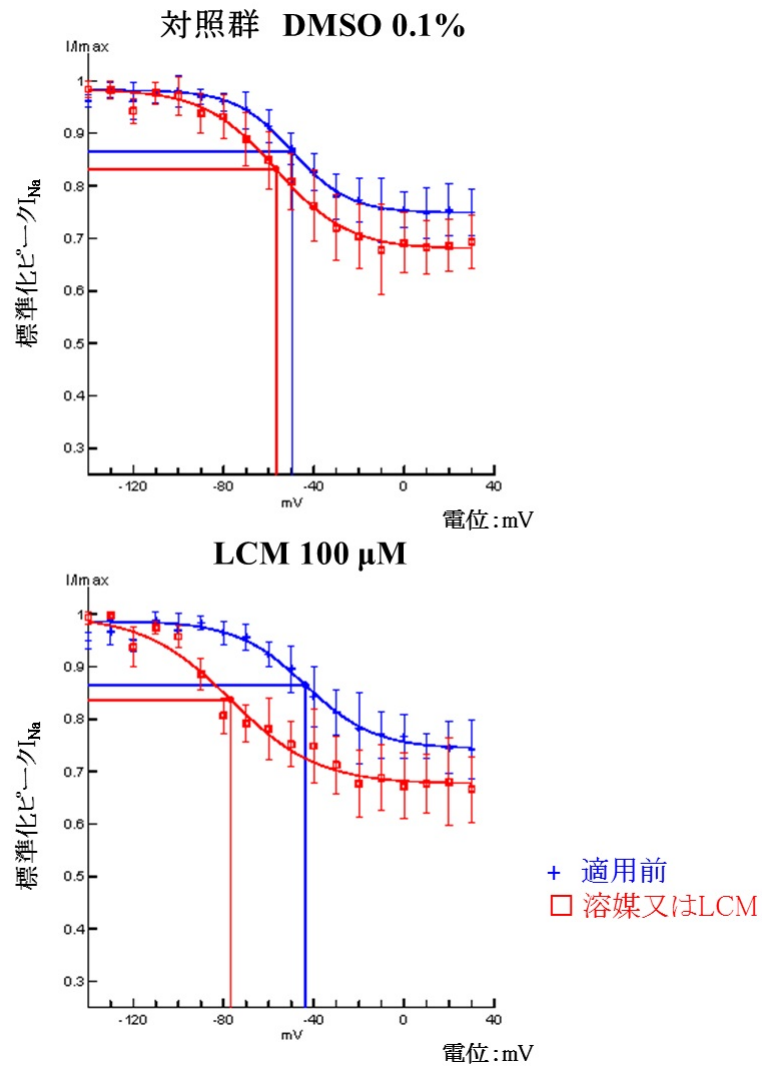


図 2.6.2.2-13 ラコサミドの Na^+ チャネルの緩徐な不活性化に対する作用
LCM : ラコサミド、 μM : $\mu\text{mol/L}$

(報告書番号 CNS10029、Fig. 6.2 より)

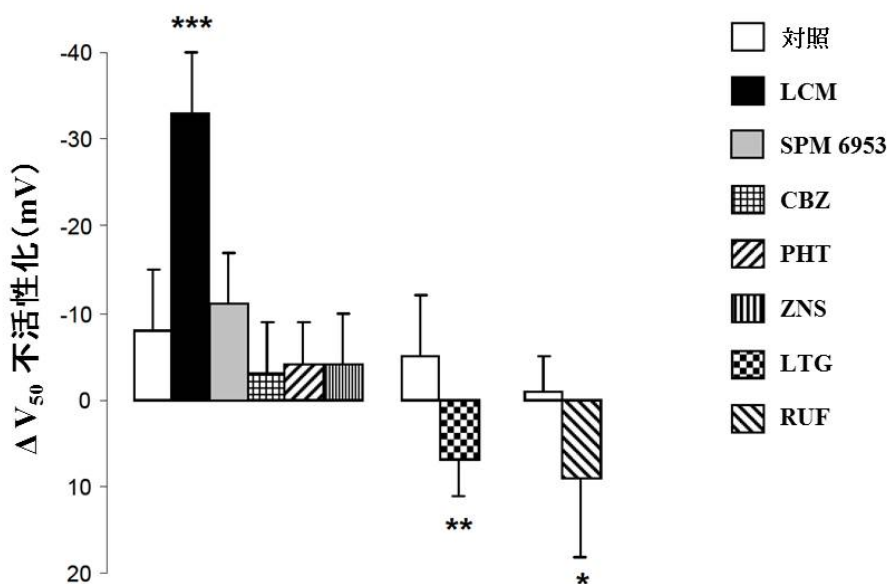


図 2.6.2.2-14 Na⁺チャネルの緩徐な不活性化に対するラコサミド及び抗てんかん薬並びに SPM 6953 の作用

V₅₀: 最大利用度の 50%を示す不活性化電位

ΔV₅₀: 対照又は薬剤投与後の V₅₀ - 投与前の V₅₀

CBZ: カルバマゼピン、LCM: ラコサミド、LTG: ラモトリギン、PHT: フェニトイン、

RUF: ルフィナミド、SPM 6953: ラコサミドの S-光学異性体、ZNS: ゾニサミド

* p < 0.05, ** p < 0.005, *** p < 0.0005 (両側検定による t 検定)

(報告書番号 CNS10029、Fig.6.6 より)

viii) *Scn1b* ノックアウトマウス海馬スライス標本におけるラコサミドの抗けいれん作用機序の検討 (4.2.1.1.14 報告書番号 F-9946、表 2.6.3.2B)

ラコサミドの抗けいれん作用の機序を検討するため、*Scn1b* (電位依存性 Na チャネル β1 サブユニット) ノックアウトマウスの神経細胞における連続発火に対する作用をパッチクランプ法によりカルバマゼピンと比較検討した。*Scn1b* サブユニットはてんかん発作の間はダウンレギュレートされており、てんかんにおける薬剤耐性の分子機序の基礎の 1 つとなる可能性がある。ノックアウトマウス及び野生型マウスの海馬 CA1 領域の錐体細胞を人工脳脊髄液 (ACSF) あるいは 100 μmol/L の薬物溶液で灌流し、500 ミリ秒の電流刺激により連続発火を誘発させ、刺激電流 (pA) と活動電位 (発火) 頻度 (Hz) との関係解析した。

その結果、ラコサミドでは *Scn1b* ノックアウトマウス及び野生型共に連続的な活動電位 (発火) の阻害がみられ、*Scn1b* ノックアウトマウスにおいても連続的な発火に対する阻害作用は維持された (図 2.6.2.2-15: A₁, A₂)。一方、カルバマゼピンは野生型においては連続的な発火を阻害したが、*Scn1b* ノックアウトマウスでは連続的な発火に対する阻害作用を示さなかった (図 2.6.2.2-15: B₁, B₂)。このことより、ラコサミドの阻害作用には Na⁺チャネル β サブユニットの関与を必要としないことが示唆された。

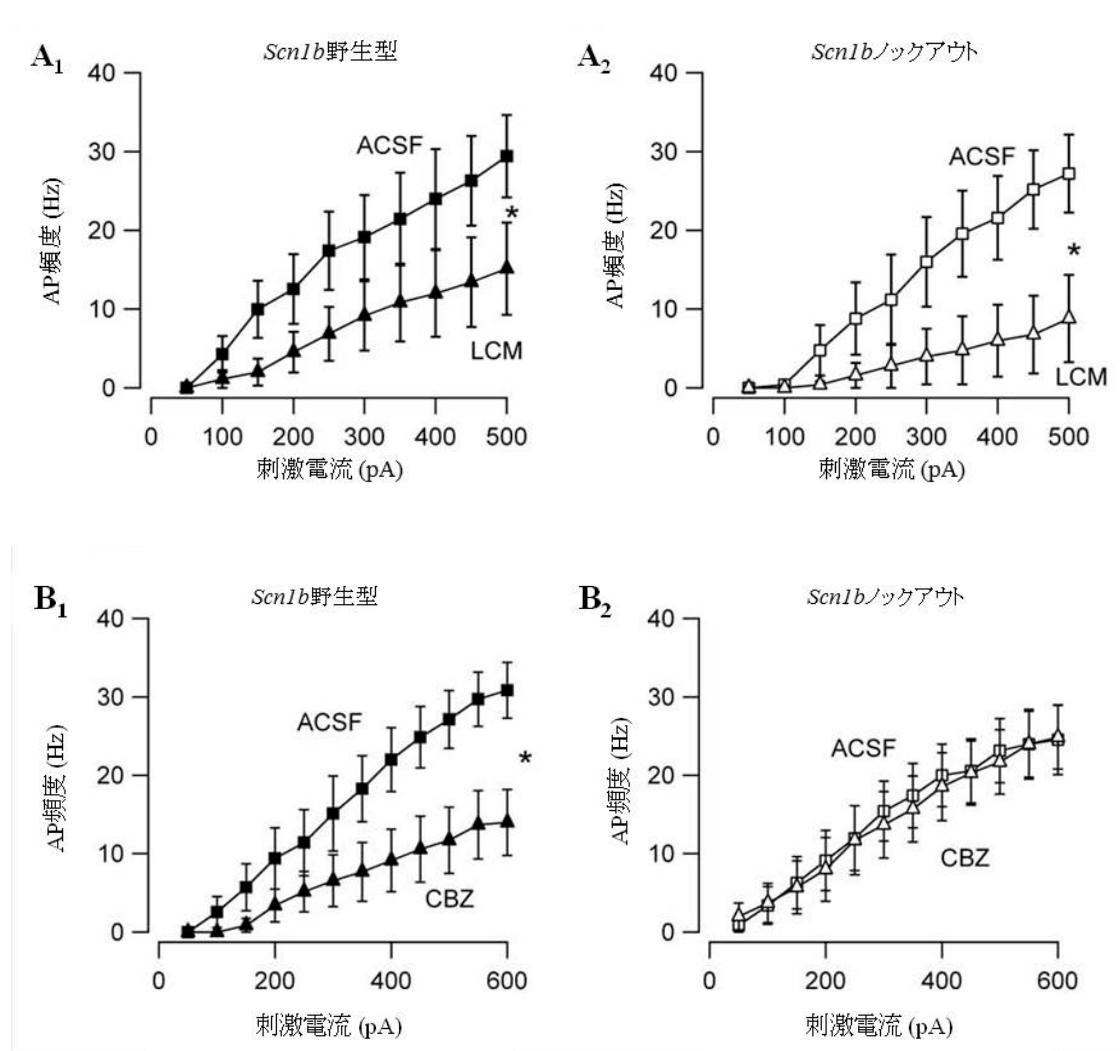


図 2.6.2.15 *Scn1b* 野生型及びノックアウトマウスにおける連続活動電位（発火）に対するラコサミド及びカルバマゼピンの作用

ACSF：人工脳脊髄液、AP：活動電位、CBZ：カルバマゼピン、LCM：ラコサミド
Mean \pm S.E.M.、* $p < 0.05$ (student's t-検定)

(報告書番号 F-9946、Fig 10、Fig 13 より)

ix) Na^+ チャネル遺伝子発現標本におけるラコサミドの作用 (4.2.1.1.15 報告書番号 F-9938、表 2.6.3.2B)

電位依存性 Na^+ (NaV) チャネルに対するラコサミドの作用を、 Na^+ チャネルの脳型あるいは骨格筋型アイソフォームを発現させた標本を用い、チャネルの活性化、急速及び緩徐な不活性化に及ぼす影響についてパッチクランプ法で検討した。ラコサミドの抗けいれん作用に関し、脳、骨格筋のいずれの機能が修飾されるかを検討するため、これらのアイソフォームを用いることは適切と考えられる。安定的に NaV1.2 (ラット脳型アイソフォーム) を発現させたチャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 細胞、 NaV1.4 チャネル (野生型ヒト骨格筋型アイソフォーム) あるいは NaV1.4-QQQ 突然変異体 (ヒト骨格筋型アイソフォームの急速な不活性化部分を欠損、緩徐な不活性化部分を残存) を発現させたアフリカツメガエル卵母細胞を用いた。

その結果、ラコサミドは $400 \mu\text{mol/L}$ 以上の濃度で NaV1.2 アイソフォーム発現細胞において急速な不活性化に影響を与えず、緩徐な不活性化を選択的に促進させ、それ以外のいずれの性質にも影

響を及ぼさなかった。一方、ラコサミドはNaV1.4及びNaV1.4-QQQ発現細胞におけるNa⁺チャネルの活性化及び不活性化のパラメータに一貫した影響を及ぼさなかった。これらの発現細胞で作用が見られなかった理由として、ラコサミドがアイソフォーム特異性を有する可能性が考えられる。

2) ラコサミドの電気生理学的性質及び特異的薬剤標的部位に関する検討

i) ラコサミドの神経興奮に対する作用(4.2.1.1.12 報告書番号 Errington 2006、4.3.1 項、報告書番号 Errington 2008、表 2.6.3.2B)

単層培養錐体神経細胞の興奮性に対するラコサミドの作用を評価するために、自発性の興奮性シナプス後電流又は抑制性シナプス後電流(それぞれ、sEPSC/sIPSC)の頻度及び活動電位発火率を測定した。単層培養の神経細胞をラコサミド100 µmol/Lで処理すると、sIPSC及びsEPSCの発生頻度は有意に減少した(図 2.6.2.2-16、左図)。また、ラコサミド(処置濃度:30-100-300-1000 µmol/L)は濃度依存的に自発性活動電位の発火率を有意に抑制した(50%阻害濃度 IC₅₀: 61.5 µmol/L)(図 2.6.2.2-16、右図)。

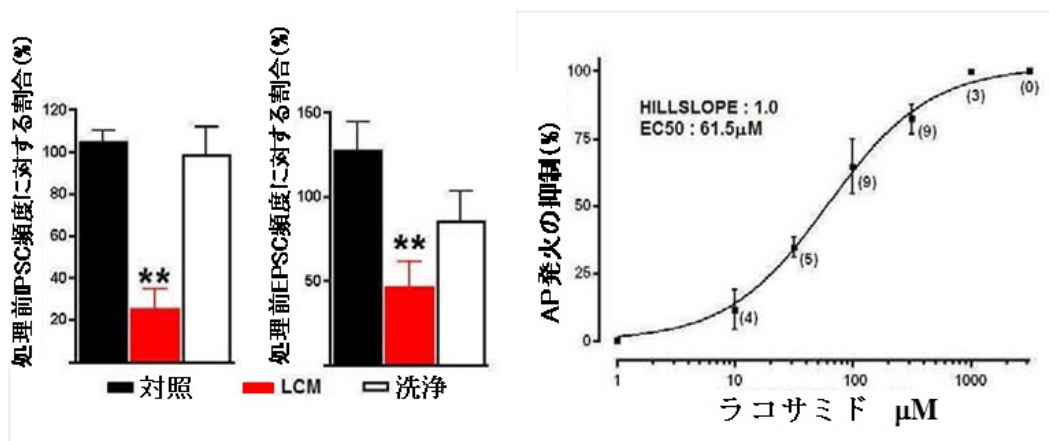


図 2.6.2.2-16 ラコサミドの活動電位発生(自発性興奮性又は抑制性シナプス後電流)に対する作用

AP: 活動電位、µM: µmol/L、()内の数字: 例数
**p < 0.01 (対応のある t 検定)

(報告書番号 Errington 2006、Fig. 4.1 より)

ii) 活動電位の持続的連続発火に対する作用(4.2.1.1.12 報告書番号 Errington 2006、5.3.2 項、表 2.6.3.2B)

活動電位の持続的連続発火(Sustained repetitive firing: SRF)は、電位発生に関与する膜イオンチャネルに対する薬物の作用を検討するためによく使用される。この場合、SRFは発作焦点内の神経細胞において予測される神経細胞活動のモデルとなるものである。活動電位の持続的連続発火は脱分極パルス(10秒)により誘発させた。これらのSRFバーストは、*in vivo*での強直性の全身性てんかん様イベントで、大型皮質錐体神経細胞で観察される発火の形式を、*in vitro*においてより正確に表現する。被験物質非存在下では、神経細胞は高頻度(15.04 ± 0.94 Hz)のオーバーシュートした活動電位列を発生させた。ラコサミド(処置濃度:32-100-320 µmol/L)を単層培養細胞に適用すると、適用前に比べて、神経細胞の平均発火頻度は濃度依存性に有意に減少(EC₅₀: 48 µmol/L)した。この作用は細胞を洗浄することにより回復した。しかし、阻害の時間的特性をみると、バーストの

初期に限定して被験物質の存在下においても残存スパイクが認められた。全体の SRF バーストを 1 秒毎に解析すると、ラコサミドはバーストの初期段階では活動電位の発火率に対し、大きな抑制は示さなかった (EC_{50} : 640 $\mu\text{mol/L}$)。急速な不活性化の調節作用を有する抗てんかん薬であるカルバマゼピン、ラモトリギン及びフェニトインは、いずれも最初の 1 秒間のバースト中の発火率を著しく減少させた。これに対し、ラコサミドは連続活動電位の発火を抑制し、細胞興奮性も抑制したが、上記抗てんかん薬とは異なり、初期段階の活動電位において明らかな阻害作用を示すには相対的に持続性の脱分極が必要であった。

ラコサミドの 320 $\mu\text{mol/L}$ でも初期の SRF の抑制作用がみられないことは、SRF におけるラコサミドとカルバマゼピン、ラモトリギン及びフェニトインとの相違は単に共通の標的部位での効力の差を示しているのではないことを強く示している。

ラコサミドは臨床的に使用されている薬剤とチャネルにおける結合部位が異なる可能性が示唆された。

iii) てんかん様放電に対する作用 (4.2.1.1.12 報告書番号 Errington 2006、5.3.1 項、表 2.6.3.2B)

ラコサミドのてんかん様放電に対する作用を更に検討するため、ラット培養皮質神経細胞を電位固定し、パッチピペットを介して 20 mV までの緩徐な脱分極 (3 mV/秒) 電位ランプを細胞体に適用した。

試験に用いた一部の神経細胞では、脱分極ランプに対する電位固定の適切なコントロールが維持できず、その結果、電位依存性 Na^+ チャネルにより介在されたと考えられる活動電流の高頻度の発火列がみられた。薬理的観点から、緩徐な脱分極により誘発されたこれらのバーストは、強直性てんかん様症状の放電を示す病理生理学的特徴を備えた優れたモデルであることを示している。ラコサミド (100 $\mu\text{mol/L}$) はこの緩徐なランプ状の脱分極により誘発された活動電流の発火を抑制 (ベースライン: 50 スパイク/バースト、ラコサミド処置: 14 スパイク/バースト) し、その作用は洗浄により可逆性を示した (47 スパイク/バースト)。同様に、カルバマゼピン及びフェニトインは緩徐な電位ランプによるスパイクの発火をほぼ完全に阻害した。一方、電位変化の速度をかなり早くした (90 mV/s) 同様の試験では、誘発されたスパイク列はラコサミドに対し、ほとんど感受性を示さなかった。しかし、急速な脱分極ランプによるスパイクは、急速な不活性化の調節薬であるカルバマゼピン及びフェニトインに対して、なお高い感受性がみられ、それぞれ 79% 及び 76% の減少を示した。

iv) GABA 及び α -アミノ-3-ヒドロキシ-5-メチル-4-イソキサゾールプロピオン酸 (AMPA) /NMDA 誘発電流に対するラコサミドの作用 (4.2.1.1.12 報告書番号 Errington 2006、4.3.3~4.3.5 項、表 2.6.3.2B)

GABA (20% 効果濃度 EC_{20} 近辺の 3.2 $\mu\text{mol/L}$ を使用) 誘発電流に対するラコサミド (100 $\mu\text{mol/L}$) 及びベンゾジアゼピン系薬剤ジアゼパム (1 $\mu\text{mol/L}$) の作用をラット錐体細胞を用いて検討した。同様の方法で AMPA/NMDA 誘発電流に対する作用も検討した。抗てんかん薬の電流に対する負の調節作用を検討するため、準最大作用量の AMPA (32 $\mu\text{mol/L}$) 及び EC_{50} の NMDA (32 $\mu\text{mol/L}$) を使用した。

その結果、ジアゼパム (1 $\mu\text{mol/L}$) では GABA 誘発電流の振幅を対照の約 2 倍に増大させたが、ラコサミド (100 $\mu\text{mol/L}$) では作用は認められなかった。

ラコサミド (100 $\mu\text{mol/L}$) は AMPA により誘発された電流の振幅に明らかな影響を及ぼさなかった。一方、同じ細胞を洗浄後、AMPA 受容体拮抗薬の 6-シアノ-7-ニトロキノキサリン-2,3-ジオン (CNQX、10 $\mu\text{mol/L}$) を適用した場合、AMPA 誘発電流の急速な阻害作用がみられた。

ラコサミド (100 $\mu\text{mol/L}$) は NMDA 誘発電流の振幅に明らかな影響を及ぼさなかった。一方、NMDA 受容体チャンネル阻害剤ケタミン (100 $\mu\text{mol/L}$) は NMDA 誘発電流を急速かつほぼ完全に阻害した。

v) ラコサミド及び推定代謝物の特異的薬剤標的部位の検討

ラコサミドと薬剤標的部位との相互作用について、放射性リガンドを用いて検討した。2つの広範囲な *in vitro* 放射性リガンド結合試験では、100 種以上の受容体、イオンチャンネル、トランスポータ及び酵素について、ラコサミド 10 $\mu\text{mol/L}$ の濃度で実施した (4.2.1.1.16 報告書番号 817003、表 2.6.3.2.B、参考 4.2.1.1.17 報告書番号 A2、表 2.6.3.2.B)。

その結果、試験に用いられた次の受容体、すなわち、アセチルコリン、アデノシン、アドレナリン、アデノシン三リン酸 (ATP)、カンナビノイド、ドパミン、GABA、グルタミン酸、グリシン、ヒスタミン、セロトニン、種々の神経ペプチド及び成長因子受容体、イオンチャンネル、トランスポータ並びに細胞内シグナル伝達酵素に対するラコサミドによるリガンド結合置換は 20% 未満であった。一方、弱い結合置換 (20~35%) は、心房性ナトリウム利尿ペプチド (ANP) 受容体及び血管作動性腸管ペプチド (VIP) 受容体、ホルボールエステル/プロテインキナーゼ C 並びに Na^+ チャンネル部位 2 でみられた。ラコサミドの日本人における予定最高用量で到達する血漿中濃度 (48 $\mu\text{mol/L}$) は 10 $\mu\text{mol/L}$ を超えるので、弱いリガンド結合置換 (20~35%) がみられた標的については、更に高濃度 (100 $\mu\text{mol/L}$) で追加試験を実施した。その結果、受容体結合試験ではラコサミドの治療領域を超えた 100 $\mu\text{mol/L}$ の濃度においても、ANP、VIP1 及び VIP2 受容体に対しては明らかな特異的な結合阻害 (>20%) は認められなかった。 (4.2.1.1.18 報告書番号 6065、表 2.6.3.2.B)

In vitro 酵素活性測定においては、ラコサミドの 100 $\mu\text{mol/L}$ では、ラット脳組織のプロテインキナーゼ C 及び Sf9 細胞に発現させたヒト組換えプロテインキナーゼ C サブタイプ (α 、 $\beta 1$ 、 $\beta 2$ 、 γ 、 δ) に対する阻害は認められなかった (<10%) (4.2.1.1.19 報告書番号 5498、表 2.6.3.2.B)。

乱用性評価の一部として、臨床治療濃度を超える 100 $\mu\text{mol/L}$ の濃度で広範囲にわたる放射性リガンド結合試験を実施した (4.2.1.1.20 報告書番号 10263、表 2.6.3.2.B)。

その結果、組換えヒト受容体及びトランスポータ (カンナビノイド受容体 CB1 及び CB2、ドパミン受容体 D1 及び D2S、オピオイド受容体 δ 及び μ 、セロトニン受容体 5-HT_{1A}、5-HT_{2A} 及び 5-HT_{2c}、ノルアドレナリン、ドパミン及びセロトニントランスポータ)、更に、げっ歯類の脳から調製した受容体 (ベンゾジアゼピン受容体、NMDA 受容体、ニコチン性 $\alpha 4\beta 2$ ACh 受容体、オピオイド受容体 κ 、 σ 受容体) に対する特異的な結合はみられなかった。ラコサミドの主要代謝物 (O-脱メチル体 : SPM 12809) についても、特異的な結合はみられなかった。

推定代謝物 [脱メチル体、ヒドロキシ体 (オルト-、メタ-、パラ-) 及びヒドロキシ-O-脱メチル体 (オルト-、メタ-、パラ-)] と主要な薬剤標的部位との相互作用を、GABA_A、AMPA、カイニン酸、NMDA 及びグリシン受容体について、ラット大脳皮質膜分画を用いて放射性リガンド結合試験により検討した (4.2.1.1.21 報告書番号 817004、表 2.6.3.2.B)。

前述した推定代謝物についての試験でも 10 $\mu\text{mol/L}$ の濃度で特異的な結合に対する置換は認められなかった。

vi) 既存の抗てんかん薬の薬剤標的部位に関する検討

抗てんかん薬の既知の標的部位に対する作用について更に検討した。ラコサミド 100 $\mu\text{mol/L}$ では、tiagabine の分子標的である GABA トランスポーターに対する結合は検出されなかった (4.2.1.1.18 報告書番号 6065、表 2.6.3.2B)。

同様に、ラコサミド 100 $\mu\text{mol/L}$ では、ピガバトリンの標的部位である GABA トランスアミナーゼに対する作用は認められなかった (4.2.1.1.22 報告書番号 8540、表 2.6.3.2B)。

トピラマートは作用の一つとして炭酸脱水酵素阻害作用を有するが、ラコサミドでは 100 $\mu\text{mol/L}$ においてもこの酵素に対する阻害作用は認められなかった (参考 4.2.1.3.15 報告書番号 A6、表 2.6.3.2B)。一方、炭酸脱水酵素を阻害したとの報告もある⁴⁾。

ラコサミドは NMDA 受容体の調節作用を有するアミノ酸 D-セリンと類似した化学構造を有するため、グルタミン酸受容体との結合については詳細に検討した。初期の試験では、NMDA 受容体のグリシン結合部位に対する拮抗剤である 5,7-dichlorokynureic acid (5,7-DCKA、2 nmol/L) の結合を 50%置換するラコサミド濃度 (IC_{50}) は 5.2 $\mu\text{mol/L}$ であった (参考 4.2.1.1.23 報告書番号 Wasterlain 1、表 2.6.3.2B)。

更に特異性の高いリガンドを用い、ラット脳組織から単離した AMPA、カイニン酸、NMDA (グリシン及びフェンシクリジン結合部位アゴニスト) 及びグリシン受容体におけるリガンドの特異的結合に対する置換作用について検討した。その結果、ラコサミド 10 $\mu\text{mol/L}$ では実施されたいずれのアッセイ系においても明らかな置換 (>30%) は認められず、NMDA 受容体のグリシン部位での結合は確認できなかった (参考 4.2.1.1.24 報告書番号 A3、表 2.6.3.2B)。

組換え NR1/2A 及び NR1/2B NMDA 受容体サブタイプを用いた機能試験では、ラコサミドは 1.89 mmol/L (IC_{50}) で NR1/2B 受容体における NMDA 及びグリシン誘発電流を阻害したが、NR1/2A 受容体では阻害はみられなかった⁵⁾。この 1.89 mmol/L の濃度はラコサミドの日本人における予定最高治療用量で到達する血漿中濃度 (48 $\mu\text{mol/L}$) より 39 倍以上高いため、NMDA 受容体でのラコサミドのこの作用が作用機序に関与している可能性は極めて低いと考えられる。

電気生理学的 *in vitro* パッチクランプ試験において、ラコサミド 10 $\mu\text{mol/L}$ では抗てんかん薬候補化合物 retigabine の分子標的である電位依存性 K^+ チャンネル KCNQ2/3 に対する作用を示さなかった (参考 4.2.1.1.25 報告書番号 G0011Sch291E、表 2.6.3.2B)。

電位依存性 Ca^{2+} チャンネル (L、N、P 及び T 型) に対する作用も認められなかった⁶⁾ (参考 4.2.1.1.26 報告書番号 Krishtal、表 2.6.3.2B)。

