インチュニブ錠 1mg, 同 3mg

第 2 部 (モジュール 2) : CTD の概要 (サマリー)

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.1 緒言

塩野義製薬株式会社

目次

略号及び用語定義一覧表 3
2.6.1　緒言 4

2.6.1 略号及び用語定義一覧表

略号	略号内容
ADHD	注意欠陥／多動性障害 (attention-deficit/hyperactivity disorder)

2.6.1 緒言

塩野義製薬は，Shire AG (以下，「Shire 社」とする) からグアンファシン塩酸塩 (Shire 社の開発コード：SPD503) の徐放性錠 (以下，「本剤」とする) を導入し，小児 (6～17 歳) の注意欠陥／多動性障害 (ADHD) の 1 日 1 回服用の治療薬として 20[redacted] 年から本邦において開発を進めている．本剤は，有効成分としてグアンファシン塩酸塩を含んでおり，市販製剤として 1 mg 及び 3 mg 錠 [それぞれ 1 及び 3 mg のグアンファシン (グアンファシン塩酸塩としては，それぞれ 1.14 及び 3.42 mg)] を申請する．グアンファシン塩酸塩の用法用量は，以下の通りである．

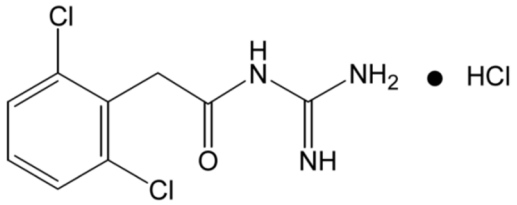
通常，体重 50 kg 未満の小児ではグアンファシンとして 1 日 1 mg，体重 50 kg 以上の小児ではグアンファシンとして 1 日 2 mg より投与を開始し，1 週間以上の間隔をあけて 1 mg ずつ，下表の維持用量まで増量する．

なお，症状により適宜増減するが，下表の最高用量を超えないこととし，いずれも 1 日 1 回経口投与すること．

体重	開始用量	維持用量	最高用量
17 kg 以上 25 kg 未満	1 mg	1 mg	2 mg
25 kg 以上 34 kg 未満	1 mg	2 mg	3 mg
34 kg 以上 38 kg 未満	1 mg	2 mg	4 mg
38 kg 以上 42 kg 未満	1 mg	3 mg	4 mg
42 kg 以上 50 kg 未満	1 mg	3 mg	5 mg
50 kg 以上 63 kg 未満	2 mg	4 mg	6 mg
63 kg 以上 75 kg 未満	2 mg	5 mg	6 mg
75 kg 以上	2 mg	6 mg	6 mg

グアンファシン塩酸塩の構造式を図 2.6.1-1 に示す．

図 2.6.1-1　グアンファシン塩酸塩の構造式



Molecular formula: $C_9H_9Cl_2N_3O{\cdot}HCl$
Molecular weight: 282.56

選択的 α_2 アドレナリン受容体作動薬であるグアンファシン塩酸塩は，その即放性製剤が青少年及び成人における高血圧治療薬として欧米及び本邦で承認された際に，包括的な非臨床試験成績が評価されており，安全性プロファイルが確立した既知の有効成分である．また，グアンファシンの非臨床プロファイルを特徴づける多くの文献が容易に入手できる．

グアンファシン塩酸塩の非臨床開発計画立案には，既知のグアンファシンの薬理，薬物動態

及び毒性情報を考慮するとともに，小児の ADHD 患者に投与するために評価することに焦点が当てられている．そのため，以下の目的で非臨床試験が追加実施された．

- ADHD 患者にグアンファシン塩酸塩を投与するために効力を裏付ける薬効薬理試験を実施する．
- グアンファシンのセロトニン 2B 受容体アゴニスト活性に基づく心臓弁膜症誘発のリスクに関する副次的薬理評価を実施する．
- グアンファシンの既知の心血管系に対する薬理学的性質を考慮するとともに，GLP 適合の心血管系安全性薬理試験を実施する．
- 薬物相互作用のリスク評価に関する薬物動態試験 (薬物代謝酵素の誘導及び阻害，トランスポーターの阻害など) を実施する．
- 重要な毒性試験で使用された用量での血漿中グアンファシン曝露データを得る．
- 小児患者集団への使用に際してのリスク評価として，幼若ラットを用いたグアンファシン塩酸塩の毒性試験を実施する．
- 不純物の安全性を評価する．

本製造販売承認申請で提出する非臨床試験成績は，公表文献で報告された試験並びに Shire 社が実施した薬効薬理，安全性薬理，薬物動態及び毒性試験で構成されており，グアンファシン塩酸塩の小児 (1～17 歳) の ADHD 患者への処方に際してのベネフィット・リスク評価に関する情報を提供する．

インチュニブ錠 1mg, 同 3mg

第 2 部 (モジュール 2) : CTD の概要 (サマリー)

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.2 薬理試験の概要文

塩野義製薬株式会社

目次

略号及び用語定義一覧表 3
2.6.2 薬理試験の概要文 4
2.6.2.1 まとめ 4
2.6.2.2 効力を裏付ける試験 6
2.6.2.2.1 ヒト α_2 アドレナリン受容体親和性及び選択性 6
2.6.2.2.2 自然発症高血圧 (SH) ラットに対するグアンファシンの効果 6
2.6.2.3 副次的薬理試験 8
2.6.2.3.1 その他受容体，イオンチャネル，トランスポーター及び酵素に対する作用 8
2.6.2.3.2 ヒト 5-HT_{2B} 受容体に対する作用 9
2.6.2.3.3 鎮静，痙攣及び痛覚に及ぼす影響 9
2.6.2.3.3.1 鎮静作用 9
2.6.2.3.3.2 痙攣に及ぼす影響 10
2.6.2.3.3.3 痛覚に及ぼす影響 11
2.6.2.3.4 心血管系に及ぼす影響 12
2.6.2.3.5 代謝に及ぼす影響 15
2.6.2.3.6 免疫学的及び炎症性作用 16
2.6.2.3.7 その他の薬理作用 16
2.6.2.3.7.1 正常ラットに対するグアンファシンの脳局所作用 16
2.6.2.3.7.2 その他の作用 17
2.6.2.4 安全性薬理試験 18
2.6.2.4.1 中枢神経系に及ぼす影響 18
2.6.2.4.2 心血管系に及ぼす影響 19
2.6.2.4.2.1 hERG チャネル発現細胞のイオン電流に対する作用 19
2.6.2.4.2.2 イヌの心拍数，血圧及び心電図に及ぼす影響 19
2.6.2.4.3 呼吸系に及ぼす影響 20
2.6.2.4.4 腎臓系に及ぼす影響 21
2.6.2.4.5 胃腸管系に及ぼす影響 22
2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験 23
2.6.2.6 考察及び結論 24
2.6.2.7 図表 26
2.6.2.8 参考文献 27

2.6.2 略号及び用語定義一覧表

略号	略号内容
ADHD	注意欠陥／多動性障害 (attention-deficit/hyperactivity disorder)
BOLD	Blood oxygenation level dependent
C_{max}	最高濃度 (maximum concentration)
EC_{50}	50%効果濃度 (50% effective concentration)
ED_{50}	50%効果用量 (50% effective dose)
E_{max}	最大活性 (maximum activity)
fMRI	機能的磁気共鳴機能画像法 (functional magnetic resonance imaging)
hERG	ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子 (human ether-a-go-go-related gene)
5-HT	セロトニン (serotonin)
IC_{50}	50%阻害濃度 (50% inhibitory concentration)
Ki	阻害定数 (inhibition constant)
MRI	磁気共鳴画像法 (magnetic resonance imaging)
QTc	補正 QT 間隔 (corrected QT interval)
QTcF	Fridericia 法補正 QT 間隔 (corrected QT intervals using the Fridericia method)
SH	自然発症高血圧 (Spontaneously hypertensive)

2.6.2 薬理試験の概要文

2.6.2.1 まとめ

塩野義製薬は，Shire AG (以下，「Shire 社」とする) からグアンファシン塩酸塩 (Shire 社の開発コード：SPD503) の徐放錠 (以下，「本剤」とする) を導入し，小児 (6～17 歳) の注意欠陥／多動性障害 (ADHD) の 1 日 1 回服用の治療薬として本邦において開発を進めている. 本剤は，有効成分としてグアンファシン塩酸塩を含んでおり，1 mg 錠及び 3 mg 錠には，それぞれ 1 及び 3 mg のグアンファシン (グアンファシン塩酸塩としては，それぞれ 1.14 及び 3.42 mg) が含まれている．なお，2.6.2 項では，グアンファシン塩酸塩の投与量及び濃度は，グアンファシン換算で表記した.

グアンファシン塩酸塩は，速放性製剤として 1970 年代後半に開発され，歴史的には欧州共同体で高血圧治療薬として承認された既知の有効成分である．加えて，米国医薬食品局においても，グアンファシン塩酸塩速放性製剤 (TENEX®) が，A.H. Robins により提出された包括的な非臨床試験に基づき，1986 年に成人の高血圧治療薬として承認されている．さらに，本邦においても，グアンファシン塩酸塩速放性製剤 (エスタリック®) が，1984 年に本態性高血圧を適応として承認され [エスタリック®[redacted]][1] 販売されていたが, 2005 年 5 月に製造販売が中止された．初期の非臨床薬理試験は，主に高血圧治療薬としてのグアンファシンの作用機序を解明するために実施されていた．そのため，Shire 社は，ADHD 治療のためのグアンファシンの作用機序を説明するために追加試験を実施した．したがって，本製造販売承認申請における非臨床薬理試験の概要は, 関連する文献情報及び Shire 社が追加実施した試験成績によって構成されている.

Shire 社が実施した非臨床薬理試験から，グアンファシン塩酸塩は選択的 α_{2A} アドレナリン受容体作動薬であることが確認された．すなわち，他の α_2 アドレナリン受容体 (α_{2B} 及び α_{2C}) よりも 15～20 倍選択性が高く [2.6.2.2.1 項参照][2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12]，また，セロトニン (5-HT) $_{2B}$ 受容体を含むヒト及び動物の G たん白共役受容体 [2.6.2.3.2 項参照][13]，イオンチャネル，トランスポーター，並びに酵素に対する親和性は弱く，α_{2A} に対して良好な選択性を有していた [2.6.2.2.1 項参照][14]．さらに，文献既知である α_{2A} アドレナリン受容体のアゴニスト活性を介した効果，すなわち ADHD 症状改善作用 [2.6.2.2.2 項参照]，降圧活性 [16, 17, 18, 19, 20, 21], 抗痙攣活性 [22, 23, 24]，抗侵害受容活性 [25, 26, 27] 及び鎮静活性 [2.6.2.3.3 項参照][26, 28, 29, 30] が確認された ．

グアンファシンは，胃酸分泌に対して増加及び抑制の二相性の作用を示し [2.6.2.4.5 項参照]，代謝率を減少させ [2.6.2.3.5 項参照]，抗炎症作用を示し [2.6.2.3.6 項参照]，副腎のカテコールアミン分泌を減少させ [2.6.2.3.7 項参照]，そして，中枢作用を介し尿量及びナトリウム排泄に僅かに影響を及ぼしている [2.6.2.4.4 項参照]. Shire 社が実施した安全性薬理試験で, グアンファシン塩酸塩は, *in vitro* 試験においてヒト ether-a-go-go 関連遺伝子 (hERG) チャネルに作用せず，また，*in vivo* 試験ではテレメータを装着したイヌにおいて補正 QT 間隔 (QTc) を含む心血管系パラメータにも影響しなかった [2.6.2.4.2 項参照].

