
2.6.1 緒言

ブリリント[®]錠 60 mg/90 mg

本資料に記載された情報に係る権利はアストラゼネカ株式会社に帰属します。弊社の事前の承諾なく本資料の内容を他に開示することは禁じられています。

2.6.1 緒言

一般名/効能効果案：チカグレロル/急性冠症候群、陳旧性心筋梗塞

目次		頁
	目次	2
2.6.1.1	緒言	3

図目次

図 1	チカグレロルの化学構造式	3
-----	--------------------	---

2.6.1 緒言

一般名/効能効果案：チカグレロル/急性冠症候群、陳旧性心筋梗塞

2.6.1.1 緒言

チカグレロルは強力、選択的、直接的、可逆的かつ経口投与可能な P2Y₁₂ 受容体拮抗薬であり、アデノシンニリン酸 (ADP) 誘発血小板凝集に対して濃度 (用量) 依存的な阻害作用を示す。

チカグレロルは、欧州、米国のほか多くの国で急性冠症候群患者又は心筋梗塞の既往歴を有する患者における血栓性イベントの抑制の適応症において承認を取得している。

チカグレロルの化学名は(1S,2S,3R,5S)-3-[7-[(1R,2S)-2-(3,4-Difluorophenyl)cyclopropyl]amino}-5-(propylthio)-3H-[1,2,3]triazolo[4,5-d]pyrimidin-3-yl]-5-(2-hydroxyethoxy)cyclopentane-1,2-diol で、分子量は 522.57 である。チカグレロルの化学構造式を図 1 に示す。

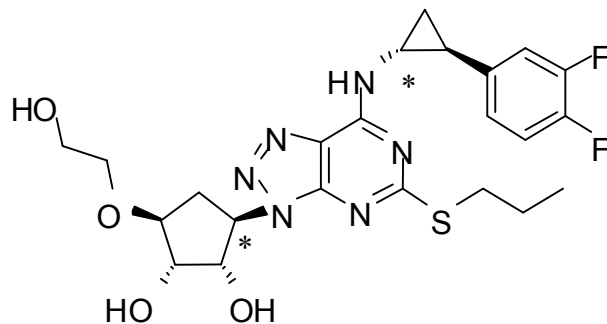


図 1 チカグレロルの化学構造式

今回申請するチカグレロルの効能・効果及び用法・用量を以下に示した。

効能・効果 (案) :

ブリリント錠 90 mg : 経皮的冠動脈形成術 (PCI) が適用される急性冠症候群 (不安定狭心症、非 ST 上昇心筋梗塞、ST 上昇心筋梗塞) (ただし、アスピリンを含む抗血小板剤 2 剤併用療法が適切である場合で、かつ、アスピリンと併用する他の抗血小板剤の投与が困難な場合に限る)

ブリリント錠 60 mg : 以下のリスク因子を 1 つ以上有する陳旧性心筋梗塞のうち、アテローム血栓症の発現リスクが特に高い場合

65 歳以上、薬物療法を必要とする糖尿病、2 回以上の心筋梗塞の既往、血管造影で確認された多枝病変を有する冠動脈疾患、又は末期でない慢性の腎機能障害

用法・用量 (案) :

急性冠症候群 (不安定狭心症、非 ST 上昇心筋梗塞、ST 上昇心筋梗塞)

通常、成人には、チカグレロルとして初回用量を 180 mg、2 回目以降の維持用量を 90 mg とし、1 日 2 回経口投与する。

陳旧性心筋梗塞

通常、成人には、チカグレロルとして 1 回 60 mg を 1 日 2 回経口投与する。

2.6.2 薬理試験の概要文

ブリリント[®]錠 60 mg/90 mg

本資料に記載された情報に係る権利はアストラゼネカ株式会社に帰属します。弊社の事前の承諾なく本資料の内容を他に開示することは禁じられています。

目次	頁
目次	2
略語及び専門用語一覧表	6
2.6.2.1 まとめ	7
2.6.2.2 効力を裏付ける試験	7
2.6.2.2.1 <i>In vitro</i> 試験	7
2.6.2.2.1.1 P2Y ₁₂ 受容体に対する親和性 (試験 SC-103266)	7
2.6.2.2.1.2 <i>In vitro</i> における血小板凝集に対する作用 (試験 SC-103263, SC-103262, SC-103264, SC-103283, SC-105780 及び SC-103265)	8
2.6.2.2.1.3 P2Y ₁₂ 受容体に対する作用様式の検討 (試験 2783-01)	9
2.6.2.2.1.4 拮抗薬及び作動薬と結合した受容体の構造	11
2.6.2.2.1.5 P2Y ₁₂ 受容体に対する結合の可逆性 (試験 SC-103286)	11
2.6.2.2.1.6 チカグレロルの P2Y ₁₂ 受容体結合解離試験 (試験 2819-01)	12
2.6.2.2.1.7 新生児ラットの全血における血小板凝集阻害作用 (試験 AZMR10213)	13
2.6.2.2.1.8 0~12 歳の小児から採取した多血小板血漿及び血液を用いた血小板阻害効力の評価 (試験 BS000096-01 [参考資料])	14
2.6.2.2.1.9 非処置血小板の添加時の ADP 誘発血小板凝集に対するチカグレロルの阻害作用の可逆性 (試験 AZMR10395 [参考資料])	14
2.6.2.2.1.10 血小板以外の P2Y ₁₂ 受容体を介する作用	15
2.6.2.2.1.11 代謝物の作用	15
2.6.2.2.1.11.1 循環血中主要代謝物 AR-C124910XX の作用 (試験 SC-105783 及び SC-105784)	15
2.6.2.2.1.11.2 尿中主要代謝物 AR-C133913XX の作用 (試験 AZMR10095 及び AZMR10112)	16
2.6.2.2.2 <i>In vivo</i> 試験	17
2.6.2.2.2.1 覚醒イヌにおける ADP 誘発血小板凝集阻害作用 (<i>Ex vivo</i>) (試験 SC-103315)	17
2.6.2.2.2.2 麻酔イヌにおける大腿動脈周期的血栓形成の阻害作用 (試験 SC-103289 及び 2629-01)	18
2.6.2.2.2.3 血栓形成及び新内膜形成のマウスモデルにおける作用	20
2.6.2.2.2.4 ラットで新たに生成された血小板の血栓形成に及ぼす影響におけるチカグレロルとクロピドグレルの差異	20
2.6.2.3 副次的薬理試験	21
2.6.2.3.1 他の P2 受容体サブタイプに対する選択性 (試験 SC-103277, SC-103278, SC-103285, SC-103282, SC-103276, SC-103259, 0445SY 及び試験 AZMR10392 [参考資料])	21

2.6.2 薬理試験の概要文

一般名/効能効果案：チカグレロル/急性冠症候群、陳旧性心筋梗塞

2.6.2.3.2	アデノシン受容体及びアデノシントランスポーターに対する選択性 (試験 0355SY, 1064SY, 1805KV, SC-103269, 1878KV, 1929KV, 2549KV, 1421KV 及び 0932MV)	22
2.6.2.3.2.1	ヒト全血の血小板凝集に対するアデノシン取り込み阻害作用の影響 (試験 AZMR10120)	23
2.6.2.3.3	種々の受容体及び酵素試験における選択性 (試験 SC-103284, SC- 103261, SC-103279, AZM080825-01 (3302-01), 103281, 1044427, 1068010, 0951SY, 0952SY, 1055SY 及び 1064SY)	24
2.6.2.3.4	他の <i>in vitro</i> 及び <i>in vivo</i> における薬理作用	25
2.6.2.3.4.1	赤血球からの ATP 遊離に対する作用	25
2.6.2.3.4.2	<i>In vitro</i> における GPR17 に対する選択性 (試験 AZM090128-04)	25
2.6.2.3.4.3	中大脳動脈閉塞による脳虚血の <i>in vivo</i> モデル (試験 AZMR10259)	25
2.6.2.3.4.4	<i>In vivo</i> における局所虚血後の冠血流量に対する作用 (試験 26709 (3428-01))	26
2.6.2.3.4.5	<i>In vivo</i> イヌ心筋梗塞モデルにおけるチカグレロルの作用	27
2.6.2.3.4.6	P2Y ₁₂ 受容体ノックアウトマウスの出血時間に対するチカグレロルの 作用 (試験 AZMR10231)	28
2.6.2.3.4.7	ラット腹部大動脈瘤モデルにおけるチカグレロルの作用	29
2.6.2.3.4.8	マウス腹部敗血症モデルにおける好中球動員及び肺傷害に対するチカ グレロルの作用 (試験 BS000389-39 [参考資料])	30
2.6.2.3.4.9	動脈硬化及び癌の動物モデルにおける作用	30
2.6.2.4	安全性薬理試験	31
2.6.2.4.1	中枢神経系に対する作用	31
2.6.2.4.1.1	神経行動学的観察及び自発運動に対する作用 (試験 2223 (SR99339- 01))	31
2.6.2.4.1.2	運動協調性に対する作用 (試験 99338 (SR99338-01))	31
2.6.2.4.1.3	鎮痛作用の評価 (試験 2225 (SR99335-01))	32
2.6.2.4.1.4	学習及び記憶に対する作用 (試験 2227 (SR99333-01))	32
2.6.2.4.1.5	麻酔作用の評価 (試験 2228 (SR99332-01))	32
2.6.2.4.1.6	痙攣に対する作用 (試験 2224 (SR99336-01))	32
2.6.2.4.2	心血管系に対する作用	33
2.6.2.4.2.1	麻酔ビーグル犬の血行動態に対する作用 (試験 990630 P (99341))	33
2.6.2.4.2.2	イヌ単離ブルキンエ線維の活動電位に対する作用 (試験 20010128 PECM (00210))	33
2.6.2.4.2.3	hERG チャネルに対する作用 (試験 0143SZ)	33
2.6.2.4.2.4	麻酔ウサギ 1 羽を用いたチカグレロルのナノサスペンション製剤化検 討における心血管系への影響 (試験 AZMR10298 [参考資料])	33
2.6.2.4.3	呼吸器系に対する作用	34
2.6.2.4.3.1	ラット呼吸機能に対する作用 (試験 990632P (SR99346-01), 20060077PCR (1266SR))	34
2.6.2.4.3.2	ラット呼吸機能に対する作用：高用量チカグレロルの影響 (試験 1116SR)	34
2.6.2.4.3.3	ラット呼吸機能に対する作用：アデノシン受容体拮抗薬の影響 (試験 20040510SPC (0789SR))	35

2.6.2.4.3.4	ラット呼吸機能に対する作用：アデノシンの影響（試験 1207SR, 1267SR）	35
2.6.2.4.3.5	麻酔ラットの呼吸機能に対する作用（試験 1864SR, 1764SR）	36
2.6.2.4.3.6	新生児ラットの呼吸機能に対する作用（試験 3233SR）	36
2.6.2.4.4	消化管系に対する作用	37
2.6.2.4.4.1	腸管輸送に対する作用（試験 990631P (SR99345-01)）	37
2.6.2.4.5	生理食塩液負荷ラットの腎機能に対する作用（試験 99331 (SR99331-01)）	37
2.6.2.5	薬力学的薬物相互作用試験	37
2.6.2.5.1	アスピリンとの相互作用	37
2.6.2.5.1.1	P2Y ₁₂ 受容体シグナル伝達に対するアスピリンの作用（試験 AZMR10072）	37
2.6.2.5.1.2	高用量アスピリンとチカグレロルの併用投与（試験 AZMR10239）	38
2.6.2.5.1.3	アスピリン前投与動物におけるチカグレロルの作用（試験 SC-103288）	39
2.6.2.5.2	チカグレロルとデスモプレシン又は線溶阻害薬との併用投与（試験 2687-01）	40
2.6.2.5.3	チカグレロルの出血時間延長作用に対するノボセブン [®] （遺伝子組換え活性型血液凝固因子製剤）の作用（試験 AZMR10333）	41
2.6.2.5.4	クロピドグレルとの潜在的相互作用	41
2.6.2.5.5	リバーロキサバンとの潜在的相互作用	41
2.6.2.6	考察及び結論	42
2.6.2.7	参考文献	44

表目次

表 1	種々の <i>in vitro</i> 試験系におけるチカグレロルの血小板凝集阻害作用の IC ₅₀ 値	9
表 2	チカグレロル及びその代謝物の P2Y ₁₂ 受容体に対する放射性リガンド結合及びシグナル伝達に及ぼす影響	16
表 3	ヒト、ラット及びマーモセット全血の ADP 誘発血小板凝集に対するチカグレロル及びその代謝物の作用	17
表 4	血栓形成及び血小板凝集を 50%阻害する又は出血時間を 3.5 倍増加させるチカグレロル、クロピドグレル又は AR-H076866XX（チエノピリジン系 P2Y ₁₂ 受容体拮抗薬）の各用量	20
表 5	<i>In vitro</i> 試験系におけるチカグレロル及び AR-C124910XX の活性	24
表 6	アスピリンとのプレインキュベーション後の 2Me-S-ADP 誘発 P2Y ₁₂ 受容体シグナル伝達に対するチカグレロルの阻害作用	38

図目次

図 1	組換えヒト P2Y ₁₂ 受容体における放射性リガンドとの競合結合試験 (A) ¹²⁵ I-AZ11931285 (IC ₅₀ 値= 26 nmol/L、n = 2)、(B) ³ H-ADP (n = 1)	10
図 2	GTPγS 結合試験における ADP (A) 又は 2Me-S-ADP (B) に対する チカグレロルの拮抗作用	10
図 3	ヒト洗浄血小板の ADP 誘発血小板凝集に対するチカグレロル (AR- C126532XX) のプレインキュベーション (5 分間) の影響：ADP 添 加 5 分後 (a)、ADP 添加 90 分後 (b)	12
図 4	CHO K1 細胞に発現させたヒト P2Y ₁₂ 受容体に対する ³ H-チカグレロ ル (³ H-AZD6140) の解離曲線.....	13
図 5	覚醒イヌにおけるチカグレロル (0.8 mg/kg) の単回経口投与後の <i>ex</i> <i>vivo</i> における ADP 誘発血小板凝集阻害作用 (A) 及びチカグレロル の血漿中濃度推移 (B)	18
図 6	チカグレロル (a、n=6)、クロピドグレル (b、n=5)、又は orbofiban 活性代謝物 (c、n=5) の血栓形成 (CFR の阻害率)、出血 時間 (倍) 及び ADP 誘発血小板凝集 (血小板凝集阻害率) に対する 影響	19
図 7	MCAo 処置後の梗塞体積に対するチカグレロル (AZD6140 ; 3 mg/kg) 又は溶媒投与の影響	26
図 8	イヌ心筋梗塞モデルの梗塞領域に対するチカグレロル (AZD6140) 又はクロピドグレルと標準線溶療法との併用投与の影響	28

略語及び専門用語一覧表

本概要で使用する略語及び専門用語を以下に示す。

略語及び専門用語	用語の説明
ADP	Adenosine diphosphate：アデノシン二リン酸
AOT	Aerosol OT：エアロゾル OT、ドクサートナトリウム
BT	Bleeding time：出血時間
CCR	C-C chemokine receptor：C-C ケモカイン受容体
CFR	Cyclic blood flow reduction：周期的な血流減少
CHO	Chinese Hamster Ovary：Chinese Hamster Ovary 細胞
C _{max}	Maximum plasma concentration：最高血漿中濃度
CLP	Cecal ligation puncture：盲腸結紮穿刺
CMC	Carboxymethyl cellulose：カルボキシメチルセルロース
DDAVP	1-deamino-8-D-arginine vasopressin：デスマプレシン
DMA	N,N-Dimethylacetamide：N,N-ジメチルアセトアミド
DMSO	Dimethyl sulfoxide：ジメチルスルホキシド
DPSPX	1,3-Dipropyl-8-p-sulfophenylxanthine：1,3-ジプロピル-8-(p-スルホフェニル)キサントシン
ENT	Equilibrative nucleoside transporter：受動拡散型ヌクレオシドトランスポーター
IC ₅₀	50% inhibitory concentration：50%阻害濃度
IC ₉₀	90% inhibitory concentration：90%阻害濃度
LAD	Left anterior descending coronary artery：左冠動脈前下行枝
LTA	Light transmission aggregometry：光透過血小板凝集測定
LTD ₄	Leukotriene D ₄ ：ロイコトリエン D ₄
MCAo	Middle cerebral artery occlusion：中大脳動脈の永久閉塞
PAM	Prasugrel active metabolite：プラスグレルの活性代謝物
PEG	Polyethylene glycol：ポリエチレングリコール
PGI ₂	Prostaglandin I ₂ ：プロスタグランジン I ₂
PRP	Platelet rich plasma：多血小板血漿
PVP	Polyvinylpyrrolidone：ポリビニルピロリドン
UDP	Uridine diphosphate：ウリジン二リン酸
VASP	Vasodilator stimulated phosphoprotein：血管拡張因子刺激リン酸化蛋白質
2Me-S-ADP	2-methyl-thio-ADP：2-メチル-チオ-アデノシン二リン酸

2.6.2.1 まとめ

チカグレロルは強力、選択的、可逆的、直接的かつ経口投与可能な P2Y₁₂ 受容体拮抗薬であり、アデノシンニリン酸（以下、ADP）誘発血小板凝集を濃度（用量）依存的に阻害し、その作用が ADP 非競合的であることが示されている。チクロピジン、クロピドグレル、プラスグレル（CS-747）等のチエノピリジン誘導体はプロドラッグであり、P2Y₁₂ 受容体の間接的阻害薬として作用する。一方、チカグレロルの *in vitro* 試験系における抗血小板作用、及びイヌを用いた *ex vivo* 及び *in vivo* 試験における速やかな作用発現から、これらのチエノピリジン誘導体とは異なる反応を示すことが示唆される。加えて、チエノピリジン誘導体は P2Y₁₂ 受容体に不可逆的に結合するため、血小板の寿命の残存期間中、その機能が阻害されるのに対し、チカグレロルは ADP 誘発血小板凝集を可逆的に阻害する。*In vivo* の非臨床薬理試験成績から、チカグレロルの抗血栓作用と出血時間延長作用との乖離は、チエノピリジン誘導体及び経口 GPIIb/IIIa 拮抗薬よりも良好であることが示された。チカグレロルの抗血栓作用と出血時間延長作用との乖離は、アスピリン前投与動物においても保持された。チカグレロルの P2Y₁₂ 受容体に対する作用以外で最も強力な作用は、アデノシントランスポーターである受動拡散型ヌクレオシドトランスポーター1（以下、ENT1）に対する作用であり、ヒト全血におけるアデノシンの半減期を延長させ、アデノシンに対する反応を増強させることが示されている。

安全性薬理試験から、チカグレロルは心血管系及び中枢神経系に対し、有害な影響を及ぼさないことが示された。成熟ラットにおいて、高用量のチカグレロル投与により、呼吸機能に対する軽度な刺激作用、腸管輸送時間の延長、尿中ナトリウム/クレアチニン比及び塩素/クレアチニン比の増加、並びに尿 pH の上昇が認められた。これらの作用はいずれも予定臨床用量に影響を及ぼす程の懸念はないと考えられた。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

2.6.2.2.1 *In vitro* 試験

In vitro 試験では、チカグレロルはジメチルスルホキシド（以下、DMSO）に溶解して使用した。

2.6.2.2.1.1 P2Y₁₂ 受容体に対する親和性（試験 SC-103266）

[方法]

健康被験者より採取した血液を分画遠心し、洗浄血小板を調製した。96 穴プレートの各ウェルに ¹²⁵I-AR-C98597XX (0.18 nmol/L)、種々の濃度のチカグレロル (0.01~1000 nmol/L) 及び洗浄血小板 (160 x 10³ 血小板/μL) を添加し、結合試験を実施した。プレートを室温にて 30 分間インキュベートした後、濾過を行い、フィルター上の結合放射活性をシンチレーションカウンターにて測定した。

非特異的結合は、P2Y₁₂ 拮抗薬である AR-C67085MX (10 μmol/L) 存在下で測定した。

[結果]

2.6.2 薬理試験の概要文

一般名/効能効果案：チカグレロル/急性冠症候群、陳旧性心筋梗塞

ヒト洗浄血小板において、チカグレロルは $^{125}\text{I-AR-C98597XX}$ の P2Y_{12} 受容体への結合を阻害し、その K_i 値は 2.0 nmol/L であった。

【結論】

チカグレロルは、特異的 P2Y_{12} 受容体放射性リガンド $^{125}\text{I-AR-C98597XX}$ のヒト洗浄血小板への結合を強力に阻害した。

2.6.2.2.1.2 *In vitro* における血小板凝集に対する作用（試験 SC-103263, SC-103262, SC-103264, SC-103283, SC-105780 及び SC-103265）

【方法】

ヒト血液（健康被験者より採取）及びラット血液を遠心処理し、洗浄血小板及び多血小板血漿（PRP）の両方又はいずれか一方を調製した。ヘパリン化全血を健康被験者及びマーモセットより採取した。

洗浄血小板及び PRP における ADP 誘発血小板凝集は、ADP 添加後の吸光度（ 650 nm ）の減少により評価した。全血における ADP 誘発血小板凝集は、インピーダンス凝集計にて測定した。

さらに、ヒト洗浄血小板の P2Y_{12} 受容体を介さない凝集反応に対するチカグレロルの作用を検討する目的で、アドレナリン（ $0.3 \text{ }\mu\text{mol/L}$ ）及びトロンボキサン類縁体（U46619、 $3 \text{ }\mu\text{mol/L}$ ）の併用による血小板凝集に対するチカグレロルの作用を検討した。

【結果】

ヒト洗浄血小板、ラット洗浄血小板、ヒト PRP 及びヒト全血における ADP 誘発血小板凝集に対し、チカグレロルは強力な阻害活性を示し、50%阻害濃度（以下、 IC_{50} 値）はそれぞれ 13 nmol/L （試験 SC-103263）、 20 nmol/L （試験 SC-103262）、 398 nmol/L （試験 SC-103264）、 58 nmol/L （試験 SC-103283）であった（表 1）。ヒト全血において血小板凝集をほぼ完全に阻害したチカグレロルの濃度（90%阻害濃度 [以下、 IC_{90} 値]）は 398 nmol/L であった（試験 SC-103283）。さらに、チカグレロルは、マーモセット全血の ADP 誘発血小板凝集に対しても強力な阻害活性を示したものの（ IC_{50} 値： 35 nmol/L 、試験 SC-105780）、ヒト洗浄血小板における P2Y_{12} 受容体を介さない血小板凝集（アドレナリン及びトロンボキサン類縁体 [U46619] の併用）には $10 \text{ }\mu\text{mol/L}$ 以下の濃度ではほとんど阻害活性を示さなかった（試験 SC-103265）。

表 1 種々の *in vitro* 試験系におけるチカグレロルの血小板凝集阻害作用の IC₅₀ 値

化合物	濃度	試験系	試験数 (n)	ADP 濃度 (μ mol/L)	平均 IC ₅₀ 値 (nmol/L)	平均 IC ₅₀ 値 (ng/mL)
チカグレロル	0.1～ 1000 nmol/L	ヒト洗浄血小板	8	30	13	6.8
チカグレロル	0.01～ 300 nmol/L	ラット洗浄血小板	4	3	20	10.5
チカグレロル	0.001～ 100 μ mol/L	ヒト多血小板血漿	8	1	398	208
チカグレロル	10～300 nmol/L	マーマセット全血	10	10	35*	18.3*
チカグレロル	1～1000 nmol/L	ヒト全血	4	3	58	30

* 各マーマセットより採取した血液量が少量であったため、各動物から IC₅₀ 値を算出することはできなかった。そのため、プール全血の成績を用いて、チカグレロル濃度と阻害率の散布図から最小二乗近似曲線を作製し、IC₅₀ 値を算出した。

[結論]

In vitro において、チカグレロルは ADP 誘発血小板凝集を強力に阻害した。

2.6.2.2.1.3 P2Y₁₂ 受容体に対する作用様式の検討 (試験 2783-01)

[方法]

チカグレロルの P2Y₁₂ 受容体に対する作用様式を検討する目的で、ヒト P2Y₁₂ 受容体を導入した Chinese Hamster Ovary (以下、CHO) K1 細胞から膜分画を調製し、以下の試験に用いた。

膜分画を 96 穴プレートに添加し、放射性リガンド結合試験を実施した。各ウェルに 10 nmol/L の ³H-ADP 又は 125 pmol/L の ¹²⁵I-AZ11931285 (チカグレロルの構造類縁体で P2Y₁₂ 受容体合成拮抗薬)、及び種々の濃度のチカグレロルを添加した。プレートを 30°C で 60 分間インキュベートした後、濾過を行った。フィルター上の結合放射活性をシンチレーションカウンターにて測定した。非特異的結合は、10 μ mol/L の ADP 又は 1 μ mol/L の AZ11931285 存在下で測定した。