ラコサミド 100 $\mu\text{mol/L}$ で電位依存性のテトロドトキシン (TTX) 非感受性 Na^+ 電流を軽度阻害 (~15%) したが、TTX 感受性 Na^+ 電流に対する影響はみられなかった (参考 4.2.1.1.27 報告書番号 106-02-01、表 2.6.3.2B)。

3) ラコサミドの CRMP-2 に対する作用

ラコサミドの作用機序の一つとして、予備試験の結果から CRMP-2 との相互作用が示されていた。しかし、適切な対照及び改善された放射性リガンド結合条件を使用した独立した試験として繰り返し実施した結果、相互作用が否定された⁷⁾。

- i) ^3H -ラコサミドを用いたろ過結合法及びシンチレーションプロキシミティアッセイ法による CRMP-2 たん白質へのラコサミドの結合に関する検討 (4.2.1.1.28 報告書番号 CNS09026、表 2.6.3.2B)

^3H -ラコサミドをリガンドとして、CRMP-2 たん白質を発現している種々の膜分画（ラット脳組織 CRMP-2、COS-7 及び HEK-293 に発現させたヒト CRMP-2 たん白質）あるいは大腸菌等に発現させた N-又は C-末端タグ付きヒト CRMP-2 たん白質との結合性について、それぞれ主として古典的なろ過結合分析及びシンチレーションプロキシミティアッセイ法により検討した。

その結果、いずれの CRMP-2 たん白質に対しても ^3H -ラコサミドの特異的な結合は確認されなかった。

- ii) 表面プラズモン共鳴による CRMP-2 たん白質へのラコサミド結合に関する検討 (4.2.1.1.29 報告書番号 CNS09027、表 2.6.3.2B)

ラコサミドのヒト CRMP-2 たん白質に対する結合について、表面プラズモン共鳴分析法 (Biacore) を用いて検討した。ヒト血清アルブミン及びヒト CRMP-2 たん白質に対するラコサミドの結合性について、0.39~100 $\mu\text{mol/L}$ の濃度範囲で実施した。

その結果、ラコサミドと両たん白質との特異的な相互作用は認められなかった。

- iii) ^3H -ラコサミドを用いた CRMP-2 たん白質へのラコサミドの結合に関する検討 (4.2.1.1.30 報告書番号 CNS09028、表 2.6.3.2B)

ラット CRMP-2 を発現させたアフリカツメガエル卵母細胞の膜分画におけるラコサミドの特異的結合について、以前に実施した予備試験 (参考 4.2.1.1.33 報告書番号 041012) より感度を高めるためにリガンドを ^{14}C -ラコサミドから 700 倍高い比放射能の ^3H -ラコサミドに変更し、予備試験と同様の方法で検討した。更にバイアスを避けるために ^3H -ラコサミドのほかに ^3H -ニコチンをブラインドで使用した。

その結果、ラコサミドは CRMP-2 たん白質に対し特異的結合を示さないと判断された。

以前に実施された検討では、ラコサミドは CRMP-2 と特異的結合を示唆する結果を示していたが、i)、ii)及びiii)の試験結果から CRMP-2 には結合しないことが確認された (4.2.1.1.31 報告書番号 CNS10033、参考 4.2.1.1.32 報告書番号 031209、参考 4.2.1.1.33 報告書番号 041012、4.2.1.1.34 報告書番号 05/SP/03、表 2.6.3.2B)。

2.6.2.3 副次的薬理試験

(1) 神経保護モデルにおける作用

1) *In vitro* 試験

i) 海馬スライス標本の CA1 領域における *in vitro* 長期増強に対する作用 (参考 4.2.1.2.1 報告書番号 CNS08001、表 2.6.3.3A)

マウス海馬スライス標本の CA1 領域におけるラコサミドの長期増強に対する作用について *in vitro* で検討した。ラコサミドの作用については、電位依存性 Na⁺チャネル阻害作用を有する抗てんかん薬トピラマートと比較した。ラコサミド及びトピラマートの濃度はいずれも 100 µmol/L とした。

その結果、ラコサミド及びトピラマートは共に、マウス海馬の CA1 領域における長期増強に対する影響を示さなかった。

ii) 海馬スライス標本を用いた虚血モデルにおける神経保護作用 (参考 4.2.1.2.2 報告書番号 F9672、表 2.6.3.3A)

ラットの海馬スライス標本器官培養系の 2 種類の神経学的障害モデルを用いて、ラコサミド (1 ~ 100 µmol/L) の神経保護作用を検討した。虚血モデルとして酸素グルコース欠乏 (OGD) モデル、また純粋な興奮毒性損傷モデルとしてグルタミン酸曝露モデルを用いて検討した。傷害前に薬物を作用させ壊死性細胞死及びアポトーシスを定量した結果、両傷害モデル共に、ラコサミドの 1 µmol/L 以上の濃度で抗アポトーシス作用が認められた。更に、ラコサミドはグルタミン酸による軽度の傷害においては、壊死性細胞死に対する保護作用を示したが、複雑で多因子性の OGD モデルにおいては、その保護作用は認められなかった。

2) *In vivo* 神経変性疾患モデル

i) 永続的な中大脳動脈閉塞モデルにおける保護作用 (参考 4.2.1.2.3 報告書番号 MDS-MCAO、表 2.6.3.3A)

ラットにおける永続的な中大脳動脈閉塞 (MCAO) の 15 分前にラコサミド 25 mg/kg を腹腔内投与し、その後、5 mg/kg/時間の投与速度で 4 時間静脈内投与した (累積用量は 45 mg/kg)。その結果、72.8% の梗塞巣体積の減少が認められた。

ii) 一過性中大脳動脈閉塞モデルにおける保護作用 (参考 4.2.1.2.4 報告書番号 A7、表 2.6.3.3A)

90 分間の一過性 MCAO の開始 30 分後にラコサミド 25 mg/kg を急速静脈内投与後、更に 10 mg/kg/時間の投与速度で 4 時間点滴静脈内投与した。検査は、動脈圧、血液ガス、神経学的スコア、梗塞巣体積、大脳半球梗塞巣体積パーセント及び浮腫体積について実施した。その結果、このモデルでは梗塞巣体積に対するラコサミドの有意な作用は認められなかったが、ラコサミド投与群で早期死亡数の減少傾向がみられ、神経学的スコアは対照群の 3.2 ± 1.9 に対して、ラコサミド群で 2.2 ± 1.6 と減少傾向がみられた。

iii) 外傷性脳損傷モデルにおける保護作用 (参考 4.2.1.2.5 報告書番号 DNRO 217.27.275.04、表 2.6.3.3A)

ラットの液体衝撃 (fluid percussion) 誘発による外傷性脳損傷モデルにおいて、ラコサミド 30 mg/kg を 8 時間間隔で 3 日間腹腔内投与した結果、行動的又は神経病理学的な回復に対して改善も悪化も認められなかった。

iv) 筋萎縮性側索硬化症動物モデルに対する作用 (参考 4.2.1.2.6 報告書番号 FI04017、表 2.6.3.3A)

ラコサミドの筋萎縮性側索硬化症モデルに対する作用をスーパーオキシドジスムターゼ 1 (SOD1) 変異マウスを用いて評価した。ラコサミド (3、10 及び 30 mg/kg) を症状の発症時より死亡するまで 1 日 2 回腹腔内投与した。その結果、有意ではないものの、動物の生存期間の用量依存的な延長が認められた。複合筋活動電位の測定では神経伝導障害の軽減がみられたが、動物の行動障害に対する効果は認められなかった。ラコサミドは最高用量 30 mg/kg で生存期間を約 25%延長させ、臨床的に使用されている薬剤のリルゾールと同程度の作用を示した。

(2) 運動障害動物モデルにおける作用

1) レセルピン誘発咀嚼様顎運動に対する作用 (参考 4.2.1.2.7 報告書番号 AA19072、表 2.6.3.3B)

ラコサミドを 3、10 及び 30 mg/kg 腹腔内投与した。30 mg/kg 投与により、マウスにおけるレセルピン誘発咀嚼様顎運動を抑制した。これは遅発性ジスキネジアに対する効果を有する可能性を示している。

2) ハルマリン誘発振戦に対する作用 (参考 4.2.1.2.8 報告書番号 AA20234、参考 4.2.1.2.9 報告書番号 AA24877、表 2.6.3.3B)

ラットを用いて、ラコサミド (0.3、1、3、10 及び 30 mg/kg、腹腔内投与) の本態性振戦動物モデルとしてのハルマリン誘発振戦に対する作用を検討した。

その結果、ラコサミド 3 mg/kg 以上で用量依存的で有意な振戦の抑制作用を示した。ラコサミドの最高用量 30 mg/kg では、比較対照薬プロプラノロール 20 mg/kg と比較し、より強い抑制作用を示した。ラコサミド 30 mg/kg では振戦発現までの時間の延長が認められたが、有意ではなかった。

(3) 精神疾患モデルにおける作用

1) 統合失調症モデルにおける作用 (参考 4.2.1.2.10 報告書番号 SCHW001、表 2.6.3.3C)

マウスを用いて、ラコサミド (3、10 及び 30 mg/kg、腹腔内投与) の聴覚性驚愕反応における驚愕反応及びプレパルス抑制 (PPI) に対する作用について検討した。

その結果、ラコサミド 30 mg/kg まで聴覚性驚愕反応又は PPI に対する作用は認められなかった。一方、陽性対照薬ラモトリギン 27 mg/kg (腹腔内投与) では PPI の増強を示したが、聴覚性驚愕反応に対する作用はみられなかった。クロザピン 3 mg/kg (腹腔内投与) では PPI を増強し、この作用はラコサミド 30 mg/kg との併用では更に増強がみられたが、ラコサミド 10 mg/kg 以下では増強作用は認められなかった。

2) 不安症モデルにおける作用

ストレス誘発性体温上昇 (SIH) マウスモデルにおいて抗不安作用を検討した。陽性対照薬のクロルジアゼポキシドでは生理食塩液投与群と比較し、有意な体温の低下がみられた。同様に、ラコサミド 3 及び 10 mg/kg で有意な体温低下がみられ、抗不安作用が示唆された。ラコサミド 30 mg/kg 又はプレガバリンでは SIH に対する作用はみられなかった (参考 4.2.1.2.11 報告書番号 SCHW002、表 2.6.3.3C)。

不安症の他の二つのラットモデルとして高架式十字迷路法及びソーシャル・インタラクション試験では 0.3、1、3、10 及び 30 mg/kg でラコサミドの作用は認められなかった (参考 4.2.1.2.12 報告書番号 507/511、表 2.6.3.3C)。

3) 躁病モデルにおける作用 (参考 4.2.1.2.13 報告書番号 505、表 2.6.3.3C)

d-アンフェタミン/クロルジアゼポキシド投与によって誘導されるラット双極性障害モデル (特にこの障害の躁状態) に対するラコサミドの作用を検討した⁸⁾。ラコサミド 1、3 及び 10 mg/kg を行動観察の 15 分前に腹腔内投与した。

その結果、ラコサミド 10 mg/kg では運動抑制作用がみられたが、特に d-アンフェタミン/クロルジアゼポキシドの投与による自発運動亢進に対する特異的抑制作用ではなかった。

なお、陽性対照薬であるリチウムはこの動物モデルにおける自発運動に対し、有意な抑制作用がみられた。パルプロ酸では抑制傾向はみられたが、有意ではなかった。

4) ラット行動断念試験における作用 (参考 4.2.1.2.14 報告書番号 04.270/3、表 2.6.3.3C)

ラットを用いて行動断念試験 (強制水泳試験) におけるラコサミドの腹腔内投与による抗うつ様作用を検討した。ラコサミドは 3、10 及び 30 mg/kg を投与し、投与後 30 分、4 及び 24 時間に強制水泳テスト (各テスト時間で 5 分間強制水泳させ、その時間中の不動時間を測定) を実施した。

その結果、ラコサミドでは不動時間に明らかな影響はみられなかった。陽性対照薬のイミプラミン 32 mg/kg (腹腔内投与) では不動時間の明らかな短縮がみられた。これらの結果より、ラットを用いた行動断念試験において、ラコサミドの 3~30 mg/kg の範囲では抗うつ様作用はみられないことが示唆された。

2.6.2.4 安全性薬理試験

安全性薬理試験は、中枢神経系、心血管系及び呼吸系に及ぼす影響について、日米 EU 医薬品規制調和国際会議 (ICH) S7A (2000) 及び S7B (2005) ガイドラインに準拠して実施した。コアバッテリー試験に加え、補足的安全性薬理試験として腎臓及び消化器系に及ぼす作用についても検討した。

主な安全性薬理試験は、Schwarz Pharma 社が、ラコサミドのライセンス取得後に医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施基準 (GLP) に準拠して実施した。しかし、腎臓の試験、開発初期に実施された中枢神経系及び心血管系に対する試験は、GLP に準拠していない。

(1) 中枢神経系に及ぼす影響

1) 神経薬理学的スクリーニング試験 (参考 4.2.1.3.1 報告書番号 0200XH15.001、表 2.6.3.4)

神経薬理学的スクリーニング試験においてラコサミド 10 mg/kg (腹腔内投与) を雄マウス (CD-1 マウス : 10 例) に投与し、行動パラメータに対する作用を検討した。

その結果、10 mg/kg では神経薬理学的症状は観察されなかった。また、体温に対する影響は認められなかった。

2) ロータロッド試験 (参考 4.2.1.3.2 報告書番号 D00.271/2/A、表 2.6.3.4)

マウス及びラットを用いたロータロッド試験において、ラコサミドの運動協調機能に対する作用を検討した。ラコサミド 8、16 及び 32 mg/kg (腹腔内投与)、及び 32、64 及び 128 mg/kg (経口投与) を雄マウス (Rj:NMRI、各群 10 例) 又は雄ラット (Rj:Wistar、各群 10 例) に投与し、回転棒からの落下動物数及び落下までの時間 (観察時間 : 180 秒) について評価した。陽性対照薬としてジアゼパム 4 mg/kg (腹腔内投与) 及び 8 mg/kg (経口投与) を用いた。陰性対照としては溶媒 (0.2% ヒドロキシプロピルメチルセルロース水溶液 : 経口投与、0.2% ヒドロキシプロピルメチルセルロース生理食塩液 : 腹腔内投与) を用いた。

その結果、マウス及びラット共にラコサミド (腹腔内投与) は用量依存的に運動協調機能に影響を及ぼし、32 mg/kg ではその影響は溶媒対照群に対し有意であった。すなわち、マウスの試験において回転棒から落ちた例数は溶媒対照群では 1/10 例、ラコサミド 32 mg/kg 群では 10/10 例、落下までの時間の平均値は溶媒対照群では 162.9 ± 17.1 秒、ラコサミド 32 mg/kg 群では 16.9 ± 5.9 秒 (平均値 \pm S.E.M.) であった。ラットの試験 (腹腔内投与) においては、溶媒対照群で 5/10 例が回転棒から落下し、落下までの時間の平均値は、 123.9 ± 19.4 秒であった。これに対し、ラコサミド 32 mg/kg 投与群では落下動物数は 9/10 例に増加し、また、落下までの時間の平均値は 53.6 ± 21.9 秒に短縮した。経口投与試験においては同様に、マウスでは 64 及び 128 mg/kg、ラットでは 128 mg/kg の用量において有意な影響がみられた。陽性対照のジアゼパム投与群では経口及び腹腔内投与共に、有意なロータロッド試験での運動協調機能に影響がみられた。

3) Irwin の症状観察試験 (参考 4.2.1.3.2 報告書番号 D00.271/2/A、表 2.6.3.4)

スクリーニング試験の一部としてマウス及びラットを用い、ラコサミド投与後の一連の Irwin の症状観察試験を実施した。

マウス (Rj:NMRI 系、各群雄 3 例) ではラコサミド 4、8、16、32 及び 64 mg/kg を腹腔内投与し、ラット (Rj:Wistar 系、各群雄 3 例) では 4、8、16、32、64 及び 128 mg/kg を腹腔内投与、及び 8、16、32、64、128 及び 256 mg/kg を経口投与した。観察は投与 15、30 及び 60 分、2、3 及び 24 時間後に実施した。

その結果、ラコサミドはマウスの腹腔内投与及びラットの経口及び腹腔内投与いずれにおいても、質的に同様の作用を示した。すなわち、症状の変化として、用量依存的な鎮静 (マウス : 16 mg/kg 以上腹腔内投与、ラット : 16 mg/kg 以上腹腔内投与、64 mg/kg 以上経口投与)、よろめき歩行 (Rolling gate、マウス : 8 mg/kg 以上腹腔内投与、ラット : 16 mg/kg 以上腹腔内投与、64 mg/kg 以上経口投与)、筋緊張の低下 (マウス : 16 mg/kg 以上腹腔内投与、ラット : 8 mg/kg 以上腹腔内投与、16 mg/kg 以上経口投与)、更に高用量では振戦 (マウス : 32 mg/kg 腹腔内投与、ラット : 64 mg/kg 腹腔内投与、

256 mg/kg 経口投与)及び体温低下(マウス及びラット:32 mg/kg 以上腹腔内投与、ラット:256 mg/kg 経口投与)が認められた。呼吸数の減少はラットにおいて、32 mg/kg 腹腔内投与及び256 mg/kg 経口投与でみられた。挙尾はマウスでは32 mg/kg 腹腔内投与、ラットでは64 mg/kg 腹腔内投与により認められた。けいれんはマウスの64 mg/kg 腹腔内投与で認められた。

4) Irwin の症状観察試験及び体温に対する作用 (4.2.1.3.3 報告書番号 20000379P、表 2.6.3.4)

雄ラット(各群8例)を用いて Irwin 変法による試験を実施した。主試験ではラコサミド25、50及び75 mg/kg、更に補足試験では、3及び10 mg/kg を経口投与した。神経学的パラメータとして、行動、自発運動、中枢興奮性、姿勢、筋緊張性、反射及び自律神経症状について観察し、体温を測定した。行動パラメータは薬物投与前及び投与1、2、3、4、6及び24時間後に観察した。この行動試験では陽性対照としてクロルプロマジン20 mg/kg を経口投与した。ラコサミド及び陽性対照群の作用は溶媒投与群と比較した。

その結果、ラコサミド3及び10 mg/kg では神経行動、神経毒性又は自律神経系に対する有意な作用はみられなかった。25 mg/kg では自発運動の低下(投与後1及び6時間)、指接近に対する反応性の遅延(投与後4時間~24時間まで持続)、更に体部及び腹部の筋緊張の低下(投与後1時間)がみられ、それらの作用には全て有意差が認められた。

ラコサミド50及び75 mg/kg では、更に著しくかつ持続的な作用がみられた。投与後1~24時間まで有意で著しい持続的な自発運動の低下が認められた。更に投与後1時間から用量により3又は6時間まで持続する有意な呼吸困難が認められた。投与後1時間から2又は24時間まで、横腹及び頭部への指の接近、並びに頭部への指の接触に対し、有意な反応性の低下が持続的に認められた。ラコサミド50及び75 mg/kg では共に、有意な体部及び腹部の筋緊張の低下が投与後1時間~2又は3時間まで認められた。更に、75 mg/kg では投与後1又は4時間に有意な握力の低下が認められた。

ラコサミドはいずれの用量においても体温に対する作用はみられなかった。

以上の結果から、経口投与における無影響量は10 mg/kg であった。

陽性対照のクロルプロマジンでは典型的な鎮静及び自律神経系に対する作用並びに、有意な体温の低下が認められた。

5) ラット脳における神経毒性の検討

ラコサミドの神経毒性の可能性について、ラットを用いた2試験により検討した。

初期の放射性リガンド結合試験ではラコサミドにはNMDA受容体との潜在的相互作用がみられたこと、またNMDA受容体のアンタゴニストは神経細胞の空胞化を生じる可能性が懸念されたことから、ラコサミドのラット脳における同様の作用について検討した。Olneyによる試験(参考4.2.1.3.4 報告書番号Olney、表2.6.3.4)では、ラコサミド50 mg/kg の腹腔内投与後、6及び48時間にラットを安楽殺し、脳の空胞化(投与後6時間)及び細胞死(投与後48時間)について検討した。その結果、ラコサミドを投与したラットの脳組織の病理組織学的検査では、空胞化及び神経細胞壊死は認められなかった。それに対し、対照薬のNMDA受容体アンタゴニストMK-801では後脊髄皮質(retrospinal cortex)における神経細胞の空胞化がみられ、脳の別の部位では細胞壊死が認

められた。これらの結果は、追加試験 (4.2.1.3.5 報告書番号 6958-103、表 2.6.3.4) で確認された。ラコサミド 10 及び 50 mg/kg の腹腔内投与では、神経細胞の空胞化 (投与後 4 時間) 及び細胞壊死 (投与後 72 時間) 共に認められなかったが、MK-801 投与では予測されたように神経細胞の空胞化及び壊死が認められた。

(2) 心血管系に及ぼす影響

1) *In vitro* 試験

i) 心臓プルキンエ線維における作用 (4.2.1.3.6 報告書番号 20000377P、表 2.6.3.4)

ラコサミドの電気生理学的作用について雄ビーグル犬の心臓から単離したプルキンエ線維を用いて検討した。溶液の最終濃度が累積的に 1.5、5、15、50 及び 150 $\mu\text{mol/L}$ となるようにラコサミドを適用した。36.5°C の温度で、1 Hz の刺激頻度で 25 分間、更に 0.2 Hz で 5 分間刺激して活動電位を記録し、活動電位パラメータとして、振幅、静止膜電位、活動電位の最大立ち上がり速度 (V_{max}) 及び 50、70 及び 90% 活動電位持続時間 (APD_{50} 、 APD_{70} 及び APD_{90}) を測定した。

その結果、ラコサミド 1.5 及び 5 $\mu\text{mol/L}$ の濃度では、標準 (1 Hz) 及び低頻度刺激 (0.2 Hz) の電気刺激共に活動電位パラメータに有意な作用は認められなかった。ラコサミドの 15、50 及び 150 $\mu\text{mol/L}$ の濃度では、1 Hz 及び 0.2 Hz 刺激頻度共に、 APD_{50} 、 APD_{70} 及び APD_{90} の濃度依存的な短縮がみられた。ラコサミドの 15 $\mu\text{mol/L}$ では 1 Hz の刺激頻度で軽度であるが有意な APD_{90} の短縮 (5%) が認められた。ラコサミドの 50 $\mu\text{mol/L}$ では APD_{50} 、 APD_{70} 及び APD_{90} はそれぞれ 1 Hz では 24%、19% 及び 15%、0.2 Hz では 31、23 及び 20% の短縮がみられた。ラコサミドの 150 $\mu\text{mol/L}$ で APD_{50} 、 APD_{70} 及び APD_{90} は 1 Hz では 29~47% の短縮がみられ、0.2 Hz では 31~52% の有意な短縮がみられた。

活動電位の短縮は V_{max} の低下と関連していた。150 $\mu\text{mol/L}$ では V_{max} は 1 Hz 及び 0.2 Hz で、それぞれ 30 及び 33% の低下が認められた。しかし、これらの変化は有意ではなかった。この結果の要約を以下の表 2.6.2.4-1 に示した。

表 2.6.2.4-1 ラコサミドの単離プルキンエ線維における心臓活動電位に対する作用
ラコサミド処理前の値に対する変化率 (%)

刺激頻度 1 Hz

ラコサミド 濃度 [$\mu\text{mol/L}$]	V_{max}	APD ₅₀	APD ₇₀	APD ₉₀
1.5	-6	-1	-2	0
5	-16	-3	-3	-2
15	-6	-9	-8	-5*
50	-9	-24	-19**	-15**
150	-30	-47	-37**	-29**

刺激頻度 0.2 Hz

ラコサミド 濃度 [$\mu\text{mol/L}$]	V_{max}	APD ₅₀	APD ₇₀	APD ₉₀
1.5	-21	0	-1	-1
5	-21	-2	-1	-2
15	-13	-6	-6	-7
50	-21	-31**	-23**	-20**
150	-33	-52**	-41**	-31**

* $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$ (測定値の対照との比較、Newman Keuls 検定)

(報告書番号 20000377P、Table 1 及び Table 2 から算出)

ii) イヌの単離心室筋細胞における作用 (参考 4.2.1.3.7 報告書番号 A8、表 2.6.3.4)

イヌの単離心室筋細胞を用いてラコサミドの 2.5 及び 10 $\mu\text{mol/L}$ の濃度における活動電位に対する作用を 38°C で検討した。

その結果、10 $\mu\text{mol/L}$ で活動電位持続時間のわずかな短縮が認められた。

iii) モルモット心室筋細胞における作用 (参考 4.2.1.3.8 報告書番号 9496、表 2.6.3.4)

モルモット心室筋細胞を用いて、ラコサミドの活動電位に対する作用を濃度 10、50 及び 250 $\mu\text{mol/mL}$ 、刺激頻度 0.5、1 及び 3 Hz、2 ミリ秒の条件で、陽性対照のリドカイン (100 $\mu\text{mol/L}$) と比較検討した。 V_{max} 、活動電位振幅、APD₅₀ 及び APD₉₀ 並びに静止電位について評価した。

その結果、ラコサミドの 10 $\mu\text{mol/L}$ では、溶媒対照群と比較し V_{max} に対する有意な影響はみられなかったが、50 及び 250 $\mu\text{mol/L}$ では、有意な低下がみられた。 V_{max} の低下からの回復性に関しては、250 $\mu\text{mol/L}$ においてわずかな遅延がみられた。活動電位振幅及び静止電位に対しては、濃度 (10、50 及び 250 $\mu\text{mol/L}$) 及び刺激頻度 (0.5 から 3 Hz) に関わらず、有意な作用を示さなかった。APD₅₀ 及び APD₉₀ に対してはラコサミド 10 $\mu\text{mol/L}$ では有意な作用はみられなかったが、50 及び 250 $\mu\text{mol/L}$

ではわずかではあるが有意な短縮がみられた。対照薬リドカインでは APD₅₀ 及び APD₉₀ 共に短縮がみられた。

iv) 心臓 Na⁺チャネル (ヒト SCN5A チャネル; HEK293) に対する作用 (参考 4.2.1.3.9 報告書番号 011119.TDA、表 2.6.3.4)

ラコサミドの心臓の Na⁺チャネルに対する作用について、ヒト心臓 Na⁺チャネル SCN5A を発現している哺乳類細胞を用いて検討した。SCN5A を安定的に発現しているヒト胎児腎臓由来細胞 (HEK293) を用いて、ラコサミドの 10、100、200、500 及び 1000 µmol/L の濃度で検討した (反応温度 22~25°C)。SCN5A 介在電流の開始及び定常状態に対するラコサミドによる阻害は、細胞を -80 mV の保持電位に固定し、過分極条件パルス (-120 mV、20 ミリ秒) で刺激後、直ちに脱分極標的パルス (-15 mV、10 ミリ秒) を与え、-65 mV まで再分極させる二重パルスパターンを用いて測定した。このパルスパターンを 10 秒間隔で繰り返すことにより SCN5A 介在電流を測定した。

その結果、これらの条件でラコサミド存在下では濃度依存的な Na⁺電流の阻害 (IC₅₀ は 293 µmol/L) を示した。しかし、その阻害は約 70% で横ばい状態となり、不完全であった。阻害作用の使用依存性について、-80 mV の保持電位から標的パルスのトレイン (10 ミリ秒、-15 mV まで) を定常状態に達するまで適用することによって検討した。ラコサミド 200 µmol/L の濃度で、0.3 Hz (n=2) の刺激では 1.5%、3 Hz (n=2) では 26% 阻害作用が増加した。対照薬のリドカインでは 2 mmol/L (n=2) で完全な阻害を示した。

v) 心臓 Na⁺チャネル (ヒト SCN5A チャネル; CHO) に対する作用 (参考 4.2.1.3.10 報告書番号 E-01-014-001、表 2.6.3.4)