Shire 社による追加の非臨床薬理試験及び文献で報告されている広範な非臨床薬理試験成績，並びに広範なグアンファシン塩酸塩の臨床経験を総合することで，この α_{2A} アドレナリン受容

体作動薬が ADHD に伴う認知・行動障害を改善する能力を有することが示された．また，ヒトにおけるグアンファシン塩酸塩の副作用プロファイルはその薬理学的な作用機序に基づいて本質的に予見可能である．

非臨床薬理試験の大部分は高血圧治療薬としてグアンファシン塩酸塩の開発初期に完了しており，最新の規制要件のいくつかは導入前であったが，グアンファシン塩酸塩の臨床経験も考慮し，改めて実施せず，追加で実施された非臨床薬理試験と併せて評価した．これらの非臨床薬理試験成績は小児 ADHD 患者 (6～17 歳) の適応取得に向けたグアンファシン塩酸塩の臨床評価及び承認申請を裏付けるものとして適切であると考えられる．

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

2.6.2.2.1 ヒト α_2 アドレナリン受容体親和性及び選択性

参考資料 4.2.1.1-01，4.2.1.1-02
概要表 2.6.3.2.1，2.6.3.2.2

3 種の既知 α_2 アドレナリン受容体サブタイプ [31] に対するグアンファシンの相対的な親和性を明らかにするため，各種受容体，イオンチャネル，トランスポーター及び酵素との結合親和性を検討する試験の中で，α_2 アドレナリン受容体サブタイプに対するグアンファシンの阻害定数 (Ki) を算出した．しかしながら，トリチウム標識リガンドの置換曲線における Hill 係数が 1 から大きく外れていたため (Hill 係数の許容基準=0.8～1.2), 推定 Ki 値は妥当ではなかった．そこで，ヒト遺伝子組み換え型 α_2 アドレナリン受容体サブタイプに対するグアンファシンの親和性について再度検討し，それぞれの Ki 値及びトリチウム標識リガンドの置換曲線における Hill 係数を算出した (表 2.6.2.2-1).

表 2.6.2.2-1　グアンファシンの各ヒト α_2 アドレナリン受容体サブタイプに対する親和性

	ヒト α_2 アドレナリン受容体サブタイプに対する親和性 (Ki=nmol/L)			選択性比	
サブタイプ	α_{2A}	α_{2B}	α_{2C}	α_{2A}/α_{2B}	α_{2A}/α_{2C}
グアンファシン	13.3 ± 0.9 (0.8)	255 ± 49 (0.9)	201 ± 64 (0.8)	20	15

Ki 値は平均値 ± 標準誤差 (n=4) で示し，Hill 係数はそれぞれの括弧内に表記した.

グアンファシン塩酸塩は, ヒト型 α_{2A} アドレナリン受容体に対する選択的リガンドであり, α_{2A} サブタイプに対して α_{2B} 及び α_{2C} サブタイプより 15～20 倍選択的である (表 2.6.2.2-1).

これらの数値は，異なる種や組織を用いて検討されたグアンファシンの親和性及び選択性の文献値とよく一致している [3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12].

Doxey は，ラット輸精管においてグアンファシン (塩酸塩の分子量は 282.56) が選択的な α_2 アドレナリン受容体作動薬である [50%効果濃度 (EC_{50}) =0.66 ng/mL=2.34 nmol/L] 一方で, ラット肛門尾骨筋において α_1 アドレナリン受容体に対するグアンファシンのアゴニスト活性ははるかに弱いこと (EC_{50}=45 ng/mL=159.3 nmol/L) を報告している．これらの機能性試験の結果は，グアンファシンの α_2/α_1 アゴニスト活性の選択性比が 68 であることを示している [2].

2.6.2.2.2 自然発症高血圧 (SH) ラットに対するグアンファシンの効果

参考資料 4.2.1.1-03
概要表 2.6.3.2.3

自然発症高血圧 (SH) ラットは ADHD モデル動物として確立，検証されており，多動性，衝動性，注意持続時間の低下など，この疾患に特徴的な認知及び行動の異常のいくつかを示すことが知られている [15]．そこで，雄性 SH ラットを用いた二選択レバー押し課題によって，多動性，衝動性，注意持続時間の低下に対するグアンファシン塩酸塩の効果を検討した.

二選択レバー押し課題を習得させるため，摂水量を制限した雄性 SH ラット 16 例 (実験開始時に 4 週齢まで) に対し, 評価装置内にある 2 つのレバーの内, ライトの点灯した側のレバー (正

解レバー) を押すと水報酬が得られるトレーニングを継続して実施した．対照群として雄性 WKY (Wister/Kyoto) ラット 16 例 (実験開始時に 4 週齢まで) を同様の処理を行った．この課題において，多動性の指標として評価中レバーを押した回数を，衝動性の指標として短い間隔 (<0.67 秒) で正解レバーを連続して押した回数を，持続的注意の指標として正解レバーを押した割合をそれぞれ用いた．評価はクロスオーバー法により 3 日間隔で実施し，媒体 (生理食塩液) 又はグアンファシン塩酸塩 (投与量：0.075，0.15，0.3 及び 0.6 mg/kg) の腹腔内投与 30 分後から，90 分間各指標を測定した．

その結果, グアンファシン塩酸塩は用量依存的に SH ラットの衝動性及び多動性を抑制した．SH ラットの衝動性は，0.3 及び 0.6 mg/kg のグアンファシン塩酸塩投与により，また，SH ラットの多動性は，0.6 mg/kg のグアンファシン塩酸塩投与により，対照群の媒体投与 WKY ラットの衝動性及び多動性と同程度にまで改善された．同様に，グアンファシン塩酸塩は SH ラットの注意持続時間の低下を改善し, その最大作用はグアンファシン塩酸塩 0.3 mg/kg 腹腔内投与時に認められた．これらの結果は，グアンファシン塩酸塩が ADHD の中核症状である行動及び認知に関する 3 つの症状に対して有益な効果があるということを示唆している．

2.6.2.3 副次的薬理試験

2.6.2.3.1 その他受容体，イオンチャネル，トランスポーター及び酵素に対する作用

参考資料 4.2.1.1-01
概要表 2.6.3.2.1

グアンファシンは，ヒト及び各種哺乳動物における選択的な α_{2A} アドレナリン受容体作動薬であり，α_{2B} 及び α_{2C} サブタイプよりも α_{2A} サブタイプに高い選択性を有している [2.6.2.2.1 項参照].

グアンファシン塩酸塩 (濃度：10^{-9}，10^{-7} 及び 10^{-5} mol/L) を用いて，グアンファシンと α_{2A}，α_{2B} 及び α_{2C} アドレナリン受容体以外の受容体，イオンチャネル，トランスポーター及び酵素との結合親和性について放射標識リガンド結合試験法により検討した．その結果，グアンファシンは以下の部位に対して親和性を示さなかった：アデノシン [A_1，A_2，A_{2A} (ヒト)，$A_{non\text{-}selective}$]，アドレナリン [α_{1A}，α_{1B}，β_1 (ヒト)，β_2 (ヒト)，β_3 (ヒト)]，ベンゾジアゼピン [$BDZ_{peripheral}$ (ヒト)]，カンナビノイド [CB_1 (ヒト)]，ドパミン [D_1 (ヒト)，D_2 (ヒト)，$D_{4.2}$ (ヒト)，$D_{4.4}$ (ヒト)]，γ-アミノ酪酸 ($GABA_A$，$GABA_B$)，$GABA_A$ ベンゾジアゼピンサブユニット (α_1，α_5，α_6)，グルタミン酸 [AMPA[1]，Cl^-，kainate，MK 801，NMDA[1]，$NMDA_{phencyclidine}$，$NMDA_{glycine}$)，グリシン，ヒスタミン (H_1，H_2，H_3)，イミダゾリン (I_2)，メラトニン，ムスカリン [M_1 (ヒト)，M_2 (ヒト)，M_3 (ヒト)，M_4 (ヒト)，M_5 (ヒト)]，ニコチン性，オピオイド (δ_1，δ_2，κ，μ)，プリン作動性 (P2Y)，5-HT [5-HT_1，5-HT_{1B}，5-HT_{1D} (ヒト)，5-HT_4，5-HT_{5A} (ヒト)，5-HT_6 (ヒト)]，シグマ (σ_1，σ_2)，GABA[1] Cl^- イオンチャネル，脳 MAO_A[1]，脳及び末梢 MAO_B，トランスポーター [セロトニン (ヒト)，アデノシン (ヒト)，コリン，GABA，グルタミン酸].

したがって，グアンファシン塩酸塩とこれらの部位との相互作用によって副作用や有害事象が生じる可能性は非常に低いと考えられる．

グアンファシンが 50%を超える特異的結合を示す受容体，トランスポーターや酵素，すなわち，アドレナリン [$\alpha_{1non\text{-}selective}$，$\alpha_{2non\text{-}selective}$，$\alpha_{2A}$ (ヒト)，α_{2B}，α_{2C} (ヒト)]，ノルアドレナリントランスポーター (NET)，イミダゾリン (I_1)，ドパミン ($D_{non\text{-}selective}$，D_3)，ドパミントランスポーター (DAT)，5-HT [5-HT_{1A} (ヒト)，5-HT_{2A} (ヒト)，5-HT_{2C}，5-HT_3，5-$HT_{non\text{-}selective}$]，末梢 MAO_A については，より詳細な放射標識リガンド結合試験を実施した．グアンファシン塩酸塩は $\alpha_{1non\text{-}selective}$，NET，$D_3$，5-$HT_{non\text{-}selective}$，5-$HT_{1A}$ (ヒト)，5-HT_{2A} (ヒト)，5-HT_{2C}，5-HT_3，末梢 MAO_A，及び DAT に対しては 1 μmol/L 以上の Ki 値を示した (Hill 係数 0.8～1.2)．ヒト α_{2A} アドレナリン受容体に対する親和性 (Ki=13 nmol/L) と比較すると，いずれも親和性が低いことから，グアンファシンとこれら受容体，トランスポーターや酵素との相互作用によって副作用や有害事象が治療域で起こる可能性は低いと考えられる．Hill 係数が値として許容範囲外であった $D_{non\text{-}selective}$ (Ki=11.6 μmol/L，Hill 係数=0.56) 及び I_1 (Ki=0.889 μmol/L，Hill 係数=0.71) の 2 つの受容体については，以下の理由から再解析を行わなかった．前者はすべてのドパミン受容体サブタイプに対する親和性が既に検討されているためであり，後者は α_{2A} アドレナリン受容体に対する親和性と比較して I_1 に対する親和性は低く，I_1 を介した副作用や有害事象が起きる可能

[1] 略号：AMPA；α-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid，GABA；γ-aminobutyric acid，MAO：monoamine oxidase，　NMDA；*N*-methyl-D-aspartate

性は低いと考えられるためである．

Uhlén らはグアンファシンがイミダゾリン結合部位に対して弱い親和性を示す [I_1 (Ki=0.61 μmol/L) ; I_2 (Ki=1.10 μmol/L)] ことを報告しており [11]，本結果を支持するものである．また，Newman-Tancredi らもヒト及びラット 5-HT_{1A}受容体に対するグアンファシンの Ki 値が，それぞれ 0.83 及び 2.51 μmol/L であることを報告しており [4]，グアンファシンが 5-HT_{1A}受容体に対して弱い親和性を示した社内評価データと一致している．

2.6.2.3.2 ヒト 5-HT_{2B}受容体に対する作用

参考資料 4.2.1.2-01，4.2.1.2-02
概要表 2.6.3.3.1，2.6.3.3.2

5-HT_{2B} 受容体アゴニスト活性は心臓弁膜症誘発に関連するリスク [32, 33] があることから，ヒト 5-HT_{2B}受容体に対するグアンファシンの結合親和性 [50%阻害濃度 (IC_{50})] を，放射標識リガンド結合試験法により，異なる 2 回の試験で検討した．その結果，グアンファシンのヒト 5-HT2B 受容体に対する IC_{50} 値は 350 nmol/L (Hill 係数は 1) 及び 2797 nmol/L (Hill 係数は 1.2) と一様でなかった．

また，Huang らの報告によると，ヒト 5-HT_{2B}受容体発現細胞株を用いた異なる 5 種のアゴニスト活性評価を実施した結果，グアンファシンが有意なアゴニスト活性を有することが示唆されており，その固有活性も最大活性 (E_{max}) の 59%～119%と一様ではなく，pEC_{50} も 5.16～7.04 (EC_{50} 値は 6920～91 nmol/L) と一様ではなかった [13].