³⁵S-GTP γ S 結合試験を以下の条件にて実施した。膜分画に 0.53 nmol/L の ³⁵S-GTP γ S、種々の濃度のチカグレロル、及び EC₈₀ 濃度の ADP (1 μ mol/L) 又は 2-methyl-thio-ADP (以下、2Me-S-ADP、3.5 nmol/L) を添加し、30°C で 45 分間インキュベートした。非特異的結合は、20 μ mol/L の非標識 GTP γ S 存在下で測定した。インキュベーション後に濾過を行い、フィルター上の結合放射活性をシンチレーションカウンターにて測定した。

[結果]

チカグレロルは、組換え P2Y₁₂ 受容体に対する ³H-ADP の結合を阻害しなかったが、合成拮抗薬 ¹²⁵I-AZ11931285 の結合を阻害した (図 1)。GTP γ S 結合試験では、チカグレロルは ADP 又は 2Me-S-ADP 誘発 P2Y₁₂ 受容体活性化のいずれも拮抗したものの、2Me-S-ADP が作動薬の場合は効力を抑制し、ADP が作動薬の場合は効力及び最大効果の双方を抑制した (図 2)。

2.6.2 薬理試験の概要文

一般名/効能効果案：チカグレロル/急性冠症候群、陳旧性心筋梗塞

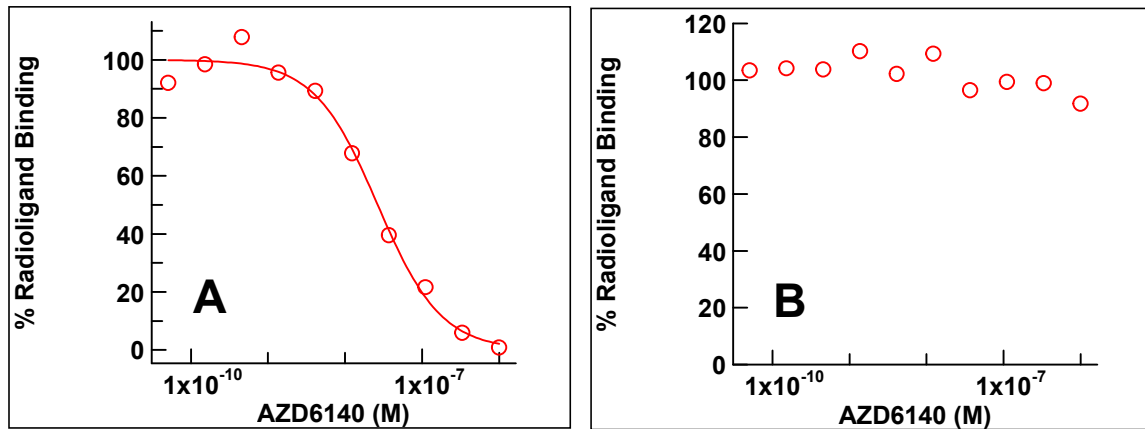


図 1 組換えヒト P2Y₁₂ 受容体における放射性リガンドとの競合結合試験 (A) ¹²⁵I-AZ11931285 (IC₅₀ 値= 26 nmol/L、n = 2)、(B) ³H-ADP (n = 1)

AZD6140 : チカグレロル

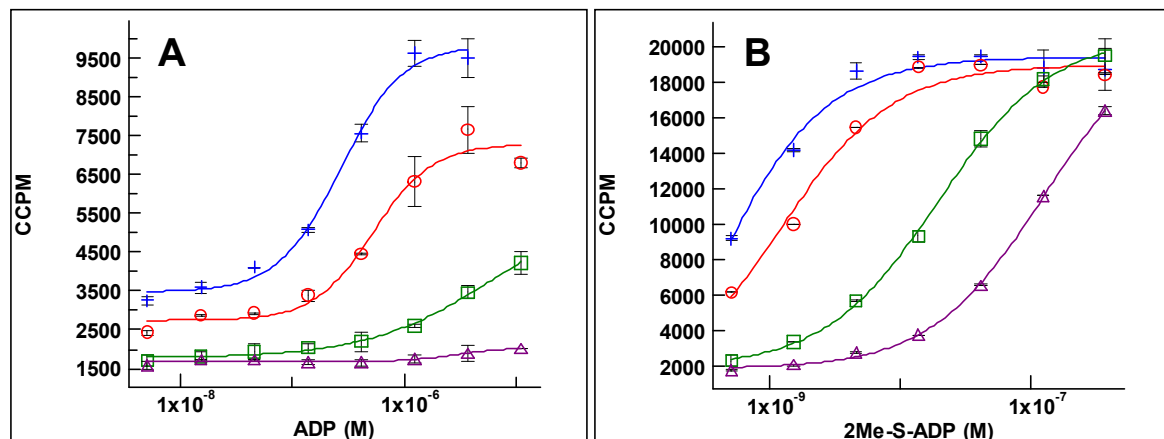


図 2 GTP_γS 結合試験における ADP (A) 又は 2Me-S-ADP (B) に対するチカグレロルの拮抗作用

図中青線はチカグレロル 0 nmol/L、赤線はチカグレロル 10.7 nmol/L、緑線はチカグレロル 100 nmol/L、紫線はチカグレロル 600 nmol/L 存在下における ADP 又は 2Me-S-ADP の濃度反応曲線を示す。

【結論】

チカグレロルは ADP の P2Y₁₂ 受容体への結合を置換せず、AZ11931285 に対し競合的拮抗作用を示した。チカグレロルは ADP 及び 2Me-S-ADP による P2Y₁₂ 受容体シグナル伝達を阻害した。上記の試験結果は既に論文報告されている (van Giezen et al 2009a)。

種々の機能試験系を用いた *in vitro* 試験で、ADP を介した P2Y₁₂ 受容体活性化に対し、チカグレロルは競合的拮抗作用を示す結果が得られているものの (Hoffman et al 2014)、これらの機能

試験で得られた結果は、チカグレロルについて既に報告されている ADP と非競合的に結合するメカニズムとも矛盾がない (van Giezen et al 2009a)。

2.6.2.2.1.4 拮抗薬及び作動薬と結合した受容体の構造

P2Y₁₂受容体拮抗薬 AZD1283 及び P2Y₁₂受容体作動薬 2-メチルチオアデノシン二リン酸塩と結合した P2Y₁₂受容体の共結晶に関する研究が報告されている (Zhang et al 2014a, Zhang et al 2014b)。これらの共結晶に関する新しい研究報告は、既に報告されている 2 箇所の結合部位を有するモデルと矛盾がなく、チカグレロルは P2Y₁₂受容体の 2 箇所の結合部位の 1 箇所に結合し、ADP は他の 1 箇所の部位に結合すると考えられている (van Giezen et al 2009a)。

2.6.2.2.1.5 P2Y₁₂受容体に対する結合の可逆性 (試験 SC-103286)

[方法]

本試験では、ヒト洗浄血小板を用いてチカグレロルの ADP 誘発血小板凝集の阻害作用の可逆性を検討した。

健康被験者より採取した血液を分画遠心し、洗浄血小板を調製した。ヒト洗浄血小板とチカグレロル (10~300 nmol/L) を 5 分間プレインキュベートした。ADP 誘発血小板凝集を ADP (0.03~1000 µmol/L) を添加 5、10、30、60 及び 90 分後に吸光度 (650 nm) の減少として測定した。

[結果]

ADP 添加 5 分後において、ADP (0.03~1000 µmol/L) 誘発血小板凝集に対するチカグレロル (5 分間のプレインキュベーション) の阻害作用は、insurmountable であった (図 3)。ADP 添加後の時間を長くすると、より完全な平衡関係に達し、血小板凝集の濃度反応曲線の最大反応の低下はより小さくなった。

2.6.2 薬理試験の概要文

一般名/効能効果案：チカグレロル/急性冠症候群、陳旧性心筋梗塞

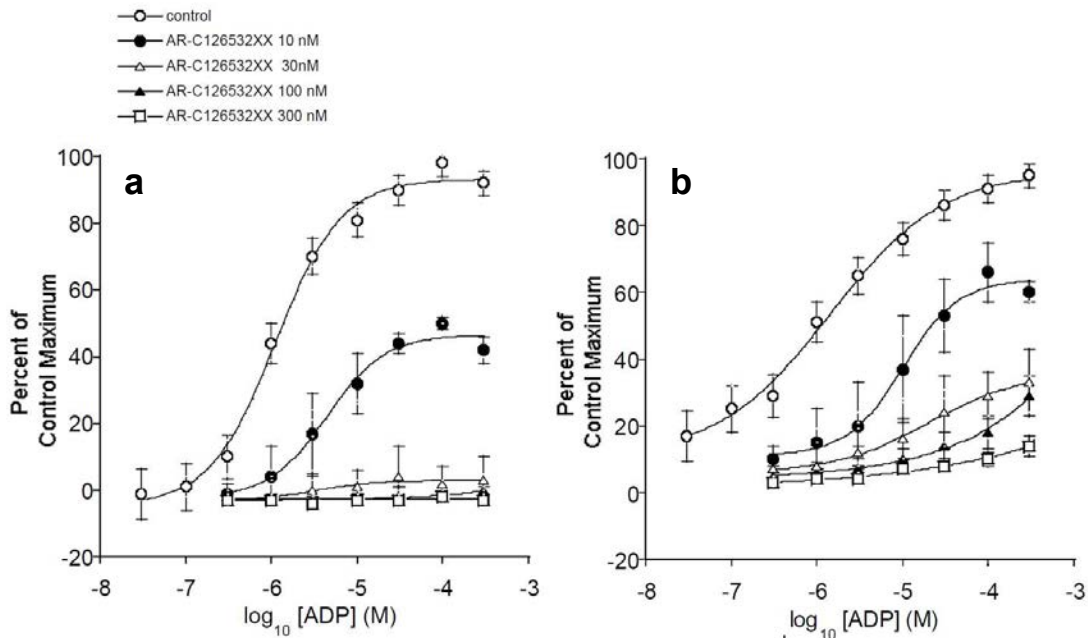


図 3 ヒト洗浄血小板の ADP 誘発血小板凝集に対するチカグレロル (AR-C126532XX) のプレインキュベーション (5 分間) の影響：ADP 添加 5 分後 (a)、ADP 添加 90 分後 (b)

値は平均値±標準誤差 (n = 4)

[結論]

本試験から、チカグレロルは P2Y₁₂ 受容体に対し可逆的に結合することが示されたが、解離速度は比較的遅いことが示唆された。本試験結果は既に論文掲載されている (van Giezen et al 2009a)。

2.6.2.2.1.6 チカグレロルの P2Y₁₂ 受容体結合解離試験 (試験 2819-01)

[方法]

本試験では、ヒト P2Y₁₂ 受容体を導入した CHO K1 細胞の膜画分を用いて、チカグレロルの結合定数 (K_{on})、解離定数 (K_{off}) 及び平衡解離定数 (K_d) を測定した。

解離定数の測定では、標識した ³H-チカグレロル (20 nmol/L) と膜画分を室温にて 60 分間インキュベートした。非放射性チカグレロル (10 μmol/L) を、10 秒～60 分までの種々の時点で添加し、解離反応を惹起させた。

結合定数の測定では、膜画分に ³H-チカグレロル (20 nmol/L) を、種々の時点で添加し、室温にて 30 秒から 60 分間インキュベートした。

平衡解離定数の測定では、0.01～600 nmol/L の ³H-チカグレロルを膜画分に添加した後、室温にて 1 時間インキュベートした。

全ての測定で、インキュベーション後に濾過を行い、フィルター上の結合放射活性をシンチレーションカウンターにて測定した。

[結果]

^3H -チカグレロルはヒト P2Y_{12} 受容体に可逆的に結合し、 K_d 、 K_{on} 及び K_{off} 値は、それぞれ 10.5 nmol/L ($n = 2$)、 $0.11 \times 10^{-3} (\text{nmol/L})^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ ($n = 4$) 及び $0.87 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ ($n = 5$) であった (図 4)。

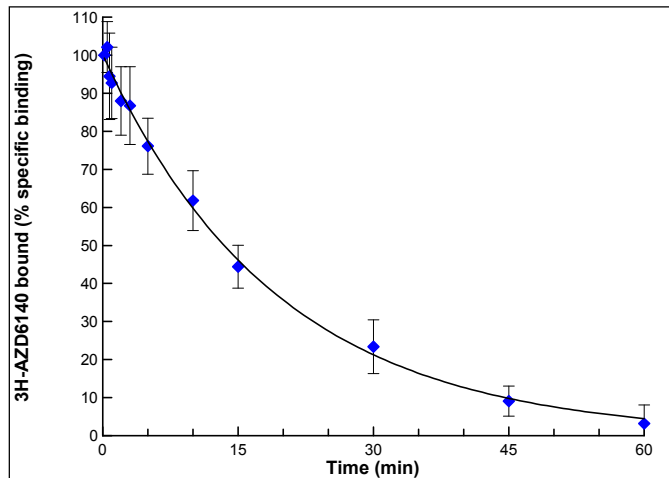


図 4 CHO K1 細胞に発現させたヒト P2Y_{12} 受容体に対する ^3H -チカグレロル (^3H -AZD6140) の解離曲線

成績は平均値 \pm 標準偏差 ($n = 5$) で示す。

[結論]

チカグレロルの K_d 値、 K_{on} 値及び K_{off} 値は、それぞれ 10.5 nmol/L 、 $0.11 \times 10^{-3} (\text{nmol/L})^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ 及び $0.87 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ であった。本試験結果は既に論文報告されている (van Giezen et al 2009a)。

チカグレロルが可逆的に結合することは、イヌを用いた ADP 誘発血小板凝集試験 (2.6.2.2.1 項、試験 SC-103315) からも支持されており、薬力学的プロファイルが血漿中濃度推移と対応することが示唆されている。

2.6.2.2.1.7 新生児ラットの全血における血小板凝集阻害作用 (試験 AZMR10213)

[方法]

本試験では、雌性成熟ラットから採取した全血及び生後 7~8 日の新生児ラットより採取したプール全血を用いた。チカグレロルは $0.008 \sim 8.3 \mu\text{mol/L}$ の濃度範囲で検討した。全血における ADP 誘発血小板凝集は、ADP ($6.5 \mu\text{mol/L}$) を添加した後、インピーダンス凝集計を用いて測定した。

[結果]

チカグレロルは ADP 誘発血小板凝集を阻害し、新生児ラット血液における IC_{50} 値は $0.06 \mu\text{mol/L}$ ($n=13$)、成熟ラット血液における IC_{50} 値は $0.18 \mu\text{mol/L}$ ($n=9$) であった。

[結論]

チカグレロルは、成熟ラット血液に比し新生児ラット血液において、約 3 倍強い血小板凝集阻害作用を示した。

2.6.2.2.1.8 0～12 歳の小児から採取した多血小板血漿及び血液を用いた血小板阻害効力の評価（試験 BS000096-01 [参考資料]）

[方法]

本試験では、年齢の異なる小児から血液を採取してチカグレロルの *in vitro* での効力を評価するとともに、成人の血液におけるチカグレロルの *in vitro* での効力との相関性を検討した。健康な小児及び成人から血液を採取し、チカグレロルを *in vitro* でこれらの血液に添加して、血管拡張因子刺激リン酸化蛋白質試験（VASP 試験：P2Y₁₂ によるシグナル伝達を調べる試験）にて全血中の血小板機能を評価した。さらに、PRP 中の血小板機能も ADP 誘発光透過血小板凝集測定法（LTA 法）にて評価した。

[結果]

VASP 試験にて求めたチカグレロルの幾何平均 IC₅₀ 値は成人で 0.33 μmol/L、生後 0～2 カ月児で 0.33 μmol/L、生後 2～6 カ月児で 0.32 μmol/L、生後 6 カ月～2 歳児で 0.44 μmol/L、2～6 歳児で 0.47 μmol/L 及び 6～12 歳児で 0.36 μmol/L であった。LTA 法での幾何平均 IC₅₀ 値は成人で 0.60 μmol/L、2～6 歳児で 0.44 μmol/L、及び 6～12 歳児で 0.62 μmol/L であった。なお、2 歳未満の小児については採血可能な血液量が限られており、LTA 法では VASP 法に比べて多量の血液を必要とするため、VASP 法によるデータしか得ることができなかった。VASP 法又は LTA 法にて検討したいずれの年齢群についても、成人のデータと比較して統計学的有意差は認められなかった。

[結論]

成人の血液と比較して、小児の血液におけるチカグレロルの *in vitro* での効力に有意差は認められなかった。

2.6.2.2.1.9 非処置血小板の添加時の ADP 誘発血小板凝集に対するチカグレロルの阻害作用の可逆性（試験 AZMR10395 [参考資料]）

[方法]

本試験は、患者に行われる血小板輸血の影響を予測することを目的として実施した。使用する試験系はヒト PRP による ADP 誘発 LTA 法とした。また、不可逆的 P2Y₁₂ 受容体拮抗薬として作用するプラスグレルの活性代謝物（PAM）を対照化合物とした。

[結果及び結論]

結論として、*in vitro* において、チカグレロルによる血小板凝集阻害は、チカグレロルによる阻害作用のレベル、非処置血小板とのインキュベーション時間、及び非処置血小板の添加量に応じて程度は異なるものの、可逆性を示す可能性がある。しかしながら、*in vitro* で非処置血小板を添加することにより、PAM による完全な P2Y₁₂ 受容体拮抗はチカグレロルによる完全な P2Y₁₂ 受容体拮抗に比較して明らかな可逆性を示した。

同様の目的で独立した幾つかの研究が行われ、その結果が論文報告されている（Hobl et al 2013, Hansson et al 2014, O'Connor et al 2013, Ibrahim et al 2014, Martin et al 2014）。ラットを用いた研究

で、可逆的拮抗薬であるチカグレロルは、非可逆的拮抗薬であるプラスグレルに比較して血小板輸血の効果が弱い可能性があることが論文報告されており（Sugidachi et al 2013）、上記の他の研究でもこれと同様の結果が報告されている。

2.6.2.2.1.10 血小板以外の P2Y₁₂ 受容体を介する作用

Wihlborg らの研究報告から、血管平滑筋細胞で P2Y₁₂ 受容体の機能的発現が示された（Wihlborg et al 2004）。マウス大動脈標本を用いた *in vitro* 試験系において、血管平滑筋細胞を 2Me-S-ADP で刺激すると血管収縮反応が誘発された。この反応は選択的 P2Y₁₂ 受容体拮抗薬 AR-C67085 により遮断されたことから、2Me-S-ADP 誘発血管収縮反応は P2Y₁₂ 受容体を介した反応であることが確認された。最近、同研究グループにより、*in vitro* 試験系を用いたチカグレロルの研究が行われ、マウス大動脈及びヒト動脈標本で 2Me-S-ADP 誘発血管収縮に対するチカグレロルの拮抗作用が示された（Högberg et al 2010）。同様の研究結果が論文報告されている（Grzesk et al 2012, Grzesk et al 2013）。本研究で認められた *in vitro* の作用と臨床との関連性は不明である。

2.6.2.2.1.11 代謝物の作用

2.6.2.2.1.11.1 循環血中主要代謝物 AR-C124910XX の作用（試験 SC-105783 及び SC-105784）

【方法】

AR-C124910XX (AZ11879328) は、チカグレロルのヒト循環血中の主要代謝物として同定された構造類縁体である（薬物動態試験の概要文 2.6.4.5.2.4 項参照）。本試験では、AR-C124910XX の P2Y₁₂ 受容体に対する結合及び ADP 誘発血小板凝集に対する作用を、それぞれヒト洗浄血小板及びヒト PRP を用いて検討した。

健康被験者より採取した血液を分画遠心し、洗浄血小板及び PRP を調製した。

受容体結合試験を 96 穴プレートにて実施し、各ウェルに ¹²⁵I-AR-C98597XX (P2Y₁₂ 受容体拮抗薬、0.18 nmol/L)、洗浄血小板 (160 x 10³ 血小板/μL) 及び種々の濃度の AR-C124910XX (0.1 ~ 1000 nmol/L) を添加した。プレートを室温にて 30 分間インキュベートした後、濾過を行った。フィルター上の放射活性をシンチレーションカウンターにて測定した。非特異的結合は、標準的 P2Y₁₂ 拮抗薬 AR-C67085MX (10 μmol/L) 存在下で測定した（試験 SC-105783）。

PRP の ADP 誘発血小板凝集は、ADP (1 μmol/L) 添加後の吸光度 (650 nm) の減少により評価した。AR-C124910XX は、0.001 ~ 100 μmol/L の濃度範囲で検討した（試験 SC-105784）。

【結果】

AR-C124910XX は、特異的放射性リガンドのヒト洗浄血小板への結合及びヒト PRP の ADP 誘発血小板凝集に対して強力な阻害活性を示した (K_i 値 = 2.5 nmol/L [試験 SC-105783] 及び IC₅₀ 値 = 126 nmol/L [試験 SC-105784])。

【結論】

In vitro においてチカグレロルの循環血中主要代謝物 AR-C124910XX は、P2Y₁₂ 受容体に対し強力な拮抗作用を示し、ADP 誘発血小板凝集を強力に阻害した。

2.6.2.2.1.11.2 尿中主要代謝物 AR-C133913XX の作用（試験 AZMR10095 及び AZMR10112）

〔方法〕

チカグレロルのヒト尿中主要代謝物である AR-C133913XX（AZ11879477、2.6.4.5.2.4 項参照）の P2Y₁₂ 受容体の放射性リガンド結合、2Me-S-ADP 誘発 P2Y₁₂ 受容体シグナル伝達及び全血における ADP 誘発血小板凝集に対する作用を検討した。チカグレロル及び AR-C124910XX（AZ11879328）の作用も併せて検討した。

ヒト P2Y₁₂ 受容体を導入した CHO K1 細胞の膜分画を用いて、受容体結合試験及び GTP γ S 結合試験を実施した。

受容体結合試験を 96 穴プレートにて実施し、各ウェルに ¹²⁵I-AZ11931285（P2Y₁₂ 受容体拮抗薬、125 pmol/L）、ヒト P2Y₁₂ 発現膜分画及び種々の濃度のチカグレロル、AR-C124910XX 又は AR-C133913XX を添加した。プレートを 30°C にて 1 時間インキュベートした後、濾過を行った。フィルター上の結合放射活性をシンチレーションカウンターにて測定した。

³⁵S-GTP γ S 結合試験を以下の条件にて実施した。膜分画に 448 pmol/L の ³⁵S-GTP γ S、2.6～10 nmol/L の 2Me-S-ADP（80%超の P2Y₁₂ 受容体シグナル伝達反応を示す）、及び種々の濃度のチカグレロル、AR-C124910XX 又は AR-C133913XX を添加し、30°C で 45 分間インキュベートした。インキュベーション後に濾過を行い、フィルター上の結合放射活性をシンチレーションカウンターにて測定した（試験 AZMR10095）。

健康被験者、ラット及びマーモセットより血液を採取し、血小板凝集試験を実施した。全血に ADP（6.5 μ mol/L）添加した後、ADP 誘発血小板凝集をインピーダンス凝集計にて測定した（試験 AZMR10112）。

〔結果〕

チカグレロル及び AR-C124910XX は、放射性リガンド結合及び 2Me-S-ADP 誘発 P2Y₁₂ 受容体シグナル伝達のいずれにおいても同程度の阻害活性を示した（放射性リガンド結合試験の IC₅₀ 値はそれぞれ 11.0 及び 6.5 nmol/L、2Me-S-ADP 誘発 P2Y₁₂ 受容体シグナル伝達の IC₅₀ 値はそれぞれ 66 及び 50 nmol/L、表 2）。一方、AR-C133913XX はいずれの試験においても 100 倍超弱い活性を示した（試験 AZMR10095）。チカグレロル及び AR-C124910XX は、全血における ADP 誘発血小板凝集を同程度阻害し、ヒト全血の IC₅₀ 値はそれぞれ 0.24 及び 0.17 μ mol/L、ラット全血の IC₅₀ 値はそれぞれ 0.13 及び 0.06 μ mol/L、マーモセット全血の IC₅₀ 値はそれぞれ 0.12 及び 0.06 μ mol/L であった（表 3）。一方、AR-C133913XX はマーモセット全血のみで活性を示した（IC₅₀ 値=1.91 μ mol/L、試験 AZMR10112）。

表 2 チカグレロル及びその代謝物の P2Y₁₂ 受容体に対する放射性リガンド結合及びシグナル伝達に及ぼす影響

化合物	濃度 (μ mol/L)	¹²⁵ I-AZ11931285 結合試験		³⁵ S-GTP γ S 結合試験	
		平均 IC ₅₀ 値 (nmol/L) (平均値 \pm 標準偏差)	N	平均 IC ₅₀ 値 (nmol/L) (平均値 \pm 標準偏差)	N
チカグレロル	0.0002～33	11 \pm 8	63	66 \pm 28	98
AR-C124910XX	0.0002～33	6.5	2	50	2
AR-C133913XX	0.0002～33	2500	1	10000	1