ヒト SCN5A チャネルを一過性に発現しているチャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 細胞における Na⁺チャネル阻害作用を検討した。ラコサミドは 10、50、100、500 及び 5000 µmol/L の濃度で、室温 (21~23°C) で試験した。細胞は -100 mV の保持電位に固定した。0 mV まで持続時間 25 ミリ秒、周波数 3 Hz の一連の 18 パルスを標的パルスとして 30 秒間隔で適用した。最初のパルスは Na⁺電流の持続性阻害を測定するために使用し、最後の 5 パルスは平均して被験物質の使用依存性に対する作用を評価するために用いた。更に電流-電位 (I/V) 曲線を薬剤存在下で記録した。最後に、ラコサミド洗浄の影響を検討するため、前述と同様のパルスプロトコールを適用した。

その結果、ラコサミドは電流-電位関係に変化を及ぼさなかったが、Na⁺電流の濃度依存的阻害を示し、50 µmol/L では約 10% 阻害し、IC₅₀ は実験条件によって異なるが 112~220 µmol/L の範囲であった。電流阻害作用は不完全で、5000 µmol/L における初回パルスの最大阻害は 53%、最後の 5 回のパルス (使用依存性) における最大阻害の平均値は 67% であった。洗浄による薬剤除去後、150 秒でチャネルは再活性化し、ラコサミドの作用は可逆的であることが示された。陽性対照のリドカインでは 500 µmol/L の濃度でほぼ完全に Na⁺電流を阻害した。

vi) ヒト心房筋細胞における Na⁺及び Ca²⁺電流に対する作用 (参考 4.2.1.3.11 報告書番号 SB01D01、表 2.6.3.4)

Na⁺電流に対するラコサミドの作用について、心臓手術中に摘出されたヒト右心房付属組織から得られた単離ヒト心房筋細胞を用いて検討した。ラコサミドの濃度は 0.1、0.3、1、3、10、100 及び

5000 $\mu\text{mol/L}$ とした。Na⁺電流は 40 ミリ秒の標的パルスにより -140 mV 又は -70 mV の保持電位から -20 mV まで脱分極させて誘発させた。

その結果、過分極の膜電位では、ラコサミドの 5000 $\mu\text{mol/L}$ でわずかな Na⁺電流の阻害 (1.4%) を示したのみであった。0.1 Hz から 3 Hz まで刺激頻度を増加すると、ラコサミド 5000 $\mu\text{mol/L}$ において Na⁺又は Ca²⁺電流は更なる減少 (10%未満) を示した。

ラコサミドの Na⁺チャネル調節の特性を更に検討するために、脱分極した保持電位 (-70 mV) で試験を実施した。この保持電位で Na⁺チャネルの多くの分画は不活性状態にある。

その結果、これらの条件下でラコサミドは用量依存的に Na⁺電流を阻害し、その IC₅₀ は 67.5 $\mu\text{mol/L}$ であり、5000 $\mu\text{mol/L}$ では完全な阻害が認められた。

同じ試験系でラコサミドの心臓 Ca²⁺電流に対する作用を検討した。試験は 23°C で、刺激頻度は 0.1 Hz で実施した。L 型 Ca²⁺電流は -60 mV の保持電位から 0 mV まで 200 ミリ秒のパルスで誘発させた。ラコサミドの濃度は 10、100 及び 5000 $\mu\text{mol/L}$ を使用した。

その結果、ラコサミド 5000 $\mu\text{mol/L}$ においても Ca²⁺電流の阻害はわずかであった (9.9% : n=5)。陽性対照のニソルジピンでは 0.1 $\mu\text{mol/L}$ で Ca²⁺電流を完全に阻害した (n=1)。

vii) モルモットの心室筋細胞における L 型 Ca²⁺電流に対する作用 (4.2.1.3.12 報告書番号 LPT 15066/01、表 2.6.3.4)

ラコサミドの心臓 Ca²⁺電流に対する作用を、雌モルモットの心室筋細胞においても検討した。ラコサミドの濃度は 15、50、150 及び 500 $\mu\text{mol/L}$ とした。-80 mV の保持電位から -40 mV まで 300 ミリ秒のプレパルスにより脱分極させた後、L 型 Ca²⁺電流を -40 mV の電位から 0 mV まで 300 ミリ秒の標的パルスを使用して検討した。試験は 35°C で実施した。

その結果、これらの条件下ではラコサミドは Ca²⁺チャネルの電流振幅にも電流-電圧曲線にも影響を示さなかった (n=5)。陽性対照のニフェジピンでは 1 $\mu\text{mol/L}$ の濃度で Ca²⁺電流を完全に阻害した (n=4)。

viii) hERG チャネル (HEK293) に対する作用 (4.2.1.3.13 報告書番号 020316.TDA、表 2.6.3.4)

ラコサミドの hERG を介した K⁺電流に対する作用について、hERG チャネルを安定的に発現している HEK293 細胞を用いて電位固定法により検討した。hERG 末尾電流の開始及び定常状態の阻害は室温 (22~25°C) で、-80 mV から +20 mV まで 2 秒間の脱分極パルス、続いて -50 mV までの 2 秒間の再分極パルスからなるパルスパターンを用いて測定した。パルスパターンは 10 秒間隔で繰り返した。末尾電流のピークは -50 mV まで 2 秒ステップの間、溶媒又は被験物質溶液において新たに定常状態に到達するまで連続して観察した。ラコサミドの濃度は 10、100、300 及び 3000 $\mu\text{mol/L}$ とした。

その結果、hERG を介した K⁺電流に対し、3000 $\mu\text{mol/L}$ で 7% の弱い阻害 (n=3) が認められたに過ぎなかった。同じ試験条件下で、陽性対照のテルフェナジン 60 nmol/L で 76% (n=2) の K⁺電流の阻害がみられた。

ix) O-脱メチル体 (SPM 12809) の Na⁺チャネル (SCN5A チャネル : CHO-K1) に対する作用 (4.2.1.3.14 報告書番号 E-006-05-04、表 2.6.3.4)

ラコサミドの O-脱メチル体 (SPM 12809) の Na⁺チャネル阻害作用について、SCN5A を安定的に発現しているチャイニーズハムスター卵巣 (CHO-K1) 細胞を用いて検討した。

SPM 12809 の 5、10、50、100 及び 500 µmol/L では溶媒 (0.1% DMSO) と比較し、-100 mV の保持電位で SCN5A 介在電流の阻害を示さず、ラコサミドはヒト心房筋細胞において、より脱分極した膜電位では、より著しい Na⁺チャネルの阻害 (参考 4.2.1.3.11 報告書番号 SB01D01) を示したことから、保持電位を -80 mV にした場合の SPM 12809 (100 µmol/L) の作用を検討した。

その結果、SPM 12809 (100 µmol/L) の Na⁺電流の阻害は、溶媒に対し 28.6%であった。なお、陽性対照のリドカインの 5000 µmol/L では完全な阻害がみられた。

2) *In vivo* 試験

ラコサミドの血圧、血行動態及び ECG パラメータに対する作用について、高血圧自然発症ラットを用いた経口投与試験 (血圧及び心拍数のみ) 及びイヌ及びサルを用いた麻酔下での静脈内投与試験により検討した。

i) 高血圧自然発症ラットにおける作用 (参考 4.2.1.3.15 報告書番号 A6、表 2.6.3.4)

収縮期血圧が 180~220 mm Hg の高血圧自然発症ラット (Wistar-Okamoto) (雄 2 例/群) を用いて、ラコサミドの経口投与 (100 mg/kg) による血圧及び心拍数に対する作用を検討した。測定は投与前、投与後 1、2 及び 4 時間に実施した。

その結果、ラコサミド 100 mg/kg では、対照群と比較し、血圧及び心拍数に対する作用は認められなかった。

ii) 麻酔イヌにおける血圧及び心電図 (ECG) に対する作用-1 : 単回静脈内投与

開発初期の血行動態試験では、雄 1 例のビーグル犬を用い、最初にメトヘキシターナルナトリウムで導入麻酔し、その後は酸素及びイソフルランの混合ガスの人工呼吸により麻酔を維持した。心血管系に対する作用は血行動態パラメータとして、動脈圧 (収縮期血圧、拡張期血圧及び平均動脈圧)、心拍数、左心室圧、左心室拡張終期圧、左心室内圧上昇速度、心拍出量及び ECG (第 II 誘導) を測定することにより評価した。各パラメータが安定した後、10 分間、投与前のベースライン値を収集した。ラコサミド 2.5、5、10 及び 15 mg/kg を 1 分間の急速静脈内投与により、段階的に投与した。投与間隔は少なくとも 30 分とした。ラコサミド各用量の投与後、直接測定した血行動態パラメータを最初の 5 分間は毎分、その後の 25 分間は 5 分間隔で評価した。ラコサミド 10 及び 15 mg/kg では、その後更にそれぞれ 10 分及び 30 分間観察した (参考 4.2.1.3.16 報告書番号 0247DH15.001、表 2.6.3.4)。

その結果、ラコサミド 2.5 mg/kg では測定されたいずれのパラメータにおいても変化は認められなかった。ラコサミド 5、10 及び 15 mg/kg では、用量依存的な動脈圧 (収縮期血圧、拡張期血圧及び平均動脈圧)、左心室圧及び左心室内圧上昇速度の低下がみられた。平均血圧はそれぞれ最大 10、15 及び 27% の低下、左心室圧はそれぞれ最大 10、11 及び 21% 低下した。左心室内圧上昇速度は 5、10 及び 15 mg/kg の用量でそれぞれ、最大 21、29 及び 38% 低下した。作用持続時間には用量に伴っ

た延長が認められた。心拍数、心拍出量及び左心室拡張終期圧には投与に関連した変化は認められなかった。いずれの用量においても ECG パラメータに変化は認められなかった。

更に 2 例のビーグル犬（雌雄各 1 例）を用いて、前述の試験（参考 4.2.1.3.16 報告書番号 0247DH15.001、表 2.6.3.4）と同様の試験を実施した（参考 4.2.1.3.17 報告書番号 0247DH15.002、表 2.6.3.4）。

ラコサミド 2.5、5、10 及び 15 mg/kg を 10 分間で点滴静脈内投与した。漸増投与の間隔は少なくとも 25 分とした。測定パラメータは前試験と同様（収縮期血圧、拡張期血圧、平均動脈圧、心拍数、左心室圧、左心室拡張終期圧、左心室内圧上昇速度、心拍出量及び ECG 第 II 誘導）とした。投与後、最初の 10 分間は 1 分間隔で、その後は 5 分間隔で更に 20 分間測定した。最高用量の 15 mg/kg では、更に 40 分間測定した。

その結果、雄においては 2.5 及び 5 mg/kg ではラコサミド投与による変化は認められなかった。10 及び 15 mg/kg において、平均動脈圧がそれぞれ 14 及び 51%、心拍出量はそれぞれ 22 及び 64%、及び左心室圧はそれぞれ 14 及び 37% 用量依存的に低下した。心拍数については 10 mg/kg で変化がみられなかったが、15 mg/kg では 24% の減少が認められた。前述した作用の持続時間は投与後 30～70 分であった。左心室拡張終期圧には変化が認められなかった。ECG では 15 mg/kg で AV 解離が認められた。

雌では、最低用量の 2.5 mg/kg から動脈圧（収縮期血圧、拡張期血圧及び平均動脈圧）、左心室圧及び左心室内圧上昇速度の低下が認められ、用量依存的であった。10 及び 15 mg/kg における平均動脈圧の最大低下率はそれぞれ 29 及び 59% であった。10 及び 15 mg/kg における左心室圧の低下率はそれぞれ 24 及び 45%、左心室内圧上昇速度の低下率は 33 及び 78% であった。更に、15 mg/kg では心拍数の減少（76%、心室リズム）及び心拍出量の減少（81%）が認められた。左心室拡張終期圧に影響はみられなかった。雌は 15 mg/kg 投与後、試験終了時に死亡した。作用持続時間については 2.5 及び 5 mg/kg では 30 分であったが、10 及び 15 mg/kg 投与では、試験終了まで持続した。雄と同様、15 mg/kg では AV 解離を伴った様々な心機能パラメータの著しい変化が認められた。

2 例共にラコサミド 10 及び 15 mg/kg 投与前までには、血行動態パラメータは完全には回復していなかった。

ラコサミド 15 mg/kg では 2 例共に ECG の異常が認められた。P 波の平低化、AV ブロック、AV 解離がみられた。雌では遅い心室リズムがみられた後に死亡した。

iii) 麻酔イヌにおける血圧及び ECG に対する作用-2 : 3 回連続点滴静脈内投与（参考 4.2.1.3.18 報告書番号 0247DH15.003、表 2.6.3.4）

ラコサミドの 15 mg/kg を 3 回連続的に投与した場合の血行動態パラメータに対する作用について、ビーグル犬雄 1 例を用いて検討した。最初にメトヘキソールナトリウムで麻酔し、その後、酸素及びイソフラン混合ガスを人工呼吸させることにより麻酔を維持した。測定パラメータは動脈圧（収縮期血圧、拡張期血圧及び平均動脈圧）及び ECG パラメータ（10 誘導）とした。動物の状態が安定した後、パラメータのベースライン値を投与前に少なくとも 10 分間収集した。ラコサミド 15 mg/kg を 10 分間の点滴静脈内投与として、30 分以上の投与間隔で 3 回連続投与した。

その結果、1 回目の投与後、収縮期血圧、拡張期血圧及び平均動脈圧は、それぞれ 23、22 及び 24% 低下した。心拍数に変化はみられなかった。2 回目の投与前には、パラメータはベースラインまで回復した。2 回目の投与後、第 1 回目の投与と同様、血圧の低下が認められた。第 3 回目の投

与前では、パラメータは完全には回復していなかったため、新たなベースラインを設定した。3回目の投与では、収縮期血圧は47%、拡張期血圧は54%、平均動脈圧は53%低下した。心拍数は1分間当たりベースライン値129から57まで53%低下（AV解離を伴う）した。累積用量45 mg/kgにおける変化はECGでAVブロック及びAV解離を伴っていた。

ECGでは用量依存的な心房内伝導度の低下が認められた。1回目の投与では点滴静脈内投与10分後に40~80ミリ秒のP波の持続時間の延長が認められた。2回目の投与においても同様のP波の持続時間の延長が認められた。3回目の点滴静脈内投与中、投与開始8分後にP波持続時間が190ミリ秒に延長したことに伴って、心房内伝導度は更に低下した。その2分後にはAV解離がみられ、心拍数は1分当たり57に低下した。10分間の点滴静脈内投与終了5分後にはP波は消失した。

この試験を通して、QRS幅の緩やかな延長及びST部分の波形の変化が認められた。これらの変化は麻酔により発現する可能性もあり、ラコサミド投与との関連性は明確ではなかった。

iv) 開胸した麻酔イヌにおける血圧及びECGに対する作用 (4.2.1.3.19 報告書番号 20000376P、表 2.6.3.4)

ラコサミドの血行動態及びECGパラメータに対する影響について、雌雄各5例の開胸したビーグル犬を用い、ラコサミド2（雌のみ）、4、8及び12 mg/kgを静脈内投与することにより詳細に検討した。主な測定パラメータは動脈圧（収縮期血圧、拡張期血圧及び平均動脈圧）、左心室圧（収縮期左心室圧、拡張期左心室圧、左心室拡張終期圧、左心室内圧上昇及び左心室内圧下降速度）、心拍出量（1回拍出量、全末梢抵抗及び左室仕事量）、心拍数、血流量及び血管抵抗（冠動脈、腎動脈及び大腿動脈）並びにECGパラメータ（第II誘導、6誘導）とした。麻酔はチオペンタールとハロタンにより導入し、ハロタン単剤で維持した。ラコサミドは30秒かけた急速静脈内投与により30分間隔で累積的に投与した。

その結果、ラコサミド12 mg/kg投与直後、雌1例で著しく持続的な血圧低下がみられ、心停止により死亡した。このイヌのデータは評価から除外した。また、ラコサミド12 mg/kg投与の雄1例及び8 mg/kg投与の雌1例では、持続的なECG異常がみられた。これらの動物では、伝導時間を正確に測定できなかった。8 mg/kg投与でECG異常を示したイヌでは12 mg/kg投与による試験は実施しなかった。

全体の結果の要約を下記の表に示した（表 2.6.2.4-2）。

表 2.6.2.4-2 麻酔イヌにおけるラコサミドの心機能に対する作用
投与前値に対する変化率 (%)

パラメータ	2 mg/kg 雌	4 mg/kg 雄/雌	8 mg/kg 雄/雌	12 mg/kg 雄/雌
平均動脈圧	-3**	-8**/-7**	-10**/-9**	-13**/-10
収縮期左心室圧	-4**	-9**/-7**	-11**/-10**	-15**/-9 ^a
左心室内圧上昇速度	-8	-17/-12	-18/-11	-27/-12 ^a
左心室内圧下降速度	-7	-17/-17**	-15/-25**	-23*/-25 ^a
心拍出量	-5**	-6/-7**	-12**/-11**	-13**/-12 ^a
心拍数 (投与前心拍数絶対値)	+3* (115)	+6/+6** (119/117)	+7/+7** (123/119)	+6/+7 ^a (126/120)
PR 間隔	+3	+4/+6*	+8**/+5 [#]	+16/+6 [#]
QRS 幅	+4	+11**/+8*	+17**/+9	+21 ^{#,b} /+13 [#]
QT 間隔	-2**	-4/-3**	-3/-4	-3/-3
QTc (Fridericia 補正)	-1	-3/-1	-2/-2	-1/-1

: 投与前のベースラインまで回復はみられなかった。

* p ≤ 0.05, ** p ≤ 0.001 (Newman-Keuls 検定)

a : 1例で 8 mg/kg 投与後、ECG の異常がみられ、12 mg/kg の投与は中止したため、統計処理は実施しなかった。

b : 1例で ECG の異常がみられたため、統計解析は実施しなかった。

(報告書番号 20000376P、Table 5.1 及び 5.2 より)

これらの試験条件において、ラコサミドの静脈内投与により、雌では 2 mg/kg 以上、雄では 4 mg/kg 以上で用量依存的で持続時間の短い (<5 分) 血圧低下作用がみられた。12 mg/kg における平均動脈圧の最大低下率は雌では 10%、雄では 13%であった。2、4 及び 8 mg/kg の静脈内投与では、雌において軽度であるが、有意な心拍数の増加が認められた。12 mg/kg では 平均 7% の心拍数の増加が認められたが、1例は 8 mg/kg 投与後、ECG の異常がみられたため 12 mg/kg の投与は中止し、更に 12 mg/kg 投与した 4 例中 1例が死亡したため、統計処理は実施しなかった。雄では 4、8 及び 12 mg/kg 投与により軽度の心拍数の増加が認められたが、有意差は認められなかった。

心機能及び算出されたパラメータからは、最も顕著な血行動態への作用は投与 2 分後に観察されており、これはラコサミドの血漿中濃度のピーク時間と一致している。

雄では、ラコサミド 4 mg/kg で収縮期左心室圧及び左室仕事量 (15%) の有意な低下が認められた。8 及び 12 mg/kg では収縮期左心室圧、1 回拍出量、心拍出量及び左室仕事量の有意な低下が認められた。8 及び 12 mg/kg で認められた最大作用の強さは同程度であったが、作用持続時間は 12 mg/kg の方がいくぶん長い傾向がみられた。更に、12 mg/kg では有意な左心室拡張終末期圧の上昇 (37%) 及び左心室内圧下降速度の低下 (23%) が認められた。

雌では、ラコサミド 2 mg/kg において収縮期左心室圧、心拍出量、1 回拍出量及び左室仕事量 (9%) の軽度ではあるが、有意な低下が認められた。4、8 及び 12 mg/kg では収縮期左心室圧、心拍出量、1 回拍出量 (12、16 及び 17%)、左室仕事量 (14、20 及び 19%) 及び左心室内圧下降速度 (17、25 及び 25%) の有意な低下がみられた。最大作用は投与後 2 分にみられ、8 及び 12 mg/kg 共に同程度であったが、作用持続時間は 12 mg/kg の方が長かった。

雌雄共に、左心室内圧上昇速度は低下傾向がみられた。雌雄共に末梢抵抗に変化はみられなかった。

血行動態における作用に加え、ECG パラメータにいくつかの影響がみられた。

雄においてはラコサミド 4、8 及び 12 mg/kg の静脈内投与により、PR 間隔及び QRS 幅の用量依存的な一過性の延長がみられ、4 及び 8 mg/kg では QRS 幅に有意差が認められた。12 mg/kg では、更に顕著な作用がみられたが、動物数が十分でなかったため、統計処理は実施しなかった。これらの変化は房室及び心室伝導における陰性変伝導作用を示唆している。QT 間隔及び QTc (Fridericia 補正) については、いずれの用量においても作用は認められなかった。12 mg/kg では、雄 5 例中 1 例で P 波の消失を呈する ECG の異常が認められた。

雌においてはラコサミド 2 mg/kg では PR 間隔の極軽度の延長が認められた。2 及び 4 mg/kg では軽い頻脈による軽度であるが、有意な QT 間隔の短縮がみられた。QTc 間隔 (Fridericia 補正) に変化はみられなかった。更に、4、8 及び 12 mg/kg では PR 間隔の延長及び QRS 幅の用量依存的な延長 (4 mg/kg のみ有意。8 及び 12 mg/kg は ECG 波形の異常例がみられ、例数が少ないため、統計処理は実施しなかった) が認められ、房室及び心室伝導における陰性変伝導作用が示された。

なお、8 mg/kg 投与の雌 5 例中 1 例で接合部調律及び接合部性期外収縮の ECG 波形異常が認められた。

ラコサミドの各用量 (採血時間: 各用量の投与直前、投与後 2、15 及び 30 分) における血漿中濃度には用量依存的な増加がみられ、いずれの用量においても性差は認められなかった。雄に 4、8 及び 12 mg/kg を静脈内投与した場合の血漿中濃度範囲は、それぞれ 11.3~22.6 µg/mL、29.2~46 µg/mL 及び 59.2~85.6 µg/mL であった。また、雌に 2、4、8 及び 12 mg/kg を投与した場合は、それぞれ 5.8~8.5 µg/mL、15.8~19.5 µg/mL、29~44.7 µg/mL、及び 56.5~80.2 µg/mL であった。

v) 麻酔サルにおける作用 (参考 4.2.1.3.20 報告書番号 0247XH15.004、表 2.6.3.4)

ラコサミドの血行動態に対する作用についてカニクイザル (雄 3 例) においても検討した。動物を最初にケタミンとアセプロマジン (筋肉内投与) により導入麻酔した。その後は 1 例 (動物番号 No. 1) ではペントバルビタールの静脈内投与により、他の 2 例 (動物番号 No. 2 及び No. 3) は酸素とイソフランの混合ガスの人工呼吸により麻酔を維持した。動脈圧 (収縮期血圧、拡張期血圧及び平均動脈圧)、心拍数、ECG 第 II 誘導及び心房内リード付 10 誘導について評価した。

動物番号 No. 1 では 1、5、10 及び 15 mg/kg を順次投与し、15 mg/kg の投与は 3 回行った。動物番号 No. 2 及び No. 3 は 30 mg/kg の用量をそれぞれ 4 回及び 3 回連続投与した。投与経路は全て 10 分間の点滴静脈内投与とし、各投与の間隔は少なくとも 20 分とした。

心房内リード付 10 誘導 ECG は点滴静脈内投与の間は投与開始後 5 及び 10 分に 2 回記録し、点滴静脈内投与終了後は少なくとも 20 分間は 5 分間隔で記録した。

その結果、動物番号 No. 1 ではラコサミド 1 mg/kg から血圧の上昇がみられた。この作用は 10 分間の点滴静脈内投与終了時より点滴静脈内投与 20 分後の方が更に著しかった。しかし、用量依存性は明らかではなかった。試験した用量において心拍数に対する作用はみられなかった。ECG パラメータには累積用量が 61 mg/kg まで変化は認められなかった。

動物番号 No. 2 及び No. 3 では、1 回目のラコサミド 30 mg/kg 投与により、平均動脈圧の低下 (2 例の平均値で 16%) が認められた。動物番号 No. 2 では心拍数に変化はみられなかったが、動物番号 No. 3 では心拍数の低下 (24%) が認められた。2 回目の投与前には、平均動脈圧は両動物共にそれぞれのベースライン値まで回復した。動物番号 No. 3 では、ECG における P 波振幅の低下、QRS 幅の延長及び ST 部分の異常がみられた。

2回目の投与では、2例共に平均動脈圧の著しい低下（2例の平均値で45%）が認められた。動物番号 No. 2 では心拍数に変化はみられなかったが、動物番号 No. 3 では心拍数の低下（27%）が認められた。両動物共に QRS 幅の延長が認められた。更に動物番号 No. 3 では第2度 AV ブロック及び P 波の持続時間の延長がみられ、3回目の投与前までにベースライン値まで完全な回復はみられなかったため、4回目の投与は行わなかった。

3回目の投与では、2例共に平均動脈圧の低下（2例の平均値で50%）が認められた。心拍数は動物番号 No. 2 では18%の低下、No. 3 では30%の低下が認められた。

ECG の異常は3回目の投与後継続して認められた。動物番号 No. 3 では心拍数はベースラインの51%に低下し、心室内ブロックが認められた。動物番号 No. 2 ではカテーテルに問題が生じたため、心拍数の評価はできなかった。

動物番号 No. 2 ではラコサミド 30 mg/kg の4回目の投与を行った。その結果、QRS 幅の更なる延長及び第1度 AV ブロックが認められた。

サルにおける主な ECG に対する作用の要約を表 2.6.2.4-3 に示した。

表 2.6.2.4-3 麻酔サルにおける ECG、心拍数及び血圧に対するラコサミドの作用

動物番号	累積用量 (mg/kg)	
	1+5+10+15	1+5+10+15×3
1	影響なし	影響なし

動物番号	累積用量 (mg/kg)			
	30 (1回目)	30+30 (2回目)	30+30+30 (3回目)	30+30+30+30 (4回目)
2	影響なし MAP : -13%	QRS 振幅 : ↓ QRS 幅 : ↑ MAP : -34%	QRS 振幅 : ↓ QRS 幅 : ↑ MAP : -40% HR : -18%	QRS 振幅 : ↓ QRS 幅 : ↑↑ AV ブロック
3	QRS 幅 : ↑ ST 異常、P 波の低下 / 消失 MAP : -19% HR : -24%	QRS 幅 : ↑ P 波持続時間 : ↑ ST 異常、AV ブロック MAP : -55% HR : -27%	QRS 幅 : ↑ P 波持続時間 : ↑ ST 異常、AV ブロック 心室内ブロック MAP : -60% HR : -30%	N.A.