そこで心臓弁膜症に対するグアンファシン塩酸塩の影響を検討するために，ラットを用いた 94 日間反復経口投与毒性試験 (投与量:3 及び 10 mg/kg/day) を実施した [2.6.6.3.5 参照]. また，ヒトの心臓弁膜症を誘発することが知られているフェンフルラミン/フェンテルミン (投与量：10/5 及び 30/15 mg/kg/day) を陽性対照として用いた．しかしながら，グアンファシン塩酸塩投与群，フェンフルラミン/フェンテルミン投与群のいずれにおいても，心臓弁に変化の徴候は認められなかった．

2.6.2.3.3 鎮静，痙攣及び痛覚に及ぼす影響

2.6.2.3.3.1 鎮静作用

参考資料 4.2.1.1-03
概要表 2.6.3.2.3

ADHD 症状に対する作用を検討した試験 [2.6.2.2.2 項参照] において，ADHD モデル動物である SH ラットにグアンファシン塩酸塩を 0.075～0.6 mg/kg の用量で腹腔内投与すると，0.3 及び 0.6 mg/kg の用量において，鎮静症状が観察された．この鎮静作用に関し，Hayes らは，離乳期ラットにおいてグアンファシン塩酸塩は鎮痛作用より鎮静作用が強いと報告している [25].

また，幼若ラットを用いた毒性試験において，鎮静及び認知機能を含めた項目に対するグアンファシン塩酸塩の反復投与による影響が検討されており，グアンファシン塩酸塩 (0.3～3 mg/kg，経口投与) の 7 日齢から 59 日齢まで 1 日 1 回反復強制経口投与で，運動能評価において鎮静は示さず，Morris 水迷路試験における認知機能にも影響は認められなかった [2.6.6.6.6.2

項参照].

その他，げっ歯類を用いた鎮静に関する報告を以下に記載する．Handley らは，マウスにグアンファシン塩酸塩を耳介反射抑制の ED_{50} である 1.12 mg/kg の用量で皮下投与したとき，鎮静が認められたことを報告した [28]．Millan らは，ラットにグアンファシン塩酸塩を 2.5～10 mg/kg の用量で皮下投与したとき，最高用量の 10 mg/kg でのみ正向反射の消失を誘発することを示した [29]．Rotiroti らは，若齢成熟ラットにグアンファシン塩酸塩を極めて高用量である 1 mg/kg 静脈内投与又は 50～200 μg 脳室内投与したとき, 行動上及び脳皮質電図における徐波睡眠が 70～130 分持続的に観察され，この作用はサブタイプ非選択的 α_2 拮抗薬であるヨヒンビン (1 mg/kg, 腹腔内投与) 又は非選択的 α アドレナリン受容体拮抗薬であるフェントラミン (15.8 μg, 脳室内投与) により阻害されることを示した [34]．また，グアンファシン塩酸塩の 1～4 mg/kg 腹腔内投与により，ラットにおいて用量依存的なオープンフィールド自発運動の抑制が認められ, これはサブタイプ非選択的な α_2 受容体拮抗薬であるイダゾキサン (3 mg/kg, 腹腔内投与) の前処置により改善された [30].

Witte 及び Marrocco により, 成熟アカゲザルにおいてグアンファシン塩酸塩 (0.00001～0.0001 mg/kg，筋肉内投与) は，鎮静を全く又はほとんど示さなかったことが報告されている [35]．これらの結果は，Arnsten らの，中年～老年期のアカゲザル (n=9) においてグアンファシン塩酸塩 (0.001～0.5 mg/kg，筋肉内投与) は軽度な鎮静を示すのみであったが，0.0001 mg/kg の用量で遅延応答課題の改善がみられたとする初期の試験結果 [14] と概ね一致している．

同様の報告が雌性アカゲザルにおいても認められている [36]．この試験では，7 頭の雌性成熟サル (3～15 歳) にグアンファシン (投与量 : 0.0001，0.001，0.01，0.05，0.1，0.5 及び 0.7 mg/kg) を筋肉内投与し，その 120 分後に遅延反応課題の評価を行う際に，9 ポイントスケール評価 (正常状態 : スコア 0) による鎮静 (最高スコア : 4) 及び興奮 (最高スコア : −4) 症状の評価も併せて行った．その結果，グアンファシンは 0.1 mg/kg 以上の用量で空間作業記憶を向上させたのに対して，0.0001～0.5 mg/kg の用量で一般症状に影響は認められず，最高用量 (0.7 mg/kg) においてのみ，軽度な鎮静症状 (スコア中央値 : 1.25) が観察された．

また，ヒトにおいて，同程度の降圧作用を示す用量 (グアンファシン 1 mg 投与さらに 2 時間後に 2 mg 投与対クロニジン 0.15 mg 投与さらに 2 時間後に 0.3 mg 投与) を投与した際に，グアンファシンはクロニジンより脳波測定での鎮静作用が弱いことが報告されている [37]．これらげっ歯類や高等動物の試験結果から, a) グアンファシンは他の α_2 アドレナリン受容体作動薬と同様に鎮静作用を有していること，b) この作用には α_{2A} アドレナリン受容体の活性化が関与していること，及び，c) グアンファシンの選択的な α_{2A} アドレナリン受容体アゴニスト作用はヒトで副作用を生じさせることを示唆している．

2.6.2.3.3.2 痙攣に及ぼす影響

Papanicolaou らは，ラットを用いて，ペンチレンテトラゾール誘発痙攣に対するグアンファシンの影響を検討した [38]．雌雄 Sprague Dawley 系ラット (3～7 例/群) にグアンファシン塩酸塩 (投与量 : 0.00001，0.0001，0.001，0.01，0.1，1 及び 10 mg/kg) ，クロニジン (投与量 : 0.00001,

0.0001，0.001，0.01，0.1 及び 1 mg/kg)，または媒体 (生理食塩液) を腹腔内投与し，その 15 分後にペンチレンテトラゾール (50 mg/kg) を腹腔内投与した後に誘発される痙攣の発現潜時及び持続時間を計測した．その結果，グアンファシンは，いずれの用量においてもペンチレンテトラゾール誘発痙攣の発現潜時には影響を及ぼさなかったが，0.0001 mg/kg 以上の用量で痙攣持続時間を有意に抑制し，抗痙攣作用を示した．0.001 mg/kg の用量では，媒体投与時と比較して 87.3%の痙攣持続時間の抑制を示し，最大の抗痙攣作用が観察されたが，これと同程度の作用は 1000 倍の用量である 1 mg/kg 投与においても認められた．クロニジンも，痙攣発現潜時には影響を及ぼさなかったが, 0.0001 mg/kg の用量から痙攣持続時間を有意に抑制し, 0.001 mg/kg の用量で最大の抗痙攣作用を示した．また，著者らは，クロニジンの抗痙攣作用は，腹腔投与時よりも脳室内投与時の方が 100 倍強い抗痙攣作用を示し，α_2アドレナリン受容体拮抗薬であるヨヒンビンの前処置によって阻害されることから，中枢神経系 α_2アドレナリン受容体刺激が抗痙攣作用に寄与していることを考察している．

その他, マウスを用いた痙攣に関する報告を以下に記載する. グアンファシン (0.1～0.5 mg/kg, 腹腔内投与) は，マウスにおいて，低酸素状態における痙攣潜時を延長させ，0.5 mg/kg の用量で有意な痙攣発現の延長が認められた [23]．Kunchandy 及び Kulkarni は，マウスにおいて，痙攣誘発薬 Ro 5-4864 (60 mg/kg, 腹腔内投与) の 15 分前に投与したグアンファシン (0.5～1 mg/kg, 腹腔内投与) は，抗痙攣作用を示すことを報告した [22]．グアンファシン (0.1 mg/kg，腹腔内投与) は，フルロチル誘発痙攣に対しても抗痙攣作用を有していた．また，媒体投与で野生型マウスに比べ痙攣がより重度に現れる α_{2A} アドレナリン受容体ノックアウトマウスでは，グアンファシンの抗痙攣作用が消失した．同様に，グアンファシン (0.1 mg/kg，腹腔内投与) の前処置により，ペンチレンテトラゾール (40 mg/kg，腹腔内投与) 誘発痙攣が抑制された．α_{2A}アドレナリン受容体ノックアウトマウスでは，フルロチル誘発時よりもペンチレンテトラゾール誘発痙攣は顕著に発現することはなかったが，いずれもグアンファシンはこれらの痙攣に対して抑制作用を示さなかった [24].

これらの結果から，グアンファシンは抗痙攣作用を有し，また作用機序として中枢神経系における α_{2A}アドレナリン受容体を介することが示唆される．

2.6.2.3.3.3 痛覚に及ぼす影響

グアンファシン塩酸塩 (0.01 mg/kg，腹腔内投与) は，マウスでのブラック/ホワイトボックステストによる検証により，抗不安様作用を有することが報告されている [39]．Morrow らは，グアンファシン (0.1 mg/kg，腹腔内投与) が明らかな鎮静作用を示さずに，恐怖条件付けによる不動反応を有意に阻害することを示した [40]．Vogel 型飲水ショックによるコンフリクト試験変法において，グアンファシン塩酸塩 (0.1～0.5 mg/kg，静脈内投与) の抗不安作用が観察されなかったとする La Marca 及び Dunn の報告もあるが [41]，上記の結果は，グアンファシンがヒトにおいて抗不安作用を有する可能性を示している．

α_2アドレナリン受容体作動薬は，鎮痛作用を有している [42, 43, 44]．Post らは，ラットのテイルフリック試験において，グアンファシン及びクロニジンを髄腔内投与し，テイルフリック法にて両薬物の抗侵害受容作用について検討した [27]. 雄 Sprague Dawley 系ラット (6 例/群) に，

生理食塩液を媒体として，グアンファシン (投与量：0，3，6，12.5，25 及び 50 μg/kg) 又はクロニジン (投与量：0，6，12.5，25 及び 50 μg/kg) を髄腔内投与し，投与 10，60，120，180 及び 240 分後並びに 18 時間後にラットの尾の先端部に熱刺激を与え，その際の尾の逃避反射の潜時を測定することにより，抗侵害受容作用を評価した．その結果，グアンファシンでは，投与 10 分後では 6 μg/kg 以上の用量で，さらに投与 60 分後においては 3 μg/kg 以上の用量で抗侵害受容作用が認められ，25 及び 50 μg/kg の作用は投与 18 時間後まで持続的に観察された．一方，クロニジンでは，投与 10 分後で 6 μg/kg 以上の用量において抗侵害受容作用が認められたが，投与 60 分後においては 6 μg/kg 投与群での作用は観察されなくなった．また，12.5 μg/kg 及び 50 μg/kg の用量群で 180 分後までは作用が認められていたが，投与 240 分後においては，いずれの投与群においても抗侵害受容作用は認められなくなっており，抗侵害受容作用の持続時間は明らかにグアンファシンの方が長かった．著者らは，この要因として，脊髄中の両薬物濃度測定の結果から，グアンファシンの消失速度がクロニジンよりも遅いことによると考察している．

この他にも，ラットのテイルフリック試験によるグアンファシン抗侵害受容作用は，同じく髄腔内投与 [45] や腹腔内投与 (530 又は 1060 μg/kg) でも報告されている [46]．同様に，Yaksh らはラットの脊髄神経損傷モデルにおいて，グアンファシン髄腔内投与で ED_{50}=0.032 mg/kg となる抗アロディニア作用を示した [26]．これに対して，Puke らはラットの坐骨神経切断モデルでは，グアンファシン (38 nmol) の 1 日 2 回髄腔内投与で神経障害性疼痛を減弱しなかったと報告している [47]．また，「エスタリック® 0.5 mg[redacted]」において，一般薬理試験の一つとして，マウスの酢酸ライジング法及びテイルピンチ法を用いた鎮痛作用の評価が行われている．その結果，グアンファシンは，1 及び 4 mg/kg の経口投与で酢酸ライジング反応を完全に抑制し，4 mg/kg の経口投与でテイルピンチ法における鎮痛作用を示したことが報告されている [1]．

これらの試験結果は，グアンファシンが抗侵害作用や鎮痛作用を有することを示し，選択的な α_2 アドレナリン受容体作動薬であるグアンファシンの既知の薬理作用と一致している．

2.6.2.3.4 心血管系に及ぼす影響

心血管系の組織において，α_2 アドレナリン受容体は交感神経系における前シナプスの抑制性自己受容体として主に分布していることが知られている [48]．グアンファシンの作用について多数の非臨床試験があるが，高用量での多くの作用はグアンファシンが高曝露になった際の副次的薬理作用に結び付いている．したがって，以下の記載はグアンファシンの α_2 アドレナリン受容体アゴニスト作用に関連した非臨床所見であるが，臨床所見との関連性を有する可能性がある．

グアンファシンは，自発的に拍動するシリアンハムスター，モルモット及びウサギの心臓標本における交感神経刺激の頻脈作用に対して抑制作用を示し，IC_{50} 値はそれぞれ 1，5.4 及び 20 nmol/L であった．この抑制作用は，前シナプスの α_2 アドレナリン自己受容体を介していた．さらに，1～10 μmol/L の高濃度において，グアンファシンは，α_1 アドレナリン受容体を介した機序により，ウサギ乳頭筋の収縮力を増加させた [49]．

グアンファシンを含む α_2 アドレナリン受容体作動薬の降圧作用について，Gillis らが包括的

なレビューを公表している．重要なこととして，この降圧作用は，α_2 アドレナリン受容体作動薬が，特に心血管反射神経の除神経を伴う節前交感神経ニューロンや交感神経の緊張が高まっているヒトにおいて，自発的な交感神経流出を減少させることで示されるように，これらの薬剤の中枢作用を主に介している．さらに，α_2 アドレナリン受容体作動薬は，全身投与では影響を与えない用量を脳内に局所的に投与すると，動脈圧や心拍数を減少させた．動物やヒトにおいて，α_2 アドレナリン受容体作動薬は，頸部の脊髄離断状態では降圧作用を示さず，さらに，動物において，頸部を離断した脊髄の交感神経を電気刺激して，動脈圧を正常範囲に維持した状態でも，降圧作用は現れなかった．また，α_2 アドレナリン受容体作動薬の中枢性降圧作用が，ノルアドレナリン減少や選択的なニューロン損傷によって減弱しないことから，後シナプスに存在する α_2 アドレナリン受容体の活性化を介していることも考えられる [50].