表 3 ヒト、ラット及びマーモセット全血の ADP 誘発血小板凝集に対するチカグレロル及びその代謝物の作用

	濃度 (μmol/L)	平均 IC ₅₀ 値 (μmol/L)		
		ヒト	ラット	マーモセット
チカグレロル	0.001~16.1	0.24 (n=4)	0.13 (n=5)	0.12 (n=3)
AR-C124910XX	0.001~16.1	0.17 (n=4)	0.06 (n=5)	0.06 (n=3)
AR-C133913XX	0.001~16.1	>10 (n=4)	>10 (n=4)	1.91 (n=4)

【結論】

チカグレロル及び AR-C124910XX は、P2Y₁₂ 受容体の放射性リガンド結合、2Me-S-ADP 誘発 P2Y₁₂ 受容体シグナル伝達及び ADP 誘発血小板凝集（ヒト、ラット及びマーモセット全血）において同程度の阻害活性を示した。AR-C133913XX は、放射性リガンド結合及び 2Me-S-ADP 誘発 P2Y₁₂ 受容体シグナル伝達で弱い阻害活性を示し、ADP 誘発血小板凝集試験において、マーモセット全血に対してのみ活性を示した。

2.6.2.2.2 *In vivo* 試験2.6.2.2.2.1 覚醒イヌにおける ADP 誘発血小板凝集阻害作用 (*Ex vivo*) (試験 SC-103315)

【方法】

覚醒雄性ビーグル犬 (n = 2、月齢：21 及び 22、体重：15.7 及び 14.0 kg) を用いて、ADP 誘発血小板凝集に対するチカグレロル (0.8 mg/kg、溶媒：1%カルボキシメチルセルロース [以下、CMC] /0.1%ポリソルベート 80 水溶液にて溶解) の単回経口投与の影響を *ex vivo* にて評価した。血液サンプル (約 2 mL) を投与 0.5、1、2、3、4、6、8、12 及び 24 時間後に頸静脈より採取した。ADP (10 μmol/L) 添加後、全血における血小板凝集をインピーダンス凝集計にて測定した。チカグレロルの血漿中濃度は、質量分析計を用いて測定した。

【結果】

覚醒雄性ビーグル犬において、チカグレロル (0.8 mg/kg) の単回経口投与は、*ex vivo* で測定した ADP 誘発血小板凝集を顕著に阻害した (90%超、図 5)。チカグレロルの阻害作用は経口投与後速やかに発現し (2 時間以内で最大作用)、6 時間まで維持され、その推移は血漿中濃度推移と対応していた。本試験結果から、チカグレロルは約 65 ng/mL (130 nmol/L) 以上の血漿中濃度で、*ex vivo* における ADP 誘発血小板凝集をほぼ完全に阻害することが示された。

2.6.2 薬理試験の概要文

一般名/効能効果案：チカグレロル/急性冠症候群、陳旧性心筋梗塞

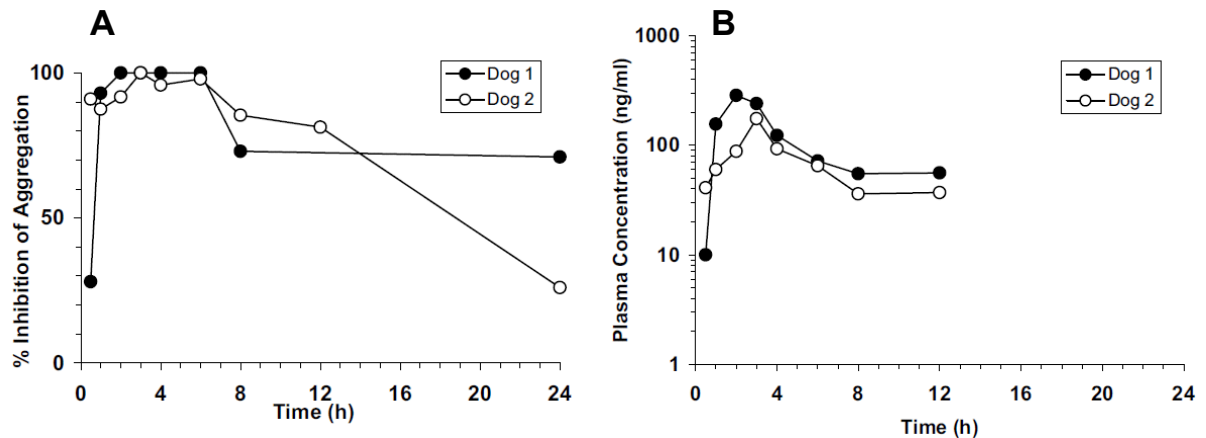


図 5 覚醒イヌにおけるチカグレロル (0.8 mg/kg) の単回経口投与後の *ex vivo* における ADP 誘発血小板凝集阻害作用 (A) 及びチカグレロルの血漿中濃度推移 (B)

値は各個体の成績を示す。

[結論]

覚醒イヌにおいて、チカグレロルは *ex vivo* で測定した ADP 誘発血小板凝集を顕著に阻害し、その薬力学的プロファイルが血漿中濃度推移と対応することが示唆された。

2.6.2.2.2.2 麻酔イヌにおける大腿動脈周期的血栓形成の阻害作用 (試験 SC-103289 及び 2629-01)

[方法]

動脈血栓形成、出血時間 (BT) 及び *ex vivo* における ADP 誘発血小板凝集に対するチカグレロルの影響を評価した。雄性ビーグル犬 (1 群あたり $n=5\sim6$ 、月齢：8~18、体重：10~16 kg) を麻酔し、鉗子を用いて右大腿動脈に狭窄及び摩擦による傷害を与えた。その後、プラスチック製の閉塞用カフ (4 mm 長) を傷害部位に設置し、同血管を狭窄させた。血栓の形成は、傷害及び狭窄させた右大腿動脈の周期的な血流減少 (以下、CFR) として測定した。大腿動脈血液流量が 90~100%まで一定して減少する CFR が 30 分間安定して認められることを確認した後、試験を開始した。

チカグレロル (持続注入：0.157~15.7 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ 、溶媒：40% N,N-ジメチルアセトアミド/40%ポリエチレングリコール 400 [以下、DMA/PEG 水溶液])、クロピドグレル (急速注入 [30~3000 $\mu\text{g}/\text{kg}$] 後に持続注入 [0.125~12.5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$]、溶媒：生理食塩液)、及び orbofiban 活性代謝物 (持続注入：0.03~1 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ 、溶媒：生理食塩液) を、30 分毎に用量を漸増しながら投与した。大腿動脈に傷害及び狭窄を与えた麻酔イヌの CFR を測定し、血小板凝集による血栓の動的変化を評価した。出血時間に対する影響は、舌側面の切開 (10 mm 長、1 mm 深) からの出血時間を投与前値と比較することで評価した。また、ADP (10 $\mu\text{mol}/\text{L}$) 添加後、全血における血小板凝集をインピーダンス凝集計にて測定した。CFR を 50%阻害する用量を CFR ID₅₀、出血時間を 3.5 倍延長させる用量を BT_{3.5-fold} とし、両者の比 (BT_{3.5-fold} : CFR ID₅₀) から、各薬剤の抗血栓作用と出血時間延長作用の乖離を評価した (試験 SC-103289)。

2.6.2 薬理試験の概要文

一般名/効能効果案：チカグレロル/急性冠症候群、陳旧性心筋梗塞

別の試験（雄性ビーグル犬、1群あたり n=6、年齢：1、体重：14.8～19.8 kg）として、動脈血栓形成、出血時間及び *ex vivo* における ADP 誘発血小板凝集に対するチカグレロル（急速注入 [0.75～75 µg/kg] 後に持続注入 [0.1～10 µg/kg/min]、溶媒：5%マンニトール、0.017%ポリビニルピロリドン [以下、PVP]、0.000087%エーロゾル OT [ドクサートナトリウム、以下 AOT] 水溶液）、チエノピリジン誘導体 AR-H076866XX（プラスグレル、急速注入：4～1000 µg/kg、4 µg/kg 投与群のみ n=1、溶媒：5%マンニトール、0.017% PVP、0.000087% AOT 水溶液）及びクロピドグレル（急速注入：10～4000 µg/kg、10 µg/kg 投与群のみ n=1、溶媒：生理食塩液）の影響も検討した（試験 2629-01）。

【結果】

検討したいずれの薬物においても、用量依存的な CFR 及び血小板凝集の阻害、並びに出血時間の延長が認められた。血栓形成の消失（CFR の消失）と ADP 誘発血小板凝集の阻害作用はほぼ同じ用量で認められた。

チカグレロルは血栓形成を抑制し、CFR を完全に阻害する用量（CFR ID₁₀₀）の幾何平均値は 2.3 µg/kg/min であった（BT_{3.5-fold} の幾何平均値は 13.5 µg/kg/min、図 6、試験 SC-103289）。またチカグレロルの BT_{3.5-fold} : CFR ID₅₀ 比は 14.0、クロピドグレルの BT_{3.5-fold} : CFR ID₅₀ 比は 5.7 であり、チカグレロルはクロピドグレルに比し、抗血栓作用と出血時間延長作用の乖離が大きいことが示唆されたものの、両群間で有意差は認められなかった（一元配置分散分析）。しかしながら、チカグレロルは GPIIb/IIIa 拮抗薬である orbofiban 活性代謝物に比し有意に大きな乖離を示した（orbofiban 活性代謝物 CFR ID₅₀ : BT_{3.5-fold} 比は 0.83、P<0.01：一元配置分散分析）。

別の試験で、チエノピリジン誘導体 AR-H076866XX、クロピドグレル及びチカグレロルの作用を検討したところ、チカグレロルは他の薬物に比し、抗血栓作用と出血時間延長作用の乖離が大きいことが示唆された（統計学的解析は実施せず、表 4、試験 2629-01）。

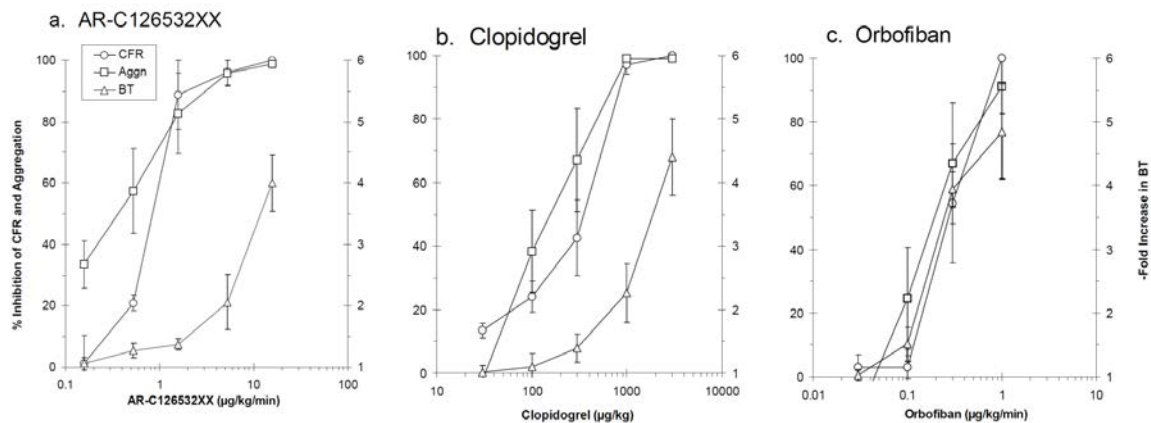


図 6 チカグレロル (a, n=6)、クロピドグレル (b, n=5)、又は orbofiban 活性代謝物 (c, n=5) の血栓形成 (CFR の阻害率)、出血時間 (倍) 及び ADP 誘発血小板凝集 (血小板凝集阻害率) に対する影響

値は平均値 ± 標準誤差を示す。AR-C126532XX：チカグレロル

表 4 血栓形成及び血小板凝集を 50%阻害する又は出血時間を 3.5 倍増加させるチカグレロル、クロピドグレル又は AR-H076866XX（チエノピリジン系 P2Y₁₂ 受容体拮抗薬）の各用量

薬物	血栓形成 CFR ID ₅₀	血小板凝集 ID ₅₀	出血時間 BT _{3.5-fold}	BT _{3.5-fold} : CFR ID ₅₀ 比	血栓形成を 100%阻害する用 量における出血 時間延長 (倍)
チカグレロル	1.90 µg/kg/min	1.02 µg/kg/min	>10 µg/kg/min	>5.3	2.4
AR-H076866XX	0.32 mg/kg	0.18 mg/kg	1.3 mg/kg	4.1	3.8
クロピドグレル	1.68 mg/kg	0.62 mg/kg	3.9 mg/kg	2.3	4.3*

*血栓形成を 91%阻害する用量における出血時間増加 (倍)

【結論】

本試験において、チカグレロルの静脈内投与により血栓形成は顕著に阻害された。加えて、チカグレロルの抗血栓作用と出血時間延長作用に良好な乖離が認められた。本試験結果は既に論文報告されている (van Giezen et al 2009b)。

多数の公表論文で、血栓形成における P2Y₁₂ 受容体の役割及びチカグレロルの抗血栓作用について明らかになっている。また、チカグレロルは、*in vitro* で新たに形成された血小板凝集体の安定性を阻害して分解を促進し、マウス動脈血栓 (塩化第二鉄 (FeCl₃) 傷害) モデルで、*in vivo* の血栓性血管閉塞を抑制した (Speich et al 2014)。ApoE 欠損マウスで、チカグレロルは、超音波処置によりプラークを急速崩壊して急速に形成された非閉塞性血栓に対して血栓サイズを抑制し、不安定にする作用を示した (Nergiz-Unal et al 2010)。同研究で、*in vitro* 試験系において、マウス又はヒト血液をコラーゲン又は動脈硬化性プラーク惹起物質上に灌流したとき、チカグレロルは血栓形成を抑制し、高ずり速度で血小板解離を促進することが報告されている。

2.6.2.2.3 血栓形成及び新内膜形成のマウスモデルにおける作用

P2Y₁₂^{+/+}及び P2Y₁₂^{-/-}マウス (雄性、C57BL/6 バックグラウンド、体重：23~26 g) を用いて、レーザーで傷害を与えた精巣挙筋動脈における血栓形成を評価した。C57BL/6 マウスに種々の投与量のチカグレロルを投与し、塩化鉄 (III) で傷害を与えた頸静脈における新内膜形成を評価した。チカグレロルは、P2Y₁₂^{-/-}マウスと同程度の血栓形成阻害作用を示した。傷害前及び傷害 4 時間後にチカグレロルを投与すると新内膜形成が顕著に低下したものの、傷害前又は傷害 4 時間後のいずれか一方にチカグレロルを投与すると作用は認められなかった (Patil et al 2010)。

ウサギの頸動脈吻合モデルにおいても、チカグレロルは新内膜過形成の抑制作用を示した (Sürer et al 2014)。

2.6.2.2.4 ラットで新たに生成された血小板の血栓形成に及ぼす影響におけるチカグレロルとクロピドグレルの差異

【方法】

P2Y₁₂受容体に不可逆的に結合する拮抗薬 (クロピドグレル) と可逆的に結合する拮抗薬 (チカグレロル) において、P2Y₁₂受容体阻害後の血小板機能回復に相違がみられるか否かを検討し

た (Kuijpers et al 2011)。WKY系ラットにクロピドグレル200 mg/kg又はチカグレロル40 mg/kgという高用量を単回投与し、投与後の様々な時点で血液を採取した。

【結果】

クロピドグレル又はチカグレロルの投与直後は、血小板はADPによる α IIb β 3 (GPIIb/IIIa) 活性化の影響を全く受けていないことがフローサイトメトリーにより確認されたが、クロピドグレルの投与からしばらく経過すると幼若血小板の一群が出現し、これらの血小板はADPに十分に反応した。クロピドグレル投与ラットの血液にチカグレロルを添加したところ、クロピドグレルで防御されていなかった α IIb β 3の活性化が抑制された。対照的に、チカグレロルを投与した場合には、投与後しばらく経過すると、すべての血小板はADPによる α IIb β 3活性化からの防御作用が次第に失われた。灌流実験の結果、クロピドグレル又はチカグレロル投与直後は血栓の形成は認められないことが示された。高ずり速度下でコラーゲン上に形成される血栓を評価したところ、時間経過と共にクロピドグレル投与群では血栓が形成され成長したが、チカグレロル投与群では血栓は形成されず、形成された血栓には被験薬非処置の幼若血小板が優先的に取り込まれた。一方、全血を用いた血小板凝集試験では、両群の血小板とも依然、血小板機能が同程度に抑制されていた。

【結論】

チカグレロル投与後のラット血小板機能の回復は、クロピドグレル投与後の回復と機序的に異なっている。この相違は従来の血小板凝集試験法では確認できないが、フロー下で血栓形成を評価すると明らかになる。クロピドグレルの投与からしばらく経過すると幼若血小板が産生され、この幼若血小板が血栓形成を促進すると考えられる。

2.6.2.3 副次的薬理試験

チカグレロルの P2Y₁₂ 受容体に対する選択性及び作用の特異性を確認する目的で、一連の *in vitro* 試験を実施した。

2.6.2.3.1 他の P2 受容体サブタイプに対する選択性（試験 SC-103277, SC-103278, SC-103285, SC-103282, SC-103276, SC-103259, 0445SY 及び試験 AZMR10392 [参考資料]）

ヒト P2Y₂ 受容体の機能試験系で、3 実験のうち 2 実験において、チカグレロルは 10 μ mol/L の濃度で活性を示さなかったものの、それ以外の 1 実験でアンタゴニスト作用を示し、pA₂ 値は 6.16 であった (0.69 μ mol/L、試験 SC-103277)。他の P2 受容体サブタイプ (P2X₁、ラット P2X₂、ラット P2X_{2/3}、P2X₃、P2X₄、P2X₅、P2X₇、P2Y₁、ラット P2Y₆、P2Y₁₁ [特記するもの以外は全てヒト由来]) における機能試験で、チカグレロルは P2X₇ 受容体に対し 3 μ mol/L 以下の濃度で有意なアゴニスト作用又はアンタゴニスト作用を示さず、それ以外の機能試験では 10 μ mol/L までの濃度まで有意なアゴニスト作用又はアンタゴニスト作用を示さなかった (試験 SC-103278, SC-103285, SC-103282, SC-103276, SC-103259, 0445SY)。P2Y₁₃ に対してのみ、チカグレロルは有意なアンタゴニスト作用を示し、機能試験における平均 IC₅₀ 値は 0.46 μ M であった。代謝物 AR-C124910XX についても同程度のアンタゴニスト作用が認められ、平均 IC₅₀ は 0.20 μ M であったが、AR-C133913XX にアンタゴニスト作用は認められなかった (試験 AZMR10392 [参考資料])。

2.6.2.3.2 アデノシン受容体及びアデノシントランスポーターに対する選択性（試験 0355SY, 1064SY, 1805KV, SC-103269, 1878KV, 1929KV, 2549KV, 1421KV 及び 0932MV）

アデノシン受容体に対する選択性を、*in vitro*における放射性リガンド結合試験及び酵素測定試験にて検討し（試験 0355SY, 1064SY）、各試験で得られた K_i 値及び IC_{50} 値の平均値を算出した。チカグレロルのアデノシン A_1 、 A_{2A} 及び A_{2B} 受容体に対する親和性は弱く（ K_i 値 $>6 \mu\text{mol/L}$ ）、ヒト A_3 受容体に対しては K_i 値 $0.2 \mu\text{mol/L}$ の親和性を示した。

加えて、ラット及びモルモット迷走神経 C 線維標本を用いた *ex vivo* 試験を実施した（試験 1805KV）。これらの迷走神経 C 線維標本は A_1 、 A_{2B} 及び A_3 受容体を介してアデノシンにより脱分極されることが知られている。チカグレロルは、ラット及びモルモットの迷走神経標本のアデノシン誘発脱分極を阻害し、阻害率は各々 49% 及び 35% であった。しかし、チカグレロルは単独（ $10 \mu\text{mol/L}$ ）で、モルモット迷走神経の 6 標本中 3 標本及びラット迷走神経の 4 標本中 3 標本で脱分極を誘発した。チカグレロルの反応が安定して得られなかったため、チカグレロルがアデノシン受容体に対し拮抗作用を示すのか、又は部分作動作用を示すのかを決定できなかった。

以上の試験結果から、チカグレロルのアデノシン A_1 、 A_{2A} 及び A_{2B} 受容体に対する親和性は低く、アデノシン A_3 受容体に対する親和性は高いと考えられる。しかし、上記の以上の *in vitro* 試験及び神経標本を用いた *ex vivo* 試験の結果からは、チカグレロルはアデノシン A_3 受容体に対してアゴニスト作用を示すのか、アンタゴニスト作用を示すのかについて明らかな結論は得られなかった。

ヒト赤血球において、チカグレロルはアデノシン取り込みを阻害し、その IC_{50} 値は 100 nmol/L であった（試験 SC-103269）。さらにイヌ MDCK 腎細胞株を用いて Na 不含条件下で検討したところ、アデノシン取り込み阻害作用はナトリウム非依存性ヌクレオシドトランスポーターである ENT1 の阻害を介した作用であることが示された（ IC_{50} 値 $=34 \text{ nmol/L}$ 、試験 1878KV）。ラット H4IIE 及びヒト MCF7 細胞株を用いた同試験で、アデノシン取り込みの阻害作用の IC_{50} 値は各々 104.2 及び 60.6 nmol/L であった。ジピリダモール（アデノシン取り込み阻害薬）は、アデノシン取り込みに対して、イヌ、ラット及びヒト細胞株で、それぞれ 14、2 及び 28 倍強力な抑制作用を示した。また、 $10 \mu\text{mol/L}$ の濃度で、ジピリダモール又はチカグレロルは、マウス HL-1 心筋細胞によるアデノシン取り込みに対して阻害作用を示し、その阻害作用は *in vitro* の低酸素条件下で増強された（試験 1929KV）。

ヒト組換え蛋白質発現細胞を用いた試験から、チカグレロルは 200 nmol/L の IC_{50} 値で ENT1 を阻害し（ K_i 値 $=41 \text{ nmol/L}$ 、ジピリダモールの K_i 値は 2.6 nmol/L ）、ENT2、CNT2 又は CNT3 に対しては阻害作用を示さなかった（ IC_{50} 値 $>10 \mu\text{mol/L}$ 、試験 2549KV）。

一方、チカグレロル及びその主要代謝物（AR-C133913XX 及び AR-C124910XX）は、 $10 \mu\text{mol/L}$ 未満の濃度において、アデノシン脱アミノ化を阻害しないことが示されたが、チカグレロルの最高試験濃度 $20 \mu\text{mol/L}$ では、軽度（17.6%）ではあるものの、統計学的に有意な阻害が認められた（試験 1421KV）。チカグレロルはマウスリンフォーマ L5178Y TK+/- 3.7.2C 細胞でヒポキサンチンのサルベージ経路に影響を及ぼさなかった（試験 0932MV）。

本試験結果は既に論文報告されている（Armstrong et al 2014, van Giezen et al 2012）。

2.6.2.3.2.1 ヒト全血の血小板凝集に対するアデノシン取り込み阻害作用の影響（試験 AZMR10120）

〔方法〕

健康被験者より血液を採取し、本試験に用いた。全血におけるコラーゲン（3.2 µg/mL）又は ADP（6.4 µmol/L）誘発血小板凝集をインピーダンス凝集計にて測定した。アデノシン取り込み阻害薬であるジピリダモールを陽性対照として用いた。また P2Y₁₂ 受容体の不可逆的阻害薬であるプラスグレルの活性代謝物（以下、PAM）、及びアデノシン A_{2A} 受容体拮抗薬である ZM241385 も対照化合物として用いた。ジピリダモール、チカグレロル又は PAM（それぞれ 1.4 及び 14 µmol/L）のコラーゲン及び ADP 誘発血小板凝集に対する作用を、アデノシン（7.1 µmol/L）存在下及び非存在下で検討した。14 µmol/L の ZM241385 を用いて作用の可逆性も検討した。抗血小板作用に加えて、全血にアデノシン（7.1 µmol/L）を添加した後 60 分間のアデノシン濃度を、液体クロマトグラフィー/紫外吸光検出又は液体クロマトグラフィー/タンデム型質量分析法を用いて測定した。

さらに全血にアデノシン（7.1 µmol/L）を添加した 1 分後のアデノシン濃度も併せて検討した。チカグレロル及びジピリダモールは 0.1～100 µmol/L の濃度範囲で全血に添加した。