AV : 房室、HR : 心拍数、MAP : 平均動脈圧、N.A. : 実施せず、↑ : 延長、↓ : 短縮/低下

(報告書番号 0247XH15.004 より)

サルにおける試験の結果を要約すると、ラコサミドでは用量依存的な一過性の血圧低下及び心房及び心室伝導障害が認められた。しかし、その重症度の程度には個体差がみられた。

vi) イヌにおける心血管系に対する自律神経作動薬との相互作用

種々の自律神経作動薬を投与した場合の麻酔イヌの心血管反応に対するラコサミドの作用について、2つの試験で評価した。

動物は最初にメトヘキシタールナトリウムで導入麻酔し、酸素とイソフランの混合ガスで人工呼吸することにより麻酔を維持した。平均動脈圧、心拍数及び ECG 第 II 誘導におけるベースライン値を設定後、自律神経作動薬を平均動脈圧に対し 20~30% の変化を示す用量で投与した。ラコサミドの各用量投与後 2 分以内に、自律神経作動薬の設定された各用量を投与した。平均動脈圧、心拍数及び ECG (第 II 誘導) について評価した。

自律神経作動薬としてはエピネフリン、ノルエピネフリン、イソプロテレノール、アセチルコリン及びヒスタミンを使用した。雄 1 例を用いた 1 つ目の試験においてはラコサミド 2.5、5、10 及び 15 mg/kg を静脈内に急速投与した。

その結果、ラコサミド 5、10 及び 15 mg/kg を急速投与したイヌ 1 例では、アセチルコリンの血圧低下作用をそれぞれ 67% (10 mmHg)、53% (8 mmHg) 及び 73% (11 mmHg) 抑制した。イソプロテレノールにより誘発された平均動脈圧の上昇をラコサミド 15 mg/kg では 56% (9 mmHg) 抑制した (参考 4.2.1.3.21 報告書番号 0234DH15.001、表 2.6.3.4)。

2 つ目の試験において、雌雄各 1 例にラコサミド 1.25、2.5、5 及び 10 mg/kg を 10 分間かけて点滴静脈内投与した。いずれの用量においても、アセチルコリンの血圧低下作用に対するラコサミドの抑制はみられなかった。

ラコサミドのイソプロテレノールによる平均動脈圧上昇に対する抑制作用は 5 mg/kg 投与後の雌では 53% (9 mmHg)、10 mg/kg 投与後の雄では 56% (9 mmHg)、雌では 82% (14 mmHg) であった (参考 4.2.1.3.22 報告書番号 0234DH15.002、表 2.6.3.4)。

両試験においてエピネフリン、ノルエピネフリン及びヒスタミンに対する一貫した変化はみられなかった。

なお、2 つ目の試験の雄においてラコサミド 10 mg/kg を点滴静脈内投与した場合にみられた第 II 度 AV ブロック以外は、両試験共に ECG の異常は認められなかった。

(3) 呼吸器系に及ぼす影響 (4.2.1.3.23 報告書番号 20000378P、表 2.6.3.4)

覚醒下の雄ラットにラコサミド 25、50 及び 75 mg/kg を単回経口投与し、全身プレチスモグラフィによる呼吸器系パラメータに及ぼす影響を検討した。評価項目は呼吸速度、ピーク吸気流量、呼気流量、吸気及び呼気時間、1 回換気量並びに気道抵抗とした。

陽性対照としてカルバミルコリン 30 mg/kg を単回経口投与した。呼吸は薬物投与後 4 時間まで 5 分間隔で 10 秒間測定した。

その結果、ラコサミドのいずれの用量においても呼吸パラメータに有意な変化はみられなかった。同じ条件下で陽性対照のカルバミルコリンでは予測された気管支収縮作用がみられた。これらは主に気道抵抗の上昇及び呼吸速度の増加、ピーク吸気及び呼気流量、1 回換気量の増加並びに吸気及び呼気時間の短縮に反映された。

(4) 腎臓に及ぼす影響 (参考 4.2.1.3.15 報告書番号 A6、表 2.6.3.4)

ラット (Long Evans) を用いてラコサミドの腎臓に及ぼす影響について検討した。ラコサミドの腎臓に対する作用は、ラット (各群 3 例、雄又は雌) に生理食塩液 (15 mL/kg、経口投与) を負荷した後に採尿し、尿量 (6 時間蓄積量) 並びに腎臓からのナトリウム及びカリウム排泄量を指標に評価した。ラコサミドは 30 mg/kg を経口投与し、陽性対照としてヒドロフルメチアジド 30 mg/kg

を経口投与した。更に *in vitro* 試験として、ラコサミド 10 $\mu\text{mol/L}$ の炭酸脱水酵素活性に及ぼす影響を検討した。

その結果、ラコサミドは対照群に比べ、投与 6 時間後まで尿量、ナトリウム及びカリウム排泄量に対する影響を示さなかった。一方、陽性対照のヒドロフルメチアジドでは尿量、ナトリウム及びカリウム排泄量のいずれの検査項目においても増加がみられた。10 $\mu\text{mol/L}$ ラコサミドにより炭酸脱水酵素活性には、21% (n=2) の減少がみられたが、このスクリーニング試験における評価基準 (10 $\mu\text{mol/L}$ で 50% 以上の変化) に達していなかったことより、ラコサミドによる影響はないものと考えられた。

(5) 消化器系に及ぼす影響

1) *In vitro* 試験 (4.2.1.3.24 報告書番号 20000381P、表 2.6.3.4)

雄モルモットの摘出回腸標本を用いて、ラコサミドと神経伝達物質であるアセチルコリン、セロトニン及びヒスタミンとの相互作用を *in vitro* 試験で検討した。塩化バリウムによる平滑筋の収縮作用に対する非特異的な相互作用についても検討した。回腸の縦軸切片の等尺性収縮を 37°C で測定した。作動薬は準最大作用濃度 EC_{80} に近い濃度、すなわち、ヒスタミン及びアセチルコリンでは 0.3 $\mu\text{mol/L}$ 、セロトニンでは 3 $\mu\text{mol/L}$ 、塩化バリウムでは 1 mmol/L を適用した。ラコサミドの作用は 5、15、50 及び 150 $\mu\text{mol/L}$ の濃度で評価した。ラコサミドは作動薬により収縮が生じる 5 分前に適用した。

その結果、アセチルコリン、セロトニン、ヒスタミン及び塩化バリウムによる収縮に対し、ラコサミドのいずれの濃度においても有意な作用は認められなかった (n=6)。同じ条件下で、陽性対照であるアトロピン (0.1 $\mu\text{mol/L}$)、シプロヘプタジン (10 $\mu\text{mol/L}$)、pyrilamine (0.1 $\mu\text{mol/L}$) 及びピパペリン (100 $\mu\text{mol/L}$) では、前述の 4 つの薬物による収縮に対しそれぞれ拮抗した。

2) *In vivo* 試験 (4.2.1.3.25 報告書番号 20000380P、表 2.6.3.4)

雄 Wistar ラットを用いて、ラコサミドの経口投与による小腸運動に対する作用について検討した。各群 8 例のラットに最初にラコサミド 0 (溶媒対照群)、25、50 及び 75 mg/kg を投与し、更に低用量による補足試験として各群 8 例のラットに 0 (溶媒対照群)、1、3 及び 10 mg/kg を投与した。陽性対照としてアトロピン 20 mg/kg を経口投与した。被験物質及び溶媒は 10 mL/kg の容量で経口投与し、投与 1 時間後に 2.5% カルボキシメチルセルロース水溶液に懸濁した 10% 活性炭懸濁液を 2 mL /動物の容量で経口投与した。活性炭投与後 15 分にラットを安楽殺し、小腸を摘出し、直ちに、小腸の全長及び活性炭の移動した距離を計測した。

その結果、ラコサミド 25、50 及び 75 mg/kg の経口投与により、溶媒対照群と比較し、全ての用量において消化管内の活性炭の輸送距離が 27~28% 減少した。低用量による試験では、ラコサミドの用量依存的な作用がみられ、1、3 及び 10 mg/kg 投与における消化管内の輸送距離はそれぞれ 7、8 及び 15% 減少した。陽性対照薬であるアトロピン 20 mg/kg の経口投与により消化管内の輸送距離は 47% 減少した。

2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験

ラコサミドと既存の抗てんかん薬のフェニトイン、カルバマゼピン、バルプロ酸、ラモトリギン、トピラマート、ガバペンチン及びレベチラセタムとの併用による相互作用をマウスで検討した。薬剤の抗けいれん作用を、6 Hz てんかんモデルを用いてイソボログラフィー分析により検討した。また、併用投与による副作用についてはロータロッド試験において評価した。ラコサミドと各抗てんかん薬の配合比は、1:3、1:1 及び 3:1 とした (4.2.1.4.1 報告書番号 9928、表 2.6.3.5)。

その結果、6 Hz てんかんモデルにおけるけいれん抑制作用に対するラコサミドの相互作用は、カルバマゼピン、ラモトリギン、トピラマート又はレベチラセタムとの併用では相乗作用、バルプロ酸又はフェニトインでは相加作用又は相乗作用の傾向、ガバペンチンでは相加作用又は相乗作用がみられた。一方、マウスにおけるロータロッド試験では運動協調性に対し併用による影響はみられなかった⁹⁾。

ラットのコバルト/ホモシステイン誘発てんかん重積モデルにおいて、ラコサミドはジアゼパムと相乗効果がみられ、ジアゼパム存在下ではラコサミドの抗てんかん作用は増強され、ED₅₀は 91.5% 減少した (参考 4.2.1.1.9 報告書番号 A1、表 2.6.3.2)。

2.6.2.6 考察及び結論

(1) 効力を裏付ける試験

ラコサミドの抗てんかん作用について、種々のてんかんモデルを用いて検討した。

聴原性発作モデルを用いた全体的なスクリーニング試験において、ラコサミドは音響誘発発作に対してけいれん抑制作用を示した。また、最大電気ショック発作試験においてもマウス及びラットにおいて強直性けいれんの抑制作用がみられた。

複雑部分発作に対する効果を予測するキンドリングモデルでは、ラコサミド 10 mg/kg 以上でマウス扁桃核キンドリング発作モデルにおける後発射持続時間の明らかな短縮がみられた。また、20 mg/kg で二次性全般発作 (スコア \geq 3 の割合) に対し有意な抑制及び発作スコアの明らかな減少 (投与前の 5 から 1) を示した。

更に、ラコサミドは海馬キンドリングラットにおける発作スコアを 5 から 3 以下まで低下させ、その ED₅₀は 13.5 mg/kg であった。ラコサミド 25 mg/kg の作用を対照抗てんかん薬の各々の最大有効量を投与した場合と比較すると、ラコサミドは 85%超の後発射持続時間の減少を示し、この動物モデルではフェニトイン、カルバマゼピン、バルプロ酸及びエトスクシミドのいずれの抗てんかん薬より優れた効果を示した。

扁桃核キンドリング進展期間中、ラコサミドの連日投与により、キンドリング進展に対し用量依存的な抑制作用が認められた。ラコサミド 10 mg/kg/日ではキンドリング基準に達するための平均刺激回数が 90%以上増加し、明らかなキンドリング進展の抑制が認められた。これらの結果よりラコサミドは抗けいれん作用に加え、てんかん原性の抑制作用を有する可能性を示している。

最大電気ショック発作試験においては、マウス 4.5 mg/kg (腹腔内投与) 及びラット 3.9 mg/kg (経口投与) の ED₅₀で後肢伸筋の強直性けいれんの抑制作用がみられた。

一方、ラコサミドの主要代謝物（O-脱メチル体：SPM 12809）では 15 mg/kg（腹腔内投与）まで作用はみられなかった。また、ラコサミドの S-光学異性体（SPM 6953）では、100 mg/kg（腹腔内投与）まで作用は認められず、ラコサミドの作用には立体選択性が認められた。

治療抵抗性発作モデルと考えられる 6 Hz てんかんモデルでは、ラコサミドは間代性けいれんの抑制作用を示し、ED₅₀は 10.0 mg/kg であった。一方、他の電位依存性 Na⁺チャンネルに作用する薬剤のラモトリギン、フェニトイン及びカルバマゼピンでは、行動毒性がみられる用量でも部分的な効果がみられただけであることが報告されている¹⁰⁾。

ラコサミドではマウスにおいて GABA_A受容体拮抗薬であるピククリン及びクロライドチャンネル阻害薬であるピクロトキシンにより誘発される発作の抑制作用はみられなかった。また、マウス及びラットにおけるけいれん誘発性化学物質ペンチレンテトラゾールの皮下投与による間代性けいれんに対する抑制作用もみられなかった。しかし、マウスを用いたペンチレンテトラゾールの点滴静脈内投与により誘発させた発作発現の閾値を有意に上昇させた。

ラコサミドではてんかん重積に対するモデルにおいても有効性が認められた。ラットにおける自発性てんかん重積により誘発された辺縁系発作を停止させ、発作誘発後 12 時間記録されたスパイク頻度を明らかに減少させた。更に、発作誘発後の死亡発生の抑制及び脳傷害の軽減が認められたことより、ラコサミドは神経保護作用を有する可能性が示唆された。なお、コバルト/ホモシステイン誘発又は塩化リチウム/ピロカルピン誘発てんかん重積モデルに対しても、ラモトリギンでは作用は認められなかったことが報告¹¹⁾されているが、ラコサミドは発作抑制作用を示した。

遺伝性欠神てんかん発作モデル（WAG/Rij ラット及びストラスブール欠神てんかんラット）において、欠神発作に対する抑制作用は認められなかった。

(2) 作用機序

ラコサミドの作用機序の解明のため 100 以上の受容体、酵素、トランスポータ及びイオンチャンネル等に対する作用を網羅的に検討した。その結果、いずれの標的に対してもラコサミドは受容体結合阻害及び酵素阻害等を示さなかった（4.2.1.1.18 報告書番号 6065、参考 4.2.1.1.24 報告書番号 A3 等、表 2.6.3.2B）。

ラコサミドの作用機序は Na⁺チャンネルの急速な不活性化に作用することなく、緩徐な不活性化を選択的に促進させることである。このラコサミドの Na⁺チャンネルに対する作用は、これまで他のいずれの抗てんかん薬でも報告されていないことから、新しい世代の Na⁺チャンネル調節剤と考えることができる。Xie ら¹²⁾は抗てんかん薬として市販され、臨床試験で鎮痛作用を示したラモトリギンの作用機序が Na⁺チャンネルの緩徐な不活性化によることを報告している。しかし、その後の研究により、ラモトリギンは極めて遅い速度ではあるものの、選択的に急速な不活性化を促進し、カルバマゼピン及びフェニトインと同じ部位に結合することが見出された。電位依存性 Na⁺チャンネルは抗てんかん薬では良く知られた標的である^{13,14)}が、ラコサミドの作用機序は選択的な Na⁺チャンネルの緩徐な不活性化の促進であり、既存の抗てんかん薬とは異なった新規の作用機序であると考えられる。

Na⁺チャンネルの緩徐な不活性化は、1) 連続ニューロン発射及び 2) 静止膜電位の持続的かつ軽度の脱分極という二つの異なった作用により誘発される。これらの機序はてんかんの病態生理学と関連性がある。てんかんの細胞学的な基本原因は興奮閾値の低下及びニューロンの過剰興奮性による神経細胞の過剰反応性である。てんかん病巣内のニューロンは、生理学的条件下におけるニューロン

の静止膜電位と比較し、いくぶん脱分極の状態にある。この静止膜電位の上昇が、てんかんのニューロンで認められた活性化閾値の低下の原因となり得る。上述したように、 Na^+ チャネルの緩徐な不活性化は持続的脱分極によって強力に誘発され、静止膜電位の軽度の上昇は緩徐な不活性化状態の Na^+ チャネル分画に対して大きな作用を示すことができる。ラコサミドは Na^+ チャネルの緩徐な不活性化状態への移行を促進させ、設定された電位での不活性化される Na^+ チャネルの分画がより多くなる。電位依存性の不活性化を更に過分極側の電位へシフトさせ、緩徐な不活性化からの回復を弱めることにより、その不活性化を促進すると考えられる。

ニューロンが過剰興奮になる第二の機序は、過剰反応性、すなわち、与えられた刺激により定常状態に比べ過度にニューロンが反応することである。 Na^+ チャネルの急速な不活性化がニューロンの興奮を効果的に制御できないような条件下においても、緩徐な不活性化は、反復神経刺激により誘発される。急速な不活性化から緩徐な不活性化へ遷移させる過程を促進することにより、ラコサミドはニューロンの反応性を効果的に制御することもできる。このようにラコサミドは Na^+ チャネルの緩徐な不活性化の促進により活性化閾値を正常化し、更に病態生理学的な過剰反応性を低下させることによりニューロンの過剰興奮性を効果的に制御することが出来ると考えられる。

てんかん動物モデルを用いて、 Na^+ チャネルの急速な不活性化に作用する抗てんかん薬とラコサミドの効果を比較した。治療抵抗性発作モデルである6 Hz てんかんモデルにおいて、Bartonら¹⁰⁾の報告では Na^+ チャネル調節剤であるカルバマゼピン、フェニトイン及びピラモトリギンでは作用は極めて軽度ないし全く認められなかったが、ラコサミドでは完全な抑制作用を示した。これは、ラコサミドの Na^+ チャネルに対する作用が他の Na^+ チャネル調節抗てんかん薬と異なっているためと考えられ、新たな治療効果が期待される。

(3) 副次的薬理試験

神経学的及び精神疾患モデルに対するラコサミドの作用を検討した。*In vitro* 試験では虚血及びグルタミン酸暴露モデル及び*in vivo* 試験では中大動脈閉塞モデル（脳卒中）、てんかん重積及び筋萎縮性側索硬化症モデルにおいて、ラコサミドの神経保護作用が認められた。てんかん発生及びてんかんの進展もまたニューロンの機能喪失により生じる¹⁵⁾。したがって、抗けいれん作用だけでなく、ラコサミドの神経保護作用も抗てんかん作用として貢献することが期待される。

ラコサミドは運動障害モデルにおいて作用を示した。遅発性ジスキネジアのモデルでは不随意運動を減少させ、本態性振戦のハルマリンモデルでは振戦の程度を減弱させた。

抗てんかん薬の中には、更に精神疾患にも有効性を示す薬剤が報告されている¹⁶⁾。ラコサミドはうつ病に対する単純なモデルでは作用を示さなかったが、ストレス誘発性不安に対するモデルでは作用が認められた。双極性障害のモデルではラコサミドの作用は認められなかった。

(4) 安全性薬理試験

安全性薬理試験として中枢神経系、心血管系及び呼吸器系、腎臓及び消化器系に対する影響について検討した。

1) 中枢神経系に及ぼす影響

マウス及びラットを用いてラコサミドの行動に対する作用を検討した。マウス及びラットにおいて用量依存的な行動抑制、すなわち、鎮静、自発運動の低下及び運動協調機能障害が認められた。このような症状は作用機序が異なる抗てんかん薬の投与においても、一般的に認められる^{17,18)}。ラ

コサミドのマウス及びラットにおける運動機能に対する安全域は、他の抗てんかん薬と比較し、同程度又はほとんどの場合大きかった（参考 4.2.1.1.1 報告書番号 NO1-NS-4-2311）。

更に重度の中樞神経系の副作用として、振戦及びけいれんが、鎮静及び自発運動の低下を示す用量と比較し、約 2~4 倍高い用量でみられた。抗けいれん薬投与によるけいれんの増加という矛盾した作用は、抗てんかん薬の作用機序に関わりなく認められる¹⁹⁾。これらは脳機能における非特異的な毒性又は作用機序に関連した作用によるものと考えられる。

マウス及びラットを用いた 1 回目の Irwin 試験において 32 mg/kg 腹腔内投与（マウス及びラット）、及び 256 mg/kg 経口投与（ラット）により体温低下が認められた（参考 4.2.1.3.2 報告書番号 D00.271/2/A、表 2.6.3.4）が、ラットにおける 2 回目の Irwin 試験では 75 mg/kg 経口投与では体温低下作用は認められなかった（4.2.1.3.3 報告書番号 20000379P、表 2.6.3.4）。

中樞神経機能及び行動に対する安全性薬理試験結果を要約すると、ラコサミドの全般的な行動抑制作用は、既存の抗てんかん薬と類似していた。

2) 心血管系に及ぼす影響

In vitro 試験

単離したイヌのプルキンエ線維において、ラコサミドは活動電位持続時間の有意な短縮（APD₉₀ : 50 µmol/L で 15%、150 µmol/L で 29%）及び最大立ち上がり速度の低下傾向（V_{max} : 50 µmol/L で 9%、150 µmol/L で 30%）を示した。同様の作用は Na⁺チャンネルを標的とした既存の抗てんかん薬でも報告されている。

プルキンエ線維におけるラコサミドの作用機序を解明するために、いくつかの心臓イオン電流におけるラコサミドの作用を検討した。ヒト心臓 SCN5A チャンネルを発現している HEK293 細胞及びヒト心房筋細胞における Na⁺電流をラコサミドは用量依存的に阻害した。HEK293 細胞における Na⁺電流の阻害は不完全であり、1000 µmol/L においても約 70% で横ばい状態であった。これらの試験系では、陽性の使用依存性の阻害が観察された。ヒト心房筋細胞においては、過分極の膜電位ではラコサミドはわずかな阻害を示したのみであった。しかし、更に脱分極した膜電位 -70 mV では、ラコサミドは著しい Na⁺電流の濃度依存的な阻害を示し、5000 µmol/L の濃度では完全な阻害が認められた。組換え Na⁺チャンネルにおいて、より脱分極した膜電位で、より強い阻害作用及び陽性の使用依存性の阻害作用がみられたことは、ラコサミドが心臓 Na⁺チャンネルの不活性化状態と相互作用をすることを示唆し、これは神経細胞の Na⁺チャンネルにおける作用と一致している [2.6.2.2 (3) 1) 項]。

心臓 Na⁺チャンネルの緩徐な不活性化については、O'Reilly ら²⁰⁾及び Richmond ら²¹⁾により、ヒト心臓の組換え α-サブユニット及びラット骨格筋 Na⁺チャンネルを用いて検討された。彼らは Na⁺チャンネルの緩徐な不活性化は、心臓 Na⁺チャンネルでは、神経細胞 Na⁺チャンネルに類似していると考えられている骨格筋 Na⁺チャンネルと比較して、作用は弱いことを示した。ラコサミドの 2 試験でみられた組換え心臓 Na⁺チャンネルの不完全な阻害は、恐らく心臓 Na⁺チャンネルにおいて一般的に緩徐な不活性化が限局的であることに起因しているものと考えられる。緩徐な不活性化の程度が低いのは、活動電位発生中、心筋細胞の比較的長い脱分極の間に心臓 Na⁺チャンネルが過剰に不活性化されることを避けるための機構と考えられる。心房筋細胞における Na⁺電流の完全な阻害については O'Reilly 及び Richmond による結果といくぶん異なっている。しかし、その違いは、O'Reilly 及び Richmond グループが β サブユニットが共発現していない α サブユニットチャンネルから結果を得ていたことに

よると考えられる。 β サブユニットの共発現により、局所麻酔薬リドカインと神経細胞 Na^+ チャンネル $\text{Na}_v1.3$ の相互作用²²⁾と同様、心臓 Na^+ チャンネルの開口機構が調節されることが見出されている²³⁾。

組換え Na^+ チャンネルの阻害は更に脱分極した膜電位では検討しなかったため、組換え発現系と心筋細胞の直接的な比較は出来ない。作用機序は別として、データではラコサミドはより低い膜電位では完全に阻害することができることを示している。より脱分極した膜電位で Na^+ チャンネルの感受性が更に高まることは、ラコサミドの心臓に対する作用は虚血性心疾患又は糖尿病のような合併症を持つ患者では、更に顕著であることを示唆する。

ヒト心房及びモルモット心室筋細胞における評価では、ラコサミドの $5000 \mu\text{mol/L}$ 及び $500 \mu\text{mol/L}$ (それぞれ試験された最高濃度) の濃度では L 型 Ca^{2+} 電流に対する影響はわずかであるかあるいは認められなかった。

ヒト hERG チャンネルによる K^+ 電流に対しては、ラコサミドの $3000 \mu\text{mol/L}$ の濃度で極軽度の影響がみられたに過ぎなかった。

要約すると、日本人における予定最高用量で到達する血漿中濃度の $48 \mu\text{mol/L}$ 、CV% : 16.8 において、心臓組織における活動電位持続時間及び単離細胞における Na^+ 電流に対し、ラコサミドの影響がみられた。 Na^+ 電流における作用は膜電位依存性で、より脱分極した電位で阻害もより強く、そのような条件下では、より低濃度に関連した Na^+ 電流阻害作用がみられる可能性が示唆された。陽性の使用/頻度依存性が組換えヒト Na^+ チャンネルにおいて観察されたが、プルキンエ線維における活動電位に対する作用を検討した条件下では頻度依存性は認められなかった。心臓イオン電流における研究では Na^+ 電流の阻害はプルキンエ線維における活動電位の形状の変化に関与していることが示唆されている。

***In vivo* 試験**

麻酔イヌにおける試験では、ラコサミドの静脈内投与後 2~5 分の最高血漿中濃度到達時間 (T_{max}) と考えられる時間に、持続性の短い血圧低下作用が認められた。血圧低下作用がみられた 4 mg/kg 投与時のラコサミドの雄における血漿中濃度 $11.3\sim 22.6 \mu\text{g/mL}$ は、ヒト (アジア人) に予定最高用量である 200 mg を 1 日 2 回経口投与したときの定常状態における最高血漿中濃度 ($C_{\text{max, ss}}$) の平均値 $12.0 \mu\text{g/mL}$ (CV% : 16.8) (5.3.3.3.3 報告書番号 SP661) と近似の濃度であった。ラコサミド投与後の末梢血管抵抗に変化はみられなかったことより、血圧低下は血管に対する作用ではなく、心抑制作用によるものと思われる。心抑制作用の主な特徴は、収縮期左心室圧及び左心室内圧上昇速度の低下によって示される心収縮性の低下及び心拍出量の減少である。これらの変化は PR 間隔及び QRS 幅の一過性の延長を伴っている。以上の変化は麻酔イヌにおける全ての血行動態試験で一貫して用量依存的にみられた。心房の伝導は心室より低い用量で影響を受けた。

ラコサミドのより高用量 (15 mg/kg の 1~3 回累積投与) の試験は、少数例の麻酔イヌでのみ検討した。その結果、AV ブロック及び AV 解離のような更に重篤な伝導障害が認められた。AV 解離は血圧及び心拍出量の著しい低下を伴っていた。

心臓に対する薬物の作用を検討するにあたってはイヌが最も感受性の高い動物種である。サルではラコサミドの更に高用量まで重篤な心臓毒性は認められず、耐えることができると考えられる。しかし、サルにおいても 30 mg/kg 以上の用量から、QRS 幅延長等の ECG の変化がみられ、AV ブロック及び心室ブロックは累積用量が 60 mg/kg 以上で認められた。伝導障害の重篤度は用量の増加に伴って増強すると考えられたが、試験に使用したサルの例数 ($n=3$) が少ないため、最終的な結論には至らなかった。

イヌにおける反復投与毒性試験では全般的に ECG の波形に変化はみられなかったが、その理由として次のことが考えられる。第一に、通常の反復投与毒性試験では ECG 検査は、 T_{max} 後に実施されるため、作用持続の短い変化は捉えられない。二番目の理由として、ラコサミドの心抑制作用に対して、覚醒動物では麻酔下の開胸動物より感受性が低い可能性が考えられる。覚醒動物（毒性試験における）では、ラコサミドの用量は心血管系に対する作用よりもむしろ中枢抑制作用により制限されると考えられる。

陰性変力作用及び陰性変伝導性については、Honerjaeger ら^{24,25)}によってモルモット乳頭筋を用いた *in vitro* 試験での多数の Na^+ 電流阻害薬の作用が報告されている。これらの試験では純粋な Na^+ チャネル阻害剤は、 Ca^{2+} チャネル阻害作用も併せ持つ薬剤（例えば、キニジン、メキシレチン）より陰性変力作用が弱いことが示されている。ラコサミドは Ca^{2+} チャネルに対する作用はみられないので、ラコサミドの陰性変力作用は Na^+ チャネル調節作用にのみ起因している。ラコサミドの心臓 Na^+ 電流に対する作用機序として最も可能性が高い Na^+ チャネルの緩徐な不活性化の選択的な促進は、新規な作用機序である。したがって、ラコサミドと同様の作用機序を有する競合薬のデータは得られていない。

心機能に対する Na^+ チャネルの緩徐な不活性化促進の影響に関する情報は、緩徐な不活性化が増加した自然発生の Na^+ チャネル突然変異体の研究から得ることができる。Wang ら^{26,27)} は SCN5A チャネルのいくつかの突然変異体について研究した。T1620M 突然変異体はブルガダ症候群の患者より発見され、 Na^+ チャネルの中間型の不活性化の促進及び急速な不活性化からの回復性の促進に関係している。G298S 及び D1595N 突然変異体は、AV ブロックを有する 2 例の小児から発見され、緩徐な不活性化の増加と急速な不活性化の障害を同時に伴う特徴を有する。緩徐な不活性化の促進及び急速な不活性化の障害の併発は 1795insD 突然変異体においても観察されている。この突然変異体のキャリアは、心拍数が低い状態では QT 間隔の延長を示し、一方、運動時ではブルガダ症候群様の ECG 波形が発現する²⁸⁾。Yokoi ら²⁹⁾ は選択的に緩徐な不活性化を促進すると考えられる二重突然変異体（K1527R 及び A1569P）を無症候性ブルガダ症候群の患者において見出した。 Na^+ チャネル突然変異体におけるこれらの所見は、緩徐な不活性化の促進が心臓興奮伝導障害及びブルガダ症候群様の心機能障害に関係している可能性を示唆している。