Doxey らは，麻酔ラットに，グアンファシン及びアドレナリン受容体作動薬であるグアナベンズを静脈内投与した結果，投与直後に血圧をわずかに上昇させた後，降圧作用が持続的に発現したことを報告している．また，ラット輸精管及び肛門尾骨筋を用いて α_2/α_1 アゴニスト活性の選択性比を検証した結果，グアンファシン及びグアナベンズはそれぞれ 68 及び 97 と α_2 に対して高い選択性を示した [2.6.2.2.1 項参照]．両薬物よりも α_2/α_1 アゴニスト活性の選択性比が低いクロニジン及びチアメニジン (選択性比 : 14 及び 8) では，静脈内投与直後の血圧上昇はより顕著に現れ，その後降圧作用が観察された．また，α_2/α_1 アゴニスト活性の選択性比が更に低いオキシメタゾリン及び St 91 (選択性比 : 4 及び 0.6) では，投与直後に血圧上昇が現れた後，降圧作用は認められなかった．なお，いずれの薬物投与においても心拍数の減少が観察された．麻酔ラットに，これらのアドレナリン受容体作動薬を脳室内投与した結果，グアンファシン，グアナベンズ及びクロニジンは投与直後から血圧下降を示したのに対して，α_2/α_1 アゴニスト活性の選択性比が低いチアメニジン，オキシメタゾリン及び St 91 では血圧に影響は認められなかった．以上の結果から，グアンファシンを含むアドレナリン受容体作動薬の降圧作用は，主に中枢の α_2 アドレナリン受容体を介していることが示唆された [2].

グアンファシンによる降圧作用について，Salzmann は Grollman 腎性高血圧モデルラットを用いて検討した [16]．雌性 SIV50 系ラットを用いて，5 週齢時に片腎を絹糸で 8 の字に結紮狭窄し，6 週齢時にもう片側の腎臓を摘出して腎性高血圧モデルを作製後，10 週齢から使用した．グアンファシン (0.3 mg/kg) または媒体 (脱塩水) を 1 日 2 回，3 週間経口投与し，1 回目投与の直後，3 時間後及び翌日 1 回目投与直前の計 3 回を 1 セットとして，週に 2 セットずつテイルカフ法により収縮期血圧を測定した．その結果，各測定の投与 3 時間後において収縮期血圧の低下が認められた．グアンファシンによる降圧作用は SH ラットにおいても認められており [17, 18]，また反復投与でも維持されることが報告されている [19, 20].

グアンファシンは，クロニジンよりも薬理学的半減期がはるかに長いため，投与休止による頻脈や昇圧のリバウンドが生じにくいとされている [19]．しかし，高用量のヨヒンビンを投与したグアンファシン処置 SH ラットにおいて，リバウンドが引き起こされることから，収縮期血圧や心拍数への影響も α_2 アドレナリン受容体を介していることが示唆されている [20]．グアンファシンは，イミダゾリン (I_1) 受容体に対する親和性が低い (Ki=2.5 μmol/L) ため，覚醒下の SH ラットに 10 μg 以下の用量で大槽内投与しても，平均血圧及び心拍数にはわずかにしか影

響を及ぼさなかった．一方，クロニジンは，α_2アドレナリン及びイミダゾリン (I_1) 受容体に対してナノモル濃度の親和性を有しており，SH ラットに同用量範囲で大槽内投与すると，平均血圧及び心拍数の用量依存的な減少が引き起こされた [51]．麻酔下の正常血圧ラットにおいて，グアンファシン塩酸塩 (0.01～1 mg/kg，静脈内投与又は 0.03～10 mg/kg，筋肉内投与) により，投与初期には末梢 α_1アドレナリン受容体刺激による昇圧作用が生じ，その後中枢系を介した持続的な平均血圧の低下が認められた．これらの血圧への作用には，グアンファシンの投与経路に関わらず，心拍数の顕著な投与量依存性の減少が伴っていた [52]．Oates らは，グアンファシン塩酸塩 (0.1 mg/kg，1 日 2 回筋肉内投与) を 3 週間反復投与した正常血圧ラットにおいて，投与休止後に収縮期血圧及び心拍数にリバウンド上昇が観察されたと報告したが [52]，その後 Salzmann らは，グアンファシン (0.3 mg/kg，1 日 2 回経口投与) を同一の処置期間で実施した研究において，このリバウンドは恐らくアーチファクトであると報告している [16].

非選択的 α_2アドレナリン受容体作動薬である UK 14,304 (100 μg/kg，頸動脈内投与) 又はデクスメデトミジン (5 μg/kg，頸動脈内投与) により，野生型マウスでは顕著な平均血圧及び心拍数の減少が生じた．一方，α_{2A}アドレナリン受容体変異マウスでは，これら薬物による降圧作用又は変時作用が認められなかったが，投与初期の昇圧作用は影響を受けなかった [53]．また，デクスメデトミジン (5 μg/kg，頸動脈内投与) による徐脈又は降圧作用は，α_{2C}アドレナリン受容体ノックアウトマウスでは影響を受けなかった．一方，α_{2B}アドレナリン受容体ノックアウトマウスでは，この非選択的 α_2アドレナリン受容体作動薬による徐脈作用は維持したが，投与初期の昇圧作用は消失した [54]．これらの結果から，げっ歯類におけるグアンファシンの降圧作用及び徐脈作用は，中枢性の後シナプスにおける α_{2A} アドレナリン受容体活性化を介して，脳からの交感神経流出を減弱することにより生じていることが示唆されている [53]. この作用は，前シナプスの α_{2A} アドレナリン受容体活性化により交感神経ニューロンからのノルアドレナリン遊離を抑制するグアンファシンの補完的作用により促進させる可能性がある．また，選択的な α_{2A} アドレナリン受容体作動薬による投与初期の昇圧作用には，α_1 及び/又は α_{2C} アドレナリン受容体の活性化を介している可能性がある．

麻酔下のウサギに，グアンファシン塩酸塩 (3～100 μg，脳室内投与) を投与すると，用量依存的な平均血圧及び心拍数の減少が生じた．この減少は投与後速やか (5～10 分後) に生じて，降圧作用は 2～4 時間持続したが，グアンファシン塩酸塩の効力はクロニジンの約 1/10 であった [55]．別の麻酔下のウサギを用いた研究においては，グアンファシン (0.01 又は 0.1 mg/kg，静脈内持続投与) によって，動静脈短絡血流は用量依存的に減少する一方で，心拍出量に変化を与えることなく平均血圧及び心拍数が減少した [56]. 同様に，麻酔下のウサギに，グアンファシン (0.01～0.3 mg/kg) を静脈内持続投与すると，0.03 及び 0.1 mg/kg で平均血圧を，0.03～0.3 mg/kg で心拍数を減少させたが，0.3 mg/kg で平均血圧を上昇させた．この時，心拍出量には影響が認められなかったが，動静脈短絡血流は減少を示した．さらに，心筋収縮力は減少し，全身血管コンダクタンスは上昇しており，内臓循環，脳や骨格筋など広範囲において末梢血管拡張を誘発した．また，グアンファシンは腎臓において，ベルシェープ型の用量反応曲線を示す弱い血管拡張作用も有していた [57].

麻酔サルにおいては，グアンファシン (0.011，0.11 及び 0.53 mg/kg，筋肉内投与) 又はクロニ

ジン (0.001，0.01 及び 0.05 mg/kg，筋肉内投与) により，収縮期血圧の顕著な用量依存的減少が認められ，グアンファシンの効力はクロニジンの約 1/10 であった．これら両薬物の降圧作用は，α_2 アドレナリン受容体拮抗薬であるイダゾキサン (0.1 mg/kg，筋肉内投与) 又は MK912 (0.0014～0.14 mg/kg，筋肉内投与) により用量依存的に回復した．クロニジンが覚醒サルにおいて認知機能を改善させる用量で降圧作用を示すのに対して，グアンファシンは 0.01 mg/kg (筋肉内投与) で空間認知機能を改善させたが，この約 10 倍用量では収縮期血圧に影響を及ぼさなかった．しかしながら，MK912 によるグアンファシンのこれら 2 つの作用の回復について相関解析を実施したところ，共に同じ α_{2A} アドレナリン受容体サブタイプを介していることが示された [21].

これらの実験成績は，グアンファシンが，心拍数減少を伴うかは明白ではないが，末梢血管抵抗を減弱させて収縮期及び拡張期血圧を下げることにより，明らかな降圧作用を有していることを示している．これらグアンファシンの作用は，主に中枢性 α_2 アドレナリン受容体を介しており，また前シナプス α_{2A} アドレナリン受容体による交感神経ニューロンからのノルアドレナリン遊離抑制も一部寄与している．ヒトの橋/延髄において，主な α_2 アドレナリン受容体サブタイプは α_{2A} アドレナリン受容体であり，α_{2C} アドレナリン受容体も少し存在しているが，α_{2B} アドレナリン受容体は存在していない [58, 59, 60, 61]．α_{2A} アドレナリン受容体は前シナプス受容体として，ヒトの伏在静脈 [62] や大動脈 [61] にも存在しているが，心臓には存在していない [59, 61]．これらの所見は，グアンファシンのヒトにおける降圧作用を裏付けるものであり，臨床所見でも特性が明らかになっている．したがって，グアンファシンを ADHD 治療薬に用いた場合，低血圧や徐脈の副作用を生じる可能性がある．

2.6.2.3.5 代謝に及ぼす影響

グアンファシン (0.125～32 mg/kg，経口投与) により，用量依存的にマウスの代謝率を低下させ，最大で 40%の低下が認められた．この作用が成長率を増加させるかを調べるために，マウスに，グアンファシン (0.125～2 mg/kg) を 1 日 1 回 10 日間経口投与した．その結果，予想に反して用量依存的な摂餌量，体重増加量及び飼料変換効率の減少が認められた．一方，グアンファシン (0.5 mg/kg) をマウスに 1 日 2 回 14 日間経口投与した結果，代謝作用の耐性が認められた．本試験の終了時において，マウスの代謝率は媒体投与群とグアンファシン投与群で同じであった．別試験において，グアンファシン (0.5 mg/kg) を 12 時間間隔で 3 回経口投与した結果，重度の糖尿を示し，グアンファシン投与後に生じるマウスの体重減少メカニズムの 1 つであることが示唆された [63].