統計学的解析は、線形混合モデルを用いて実施した。

〔結果〕

アデノシンは各薬物による血小板凝集阻害作用を増強した。コラーゲン誘発血小板凝集の阻害におけるアデノシンの増強作用（アデノシン非存在下における血小板凝集阻害とアデノシン存在下における血小板凝集阻害の差）は、PAM（14 µmol/L）に比しチカグレロル（14 µmol/L）又はジピリダモール（14 µmol/L）で、より顕著であった（チカグレロルで 32% [P<0.01]、ジピリダモールで 21% [P<0.01]、PAM で 6% [p=0.02]、n=6～12）。アデノシン A_{2A} 受容体拮抗薬である ZM241385（14 µmol/L）は、アデノシンによる血小板凝集阻害の増強を拮抗し、その作用（アデノシン+ZM241385 存在下における血小板凝集阻害とアデノシン存在下における血小板凝集阻害の差）は PAM に比しチカグレロル又はジピリダモールで、より顕著であった（チカグレロルで 55% [P<0.01]、ジピリダモールで 34% [P<0.01]、PAM で 8% [p=0.01]）。ADP 誘発血小板凝集においても、同様の成績が得られた。

アデノシン存在下において、チカグレロルのコラーゲン誘発血小板凝集に対する阻害作用の IC₅₀ 値は 5.7 µmol/L であった。本試験系では、アデノシンは血液への添加 0.5 分後でのみ検出できた。14 µmol/L のジピリダモール及びチカグレロル存在下では、それぞれ血液への添加 60 分後及び 3～6 時間後までアデノシンが検出されたのに対し、PAM 存在下ではアデノシン曝露時間の延長は認められなかった。

アデノシンの全血への添加 1 分後におけるアデノシン濃度は、ジピリダモール及びチカグレロル（0.1～100 µmol/L）により、濃度依存的に上昇した。ヒト全血に添加したアデノシンの消失時間に対するチカグレロルの最小有効濃度は 1 µmol/L であった。

〔結論〕

チカグレロルの抗血小板作用には、チカグレロルによるアデノシン濃度の上昇及びアデノシンによるアデノシン A_{2A} 受容体を介した抗血小板作用が関与する可能性が示された。本試験結果は既に論文報告されている（Nylander et al 2013）。

これらの *in vitro* 試験で認められた添加アデノシンの分解に対するチカグレロルの抑制作用は、チカグレロルを投与した患者でも認められることが予測される。実際に、クロピドグレル投与患者に比較してチカグレロル投与患者におけるアデノシン血漿中濃度が高いことが示されている (Bonello et al 2014)。

別の *in vitro* 試験において、赤血球の存在下でチカグレロルはアデノシン誘導好中球走化性を増強することが示された (Alsharif et al 2014)。

2.6.2.3.3 種々の受容体及び酵素試験における選択性 (試験 SC-103284, SC-103261, SC-103279, AZM080825-01 (3302-01), 103281, 1044427, 1068010, 0951SY, 0952SY, 1055SY 及び 1064SY)

一連のケモカイン受容体スクリーン (CCR1 [試験 SC-103284]、CCR2b [試験 SC-103261]、CCR3 [試験 SC-103279])、ヒトエストロゲン受容体 α 及び β (試験 AZM080825-01 (3302-01)) で、チカグレロルの作用特異性を検討したところ、いずれの受容体に対してもチカグレロルは活性を示さなかった。125種の放射性リガンド結合試験及び酵素試験を ████████ 社 (試験 SC-103281, 1044427, 1068010) で実施した (第1試験)。同じ標的分子を含む合計332種の標的分子に対する大規模パネルでの試験を ████████ 社 (前 ████████ 社) で実施した (第2試験 [試験 0951SY])。AR-C124910XX 及び AR-C133913XX についても同様の大規模パネルでの試験を実施した (試験 0952SY, 1055SY)。██████████ 社における検討では、7種の組換えヒト心臓電位依存性イオンチャネルに対するチカグレロル及び AR-C124910XX の作用も検討した (試験 0951SY, 0952SY)。10 $\mu\text{mol/L}$ の濃度で有意な活性 (50%超) を示した *in vitro* 放射性リガンド結合試験及び酵素試験において、濃度反応曲線を作成し、 IC_{50} 値又は K_i 値を算出した。チカグレロル、AR-C124910XX 及び AR-C133913XX が有意な活性を示した標的に対して、██████████ 社で第3試験を実施した (試験 1064SY)。

200 nmol/L 以下の結合親和性 (K_i 値) を示した3種の標的分子について (チカグレロルの P2Y_{12} 受容体に対する親和性 (K_i 値=2.0 nmol/L) に対し100倍以下の選択性)、親和性及び IC_{50} 値を表5に要約した。

表5 *In vitro* 試験系におけるチカグレロル及び AR-C124910XX の活性

標的分子	K_i 値又は IC_{50} 値の平均値 ($\mu\text{mol/L}$)			
	チカグレロル		AR-C124910XX	
	K_i 値	IC_{50} 値	K_i 値	IC_{50} 値
アデノシントランスポーター (ENT-1)	0.041	0.2		
ドパミントランスポーター	0.2	0.1		
アデノシン A_3 受容体	0.2	6.4	0.2	5.6

2.6.2.3.4 他の *in vitro* 及び *in vivo* における薬理作用

2.6.2.3.4.1 赤血球からの ATP 遊離に対する作用

ヒト血液中の ATP 遊離に対するチカグレロルの作用が報告されている (Öhman et al 2012)。*In vitro* において、チカグレロルは用量依存的にヒト赤血球から ATP を遊離させた (IC_{50} 値 = 14 $\mu\text{mol/L}$)。

2.6.2.3.4.2 *In vitro* における GPR17 に対する選択性 (試験 AZM090128-04)

GPR17 は、ウラシルヌクレオチドとシステイニルロイコトリエンの双方により活性化される G 蛋白質共役型受容体であり、主に脳、心臓及び腎組織に発現している。ラット脳梗塞モデルの成績から、2 次的な炎症反応に関与すると推定されている (Patil et al 2010, Ciana et al 2006)。同研究グループは、*in vitro* の GTP γ S 結合試験を用いて、チカグレロルの rh-GPR17 に対する拮抗作用の有無を評価した。その結果、チカグレロルが組換えヒト GPR17 に対して強力な阻害作用を示し、ウラシルヌクレオチド (UDP グルコース誘発活性化に対する IC_{50} 値 : 4 nmol/L) 及びシステイニルロイコトリエン (LTD₄ に対する IC_{50} 値 : 2 nmol/L) による活性化に対しナノモルの濃度で活性を示した。本試験成績から、チカグレロルの強力な副次的作用として GPR17 に対する拮抗作用が示唆された (試験 AZM090128-04, Martini et al 2010)。

他の研究グループの検討では、チカグレロルは GPR17 に対し阻害作用を示さなかった (試験 AZMR10330)。そのため、チカグレロルの GPR17 に対する作用について結論は得られていない。

2.6.2.3.4.3 中大脳動脈閉塞による脳虚血の *in vivo* モデル (試験 AZMR10259)

[方法]

雄性 Sprague-Dawley ラット (体重 : 150~200 g) における中大脳動脈の永久閉塞 (以下、MCAo) による脳虚血モデルを用いた検討を実施した。麻酔ラットの骨膜下の頭蓋骨を切除し、露出させた中大脳動脈を電気凝固により切断し、閉塞を施した。MCAo 処置の 2、24 及び 48 時間後における脳障害の発生を、MRI 解析にて評価した。チカグレロルは、MCAo 処置の 10 分、22 時間及び 36 時間後に 3 mg/kg の用量で強制経口投与し、MCAo 処置後のチカグレロル投与の影響を評価した (n=21)。MRI 測定後に、脳組織内のマクロファージ及びミクログリアを免疫染色し、炎症反応の評価を実施した。

本試験では、チカグレロルを 30 mg/kg の用量で経口投与すると、投与 24 時間以内に開頭部位からの出血が原因と考えられる死亡例が見られたため (12 匹中 3 匹)、3 mg/kg の用量で評価を行った。

[結果]

MCAo 処置後に 3 mg/kg のチカグレロルを経口投与すると、MCAo 処置の 24 及び 48 時間後の脳障害の進行が有意に抑制された (図 7)。免疫組織学的検討から、チカグレロル投与によりマクロファージの浸潤及びミクログリアの活性化の抑制が認められ、チカグレロルによる脳障害の進行の抑制はこれらの炎症反応の抑制によるものと考えられた。

2.6.2 薬理試験の概要文

一般名/効能効果案：チカグレロル/急性冠症候群、陳旧性心筋梗塞

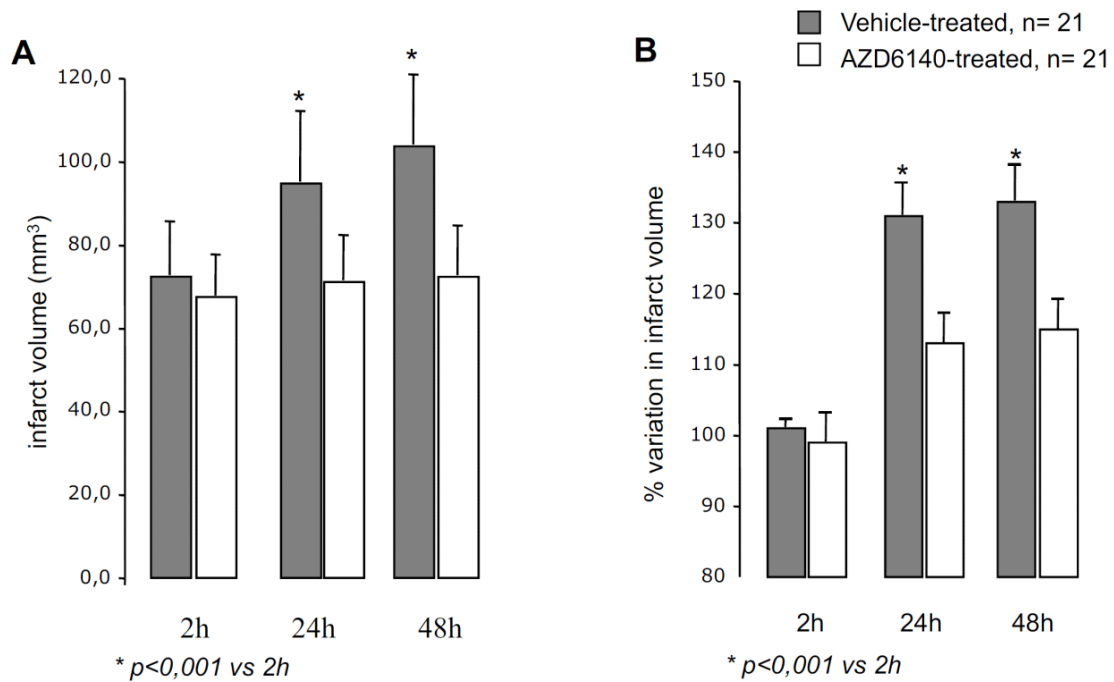


図 7 MCAo 処置後の梗塞体積に対するチカグレロル (AZD6140 ; 3 mg/kg) 又は溶媒投与の影響

成績は平均値+標準誤差で示す。

[結論]

チカグレロルは、脳虚血処置後に投与することにより、ラット MCAo 処置による虚血性障害を改善することが示唆された。本所見の機序は不明である。本試験結果は既に論文報告されている (Gelosa et al 2014)。

2.6.2.3.4.4 *In vivo* における局所虚血後の冠血流量に対する作用 (試験 26709 (3428-01))

[方法]

In vitro 試験で認められたアデノシン取り込み阻害作用の *in vivo* への影響を評価する目的で、ビーグル犬 (雄性及び雌性、年齢：約 1、体重：10.8~16.3 kg) を用いて左冠動脈前下行枝 (LAD) の一過性閉塞 (バルーン梗塞) による局所虚血後の冠血流量 (内因性アデノシンの局所産生により惹起される) 及び LAD へのアデノシン持続注入 (15 又は 30 $\mu\text{g}/\text{min}$ 、5 分間) による冠血流量への影響を評価した (1 群 8 頭)。本試験では、対照薬としてアデノシン取り込み阻害剤であるジピリダモールの作用も評価した。チカグレロル (急速注入 [210 又は 700 $\mu\text{g}/\text{kg}$] 後に持続注入 [30 又は 100 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$]、溶媒：5%マンニトール、0.017%PVP、0.000087%AOT 水溶液) 及びジピリダモール (急速注入 [10 又は 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$] 後に [0.17 又は 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$]、溶媒：生理食塩液) は静脈内投与した。

[結果]

溶媒投与群に比し、チカグレロル又はジピリダモール投与群では用量依存的な反応性充血の増強が認められた。加えてチカグレロル又はジピリダモールは投与の前後で、5分間のアデノシン投与（15又は30 µg/min）による血流量の増加を増強した。

【結論】

LADの一過性閉塞によるアデノシンの内因性産生、又はアデノシンの持続投与のいずれにおいても、チカグレロル（血漿中濃度は4～13 µmol/L）はジピリダモールと同様に、虚血後の局所血流量を用量依存的に増加させた。また、他の動脈の血流量又は血圧への全身的影響は認められなかった。本試験結果は既に論文報告されている（van Giezen et al 2012）。

上記の試験結果は、AZ社により実施され、既に論文報告されている無作為化比較対照試験においても、チカグレロル 180 mg を単回投与した健康被験者の血中で増加したアデノシンにより冠血流量が増加することが示されている（Wittfeldt et al 2013）。

2.6.2.3.4.5 *In vivo* イヌ心筋梗塞モデルにおけるチカグレロルの作用

イヌ心筋梗塞モデル（雄性及び雌性ハウンド犬、1群10頭、体重：20～22 kg）において、標準線溶療法とP2Y₁₂受容体拮抗薬との併用効果を検討した（Wang et al 2010）。麻酔下でイヌの左冠動脈回旋枝に閉塞性血栓形成を誘発した。t-PA（20分間で1 mg/kgを注入）及びヘパリン（急速注入 [80 U/kg] 後に持続注入 [17 U/kg/h]）の投与5分前に、クロピドグレル（5分間で10 mg/kgを注入）、チカグレロル（急速注入 [75 µg/kg] 後に持続注入 [10 µg/kg/min]）又は生理食塩液を2時間静脈内持続投与した。閉塞性血栓の溶解について、t-PA + ヘパリン投与とチカグレロル又はクロピドグレルのいずれかの併用投与による影響を検討した。t-PA + ヘパリン投与150分後に心臓を摘出し、組織学的評価により梗塞領域を測定した。

チカグレロル及びクロピドグレルの投与終了時において、生理食塩液対照群に比し、チカグレロル及びクロピドグレル投与群では、PRPのADP（20 µmol/L）誘発血小板凝集に対する有意な阻害作用が認められた（チカグレロル投与群の凝集率：1.9 ± 2.67%；平均値±標準偏差、クロピドグレル投与群の凝集率：1.11 ± 2.0%、生理食塩液投与群の凝集率：26.3 ± 23.5%、P<0.05）。チカグレロル投与群に比し、クロピドグレル投与群では出血時間の有意な延長が認められ（8.24 ± 2.61 vs 5.16 ± 2.17 min、p=0.01）、P2Y₁₂受容体拮抗薬であるチカグレロル及びクロピドグレルのいずれにおいても良好な抗血小板作用が示された。

しかしながら、クロピドグレル及び生理食塩液投与群に比し、チカグレロル投与群では梗塞領域の有意な縮小が認められ（P<0.05）、梗塞領域はチカグレロル投与群で6.31 ± 2.86 cm²、クロピドグレル投与群で14.63 ± 4.29 cm²及び生理食塩液投与群で13.63 ± 4.19 cm²であった。コントラスト心エコーの成績から、チカグレロル投与群ではベースライン値と比較したときの心筋灌流に完全な回復が認められ（回復率73%、p=0.221、t-検定）、クロピドグレル及び生理食塩液投与群の回復率は、各々50%（p=0.051、t-検定）及び62%（p=0.060、t-検定）であった。

2.6.2 薬理試験の概要文

一般名/効能効果案：チカグレロル/急性冠症候群、陳旧性心筋梗塞

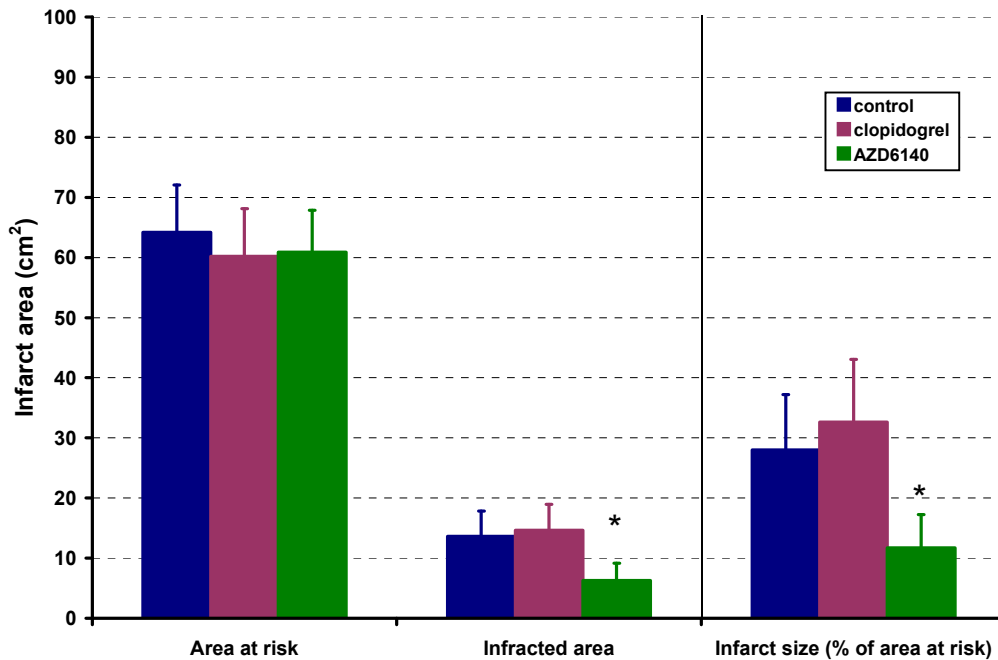


図 8 イヌ心筋梗塞モデルの梗塞領域に対するチカグレロル (AZD6140) 又はクロピドグレルと標準線溶療法との併用投与の影響

結果は平均値±標準偏差 (n=10) で示す。*: 生理食塩液投与群及びクロピドグレル投与群に対する有意差 P<0.05 を示す。

最近の研究で、ラット再灌流傷害モデルにおいて、チカグレロル投与により心筋梗塞領域は用量依存的に縮小したが、同程度の P2Y₁₂ 阻害を示す用量のクロピドグレルを投与したにも関わらず心筋梗塞領域は縮小しなかった (Nanhwan et al 2014)。このラットモデルで、チカグレロルによる梗塞領域の縮小作用がアデノシン受容体拮抗薬により減弱したことから、このモデルで心臓保護作用に関与するメカニズムはアデノシンを介するものであるという間接的な根拠が示された。また、急性冠症候群患者において、チカグレロル投与による心筋梗塞領域の縮小作用は高用量アスピリンにより一部減弱したが、低用量アスピリンでは作用減弱は認められなかったことから、梗塞領域縮小作用の減弱は高用量アスピリンとの相互作用によるものであると考えられた (Mahaffey et al 2011)。同じラット再灌流傷害モデルを用いた follow-up 研究で、再灌流開始の直前にチカグレロルを単回投与することにより、梗塞領域は、再灌流開始前に前投与を行った場合と同程度に縮小した。この単回投与後の梗塞領域の縮小により 4 週間後の心機能の改善がもたらされた。さらに、再灌流開始の翌日からチカグレロルの反復経口投与を始めた場合でも、再灌流開始の直前に単回投与した場合と同程度の心機能の改善が認められた (Birnbaum et al 2014)。

2.6.2.3.4.6 P2Y₁₂ 受容体ノックアウトマウスの出血時間に対するチカグレロルの作用 (試験 AZMR10231)

尾静動脈の出血モデルを用いた André らの研究から、チエノピリジン誘導体 (クロピドグレル及びプラスグレレル) が P2Y₁₂ 受容体ノックアウトマウスの一次止血を遅延させ、一方で直接的か

つ可逆的な P2Y₁₂ 受容体拮抗薬である elinogrel では一次止血の遅延が認められないことが示されている (André et al 2011)。そのため、チエノピリジン誘導体が P2Y₁₂ 受容体を介さずに出血時間を延長させる可能性が示唆されている。本試験では、P2Y₁₂ 受容体ノックアウトマウスの出血時間に対するチカグレロルの作用を検討した。

[方法]

チカグレロル (急速注入 [1200 µg/kg] 後に持続注入 [30 µg/kg/min]、溶媒：5%マンニトール水溶液)、elinogrel (急速注入 [3000 µg/kg] 後に持続注入 [300 µg/kg/min]、溶媒：5%マンニトール水溶液) 又はクロピドグレル (急速注入 [15000 µg/kg]、溶媒：生理食塩液) を、麻酔した P2Y₁₂ 受容体ノックアウトマウス及び野生型マウス (雄性及び雌性、C57BL/6 バックグラウンド、日齢：41~96、体重：16.4~31.8 g、n = 10~18) に静脈内投与した。

外科用メスにて尾先端から 5 mm で切開し、出血させた。尾先端を流水に浸漬し、血液と水の混合液を採取した。採取した混合液を攪拌子にて攪拌し、溶血を促進させ、混合液を均一化した。発光ダイオード (LED、波長：525 nm) を光源とし、光トランジスタをセンサーとして、混合液の光透過率を記録した。本試験では、出血から 60 分間後まで評価した。出血時間の成績ではコルモゴロフスミルノフ検定を、失血量の成績では対応のある t 検定を用いて解析した。試験終了後、腹部大動脈より血液を採取し、インピーダンス凝集計にて全血における血小板凝集を測定した。

[結果]

野生型マウスにおいて、チカグレロル、elinogrel 及びクロピドグレルは、ADP (6.5 µmol/L) 誘発血小板凝集に対し、それぞれ 85%、98%及び 99%の阻害率を示した。P2Y₁₂ 受容体ノックアウトマウスでは、いずれの投与群においても、ADP に対する反応を示さなかった。

野生型マウスにおいて、チカグレロル、elinogrel 及びクロピドグレルは、失血量をそれぞれ 4.3 倍 (P<0.05)、6.1 倍 (P<0.05) 及び 1.5 倍 (統計学的有意差なし) に増加させ、出血時間をそれぞれ 2.8 倍 (統計学的有意差なし)、5.5 倍 (P<0.05) 及び 4.3 倍 (統計学的有意差なし) に延長させた。

P2Y₁₂ 受容体ノックアウトマウスでは、チカグレロル、elinogrel 及びクロピドグレル投与により、溶媒投与群に比し、失血量はそれぞれ 23%、31%及び 36%増加した (いずれも P<0.05)。また P2Y₁₂ 受容体ノックアウトマウスでは、いずれの薬物でも出血時間の延長が認められたものの、統計学的に有意な差は認められなかった (いずれも溶媒投与群に比し 16%延長)。

[結論]

チカグレロル、クロピドグレル及び elinogrel は、いずれも P2Y₁₂ 受容体欠損動物における出血を増加させた。

2.6.2.3.4.7 ラット腹部大動脈瘤モデルにおけるチカグレロルの作用

ラット腹部動脈瘤実験モデルを用い、チカグレロルが血小板活性化を抑制することにより動脈瘤の発生・進展を予防できるか否かについて検討した (Dai et al 2009)。

[方法]

ドデシル硫酸ナトリウムで脱細胞化処理したモルモット大動脈片をラットの大動脈に移植することにより大動脈瘤を誘発した。その翌日にこれらのラットをチカグレロル 10 mg/kg 1 日 2 回強制経口投与群又はプラセボ投与群に無作為に割付け (23 匹/群)、チカグレロル又はプラセボを

10 日間（9 匹/群）又は 42 日間（14 匹/群）投与した。ADP 誘発血小板凝集、動脈瘤の拡大、管腔内の血栓形成、炎症性浸潤（炎症細胞の浸潤）、マトリックスメタロプロテアーゼ 9（MMP-9）の発現、及び平滑筋細胞の管腔内血栓への定着について評価を行った。各評価項目について単純回帰分析を行った。なお、結果は平均値±標準偏差で示した。

【結果】

チカグレロルは *in vivo* において ADP 誘発血小板凝集を 12 時間にわたり抑制し、ラットへの 1 日 2 回投与の妥当性が証明された。ラット腹部大動脈瘤モデルでは大動脈径が自然に拡大したが（10 日目で 2.22 ± 0.56 mm、42 日目で 5.21 ± 1.22 mm）、チカグレロルの投与により、このような大動脈径の拡大が抑制された（42 日目で 3.61 ± 1.46 mm、 $P < 0.01$ ）。この作用は、10 日目及び 42 日目に評価した血栓形成、血小板の CD41 発現、並びに、壁在血栓への白血球浸潤の有意な抑制（それぞれ、 $P < 0.05$ 、 $P < 0.05$ 及び $P < 0.01$ ）と相関していた。MMP-9 は壁在血栓部位に発現がみられ、この MMP-9 発現もチカグレロルの投与により抑制された（ $P < 0.05$ ）。チカグレロルは 42 日目の時点で弾性線維の変性を抑え（ $P < 0.05$ ）、平滑筋細胞の血栓への定着を促進した（ $P < 0.01$ ）。