ラコサミドによる心臓伝導の抑制は *in vivo* 試験で明らかに示され、臨床においても主に ECG の PR 間隔の延長が観察された。しかし、無症候性ブルガダ症候群の患者では、不整脈の症状が発現するかどうかは付加的要因により決定されると考えられている²⁸⁾ ことから、ラコサミドによる Na^+ チャネルの緩徐な不活性化の促進が不整脈発現のリスクとどの程度関連しているかを予測することは困難である。臨床的には、無症候性第 1 度 AV ブロック以外、ラコサミド投与に関連した特異的な心臓作用は確認されなかった（5.3.4.1.1、報告書番号 SP640）。

ラコサミドの心臓伝導への作用は作用機序に基づく可能性もあり（2.4.2.1 (2) 項）、心臓血管系への作用は安全性薬理試験（2.4.2.3 (2) 項）及び臨床試験（5.3.4.1.1、報告書番号 SP640）で確認されているので、被験物質投与による影響の可能性は排除できない。

麻酔イヌを用いて、数種の自律神経作動薬の血圧に対する反応に及ぼすラコサミドの影響を検討した。ラコサミドはイソプレテレンールの血圧上昇作用を抑制する傾向がみられたが、その関連性は明確ではなかった。イヌにおけるこれらの限られた試験結果では、ラコサミドは血圧の自律神経調節に重大な障害を示さないものと考えられる。

3) 呼吸器系に及ぼす影響

いくつかの毒性試験では、ラコサミド投与後、努力性呼吸がみられた。SD ラット (約 250 g) では、努力性呼吸は 50 mg/kg の単回静脈内投与試験 (4.2.3.1.4 報告書番号 18566-0-800、表 2.6.7.5)、及び 3 つの反復投与毒性試験 (4.2.3.2.4 報告書番号 1108-005、4.2.3.2.8 報告書番号 6842-103、表 2.6.7.6、4.2.3.2.5 報告書番号 148-235、表 2.6.7.7B) における 300 mg/kg の経口投与において認められた。ビーグル犬では、努力性呼吸は 24 mg/kg (参考 4.2.3.2.10 報告書番号 98825、表 2.6.7.6、参考 4.2.3.2.11 報告書番号 98865、表 2.6.7.7E) 及び 30 mg/kg (4.2.3.2.8 報告書番号 6842-103、表 2.6.7.6) の反復経口投与により認められた。呼吸機能については、Wistar ラットを用いて全身プレチスモグラフィ (WBP) により更に詳細に検討した。その結果、ラコサミドの単回経口投与では 75 mg/kg まで呼吸機能に対する影響は認められなかった (4.2.1.3.23 報告書番号 20000378P、表 2.6.3.4)。しかし、呼吸困難は上述したように毒性試験においては、時々観察され、Irwin 試験においても報告されている。Irwin 試験では、ラコサミドの 50 及び 75 mg/kg の経口投与により呼吸困難がみられた (4.2.1.3.3 報告書番号 20000379P、表 2.6.3.4)。WBP と Irwin 試験の試験方法における唯一の違い (プレチスモグラフィのチャンバーは除く) は Wistar ラットの体重及び週齢であった。WBP ではそれぞれ約 300 g 及び 8 週齢、Irwin 試験ではそれぞれ約 200g 及び 6 週齢であった。この結果よりラコサミドの呼吸に及ぼす影響は、Irwin 試験で使用したいくぶん若いラットの方が WBP で使用したラットより感受性が高かった可能性が示唆された。しかしながら、この仮説は幼若ラットにおける試験では支持されなかった (4.2.3.5.4.2 報告書番号 LPT 18602/04、表 2.6.7.15A)。幼若ラットにおける 6 週間反復投与毒性試験では 180 mg/kg/日まで、一般状態に毒性学的な変化は認められなかった。

別の理由として Irwin 試験でみられた呼吸困難は WBP で測定可能な呼吸の変化と関連していないことが考えられた。WBP パラメータが機械的な肺のパラメータと必ずしも良く関連しておらず、ある条件下ではパラメータ Penh (enhanced pause) は気道抵抗を適切に反映していないという報告もある^{30,31)}。また、ラットに経口投与したラコサミドの用量 (50~75 mg/kg) は、呼吸器に対する作用発現のほぼ閾値付近である可能性もある。初期の行動試験の 1 試験 (参考 4.2.1.3.2 報告書番号 D00.271/2/A、表 2.6.3.4) では、呼吸数の減少は経口投与では 256 mg/kg の高用量で、また腹腔内投与では 32 mg/kg で認められた。

呼吸困難又は努力性呼吸は異なった動物種でも繰り返し観察されていることより、高用量では呼吸障害のリスクが示唆される。しかし、呼吸困難を視覚的に検出することは呼吸機能を評価するための確実な手段ではないことに留意すべきである。

4) 腎臓及び消化器系に及ぼす影響

ラコサミドの作用機序である Na⁺チャネルの緩徐な不活性化の促進は、腎臓に対する作用には関与しない。ラットにおけるラコサミド 30 mg/kg の経口投与試験では、尿量、ナトリウム及びカリウム排泄に対する作用は認められなかった。しかし、ラットにおける少数の反復投与毒性試験においては、雌動物では 30 mg/kg/日の経口投与又は 25 mg/kg 以上の静脈内投与及び雄では 100 mg/kg/日の経口投与又は 50 mg/kg/日の静脈内投与により尿量の増加及び尿成分の希釈を示す試験結果も認められた (4.2.3.2.5 報告書番号 148-235、表 2.6.7.7B、4.2.3.2.7 報告書番号 6842-101、表 2.6.7.7D)。イヌにおける反復投与毒性試験においても、同様の結果が得られた (参考 4.2.3.2.14 報告書番号 98793、表 2.6.7.7G)。このイヌの試験では、静脈内投与による最高用量 16 mg/kg/日で、さまざまな程度の尿の希釈 (有意差はない) がみられた。利尿作用に関する臨床治験の報告はみられないので、腎臓に関するさらなる試験は実施しなかった。

ラットにおける活性炭の消化管輸送距離はラコサミドの 1 mg/kg 以上の経口投与により明らかな抑制を示し、25 mg/kg では約 28%の抑制を示した (4.2.1.3.25 報告書番号 20000380P、表 2.6.3.4)。アセチルコリン、セロトニン又はヒスタミンによる回腸収縮に対してラコサミドが影響を及ぼさなかったことより、この作用は神経伝達物質誘発による平滑筋収縮の阻害を介したものではないと考えられた。ラコサミドは腸の Na⁺チャネル阻害により消化管運動に作用を及ぼす可能性が推測される。SCN5A Na⁺チャネルは腸管のカハール介在細胞 (Interstitial Cells of Cajal) に発現している。これらのカハール介在細胞は消化管運動に中心的な役割を有し、自発的、律動的な電気振動 (徐波) を発生し、平滑筋収縮を誘発する。Strege ら³²⁾はカハール介在細胞においてリドカインにより Na⁺電流を阻害すると、空腸の摘出平滑筋切片での徐波の発現頻度が減少することを報告している。

ラコサミドは異種発現系 (CHO 及び HEK293) でヒト心臓 SCN5A を介在した Na⁺電流を阻害するので、同様に消化管 SCN5A チャネルを阻害する可能性があると考えられる。ラコサミド 1 mg/kg の経口投与により、軽度であるが明らかな消化管輸送の抑制 (7%) がみられ、このときの血漿中濃度は測定されていないが、1 mg/kg の腹腔内投与後の血漿中濃度 1.02 µg/mL (4 µmol/L) より低いと考えられ (参考 4.2.3.7.4.1 報告書番号 05.237/5、表 2.6.7.3)、この濃度では Na⁺電流に対する明らかな作用は観察されていない。ラットにおける消化管運動の抑制がみられたことより、機序に係わらず、ラコサミドは臨床において便秘を誘発する可能性があることを示唆している。

(5) 結論

非臨床データとして、種々の動物モデルを用いた試験によりラコサミドのてんかんのけいれん抑制作用が示された。その結果からラコサミドはいくつかの種類³⁾のてんかんに対し、広範な効力を持つ可能性が示され、治療抵抗性の患者においても有効である可能性が示唆された。

安全性薬理試験の結果、ラコサミドは既存の抗てんかん薬でも報告されている作用と類似の作用を示した。行動低下及び運動失調のような中枢神経系に対する副作用は、作用機序の異なった抗てんかん薬と共通していた。心臓 Na⁺チャネルの阻害による心臓伝導の遅延は、Na⁺チャネルに作用するカルバマゼピン、フェニトイン及びラモトリギンのような既存の抗てんかん薬と共通した副作用である。心血管系における副作用は、試験に用いた最も感受性の高い麻酔イヌにおいて、ラコサミドの日本人における予定最高用量の投与で得られる血漿中濃度から認められた。しかし、覚醒イヌを用いた 52 週間反復投与毒性試験における無毒性量である 10 mg/kg/日投与においても、同様の血漿中濃度を示したが、この毒性試験における最高用量である 25 mg/kg/日投与においても ECG の異常は認められなかった (4.2.3.2.12 報告書番号 LPT 13196/00、表 2.6.7.7)。

ラコサミドはてんかんの長期治療に対し、安全性の高い薬剤と考えられる。しかし、用量に関しては、ヒト (アジア人) に予定最高用量である 200 mg を 1 日 2 回投与したときの定常状態における最高血漿中濃度 (C_{max,ss}) の平均値 12.0 µg/mL (CV% : 16.8) で感受性の高い麻酔イヌにおいて、心臓 Na⁺チャネル及び心臓組織に対する作用が認められたことは臨床上考慮される必要がある。

2.6.2.7 図表

図表は本文中の適切な場所に挿入した。

参考文献

- 1) Beyreuther BK, Freitag J, Heers C, Krebsfänger N, Scharfenecker U, Stöhr T. Lacosamide: a review of preclinical properties. *CNS Drug Reviews* 2007;13 (1):21-42
- 2) Catterall WA. From ionic currents to molecular mechanisms: The structure and function of voltage-gated sodium channels. *Neuron*. 2000b; 26 (1):13-25,
- 3) Sheets PL, Heers C, Stoehr T, Cummins TR. Differential block of sensory neuronal voltage-gated sodium channels by lacosamide [(2R)-2-(acetylamino)-N-benzyl-3-methoxypropanamide], lidocaine, and carbamazepine. *J Pharmacol Exp Ther*. 2008;326(1):89-99.
- 4) Temperini C, Innocenti A, Scozzafava A, Parkkila S, Supuran CT. The coumarin-binding site in carbonic anhydrase accommodates structurally diverse inhibitors: the antiepileptic lacosamide as an example and lead molecule for novel classes of carbonic anhydrase inhibitors. *J Med Chem*. 2010;53(2):850-4.
- 5) Troughton GM. Thesis - An Investigation of the Subtype-Selective Antagonism of N-Methyl-D-Aspartate Receptors by new Antiepileptic Agent, R-2-Acetamido-N-Benzyl-3- Methoxypropionamide. The Faculty of the Program of Biological Chemistry Bates College, Lewiston, Maine. 2001.
- 6) Wang Y, Khanna R. Voltage-gated calcium channels are not affected by the novel anti-epileptic drug lacosamide. *Transl Neurosci*. 2011 ;2(1):13-22.
- 7) Wolff C, Carrington B, Varrin-Doyer M, Vandendriessche A, Van der Perren C, Famelart M, et al. Drug binding assays do not reveal specific binding of lacosamide to collapsin response mediator protein 2 (CRMP-2). *CNS Neuroscience & Therapeutics* 2012;18:493-500.
- 8) Lamberty Y, Margineanu DG, Klitgaard H. Effect of the New Antiepileptic Drug Levetiracetam in an Animal Model of Mania. *Epilepsy Behav* 2001;2 (5):454-9.
- 9) Shandra A, Shandra P, Kaschenko O, Matagne A, Stöhr T. Synergism of lacosamide with established antiepileptic drugs in the 6-Hz seizure model in mice. *Epilepsia*. 2013 Jul; 54(7):1167-75.
- 10) Barton ME, Klein BD, Wolf HH, White HS. Pharmacological characterization of the 6 Hz psychomotor seizure model of partial epilepsy. *Epilepsy Res* 2001;47 (3):217-27.
- 11) Walton NY, Jaing O, Hyun B and Treiman DM. Lamotrigine vs. phenytoin for treatment of status epilepticus: comparison in an experimental model. *Epilepsy Res* 1996;24:19-28.
- 12) Xie X, Lancaster B, Peakman T, Garthwaite J. Interaction of the antiepileptic drug lamotrigine with recombinant rat brain type IIA Na⁺ channels and with native Na⁺ channels in rat hippocampal neurones. *Pflugers Arch* 1995;430 (3):437-46.
- 13) Errington AC, Stöhr T, Lees G. Voltage gated ion channels: targets for anticonvulsant drugs. *Curr Top Med Chem* 2005;5 (1):15-30.
- 14) Köhling R. Voltage-gated sodium channels in epilepsy. *Epilepsia* 2002;43 (11):1278-95.
- 15) Sasa M. A new frontier in epilepsy: novel antiepileptogenic drugs. *J Pharmacol Sci* 2006;100 (5):487-94
- 16) Rogawski MA, Löscher W. The neurobiology of antiepileptic drugs for the treatment of nonepileptic conditions. *Nat Med* 2004;10 (7):685-92.
- 17) Hoenack D, Löscher W. Kindling increases the sensitivity of rats to adverse effects of certain antiepileptic drugs. *Epilepsia* 1995;36 (8):763-71.
- 18) Luszczki JJ, Andres MM, Czuczwar P, Cioczek-Czuczwar A, Wojcik-Cwikla J, Ratnaraj N, Patsalos PN et al. Levetiracetam selectively potentiates the acute neurotoxic effects of topiramate and carbamazepine in the rotarod test in mice. *Eur Neuropsychopharmacol* 2005;15 (6):609-16.
- 19) Sazgar M, Bourgeois BF. Aggravation of epilepsy by antiepileptic drugs. *Pediatr Neurol* 2005;33:227-34.
- 20) O'Reilly JP, Wang SY, Kallen RG, Wang GK. Comparison of slow inactivation in human heart and rat skeletal muscle Na⁺ channel chimaeras. *J Physiol* 1999;515 (Pt 1):61-73.
- 21) Richmond JE, Featherstone DE, Hartmann HA, Ruben PC. Slow inactivation in human cardiac sodium

- channels. *Biophys J* 1998;74 (6):2945-52.
- 22) Lenkowski PW, Shah BS, Dinn AE, Lee K, Patel MK. Lidocaine block of neonatal Na_v1.3 is differentially modulated by co-expression of beta1 and beta3 subunits. *Eur J Pharmacol* 2003;467 (1-3):23-30.
 - 23) Ko SH, Lenkowski PW, Lee HC, Mounsey JP, Patel MK. Modulation of Na_v1.5 by beta1- and beta3-subunit co-expression in mammalian cells. *Pflugers Arch* 2005;449 (4):403-12.
 - 24) Honerjager P, Loibl E, Steidl I, Schonsteiner G, Ulm K. Negative inotropic effects of tetrodotoxin and seven class I antiarrhythmic drugs in relation to sodium channel blockade. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1986;332 (2):184-95.
 - 25) Honerjager P. The contribution of Na channel block to the negative inotropic effect of antiarrhythmic drugs. *Basic Res Cardiol* 1986;81 Suppl 1:33-7.
 - 26) Wang DW, Makita N, Kitabatake A, Balsler JR, George AL Jr. Enhanced Na⁺ channel intermediate inactivation in Brugada syndrome. *Circ Res.* 2000;87(8):E37-43.
 - 27) Wang DW, Viswanathan PC, Balsler JR, George AL Jr, Benson DW. Clinical, genetic, and biophysical characterization of *SCN5A* mutations associated with atrioventricular conduction block. *Circulation* 2002;105 (3):341-6.
 - 28) Veldkamp MW, Viswanathan PC, Bezzina C, Baartscheer A, Wilde AA, Balsler JR. Two distinct congenital arrhythmias evoked by a multidysfunctional Na⁺ channel. *Circ Res.* 2000;86(9):E91-7.
 - 29) Yokoi H, Makita N, Sasaki K, Takagi Y, Okumura Y, Nishino T, et al. Double *SCN5A* mutation underlying asymptomatic Brugada syndrome. *Heart Rhythm* 2005;2 (3):285-92.
 - 30) Adler A, Cieslewicz G, Irvin CG. Unrestrained plethysmography is an unreliable measure of airway responsiveness in BALB/c and C57BL/6 mice. *J Appl Physiol* 2004;97 (1):286-92.
 - 31) Petak F, Habre W, Donati YR, Hantos Z, Barazzone-Argiroffo C. Hyperoxia-induced changes in mouse lung mechanics: forced oscillations vs. barometric plethysmography. *J Appl Physiol* 2001;90 (6):2221-30.
 - 32) Strega PR, Ou Y, Sha L, Rich A, Gibbons SJ, Szurszewski JH, et al. Sodium current in human intestinal interstitial cells of Cajal. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2003;285 (6):G1111-21.

目次

2.6.3	薬理試験概要表	2
2.6.3.1	薬理試験：一覧表	2
2.6.3.2	効力を裏付ける試験	10
2.6.3.3	副次的薬理試験	38
2.6.3.4	安全性薬理試験	42
2.6.3.5	薬力学的薬物相互作用試験	52

2.6.3 薬理試験概要表

2.6.3.1 薬理試験：一覧表

被験物質：ラコサミド

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	記載箇所
効力を裏付ける試験					
<i>In vivo</i> てんかんモデルにおける抗けいれん作用					
聴原性発作	マウス	腹腔内	■	NO1-NS-4-2311	4.2.1.1.1
キンドリング発作	ラット	腹腔内	■	NO1-NS-4-2311	4.2.1.1.1
電気ショック発作	マウス	腹腔内/経口	■	NO1-NS-4-2311	4.2.1.1.1
電気ショック発作 (6 Hz)	マウス	腹腔内	■	NO1-NS-4-2311 Addendum 1	4.2.1.1.1
化学的けいれん発作	マウス	腹腔内	■	NO1-NS-4-2311	4.2.1.1.1
化学的けいれん発作	マウス/ラット	腹腔内/経口	■	NO1-NS-4-2311	4.2.1.1.1
マウス扁桃核キンドリング発作	マウス	腹腔内	UCB Pharma S.A.	CNS10006	4.2.1.1.2
キンドリングてんかん発作	ラット	腹腔内	■■■■■ ■■■■■	Brandt et al, 2006	4.2.1.1.3
電気ショック発作	マウス	腹腔内	■	02.274/2	4.2.1.1.4
化学的けいれん発作	マウス	腹腔内	■	D00.161/3	4.2.1.1.5
自発性てんかん重積 (SSSE)	ラット	静脈内	■	Wasterlain 2 Wasterlain 3 Wasterlain 4	4.2.1.1.6 4.2.1.1.7 4.2.1.1.8
自発性てんかん重積 (SSSE)	ラット	腹腔内	■■■■■	A1	4.2.1.1.9
欠神てんかん発作	ラット	腹腔内	■■■■■	PML 2002-C167	4.2.1.1.10
ストラスプール遺伝性欠神てんかんラット (GAERS)	ラット	腹腔内	UCB Pharma S.A.	CNS10004	4.2.1.1.11

2.6.3.1 薬理試験：一覧表（続き）

被験物質：ラコサミド

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	記載箇所
作用機序					
電位依存性 Na ⁺ チャンネルに対する作用					
Na ⁺ チャンネルの緩徐な不活性化	マウス神経芽腫細胞 N1E-115	<i>In vitro</i>	██████████	Errington 2006, Errington 2008	4.2.1.1.12
Na ⁺ チャンネルの緩徐な不活性化	マウス神経芽腫細胞 N1E-115	<i>In vitro</i>	UCB Pharma S.A.	CNS10029	4.2.1.1.13
生理学的及び病態生理学的活性	海馬神経細胞（C57BL/6 マウス）	<i>In vitro</i>	██████████ ██████████	F-9946	4.2.1.1.14
NaV1.2、NaV1.4 WT 及び QQQ 突然変異体における Na ⁺ チャンネルの緩徐な不活性化	NaV1.2 を発現させたチャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞、ヒト NaV1.4 チャンネル及び NaV1.4-QQQ 突然変異体を発現させたアフリカツメガエル卵母細胞	<i>In vitro</i>	██████████	F-9938	4.2.1.1.15

被験物質：ラコサミド

2.6.3.1 薬理試験：一覧表（続き）

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	記載箇所
受容体結合及びチャンネル修飾					
受容体結合及び機能的モノアミン取込み	自然又は組換えヒト、ラット、マウス、モルモット及びニワトリの受容体、酵素、イオンチャンネル又はトランスポータ	<i>In vitro</i>	■	817003	4.2.1.1.16
受容体結合	ウシ脳、ラット脳、マウス脳、ラット脊髄、ラット肝臓、マウス膵臓、ラット顎下腺、ウシ十二指腸、モルモット脳	<i>In vitro</i>	■	A2	4.2.1.1.17

2.6.3.1 薬理試験：一覧表（続き）

被験物質：ラコサミド

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	記載箇所
受容体及び酵素結合	モルモット脳、ラット脳、ヒト HT-29 細胞、ヒト Sup-T1 細胞	<i>In vitro</i>	■	6065	4.2.1.1.18
酵素阻害	ラット脳神経細胞	<i>In vitro</i>	■	5498	4.2.1.1.19
受容体結合／SPM 12809	ヒト組換え CHO 細胞、ヒト組換え HEK293 細胞、ラット脳組織、モルモット脳	<i>In vitro</i>	■	10263	4.2.1.1.20
受容体結合／SPM 12809, SPM 12813, SPM 12814, SPM 12815, SPM 12816, SPM 12817	ラット脳、ラット脊髄	<i>In vitro</i>	■	817004	4.2.1.1.21
酵素阻害	ラット脳神経細胞	<i>In vitro</i>	■	8540	4.2.1.1.22
酵素阻害	ヒト赤血球	<i>In vitro</i>	■	A6	4.2.1.3.15
受容体結合	ラット脳	<i>In vitro</i>	■	Wasterlain 1	4.2.1.1.23
受容体結合	ラット脳	<i>In vitro</i>	■	A3	4.2.1.1.24
機能的イオンチャネル修飾	CHO 細胞	<i>In vitro</i>	■	G0011Sch291E	4.2.1.1.25
機能的イオンチャネル修飾	ラット脳神経細胞	<i>In vitro</i>	■	Krishtal	4.2.1.1.26
機能的イオンチャネル修飾	ラット脳神経細胞	<i>In vitro</i>	■	106-02-01	4.2.1.1.27
機能的イオンチャネル修飾	ラット脳神経細胞、マウス神経芽腫細胞 N1E-115	<i>In vitro</i>	■	Errington 2006	4.2.1.1.12

2.6.3.1 薬理試験：一覧表（続き）

被験物質：ラコサミド

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	記載箇所
CRMP-2 に対する作用					
放射性リガンド結合試験	ラット脳膜分画、ヒトクローン化 CRMP-2	<i>In vitro</i>	UCB Pharma S.A.	CNS09026	4.2.1.1.28
結合試験	ヒトクローン化 CRMP-2	<i>In vitro</i>	UCB Pharma S.A.	CNS09027	4.2.1.1.29
放射性リガンド結合試験	ラットクローン化 CRMP-2	<i>In vitro</i>	UCB Pharma S.A.	CNS09028	4.2.1.1.30
CRMP たん白質及び神経性 NMDA 受容体の修飾	-	-	-	CNS10033	4.2.1.1.31
フィッシュフック法	ラット脳	<i>In vitro</i>	■■■■■	031209	4.2.1.1.32
放射性リガンド結合試験	アフリカツメガエル卵母細胞	<i>In vitro</i>	■■■■■	041012	4.2.1.1.33
機能的組織に対する作用／神経分化	ラット脳神経細胞	<i>In vitro</i>	■■■■■	05/SP/03	4.2.1.1.34
副次的薬理試験					
長期増強（LTP）	マウス海馬スライス標本	<i>In vitro</i>	UCB Pharma S.A.	CNS08001	4.2.1.2.1
機能的組織に対する作用／神経保護	ラット海馬スライス標本器官培養系	<i>In vitro</i>	■■■■■	F9672	4.2.1.2.2
虚血	ラット	腹腔内	■■■■■	MDS-MCAO	4.2.1.2.3
虚血	ラット	急速静脈内／ 点滴静脈内	■■■■■ ■■■■■	A7	4.2.1.2.4
外傷性脳損傷	ラット	腹腔内	■■■■■	DNRO 217.27.275.04	4.2.1.2.5