ラットにおいて，グアンファシン塩酸塩 (0.03～1.1 mg/kg，皮下投与) により，安静期のエネルギー消費が有意に減少し，最大で 20%の減少が認められた．グアンファシン塩酸塩 (0.5 mg/kg，皮下投与) による安静期エネルギー消費の減少は，α_2 アドレナリン受容体拮抗薬であるイダゾキサン (1 及び 5 mg/kg，皮下投与)，ヨヒンビン (1 mg/kg，皮下投与) 又は RX821002 (1 mg/kg，皮下投与) により拮抗されたが，α_1 アドレナリン受容体拮抗薬であるプラゾシン (1 及び 5 mg/kg，皮下投与) では拮抗されなかった [64]．また，摂餌制限 (通常摂餌量の 75%) を施したラットにおいて，グアンファシン塩酸塩 (0.5 mg/kg) を 1 日 2 回 6 日間皮下投与し，エネルギー消費，

摂餌量及び身体組成に及ぼす影響を検討した結果，エネルギー消費は 30%の大きな減少を示したが，体重増加，乾燥重量増加，全身エネルギー総量の増加量，たん白，脂肪及び無機質には有意な変化は認められなかった．さらに，グアンファシン塩酸塩 (1～4 mg/kg，腹腔内投与) は用量依存的にラットの体温を下降させたが，これは α_2 アドレナリン受容体拮抗薬であるイダゾキサン (2～3 mg/kg，腹腔内投与) により拮抗された [65]．グアンファシンはげっ歯類において体温下降作用を示したが，種によって体温調節機序には大きな違いがあることから，ヒトへの外挿性は低いことが考えられる．

2.6.2.3.6 免疫学的及び炎症性作用

グアンファシン (0.001～0.05 mmol/L) を *in vitro* でマウスのマクロファージに 48 時間適用した結果，濃度依存的にインターロイキン 12 の mRNA 発現を上昇させた．このグアンファシンの作用は，α_2 アドレナリン受容体拮抗薬であるヨヒンビン又は RX821002 にて阻害されたことから，α_2 アドレナリン受容体を介することが示唆された [66]．

グアンファシン塩酸塩 (0.5 又は 1 mg/kg，腹腔内投与) は，ラットにおけるカラゲニン，ホルマリン，セロトニン又はヒスタミン誘発肢の浮腫に対して，抗炎症作用を示すことが報告されている．炎症を惹起するため，1%カラゲニン，1%ホルマリン，0.01%セロトニン，又は 10 mg/mL ヒスタミン溶液 0.1 mL を前肢の足底面に注入した．カラゲニン又はホルマリンによる浮腫に対するグアンファシン (0.5 又は 1 mg/kg，腹腔内投与) の抗炎症作用は，ヨヒンビン (5 mg/kg，腹腔内投与) により阻害されることから，α_2 アドレナリン受容体を介する機序であることが示唆されている．また，グアンファシン塩酸塩 (0.01 mg/kg) を脳室内投与しても，カラゲニンによる肢の炎症を減弱させた [46]．

ウサギに 0.0005 mg/kg のリポポリサッカロイドを静脈内投与した前部ブドウ膜炎に対して，リポポリサッカロイド投与 30 及び 5 分前，並びに 30 分後に，右眼にグアンファシン塩酸塩の 1%溶液を 50 μL (0.5 mg) 適用させ，レーザーフレア・セルメーターを用いて評価した結果，リポポリサッカロイドによる房水フレアの上昇が 94%抑制された．また，α_2 アドレナリン受容体拮抗薬であるヨヒンビン (1 mg/kg，静脈内投与) の前処置により，グアンファシン塩酸塩のフレア上昇抑制作用が阻害されることから，眼の抗炎症作用には一部 α_2 アドレナリン受容体を介していることが示唆されている [67]．

2.6.2.3.7 その他の薬理作用

2.6.2.3.7.1 正常ラットに対するグアンファシンの脳局所作用

参考資料 4.2.1.2-03
概要表 2.6.3.3.3

小動物用の機能的磁気共鳴機能画像法 (fMRI) の開発により，ADHD 治療薬の脳内局所作用を評価することが可能となっている．麻酔下のラット (9 例/群) を個別に MRI 装置 (2.35T，Bruker 製) に入れ，ベースの信号強度変化を 90 分間測定後，媒体 (生理食塩液) 又はグアンファシン塩酸塩 (投与量：0.3 mg/kg) を腹腔内投与してから，90 分間測定した．Statistical parametric maps を用いて，得られたデータから blood oxygenation level dependent (BOLD) 効果を解析した．

その結果，主な変化として，前頭葉部位は正の BOLD 効果が認められたのに対して，大脳基底核を構成する尾状核被殻では負の BOLD 効果が観察された．

グアンファシン塩酸塩は，前頭葉の活動を活性化するのに対して，尾状核の活動を減弱させた．ADHD で障害が生じていることが知られている前頭葉部位及び大脳基底核において [68]，ラットでも神経活動の変化が認められることから，ヒトに対するグアンファシンの効能を説明し得る可能性がある．

2.6.2.3.7.2 その他の作用

ラット膵臓切片において，*in vitro* でグアンファシン塩酸塩 (0.1～50 μmol/L) を適用させても，基礎及び電気刺激によるアミラーゼ分泌に影響は認められなかった [69]．ウシ培養副腎髄質細胞において，グアンファシン塩酸塩 (0.05 mmol/L) は，カルバコール刺激による [^{14}C]-チロシンから [^{14}C]-カテコールアミンの生成を阻害した．一方，α_1 アドレナリン受容体作動薬のフェニレフリン (0.1 mmol/L) 又はノルフェネフリン (0.1 mmol/L) では生成に影響を及ぼさなかったことから，この反応は α_2 アドレナリン受容体を介していることが示唆された．また，カルバコール刺激によるチロシンヒドロキシラーゼ活性の上昇がグアンファシン塩酸塩により抑制されたことから，グアンファシン塩酸塩は，チロシンヒドロキシラーゼ活性を抑制することにより，カルバコール刺激による [^{14}C]-カテコールアミン生成を阻害することが示唆されている [70]．

Togashi らは，麻酔下の SH ラットを用いて，グアンファシンの副腎髄質機能に及ぼす影響を評価した [71]．雄 SH ラットを α-クロラロース (50 mg/kg) 及びウレタン (500 mg/kg) の腹腔内投与による麻酔下におき，生理食塩液を媒体として，グアンファシン塩酸塩 (0.03，0.1，0.3 及び 1 mg/kg)，又はクロニジン塩酸塩 (0.003，0.01，0.03 及び 0.1 mg/kg) を静脈内投与し，投与 1 時間後までの副腎における交感神経活性，並びに投与 5, 10 及び 20 分後のカテコールアミン (アドレナリン及びノルアドレナリン) 分泌速度を測定した．その結果，グアンファシン塩酸塩及びクロニジン塩酸塩は，ともに投与直後から用量依存的に神経活性を低下させ，ED_{50} 値はそれぞれ 0.3 及び 0.03 mg/kg であった．また，このときの ED_{50} 用量である 0.3 mg/kg のグアンファシン塩酸塩は，投与後 10 分から，副腎からのカテコールアミン分泌速度の有意な低下が認められ，投与 20 min 後においては，アドレナリン及びノルアドレナリンで投与前値と比較し，それぞれ 26.2 及び 22.1%まで低下させた．クロニジン塩酸塩も 0.03 mg/kg の用量でカテコールアミン分泌速度を低下させたが，その程度はグアンファシン塩酸塩 (0.3 mg/kg) の投与時とほぼ同程度であった．したがって，クロニジン塩酸塩の方が，グアンファシン塩酸塩よりも副腎機能に及ぼす影響が強いことが示唆された．また，グアンファシン塩酸塩 (0.3 mg/kg) は，副腎の血漿流量も投与前レベルの 60%程度まで減少させた．ヒトの副腎には，α_{2A} アドレナリン受容体が分布しているが，同じく α_{2B} 及び α_{2C} アドレナリン受容体も分布しており，これらの結果はグアンファシンが臨床において低血圧を誘発する可能性を示唆している [59, 61]．

2.6.2.4 安全性薬理試験

2.6.2.4.1 中枢神経系に及ぼす影響

評価資料 4.2.3.5-01，4.2.3.5-02

概要表 2.6.7.15.2，2.6.7.15.3

グアンファシンの中枢神経系に及ぼす影響については，安全性薬理コアバッテリーとして独立した試験では実施されていないが，幼若ラットにおける反復経口投与毒性試験 GLP 試験 [評価資料 4.2.3.5-01] において, 一般症状及び神経行動学的機能 (縮瞳反応, 視覚性置き直し反応, 驚愕反応，自発運動量，Morris 水迷路による学習記憶及びロータロッドによる神経筋機能) の評価を行った [2.6.6.6.5.2 項参照]. 本試験では, Crl:CD (SD) IGS BR ラット (雌雄各 18 例/群) を用いて，グアンファシン塩酸塩を 0 (対照群：水)，0.3，1，2 (雄) 及び 3 (雌) mg/kg/日の投与量で 7 日齢から 59 日齢まで 1 日 1 回反復強制経口投与した. その結果, 一般症状観察においては, 1 及び 2 mg/kg/日投与群の雄及び 1 及び 3 mg/kg/日投与群の雌で，投与 4 又は 5 週目以降の投与後に流涎がみられた例が散発したのみで, その他特記すべき一般症状変化は認められなかった. 縮瞳反応, 視覚性置き直し反応, 驚愕反応及び Morris 水迷路による学習記憶の評価においては, いずれの投与群も影響を及ぼさなかった. 自発運動量については, 雄では影響は認められなかったが，3 mg/kg/日投与群の雌において，対照群に比べて有意な増加が観察された．また，ロータロッドによる神経筋機能評価では，2 mg/kg/日投与群の雄及び 3 mg/kg/日投与群の雌において，ロータロッド保持時間が対照群に比べて有意に延長した．これらの投与群においては，11 日齢から 60 日齢にかけて，体重が対照群と比較して有意に低値を示しており，低体重のラットが対照群の高体重ラットに比べ優れた敏捷性を発揮し，保持時間の延長に繋がったと考えられ，毒性学的意義は乏しいことが示唆される．以上の成績から，7 日齢から 59 日齢まで 1 日 1 回反復強制経口投与した幼若ラットにおける反復経口投与毒性試験では, 2 (雄) 及び 3 (雌) mg/kg/日の用量まで，中枢神経系への影響を示唆する明らかな所見は観察されないと判断した.

一方，投与期間を延長し，Crl:CD (SD) ラット (雌雄各 12 例/群) に 0 (対照群 : 水投与)，0.3，1 及び 3 mg/kg/日の投与量で 7 日齢から 97 日齢まで 1 日 1 回反復強制経口投与した幼若ラット GLP 試験 [評価資料 4.2.3.5-02] では，80 日齢以降，3 mg/kg/日投与群に，投与後の不動立位状態，活動性低下及びふらつき/異常歩行など，中枢神経系へ影響を示唆する所見が認められた [2.6.6.6.5.3 項参照].