【結論】

チカグレロルによる血小板活性化抑制は管腔内血栓の生物学的活性を弱め、それによって動脈瘤の発達も抑制することが示唆された。

2.6.2.3.4.8 マウス腹部敗血症モデルにおける好中球動員及び肺傷害に対するチカグレロルの作用（試験 BS000389-39 [参考資料]）

腹部敗血症モデルを用い、肺への好中球動員及び肺組織傷害に対するチカグレロルの作用を検討した（Rahman et al 2014）。野生型 C57BL/6 系マウスに盲腸結紮穿孔（CLP）により敗血症を誘発した。なお、CLP による敗血症誘発前にチカグレロル（100 mg/kg）又は溶媒を投与した。浮腫の形成及び気管支肺胞洗浄液中の好中球並びに肺損傷を測定した。また、フローサイトメトリーにより、血小板-好中球凝集塊の発現、好中球の活性化及び血小板膜上の CD40L 発現を評価した。チカグレロル投与群では、CLP 処置による敗血症誘発 24 時間後に、CLP によって誘発される肺への好中球浸潤が 50% 抑制された。また、チカグレロルは CLP によって誘発される肺水腫も消失させ、肺損傷スコアを 41% 低下させた。チカグレロルは CLP マウスにおいて血小板・好中球の混合凝集塊の形成を完全に抑制し、血小板数減少も著明に抑制した。さらに、チカグレロルは敗血症誘発マウスにおいて血小板からの CD40L の切断も抑制した。以上の結果から、マウス腹部敗血症モデルにおいて、チカグレロルは CLP によって誘発される肺への好中球動員を抑制し、肺損傷を軽減する可能性が示された。

同様のモデルを用いて、チカグレロルを単独又は抗生物質との併用で投与したときの作用を検討した（試験 BS000389-39）。CLP による敗血症誘発の 6 時間後にイミペネム（25 mg/kg）を投与した。CLP による敗血症誘発の 1 時間前にチカグレロル（100 mg/kg）を強制経口投与した。その結果、チカグレロルは敗血症性肺損傷を軽減するという上記の試験結果が裏付けられた。チカグレロルの作用の程度は抗生物質と同程度であったが、チカグレロルと抗生物質の併用投与による相加作用は認められなかった。

2.6.2.3.4.9 動脈硬化及び癌の動物モデルにおける作用

種々の疾患モデルにおいてチカグレロルの作用が検討され、論文報告されている。

高コレステロール血症 ApoE 欠損マウスで、チカグレロルを 8 週間投与したとき、動脈硬化の発症が抑制された (Schirmer et al 2012)。しかしながら、同じモデルを用いた同様の研究で、チカグレロル又はクロピドグレルを 4 週間投与したとき、いずれの投与でも作用は認められなかった (West et al 2014)。チカグレロルは、高コレステロール血症 ApoE 欠損マウスに 25 週間投与したとき、プラークサイズが縮小する傾向がみられ、さらに安定なプラーク表現型 (線維性被膜の肥厚及び壊死性コアの縮小) が誘導された (Rusnak et al 2014)。

チカグレロルは、マウス実験的転移モデルで癌転移を抑制し、生存期間を延長した (Gebremeskel et al 2015)。

2.6.2.4 安全性薬理試験

覚醒雄性成熟ラット及び麻酔雄性成熟ビーグル犬を用いて安全性薬理試験を行い、チカグレロル単回投与後の中枢神経系、心血管系、呼吸器系、消化管系及び腎機能に及ぼす影響を検討した。可能な場合は、適切な測定時点又は機能試験の終了時においてチカグレロルの血漿中濃度を測定し、推定臨床曝露量との比較を可能にした。各試験で、最高血漿中濃度に達すると予想される投与 1~5 時間後に評価した。

特に記述しない場合、チカグレロルの溶媒として 1% CMC/0.1% ポリソルベート 80 水溶液を用いた。

2.6.2.4.1 中枢神経系に対する作用

2.6.2.4.1.1 神経行動学的観察及び自発運動に対する作用 (試験 2223 (SR99339-01))

雄性 Wistar ラット (週齢：約 7~10、体重：150.4~165.5 g、1 群 10 匹) を用いて、機能的観察総合評価及び自発運動の評価を実施した。ラットにチカグレロル (0 [溶媒]、1、10 又は 100 mg/kg、経口) を単回投与した。機能的観察総合評価及び自発運動の評価は、チカグレロル投与 4 及び 24 時間後に実施した。

チカグレロルは、機能的観察項目及び自発運動に影響を及ぼさなかった。

2.6.2.4.1.2 運動協調性に対する作用 (試験 99338 (SR99338-01))

ローターロッドを用いて、雄性 Sprague-Dawley ラット (週齢：7~8、体重：236~273 g) を段階的に増加する回転速度スケジュールで、2 回馴化訓練した。加速回転のローターロッドにおいて、投与前の運動協調性を記録し、各群 10 匹となるように群分けした。チカグレロル (0 [溶媒]、1、10 又は 100 mg/kg) は単回経口投与とした。加速回転のローターロッドにおける運動協調性は、チカグレロル投与 4 時間後に評価した。

チカグレロルは、運動協調性に対し影響を及ぼさなかった。

2.6.2.4.1.3 鎮痛作用の評価（試験 2225 (SR99335-01)）

雄性 Wistar ラット（週齢：約 7、体重：169.4～225.1 g、1 群 10 匹）の各群にチカグレロル（0 [溶媒]、1、10 又は 100 mg/kg、経口）を単回投与した。ラットの尾を 55°C の温水に浸し、尾の退避反応潜時を測定した。潜時は投与 15 分前及び投与 1、2、4 並びに 6 時間後に測定した。

チカグレロルは、鎮痛作用を示さなかった。

2.6.2.4.1.4 学習及び記憶に対する作用（試験 2227 (SR99333-01)）

雄性 Wistar ラット（週齢：約 8～11、体重：198～238 g、1 群 6～10 匹）を用いて、シャトル箱における能動回避行動を評価し、学習及び記憶行動に対するチカグレロルの影響を検討した。学習及び記憶試験のいずれの試験でも、チカグレロル投与（0 [溶媒]、1、10 又は 100 mg/kg、単回経口投与）の 4 時間後に評価した。

試験に使用したラットが投与前の訓練で十分な学習行動を示さなかったため、学習行動に対する影響は評価不能であった。チカグレロルは、記憶行動に影響を及ぼさなかった。

2.6.2.4.1.5 麻酔作用の評価（試験 2228 (SR99332-01)）

ペントバルビタールの麻酔時間に対するチカグレロルの影響を、ペントバルビタール睡眠時間を評価することで検討した。チカグレロル投与（0 [溶媒]、1、10 又は 100 mg/kg、単回経口投与）の 4 時間後に、雄性 Wistar ラット（週齢：約 7、体重：191.6～221.5 g）にペントバルビタールナトリウムを 25 mg/kg の用量で腹腔内投与し、睡眠時間を記録した。睡眠時間は、正向反射の消失及び回復までの間隔（分）として測定した。ペントバルビタールナトリウムの投与 60 分後を最大観察時間とした。

チカグレロルは、ペントバルビタール麻酔に対して影響を及ぼさなかった。

2.6.2.4.1.6 痙攣に対する作用（試験 2224 (SR99336-01)）

雄性 Wistar ラット（週齢：約 7～9、体重：176.1～227.1 g、1 群 9 又は 10 匹）に、チカグレロルを 0（溶媒）、1、10 又は 100 mg/kg の用量で単回経口投与した。投与 4 時間後、動物に 75 mg/kg のペンチレンテトラゾール投与（皮下）又は電気刺激を与えた。ペンチレンテトラゾール投与直後から 30 分間、痙攣作用を観察した。痙攣発作の潜時及び最も重度の痙攣発作の程度を記録した。電気ショックを与えたラットでは、刺激開始から最大 5 分まで観察した。電気刺激で誘発した後肢伸展を伴う全身性強直間代性発作の有無及び潜時を記録し、同様に後肢伸展及び弛緩間隔も記録した。

チカグレロルは、ペンチレンテトラゾール及び電気刺激にて誘発した痙攣作用に影響を及ぼさなかった。

2.6.2.4.2 心血管系に対する作用

2.6.2.4.2.1 麻酔ビーグル犬の血行動態に対する作用（試験 990630 P (99341)）

ハロタン麻酔雄性ビーグル犬（月齢：約 7.5～18、体重：11～14.5 kg、1 群 5 頭）にチカグレロル（0 [溶媒]、1、10 又は 100 mg/kg）を十二指腸内に単回投与し、血行動態に対する作用を検討した。血行動態又は心電図パラメータは、いずれも投与前及び投与 3 時間後までの 30 分間隔で測定した。

チカグレロルの十二指腸内投与は、血行動態又は心電図パラメータに影響を及ぼさなかった。

2.6.2.4.2.2 イヌ単離プルキンエ線維の活動電位に対する作用（試験 20010128 PECM (00210)）

雄性ビーグル犬よりプルキンエ線維標本を単離した（n=6）。チカグレロル（0.5 $\mu\text{mol/L}$ 又は 5 $\mu\text{mol/L}$ 、溶媒：0.1%エタノール）の活動電位に対する作用を検討した。測定した活動電位パラメータは、振幅（APA）、静止電位（RP）、最大立ち上がり速度（ V_{max} ）及び活動電位持続時間（ APD_{50} 、 APD_{70} 及び APD_{90} ）である。

チカグレロルは 0.5 $\mu\text{mol/L}$ 又は 5 $\mu\text{mol/L}$ の濃度で（実測濃度はそれぞれ 0.366 及び 3.34 $\mu\text{mol/L}$ ）、通常頻度（1 Hz）又は低頻度（0.33 Hz）で刺激した活動電位パラメータに対し影響を及ぼさなかった。また、いずれの濃度においても早期後脱分極は認められなかった。

2.6.2.4.2.3 hERG チャネルに対する作用（試験 0143SZ）

hERG チャネルを発現させた CHO 細胞を用いて、室温下ホールセルパッチクランプ法で測定を実施した。各細胞に溶媒（0.1%DMSO）を添加後、チカグレロルを 3 又は 4 種の濃度で累積的に曝露した（設定濃度 0.3、1、3 及び 5 $\mu\text{mol/L}$ ）。最大濃度添加後、ウォッシュアウトし、作用の可逆性を検討した。

試験開始及び試験終了後に回収した灌流液を分析したところ、チカグレロルの作用濃度は、添加濃度の 21.9～45.8%であった。チカグレロルは、hERG チャネルを阻害し、 IC_{50} 値は 1.72 $\mu\text{mol/L}$ であった。

2.6.2.4.2.4 麻酔ウサギ 1 羽を用いたチカグレロルのナノサスペンション製剤化検討における心血管系への影響（試験 AZMR10298 [参考資料]）

ニュージーランド白色成熟ウサギ 1 羽を用いたチカグレロルのナノサスペンション製剤化方法の検討において心血管系への影響についても評価したため、その観察所見を要約した。なお、チカグレロルをナノサスペンション製剤化の対象としたのは、本剤の物理化学的特性を考慮してのことであり、またその他のナノサスペンション製剤化においても本剤が使用されていたためでもあった。

ウサギにケタラール[®] 2.5 mg/kg 及び Domitor[®] 0.07 mg/kg を急速静注して麻酔を導入し、持続注入（それぞれ 11 及び 0.33 mg/kg/h）にて麻酔を維持した。その後、ウサギに気管挿管と人工換気を施し、心房ペースング装置及び平均血圧と心拍数記録装置を装着し、採血用の処置を行った。

測定準備終了の約 1 時間後、対照としてチカグレロル投与前値を 3 回測定した後、チカグレロルのナノサスペンション製剤を 2 回 25 分間静脈内持続注入した (5 及び 15 $\mu\text{mol/kg}$ 、各投与間で 60 分間の観察期間を設定)。チカグレロル静脈内投与時 (チカグレロル血漿中濃度が約 3.5 $\mu\text{g/mL}$ の時点) には、平均血圧の低下 (11%)、心拍数増加 (12%)、PQ 間隔短縮、右心房有効不応期の延長 (15%) が認められた。これらの変化の程度はチカグレロル血漿中濃度が 12.3 $\mu\text{g/mL}$ の時点まで増大した。本試験では 1 羽のウサギしか使用しておらず、交絡因子となる変数の影響を評価するための適切な溶媒投与対照群を設けていなかったため、心血管系に対する影響について結論することはできなかった。なお、チカグレロルの製剤を治療目的でヒトに静脈内投与することは行っていない。

2.6.2.4.3 呼吸器系に対する作用

2.6.2.4.3.1 ラット呼吸機能に対する作用 (試験 990632P (SR99346-01), 20060077PCR (1266SR))

1 群 8 匹の雄性 Wistar ラット (週齢：8~10、体重：293~344 g) を用いてチカグレロルの呼吸機能に対する作用を検討した (試験 990632P (SR99346-01))。覚醒ラットにチカグレロル (0 [溶媒]、1、10 又は 100 mg/kg) を単回経口投与した後、呼吸パラメータ (呼吸数、最大吸気及び呼気流量、吸気及び呼気時間、1 回換気量並びに気道抵抗) に対する作用を全身プレチスモグラフィにて検討した。統計学的解析には、Newman-Keuls 検定を用いた。

チカグレロルは、1 mg/kg の用量では呼吸機能に対し影響を及ぼさなかった。10 mg/kg 及び 100 mg/kg の用量で、用量依存的な呼吸数の増加及び呼気時間の減少が認められた。呼吸数の増加について、10 mg/kg 投与群における最大作用は 9%増加 (投与 60 分後 $P \leq 0.05$)、100 mg/kg 投与群における最大作用は 25%増加 (投与 30 分後、 $P \leq 0.01$) であった。呼気時間の減少については、10 mg/kg 投与群における最大作用は 15%減少 (投与 30 分後、 $P \leq 0.05$)、100 mg/kg 投与群における最大作用は 20%減少 (投与 60 分後、 $P \leq 0.01$) であった。1 回換気量、最大吸気及び呼気流量、吸気時間又は気道抵抗に対し、全ての用量で影響は認められなかった。

別試験で、覚醒ラット (雄性 Wistar ラット、週齢：8、体重：273.6~314.7 g、1 群あたり $n = 8$) にチカグレロル (0 [溶媒]、100 mg/kg) を単回経口投与した後、呼吸パラメータ (呼吸数、最大吸気及び呼気流量、吸気及び呼気時間、1 回換気量並びに分時換気量) に対する作用を全身プレチスモグラフィにて検討した (試験 20060077PCR (1266SR))。

本試験では、100 mg/kg のチカグレロルの経口投与は覚醒ラットの呼吸機能に影響を及ぼさなかった。

2.6.2.4.3.2 ラット呼吸機能に対する作用：高用量チカグレロルの影響 (試験 1116SR)

雄性 Han Wistar ラット (体重：231~281 g、1 群あたり $n=8$) に、溶媒又はチカグレロル (Part1：10 及び 100 mg/kg、Part2：100 及び 1000 mg/kg) を単回経口投与した。全身プレチスモグラフィにて呼吸パラメータを投与約 4 時間後まで測定した。統計学的解析には、対応のある t 検定を用いた。

Part1 試験では、10 mg/kg のチカグレロル投与により、投与 60~150 分後において呼吸刺激作用が認められたものの (呼吸数、分時換気量及び最大呼気流量の増加、並びに呼気時間の減少、

P<0.05)、100 mg/kg 投与群では呼吸パラメータに顕著な影響は認められず(投与 150 分後における最大呼気流量の増加及び呼気時間の減少に統計学的有意差が認められた)、用量非依存的な影響であった。Part2 試験では、100 及び 1000 mg/kg のチカグレロル投与により、用量依存的かつ有意な最大吸気量の増加(投与 60~180 分後、P<0.05)が認められ、1000 mg/kg 投与群では、更に最大呼気流量の有意な増加(投与 60~150 分後、P<0.05)が認められた。

2.6.2.4.3.3 ラット呼吸機能に対する作用：アデノシン受容体拮抗薬の影響(試験 20040510SPC (0789SR))

非拘束覚醒雄性 Wistar ラット(体重：283.2~470.5 g、1 群あたり n = 8)にチカグレロル(0 [溶媒]、10 又は 100 mg/kg)を単回経口投与した後、呼吸パラメータ(呼吸数、最大吸気及び呼気流量、吸気及び呼気時間、1 回換気量並びに分時換気量)に対する作用を全身プレチスモグラフィーにて検討した。チカグレロル投与 1 分前に、0.3 mg/kg の 1,3-Dipropyl-8-p-sulfophenylxanthine [アデノシン受容体拮抗薬、以下 DPSPX] 又は DPSPX の溶媒(45%ヒドロキシプロピルシクロデキストリン水溶液)を急速静脈内注入した。統計学的解析には、Newman-Keuls 検定を用いた。

10 及び 100 mg/kg の用量で、チカグレロルは用量依存的に呼吸数、最大吸気及び呼気流量、並びに分時換気量を増加させ、呼気時間を減少させた(P<0.05)。吸気時間又は 1 回換気量に対する影響は全ての用量で認められなかった。DPSPX + チカグレロル投与群では、DPSPX + チカグレロル溶媒投与群に比し、いずれの呼吸パラメータにも有意な変化は認められなかった。本成績から、DPSPX 前処置によりチカグレロルの呼吸機能に対する影響が抑制されることが示唆される。しかしながら、DPSPX + チカグレロル投与群の成績を DPSPX 溶媒 + チカグレロル投与群の成績と比較すると、呼吸パラメータに有意な差は認められなかった(例外：10 mg/kg のチカグレロル投与群における最大吸気流量の増加が DPSPX 前処置で抑制された、P<0.05)。即ち、本試験では、DPSPX 自体が呼吸刺激作用を示したと考えられ、チカグレロルによる呼吸機能への影響が DPSPX により阻害されたか否かを確認するに至らず、またチカグレロルの呼吸機能への影響がアデノシン受容体に関連するか否かも確認できなかった。

2.6.2.4.3.4 ラット呼吸機能に対する作用：アデノシンの影響(試験 1207SR, 1267SR)

雄性 Han Wistar ラット(体重：209~324 g、1 群あたり n = 6~8)に溶媒(生理食塩液)又はアデノシンを持続注入した(1 用量を約 15 分間で投与、0.05~4 mg/kg を用量漸増投与、試験 1207SR)。溶媒投与後にアデノシンを投与し、溶媒投与開始から 160 分後まで全身プレチスモグラフィーにて呼吸パラメータを測定した。溶媒及びアデノシンはチャンバー内で投与した。統計学的解析は、対応のある t 検定を用いた。

アデノシンの持続注入は呼吸刺激作用を示し、2 及び 4 mg/kg のアデノシン投与群で統計学的に有意な変化が認められた(P<0.05)。

別試験で、雄性 Han Wistar ラット(体重：214~302 g、1 群あたり n = 6~8)にチカグレロル(0 [溶媒]、100 mg/kg)を連日経口投与(5 日間)し、各投与日のチカグレロル投与 60 分後にアデノシンを静脈内投与した(試験 1267SR)。アデノシンは 0 (溶媒：生理食塩液)、1、5、20 又は 40 mg/kg の用量で 1 日 1 用量投与した。チカグレロル投与 4 時間後まで、全身プレチスモグラフィーにて呼吸機能を測定した。統計学的解析には、対応のある t 検定を用いた。

チカグレロル (100 mg/kg) + アデノシン溶媒投与群では、両溶媒投与群に比し、呼吸数、1 回換気量及び分時換気量に統計学的に有意な増加が認められた (投与 85~95 分後、 $P<0.05$)。チカグレロル + 5 mg/kg のアデノシン投与群では、統計学的に有意な 1 回換気量の増加が認められた ($P<0.05$ 、チカグレロル溶媒 + 5 mg/kg のアデノシン投与群との比較)、チカグレロル + 20 mg/kg のアデノシン投与群では、吸気時間、及び呼気時間に統計学的に有意な増加が認められた ($P<0.05$ 、チカグレロル溶媒 + 20 mg/kg のアデノシン投与群との比較)。チカグレロル + 40 mg/kg のアデノシン投与群では、統計学的に有意な呼気時間の増加が認められた ($P<0.05$ 、チカグレロル溶媒 + 40 mg/kg のアデノシン投与群との比較)。認められた全ての影響について、チカグレロル溶媒 + 各用量のアデノシン投与群に比し、ベースライン値の上昇が認められており、投与後の有意な増加はいずれもベースライン値と比較して差は認められなかった。上記以外で、チカグレロル溶媒 + 各用量のアデノシン投与群に比し統計学的に有意差が認められたパラメータは、単一時点での変化であり、正常変動範囲内と考えられることから、チカグレロル投与に関連しないと考えられた。

2.6.2.4.3.5 麻酔ラットの呼吸機能に対する作用 (試験 1864SR, 1764SR)

雄性 Han Wistar ラット (体重：314~342 g、1 群あたり $n=6$) に、チカグレロル (10~100 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$) 又は溶媒 (5%マンニトール水溶液 [チカグレロルに対し 13% w/w PVP 及び 0.7% w/w AOT を含む]) を持続注入した (試験 1864SR)。メドトミジン及びケタミンの混合麻酔下 (皮下投与) にて、ラットの気管にカニューレを挿入し、呼吸機能を測定した。呼吸機能の測定開始 5 分後より、計 15 分間チカグレロル又は溶媒を持続注入した。統計学的解析には t 検定を用いた。

チカグレロルは 100 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ の用量まで、呼吸数、吸気及び呼気時間に影響を及ぼさなかった。チカグレロルの持続注入により、1 回換気量、分時換気量及び最大吸気及び呼気流量の有意な増加が認められた ($P<0.05$)。しかしながら、これらの変化に用量依存性は認められず、低用量の 10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ 投与群で最も顕著な変化であった。

別試験で、麻酔ラットにおける呼吸機能に対するチカグレロルとアデノシンの併用投与の影響を検討した (試験 1764SR)。雄性 Han Wistar ラット (体重：307~343 g、1 群あたり $n=6$) に、アデノシン (300 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ 、溶媒：生理食塩液)、チカグレロル (10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ 、溶媒：5%マンニトール水溶液 [チカグレロルに対し 13% w/w PVP 及び 0.7% w/w AOT を含む]) 又はそれぞれの溶媒を併用にて持続注入した (試験 1764SR)。チカグレロル又はその溶媒は、呼吸機能測定の 3 分前より持続注入し、2 分間呼吸機能を測定した。その後、アデノシン又はその溶媒を 15 分間持続注入した。呼吸機能は持続注入終了 15 分後まで測定した。

麻酔ラットにおけるチカグレロルの静脈内投与は、アデノシンの有無に関わらず、呼吸パラメータに有意な影響を及ぼさなかった。

2.6.2.4.3.6 新生児ラットの呼吸機能に対する作用 (試験 3233SR)

新生児 Han Wistar ラット (生後 13 日、体重：24.9~33.6 g、1 群 8 匹) に、溶媒又はチカグレロル (180 mg/kg) を単回経口投与した。投与 60 分後より、全身プレチスモグラフィにて呼吸機能を 120 分間測定した。

呼吸数、一回換気量、分時換気量、吸気及び呼気時間、並びに最大吸気及び呼気流量に対し、チカグレロル投与による影響は認められなかった。

2.6.2.4.4 消化管系に対する作用

2.6.2.4.4.1 腸管輸送に対する作用（試験 990631P (SR99345-01)）

雄性 Wistar ラット（週齢：8～10、体重：266.0～308.7 g、1 群 8 匹）にチカグレロル（0 [溶媒]、1、10 又は 100 mg/kg）を単回経口投与した。チカグレロル投与 60 分後、ラットに炭末懸濁液を 2 mL 経口投与した。活性炭末懸濁液投与 15 分後、頸椎脱臼によりラットを屠殺し、腸管を摘出した。腸管の総延長距離及び炭末の輸送距離を測定した。統計学的解析には、Newman-Keuls 検定を用いた。

チカグレロルは 1 又は 10 mg/kg の用量で、腸管輸送に影響を及ぼさなかった。100 mg/kg の最高用量では、チカグレロルは統計学的に有意に腸管輸送を低下させた ($P \leq 0.01$)。

2.6.2.4.5 生理食塩液負荷ラットの腎機能に対する作用（試験 99331 (SR99331-01)）

雄性 Wistar ラット（週齢：約 7、体重：198.6～237.2 g、1 群 8 匹）に、チカグレロル（0 [溶媒：1% CMC/0.1% Tween 80]、1、10 又は 100 mg/kg）を単回経口投与した。チカグレロル投与直後に、ラットに 0.9%の生理食塩液を強制経口投与し、尿採取用ケージに入れた。投与後 4 時間まで、及び投与後 4 時間から 24 時間までの尿を回収した。各尿サンプルにおいて、pH、尿量、尿比重、及び尿中ナトリウム、カリウム、塩素、総蛋白質並びにクレアチニン濃度を測定した。統計学的解析には、一元配置分散分析 + Dunnett の多重比較検定又は Kruskal-Wallis 検定 + Mann-Whitney U 検定を用いた。