2.6.3.1 薬理試験：一覧表（続き）

被験物質：ラコサミド

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	記載箇所
筋萎縮性側索硬化症	マウス	腹腔内	██████	FI04017	4.2.1.2.6
運動障害	マウス	腹腔内	██████	AA19072	4.2.1.2.7
振戦	ラット	腹腔内	██████	AA20234	4.2.1.2.8
振戦	ラット	腹腔内	██████	AA24877	4.2.1.2.9
驚愕反応	マウス	腹腔内	██████████	SCHW001	4.2.1.2.10
不安	マウス	腹腔内	██████████	SCHW002	4.2.1.2.11
不安	ラット	腹腔内	██████	507/511	4.2.1.2.12
躁病	ラット	腹腔内	██████	505	4.2.1.2.13
うつ病	ラット	腹腔内	██████	04.270/3	4.2.1.2.14
安全性薬理試験					
中枢神経系、神経薬理学的症状	マウス	腹腔内	██████	0200XH15.001	4.2.1.3.1
中枢神経系、Irwin 試験	マウス	腹腔内	██████	D00.271/2/A	4.2.1.3.2
中枢神経系、Irwin 試験	ラット	腹腔内	██████	D00.271/2/A	4.2.1.3.2
中枢神経系、Irwin 試験	ラット	経口	██████	D00.271/2/A	4.2.1.3.2
中枢神経系、ロータロッド試験	マウス	腹腔内	██████	D00.271/2/A	4.2.1.3.2
中枢神経系、ロータロッド試験	マウス	経口	██████	D00.271/2/A	4.2.1.3.2
中枢神経系、ロータロッド試験	ラット	腹腔内	██████	D00.271/2/A	4.2.1.3.2
中枢神経系、ロータロッド試験	ラット	経口	██████	D00.271/2/A	4.2.1.3.2
中枢神経系 ^a 、Irwin 試験	ラット	経口	██████	20000379P	4.2.1.3.3
中枢神経系、神経細胞の空胞化	ラット	腹腔内	██████████ ██████████	Olney	4.2.1.3.4
中枢神経系、神経細胞の空胞化	ラット	腹腔内	██████	6958-103	4.2.1.3.5

a = 試験は GLP に準拠して実施した。

2.6.3.1 薬理試験：一覧表（続き）

被験物質：ラコサミド

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	記載箇所
心血管系 ^a 、活動電位パラメータ	イヌのプルキンエ線維	<i>In vitro</i>	■■■■	20000377P	4.2.1.3.6
心血管系、活動電位パラメータ	イヌ心室筋細胞	<i>In vitro</i>	■■■■	A8	4.2.1.3.7
心血管系、活動電位パラメータ	モルモット心室筋細胞	<i>In vitro</i>	■■■■ ■■■■	9496	4.2.1.3.8
心血管系、SCN5A Na ⁺ チャンネル	ヒト SCN5A Na ⁺ チャンネルを安定的に発現している HEK293 細胞	<i>In vitro</i>	■■■■	011119.TDA	4.2.1.3.9
心血管系、SCN5A Na ⁺ チャンネル	ヒト SCN5A Na ⁺ チャンネルを発現している CHO 細胞	<i>In vitro</i>	■■■■	E-01-014-001	4.2.1.3.10
心血管系、Na ⁺ 及び Ca ²⁺ チャンネル	ヒト心房筋細胞	<i>In vitro</i>	■■■■	SB01D01	4.2.1.3.11
心血管系 ^a 、Ca ²⁺ チャンネル	モルモット心室筋細胞	<i>In vitro</i>	■■■■	LPT 15066/01	4.2.1.3.12
心血管系 ^a 、hERG K ⁺ チャンネル	ヒト ERG チャンネルを発現している HEK293 細胞	<i>In vitro</i>	■■■■	020316.TDA	4.2.1.3.13
心血管系、SCN5A Na ⁺ チャンネル	ヒト SCN5A Na ⁺ チャンネルを発現している CHO-K1 細胞	<i>In vitro</i>	■■■■	E-006-05-04	4.2.1.3.14
心血管系、血圧	高血圧自然発症ラット	経口	■■■■	A6	4.2.1.3.15
心血管系、血行動態及び ECG パラメータ	イヌ	静脈内	■■■■	0247DH15.001	4.2.1.3.16

a = 試験は GLP に準拠して実施した。

2.6.3.1 薬理試験：一覧表（続き）

被験物質：ラコサミド

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	記載箇所
心血管系、血行動態及び ECG パラメータ	イヌ	静脈内	████████	0247DH15.002	4.2.1.3.17
心血管系、血行動態及び ECG パラメータ	イヌ	静脈内	████████	0247DH15.003	4.2.1.3.18
心血管系、血行動態及び ECG パラメータ	イヌ	静脈内	██████	20000376P	4.2.1.3.19
心血管系、血行動態及び ECG パラメータ	サル	静脈内	████████	0247XH15.004	4.2.1.3.20
心血管系及び自律神経系（血圧及び ECG パラメータ）	イヌ	静脈内	████████	0234DH15.001	4.2.1.3.21
心血管系及び自律神経系（血圧及び ECG パラメータ）	イヌ	静脈内	████████	0234DH15.002	4.2.1.3.22
呼吸器系 ^a	ラット	経口	██████	20000378P	4.2.1.3.23
腎臓	ラット	経口	████████	A6	4.2.1.3.15
消化器系 ^a 、神経伝達物質との相互作用	モルモット回腸	<i>In vitro</i>	██████	20000381P	4.2.1.3.24
消化器系、消化管輸送	ラット	経口	██████	20000380P	4.2.1.3.25
薬力学的薬物相互作用試験					
ラコサミドの抗てんかん薬との相互作用	マウス	腹腔内	████████	9928	4.2.1.4.1

a = 試験は GLP に準拠して実施した。

2.6.3.2 効力を裏付ける試験

2.6.3.2A てんかんモデルにおけるラコサミドの作用

被験物質：ラコサミド

In vivo 発作モデル

試験の種類	動物種	モデル	投与量	投与経路	所見	試験番号 (記載箇所)
聴原性発作	聴原性発作マウス、雌雄	音響誘発発作	報告書に記載なし	腹腔内	ED ₅₀ : 0.63 mg/kg	NO1-NS-4-2311 (4.2.1.1.1)
化学的けいれん発作	CF No. 1 マウス、雄	ピククリン誘発けいれん	50 mg/kg まで	腹腔内	抑制作用なし	NO1-NS-4-2311 (4.2.1.1.1)
化学的けいれん発作	CF No. 1 マウス、雄	ピクロトキシン誘発けいれん	30 mg/kg まで	腹腔内	抑制作用なし	NO1-NS-4-2311 (4.2.1.1.1)
化学的けいれん発作	CF No. 1 マウス、雄 Sprague-Dawley ラット、雄	ペンチレンテトラゾール (PTZ) 誘発けいれん PTZ の持続的点滴静脈内投与による最小誘発けいれん	マウス: 25 mg/kg まで ラット: 250 mg/kg まで マウス: 4.5, 27 mg/kg	腹腔内、 経口 腹腔内	ラコサミドはマウス及びラットにおける、PTZ の皮下投与により誘発されるけいれんに対する抑制作用を示さなかった。 マウスにおいてラコサミドの 4.5 mg/kg (腹腔内投与) は、PTZ の点滴静脈内投与により誘発された発作発現の閾値を上昇させた。27 mg/kg でも同様な作用がみられた。	NO1-NS-4-2311 (4.2.1.1.1)
化学的けいれん発作	Rj:NMRI マウス、雄	NMDA 誘発けいれん	20, 50 mg/kg	腹腔内	ラコサミドの 20 mg/kg 以上では強直性けいれんを完全に抑制した。50 mg/kg では死亡の抑制及び間代性けいれんの 50%抑制を示した。	D00.161/3 (4.2.1.1.5)

2.6.3.2A てんかんモデルにおけるラコサミドの作用 (続き)

被験物質：ラコサミド

試験の種類	動物種	モデル	投与量	投与経路	所見	試験番号 (記載箇所)
電気ショック 発作	CF No. 1 マウス、雄、 Sprague-Dawley ラット、雄	最大電気ショック	マウス：50 mg/kg まで ラット：500 mg/kg まで	マウス：腹腔内 ラット：経口	マウス ED ₅₀ : 4.5 mg/kg (腹腔内) ラット ED ₅₀ : 3.9 mg/kg (経口)	NOI-NS-4-2311 (4.2.1.1.1)
電気ショック 発作 (6Hz)	マウス	6 Hz てんかんモデル	6, 9, 12, 20 mg/kg	腹腔内	ED ₅₀ : 10.0 mg/kg	NOI-NS-4-2311 Addendum 1 (4.2.1.1.1)
電気ショック 発作	Rj:NMRI マウス、雄	最大電気ショック	ラコサミド: 1.5, 5, 15 mg/kg SPM 6953: 10, 30, 100 mg/kg SPM 12809: 1.5, 5, 15 mg/kg	腹腔内	ラコサミドは 5 及び 15 mg/kg で強直性けいれんを完全に抑制したが、1.5 mg/kg では 20%の抑制を示した。 SPM 6953 及び SPM 12809 では抑制はみられなかった。	02.274/2 (4.2.1.1.4)
キンドリング 発作	C57BL6J マウス	扁桃核キンドリング	3, 10, 15, 20 mg/kg	腹腔内	ラコサミドの最高用量 (20 mg/kg) では二次性全般発作に対して、70%の抑制を示した。また、発作スコアの中央値は、投与前の 5 から 1 まで明らかな低下を示し、後発射持続時間は 64%短縮した。低用量 (3、10 及び 15 mg/kg) においても発作スコアの中央値は有意に低下し、10 及び 15 mg/kg においては後発射持続時間の有意な短縮がみられた。	CNS10006 (4.2.1.1.2)

2.6.3.2A てんかんモデルにおけるラコサミドの作用（続き）

被験物質：ラコサミド

試験の種類	動物種	モデル	投与量	投与経路	所見	試験番号 (記載箇所)
キンドリング 発作	Sprague- Dawley ラッ ト、雄	海馬キンドリング	7, 13, 19, 25 mg/kg	腹腔内	ラコサミドの発作スコアの低下作用における ED ₅₀ は 13.5 mg/kg であった。海馬キンドリングラットに対するラコサミド 25 mg/kg の単回腹腔内投与による作用を既存の抗てんかん薬の最大有効量（フェニトイン 150 mg/kg、カルバマゼピン 50 mg/kg、バルプロ酸 250 mg/kg 及びエトスクシミド 250 mg/kg）における作用と比較検討した。ラコサミド 25 mg/kg では海馬キンドリングラットにおける後発射持続時間を 85%以上減少させ、他の抗てんかん薬よりも作用が強かった。	NO1-NS-4-2311 (4.2.1.1.1)
キンドリング 発作	ラット	扁桃核 キンドリング	3, 10, 30 mg/kg	腹腔内	ラコサミドの 10 及び 30 mg/kg ではキンドリング進展の抑制がみられた。	Brandt et al, 2006 (4.2.1.1.3)
自発性てんかん 重責（SSSE）	Wistar ラット、 雄	貫通路刺激	50 mg/kg	静脈内	ラコサミドは SSSE 誘発発作のスパイク数を減少させ、発作持続時間を短縮させた。更に、貫通路刺激により誘発される海馬損傷の程度を減少させた。	Wasterlain 2 (4.2.1.1.6) Wasterlain 3 (4.2.1.1.7) Wasterlain 4 (4.2.1.1.8)
自発性てんかん 重責（SSSE）	Sprague- Dawley ラッ ト、雄	コバルト/ ホモシステイン	10, 20, 40, 80, 100 mg/kg 0, 2.5, 5, 10, 20 mg/kg	腹腔内	SSSE モデルにおける GTCS 抑制効果の ED ₅₀ は 45.4 mg/kg であった。 ジアゼパムとの併用により、ラコサミドの ED ₅₀ は 3.85 mg/kg に減少した（単剤と比較して 91.5% 減少）。	A1 (4.2.1.1.9)
自発性てんかん 重責（SSSE）	Sprague- Dawley ラッ ト、雄	塩化リチウム/ ピロカルピン	50, 100 mg/kg	腹腔内	ラコサミド 50 mg/kg 投与により運動発作の減少がみられた。	A1 (4.2.1.1.9)

2.6.3.2A てんかんモデルにおけるラコサミドの作用（続き）

被験物質：ラコサミド

試験の種類	動物種	モデル	投与量	投与経路	所見	試験番号 (記載箇所)
欠神てんかん	Wistar WAG/Rij ラット、雄	遺伝性動物モデル	3, 10, 30 mg/kg	腹腔内	ラコサミドでは、行動パラメータ（自発運動、無意識行動又は受動的行動及び睡眠）に何ら影響はみられなかった。 いずれの用量においてもラコサミド投与後最初の1時間以内に棘徐波発射（SWD）数の極軽度だが有意な増加がみられた。SWDの平均持続時間に対するラコサミドの明らかな影響はみられなかった。	PML 2002-C167 (4.2.1.1.10)
遺伝性欠神てんかん	Wistar ストラスプール遺伝性欠神てんかんラット（GAERS）、雄	<i>In vivo</i> GAERS モデル	ラコサミド: 1.73, 5.2, 15.6, 31.2 mg/kg カルバマゼピン: 1.97, 5.9, 17.7, 35.4 mg/kg	腹腔内	ラコサミドでは最高2用量（15.6 及び 31.2 mg/kg）で投与後1時間以内に、有意な一過性の累積自発性 SWD 持続時間の延長がみられた。カルバマゼピンでも最高用量（17.7 及び 35.4 mg/kg）で累積 SWD 持続時間に対しラコサミドと同様の延長作用がみられた。両薬剤は GAERS における累積 SWD 持続時間を、最大電気ショック発作の ED ₅₀ の3倍又は6倍に相当する用量で延長させた。同様に、両薬剤の高用量では累積 SWD 数の増加がみられた。低用量では SWD に対する作用はみられなかった。ラコサミドとカルバマゼピンの間で、GAERS における SWD に対する作用に質的及び量的な差はみられなかった。	CNS10004 (4.2.1.1.11)

2.6.3.2A てんかんモデルにおけるラコサミドの作用（続き）

被験物質：ラコサミド

In vitro 発作モデル

試験の種類	試験系	所見	試験番号	記載箇所
ラコサミドの <i>in vitro</i> における抗けいれん作用	ラット脳スライス標本	ラコサミド濃度を 1 mmol/L まで上昇させても、定常状態の神経伝達（シャッフアー側枝求心性神経刺激によるフィールド興奮性シナプス後電位）には影響を及ぼさなかった。	Errington 2006 Section 3.3.1	4.2.1.1.12
ラコサミドの <i>in vitro</i> における抗けいれん作用	ラット脳スライス標本 4-アミノピリジン誘発てんかん様活性	ラコサミドによる強直性の自発性電場電位スパイク持続時間の減少に対する IC ₅₀ は 41 μmol/L、最大発火頻度の減少に対する IC ₅₀ は 71 μmol/L であった。	Errington 2006 Section 3.3.3	4.2.1.1.12
SPM 6953 の <i>in vitro</i> における抗けいれん作用	ラット脳スライス標本 4-アミノピリジン誘発てんかん様活性	ラコサミドの S-光学異性体である SPM 6953 (320 μmol/L まで) は、視覚野の自発性発作放電の持続時間又は強度に対する明らかな作用は示さなかった。	Errington 2006 Section 3.3.4	4.2.1.1.12

2.6.3.2B 作用機序

被験物質：ラコサミド

試験の種類	試験系	リガンド	所見	試験番号 (記載箇所)
電位依存性 Na ⁺ チャネルに対する作用	マウス神経芽腫細胞 N1E-115	該当せず	過分極パルス、Na ⁺ 電流の急速な不活性化の電位曲線及び Na ⁺ チャネルの定常状態における急速な不活性化からの回復に対して、ラコサミドには作用がみられなかった。	Errington 2006 Section 5.3.4 Section 5.3.5 Section 5.3.7 (4.2.1.1.12)
電位依存性 Na ⁺ チャネルに対する作用	マウス神経芽腫細胞 N1E-115	該当せず	ラコサミドは濃度依存的に Na ⁺ チャネルにおける緩徐な不活性化を促進させた。	Errington 2006 Section 6.3.1 (4.2.1.1.12)
電位依存性 Na ⁺ チャネルに対する作用	マウス神経芽腫細胞 N1E-115	該当せず	ラコサミドは緩徐な不活性化電位曲線を更に過分極側へ濃度依存的にシフトさせた (100 μmol/L における V ₅₀ は -57 mV であった)。しかし、緩徐な不活性化チャネルが回復するまでの時間に影響を与えなかった。	Errington 2006 Section 6.3.3 Section 6.3.4 (4.2.1.1.12)
電位依存性 Na ⁺ チャネルに対する作用	ラット II 型 (Na _v 1.2) α サブユニットを発現させたアフリカツメガエル卵母細胞	該当せず	本発現細胞において、ラコサミドは電位依存性 Na ⁺ 電流を阻害した。これはラコサミドの Na ⁺ 電流の阻害には、付属 β サブユニットの共発現は必要としないことを示している。最大利用度の 50% を示す不活性化電位 (V ₅₀) は -43 mV であった。	Errington 2006 Section 6.3.5 Section 6.3.6 (4.2.1.1.12)

2.6.3.2B 作用機序（続き）

被験物質：ラコサミド

試験の種類	試験系	リガンド	所見	試験番号 (記載箇所)
機能的イオンチャネルの修飾	N1E-115 マウス神経芽腫細胞株を用いたホールセルパッチクランプ法で、内因性Na ⁺ 電流を記録した（6～7細胞/群）。	全ての薬剤を100 μmol/Lの濃度とした（ラコサミド、SPM6953、カルバマゼピン、ラモトリギン、ゾニサミド、フェニトイン、ルフィナミド）。	ラコサミドでは緩徐な不活性化曲線においてV ₅₀ の明らかな過分極側へのシフトがみられ、その結果、静止膜電位付近での利用できないNa ⁺ チャンネル分画が増大したが、他の抗てんかん薬及びSPM 6953では、同様の実験条件で過分極側へのシフトはみられなかった。	CNS10029 (4.2.1.1.13)
機能的イオンチャネルの修飾	<i>Scn1b</i> ノックアウトマウス及び野生型のC57BL/6マウスの単離した海馬神経細胞を用いてパッチクランプ法により比較検討した。	該当せず	ラコサミドは <i>Scn1b</i> ノックアウトマウスにおいて、連続的な活動電位（発火）の阻害を示したが、カルバマゼピンは連続的な発火に対する阻害作用を示さなかった。	F-9946 (4.2.1.1.14)
	ホールセルパッチクランプ法により、安定的にNaV1.2を発現させたCHO細胞、ヒトNaV1.4チャンネル（野生型）あるいはNaV1.4-QQQ突然変異体を発現させたアフリカツメガエル卵母細胞を用いた（n=1～13/群）。	該当せず	ラコサミドはNaV1.2における電位依存性及び緩徐な不活性化を選択的に促進させたが、NaV1.4に対しては影響を及ぼさなかった。	F-9938 (4.2.1.1.15)

被験物質：ラコサミド

2.6.3.2B 作用機序（続き）

試験の種類	試験系	リガンド	所見	試験番号 (記載箇所)
電気生理学的性質	ラット錐体神経細胞	該当せず	ラコサミドは濃度依存的に自発性活動電位の発火率を有意に抑制した (IC ₅₀ : 61.5 μmol/L)。	Errington 2006 Section 4.3.1 (4.2.1.1.12)
電気生理学的性質	ラット皮質神経細胞	該当せず	ラコサミドは活動電位の持続的連続発火において、短い脱分極パルス (750 ミリ秒) は減少させず、長いパルス (10 秒) を減少させた。 ラコサミドは初期段階のスパイクには影響を及ぼさなかった。	Errington 2006 Section 5.3.2 (4.2.1.1.12)
電気生理学的性質	ラット皮質神経細胞	該当せず	ラコサミドは緩徐な電位ランプ (てんかん様) により誘発される発火を抑制したが、急速な電位ランプに対しては抑制しなかった。	Errington 2006 Section 5.3.1 (4.2.1.1.12)
電気生理学的性質	ラット錐体神経細胞	該当せず	ラコサミドは GABA _A 又は AMPA/NMDA により誘発された電流に影響を及ぼさなかった。	Errington 2006 Section 4.3.3 Section 4.3.4 Section 4.3.5 (4.2.1.1.12)

2.6.3.2B 作用機序（続き）

被験物質：ラコサミド

試験の種類	試験系		リガンド		所見 10 µmol/Lにおける結 合阻害率 (%)	試験番号 (記載箇所)
	受容体	由来	リガンド	濃度 (nmol/L)		
ラコサミドの 受容体結合試験						817003 (4.2.1.1.16)
	アデノシン A ₁	ヒト組換え CHO 細胞	³ H-DPCPX	1.00	<10	
	アデノシン A _{2A}	ヒト組換え HEK293 細胞	³ H-CGS-21680	6.00	<10	
	アデノシン A ₃	ヒト組換え HEK293 細胞	¹²⁵ I-AB-MECA	0.10	<10	
	アドレナリン α ₁	ラット大脳皮質	³ H-prazosin	0.25	<10	
	アドレナリン α ₂	ラット大脳皮質	³ H-RX821002	0.50	<10	
	アドレナリン β ₁	ヒト組換え Sf9 細胞	³ H-CGP-12177	0.15	<10	
	アドレナリン β ₂	ヒト組換え Sf9 細胞	³ H-CGP-12177	0.15	<10	
	アドレナリン NET	ラット大脳皮質	³ H-nisoxetine	1.00	10	
	アドレナリン NET	ヒト組換え MDCK 細胞	³ H-nisoxetine	0.30	<10	
	アンジオテンシン AT ₁	ヒト組換え CHO 細胞	¹²⁵ I-[Sar ¹ Ile ⁸]Angiotensin II	0.05	10	
	アンジオテンシン AT ₂	ヒト組換え Hela 細胞	¹²⁵ I-CGP 42112A	0.05	<10	
	心房性ナトリウム利尿ペプチド	モルモット小脳	¹²⁵ I-ANP	0.05	23	
	ベンゾジアゼピン (中枢)	ラット大脳皮質	³ H-flunitrazepam	0.40	14	
	ベンゾジアゼピン (末梢)	ラット心臓	³ H-PK 11195	0.20	<10	
	ボンベシン	ラット大脳皮質	¹²⁵ I-[Tyr ⁴]bombesin	0.01	<10	
	ブラジキニン B ₂	ヒト組換え CHO 細胞	³ H-bradykinin	0.20	<10	
	Ca ²⁺ チャネル (L型)	ラット大脳皮質	³ H-(-)D 888	0.50	<10	
	カルシトニン遺伝子関連ペプチド	ヒト組換え SK-N-MC 細胞	¹²⁵ I-hCGRPα	0.04	<10	
	カンナビノイド CB ₁	ヒト組換え HEK293 細胞	³ H-WIN 55212-2	2.00	<10	
カンナビノイド CB ₂	ヒト組換え HEK293 細胞	³ H-WIN 55212-2	0.80	<10		
ケモカイン CCR ₁	ヒト組換え HEK293 細胞	¹²⁵ I-MIP-1α	0.03	<10		
コレシストキニン CCK ₁	ヒト組換え NIH-3T3 細胞	³ H-devazepide	0.30	10		

2.6.3.2B 作用機序 (続き)

被験物質：ラコサミド

試験の種類	試験系		リガンド		所見 10 µmol/L における結 合阻害率 (%)	試験番号 (記載箇所)
	受容体	由来	リガンド	濃度 (nmol/L)		
ラコサミドの 受容体結合試験						817003 (4.2.1.1.16)
	コレスストキニン CCK ₂	マウス大脳皮質	³ H-CCK-8	0.40	<10	
	ドパミン D ₁	ラット線条体	³ H-SCH23390	0.30	<10	
	ドパミン D ₁	ヒト組換え L 細胞	³ H-SCH23390	0.30	<10	
	ドパミン D ₂	ラット線条体	³ H-YM-09151-2	0.10	<10	
	ドパミン D ₂	ヒト組換え CHO 細胞	³ H-spiperone	0.30	<10	
	ドパミン D ₃	ラット組換え CHO 細胞	³ H-spiperone	0.30	<10	
	ドパミン D ₃	ヒト組換え CHO 細胞	³ H-spiperone	0.30	14	
	ドパミン D ₄₄	ヒト組換え CHO 細胞	³ H-spiperone	0.30	<10	
	ドパミン D ₅	ヒト組換え GH4 細胞	³ H-SCH 23390	0.30	<10	
	ドパミントランスポータ	ヒト組換え CHO 細胞	³ H-GBR12935	0.50	<10	
	エンドセリン ET _A	ヒト組換え CHO 細胞	¹²⁵ I-endothelin-1	0.03	19	
	エンドセリン ET _B	ヒト組換え CHO 細胞	¹²⁵ I-endothelin-1	0.03	<10	
	エストロゲン ER α	ヒト組換え Sf9 細胞	fluormone TM ES2	1.00	<10	
	GABA	ラット大脳皮質	³ H-GABA	10.00	<10	
	GABA _A	ラット大脳皮質	³ H-muscimol	5.00	<10	
	GABA _A (Cl ⁻ チャンネル)	ラット大脳皮質	³⁵ S-TBPS	3.00	<10	
	ガラニン GAL ₁	ヒト組換え HEK293 細胞	¹²⁵ I-galanin	0.03	<10	
	グルタミン酸 (AMPA)	ラット大脳皮質	³ H-AMPA	8.00	<10	
	グルタミン酸 (KA)	ラット大脳皮質	³ H-kainic acid	5.00	<10	
	グルタミン酸 (NMDA)	ラット大脳皮質	³ H-CGP 39653	5.00	<10	
	グルタミン酸 (PCP)	ラット大脳皮質	³ H-TCP	5.00	<10	
グリシン (ストリキニン感受性)	ラット脊髄	³ H-strychnine	2.00	<10		
グリシン (ストリキニン非感受性)	ラット大脳皮質	³ H-MDL 105,519	0.50	<10		

2.6.3.2B 作用機序 (続き)

被験物質：ラコサミド

試験の種類	試験系		リガンド		所見	試験番号 (記載箇所)
	受容体	由来	リガンド	濃度 (nmol/L)		
ラコサミドの 受容体結合試験					10 µmol/L における結 合阻害率 (%)	817003 (4.2.1.1.16)
	ヒスタミン H ₁ (中枢)	モルモット小脳	³ H-pyrilamine	0.50	<10	
	ヒスタミン H ₂	モルモット線条体	¹²⁵ I-APT	0.10	<10	
	ヒスタミン H ₃	ラット大脳皮質	³ H-(R)α-Me-histamine	0.50	<10	
	インターロイキン IL _{8B}	ヒト組換え CHO 細胞	¹²⁵ I-IL-8	0.20	<10	
	インスリン	ラット肝臓	¹²⁵ I-insulin	0.03	<10	
	メラトニン ML ₁	ニワトリ脳	¹²⁵ I-iodomelatonin	0.03	<10	
	ムスカリン性 M ₁	ヒト組換え CHO 細胞	³ H-pirenzepine	2.00	14	
	ムスカリン性 M ₂	ヒト組換え CHO 細胞	³ H-AF-DX 384	2.00	<10	
	ムスカリン性 M ₃	ヒト組換え CHO 細胞	³ H-4-DAMP	0.20	<10	
	ムスカリン性 M ₄	ヒト組換え CHO 細胞	³ H-4-DAMP	0.20	<10	
	ムスカリン性 M ₅	ヒト組換え CHO 細胞	³ H-4-DAMP	0.20	<10	
	ニューロキニン NK ₁	U-373MG 細胞	³ H-[Sayr ⁹ Met(O ₂) ¹¹]-SP	1.20	<10	
	ニューロキニン NK ₂	ヒト組換え CHO 細胞	¹²⁵ I-NKA	0.10	<10	
	ニューロキニン NK ₃	ヒト組換え CHO 細胞	¹²⁵ I-[MePhe ⁷]-NKB	0.05	<10	
	ニューロペプチド Y ₁	ヒト組換え Sf9 細胞	¹²⁵ I-peptide YY	0.05	<10	
	ニューロペプチド Y ₂	ヒト KAN-TS 細胞	¹²⁵ I-peptide YY	0.02	<10	
	ニューロテンシン NT ₁	ヒト組換え CHO 細胞	¹²⁵ I-Tyr ³ -neurotensin	0.02	<10	
	オピオイド δ	ヒト組換え CHO 細胞	³ H-DPDPE	0.50	<10	
	オピオイド κ	ヒト組換え HEK293 細胞	³ H-U 69593	0.50	<10	
	オピオイド μ	ヒト組換え CHO 細胞	³ H-DAMGO	0.50	<10	
オピオイド ORL ₁	ヒト組換え HEK293 細胞	³ H-nociceptin	0.20	<10		
下垂体アデニルシクラーゼ活 性化ペプチド	ラット大脳皮質	¹²⁵ I-PACAP ₁₋₂₇	0.02	<10		

2.6.3.2B 作用機序 (続き)

被験物質：ラコサミド

試験の種類	試験系		リガンド		所見	試験番号 (記載箇所)
	受容体	由来	リガンド	濃度 (nmol/L)		
ラコサミドの 受容体結合試験					10 µmol/L における結 合阻害率 (%)	817003 (4.2.1.1.16)
	血小板由来成長因子 PDGF	Balb/c 3T3 細胞	¹²⁵ I-PDGF BB	0.03	<10	
	K ⁺ チャネル K ⁺ _{ATP}	ラット大脳皮質	³ H-glibenclamide	0.10	<10	
	K ⁺ チャネル K ⁺ _v	ラット大脳皮質	¹²⁵ I-α-dendrotoxin	0.01	<10	
	K ⁺ チャネル SK ⁺ _{Ca}	ラット大脳皮質	¹²⁵ I-apamin	0.04	<10	
	プロスタグランジン PGH ₂	ヒト血小板	³ H-SQ 29548	5.00	<10	
	プロスタグランジン PGI ₂	ヒト血小板	³ H-iloprost	10.0	15	
	プリン作動性 P2X	ラット膀胱	³ H-α, β-MeATP	3.00	<10	
	プリン作動性 P2Y	ラット脳	³⁵ S-dATPαS	0.08	<10	
	セロトニン 5-HT	ラット大脳皮質	³ H-serotonin	2.00	<10	
	セロトニン 5-HT _{1A}	ヒト組換え CHO 細胞	³ H-8-OH-DPAT	0.30	14	
	セロトニン 5-HT _{1B}	ラット大脳皮質	¹²⁵ I-CYP	0.10	<10	
	セロトニン 5-HT _{2A}	ヒト組換え CHO 細胞	³ H-ketanserin	2.00	<10	
	セロトニン 5-HT _{2C}	ヒト組換え CHO 細胞	³ H-mesulergine	0.70	<10	
	セロトニン 5-HT ₃	ヒト組換え HEK293 細胞	³ H-BRL 43694	0.50	16	
	セロトニン 5-HT _{5A}	ヒト組換え HEK293 細胞	³ H-LSD	1.00	<10	
	セロトニン 5-HT ₆	ヒト組換え HEK293 細胞	³ H-LSD	2.00	<10	
	セロトニン 5-HT ₇	ヒト組換え CHO 細胞	³ H-LSD	4.00	17	
	シグマ σ	ラット大脳皮質	³ H-DTG	8.00	<10	
	シグマ σ ₁	モルモット大脳皮質	³ H-(+) pentazocine	2.00	<10	
シグマ σ ₂	ラット大脳皮質	³ H-DTG	5.00	<10		
Na ⁺ チャネル部位 2	ラット大脳皮質	³ H-batrachotoxin	10.0	25		
ソマトスタチン sst	AtT-20 細胞	¹²⁵ I-Tyr ¹¹ -somatostatin	0.05	<10		