また，公表文献によると，グアンファシン塩酸塩の成獣ラットにおける 5 週間反復経口投与毒性試験 [1, 72] では，グアンファシン塩酸塩を 0 (対照群：蒸留水投与)，0.3，1，3，10 及び 30 mg/kg/日の投与量で Jcl:SD ラット (雌雄各 12 例/群) に 1 日 1 回 (週 6 日) 5 週間反復強制経口投与したところ，10 mg/kg/日以上の投与群の雄及び 3 mg/kg/日以上の投与群の雌に呼吸抑制, 自発運動減少, 立毛, 散瞳, 眼球突出, 流涎, 反射運動亢進及び腹部弛緩等がみられた [2.6.6.3.3.1 項参照]．さらに，成獣ラットにおける 26 週間反復経口投与毒性試験 [1, 73] では，グアンファシン塩酸塩を 0 (対照群：蒸留水投与)，0.1，0.3，1，3 及び 10 mg/kg/日の投与量で Jcl:SD ラット (雌雄各 20 例/群) に 1 日 1 回 (週 6 日) 13 又は 26 週間反復強制経口投与したところ, 3 mg/kg/日以上の投与群の雌雄に，投与後間もなく強制呼吸，軽度の立毛，眼球突出及び散瞳がみられ,

その後，自発運動減少，軽度の鎮静などがみられた．その他，反射運動亢進が投与期間を通して散見された．3 mg/kg/日以上の投与群の雄及び 10 mg/kg/日投与群の雌に体重増加抑制がみられた [2.6.6.3.3.2 項参照]．グアンファシン塩酸塩のラットへの反復経口投与により，各試験におおむね共通して自発運動減少等，呼吸抑制，立毛，散瞳，眼球突出及び反射運動亢進等の一般状態変化，体重増加量及び摂餌量の減少が認められた．

この他，「エスタリック® 0.5 mg[redacted]」 [1] において，グアンファシンの一般薬理試験の一つとして，マウス，ラット及びイヌの中枢神経系に及ぼす影響について，クロニジンと比較して検討されている．本試験の結果において，両薬物ともラット及びイヌにおける一般症状，ヘキソバルビタール睡眠延長作用，自発運動量，鎮静作用及び脳波に対する作用のいずれにおいても，中枢抑制作用が認められている．また，一般症状においては立毛及び眼球突出などの交感神経興奮症状も観察されていた．さらに，鎮静作用，抗痙攣作用，正常体温下降作用及び発熱体温下降作用も認められた．これらの影響は，いずれもグアンファシンの方がクロニジンより弱いことが報告されている．

2.6.2.4.2 心血管系に及ぼす影響

2.6.2.4.2.1 hERG チャネル発現細胞のイオン電流に対する作用

評価資料 4.2.1.3-01

概要表 2.6.3.4.1

hERG チャネルを発現させた HEK293 細胞を 1 群あたり 4～5 例使用した．グアンファシン塩酸塩を試験用液 [組成 (mmol/L)：NaCl 137；KCl 4；$CaCl_2$ 1.8；$MgCl_2$ 1.0；d-glucose 10；*N*-2-hydroxyethylpiperazine-*N*'-2-ethanesulfonic acid 10；pH 7.4) に溶解し，グアンファシンとして 1 μg/mL の濃度で細胞に適用させ，hERG チャネル電流を測定した．

その結果，グアンファシンの 1 μg/mL の濃度において，適用前値に対する hERG チャネル電流抑制率は 30.1%であった．試験用液適用時の抑制率は 31.0%であり，hERG チャネル電流の有意な抑制を示さず，IC_{50} ≥1 μg/mL であった．なお，本試験におけるグアンファシンの濃度 1 μg/mL は，国内小児 ADHD 患者 (小児全体 6～17 歳) における最大用量 (0.12 mg/kg) での推定血漿中 C_{max} 値が 12.9 ng/mL [2.7.2.3.3.1 項参照] であることを考慮すると，充分高い濃度である．

2.6.2.4.2.2 イヌの心拍数，血圧及び心電図に及ぼす影響

評価資料 4.2.1.3-02，4.2.1.3-03

概要表 2.6.3.4.1

グアンファシン塩酸塩の心拍数，収縮期血圧，拡張期血圧及び第 II 誘導心電図パラメータ (PR 間隔，RR 間隔，QRS 時間及び QT 間隔) に及ぼす影響を，覚醒イヌを用いて，テレメトリー法により評価した．グアンファシン塩酸塩 (投与量：0.5 及び 1.5 mg/kg) を経口投与した結果，媒体投与時と比べて投与 1.5～6 時間後にかけて心拍数が減少した (最大で投与 2 時間後に，それぞれ 36 及び 62 bpm の減少)．この徐脈作用により，RR 及び PR 間隔は増大したが，グアンファシン塩酸塩は QRS 時間，QT 間隔及び QTc には生物学的に意義のある影響を及ぼさなかった．なお，投与 3 時間後において Fridericia 法補正 QT 間隔 (QTcF) の有意な短縮が認められたが，

グアンファシン塩酸塩による影響ではなく，同時点における媒体投与群の QTcF が延長していたことに起因した変化と判断した．徐脈性律動不整を有する 2 例において，洞性徐脈及び房室結節での伝導時間遅延が引き起こされ，徐脈性律動不整の悪化が観察された．しかし，別の 2 例では，心電図波形やリズムへの変化は認められなかった．高用量 (5 mg/kg) のグアンファシン塩酸塩も 2 例に経口投与したが，重度な副作用 (嘔吐，運動失調，立毛，末梢循環不全) が生じたため，心血管系の評価において意義ある結果が得られなかった．

イヌへの経口投与で血清中最高濃度 (C_{max}) が得られると考えられる投与 2 時間後における平均血清中グアンファシン濃度は, 0.5 及び 1.5 mg/kg でそれぞれ 9.1 及び 36.1 ng/mL であった．この 1.5 mg/kg 投与時の血清中濃度は, 国内小児 ADHD 患者 (小児全体 6～17 歳) における最大投与量 (0.12 mg/kg) での推定血漿中 C_{max} 値である 12.9 ng/mL (0.05 μmol/L) [2.7.2.3.3.1 項参照] に対して，2.8 倍の濃度であった．

以上の結果から，グアンファシンの心血管系に対する影響として，QTc に変化を及ぼすことは無いことが示唆された．

2.6.2.4.3 呼吸系に及ぼす影響

α_{2A} アドレナリン受容体の活性化は, 低酸素状態に対する換気応答の抑制に重要な役割を果たしていると考えられる．グアンファシン (0.579 ± 0.089 mg/kg，腹腔内投与) は，出生後 14～17 日の α_{2A} アドレナリン受容体変異マウス (α_{2A} アドレナリン受容体の機能が欠損している) において，呼吸機能への影響を及ぼさなかったが，野生型マウスでは著しい呼吸数の抑制が観察された．低酸素状態では，野生型マウスの分時呼吸量や呼吸数は増加するが，α_{2A} アドレナリン受容体変異マウスの呼吸数は変化しなかった [74].

O'Halloran らはヤギを用いてグアンファシンの呼吸系に及ぼす影響を報告した．覚醒下の雌成熟ヤギ (6 例) に，グアンファシン (0.02 mg/kg/回，累積投与量で 0.14～0.18 mg/kg) を静脈内投与し，呼吸系パラメータを計測した．その結果，血液ガスパラメータ (酸素分圧及び二酸化炭素分圧) には影響を及ぼさなかったが，用量依存的に呼吸数の増加，1 回換気量の減少及び分時換気量の増加が認められた．この呼吸頻度の上昇は，α_2 アドレナリン受容体拮抗薬である RX821002 (0.002～0.006 mg/kg) の静脈内投与により阻害された．グアンファシンは，選択的な α_{2A} アドレナリン受容体作動薬であり，本報告では覚醒ヤギの呼吸系において，α_2 アドレナリン受容体サブタイプが深く関与していることを示唆している [75].

一方, 過去の報告では, 覚醒下のヤギ (6 例) にグアンファシン (5 mg) を硬膜外注射すると，血中二酸化炭素分圧の評価において呼吸抑制が認められたが，同程度の鎮痛作用を示した用量 (750 μg) のクロニジンほど顕著な作用としては発現しなかった [76].

要約すると，これらの研究は，グアンファシンの呼吸に対する相反した影響を示している．グアンファシンは α_{2A} アドレナリン受容体の選択性を有しており，α_{2A} アドレナリン受容体変異マウスにおいて，呼吸への影響が消失することから，このサブタイプが呼吸系への影響に関与していることが示唆されている．

2.6.2.4.4 腎臓系に及ぼす影響

放射性リガンドによる受容体結合試験や分子生物学的研究より，腎臓に存在する α_2 アドレナリン受容体のサブタイプは，哺乳類の種によっていくつかの違いがあることが示唆されているが，α_2 アドレナリン受容体の総存在量に対する比率は，明確になっていない．ラット腎臓では，ノーザンブロッティング解析により，α_{2A} (α_2-C10) 及び α_{2C} (α_2-C2) 受容体の mRNA 転写物は存在するが，α_{2B} (α_2-C4) 受容体は存在しないと報告されている [77]．一方，リボヌクレアーゼプロテクションアッセイでは，α_{2A} (α_2-C10) 及び α_{2B} (α_2-C4) 受容体の両方の存在が成熟腎臓に認められたが，α_{2C} [α_2-C2] 受容体は評価されなかった [59]．ヒト腎臓では，これら全 3 種の α_2 アドレナリン受容体サブタイプの mRNA が存在しており，主なサブタイプは α_{2C} アドレナリン受容体であると報告されている [61]．組織における mRNA 転写物の発現が，同様のたん白発現に直接反映されるわけではないため，たん白の存在が確認されることも重要である．ラット腎臓膜標本及び [^{3}H]-RX821002 を用いた放射性リガンド結合試験の結果では，α_2 アドレナリン受容体の比率は，α_{2A} が 14%，α_{2B} が 86%であった [9]．モルモット腎臓において，3 種の α_2 アドレナリン受容体サブタイプに同等の親和性を有する放射性リガンドである [^{3}H]-MK912 を用いた検討より，α_{2B} アドレナリン受容体の特有部位にのみ結合が認められたことから，主なサブタイプは α_{2B} アドレナリン受容体であることが示されている [11]．なお，ヒトの腎臓組織を用いた放射性リガンド結合試験は，これまで実施されていない．これまでの放射性リガンド結合試験において，使用しているリガンドの α_2 アドレナリン受容体各サブタイプに対する選択性は厳密ではないため，異なる種における受容体サブタイプの相対比率を正確に求めることは困難である．さらに，同一の受容体で種間によりアミノ酸/塩基配列 (受容体相同性) がわずかに異なることは稀なことではなく，このような違いが薬物リガンドによる受容体親和性に影響を及ぼす可能性がある．

Shockley らは，ラットを用いて α_2 アドレナリン受容体作動薬の利尿作用を検討した．雄 Sprague Dawley 系ラット (8 例/群) に，生理食塩液を媒体として，グアンファシン (投与量 : 0，60，120，240，480，960 及び 1920 μg/kg)，クロニジン (投与量 : 0，6，12，24，48，96，192 及び 384 μg/kg) またはグアナベンツ (投与量 : 0，60，120，240，480，960 及び 1920 μg/kg) を皮下投与し，投与 0.5，1，2，4 及び 24 時間後に尿量を測定した．その結果，いずれの α_2 アドレナリン受容体作動薬も，投与 2 時間後をピークとした用量依存的な利尿作用が認められた．これらの利尿作用は，α_2 アドレナリン受容体拮抗薬であるヨヒンビン (1～8 mg/kg, 腹腔内投与) を前処置すると，用量依存的に阻害されることが観察されており，ラットにおいて α_2 アドレナリン受容体刺激は，利尿作用を引き起こすことが示唆されている [78]．

また，腎臓部分摘出ラットを用いて周室核に投与した試験報告により，グアンファシンのナトリウム利尿作用には腎臓への直接作用ではなく，腎臓への交感神経活性に対する中枢性抑制を介していることが示唆されている [79]．別の報告では，腎臓部分摘出ラットにグアンファシン (3 nmol/kg/min) を腎臓内持続注入すると，尿量とナトリウム排出が増加し，これらは α_2 アドレナリン受容体拮抗薬である RX821002 (3 mg/kg，静脈内投与) により阻害された．しかし，浸透圧クリアランスは，α_1/α_{2B} アドレナリン受容体拮抗薬のプラゾシン (0.15 mg/kg，静脈内投与) の前処置で変化がみられなかった [80]．これらの所見を合わせると，グアンファシンによ

る体液や電解質レベルの調節作用には，末梢よりも中枢の α_2 アドレナリン受容体の寄与が大きいことが示されている．

これらの研究報告から導かれる結論として，グアンファシン処置においては，中枢性機序により尿量及びナトリウム排出が増加することが考えられる．

2.6.2.4.5 胃腸管系に及ぼす影響

α_{2A} アドレナリン受容体は，消化管に存在しており，そこで胃排出，胃腸管における輸送や体液/電解質平衡を調節している [81]．ラット摘出回腸の電気刺激による収縮に対して，グアンファシン塩酸塩 (0.003～3 μmol/L) は抑制作用を示し，その IC_{50} 値は 0.089 μmol/L であった [82].