1 mg/kg のチカグレロル単回投与では、腎機能に影響は認められなかった。投与後 4 時間までの尿サンプルにて、10 及び 100 mg/kg の用量で尿中ナトリウム/クレアチニン比の増加が認められ ($P < 0.05$)、最高用量の 100 mg/kg では尿中塩素/クレアチニン比の増加及び尿 pH の上昇が認められた ($P < 0.05$)。チカグレロルは、腎機能に関するその他の項目に影響を及ぼさなかった。

2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験

2.6.2.5.1 アスピリンとの相互作用

2.6.2.5.1.1 P2Y₁₂ 受容体シグナル伝達に対するアスピリンの作用（試験 AZMR10072）

[方法]

臨床でチカグレロルを投与される患者の多くは、アスピリンを服用していると考えられる。本試験では、*in vitro* におけるアスピリンとの相互作用を GTP γ S 結合法を用いて検討した（試験 AZMR10072）。

ヒト P2Y₁₂ 受容体を導入した CHO K1 細胞より膜画分を調製した。膜画分にアスピリンを 0.1、0.5、1.0 及び 5.0 mmol/L でそれぞれ添加し、室温にて 60 分間（実験 1）又は 90 分間（実験 2）

2.6.2 薬理試験の概要文

一般名/効能効果案：チカグレロル/急性冠症候群、陳旧性心筋梗塞

プレインキュベートした。種々の濃度のチカグレロル (0.0002~10 $\mu\text{mol/L}$)、 $^{35}\text{S-GTP}\gamma\text{S}/2\text{Me-S-ADP}$ 混合液 (それぞれ 448 pmol/L 及び 8 nmol/L)、及びヒト P2Y_{12} 受容体膜画分 (アスピリン 処置又は非処置) を 96 穴プレートに添加し、 $^{35}\text{S-GTP}\gamma\text{S}$ 結合試験を実施した。プレートを 30°C で 45 分間インキュベートした後、濾過を行った。フィルター上の結合放射活性をシンチレーションカウンターにて測定した。

【結果】

アスピリン (0.1~5.0 mmol/L) のプレインキュベーションは、チカグレロルの 2Me-S-ADP 誘発 P2Y_{12} 受容体シグナル伝達阻害作用に影響を及ぼさなかった (表 6)。

表 6 アスピリンとのプレインキュベーション後の 2Me-S-ADP 誘発 P2Y_{12} 受容体シグナル伝達に対するチカグレロルの阻害作用

アスピリン (mmol/L)	IC ₅₀ 値 ($\mu\text{mol/L}$)	
	実験 1	実験 2
0	0.021	0.022
0.1	0.018	0.024
0.5	0.018	NA
1.0	0.021	0.023
5.0	NA	0.019

NA : 測定せず

【結論】

アスピリンは、チカグレロルの 2Me-S-ADP 誘発 P2Y_{12} 受容体シグナル伝達の阻害に影響を及ぼさなかった (試験 AZMR10072)。

他の検討 (試験 Warner 2010) から、アスピリン非存在下において、チカグレロルが P2Y_{12} 受容体の阻害作用に依存して、トロンボキサン生成を阻害し、その結果トロンボキサン経路を介した血小板活性化を阻害することが示されている。このため、 P2Y_{12} 受容体に対して強い阻害作用を示すチカグレロルの用量と併用した際、アスピリンによる抗血小板作用の相加効果は限定的であったと考えられる。本試験の成績の一部は論文報告されている (Kirkby et al 2011)。

2.6.2.5.1.2 高用量アスピリンとチカグレロルの併用投与 (試験 AZMR10239)

【方法】

麻酔イヌの大腿動脈血栓形成モデル (雄性ビーグル犬、月齢：7~15、体重：12.7~16.2 kg、1 群あたり n=6、2.6.2.2.2.2項参照) を用いて、 P2Y_{12} 受容体拮抗薬とシクロオキシゲナーゼ阻害薬の *in vivo* 及び *ex vivo* における相互作用を検討する目的で、チカグレロル及びクロピドグレルの単独投与並びに各薬物と高用量アスピリンの併用投与による影響を評価した。

各試験で、溶媒の投与後、チカグレロル (溶媒：5%マンニトール、0.017% PVP、0.000087% AOT 水溶液) 又はクロピドグレル (溶媒：生理食塩液) を P2Y_{12} 受容体拮抗薬の最大用量 (*in vivo* における血栓形成を完全に阻害し [CFR の消失]、*ex vivo* における ADP 誘発血小板凝集をほぼ 100%阻害する用量) 又は最大下用量 (*in vivo* における血栓形成を完全には阻害せず [CFR は抑制されるものの消失には至らない]、*ex vivo* における ADP 誘発血小板凝集を約 80%阻害す

る用量)で投与した。30分間の計2期間で、P2Y₁₂受容体拮抗薬の単独投与の影響を測定した後、高用量アスピリン(溶媒：蒸留水)を投与した。その後、更に30分間の計2期間で、P2Y₁₂受容体拮抗薬とアスピリンとの併用効果を評価した。別の試験としてアスピリン単独の影響も評価した。チカグレロルの最大下用量は、22.5 µg/kgの急速注入後に3 µg/kg/minの持続注入、最大用量は210 µg/kgの急速注入後に30 µg/kg/minの持続注入とした。クロピドグレルの最大下用量は2000 µg/kgの急速注入、最大用量は6500 µg/kgの急速注入とした。アスピリンは50000 µg/kgで急速注入した。

各30分間の期間中の20分の時点で血液を採取し、*ex vivo*における血小板凝集を評価した。各30分間の期間中、尿を回収し、*in vivo*におけるPGI₂産生を評価した。*In vivo*におけるPGI₂産生の時間平均量として、尿中PGI₂代謝物、2,3-dinor-6-keto-prostaglandin F_{1α}を測定した。なお、*in vivo*におけるPGI₂産生は、全ての動物での測定は実施せず、アスピリン単独投与群6頭、最大下用量の各4頭及び最大用量の各1頭で測定した。単独及び併用投与の2期間目の30分間を定常状態とし、本期間の成績を評価した。血管抵抗は、平均血圧と大腿動脈血流の比として算出した。

統計学的解析には、2標本t検定又は対応のあるt検定を用いた。

[結果]

P2Y₁₂受容体拮抗薬の最大下用量では、高用量のアスピリンとの併用投与により、チカグレロル及びクロピドグレルの抗血栓作用及び抗血小板作用に増強が認められた(P<0.05 [抗血小板作用]、抗血栓作用については統計学的解析を実施しなかった)。しかしながら、高用量のアスピリンをP2Y₁₂受容体拮抗薬の最大用量と併用すると、抗血栓作用に更なる増強は認められず、抗血小板作用に僅かな増強が認められた(P<0.05 [抗血小板作用]、抗血栓作用については統計学的解析を実施しなかった)。

高用量のアスピリン投与では、単独投与及びP2Y₁₂拮抗薬との併用投与のいずれにおいても、血管抵抗の上昇及び*in vivo*におけるPGI₂産生の障害が認められた(P<0.05)。P2Y₁₂受容体拮抗薬の最大下用量では、クロピドグレル及びチカグレロルの単独投与により、僅かではあるものの有意な血管抵抗の上昇が認められたものの(P<0.05)、最大用量では有意な上昇は認められなかった。高用量のアスピリンとクロピドグレル又はチカグレロルの併用投与で認められた血管抵抗の上昇は、高用量のアスピリン単独投与群と同程度であった。

[結論]

P2Y₁₂受容体の障害は、血小板活性化で生じるトロンボキサン経路の活性化をアスピリン非依存的に障害する。本モデルでは、アスピリンとP2Y₁₂受容体拮抗薬の最大下用量の併用により、抗血栓及び抗血小板作用に増強が認められた。しかしながらアスピリンとP2Y₁₂受容体拮抗薬の最大用量の併用では、抗血栓作用に増強は認められず、抗血小板作用に僅かな増強が認められた。この抗血栓作用と抗血小板作用の差は、P2Y₁₂受容体障害の程度によるものであり、使用したP2Y₁₂受容体拮抗薬では差は認められなかった。高用量アスピリン投与により、*in vivo*におけるPGI₂産生の減少及び血管抵抗の増加が認められたものの、これらの作用はP2Y₁₂受容体拮抗薬に非依存的作用であった。

上記の試験結果は既に論文報告されている(Björkman et al 2013)。

2.6.2.5.1.3 アスピリン前投与動物におけるチカグレロルの作用(試験 SC-103288)

[方法]

本試験では、アスピリンを経口投与（150 mg/day、7 日間）した雄性ビーグル犬（月齢：8～18、体重：10～14 kg、1 群あたり n=6）を用いて、チカグレロルの影響を検討した。本試験では 2.6.2.2.2.2項で記載したモデルと同一のモデルを用いた。チカグレロル（溶媒：DMA/PEG 水溶液）は、0.1～10 µg/kg/min で持続注入した。本試験では、CFR を 50%阻害する用量（CFR ID₅₀）、及び出血時間を 3.5 倍延長させる用量（BT_{3.5-fold}）を測定した。加えて、抗血栓作用の有効用量（CFR ID₁₀₀）を、ほぼ完全に CFR を阻害する用量（CFR 阻害率 = 90～100%）として算出した。

【結果】

アスピリン前投与動物における CFR ID₁₀₀ の幾何平均値は 0.41 µg/kg/min、BT_{3.5-fold} は 5.0 µg/kg/min であった。チカグレロルの抗血栓作用と出血時間延長作用の乖離は、アスピリン前投与動物でも良好に保持された（CFR ID₁₀₀における出血時間の増加は 2 倍、BT_{3.5-fold}：CFR ID₅₀比は 12.1）。アスピリン非投与動物（2.6.2.2.2.2項）と比較すると、アスピリン前投与動物では CFR 及び出血時間のいずれにおいてもチカグレロルの作用に増強傾向が示された。

【結論】

チカグレロルは、アスピリン存在下においても抗血栓作用を示し、血栓形成を最大に阻害する用量では、顕著な出血時間延長作用は認められなかった。

2.6.2.5.2 チカグレロルとデスマプレシン又は線溶阻害薬との併用投与（試験 2687-01）

【方法】

雄性 Sprague-Dawley ラット（体重：318～440 g、n=7～12）を用いた動脈血栓形成及び出血時間の評価モデルにおいて、チカグレロル（急速注入 [750 µg/kg] 後に持続注入 [100 µg/kg/min]、溶媒：5%マンニトール水溶液）の出血時間延長作用に対するデスマプレシン（以下、DDAVP、100 µg/kg の静脈内投与、溶媒：生理食塩液）、アプロチニン（急速注入 [30000 KIU/kg] 後に持続注入 [90000 KIU/kg/h]、溶媒：生理食塩液）、又は DDAVP + トラネキサム酸（急速注入 [15 µg/kg] 後に 5 分間の持続注入 [300 mg/kg]）投与による影響を検討した。麻酔ラットの頸動脈に塩化第二鉄を処置することで血栓形成を惹起し、尾部を縦断切開することで出血させた。出血時間は、止血までの 5 分毎で創傷部上の脱脂綿を交換することで評価し、出血時間を脱脂綿の交換回数で表した。

【結果】

チカグレロルは 1.6～5.6 µmol/L の血漿中濃度で、脱脂綿の交換回数で示す出血時間を 2 ± 0.3 から 8.1 ± 0.9 及び 8.9 ± 0.4（平均値 ± 標準誤差）まで顕著に延長させた。DDAVP、アプロチニン又は DDAVP + トラネキサム酸の投与により、チカグレロルの出血時間延長は有意に短縮されず、チカグレロルの抗血栓作用も抑制されなかった。

【結論】

本ラットモデルにおいて、DDAVP、アプロチニン、又は DDAVP + トラネキサム酸の投与は、チカグレロルによる出血時間延長作用又は抗血栓作用に対し抑制作用を示さなかった。

2.6.2.5.3 チカグレロルの出血時間延長作用に対するノボセブン® (遺伝子組換え活性型血液凝固因子製剤) の作用 (試験 AZMR10333)

[方法]

本試験では、2.6.2.3.4.6項で記載したマウス出血モデルを用いて検討した (雄性及び雌性 C57BL/6 マウス、日齢：45~71、体重：17.4~26.4 g、n=12~14)。

溶媒 (5%マンニトール水溶液) 又はチカグレロル (急速注入 [1200 µg/kg] 後に持続注入 [30 µg/kg/min]) を試験終了まで静脈内投与した。投与 20 分後に尾先端を切断し、失血量及び出血時間の評価を開始した。尾先端の切断直後に、組換えヒト第 VII 因子 (ノボセブン®、1 mg/kg) 又は溶媒 (生理食塩液) を急速注入した。失血量の成績は対応のある t 検定を、出血時間の成績は Mann-Whitney 検定を用いて解析した。

[結果]

チカグレロル投与により、ADP (6.5 µmol/L) 誘発血小板凝集はほぼ完全に阻害された。

溶媒投与群に比しチカグレロル投与群では、失血量が 7.5 倍に増加し、出血時間は 4.5 倍に延長した (いずれも $P<0.01$)。この出血に対するチカグレロルの作用は、ノボセブン®投与により減弱し、併用投与時の失血量は 3.3 倍 ($P<0.05$) に増加し、出血時間は 2.0 倍 ($P<0.01$) に延長した。本モデルでは、組換えヒト第 VII 因子 (ノボセブン®) はチカグレロルの出血に対する作用を部分的に減弱させることが示された。

[結論]

本モデルにおいて、組換えヒト第 VII 因子はチカグレロルの出血時間延長作用を部分的に抑制した。

2.6.2.5.4 クロピドグレルとの潜在的相互作用

チカグレロルとクロピドグレルとの間の潜在的薬力学的薬物相互作用について、イヌを用いて検討した (Ravnefjord et al 2012)。クロピドグレルとチカグレロルとの間に認められた相互作用は、クロピドグレルを投与後の受容体占有率に依存していると考えられた。重要なことに、血小板凝集抑制作用を示す血中トラフ濃度が得られる用量で、クロピドグレルをチカグレロルと共に投与したとき、チカグレロルとクロピドグレルとの間に顕著な薬力学的相互作用は認められなかった。

2.6.2.5.5 リバーロキサバンとの潜在的相互作用

組織因子 (TF) 誘導血小板凝集及び TF 誘導トロンビン産生、並びに、*in vivo* のラット動静脈シャントモデルにおいて、チカグレロルをリバーロキサバンと併用したとき、チカグレロルはリバーロキサバンの抗血栓作用を増強した (Perzborn et al 2011a, Perzborn et al 2011b, Perzborn et al 2012)。

2.6.2.6 考察及び結論

非臨床薬理試験から、チカグレロルは強力、選択的、可逆的、直接的かつ経口投与可能な P2Y₁₂ 受容体拮抗薬であり、アデノシンニリン酸（以下、ADP）誘発血小板凝集を濃度（用量）依存的に阻害し、その作用が ADP 非競合的であることが示された。チクロピジン、クロピドグレル、プラスグレル等のチエノピリジン誘導体はプロドラッグであり、P2Y₁₂ 受容体の間接的阻害薬として作用する。一方、チカグレロルの *in vitro* 試験系における抗血小板作用、及びイヌの *in vivo* モデルにおける速やかな作用発現から、これらのチエノピリジン誘導体とは異なる反応を示すことが示唆される。加えて、チエノピリジン誘導体は P2Y₁₂ 受容体に不可逆的に結合するため、血小板の寿命の残存期間中、その機能が阻害されるのに対し、チカグレロルは ADP 誘発血小板凝集を可逆的に阻害する。*In vivo* の非臨床薬理試験成績から、チカグレロルの抗血栓作用と出血時間延長作用との乖離は、チエノピリジン誘導体及び経口 GPIIb/IIIa 拮抗薬よりも良好であることが示された。チカグレロルの抗血栓作用と出血時間延長作用との乖離は、アスピリン前投与動物においても保持された。チカグレロルの単独投与では、0.20 µmol/L の血漿中濃度で、*ex vivo* における ADP 誘発血小板凝集に対し 80%超の阻害、及び *in vivo* における血栓形成に対し 50%超の阻害が認められた。更に 0.76 µmol/L の血漿中濃度では、*ex vivo* における ADP 誘発血小板凝集及び *in vivo* における血栓形成のいずれも 100%阻害した（試験 2629-01）。これは、アジア共同第 II 相試験（以下、試験 D5130C00065）の安定期の冠動脈疾患を有する日本人患者における 90 mg 1 日 2 回投与後の 28 日目の平均血漿中濃度（506 ng/mL ; 0.97 µmol/L）に相当すると考えられる（試験 D5130C00065 の安定期の冠動脈疾患を有する日本人患者における 90 mg 1 日 2 回投与後の 28 日目の平均最高血漿中濃度 [C_{max}] は、931 ng/mL [1.78 µmol/L] であった）。

P2Y₁₂ 受容体拮抗作用以外で、チカグレロルの最も強力な作用は ENT1 によるアデノシン取り込み阻害作用（K_i 値=41 nmol/L）であった（試験 2549KV）。チカグレロルの ENT1 に対する親和性は、アデノシン取り込み阻害薬であるジピリダモール（K_i 値=2.6 nmol/L）に比し 10 倍以上弱かった。*In vivo* の試験から、チカグレロルは 4~13 µmol/L の血漿中濃度で、ジピリダモールと同様に外因性及び内因性のアデノシンによる冠血流量の増加を増強した（試験 26709 (3428-01)）。イヌ心筋梗塞モデルの成績から、チカグレロル投与により梗塞領域が 60%縮小することが示された（Wang et al 2010）。同試験で、クロピドグレルは血小板凝集をほぼ完全に阻害し、チカグレロルに比し有意な出血時間延長作用を示したものの、梗塞領域に影響を及ぼさなかった。同様に、ラット再灌流傷害モデルを用いた研究で、再灌流開始前にチカグレロルを 7 日間反復経口投与したとき梗塞領域の用量依存的に縮小し、この作用はアデノシン受容体拮抗作用により減弱したことから、そのメカニズムはアデノシンに関連することが支持された（Nanhwan et al 2014）。また、同じラット再灌流傷害モデルを用いた follow-up 研究で、再灌流開始の直前にチカグレロルを単回投与することにより、梗塞領域は、再灌流開始前に前投与を行った場合と同程度に縮小した。この単回投与後の梗塞領域の縮小により 4 週間後の心機能の改善がもたらされた（Birnbbaum et al 2014）。*In vitro* 試験から、チカグレロルがヒト全血に添加したアデノシンの半減期を濃度依存的に延長させたことから（試験 AZMR10120）、血小板に発現するアデノシン A_{2A} 受容体を介したアデノシン誘発血小板凝集抑制作用を増強すると考えられる。同試験において、ヒト全血に添加したアデノシンの消失時間に対するチカグレロルの最小有効濃度は 1 µmol/L であった。以上より、*in vitro* 試験で認められたチカグレロルのアデノシン取り込み阻害作用が、臨床においても発現する可能性が示唆される。

hERG でコードされるカリウムチャネルに対する IC₅₀ 値は 1.72 µmol/L であり（試験 0143SZ）、成人で測定されたフリー体の C_{max} の約 156 倍であった。C_{max} は、試験 D5130C00065 の安定期の冠動脈疾患を有する日本人患者における 90 mg 1 日 2 回投与後の 28 日目の C_{max}（931 ng/mL ;

1.78 $\mu\text{mol/L}$ を非結合型分率 (0.6%) で調整し、5.59 ng/mL (0.011 $\mu\text{mol/L}$) と算出された。麻酔イヌで、チカグレロルは 100 mg/kg 以下の投与量で心血管系に影響を及ぼさず (試験 990630 P (99341))、100 mg/kg 投与群におけるフリー体の C_{max} (0.022 $\mu\text{mol/L}$) は、ヒトのフリー体の C_{max} (0.011 $\mu\text{mol/L}$) の約 2 倍であった。さらに、チカグレロルは、設定濃度 5 $\mu\text{mol/L}$ (実測濃度 3.34 $\mu\text{mol/L}$) 以下では、イヌ摘出プルキンエ線維標本の活動電位に影響を及ぼさなかった (試験 20010128 PECM (00210))。イヌ摘出プルキンエ線維標本の活動電位に対する無影響量 (NOEL) は 3.34 $\mu\text{mol/L}$ より高濃度であり、ヒトにおけるフリー体の C_{max} (0.011 $\mu\text{mol/L}$) の約 304 倍であった。

チカグレロルは 10 及び 100 mg/kg の用量で、ラット呼吸機能に対し軽度の刺激作用を示した (試験 990632P (SR99346-01))。そのため、臨床試験で認められた呼吸困難の発症率の増加が、心筋組織の障害部位から産生されたアデノシンが肺のアデノシン受容体を活性化すると仮説について、ラットを用いて検討した。しかしながら、ラットにチカグレロルを投与した一連の試験で、呼吸機能に対する影響に一貫性のある成績は得られず、上述の仮説に関する明確な結論は得られなかった。したがって、本作用と臨床試験で認められた呼吸困難との関係は明らかになっていない。ラット呼吸機能に対する影響は、投与 1 時間までで認められたものの (試験 990632P (SR99346-01))、本試験の血漿中濃度は投与 4 時間後のみで測定したため、腸管輸送を検討した安全性薬理試験 (試験 990631P (SR99345-01)) から、投与 1 時間後の血漿中濃度の成績を用いて臨床用量と比較した。その結果、10 mg/kg の用量では、投与 1 時間後における血漿中濃度は 849 ng/mL (1.6 $\mu\text{mol/L}$) であった。この血漿中濃度をラットの非結合型分率 (0.9%) で調整すると、フリー体の血漿中濃度は 7.64 ng/mL (0.015 $\mu\text{mol/L}$) であり、前述の試験 D5130C00065 の安定期の冠動脈疾患を有する日本人患者におけるフリー体の C_{max} を上回る濃度であった (100 mg/kg 投与 1 時間後のフリー体の血漿中濃度は 66.6 ng/mL [0.127 $\mu\text{mol/L}$])。したがって、ラットで認められたチカグレロルの呼吸機能に対する軽度の刺激作用は、臨床において認められた呼吸困難と関連すると推察されるが、本作用は軽度であり、予定臨床用量に影響を及ぼす程の懸念はないと考えられた。

チカグレロルはラットの腸管輸送時間を延長したものの、この作用は最高用量の 100 mg/kg 投与群のみで認められたことから、薬理作用に関連する消化管系への有害な影響が認められる可能性は低いと考えられる (100 mg/kg の投与 1 時間後の血漿中濃度は 7400 ng/mL [14.2 $\mu\text{mol/L}$] であり、フリー体の血漿中濃度は 66.6 ng/mL [0.127 $\mu\text{mol/L}$] であった)。

10 及び 100 mg/kg のチカグレロルの投与により、ラット腎機能に対し軽度な変化が認められた (ナトリウム/クレアチニン比及び塩素/クレアチニン比の増加、尿 pH 上昇)。本試験では血漿中濃度を測定していないため、運動協調性を検討した安全性薬理試験 (試験 99338 (SR99338-01)) から、投与 4 時間後の血漿中濃度の成績を用いて臨床用量と比較した。チカグレロルの 10 mg/kg 投与 4 時間後における血漿中濃度は 526 ng/mL (1.0 $\mu\text{mol/L}$) であった。この血漿中濃度をラットの非結合型分率 (0.9%) で調整すると、フリー体の血漿中濃度は 4.73 ng/mL (0.009 $\mu\text{mol/L}$) であり、前述の試験 D5130C00065 の安定期の冠動脈疾患を有する日本人患者におけるフリー体の C_{max} をわずかに下回る濃度であった (100 mg/kg 投与 4 時間後のフリー体の血漿中濃度は 64.8 ng/mL [0.124 $\mu\text{mol/L}$])。したがって、ラットで認められた腎機能に対する影響は、臨床においても認められる可能性があるものの、本作用は軽度であり、予定臨床用量に影響を及ぼす程の懸念はないと考えられた。

以上、チカグレロルの非臨床薬理学的プロファイルから、チカグレロルは安全かつ有効な抗血小板薬として使用できることが裏付けられた。

2.6.2.7 参考文献

Alsharif et al 2014

Alsharif K, Judge H, Ridger V, Storey R.F. Ticagrelor and dipyridamole potentiate adenosine-induced stimulation of neutrophil chemotaxis in the presence of erythrocytes. ESC 2014, abstract 5805.