2.6.3.2B 作用機序 (続き)

被験物質：ラコサミド

試験の種類	試験系		リガンド		所見	試験番号 (記載箇所)
	受容体	由来	リガンド	濃度 (nmol/L)		
ラコサミドの 受容体結合試験					10 μ mol/L における結 合阻害率 (%)	817003 (4.2.1.1.16)
	テストステロン	ラット前立腺	^3H -mibolerone	1.00	12	
	腫瘍壊死因子 TNF- α	U-937 細胞	^{125}I -TNF- α	0.10	<10	
	血管作動性腸管ペプチド VPAC $_1$	HT-29 細胞	^{125}I -VIP	0.02	20	
	バソプレッシン V $_{1A}$	ヒト組換え CHO 細胞	^3H -AVP	0.30	12	
ラコサミドの 受容体結合試験					10 μ mol/L における結 合阻害率 (%)	A2 (4.2.1.1.17)
	アデノシン	ウシ線条体	^3H -NECA	4.00	≤ 20	
	アドレナリン α_1	ラット前脳	^3H -prazosin	0.50	≤ 20	
	アドレナリン α_2	ラット大脳皮質	^3H -RX821002	1.00	≤ 20	
	アドレナリン β_1	ラット大脳皮質	^3H -DHA	2.00	≤ 20	
	ドパミン D $_1$	ラット線条体	^3H -SCH23390	0.50	≤ 20	
	ドパミン D $_2$	ラット線条体	^3H -sulpiride	3.00	≤ 20	
	GABA $_A$	ウシ大脳皮質	^3H -GABA	5.00	≤ 20	
	GABA $_B$	ラット大脳皮質	^3H -GABA/isoguavacine	5.00	≤ 20	
	セロトニン 5-HT $_1$	ラット大脳皮質	^3H -serotonin	3.00	≤ 20	
	セロトニン 5-HT $_2$	ラット大脳皮質	^3H -ketanserin	1.00	≤ 20	
	グルタミン酸 (NMDA)	ラット前脳	^3H -CGP 39653	1.00	≤ 20	
	グルタミン酸 (KA)	ラット前脳	^3H -kainic acid	10.00	≤ 20	
	グルタミン酸 (AMPA)	ラット前脳	^3H -AMPA	5.00	≤ 20	
	グリシン (ストリキニン感受性)	ラット脊髄	^3H -strychnine	16.00	≤ 20	
	ベンゾジアゼピン (中枢)	ウシ大脳皮質	^3H -flunitrazepam	1.00	≤ 20	
グリシン (ストリキニン非感受性)	ラット大脳皮質	^3H -glycine	10.00	≤ 20		

2.6.3.2B 作用機序 (続き)

被験物質：ラコサミド

試験の種類	試験系		リガンド		所見 10 µmol/L における結 合阻害率 (%)	試験番号 (記載箇所) A2 (4.2.1.1.17)
	受容体	由来	リガンド	濃度 (nmol/L)		
ラコサミドの 受容体結合試験	グルタミン酸 (PCP)	ラット前脳	³ H-TCP	10.00	≤20	
	グルタミン酸 (MK-801)	ラット前脳	³ H-MK-801	2.60	≤20	
	アンジオテンシン	ウシ脳皮質	¹²⁵ I-tyr ⁴ -Angiotensin II	0.10	≤20	
	バソプレッシン V ₁	ラット肝臓	³ H-phe ^{3,4,5} -VP V ₁ antagonist	0.50	≤20	
	コレシストキニン CCK A	マウス膵臓	¹²⁵ I-Cholecystokinin	0.02	≤20	
	コレシストキニン CCK B	マウス前脳	¹²⁵ I-cholecystokinin	0.02	≤20	
	ニューロキニン NK ₁	ラット顎下腺	³ H-Substance P	1.40	≤20	
	ニューロキニン NK ₂	ウシ十二指腸	¹²⁵ I-NKA	0.10	≤20	
	ニューロペプチド Y	ウシ海馬	¹²⁵ I-neuropeptide Y	0.025	≤20	
	ニューロテンシン	ラット前脳	³ H-neurotensin	2.00	≤20	
	ソマトスタチン sst	ラット前脳	¹²⁵ I-somatostatin	0.08	≤20	
	血管作動性腸管ペプチド	ラット前脳	¹²⁵ I-VIP	0.05	20.2	
	心房性ナトリウム利尿ペプチド	モルモット小脳	¹²⁵ I-ANP	0.05	≤20	
	上皮細胞増殖因子	ラット肝臓	¹²⁵ I-EGF	0.36	≤20	
	Ca ²⁺ チャネル (N type)	ラット大脳皮質	¹²⁵ I-Omega-conotoxin	0.01	≤20	
	Ca ²⁺ チャネル (T & L type)	ラット大脳皮質	³ H-nitrendipine	0.20	≤20	
	Cl ⁻ チャネル	ラット大脳皮質	³ H-TBOB	20.00	≤20	
	K ⁺ チャネル (SK)	ラット前脳	¹²⁵ I-apamin	0.05	≤20	
	フォルスコリン	ラット前脳	³ H-forskolin	10.00	≤20	
	ホルボールエステル	マウス脳	³ H-PDBU	4.00	32.7	
イノシトール三リン酸	ラット大脳皮質	³ H-IP ₃	4.00	≤20		

2.6.3.2B 作用機序（続き）

被験物質：ラコサミド

試験の種類	試験系		リガンド		所見	試験番号 (記載箇所)
ラコサミドによる機能的モノアミンの取込み試験	トランスポータ	由来	トレーサー	濃度 ($\mu\text{Ci/mL}$)	10 $\mu\text{mol/L}$ における 阻害率 (%)	817003 (4.2.1.1.16)
	ノルエピネフリントランスポータ	ラット視床下部シナプトソーム	$^3\text{H-NE}$	0.20	<10	
	ドパミントランスポータ	ラット線条体シナプトソーム	$^3\text{H-DA}$	0.20	<10	
	セロトニントランスポータ	ラット脳シナプトソーム	$^3\text{H-5-HT}$	0.20	17	
ラコサミドの受容体及び酵素との結合試験	受容体	由来	リガンド	濃度 (nmol/L)	10 $\mu\text{mol/L}$ における結 合阻害率 (%)	6065 (4.2.1.1.18)
	心房性ナトリウム利尿ペプチド	モルモット小脳	$^{125}\text{I-ANP}$	0.05	-8	
	血管作動性腸管ペプチド 1	ヒト組換え HT-29 (VPAC ₁) 細胞	$^{125}\text{I-VIP}$	0.02	2	
ラコサミドの受容体及び酵素との結合試験	受容体	由来	リガンド	濃度 (nmol/L)	30 $\mu\text{mol/L}$ における結 合阻害率 (%)	6065 (4.2.1.1.18)
	心房性ナトリウム利尿ペプチド	モルモット小脳	$^{125}\text{I-ANP}$	0.05	7	
	血管作動性腸管ペプチド 1	ヒト組換え HT-29 (VPAC ₁) 細胞	$^{125}\text{I-VIP}$	0.02	6	

2.6.3.2B 作用機序（続き）

被験物質：ラコサミド

試験の種類	試験系		リガンド		所見	試験番号 (記載箇所)
	受容体	由来	リガンド	濃度 (nmol/L)		
ラコサミドの受容体及び酵素との結合試験					100 µmol/Lにおける結合阻害率 (%)	6065 (4.2.1.1.18)
	心房性ナトリウム利尿ペプチド	モルモット小脳	¹²⁵ I-ANP	0.05	19	
	血管作動性腸管ペプチド 1	ヒト組換え HT29 (VPAC ₁) 細胞	¹²⁵ I-VIP	0.02	11	
	血管作動性腸管ペプチド 2	ヒト組換え SupT1 (VPAC ₁) 細胞	¹²⁵ I-VIP	0.05	1	
	GABA トランスポータ	ラット大脳皮質	³ H-GABA + isoguvacine (10 µmol/L) + baclofen (10 µmol/L)	10.00	-7	
	シクロオキシゲナーゼ 2	ヒト組換え Sf9 細胞	arachidonic acid	2000	15	
ラコサミドの酵素阻害試験					100 µmol/Lにおける阻害率 (%)	5498 (4.2.1.1.19)
	プロテインキナーゼ C	ラット脳	γ ³³ P-ATP + histone H1	200 µg/mL	<10	
	プロテインキナーゼ C-α	ヒト組換え Sf9 細胞	γ ³³ P-ATP + histone H1	200 µg/mL	<10	
	プロテインキナーゼ C-β1	ヒト組換え Sf9 細胞	γ ³³ P-ATP + histone H1	200 µg/mL	<10	
	プロテインキナーゼ C-β2	ヒト組換え Sf9 細胞	γ ³³ P-ATP + histone H1	200 µg/mL	<10	
	プロテインキナーゼ C-γ	ヒト組換え Sf9 細胞	γ ³³ P-ATP + histone H1	200 µg/mL	<10	
	プロテインキナーゼ C-δ	ヒト組換え Sf9 細胞	RFARKGLRQKNV	1 µmol/L	<10	

2.6.3.2B 作用機序 (続き)

被験物質：ラコサミド

試験の種類	試験系		リガンド		所見	試験番号 (記載箇所)
	受容体	由来	リガンド	濃度 (nmol/L)		
ラコサミドの受容体結合試験					100 µmol/Lにおける結合阻害率 (%)	10263 (4.2.1.1.20)
	ベンゾジアゼピン (中枢)	ラット大脳皮質	³ H-flunitrazepam	0.40	1	
	カンナビノイド CB ₁	ヒト組換え CHO 細胞	³ H-CP 55940	0.50	0	
	カンナビノイド CB ₂	ヒト組換え CHO 細胞	³ H-WIN 55212-2	0.80	1	
	ドパミン D ₁	ヒト組換え CHO 細胞	³ H-SCH23390	0.30	8	
	ドパミン D ₂	ヒト組換え HEK293 細胞	³ H-spiperone	0.30	23	
	グルタミン酸 (NMDA)	ラット大脳皮質	³ H-CGP 39653	5.00	0	
	グルタミン酸 (PCP)	ラット大脳皮質	³ H-TCP	5.00	15	
	ニコチン性 α4β2 (α-BGTX 非感受性)	ラット大脳皮質	³ H-cytisine	1.50	2	
	ニコチン性 α7 (α-BGTX 感受性)	ラット大脳皮質	¹²⁵ I-α-bungarotoxin	1.00	17	
	オピオイド δ2	ヒト組換え CHO 細胞	³ H-DADLE	0.50	2	
	オピオイド κ	モルモット小脳	³ H-U 69593	0.70	21	
	オピオイド μ	ヒト組換え HEK293 細胞	³ H-diprenorphine	0.40	-20	
オピオイド μ (アゴニスト部位)	ヒト組換え HEK293 細胞	³ H-DAMGO	0.50	19		

被験物質：ラコサミド

2.6.3.2B 作用機序（続き）

試験の種類	試験系		リガンド		所見	試験番号 (記載箇所)
	受容体	由来	リガンド	濃度 (nmol/L)		
ラコサミドの受容体結合試験					100 μmol/Lにおける 結合阻害率 (%)	10263 (4.2.1.1.20)
	セロトニン 5-HT _{1A}	ヒト組換え HEK293 細胞	³ H-8-OH-DPAT	0.50	8	
	セロトニン 5-HT _{2A} (アゴニスト部位)	ヒト組換え HEK293 細胞	¹²⁵ I-(±)DOI	0.20	4	
	セロトニン 5-HT _{2C} (アゴニスト部位)	ヒト組換え CHO 細胞	¹²⁵ I-(±)DOI	0.20	7	
	シグマ σ (非選択性)	ラット大脳皮質	³ H-DTG	8.00	6	
	ノルエピネフリントランス ポータ	ヒト組換え HEK293 細胞	³ H-nisoxetine	1.00	16	
	ドパミントランスポータ	ヒト組換え HEK293 細胞	³ H-BTCP	4.00	28	
セロトニントランスポータ	ヒト組換え HEK293 細胞	³ H-imipramine	2.00	-5		

2.6.3.2B 作用機序 (続き)

被験物質：ラコサミド

試験の種類	試験系		リガンド		所見	試験番号 (記載箇所)
	受容体	由来	リガンド	濃度 (nmol/L)		
代謝物 SPM 12809 の 受容体結合試験					100 μmol/L における 結合阻害率 (%)	10263 (4.2.1.1.20)
	ベンゾジアゼピン (中枢)	ラット大脳皮質	³ H-flunitrazepam	0.40	10	
	カンナビノイド CB ₁	ヒト組換え CHO 細胞	³ H-CP 55940	0.50	-6	
	カンナビノイド CB ₂	ヒト組換え CHO 細胞	³ H-WIN 55212-2	0.80	2	
	ドパミン D ₁	ヒト組換え CHO 細胞	³ H-SCH23390	0.30	11	
	ドパミン D ₂	ヒト組換え HEK293 細胞	³ H-spiperone	0.30	17	
	グルタミン酸 (NMDA)	ラット大脳皮質	³ H-CGP 39653	5.00	-1	
	グルタミン酸 (PCP)	ラット大脳皮質	³ H-TCP	5.00	0	
	ニコチン性 α4β2 (α-BGTX 非感受性)	ラット大脳皮質	³ H-cytisine	1.50	11	
	ニコチン性 α7 (α-BGTX 感受性)	ラット大脳皮質	¹²⁵ I-α-bungarotoxin	1.00	27	
	オピオイド δ2	ヒト組換え CHO 細胞	³ H-DADLE	0.50	7	
	オピオイド κ	モルモット小脳	³ H-U 69593	0.70	13	
オピオイド μ	ヒト組換え HEK293 細胞	³ H-diprenorphine	0.40	-21		
オピオイド μ (アゴニスト部位)	ヒト組換え HEK293 細胞	³ H-DAMGO	0.50	22		

被験物質：ラコサミド

2.6.3.2B 作用機序（続き）

試験の種類	試験系		リガンド		所見	試験番号 (記載箇所)
	受容体	由来	リガンド	濃度 (nmol/L)		
代謝物 SPM 12809 の 受容体結合試験					100 μmol/L における 結合阻害率 (%)	10263 (4.2.1.1.20)
	セロトニン 5-HT _{1A}	ヒト組換え HEK293 細胞	³ H-8-OH-DPAT	0.50	21	
	セロトニン 5-HT _{2A} (アゴニスト部位)	ヒト組換え HEK293 細胞	¹²⁵ I-(±)DOI	0.20	2	
	セロトニン 5-HT _{2C} (アゴニスト部位)	ヒト組換え CHO 細胞	¹²⁵ I-(±)DOI	0.20	10	
	シグマ σ (非選択性)	ラット大脳皮質	³ H-DTG	8.00	3	
	ノルエピネフリントランスポータ	ヒト組換え HEK293 細胞	³ H-nisoxetine	1.00	16	
	ドパミントランスポータ	ヒト組換え HEK293 細胞	³ H-BTCP	4.00	29	
セロトニントランスポータ	ヒト組換え HEK293 細胞	³ H-imipramine	2.00	-1		

被験物質：ラコサミド

2.6.3.2B 作用機序（続き）

試験の種類	試験系		リガンド		所見	試験番号 (記載箇所)
代謝物 SPM 12809 の受容体 結合試験	受容体	由来	リガンド	濃度 (nmol/L)	10 μmol/L における結 合阻害率 (%)	817004 (4.2.1.1.21)
	GABA _A	ラット大脳皮質	³ H-muscimol	5.00	<10	
	グルタミン酸 (AMPA)	ラット大脳皮質	³ H-AMPA	8.00	<10	
	グルタミン酸 (KA)	ラット大脳皮質	³ H-kainic acid	5.00	<10	
	グルタミン酸 (NMDA)	ラット大脳皮質	³ H-CGP 39653	5.00	<10	
	グリシン (ストリキニン感受性)	ラット脊髄	³ H-strychnine	2.00	<10	
	グリシン (ストリキニン非感受性)	ラット大脳皮質	³ H-MDL 105,519	0.50	<10	
代謝物 SPM 12812 の受容体 結合試験	受容体	由来	リガンド	濃度 (nmol/L)	10 μmol/L における結 合阻害率 (%)	817004 (4.2.1.1.21)
	GABA _A	ラット大脳皮質	³ H-muscimol	5.00	<10	
	グルタミン酸 (AMPA)	ラット大脳皮質	³ H-AMPA	8.00	<10	
	グルタミン酸 (KA)	ラット大脳皮質	³ H-kainic acid	5.00	<10	
	グルタミン酸 (NMDA)	ラット大脳皮質	³ H-CGP 39653	5.00	<10	
	グリシン (ストリキニン感受性)	ラット脊髄	³ H-strychnine	2.00	12	
	グリシン (ストリキニン非感受性)	ラット大脳皮質	³ H-MDL 105,519	0.50	<10	
代謝物 SPM 12813 の受容体 結合試験	受容体	由来	リガンド	濃度 (nmol/L)	10 μmol/L における結 合阻害率 (%)	817004 (4.2.1.1.21)
	GABA _A	ラット大脳皮質	³ H-muscimol	5.00	<10	
	グルタミン酸 (AMPA)	ラット大脳皮質	³ H-AMPA	8.00	<10	
	グルタミン酸 (KA)	ラット大脳皮質	³ H-kainic acid	5.00	<10	
	グルタミン酸 (NMDA)	ラット大脳皮質	³ H-CGP 39653	5.00	<10	
	グリシン (ストリキニン感受性)	ラット脊髄	³ H-strychnine	2.00	<10	
	グリシン (ストリキニン非感受性)	ラット大脳皮質	³ H-MDL 105,519	0.50	<10	

2.6.3.2B 作用機序（続き）

被験物質：ラコサミド

試験の種類	試験系		リガンド		所見	試験番号 (記載箇所)
代謝物 SPM 12814 の受容体 結合試験	受容体	由来	リガンド	濃度 (nmol/L)	10 μmol/L における結 合阻害率 (%)	817004 (4.2.1.1.21)
	GABA _A	ラット大脳皮質	³ H-muscimol	5.00	<10	
	グルタミン酸 (AMPA)	ラット大脳皮質	³ H-AMPA	8.00	<10	
	グルタミン酸 (KA)	ラット大脳皮質	³ H-kainic acid	5.00	<10	
	グルタミン酸 (NMDA)	ラット大脳皮質	³ H-CGP 39653	5.00	<10	
	グリシン (ストリキニン感受性)	ラット脊髄	³ H-strychnine	2.00	<10	
	グリシン (ストリキニン非感受性)	ラット大脳皮質	³ H-MDL 105,519	0.50	<10	
代謝物 SPM 12815 の受容体 結合試験	受容体	由来	リガンド	濃度 (nmol/L)	10 μmol/L における結 合阻害率 (%)	817004 (4.2.1.1.21)
	GABA _A	ラット大脳皮質	³ H-muscimol	5.00	<10	
	グルタミン酸 (AMPA)	ラット大脳皮質	³ H-AMPA	8.00	<10	
	グルタミン酸 (KA)	ラット大脳皮質	³ H-kainic acid	5.00	<10	
	グルタミン酸 (NMDA)	ラット大脳皮質	³ H-CGP 39653	5.00	<10	
	グリシン (ストリキニン感受性)	ラット脊髄	³ H-strychnine	2.00	<10	
	グリシン (ストリキニン非感受性)	ラット大脳皮質	³ H-MDL 105,519	0.50	<10	
代謝物 SPM 12816 の受容体 結合試験	受容体	由来	リガンド	濃度 (nmol/L)	10 μmol/L における結 合阻害率 (%)	817004 (4.2.1.1.21)
	GABA _A	ラット大脳皮質	³ H-muscimol	5.00	<10	
	グルタミン酸 (AMPA)	ラット大脳皮質	³ H-AMPA	8.00	<10	
	グルタミン酸 (KA)	ラット大脳皮質	³ H-kainic acid	5.00	<10	
	グルタミン酸 (NMDA)	ラット大脳皮質	³ H-CGP 39653	5.00	<10	
	グリシン (ストリキニン感受性)	ラット脊髄	³ H-strychnine	2.00	<10	
	グリシン (ストリキニン非感受性)	ラット大脳皮質	³ H-MDL 105,519	0.50	<10	

2.6.3.2B 作用機序（続き）

被験物質：ラコサミド

試験の種類	試験系		リガンド		所見	試験番号 (記載箇所)
	受容体	由来	リガンド	濃度 (nmol/L)		
代謝物 SPM 12817 の受容体 結合試験					10 µmol/L における結 合阻害率 (%)	817004 (4.2.1.1.21)
	GABA _A	ラット大脳皮質	³ H-muscimol	5.00	<10	
	グルタミン酸 (AMPA)	ラット大脳皮質	³ H-AMPA	8.00	<10	
	グルタミン酸 (KA)	ラット大脳皮質	³ H-kainic acid	5.00	<10	
	グルタミン酸 (NMDA)	ラット大脳皮質	³ H-CGP 39653	5.00	<10	
	グリシン (ストリキニン感受性)	ラット脊髄	³ H-strychnine	2.00	<10	
	グリシン (ストリキニン非感受性)	ラット大脳皮質	³ H-MDL 105,519	0.50	<10	
ラコサミドの酵 素阻害試験	酵素	由来	基質	濃度 (mmol/L)	10 µmol/L における 阻害率 (%)	8540 (4.2.1.1.22)
	GABA トランスアミナーゼ	ラット脳	GABA + α-ketoglutarate	9.00 9.00	0	
ラコサミドの酵 素阻害試験	酵素	由来	基質	濃度 (mmol/L)	30 µmol/L における 阻害率 (%)	8540 (4.2.1.1.22)
	GABA トランスアミナーゼ	ラット脳	GABA + α-ketoglutarate	9.00 9.00	-4	
ラコサミドの酵 素阻害試験	酵素	由来	基質	濃度 (mmol/L)	100 µmol/L における 阻害率 (%)	8540 (4.2.1.1.22)
	GABA トランスアミナーゼ	ラット脳	GABA + α-ketoglutarate	9.00 9.00	4	
ラコサミドの酵 素阻害試験	酵素	由来	基質	濃度 (mmol/L)	10 µmol/L における 阻害率 (%)	A6 (4.2.1.3.15)
	炭酸脱水酵素	ヒト赤血球	CO ₂ saturated H ₂ O	-	21	

2.6.3.2B 作用機序（続き）

被験物質：ラコサミド

試験の種類	試験系		リガンド		所見	試験番号 (記載箇所)
ラコサミドの受容体結合試験	受容体	由来	リガンド	濃度 (nmol/L)	IC ₅₀ (nmol/L)	Wasterlain 1 (4.2.1.1.23)
	グルタミン酸（グリシン、ストリキニン非感受性）	ラット前脳	³ H-5,7-DCKA	2.00	5200	
ラコサミドの受容体結合試験	受容体	由来	リガンド	濃度 (nmol/L)	10 μmol/L における結合阻害率 (%)	A3 (4.2.1.1.24)
	グルタミン酸（AMPA）	ラット大脳皮質	³ H-AMPA	5.00	11	
	グルタミン酸（KA）	ラット脳	³ H-kainic acid	5.00	7	
	グルタミン酸（NMDA）	ラット大脳皮質	³ H-CGS 19755	10.00	9	
	グルタミン酸（グリシン、ストリキニン非感受性）	ラット大脳皮質	³ H-glycine	10.00	1	
	グルタミン酸（PCP）	ラット大脳皮質	³ H-TCP	4.00	17	
	グルタミン酸（非選択性）	ラット脳	³ H-glutamate	1.60	28	
グルタミン酸（グリシン、ストリキニン感受性）	ラット脊髄	³ H-strychnine	2.00	20		

被験物質：ラコサミド

2.6.3.2B 作用機序（続き）

試験の種類	試験系	リガンド	所見	試験番号 (記載箇所)
機能的イオンチャネル修飾	CHO 細胞に発現させたヒト組換え KCNQ2/KCNQ3	該当せず	1 及び 10 $\mu\text{mol/L}$ において作用なし	G0011Sch291E (4.2.1.1.25)
機能的イオンチャネル修飾	ラット海馬神経細胞における N 及び L 型 Ca^{2+} 電流 ラット視床神経細胞における T 型 Ca^{2+} 電流 ラット小脳神経細胞における P 型 Ca^{2+} 電流 ラット海馬神経細胞における Na^{+} 電流	該当せず	ラコサミド 100 $\mu\text{mol/L}$ において全ての電流で 5% 未満の変化	Krishtal (4.2.1.1.26)
機能的イオンチャネル修飾	ラット海馬神経細胞における TTX 感受性 Na^{+} 電流 ラット三叉神経節における TTX 非感受性 Na^{+} 電流	該当せず	ラコサミド 100 $\mu\text{mol/L}$ において TTX 感受性 Na^{+} 電流に作用はなく、TTX 非感受性 Na^{+} 電流にわずかな作用 (-15%) がみられた。	106-02-01 (4.2.1.1.27)

被験物質：ラコサミド

2.6.3.2B 作用機序（続き）

試験の種類	試験系		リガンド		所見	試験番号 (記載箇所)
ラコサミドにおける放射性リガンド結合試験	脳膜標本 クローン化 CRMP-2	ラット ヒト	³ H-ラコサミド	3～600 nmol/L	本試験結果より、脳組織型、単離型又は膜結合型の CRMP-2 たん白質と ³ H-ラコサミドとの特異的結合はみられなかった。したがって、ラコサミドの作用機序に CRMP-2 が直接関連することを支持する結果は得られなかった。	CNS09026 (4.2.1.1.28)
表面プラズモン共鳴試験	クローン化 CRMP-2	ヒト	ラコサミド	0.39～100 μmol/L	本試験結果より、ラコサミド (0.5～100 μmol/L) はヒト CRMP-2 たん白質との特異的結合を示さなかった。	CNS09027 (4.2.1.1.29)
ラコサミドにおける放射性リガンド結合試験	クローン化 CRMP-2	ラット	³ H-ラコサミド	0.005～100 μmol/L	本試験結果より、 ³ H-ラコサミドは組換え CRMP-2 との特異的結合を示さないことが確認された。今回の結果によっても、ラコサミドの作用機序に CRMP-2 が関連することを支持する結果は得られなかった。	CNS09028 (4.2.1.1.30)

被験物質：ラコサミド

2.6.3.2B 作用機序（続き）

試験の種類	試験系	リガンド	所見	試験番号 (記載箇所)
受容体修飾に関する検討	ラコサミドの CRMP たん白質との相互作用及び NMDA 受容体修飾に関する検討	ラコサミド	ラコサミド (100 μmol/L) は細胞の生存に影響を及ぼさず、またマウスの海馬神経細胞における神経保護作用も示さなかった。NMDA 誘導による細胞死は、ラコサミド (100 μmol/L) の存在によりわずかに増加した。 この試験では、ラコサミドによる NR1 及び NR2B 受容体の細胞表面での発現レベルの修飾については、結論付けられなかった。	CNS10033 (4.2.1.1.31)
ラコサミドのフィッシュフック法による試験	ラット脳	親和性リガンド (R)-N-Benzyl-2-acetamido-6-[Ne-(biotinyl)-2-isothiocynato-6-aminohexanamido]-aminohexanamide((R)-7) (S)-N-Benzyl-2-acetamido-6-[Ne-(biotinyl)-2-isothiocynato-6-aminohexanamido]-aminohexanamide((S)-7) (R)-N-{3-[Ne-(biotinyl)-2-isothiocynato-6-aminohexanamide]-benzyl}-2-acetamido-3-methoxypropion-amide((R)-349) (R)-N-{4-[Ne-(biotinyl)-2-isothiocynato-6-aminohexanamide]-benzyl}-2-acetamido-3-methoxypropion-amide((R)-349)	主要な標的たん白質 CRMP-2 Dynein hc Clathrin hc N-ethylmaleimide 感受性因子	031209 (4.2.1.1.32)