麻酔ラットにおいて，グアンファシン塩酸塩 (1 mg/kg，静脈内投与) は胃酸分泌に影響を及ぼさなかった [83]．しかし，この結果は，同じく麻酔ラットを用いてグアンファシンの胃酸分泌に対する影響を検討した Kunchandy らの報告 [84] とは異なっている．

Kunchandy らの検討では，雌雄の Wistar 系ラットに，グアンファシン (投与量 : 106 μg/kg) を静脈内投与して基礎胃酸分泌量を測定した．その結果，投与 50 分間は分泌量が増加し，その後 3 時間まで分泌量の減少が持続する二相性の作用を示した．このグアンファシンによる基礎胃酸分泌増加は，ラットの両側迷走神経切除により持続時間が延長し，少なくとも一部で中枢性の迷走神経系が関与していることが示唆された．また，H_2 受容体拮抗薬であるシメチジン (投与量：10 mg/kg) を静脈内に併用投与すると，基礎胃酸分泌の増加作用が阻害されたことから，内因性のヒスタミン分泌など，間接的なヒスタミン性機序の関与も示唆された．さらに，グアンファシン (1 mg/kg，腹腔内投与) は，幽門部結紮やインドメタシン (30 mg/kg，皮下投与) による胃酸分泌も減少させ，ヨヒンビン (10 mg/kg，腹腔内投与) の前処置によって，幽門部結紮による胃酸分泌へのグアンファシンの抑制作用が阻害された．このことから，この反応には α_2 アドレナリン受容体を介する機序が示唆された [84].

グアンファシンは，患者の胃酸分泌において有害な増加を引き起こす可能性は低い．しかし，本剤の現処方情報には，治療用量において胃排出や腸管輸送への直接阻害作用が関連すること及びおそらく関連する消化器系副作用 (腹部不快感，下痢，便秘など) について記載されている．

2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験

参考資料 4.2.1.4-01
概要表 2.6.3.5.1

グアンファシン塩酸塩及び *d*-アンフェタミン硫酸塩 (以下,「*d*-アンフェタミン」とする) は共に，ADHD 患者に処方されており，そのため両薬物の併用投与により，単独投与時と比べて薬効が改善されるか検討されている．ADHD モデルである SH ラットを用いた試験で，グアンファシン塩酸塩 (投与量：0.25 及び 0.5 mg/kg) 又は *d*-アンフェタミン (投与量：0.65 及び 1.3 mg/kg) の各単独投与及び両薬物の併用投与 (投与量：0.125 mg/kg グアンファシン塩酸塩+ 0.325 mg/kg *d*-アンフェタミン及び投与量:0.25 mg/kg グアンファシン塩酸塩+ 0.65 mg/kg *d*-アンフェタミン) を実施し，多動性，注意欠如及び衝動性について評価した．その結果，*d*-アンフェタミン高用量単独投与及び高用量併用投与では，レバー押し反応の測定による多動性を同等に減少させ，この行動においてはグアンファシン塩酸塩と *d*-アンフェタミンの相加作用が認められた．グアンファシン塩酸塩単独投与は，全運動量と運動速度を減少させたが，*d*-アンフェタミン単独投与又はグアンファシン塩酸塩と *d*-アンフェタミンの併用投与は増加させた．また，両用量のグアンファシン塩酸塩単独投与では，SH ラットの衝動性や関連する「突発的活動」が減少した．*d*-アンフェタミン (1.3 mg/kg) も測定の序盤に衝動性及び「突発的活動」を減少させた．両薬物の併用投与では，測定の終盤に衝動性が減少し，「突発的活動」が減少した．本試験において，グアンファシン塩酸塩単独投与では，SH ラットの注意欠如を改善させたが，*d*-アンフェタミン単独投与又はグアンファシン塩酸塩と *d*-アンフェタミンの併用投与では，作用が認められなかった．グアンファシン塩酸塩は，SH ラットにおける ADHD に関連する全行動を総じて改善させたが，*d*-アンフェタミンは，一部の行動のみを改善させた．これらの試験成績からは，グアンファシン塩酸塩と *d*-アンフェタミンの有効量以下の併用投与により，SH ラットの ADHD 関連行動が改善されるという仮説は支持されなかった．

2.6.2.6 考察及び結論

グアンファシンは，α_{2B} 及び α_{2C} アドレナリン受容体と比較して α_{2A} アドレナリン受容体サブタイプに 15～20 倍の高い選択性を有するとともに，他の多くの G たん白共役型受容体，イオンチャネル，酵素及びトランスポーターに対してはほとんど親和性を示さない，選択的な α_{2A} アドレナリン受容体作動薬である．

SH ラットは ADHD モデル動物として確立，検証されており，多動性，衝動性及び注意持続時間の低下など，この疾患に特徴的な認知及び行動の異常のいくつかを示すことが知られている [15]．グアンファシン塩酸塩は，用量依存的に SH ラットの衝動性及び多動性を抑制し，持続的注意を増強した．これらの結果は，グアンファシン塩酸塩が ADHD の中核症状である行動及び認知に関する 3 つの症状に対して治療効果があることを示唆している．

ラットにおいて，fMRI を用いて，グアンファシン塩酸塩投与による脳内局所作用を評価した結果，グアンファシン塩酸塩は，前頭葉の活動を活性化するのに対して，大脳基底核を構成する尾状核の活動を減弱させた．これらの結果から，前頭皮質がグアンファシンの ADHD 治療における主な作用部位であることが示唆される．

以上，非臨床薬理試験の結果をまとめると，グアンファシンは主要な ADHD 症状，すなわち持続的な注意欠如，衝動性及び多動性に対して改善作用を有し，その薬理作用メカニズムとして，前頭皮質の α_{2A} アドレナリン受容体に作用し，認知及び行動機能を向上すると考えられる．

グアンファシンが α_{2A} アドレナリン受容体に選択性を有していることから，薬効用量においては，α_{2A} アドレナリン受容体活性化による鎮静，鎮痛，低血圧又は徐脈の副作用及び/又は有害事象が予見される．また，本薬が過量摂取された場合には，呼吸機能が抑制される可能性がある．注意することとして，グアンファシンは *in vitro* でヒトの 5-HT_{2B} 受容体のアゴニスト作用を有していることが認められている．しかし，結合親和性は，ヒト組換え 5-HT_{2B} 受容体への IC_{50} 値が 350 nmol/L であり，標的の α_{2A} アドレナリン受容体 (IC_{50} : < 3.0 nmol/L) に対して 100 以上倍低いこと及び国内小児 ADHD 患者 (6～17 歳) における最大投与量 (0.12 mg/kg/日) での推定血漿中 C_{max} 値である 12.9 ng/mL (0.05 µmol/L) [2.7.2.3.3.1 項参照] の 7 倍の濃度であることから，臨床用量では 5-HT_{2B} 受容体活性を有しないと考えられる．5-HT_{2B} 受容体へのアゴニスト作用として，ヒト心臓弁膜症への理論上のリスクが挙げられるが，徐放製剤として，2009 年の上市以来海外において臨床使用されており，約 100 万人年の市販後臨床データ解析から，グアンファシン塩酸塩を処方された患者において，心臓弁膜症及び合併線維症の発現や徴候は認められていない．また，QTc 延長に関して注意すべきこととして，hERG チャネルへの IC_{50} 値が 1 µg/mL (4.06 µmol/L) を上回っているが，これは上述した臨床最大投与用量における推定血漿中 C_{max} と少なくとも 77 倍の濃度差がある．また，覚醒下のイヌにおいて，グアンファシン塩酸塩は 1.5 mg/kg の用量まで，QT 間隔又は QTc に有意な影響を及ぼさなかった．なお，1.5 mg/kg 投与 2 時間後の平均血清中濃度は 36.1 ng/mL であり，上述した臨床最大投与量における推定血漿中 C_{max} の 2.8 倍の濃度であった．

結論として，グアンファシンの非臨床薬理学的特徴は，ADHD 症状である認知機能や行動障

害の改善作用を有している選択的な α_{2A} アドレナリン受容体作動薬であることを示している．また，その薬理作用メカニズムとして，前頭前皮質における α_{2A} アドレナリン受容体を介してノルアドレナリン受容体シグナルが増強され，認知及び行動機能を向上すると考えられる．一方，ヒトにおいて発現し得るグアンファシンの副作用は，本質的に本薬の薬理学的機序に基づいて予測可能である．

2.6.2.7 図表

図表は，本文中の適切な場所に記載した.

2.6.2.8 参考文献

1. エスタリック®0.5mg[redacted], [redacted], [redacted], 1984.
2. Doxey JC, Frank LW, Hersom AS. Studies on the pre- and post-junctional activities of α-adrenoceptor agonists and their cardiovascular effects in the anaesthetized rat. J Autonom Pharmacol 1981; 1: 157-69.
3. Renouard A, Widdowson PS, Millan MJ. Multiple *alpha*$_2$ adrenergic receptor subtypes. 1. Comparison of [^{3}H]RX821002-labeled rat R*alpha*$_{2A}$ adrenergic receptors in cerebral cortex to human H*alpha*-$_{2A}$ adrenergic receptor and other populations of α_2-adrenergic subtypes. J Pharmacol Exp Ther 1994; 270: 946-57.
4. Newman-Tancredi A, Nicolas J-P, Audinot V, et al. Actions of α_2-adrenoceptor ligands at α_{2A} and 5-HT$_{1A}$ receptors: the antagonist, atipamezole, and the agonist, dexmedetomidine, are highly selective for α_{2A}-adrenoceptors. Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol 1998; 358: 197-206.
5. Uhlén S, Porter AC, Neubig RR. The Novel *Alpha*-2 Adrenergic Radioligand [^{3}H]-MK912 is *Alpha*-2C Selective Among Human *Alpha*-2A, *Alpha*-2B and *Alpha*-2C Adrenoceptors. J Pharmacol Exp Ther 1994; 271: 1558-65.
6. Devedjian J-C, Esclapez F, Denis-Pouxviel C, Paris H. Further characterization of human α_2-adrenoceptor subtypes: [^{3}H]RX821002 binding and definition of additional selective drugs. Eur J Pharmacol 1994; 252: 43-9.
7. MacLennan SJ, Luong LA, Jasper JR, To ZP, Eglen RM. Characterization of α_2-adrenoceptors mediating contraction of dog saphenous vein: identity with the human α_{2A} subtype. Br J Pharmacol 1997; 121: 1721-9.
8. Uhlén S and Wikberg JES. Delineation of three pharmacological subtypes of α_2- adrenoreceptor in the rat kidney. Brit J Pharmacol 1991; 104: 657-664.
9. Uhlén S and Wikberg JES. Delineation of Rat Kidney α_{2A}- and α_{2B}-Adrenoceptors with [^{3}H]RX821002 Radioligand Binding: Computer Modelling Reveals that Guanfacine is an α_{2A}-Selective Compound. Eur J Pharmacol 1991; 202: 235-245.
10. Uhlén S, Xia Y, Chhajlani V, Felder CC, Wikberg JES. [^{3}H]-MK 912 Binding Delineates Tow α_2-Adrenoceptor Subtypes in Rat CNS one of which is Identical with the Cloned pA2d α_2-Adrenoceptor. Br J Pharmacol 1992; 106: 968-95.
11. Uhlén S, Muceniece R, Rangel N, Tiger G, Wikberg JES. Comparison of the Binding Activities of Some Drugs on α_{2A}, α_{2B} and α_{2C}-Adrenoceptors and Non-Adrenergic Imidazoline Sites in the Guinea Pig. Pharmacol Toxicol 1995; 76: 353-364.
12. Xia Y, Uhlén S, Chhajlani V, Lien EJ, Wikberg JES. Further evidence for the existence of two forms of α_{2B}-adrenoceptors in rat. Pharmacol Toxicol 1993; 72: 40-9.
13. Huang XP, Setola V, Yadav PN, et al. Parallel functional activity profiling reveals valvulopathogens are potent 5-hydroxytryptamine$_{2B}$ receptor agonists: implications for drug safety assessment. Molecular Pharmacology 2009; 76: 710–22.