(Alsharif KF, Thomas MR, Judge HM, Khan H, Prince LR, Sabroe I, Ridger VC, Storey RF. Ticagrelor potentiates adenosine-induced stimulation of neutrophil chemotaxis and phagocytosis. *Vascul Pharmacol*. 2015 Apr 11. pii:S1537-1891(15)00043-9. doi: 10.1016/j.vph.2015.02.006. [Epub ahead of print])

André et al 2011

André P, DeGuzman F, Haberstock-Debic H, Mills S, Pak Y, Inagaki M, et al. Thienopyridines, but not elinogrel, result in off-target effects at the vessel wall that contribute to bleeding. *J Pharmacol Exp Ther*. 2011 Jul;338(1):22-30.

Armstrong et al 2014

Armstrong D, Summers C, Ewart L, Nylander S, Sidaway JE, van Giezen JJ. Characterisation of the adenosine pharmacology of ticagrelor reveals therapeutically relevant inhibition of equilibrative nucleoside transporter 1. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*. 2014 Mar;19(2):209-19.

Birnbaum et al 2014

Birnbaum Y, Ling S, Nanhwan MK, Kodakandla M, Ye Y. Ticagrelor but not clopidogrel protects the heart and limits myocardial infarct size. *J Am Coll Cardiol*. 2014; 63(12_S) Abstract

(Ye Y, Birnbaum GD, Perez-Polo JR, Nanhwan MK, Nylander S, Birnbaum Y. Ticagrelor protects the heart against reperfusion injury and improves remodeling after myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2015 Jun 4. pii: ATVB.AHA.115.305655. [Epub ahead of print])

Björkman et al 2013

Björkman JA, Zachrisson H, Forsberg GB, von Bahr H, Hansson GI, Warner TD, et al. High-dose aspirin in dogs increases vascular resistance with limited additional anti-platelet effect when combined with potent P2Y12 inhibition. *Thromb Res*. 2013;131(4):313-9.

Bonello et al 2014

Bonello L, Laine M, Kipson N, Mancini J, Helal O, Fromonot J, et al. Ticagrelor increases adenosine plasma concentration in patients with an acute coronary syndrome. *J Am Coll Cardiol*. 2014 Mar 11;63(9):872-7.

Ciana et al 2006

Ciana P, Fumagalli M, Trincavelli ML, Verderio C, Rosa P, Lecca D, et. al. The orphan receptor GPR17 identified as a new dual uracil nucleotides/cysteinyl-leukotrienes receptor. *EMBO* 2006; 25: 4615-27.

Dai et al 2009

Dai J, Louedec L, Philippe M, Michel JB, Houard X. Effect of blocking platelet activation with AZD6140 on development of abdominal aortic aneurysm in a rat aneurysmal model. *J Vasc Surg.* 2009;49:719-27.

Gebremeskel et al 2015

Gebremeskel S, LeVatte T, Liwski RS, Johnston B, Bezuhly M. The reversible P2Y12 inhibitor Ticagrelor inhibits metastasis and improves survival in mouse models of cancer. *Int J Cancer.* 2015;136(1):234-40.

Gelosa et al 2014

Gelosa P, Lecca D, Fumagalli M, Wypych D, Pignieri A, Cimino M, et al. Microglia is a key player in the reduction of stroke damage promoted by the new antithrombotic agent Ticagrelor. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2014;34:979-88.

Grzesk et al 2012

Grzesk G, Kozinski M, Navarese EP, Krzyzanowski M, Grzesk E, Kubica A, et al. Ticagrelor, but not clopidogrel and prasugrel, prevents ADP-induced vascular smooth muscle cell contraction: A placebo-controlled study in rats. *Thromb Res.* 2012;130:65-9.

Grzešk et al 2013

Grzešk G, Kozinski M, Tantry US, Wicinski M, Fabiszak T, Navarese EP, et al. High-dose, but not low-dose, aspirin impairs anticontractile effect of Ticagrelor following ADP stimulation in rat tail artery smooth muscle cells. *Biomed Res Int.* 2013;2013:928271.

Hansson et al 2014

Hansson EC, Shams Hakimi C, Åström-Olsson K, Hesse C, Wallén H, Dellborg M, et al. Effects of ex vivo platelet supplementation on platelet aggregability in blood samples from patients treated with acetylsalicylic acid, clopidogrel, or Ticagrelor. *Br J Anaesth.* 2014;112(3):570-5.

Hobl et al 2013

Hobl EL, Derhaschnig U, Firbas C, Schoergenhofer C, Schwameis M, Jilma B. Reversal strategy in antagonizing the P2Y12-inhibitor Ticagrelor. *Eur J Clin Invest.* 2013;43(12):1258-61.

Hoffman et al 2014

Hoffmann K, Lutz DA, Straßburger J, Baqi Y, Müller CE, von Kügelgen I. Competitive mode and site of interaction of Ticagrelor at the human platelet P2Y₁₂ -receptor. *J Thromb Haemost.* 2014;12:1898-905.

Högberg et al 2010

Högberg C, Svensson H, Gustafsson R, Eyjolfsson A, Erlinge D. The reversible oral P2Y₁₂ antagonist AZD6140 inhibits ADP-induced contractions in murine and human vasculature. *Int J Cardiol* 2010;142:187-92.

Ibrahim et al 2014

Ibrahim K, Schoener L, Richter B, Pfluecke C, Quick S, Poitz D, et al. Reversibility of clopidogrel, prasugrel and Ticagrelor-ex vivo study. *Eur Heart J.* 2014, 35, 1030.

Kirkby et al 2011

Kirkby NS, Leadbeater PD, Chan MV, Nylander S, Mitchell JA, Warner TD. Antiplatelet effects of aspirin vary with level of P2Y₁₂ receptor blockade supplied by either ticagrelor or prasugrel; *J Thromb Haemost* 2011; 9:2103-5.

Kuijpers et al 2011

Kuijpers MJ, Megens RT, Nikookhesal E, Feijge MA, De Mey JG, oude Egbrink MG, et al. Role of newly formed platelets in thrombus formation in rat after clopidogrel treatment: comparison to the reversible binding P2Y₁₂ antagonist ticagrelor. *Thromb Haemost.* 2011;106:1179-88.

Mahaffey et al 2011

Mahaffey KW, Wojdyla DM, Carroll K, Becker RC, Storey RF, Angiolillo DJ, et al. PLATO Investigators. Ticagrelor compared with clopidogrel by geographic region in the Platelet Inhibition and Patient Outcomes (PLATO) trial. *Circulation.* 2011 Aug 2;124:544-54.

Martin et al 2014

Martin A-C, Berndt C, Gaussem P, Gouin-Thibault I, Siguret V, Le Bonniec B, et al. No effect of platelet supplementation to reverse the P2Y₁₂ inhibitor Ticagrelor: An *in vitro* study. *Eur Heart J.* 2014, 35, 1170.

Martini et al 2010

Martini C, Daniele S, Trincavelli ML, Lecca D, Panighini A and Abbracchio MP. The oral reversibly-binding antiplatelet agent, Ticagrelor, acts as an antagonist at the P2Y-like receptor GPR17. *Purinergic Signal.* 2010;6(suppl 1): S1-S162. Abstract P21-4.

Nanhwan et al 2014

Nanhwan MK, Ling S, Kodakandla M, Nylander S, Ye Y, Birnbaum Y. Chronic treatment with Ticagrelor limits myocardial infarct size: an adenosine and cyclooxygenase-2-dependent effect. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2014 Sep;34(9):2078-85.

Nergiz-Unal et al 2010

Nergiz-Unal R, Cosemans JM, Feijge MA, van der Meijden PE, Storey RF, van Giezen JJ, et al. Stabilizing role of platelet P2Y12 receptors in shear-dependent thrombus formation on ruptured plaques. *PLoS One.* 2010 Apr;5(4):e10130.

Nylander et al 2013

Nylander S, Femia EA, Scavone M, Berntsson P, Asztély AK, Nelander K, et al. Ticagrelor inhibits human platelet aggregation via adenosine in addition to P2Y12 antagonism. *J Thromb Haemost.* 2013;11:1867-76.

O'Connor et al 2013

O'Connor S, Martin R, Kerneis M, Abtan J, Brugier D, Silvain J, et al. Assessment of the efficacy of *ex vivo* platelet transfusion in the restoration of platelet function in acute coronary syndrome and PCI presenters treated with clopidogrel, prasugrel or Ticagrelor-the aptitude study. *J Am Coll Cardiol.* 2013, 62, 18, B53.

Öhman et al 2012

Öhman J, Kudira R, Albinsson S, Olde B, Erlinge D. Ticagrelor induces adenosine triphosphate release from human red blood cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2012;418:754-8.

Patil et al 2010

Patil SB, Jackman LE, Francis SE, Judge HM, Nylander S and Storey RF. Ticagrelor effectively and reversibly blocks murine platelet P2Y12-mediated thrombosis and demonstrates a requirement for sustained P2Y12 inhibition to prevent subsequent neointima. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2010;30:2385-91.

Perzborn et al 2011a

Perzborn E, Harwardt M, Heitmeier S, Laux V. Effects of rivaroxaban on thrombin generation is modified by a P2Y12 receptor blocker. *Hamostaseologie.* 2011, 31, 1, A90-A91.

Perzborn et al 2011b

Perzborn E, Harwardt M, Heitmeier S, Laux V. The effect of the oral direct factor Xa inhibitor rivaroxaban on tissue factor mediated *in vitro* platelet aggregation is enhanced by a P2Y12 receptor blocker. *J Thromb Haemost.* 2011, 9, 74.

Perzborn et al 2012

Perzborn E, Heitmeier S, Laux V. Concomitant administration of antiplatelet agents enhances the antithrombotic effects of rivaroxaban in vitro and in vivo. *Eur Heart J.* 2012, 33, 304.

Rahman et al 2014

Rahman M, Gustafsson D, Wang Y, Thorlacius H, Braun OÖ. Ticagrelor reduces neutrophil recruitment and lung damage in abdominal sepsis. *Platelets*, 2014; 25(4): 257-63.

Ravnefjord et al 2012

Ravnefjord A, Weilitz J, Emanuelsson BM, van Giezen JJ. Evaluation of Ticagrelor pharmacodynamic interactions with reversibly binding or non-reversibly binding P2Y12 antagonists in an ex-vivo canine model. *Thromb Res.* 2012;130:622-8.

Rusnak et al 2014

Rusnak J, Mogler C, Buttler A, Bea F, Blessing E, Katus HA, et al. Ticagrelor on advanced atherosclerotic lesions in apolipoprotein E-deficient mice. German Cardiac Society, 80th Annual Meeting 2014, Mannheim. (*Clin Res Cardiol* 103, Suppl 1, April 2014)

Schirmer et al 2012

Schirmer SH, Kratz MT, Kazakov A, Nylander S, Baumhakel M, Laufs U, et al. Inhibition of the adenosine diphosphate receptor P2Y12 reduces atherosclerotic plaque size in hypercholesterolemic ApoE^{-/-} mice. *European Heart Journal.* 2012;33(Abstract Supplement):200.

Speich et al 2014

Speich HE, Bhal V, Houser KH, Caughran AT, Lands LT, Houg AK, et al. Signaling via P2Y12 may be critical for early stabilization of platelet aggregates. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2014 Jun;63(6):520-7.

Sugidachi et al 2013

Sugidachi A, Ohno K, Ogawa T, Jakubowski J, Hashimoto M, Tomizawa A. A comparison of the pharmacological profiles of prasugrel and Ticagrelor assessed by platelet aggregation, thrombus formation and haemostasis in rats. *Br J Pharmacol.* 2013 May;169(1):82-9.

Sürer et al 2014

Sürer S, Toktas F, Ay D, Eris C, Yavuz S, Turk T, et al. Effect of the P2Y12 antagonist ticagrelor on neointimal hyperplasia in a rabbit carotid anastomosis model. *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* 2014;19:198-204.

van Giezen et al 2009a

van Giezen JJ, Nilsson L, Berntsson P, Wissing BM, Giordanetto F, Tomlinson W, et al. Ticagrelor binds to human P2Y12 independently from ADP but antagonizes ADP-induced receptor signaling and platelet aggregation. *J Thromb Haemost.* 2009;7:1556-65.

van Giezen et al 2009b

van Giezen JJ, Berntsson P, Zachrisson H, Björkman JA. Comparison of ticagrelor and thienopyridine P2Y12 binding characteristics and antithrombotic and bleeding effects in rat and dog models of thrombosis/hemostasis. *Thromb Res.* 2009;124:565-71.

van Giezen et al 2012

van Giezen JJ, Sidaway J, Glaves P, Kirk I, Bjorkman JA. Ticagrelor inhibits adenosine uptake *in vitro* and enhances adenosine-mediated hyperemia responses in a canine model. *J Cardiovasc Pharmacol Ther.* 2012; 17(2): 164-72.

Wang et al 2010

Wang K, Zhou X, Huang Y, Khalil M, Wiktor D, van Giezen JJ, et al. Adjunctive treatment with ticagrelor, but not clopidogrel, added to tPA enables sustained coronary artery recanalisation with recovery of myocardium perfusion in a canine coronary thrombosis model. *Thromb Haemost* 2010;104(3):609-17.

West et al 2014

West LE, Steiner T, Judge HM, Francis SE, Storey RF. Vessel wall, not platelet, P2Y12 potentiates early atherogenesis. *Cardiovasc Res.* 2014;102:429-35.

Wihlborg et al 2004

Wihlborg A-K, Wang L, Braun OÖ, Eyjolfsson A, Gustafsson R, Gudbjartsson R et al. ADP receptor P2Y12 is expressed in vascular smooth muscle cells and stimulates contraction in human blood vessels. *Arterioscler Thromb Vasc Bio.* 2004;24:1810-15.

Wittfeldt et al 2013

Wittfeldt A, Emanuelsson H, Brandrup-Wognsen G, van Giezen JJ, Jonasson J, Nylander S, et al. Ticagrelor enhances adenosine-induced coronary vasodilatory responses in humans. *J Am Coll Cardiol.* 2013 Feb 19;61(7):723-7.

Zhang et al 2014a

Zhang K, Zhang J, Gao ZG, Zhang D, Zhu L, Han GW, et al. Structure of the human P2Y12 receptor in complex with an antithrombotic drug. *Nature.* 2014 May 1;509:115-8.

2.6.2 薬理試験の概要文

一般名/効能効果案：チカグレロル/急性冠症候群、陳旧性心筋梗塞

Zhang et al 2014b

Zhang J, Zhang K, Gao ZG, Paoletta S, Zhang D, Han GW, et al. Agonist-bound structure of the human P2Y₁₂ receptor. *Nature*. 2014 May 1;509:119-22.

2.6.3 薬理試験概要表

ブリリント[®]錠 60 mg/90 mg

本資料に記載された情報に係る権利はアストラゼネカ株式会社に帰属します。弊社の事前の承諾なく本資料の内容を他に開示することは禁じられています。

目次	頁
目次	2
略語及び専門用語一覧表	3
2.6.3.1 薬理試験：一覧表	4
2.6.3.2 効力を裏付ける試験.....	11
2.6.3.3 副次的薬理試験	12
2.6.3.4 安全性薬理試験	12
2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験.....	18

略語及び専門用語一覧表

本概要で使用する略語及び専門用語を以下に示す。

略語及び専門用語	用語の説明
ADP	Adenosine diphosphate：アデノシン二リン酸
AOT	Aerosol OT：エアロゾル OT、ドクサートナトリウム
cAMP	cyclic adenosine 3',5'-monophosphate：環状 AMP, 3'-5'-アデノシン一リン酸
CHO	Chinese Hamster Ovary：Chinese Hamster Ovary 細胞
CMC	Carboxymethyl cellulose：カルボキシメチルセルロース
CNS	Central nervous system：中枢神経系
CNT	Concentrative nucleoside transporter：濃縮型トランスポーター
DMA	N,N-Dimethylacetamide：N,N-ジメチルアセトアミド
DMSO	Dimethyl sulfoxide：ジメチルスルホキシド
DPSPX	1,3-Dipropyl-8-p-sulfophenylxanthine：1,3-ジプロピル-8-(p-スルホフェニル)キサントシン
ENT	Equilibrative nucleoside transporter：受動拡散型ヌクレオシドトランスポーター
FR	France：フランス
hERG	human ether-a-go-go related gene：ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子
LAD	Left anterior descending coronary artery：左冠動脈前下行枝
NL	Netherlands：オランダ
PEG	Polyethylene glycol：ポリエチレングリコール
PVP	Polyvinylpyrrolidone：ポリビニルピロリドン
rh	Recombinant human：遺伝子組換えヒト
rr	Recombinant rat：遺伝子組換えラット
SE	Sweden：スウェーデン
UK	United Kingdom：英国
2Me-S-ADP	2-methyl-thio-ADP：2-メチル-チオ-アデノシン二リン酸

2.6.3 薬理試験概要表

一般名/効能効果案：チカグレロル/急性冠症候群、陳旧性心筋梗塞

2.6.3.1 薬理試験：一覧表

Type of Study	Test system	Method of administration	Testing facility	Study number	Location in CTD
Primary pharmacodynamics					
<i>in vitro</i>	Displacement of [¹²⁵ I]AR-C98957XX from human washed platelets	Dissolved in DMSO	AstraZeneca R&D Charnwood (UK)	SC-103266	4.2.1.1.1
<i>in vitro</i>	ADP-induced aggregation of human washed platelets	Dissolved in DMSO	AstraZeneca R&D Charnwood (UK)	SC-103263	4.2.1.1.2
<i>in vitro</i>	ADP-induced aggregation of rat washed platelets	Dissolved in DMSO	AstraZeneca R&D Charnwood (UK)	SC-103262	4.2.1.1.3
<i>in vitro</i>	ADP-induced aggregation in human platelet rich plasma	Dissolved in DMSO	AstraZeneca R&D Charnwood (UK)	SC-103264	4.2.1.1.4
<i>in vitro</i>	ADP-induced aggregation heparinised whole human blood	Dissolved in DMSO	AstraZeneca R&D Charnwood (UK)	SC-103283	4.2.1.1.5
<i>in vitro</i>	ADP-induced aggregation in marmoset blood	Dissolved in DMSO	AstraZeneca R&D Charnwood (UK)	SC-105780	4.2.1.1.6
<i>in vitro</i>	ADP-independent aggregation in human platelet rich plasma	Dissolved in DMSO	AstraZeneca R&D Charnwood (UK)	SC-103265	4.2.1.1.7
<i>in vitro</i>	Receptor interaction studies in hP2Y ₁₂ expressing CHO-K1 cells	Dissolved in DMSO	AstraZeneca R&D Mölndal (SE)	2783-01	4.2.1.1.8
<i>in vitro</i>	ADP-induced aggregation of human washed platelets	Dissolved in DMSO	AstraZeneca R&D Charnwood (UK)	SC-103286	4.2.1.1.9
<i>in vitro</i>	Determination of K _{on} /K _{off} in hP2Y ₁₂ expressing CHO-K1 cells	Dissolved in DMSO	AstraZeneca R&D Mölndal (SE)	2819-01	4.2.1.1.10
<i>in vitro</i>	ADP-induced aggregation in whole blood from both adult rats and pups	Dissolved in DMSO	AstraZeneca R&D Mölndal (SE)	AZMR10213	4.2.1.1.11

2.6.3 薬理試験概要表

一般名/効能効果案：チカグレロル/急性冠症候群、陳旧性心筋梗塞

Type of Study	Test system	Method of administration	Testing facility	Study number	Location in CTD
<i>in vitro</i>	Platelet inhibition in platelet rich plasma and blood from children aged 0 to 12 years	Dissolved in PVP/AOT stabilized nanosuspension with Mannitol, 5%	AstraZeneca R&D Mölndal (SE) ██████████ ██████████ (SE)	BS000096-01 [reference study]	4.2.1.1.12
<i>in vitro</i>	Reversal of inhibition of ADP-induced platelet aggregation by the addition of un-inhibited platelets	Dissolved in DMSO	AstraZeneca R&D Mölndal (SE)	AZMR10395 [reference study]	4.2.1.1.13
<i>in vitro</i>	Displacement of [¹²⁵ I]AR-C98957XX from human washed platelets	Dissolved in DMSO	AstraZeneca R&D Charnwood (UK)	SC-105783	4.2.1.1.14
<i>in vitro</i>	ADP-induced aggregation in human platelet rich plasma	Dissolved in DMSO	AstraZeneca R&D Charnwood (UK)	SC-105784	4.2.1.1.15
<i>in vitro</i>	Displacement of radio-ligand binding and inhibition of 2Me-S-ADP induced human P2Y ₁₂ signalling	Dissolved in DMSO	AstraZeneca R&D Mölndal (SE)	AZMR10095	4.2.1.1.16
<i>in vitro</i>	ADP-induced aggregation in whole blood from human, rat and marmoset	Dissolved in DMSO	AstraZeneca R&D Mölndal (SE)	AZMR10112	4.2.1.1.17
<i>in vivo</i>	PD/PK profile in conscious beagle dogs after single dose	Via a gastric tube solubilised in 1% CMC, 0.1% Tween 80 in water.	AstraZeneca R&D Charnwood (UK)	SC-103315	4.2.1.1.18
<i>in vivo</i>	Arterial thrombosis and haemostasis in anaesthetised beagle dogs	Step-wise 30 min iv infusions in PEG:DMA:water (40:40:20) vehicle	AstraZeneca R&D Charnwood (UK)	SC-103289	4.2.1.1.19
<i>in vivo</i>	Arterial thrombosis and haemostasis in anaesthetised beagle dogs	Step-wise 30 min iv infusions of a nanosuspension in Mannitol 5%, 0.017% PVP, 0.000087% AOT	AstraZeneca R&D Mölndal (SE)	2629-01	4.2.1.1.20
Secondary pharmacodynamics					
<i>in vitro</i>	Functional assay of human transfected P2Y ₂ receptor	Dissolved in DMSO	AstraZeneca R&D Charnwood (UK)	SC-103277	4.2.1.2.1

2.6.3 薬理試験概要表

一般名/効能効果案：チカグレロル/急性冠症候群、陳旧性心筋梗塞

Type of Study	Test system	Method of administration	Testing facility	Study number	Location in CTD
<i>in vitro</i>	Functional assay of rat transfected P2Y ₆ receptor	Dissolved in DMSO	AstraZeneca R&D Charnwood (UK)	SC-103278	4.2.1.2.2
<i>in vitro</i>	Functional assay of human transfected P2X ₁ receptor	Dissolved in DMSO	AstraZeneca R&D Charnwood (UK)	SC-103285	4.2.1.2.3
<i>in vitro</i>	Functional assay of human transfected P2X ₇ receptor	Dissolved in DMSO	AstraZeneca R&D Charnwood (UK)	SC-103282	4.2.1.2.4
<i>in vitro</i>	Functional assay of human transfected P2Y ₁ receptor	Dissolved in DMSO	AstraZeneca R&D Charnwood (UK)	SC-103276	4.2.1.2.5
<i>in vitro</i>	Functional assay of human transfected P2Y ₁₁ receptor	30 mM stocks in 0.2% DMSO	AstraZeneca R&D Charnwood (UK)	SC-103259	4.2.1.2.6
<i>in vitro</i>	Human Embryonic kidney cells stably transfected with either rhP2X ₁ , rhP2X ₃ , rhP2X ₄ , rhP2X ₅ , rrP2X ₂ , or rrP2X _{2/3}	Dissolved in DMSO	██████████ (UK)	0445SY	4.2.1.2.7
<i>in vitro</i>	Functional assay for agonist/antagonist activity at the human transfected P2Y ₁₃ receptor	Dissolved in DMSO	AstraZeneca R&D Mölndal (SE)	AZMR10392 [reference study]	4.2.1.2.8
<i>in vitro</i>	A1 receptor: radioligand binding assay and GTPγS functional assay A2a receptor: radioligand binding assay and cAMP accumulation and reporter gene functional assay A2b receptor: radioligand binding assay and cAMP accumulation functional assay A3 receptor: radioligand binding assay and GTPγS functional assay Adenosine transporter: radioligand binding assay and Adenosine transport functional assay.	Dissolved in DMSO	██████████ ██████████ (Taiwan); ██████████ (FR); ██████████ ██████████ (USA); Astrazeneca R&D Lund (SE)	0355SY	4.2.1.2.9
<i>in vitro</i>	Ricerca Biosciences binding and enzyme assays	Initial stocks made in DMSO	██████████ (Taiwan)	0951SY	4.2.1.2.10