被験物質：ラコサミド

2.6.3.2B 作用機序（続き）

試験の種類	試験系		リガンド		所見	試験番号 (記載箇所)
	標的	由来	リガンド	濃度 (μmol/L)		
ラコサミドの放射性リガンド結合試験	CRMP-2	ヒト組換え アフリカツメガエル 卵母細胞	¹⁴ C-ラコサミド	1~100	K _D (μmol/L) <5	041012 (4.2.1.1.33)
	CRMP-2	ラット脳	¹⁴ C-ラコサミド	1~100		
	機能的イオンチャネル修飾	ラット培養皮質神経細胞		該当せず		
機能的組織作用: 軸索成長におけるラコサミドの作用	NT3/BDNFを作用させたラット海馬初代培養細胞		該当せず		ラコサミド (1~200 μmol/L) は、NT3 (50, 100 ng/mL) 及びBDNF (200 ng/mL) による軸索成長を抑制した。	05/SP/03 (4.2.1.1.34)

2.6.3.3 副次的薬理試験

2.6.3.3A 神経保護作用に対するモデル

被験物質：ラコサミド

In vitro モデル

試験の種類	動物種	モデル	投与量	投与経路	所見	試験番号 (記載箇所)
ラコサミドの LTP に及ぼす 作用	マウス	海馬スライス標本 の CA1 領域	ラコサミド: 100 μmol/L, トピラマート: 100 μmol/L	<i>In vitro</i>	ラコサミド又はトピラマートを 100 μmol/L の濃度で灌流したとき、LTP パラメータに対する作用は認められなかった。	CNS08001 (4.2.1.2.1)
ラコサミドの 神経保護作用	ラット	海馬スライス標本 酸素グルコース欠 乏 (OGD)	1, 10, 100 μmol/L	<i>In vitro</i>	歯状回領域において用量依存性の抗アポトーシス作用がみられたが、OGD 後の壊死性細胞死に対する保護作用は認められなかった。	F9672 (4.2.1.2.2)
ラコサミドの 神経保護作用	ラット	海馬スライス標本 グルタミン酸曝露 モデル	1, 10, 100 μmol/L	<i>In vitro</i>	歯状回領域において用量依存性の抗アポトーシス作用がみられ、グルタミン酸曝露後の壊死性細胞死に対する保護作用も認められた。	F9672 (4.2.1.2.2)
ラコサミドの 神経保護作用	ラット	海馬スライス標本	1 μmol/L	<i>In vitro</i>	CA1 及び CA3 領域における抗アポトーシス作用及び壊死性細胞死に対する保護作用を示した。	F9672 (4.2.1.2.2)

2.6.3.3A 神経保護作用に対するモデル（続き）

被験物質：ラコサミド

In vivo モデル

試験の種類	動物種	モデル	投与量	投与経路	所見	試験番号 (記載箇所)
虚血	Wistar ラット、雄	永続的な中大脳動脈閉塞 (MCAO)	45 mg/kg (累積投与)	腹腔内 (MCAOの前)、その後、点滴静脈内持続	梗塞単体積の減少: 72.8%	MDS-MCAO (4.2.1.2.3)
虚血	Sprague-Dawley ラット、雄	一過性 MCAO	25 mg/kg (急速投与) 2.5 mg/kg/h (4 時間点滴)	急速静脈内及び点滴静脈内	梗塞単体積の減少は認められなかった。	A7 (4.2.1.2.4)
外傷性脳損傷	Sprague-Dawley ラット、雄	外傷性脳損傷	30 mg/kg	腹腔内	作用なし	DNRO 217.27.275.04 (4.2.1.2.5)
筋萎縮性側索硬化症	組換えマウス、雄	スーパーオキシドジスムターゼ 1 変異マウス	3, 10, 30 mg/kg	腹腔内	生存期間又は行動障害に有意な改善はなかったが、神経伝導障害の改善がみられた。	FI04017 (4.2.1.2.6)

被験物質：ラコサミド

2.6.3.3B 運動障害の動物モデル

試験の種類	動物種	モデル	投与量	投与経路	所見	試験番号 (記載箇所)
運動障害	CD1 マウス、 雄	レセルピン誘発遅 発性ジスキネジア	3, 10, 30 mg/kg	腹腔内	30 mg/kg 投与により、レセルピン誘発咀嚼様顎運動を抑制した。	AA19072 (4.2.1.2.7)
振戦	Sprague- Dawley ラッ ト、雄	ハルマリン誘発振 戦	3, 10, 30 mg/kg	腹腔内	10 及び 30 mg/kg で振戦発現までの時間の延長に用量依存性がみられ、3、10 及び 30 mg/kg で振戦の強さの減少、又は発現数の減少傾向がみられた。	AA20234 (4.2.1.2.8)
振戦	Sprague- Dawley ラッ ト、雄	ハルマリン誘発振 戦	0.3, 1, 3 mg/kg	腹腔内	3 mg/kg で振戦の強さの用量依存的で有意な減少がみられたが、その他には作用はみられなかった。	AA24877 (4.2.1.2.9)

被験物質：ラコサミド

2.6.3.3C 精神疾患の動物モデル

試験の種類	動物種	モデル	投与量	投与経路	所見	試験番号 (記載箇所)
驚愕反射	C57BL/6J マウス、雄	聴覚性驚愕反応におけるプレパルス抑制	3, 10, 30 mg/kg	腹腔内	ラコサミド (30 mg/kg) の併用によりクロザピン (3 mg/kg) の作用が増強されたが、プレパルス抑制に対する作用は示さなかった。クロザピン (3 mg/kg) 及びラモトリギン (27 mg/kg) はプレパルス抑制を増強した。	SCHW001 (4.2.1.2.10)
不安	129SVEV マウス、雄	不安モデル: ストレス誘発性体温上昇	3, 10, 30 mg/kg	腹腔内	ラコサミドの 3 及び 10 mg/kg でストレス誘発性体温上昇の抑制がみられた。プレガバリン及びラコサミドの 30 mg/kg では作用はみられなかった。	SCHW002 (4.2.1.2.11)
不安	Sprague-Dawley ラット、雄	高架式十字迷路	0.3, 1, 3, 10, 30 mg/kg	腹腔内	作用なし	507/511 (4.2.1.2.12)
不安	Sprague-Dawley ラット、雄	ソーシャル・インタラクション	0.3, 1, 3, 10, 30 mg/kg	腹腔内	作用なし	507/511 (4.2.1.2.12)
躁病	Sprague-Dawley ラット、雄	d-アンフェタミン／クロルジアゼポキシド誘導性躁病	1, 3, 10 mg/kg	腹腔内	作用なし	505 (4.2.1.2.13)
うつ病	Wistar ラット、雄	行動断念試験	3, 10, 30 mg/kg	腹腔内	ラコサミドは不動時間に影響を及ぼさなかったが、イミプラミン (32 mg/kg) では明らかな不動時間の短縮が認められた。	04.270/3 (4.2.1.2.14)

2.6.3.4 安全性薬理試験

被験物質：ラコサミド

評価対象となる組織	動物種/系統	投与方法	投与量 ^a	性別及び動物数/群	特記すべき所見	GLP適用	試験番号(記載箇所)
中枢神経系 (神経薬理学的プロファイル)	マウス	腹腔内	10 mg/kg	10M	行動に関する症状は観察されなかった。	不適	0200XH15.001 (4.2.1.3.1)
中枢神経系 (ロータロッド試験)	マウス及びラット	腹腔内	8, 16, 32 mg/kg	10M	マウス及びラット共に、ラコサミド 32 mg/kg の用量でロータロッド試験の運動協調機能に有意な減少がみられた。	不適	D00.271/2/A (4.2.1.3.2)
中枢神経系 (ロータロッド試験)	マウス及びラット	経口	32, 64, 128 mg/kg	10M	経口投与では、マウスで 64 及び 128 mg/kg、ラットで 128 mg/kg の用量でロータロッド試験の運動協調機能に有意な影響がみられた。	不適	D00.271/2/A (4.2.1.3.2)
中枢神経系 (Irwin の症状観察試験)	マウス	腹腔内	4, 8, 16, 32, 64 mg/kg	3M	4 mg/kg: 作用なし ≥8 mg/kg: よろめき歩行 ≥16 mg/kg: 軽度～中等度の鎮静、筋緊張の低下 ≥32 mg/kg: 振戦、けん引力低下、顕著な体温低下、挙尾、接触反応の減少、運動失調、運動不能 64 mg/kg: けいれん	不適	D00.271/2/A (4.2.1.3.2)
中枢神経系 (Irwin の症状観察試験)	ラット	腹腔内	4, 8, 16, 32, 64, 128 mg/kg	3M	4 mg/kg: 作用なし ≥8 mg/kg: 筋緊張の低下 ≥16 mg/kg: 軽度～顕著なよろめき歩行を伴う鎮静 ≥32 mg/kg: 呼吸数の減少、軽度～顕著な体温低下 ≥64 mg/kg: 振戦、運動失調、不安の低下、接触反応の減少、正向反射の消失、握力の低下、けん引力低下、挙尾、眼瞼下垂、眼球突出、軽度な散瞳	不適	D00.271/2/A (4.2.1.3.2)

a - 特に規定しない限り、単回投与を示す。

被験物質：ラコサミド

2.6.3.4 安全性薬理試験（続き）

評価対象となる組織	動物種／系統	投与方法	投与量 ^a	性別及び動物数／群	特記すべき所見	GLP適用	試験番号（記載箇所）
中枢神経系 （Irwin の症状観察試験）	ラット	経口	8, 16, 32, 64, 128, 256 mg/kg	3M	8 mg/kg: 作用なし ≥16 mg/kg: 常同行動を伴う軽度な興奮（くくん嗅ぐ動作及び頭部の動作）、筋緊張の低下 ≥64 mg/kg: 挙尾、軽度～顕著な鎮静、よろめき歩行 ≥128 mg/kg: 接触反応の減少、けん引力低下 256 mg/kg: 振戦、平衡感覚の消失、呼吸数の減少、不安の低下、握力の低下、痛覚消失及び体温低下	不適	D00.271/2/A (4.2.1.3.2)
中枢神経系 （Irwin の症状観察試験）	ラット	経口	3, 10, 25, 50, 75 mg/kg	8M	Irwin の症状観察試験における無影響量は 10 mg/kg であった。25 mg/kg 以上の用量では、用量依存性の、長期に持続する行動抑制作用がみられた。 50 及び 75 mg/kg では呼吸困難及び筋緊張の低下がみられた。	適	20000379P (4.2.1.3.3)
中枢神経系 （神経細胞の空胞化）	ラット	腹腔内	50 mg/kg	6F	ラコサミドの単回投与において、神経細胞の空胞化（6 時間後）又は神経細胞の壊死（48 時間後）は認められなかった。	不適	Olney (4.2.1.3.4)
中枢神経系 （神経細胞の空胞化）	ラット	腹腔内	10, 50 mg/kg	8M	ラコサミドの単回投与において、神経細胞の空胞化（4 時間後）又は神経細胞の壊死（72 時間後）は認められなかった。	適	6958-103 (4.2.1.3.5)
心血管系 （活動電位パ ラメータ）	プルキンエ線 維（ビーグル犬 心臓の左右心 室）	<i>In vitro</i> (36.5°C)	1.5x10 ⁻⁶ , 5x10 ⁻⁶ , 1.5x10 ⁻⁵ , 5x10 ⁻⁵ , 1.5x10 ⁻⁴ mol/L (累積投与)	6 標本／濃度	1 Hz の刺激頻度における APD ₉₀ は、ラコサミドの 15、50 及び 150 µmol/L でそれぞれ 5、15 及び 29% の有意な減少を示した。1 Hz の刺激頻度で、V _{max} は 50 及び 150 µmol/L でそれぞれ約 9 及び 30% 減少したが、ばらつきにより有意な変化ではなかった。	適	20000377P (4.2.1.3.6)

a -特に規定しない限り、単回投与を示す。

被験物質：ラコサミド

2.6.3.4 安全性薬理試験（続き）

評価対象となる組織	動物種／系統	投与方法	投与量 ^a	性別及び動物数／群	特記すべき所見	GLP適用	試験番号（記載箇所）
心血管系（活動電位パルメータ）	イヌ心室筋細胞	<i>In vitro</i> (38°C)	2.5x10 ⁻⁶ , 1x10 ⁻⁵ mol/L	2 (2.5x10 ⁻⁶ mol/L)又は4 (1x10 ⁻⁵ mol/L) 試験／濃度	1x10 ⁻⁵ mol/L で活動電位持続時間のわずかな短縮が認められた。	不適	A8 (4.2.1.3.7)
心血管系（活動電位パルメータ）	モルモット心室筋細胞	<i>In vitro</i>	10, 50, 250 x10 ⁻⁶ mol/L	4～7 細胞	ラコサミド 50 及び 250 µmol/L において、APD ₅₀ 及び APD ₉₀ のわずかな短縮がみられた。	不適	9496 (4.2.1.3.8)
心血管系（SCN5A Na ⁺ チャンネル）	HEK293細胞に安定的に発現させたヒトSCN5A チャンネル	<i>In vitro</i> (22-25°C)	1x10 ⁻⁵ , 1x10 ⁻⁴ , 2x10 ⁻⁴ , 5x10 ⁻⁴ , 1x10 ⁻³ mol/L	2～7 試験／濃度	ラコサミドは濃度依存的な Na ⁺ 電流の阻害 (IC ₅₀ : 293 µmol/L) を示した。500 及び 1000 µmol/L における最大阻害率は約 70% で横ばい状態となった。使用依存性は 200 µmol/L で試験され、0.3 Hz の刺激では 1.5%、3 Hz では 26%、阻害作用が増加した。	不適	011119.TDA (4.2.1.3.9)
心血管系（SCN5A Na ⁺ チャンネル）	CHO 細胞に一過性に発現させたヒトSCN5A チャンネル	<i>In vitro</i> (21-23°C)	1x10 ⁻⁵ , 5x10 ⁻⁵ , 1x10 ⁻⁴ , 5x10 ⁻⁴ , 5x10 ⁻³ mol/L	3～4 細胞／濃度	10 µmol/L 以上の濃度で、Na ⁺ 電流の濃度依存的な阻害がみられた。5000 µmol/L において、Na ⁺ 電流の阻害は最大となり、阻害率は 67% であった。	不適	E-01-014-001 (4.2.1.3.10)

a -特に規定しない限り、単回投与を示す。

被験物質：ラコサミド

2.6.3.4 安全性薬理試験（続き）

評価対象となる組織	動物種／系統	投与方法	投与量 ^a	性別及び動物数／群	特記すべき所見	GLP適用	試験番号（記載箇所）
心血管系 (Na ⁺ 及びCa ²⁺ チャンネル)	ヒト心房筋細胞	<i>In vitro</i> (23°C)	1x10 ⁻⁷ , 3x10 ⁻⁷ , 1x10 ⁻⁶ , 3x10 ⁻⁶ , 1x10 ⁻⁵ , 1x10 ⁻⁴ , 5x10 ⁻³ mol/L	3~6 細胞／濃度	過分極の保持電位 (-140 mV) における Ca ²⁺ 及び Na ⁺ 電流の抑制は 10%未満であった。より脱分極させた保持電位 (-70 mV) においては、Na ⁺ 電流はラコサミドにより阻害され、IC ₅₀ は約 68 µmol/L であった。ラコサミドの 50 µmol/L では約 42%の阻害が、5000 µmol/L では完全な阻害がみられた。	不適	SB01D01 (4.2.1.3.11)
心血管系 (Ca ²⁺ チャンネル)	モルモット 心室筋細胞	<i>In vitro</i> (35°C)	1.5x10 ⁻⁵ , 5x10 ⁻⁵ , 1.5x10 ⁻⁴ 5x10 ⁻⁴ mol/L	5 細胞／濃度	ラコサミドは 15~500 µmol/L の範囲で、L型 Ca ²⁺ 電流に影響を及ぼさなかった。	適	LPT 15066/01 (4.2.1.3.12)
心血管系 (hERG K ⁺ チャンネル)	HEK293細胞に 発現させた hERG チャンネル	<i>In vitro</i> (22-25°C)	1x10 ⁻⁵ , 1x10 ⁻⁴ 3x10 ⁻⁴ , 3x10 ⁻³ mol/L	3 細胞／濃度	ラコサミド 3000 µmol/L において、hERG 電流に対し 7%の弱い阻害が認められた。	適	020316.TDA (4.2.1.3.13)
心血管系 (SCN5A Na ⁺ チャンネル)	CHO-K1 細胞 に一過性に発 現させたヒト SCN5A チャン ネル	<i>In vitro</i>	5x10 ⁻⁶ , 1x10 ⁻⁵ , 5x10 ⁻⁵ , 1x10 ⁻⁴ , 5x10 ⁻⁴ mol/L	4~5 細胞／濃度	ラコサミドの脱メチル体である SPM 12809 は、保持電位 -100 mV において、500 µmol/L までの濃度では SCN5A ピーク電流及びチャンネルの電荷移動に対し、有意な阻害を示さなかった。保持電位を -80 mV にしたとき、SPM 12809 (100 µmol/L) の Na ⁺ 電流の阻害は、溶媒対照群に対し 28.6%であった。	適	E-006-05-04 (4.2.1.3.14)
心血管系	高血圧自然発 症ラット	経口	100 mg/kg	2M	試験に用いた投与量では、血圧 (BP) 及び心拍数 (HR) に対する作用は認められなかった。	不適	A6 (4.2.1.3.15)

a - 特に規定しない限り、単回投与を示す。

被験物質：ラコサミド

2.6.3.4 安全性薬理試験（続き）

評価対象となる組織	動物種／系統	投与方法	投与量 ^a	性別及び動物数／群	特記すべき所見	GLP適用	試験番号（記載箇所）
心血管系（BP、心機能及び ECG）	ビーグル犬（メトヘキシターナルナトリウムで導入麻酔後、イソフルランで維持）	静脈内	2.5, 5, 10, 15 mg/kg （累積投与; 25分間隔で各投与量を10分間で投与）	1M	5～15 mg/kg において、BP、左心室圧（LVP）及び左心室内圧上昇速度（dP/dt）の用量依存的な一過性の減少がみられた。 平均動脈圧（MAP）の減少: 5 mg/kg: -10%、10 mg/kg: -15%、15 mg/kg: -27% LVP の減少: 2.5 mg/kg: -4%、5 mg/kg: -10%、10 mg/kg: -11%、15 mg/kg: -21% dP/dt の低下: 5 mg/kg: -21%、10 mg/kg: -29%、15 mg/kg: -38% HR、心拍出量（CO）及び左心室拡張終期圧（LVEDP）には投与に関連した変化は認められなかった。 いずれの用量においても ECG パラメータに変化は認められなかった。	不適	0247DH15.001 (4.2.1.3.16)
心血管系（BP、心機能及び ECG）	ビーグル犬（メトヘキシターナルナトリウムで導入麻酔後、イソフルランで維持）	静脈内	2.5, 5, 10, 15 mg/kg （累積投与; 25分間隔で各投与量を10分間で投与）	1M, 1F	ラコサミドの 2.5 mg/kg 以上（雌）、10 mg/kg 以上（雄）で BP 低下及び心抑制作用（LVP 及び CO の減少）がみられた。 15 mg/kg で心房内伝導度の低下を示唆する ECG の変化（P 波の平低化、AV ブロック、その後 AV 解離）が認められた。雌はその後、死亡した。	不適	0247DH15.002 (4.2.1.3.17)

a - 特に規定しない限り、単回投与を示す。

被験物質：ラコサミド

2.6.3.4 安全性薬理試験（続き）

評価対象となる組織	動物種／系統	投与方法	投与量 ^a	性別及び動物数／群	特記すべき所見	GLP適用	試験番号（記載箇所）
心血管系（BP、心機能及びECG）	ビーグル犬（メトヘキシターナルナトリウムで導入麻酔後、イソフルランで維持）	静脈内	15 mg/kg (3回連続投与)	1M	ラコサミドは用量依存的に、MAPを減少させた。 ラコサミドの15 mg/kgを2回投与以降、緩徐な心房内伝導度の低下及び異なる程度のAVブロックがみられた。	不適	0247DH15.003 (4.2.1.3.18)

a - 特に規定しない限り、単回投与を示す。

被験物質：ラコサミド

2.6.3.4 安全性薬理試験（続き）

評価対象となる組織	動物種／系統	投与方法	投与量 ^a	性別及び動物数／群	特記すべき所見	GLP適用	試験番号（記載箇所）
心血管系（BP、心機能及びECG）	ビーグル犬（チオペンタール及びハロタンで導入麻酔後、ハロタンで維持）	静脈内	2, 4, 8, 12 mg/kg（30分間隔で累積投与）	5M, 5F	ラコサミドの2 mg/kg 以上（雌）又は4 mg/kg 以上（雄）で持続時間の短い（2～3分のピーク）心抑制作用がみられた。用量依存的で持続時間の短い（2～3分）のBP低下作用がみられた（12 mg/kg でMAPは13%低下）。また、持続時間の短いHRの増加がみられた。LVP、dP/dt、CO及び1回拍出量の低下がみられた。末梢抵抗には変化が認められなかった。4 mg/kg 以上でBP低下による腎血流量の低下がみられた。ラコサミドは用量依存的にPR間隔及びQRS幅を延長させた。これらの変化は、それぞれ房室伝導及び心室伝導の緩除化を示唆している。ECGの主な異常として、8 mg/kg の雌1例で接合部調律及び接合部性期外収縮が、12 mg/kg の雄1例でP波の消失がみられた。	適	20000376P (4.2.1.3.19)

a - 特に規定しない限り、単回投与を示す。

被験物質：ラコサミド

2.6.3.4 安全性薬理試験（続き）

評価対象となる組織	動物種／系統	投与方法	投与量 ^a	性別及び動物数／群	特記すべき所見	GLP適用	試験番号（記載箇所）
心血管系 （BP、心機能及びECG）	カニクイザル（ケタミンとアセプロマジンで導入麻酔後、ペントバルビタール又はイソフルランで維持）	静脈内	サル No. 1: 1, 5, 10, 15 mg/kg（累積投与、最高用量は3回投与） サル No. 2: 30 mg/kg（4回連続投与） サル No. 3: 30 mg/kg（3回連続投与）	3M	サルを用いてラコサミドの作用を検討した。 30 mg/kg 以上の用量で、3 例中 2 例の動物で MAP が用量依存的に低下した。 ラコサミドの 30 mg/kg を 1 又は 2 回投与したとき、P 波の平低化／消失、QRS 幅の延長及び AV ブロックがみられた。 【詳細】 BP 及び HR No. 1: 61 mg/kg の累積投与によっても変化なし No. 2: 30 mg/kg 1 回目投与時: 変化なし、2 回目投与時: MAP の低下、HR に変化なし No. 3: 1 回目投与時: HR -24%、2 回目投与時: HR -27%、3 回目投与時: HR -30% No. 2 及び No. 3 の平均: 1 回目投与時: MAP-16%、2 回目投与時: MAP -45%、3 回目投与時: MAP -50% ECG No. 1: どの用量においても投与による異常なし No. 2: 1 回目投与時: 変化なし、2 回目、3 回目投与時: QRS 幅の延長及び振幅の低下、4 回目投与時: AV ブロック及び更なる QRS 幅の延長 No. 3: 1 回目投与時: ECG 変化、QRS 幅の延長、ST 部分の波形変化、P 波振幅の低下、P 波の消失 2 回目投与時: 1 回目投与時に加え、AV ブロック、P 波持続時間延長、3 回目投与時: 2 回目投与時に加え、心室内ブロック	不適	0247XH15.004 (4.2.1.3.20)

a - 特に規定しない限り、単回投与を示す。

被験物質：ラコサミド

2.6.3.4 安全性薬理試験（続き）

評価対象となる組織	動物種／系統	投与方法	投与量 ^a	性別及び動物数／群	特記すべき所見	GLP適用	試験番号（記載箇所）
心血管系及び自律神経系（自律神経系作動薬投与後のBP及びECG）	ビーグル犬（メトヘキシターナルナトリウムで導入麻酔後、イソフルランで維持）	静脈内（1分間急速投与）	2.5, 5, 10, 15 mg/kg（累積投与）	1M	ラコサミドはアセチルコリンに対しては5 mg/kg以上で、イソプロテレノールに対しては15 mg/kgで、それぞれのBP低下作用を抑制した。 ECGにおいては、どの用量においても変化はなかった。	不適	0234DH15.001 (4.2.1.3.21)
心血管系及び自律神経系（自律神経系作動薬投与後のBP及びECG）	ビーグル犬（メトヘキシターナルナトリウムで導入麻酔後、イソフルランで維持）	静脈内（10分間点滴投与）	1.25, 2.5, 5, 10 mg/kg（累積投与）	1M, 1F	ラコサミドは10 mg/kgで、イソプロテレノールのMAP上昇に対する抑制作用を示した。 どの用量においてもエピネフリン、ノルエピネフリン、アセチルコリン及びヒスタミンによる心血管反応に対する、ラコサミドの作用はみられなかった。 10 mg/kg投与において、雄1例でAVブロックがみられた。	不適	0234DH15.002 (4.2.1.3.22)
呼吸器系	ラット	経口	25, 50, 75 mg/kg	8M	呼吸パラメータ（呼吸速度、1回換気量、ピーク吸気及び呼気流量、吸気及び呼気時間、気道抵抗）に有意な変化はみられなかった。	適	20000378P (4.2.1.3.23)

a - 特に規定しない限り、単回投与を示す。

被験物質：ラコサミド

2.6.3.4 安全性薬理試験（続き）

評価対象となる組織	動物種／系統	投与方法	投与量 ^a	性別及び動物数／群	特記すべき所見	GLP適用	試験番号（記載箇所）
腎臓	ラット	経口	30 mg/kg	3（M 又は F）	生理食塩液負荷 Long Evans ラットにラコサミドを投与した後、6 時間以内では尿量、ナトリウム又はカリウムの排泄量に影響を示さなかった。	不適	A6 (4.2.1.3.15)
消化器系（神経伝達物質との相互作用）	モルモット 摘出回腸	<i>In vitro</i> (37°C)	5x10 ⁻⁶ , 1.5x10 ⁻⁵ , 5x10 ⁻⁵ , 1.5x10 ⁻⁴ mol/L	6 標本／濃度	神経伝達物質のアセチルコリン、ヒスタミン又はセロトニン若しくは塩化バリウムとの相互作用は認められなかった。	適	20000381P (4.2.1.3.24)
消化器系（消化管輸送距離）	ラット	経口	1, 3, 10, 25, 50, 75 mg/kg	8M	1 mg/kg 以上で消化管運動の減少が用量依存的にみられ、25 mg/kg 以上でプラトーとなり、消化管輸送距離が約 28%減少した。	適	20000380P (4.2.1.3.25)

a -特に規定しない限り、単回投与を示す。

2.6.3.5 薬力的薬物相互作用試験

被験物質：ラコサミド

評価対象となる組織	動物種／系統	投与方法	投与量 ^a	性別及び動物数／群	特記すべき所見	GLP適用	試験番号(記載箇所)
電気ショック発作(6Hz)、ロータロッド試験	CBA マウス	腹腔内	ラコサミド: 3.4, 10.1, 30.3 mg/kg 各抗てんかん薬について求めたED ₅₀ 値に基づき、抗てんかん薬の混合物の理論的ED ₅₀ 値を3種の配合比について算出した(1:3、1:1及び3:1)。	10M	ラコサミドとの相互作用; カルバマゼピン、ラモトリギン、トピラマート又はレベチラセタム: 相乗作用 バルプロ酸及びフェニトイン: 相加作用又は相乗作用の傾向 ガバペンチン: 相加作用又は相乗作用 しかし、上記の相互作用は、ロータロッド試験における運動協調性の障害とは関連しなかった。	不適	9928 (4.2.1.4.1)
自発性てんかん重積(SSSE)	Sprague-Dawley ラット、雄 コバルト／ホモシステインモデル	腹腔内	ラコサミド:10, 20, 40, 80, 100 mg/kg ラコサミド:0, 2.5, 5, 10, 20 mg/kg ジアゼパム: 0.75 mg/kg		単剤におけるSSSE阻害のED ₅₀ : 45.4 mg/kg ジアゼパム併用時のラコサミドの作用増強 ED ₅₀ : 3.85 mg/kg (91.5%減少)	不適	A1 (4.2.1.1.9)

a -特に規定しない限り、単回投与を示す。