2.6.3 薬理試験概要表

一般名/効能効果案：チカグレロル/急性冠症候群、陳旧性心筋梗塞

Type of Study	Test system	Method of administration	Testing facility	Study number	Location in CTD
<i>in vitro</i>	Ricerca Biosciences binding, enzyme and functional assays	Initial stocks made in DMSO	██████████ (Taiwan)	1064SY	4.2.1.2.11
<i>in vitro</i>	Adenosine stimulated nerve recordings using vagal nerves from guiney pigs, rats, or dogs	Dissolved in DMSO	██████████ (UK)	1805KV	4.2.1.2.12
<i>in vitro</i>	Uptake of ³ H-Adenosine by human erythrocytes	Dissolved in DMSO	AstraZeneca R&D Charnwood (UK)	SC-103269	4.2.1.2.13
<i>in vitro</i>	Inhibition of [2- ³ H] Adenosine uptake into cultured Dog MDCK, human MCF7 and rat H4IIE cell suspensions (1x10 ⁶ cells)	Dissolved in DMSO	AstraZeneca R&D Alderley park (UK)	1878KV	4.2.1.2.14
<i>in vitro</i>	Effect of hypoxic conditions on adenosine uptake by HL-1 cells (murine cardiac muscle cell line)	Dissolved in DMSO	AstraZeneca R&D Alderley park (UK)	1929KV	4.2.1.2.15
<i>in vitro</i>	Adenosine uptake in ENT and CNT transfected MDCK cells	Dissolved in DMSO	AstraZeneca R&D Alderley park (UK)	2549KV	4.2.1.2.16
<i>in vitro</i>	Continuous photometric measurements of Adenosine deaminase activity	Dissolved in DMSO	AstraZeneca R&D Alderley park (UK)	1421KV	4.2.1.2.17
<i>in vitro</i>	Effect of AZD6140 on the hypoxanthine salvage pathway by investigating its ability to mitigate the toxicity of 6-thioguanine (6TG) using mouse lymphoma L5178Y TK ^{+/−} 3.7.2C cells.	Dissolved in DMSO	AstraZeneca R&D Alderley park (UK)	0932MV	4.2.1.2.18
<i>in vitro</i>	Effect of adenosine uptake inhibition on collagen- and ADP-induced platelet aggregation in whole blood	Dissolved in DMSO	AstraZeneca R&D Mölndal (SE)	AZMR10120	4.2.1.2.19
<i>in vitro</i>	Binding of ¹²⁵ I-MIP-1 α to transfected human recombinant CCR1 receptor	Dissolved in DMSO	AstraZeneca R&D Charnwood (UK)	SC-103284	4.2.1.2.20
<i>in vitro</i>	Binding of ¹²⁵ I-MIP-1 to transfected human recombinant CCR2b receptor	Dissolved in DMSO	AstraZeneca R&D Charnwood (UK)	SC-103261	4.2.1.2.21

2.6.3 薬理試験概要表

一般名/効能効果案：チカグレロル/急性冠症候群、陳旧性心筋梗塞

Type of Study	Test system	Method of administration	Testing facility	Study number	Location in CTD
<i>in vitro</i>	Functional assay of human transfected CCR3 receptor	Dissolved in DMSO	AstraZeneca R&D Charnwood (UK)	SC-103279	4.2.1.2.22
<i>in vitro</i>	In vitro binding to Era or ERβ measured using commercially available fluorescence polarization binding assays	Dissolved in DMSO	AstraZeneca R&D Mölndal (SE)	AZM080825-01 (3302-01)	4.2.1.2.23
<i>in vitro</i>	MDS Panlabs binding and enzyme assays	Initial stocks made in DMSO	██████████ ██████████ (Taiwan)	SC-103281	4.2.1.2.24
<i>in vitro</i>	<i>In vitro</i> assessment of inhibition of glucocorticoid receptors	Dissolved in DMSO	██████████ ██████████ (Taiwan)	1044427	4.2.1.2.25
<i>in vitro</i>	Assessment of inhibition of phospho-diesterases	Dissolved in DMSO	██████████ ██████████ (Taiwan)	1068010	4.2.1.2.26
<i>in vitro</i>	Ricerca Biosciences binding and enzyme assays	Initial stocks made in DMSO	██████████ (Taiwan)	0952SY	4.2.1.2.27
<i>in vitro</i>	Ricerca Biosciences binding and enzyme assays	Initial stocks made in DMSO	██████████ (Taiwan)	1055SY	4.2.1.2.28
<i>in vitro</i>	Inhibition of activation of GPR17 expressed on 1321N1 cell membranes via GTPγS binding or cAMP formation	Dissolved in DMSO and diluted to 0.1% DMSO final concentration	██████████	AZM090128-04 [reference study]	4.2.1.2.29
<i>in vitro</i>	Inhibition of activation of GPR17 expressed on HEK293 cell via calcium influx	Initial stocks made in DMSO	██████████ (GE)	AZMR10330 [reference study]	4.2.1.2.30
<i>in vivo</i>	Middle cerebral artery occlusion model in the rat	Gavage of a nanosuspension in Mannitol 5%, 0.017% PVP, 0.000087% AOT	██████████ (Italy)	AZMR10259	4.2.1.2.31

2.6.3 薬理試験概要表

一般名/効能効果案：チカグレロル/急性冠症候群、陳旧性心筋梗塞

Type of Study	Test system	Method of administration	Testing facility	Study number	Location in CTD
<i>in vivo</i>	Assessment of coronary blood flow after temporarily LAD occlusion or local adenosine infusion in anaesthetised Beagle dog	Step-wise iv infusions of a nanosuspension in Mannitol 5%, 0.017% PVP, 0.000087% AOT	AstraZeneca R&D Mölndal (SE)	26709 (3428-01)	4.2.1.2.32
<i>in vivo</i>	Effect on bleeding time and blood loss in P2Y ₁₂ Knock Out Mice	Iv infusion of a nanosuspension in Mannitol 5%	AstraZeneca R&D Mölndal (SE)	AZMR10231	4.2.1.2.33
<i>in vivo</i>	Inhibitory effect on inflammation in abdominal sepsis	Oral gavage 1 hour prior to cecal ligation puncture induction	██████████ (SE)	BS000389-39 [reference study]	4.2.1.2.34
Safety pharmacology					
<i>in vivo</i>	Evaluation of general CNS and autonomic effects in Rats/Wistar outbreed	By oral gavage in 1% CMC, 0.1% Tween 80 in water	██████████ (NL)	2223 (SR99339-01)	4.2.1.3.1
<i>in vivo</i>	Evaluation of motor coordination in Rats/CD Sprague-Dawley	By oral gavage in 1% CMC, 0.1% Tween 80 in water	AstraZeneca R&D Charnwood (UK)	99338 (SR99338-01)	4.2.1.3.2
<i>in vivo</i>	Evaluation of effects on thermal nociception in Rats/Wistar outbreed	By oral gavage in 1% CMC, 0.1% Tween 80 in water	██████████ (NL)	2225 (SR99335-01)	4.2.1.3.3
<i>in vivo</i>	Evaluation of memory impairment in Rats/Wistar outbreed	By oral gavage in 1% CMC, 0.1% Tween 80 in water	██████████ (NL)	2227 (SR99333-01)	4.2.1.3.4
<i>in vivo</i>	Evaluation of effects on pentobarbital anaesthesia in Rats/Wistar outbreed	By oral gavage in 1% CMC, 0.1% Tween 80 in water	██████████ (NL)	2228 (SR99332-01)	4.2.1.3.5
<i>in vivo</i>	Evaluation of effects on chemically- and electrically-induced seizures in Rats/Wistar outbreed	By oral gavage in 1% CMC, 0.1% Tween 80 in water	██████████ (NL)	2224 (SR99336-01)	4.2.1.3.6
<i>in vivo</i>	Evaluation of haemodynamic parameters and conduction times in Dog/Beagle	By intraduodenal route in 1% CMC, 0.1% Tween 80 in water	██████████ (FR)	990630P (99341)	4.2.1.3.7
<i>in vitro</i>	Evaluation of the action potential in isolated purkinje fibres from Dog/Beagle	0.5 and 5 µM in 0.1% ethanol in Tyrode buffer	██████████ (FR)	20010128 (00210)	4.2.1.3.8
<i>in vitro</i>	Effect on hERG potassium channel in a patch clamp assay using hERG expressing CHO cells	Dissolved in DMSO	AstraZeneca R&D Alderley Park (UK)	0143SZ	4.2.1.3.9

2.6.3 薬理試験概要表

一般名/効能効果案：チカグレロル/急性冠症候群、陳旧性心筋梗塞

Type of Study	Test system	Method of administration	Testing facility	Study number	Location in CTD
<i>in vivo</i>	Investigation of a nanosuspension formulation in one anaesthetised rabbit	By constant infusion over a period of 25 min followed by infused during the following 25 min	AstraZeneca R&D Mölndal (SE)	AZMR10298 (AZM100107-02) [reference study]	4.2.1.3.10
<i>in vivo</i>	Evaluation of respiratory function in Rat/Wistar	By oral gavage in 1% CMC, 0.1% Tween 80 in water	██████████ (FR)	990632P (SR99346-01)	4.2.1.3.11
<i>in vivo</i>	Evaluation of respiratory function in Rat/Han Wistar	By oral gavage in 1% CMC, 0.1% Tween 80 in water	██████████ (FR)	20060077PCR(1266SR)	4.2.1.3.12
<i>in vivo</i>	Evaluation of respiratory function in Rat/Han Wistar	By oral gavage in 1% CMC, 0.1% Tween 80 in water	AstraZeneca R&D Alderley Park (UK)	1116SR	4.2.1.3.13
<i>in vivo</i>	Evaluation of respiratory function in Rat/Wistar	By oral gavage in 45% hydroxypropyl-cyclodextrin	██████████ (FR)	20040510SPC (0789SR)	4.2.1.3.14
<i>in vivo</i>	Evaluation of respiratory function in Rat/Han Wistar	By intravenous infusion in 0.9% saline as vehicle of adenosine	AstraZeneca R&D Alderley Park (UK)	1207SR	4.2.1.3.15
<i>in vivo</i>	Evaluation of respiratory function in Rat/Han Wistar	By oral gavage in 1% CMC, 0.1% Tween 80 in water	AstraZeneca R&D Alderley Park (UK)	1267SR	4.2.1.3.16
<i>in vivo</i>	Evaluation of respiratory function in Rat/Han Wistar	By i.v. infusion as nanosuspension in 5% mannitol/ 13% PVP w/w of the amount of ticagrelor/ 0.000087% AOT w/w of the amount of ticagrelor	AstraZeneca R&D Alderley Park (UK)	1864SR	4.2.1.3.17
<i>in vivo</i>	Evaluation of respiratory function in Rat/Han Wistar	By i.v. infusion as nanosuspension in 5% mannitol/ 13% PVP w/w of the amount of ticagrelor/ 0.000087% AOT w/w of the amount of ticagrelor	AstraZeneca R&D Alderley Park (UK)	1764SR	4.2.1.3.18
<i>in vivo</i>	Evaluation of respiratory function in Rat/Han Wistar, age 13 days	By oral gavage in 1% CMC, 0.1% Polysorbate 80 in water	AstraZeneca R&D Mölndal (SE)	3233SR	4.2.1.3.19
<i>in vivo</i>	Evaluation of intestinal transit in Rat/Wistar	By oral gavage in 1% CMC, 0.1% Polysorbate 80 in water	██████████ (FR)	990631P (SR99345-01)	4.2.1.3.20

2.6.3 薬理試験概要表

一般名/効能効果案：チカグレロル/急性冠症候群、陳旧性心筋梗塞

Type of Study	Test system	Method of administration	Testing facility	Study number	Location in CTD
<i>in vivo</i>	Evaluation of renal function in Rats/Wistar outbreed	By oral gavage in 1% CMC, 0.1% Tween 80 in water	██████████ (NL)	99331 (SR99331-01)	4.2.1.3.21
Pharmacodynamic drug interactions					
<i>in vitro</i>	Inhibition of 2Me-S-ADP induced human P2Y ₁₂ signalling	Dissolved in DMSO	AstraZeneca R&D Mölndal (SE)	AZMR10072	4.2.1.4.1
<i>in vitro</i>	Agonist-induced aggregation in human platelet rich plasma and TXB ₂ formation	Dissolved in DMSO	██████████ (UK)	Warner 2010	4.2.1.4.2
<i>in vivo</i>	Effects on arterial Thrombosis, vascular resistance and <i>ex vivo</i> platelet function in the anaesthetised dog	210 min iv infusion of a nanosuspension in Mannitol 5%, 0.017% PVP, 0.000087% AOT	AstraZeneca R&D Mölndal (SE)	AZMR10239	4.2.1.4.3
<i>in vivo</i>	Arterial thrombosis and haemostasis in anaesthetised beagle dogs	Step-wise 30 min iv infusions in PEG:DMA:water (40:40:20) vehicle after 7 days aspirin pretreatment (150 mg/day po).	AstraZeneca R&D Charnwood (UK)	SC-103288	4.2.1.4.4
<i>in vivo</i>	Arterial thrombosis and haemostasis in anaesthetised rats/ Sprague-Dawley	iv infusions of a nanosuspension in Mannitol 5%	AstraZeneca R&D Mölndal (SE)	2687-01	4.2.1.4.5
<i>in vivo</i>	Evaluation of rhFVIIa to Reverse Ticagrelor-induced Bleeding in Mice	iv infusions of a nanosuspension in Mannitol 5%	AstraZeneca R&D Mölndal (SE)	AZMR10333 (AZM111122-01) [reference study]	4.2.1.4.6

2.6.3.2 効力を裏付ける試験

概要文中に記載。

2.6.3 薬理試験概要表

一般名/効能効果案：チカグレロル/急性冠症候群、陳旧性心筋梗塞

2.6.3.3 副次的薬理試験

概要文中に記載。

2.6.3.4 安全性薬理試験

Organ systems evaluated	Species/ strain	Method of administration	Doses ^{a,b,c} (mg/kg)	Gender and number per group	Noteworthy findings	GLP compliance	Study number
CNS	Rats/Wistar outbreed CrI: (WI)WU BR	By oral gavage in 1% CMC, 0.1% Tween 80 in water	0 (vehicle), 1, 10, 100	Male 10 per group	Ticagrelor had no CNS or autonomic effects after a single dose of up to 100 mg/kg when assessed 4 and 24 hours post-dose.	Yes	2223 (SR99339-01)
CNS	Rats/CD Sprague-Dawley CrI: CD [®] BR VAF/PLUS [™]	By oral gavage in 1% CMC, 0.1% Tween 80 in water	0 (vehicle), 1, 10, 100	Male 10 per group	Ticagrelor had no effect on motor co-ordination after a single dose of up to 100 mg/kg when assessed 4 hours post-dose.	Yes	99338 (SR99338-01)
CNS	Rats/Wistar outbreed CrI: (WI)WU BR	By oral gavage in 1% CMC, 0.1% Tween 80 in water	0 (vehicle), 1, 10, 100	Male 10 per group	Ticagrelor had no effect on thermal nociception after a single dose of up to 100 mg/kg when assessed at 1, 2, 4, and 6 hours post-dose.	Yes	2225 (SR99335-01)
CNS	Rats/Wistar outbreed CrI: (WI)WU BR	By oral gavage in 1% CMC, 0.1% Tween 80 in water	0 (vehicle), 1, 10, 100	Male 5 to 10 per group	Ticagrelor did not impair memory after a single dose of up to 100 mg/kg when assessed at 4 hours post-dose.	Yes	2227 (SR99333-01)
CNS	Rats/Wistar outbreed CrI: (WI)WU BR	By oral gavage in 1% CMC, 0.1% Tween 80 in water	0 (vehicle), 1, 10, 100	Male 10 per group	Ticagrelor had no effect on pentobarbital induced anaesthesia after a single dose of up to 100 mg/kg when assessed 4 hours post-dose.	Yes	2228 (SR99332-01)

2.6.3 薬理試験概要表

一般名/効能効果案：チカグレロル/急性冠症候群、陳旧性心筋梗塞

Organ systems evaluated	Species/ strain	Method of administration	Doses ^{a,b,c} (mg/kg)	Gender and number per group	Noteworthy findings	GLP compliance	Study number
CNS	Rats/Wistar outbreed CrI: WI (WU) BR	By oral gavage in 1% CMC, 0.1% Tween 80 in water	0 (vehicle), 1, 10, 100	Male 9 to 11 per group	Ticagrelor had no effect on chemically- and electrically-induced seizures after a single dose of up to 100 mg/kg when assessed 4 hours post-dose.	Yes	2224 (SR99336-01)
Cardio-vascular	Dog/Beagle	By intraduodenal route in 1% CMC, 0.1% Tween 80 in water	0 (vehicle), 1, 10, 100	Male 5 per group	Ticagrelor caused no changes in haemodynamic parameters and conduction times, or in ECG or T-wave morphology after a single dose of up to 100 mg/kg when assessed during 3 hours post-dose.	Yes	990630 P (99341)
Cardio-vascular	Dog Beagle Isolated purkinje fibres	By perfusion in 0.1% ethanol in Tyrode buffer	Nominal 0.5 and 5 μ M	in vitro 6 preparations from 4 male animals	Ticagrelor at concentrations of 0.5 μ M and 5 μ M had no effect on APD90 or action potential parameters under either normal (1Hz) or low (0.33Hz) stimulation rates.	Yes	20010128 PECM (00210)
Cardio-vascular	hERG-expressing Chinese Hamster Ovarian cells	Final concentration 0.1% DMSO in culture medium	Nominal 0.3 - 5.0 μ M	in vitro data collected from 8 cells	Ticagrelor was active at the hERG-encoded potassium channel with an IC ₅₀ value of 1.72 μ M.	Yes	0143SZ

2.6.3 薬理試験概要表

一般名/効能効果案：チカグレロル/急性冠症候群、陳旧性心筋梗塞

Organ systems evaluated	Species/ strain	Method of administration	Doses ^{a,b,c} (mg/kg)	Gender and number per group	Noteworthy findings	GLP compliance	Study number
Respiratory	Rat/Wistar DM: WI (EOPS CF)	By oral gavage in 1% CMC, 0.1% Tween 80 in water	0 (vehicle), 1, 10, 100	Male 8 per group	Ticagrelor at a dose of 1 mg/kg had no effect on the respiratory function. A dose dependent, increase in respiratory rate and decrease in expiration time occurred at doses of 10 mg/kg and 100 mg/kg. There was no effect on tidal volume, airway resistance, peak inspiratory and expiratory flows or inspiration time up to 100 mg/kg.	Yes	990632P (SR99346-01)
Respiratory	Rat/Wistar- RJ:WI (IOPS Han)	By oral gavage in 1% CMC, 0.1% Tween 80 in water	0 (vehicle), 100	Male 8 per group	Ticagrelor had no effect on respiratory rate, tidal volume, minute volume, peak inspiratory and expiratory flows and inspiration and expiration times.	Yes	20060077 PCR (1266SR)

2.6.3 薬理試験概要表

一般名/効能効果案：チカグレロル/急性冠症候群、陳旧性心筋梗塞

Organ systems evaluated	Species/ strain	Method of administration	Doses ^{a,b,c} (mg/kg)	Gender and number per group	Noteworthy findings	GLP compliance	Study number
Respiratory	Rat/Han Wistar AlpkHsdBrIHan: WIST	By oral gavage in 1% CMC, 0.1% polysorbate 80 in water	0, (vehicle), 10, 100 and 1000	Male 8 per group (10 and 1000 mg/kg), vehicle and 100 mg/kg: 16 per group	<p>Part I</p> <p>10 mg/kg ticagrelor increased respiratory rate, minute volume and peak expiratory flow from 60 to 150 minutes post-dose. 100 mg/kg increased peak expiratory flow and decreased expiration time at 150 minutes only. No dose-dependence observed.</p> <p>Part II</p> <p>100 and 1000 mg/kg ticagrelor induced a dose-dependent, significant increase in peak inspiratory flow, and 1000 mg/kg ticagrelor also significantly increased peak expiratory flow. No important effect on respiratory rate, inspiration or expiration time, tidal volume or minute volume.</p>	Yes	1116SR

2.6.3 薬理試験概要表

一般名/効能効果案：チカグレロル/急性冠症候群、陳旧性心筋梗塞

Organ systems evaluated	Species/ strain	Method of administration	Doses ^{a,b,c} (mg/kg)	Gender and number per group	Noteworthy findings	GLP compliance	Study number
Respiratory	Rat/Wistar - RJ:WI (IOPS Han)	By oral gavage in 45% hydroxypropyl-cyclodextrin as vehicle ± DPSPX 0.3 mg/kg iv.	0 (vehicle), 10, 100	Male 8 per group	Ticagrelor induced a dose dependent increase in respiratory rate, peak inspiratory and expiratory flows and minute volume and a decrease in expiration time at the doses of 10 and 100 mg/kg. There was no effect up to 100 mg/kg on inspiration time or tidal volume. Data obtained after pre-treatment with DPSPX at the dose of 0.3 mg/kg were inconclusive.	No	20040510 SPC (0789SR)
Respiratory	Rat/Wistar – AlpkHsdBrIHan: WIST	By intravenous infusion in 0.9% w/v sodium chloride	Ticagrelor not dosed; adenosine: 0, 0.05, 0.1, 0.25, 0.5, 1, 2, 4 mg/kg	Male 6-8 per group	Intravenous infusion of adenosine induced respiratory stimulation at 2 and 4 mg/kg. Ticagrelor was not dosed in this study.	No	1207SR
Respiratory	Rat/Wistar – AlpkHsdBrIHan: WIST	By oral gavage in 1% CMC, 0.1% polysorbate 80 in water	0 (vehicle), 100	Male 6 to 8 per group	Ticagrelor significantly increased respiratory rate, tidal volume and minute volume between 85 – 95 minutes post-dose. Ticagrelor was without effect on peak inspiratory and expiratory flows or on inspiration and expiration times. Daily administration increased baseline values for tidal volume and inspiration and expiration times.	No	1267SR

2.6.3 薬理試験概要表

一般名/効能効果案：チカグレロル/急性冠症候群、陳旧性心筋梗塞

Organ systems evaluated	Species/ strain	Method of administration	Doses ^{a,b,c} (mg/kg)	Gender and number per group	Noteworthy findings	GLP compliance	Study number
Respiratory	Rat/Han Wistar AlpkHsdRccHan: WIST	By i.v. infusion as a nanosuspension in 5% mannitol/ 13 % PVP w/w of the amount of Ticagrelor/ 0.7% AOT w/w of the amount of Ticagrelor	0 (vehicle), 10, 30 and 100 µg/kg per min	Male 6 per group	Ticagrelor had no effect on respiratory rate, inspiration or expiration time up to 100 µg/kg per min. Ticagrelor at 10 µg/kg per min increased tidal volume, minute volume, peak inspiratory flow and peak expiratory flow. These changes were not dose-related.	No	1864SR
Respiratory	Rat/Han Wistar AzHsdRccHan: WIST	By i.v. infusion as a nanosuspension in 5% mannitol/ 13 % PVP w/w of the amount of Ticagrelor/ 0.7% AOT w/w of the amount of Ticagrelor	0 (vehicle), 10 µg/kg per min	Male 6 per group	Ticagrelor was without important effects effect, in the presence or absence of adenosine, on respiratory rate, tidal volume, minute volume, inspiration and expiration time, peak inspiratory and expiratory flows and following a forced manoeuvre, no effect on forced expiratory volume in 100 ms, forced vital capacity or peak expiratory flow.	No	1764SR
Respiratory	Rat/ RccHan: WIST (13 days old)	By oral gavage in aqueous suspension containing 1% w/v sodium CMC and 0.1% w/v polysorbate 80.	0 (vehicle) and 180 mg/kg	Male and female (8 per group)	Respiratory parameters assessed by plethysmography 60 min pre-dose and 60-180 min post-dose. Ticagrelor had no compound-related effect on respiratory rate, tidal volume, minute volume, inspiration time and expiration times and peak inspiratory and expiratory flows.	Yes	3233SR

2.6.3 薬理試験概要表

一般名/効能効果案：チカグレロル/急性冠症候群、陳旧性心筋梗塞

Organ systems evaluated	Species/ strain	Method of administration	Doses ^{a,b,c} (mg/kg)	Gender and number per group	Noteworthy findings	GLP compliance	Study number
Gastro-intestinal	Rat/Wistar DM: WI (EOPS CF)	By oral gavage in 1% CMC, 0.1% Polysorbate 80 in water	0 (vehicle), 1, 10, 100	Male 8 per group	Ticagrelor at 100 mg/kg caused a 29% decrease in intestinal transit. There was no effect on intestinal transit after a single dose of up to 10 mg/kg.	Yes	990631P (SR99345-01)
Renal	Rats/Wistar outbreed Crl: (WI)WU BR	By oral gavage in 1% CMC, 0.1% Tween 80 in water	0 (vehicle), 1, 10, 100	Male 8 per group	Ticagrelor had no effect on renal function after a single dose of 1 mg/kg. There was an increase in sodium excretion per mole of creatinine at doses of 10 mg/kg and 100 mg/kg, and at the highest dose also an increase in chlorine excretion and in urine pH. Other measures of renal function were unaffected by Ticagrelor.	Yes	99331 (SR99331-01)

a : Single dose unless specified otherwise.

b: Concentrations for *in vitro* studies.

c: Doses in µg/kg per min for infusion studies.

2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験

概要文中に記載。