14. Arnsten AFT, Cai JX, Goldman-Rakic PS. The α_2-adrenergic agonist guanfacine improves memory in aged monkeys without sedative or hypotensive side-effects: evidence for α_2 receptor subtypes. J Neurosci 1988; 8: 4287-98.
15. Sagvolden T. Behavioral validation of the spontaneously hypertensive rat (SHR) as an animal model of attention-deficit/hyperactivity disorder (AD/HD). Neurosci Biobehav Rev 2000; 24: 31-9.
16. Salzmann R. The effects of treatment and of withdrawal of treatment with guanfacine and clonidine on blood pressure and heart rate in normotensive and renal hypertensive rats. J Pharm Pharmacol 1979; 31: 212-6.
17. Salzmann R, Gerber W, Pally CH, Scholtysik G. Effects of the vasodilator endralazine given with the antihypertensive agent guanfacine on heart rate and blood pressure of spontaneously hypertensive rats and normotensive dogs. J Pharm Pharmacol 1983; 35: 293-8.
18. Fischetti F, Fabris B, Calci M et al. Effects of central α_2-adrenergic agonists on systemic haemodynamics and on baroreceptor reflex sensitivity in spontaneously hypertensive rats. Boll Soc Ital Biol Sper 1994; 70: 279-86.
19. Koike Y, Togashi H, Shimamura K, Yomaida I, Saito H. Effects of abrupt cessation of treatment with clonidine and guanfacine on blood pressure and heart rate in spontaneously hypertensive rats. Clin Exp Hypertens 1981; 3: 103-20.
20. Thoolen MJMC, Hendriks JCA, Timmermans PB, van Zwieten PA. Precipitation by yohimbine of the withdrawal syndromes of clonidine, guanfacine, and methyldopa in the spontaneously hypertensive rat. J Cardio Pharmacol 1983; 5: 224-8.
21. Franowicz JS, Arnsten AFT. Actions of α_2 noradrenergic agonists on spatial working memory and blood pressure in rhesus monkeys appear to be mediated by the same receptor subtype. Psychopharmacol 2002; 162: 304–12.
22. Kunchandy J, Kulkarni SK. Modulatory effect of α_2-adrenoceptor agonists on Ro 5-4864-induced convulsions in rats and mice. Psychopharmacol 1987; 93: 113-7.
23. Kunchandy J, Kulkarni SK. Hypoxic stress-induced convulsion and death: protective effect of α_2-adrenoceptor and benzodiazepine receptor agonists and Ro 5-4864. Arch Int Pharmacodyn 1988; 292: 35-44.
24. Szot P, Lester M, Laughlin ML, Palmiter RD, Liles LC, Weinshenker D. The anticonvulsant and proconvulsant effects of α_2-adrenoreceptor agonists are mediated by distinct populations of α_{2A}-adrencoreceptors. Neurosci 2004; 126: 795-803.
25. Hayes AG, Skingle M, Tyers MB. α-Adrenoceptor-mediated antinociception and sedation in the rat and dog. Neuropharmacol 1986; 25: 391-6.
26. Yaksh TL, Pogrel JW, Lee YW, Chaplan SR. Reversal of nerve ligation-induced allodynia by spinal α_2-adrenoceptor agonists. J Pharmacol Exp Ther 1995; 272: 207-14.
27. Post C, Gordh T, Minor BG, Archer T, Freedman J. Antinociceptive effects and spinal cord tissue concentrations after intrathecal injection of guanfacine or clonidine into rats. Anesth Analg 1987; 66: 317-24.

28. Handley SL. The pinna reflex and its inhibition by clonidine: relationship to sedation and quantitation of central α_2-antagonist potency. J Pharm Pharmacol 1984; 36: 478-81.
29. Millan MJ, Bervoets K, Rivet K-M, et al. Multiple *alpha*-2 adrenergic receptor subtypes. II. Evidence for a role of rat R*alpha*-$_{2A}$ adrenergic receptors in the control of nociception, motor behaviour and hippocampal synthesis of noradrenaline. J Pharmacol Exp Ther 1994; 270: 958-72.
30. Minor BG, Danysz W, Jonsson G, Mohammed AK, Post C, Archer T. Adaptive changes in α_2-adrenoceptor mediated responses: analgesia, hypothermia and hypoactivity. Pharmacol Toxicol 1989; 65: 143-51.
31. Bylund DB. Subtypes of α_1- and α_2-adrenergic receptors. FASEB J 1992; 6:832-9.
32. Connolly HM, Crary JL, McGoon MD, et al. Valvular heart disease associated with fenfluramine-phentermine. N Engl J Med 1997; 337: 581-8.
33. Elangbam CS. Drug-induced valvulopathy: an update. Toxicol Pathol 2010; 38: 837-48.
34. Rotiroti D, Silvestri R, De Sarro GB, Bagetta G, Nisticò G. Evidence that behavioural and electrocortical sleep induced by guanfacine is due to stimulation of α_2-adrenoceptors. J Psychiat Res 1982/83; 17: 231-9.
35. Witte EA, Marrocco RT. Alteration of brain noradrenergic activity in rhesus monkeys affects the alerting component of covert orienting. Psychopharmacol 1997; 132: 315-23.
36. Franowicz JS, Arnsten AFT. The α_{2A}-noradrenergic agonist, guanfacine, improves delayed response performance in young adult rhesus monkeys. Psychopharmacol 1998; 136: 8-14.
37. Kugler J, Seus R, Krauskopf R, Brecht HM, Raschig A. Differences in psychic performance with guanfacine and clonidine in normotensive subjects. Br J Clin Pharmacol 1980; 10: 71S-80S.
38. Papanicolaou J, Summers RJ, Vajda FJE, Louis WJ. The relationship between α_2-adrenoceptor selectivity and anticonvulsant effect in a series of clonidine-like drugs. Brain Res 1982; 241: 393-7.
39. Barnes NM, Cheng CHK, Costall B, Ge J, Kelly ME, Naylor RJ. Profiles of interaction of R(+)/S(-)-zacopride and anxiolytic agents in a mouse model. Eur J Pharmacol 1992; 218: 91-100.
40. Morrow BA, George TP, Roth RH. Noradrenergic α_2 agonists have anxiolytic-like actions on stress-related behavior and mesoprefrontal dopamine biochemistry. Brain Res 2004; 1027: 173-8.
41. La Marca S, Dunn RW. The α_2 antagonists, idazoxan and rauwolscine, but not yohimbine or piperoxan, are anxiolytic in the Vogel lick-shock conflict paradigm following intravenous administration. Life Sci 1994; 54: 179-84.
42. Sullivan AF, Dashwood MR, Dickenson AH. α_2-Adrenoceptor modulation of nociception in rat spinal cord: location, effects and interaction with morphine. Eur J Pharmacol 1987; 138: 169-77.
43. Wilcox GL, Carlsson KH, Jochim A, Jurna I. Mutual potentiation of antinociceptive effects of morphine and clonidine in rat spinal cord. Brain Res 1987; 405: 84-93.
44. Yaksh TL. Pharmacology of spinal adrenergic systems which modulate spinal nociceptive processing. Pharmacol Biochem Behav 1985; 22: 845-58.

45. Uhlén S, Persson M-L, Alari L, Post C, Axelsson KL, Wikberg JES. Antinociceptive actions of α_2-adrenoceptor agonists in the rat spinal cord: evidence for antinociceptive α_2-adrenoceptor subtypes and dissociation of antinociceptive α_2-adrenoceptors from cyclic AMP. J Neurochem 1990; 55: 1905-14.
46. Kulkarni SK, Mehta AK, Kunchandy J. Anti-inflammatory actions of clonidine, guanfacine and B-HT 920 against various inflammagen-induced acute paw oedema in rats. Arch Int Pharmacodyn 1986; 279: 324-34.
47. Puke MJC, Luo L, Xu X-J. The spinal analgesic role of α_2-adrenoceptor subtypes in rats after peripheral nerve section. Eur J Pharmacol 1994; 260:227-32.
48. Docherty JR. Subtypes of functional α_1- and α_2-adrenoceptors. Eur J of Pharmacol 1998; 361:1–15.
49. Scholtysik G, Brugger P. In vitro cardiac effects and antiarrhythmic properties of guanfacine. Drug Res 1989; 39: 450-4.
50. Gillis RA, Gatti PJ, Quest JA. Mechanism of the antihypertensive effect of α_2-agonists. J Cardio Pharmacol 1985; 7: S38-S44.
51. Buccafusco JJ, Lapp CA, Westbrooks KL, Ernsberger P. Role of medullary I1-imidazoline and α_2-adrenergic receptors in the antihypertensive responses evoked by central administration of clonidine analogs in conscious spontaneously hypertensive rats. J Pharmacol Exp Ther 1995; 273:1162-71.
52. Oates HF, Stoker LM, MacCarthy EP, Monaghan JC, Stokes GS. Comparative haemodynamic effects of clonidine and guanfacine. Arch Int Pharmacodyn 1978; 231: 148-56.
53. MacMillan LB, Hein L, Smith MS, Piascik MT, Limbird LE. Central hypotensive effects of the α_{2A}-adrenergic receptor subtype. Science 1996; 273: 801-3.
54. Link RE, Desai K, Hein L, et al.. Cardiovascular regulation in mice lacking α_2-adrenergic receptor subtypes b and c. Science 1996; 273: 803-5.
55. Otorii T, Ohkubo K, Suzuki K. Antagonism of hypotensive and bradycardic effects of centrally administered guanfacine by metiamide in anesthetized rabbits. Jpn Heart J 1985; 26: 557-84.
56. Hof RP, Hof A. Differential effects of antihypertensive drugs on nutritive and nonnutritive blood flow in anaesthetized rabbits. J Cardio Pharmacol 1989; 13: 565-71.
57. Hof RP, Fozard JR. 8-OH-DPAT, flesinoxan and guanfacine: systemic and regional haemodynamic effects of centrally acting antihypertensive agents in anaesthetized rabbits. Br J Pharmacol 1989; 96: 864-71.
58. De Vos H, Vauquelin G, De Keyser J, De Backer J-P, Van Liefde I. Regional distribution of α_{2A}- and α_{2B}-adrenoceptor subtypes in postmortem human brain. J Neurochem 1992; 58: 1555-60.
59. Perälä M, Hirvonen H, Kalimo H, et al. Differential expression of two α_2-adrenergic receptor subtype mRNAs in human tissues. Mol Brain Res 1992; 16: 57-63.
60. Sastre M, Garcia-Sevilla JA. α_2-Adrenoceptor subtypes identified by [^{3}H]RX821002 binding in the human brain: the agonist guanoxabenz does not discriminate different forms of the predominant α_{2A} subtype. J Neurochem 1994; 63: 1077-85.

61. Berkowitz DE, Price DT, Bello EA, Page SO, Schwinn DA. Localization of messenger RNA for three distinct α_2-adrenergic receptor subtypes in human tissues. Evidence for species heterogeneity and implications for human pharmacology. Anesthesiol 1994; 81: 1235-44.
62. Molderings GJ, Gothert M. Subtype determination of presynaptic α_2-autoreceptors in the rabbit pulmonary artery and human saphenous vein. Naunyn-Schmiedebergs Arch Pharmacol 1995; 352: 483-90.
63. Sillence MN, Tudor GD, Matthews ML, Lindsay DB. Effects of the alpha $_2$-adrenoceptor agonist guanfacine on growth and thermogenesis in mice. J Anim Sci 1992; 70: 3429-34.
64. Gazzola C. α_2-Adrenoceptor-mediated effects on resting energy expenditure. Int J Obes 1993; 17: 637-41.
65. Gazzola C. The effect of the α_2-adrenoceptor agonist, guanfacine, on energy expenditure, intake and deposition in rats. Comp Biochem Physiol 1995; 112: 29-34.
66. Kang BY, Lee SW, Kim TS. Stimulation of interleukin-12 production in mouse macrophages via activation of p38 mitogen-activated protein kinase by α_2-adrenoceptor agonists. Eur J Pharmacol 2003; 467: 223-31.
67. Watanabe K, Hayasaka S, Hiraki S, Matsumoto M, Kadoi C, Nagaki Y. Effects of α_2-adrenergic agonists on lipopolysaccharide-induced aqueous flare elevation in pigmented rabbits. Jpn J Ophthalmol 2001; 45: 221-6.
68. Solanto MV. Dopamine dysfunction in AD/HD: integrating clinical and basic neuroscience research. Behav Brain Res 2002; 130: 65-71.
69. Varga G, Papp M, Vizi ES. Cholinergic and adrenergic control of enzyme secretion in isolated rat pancreas. Dig Dis Sci 1990; 35: 501-7.
70. Yanagihara N, Wada A, Izumi F. Effects of alpha $_2$-adrenergic agonists on carbacholstimulated catecholamine synthesis in cultured bovine adrenal medullary cells. Biochem Pharmacol 1987; 36: 3823-8.
71. Togashi H, Minami M, Saito I, Sano M. Guanfacine and clonidine: the effects on adrenal medullary function in spontaneously hypertensive rats. Arch Int Pharmacodyn Ther 1984; 272: 79-87.
72. 中島敏夫, 北川行夫, 石川 浩, 他. BS 100-141 の急性および亜急性毒性試験. 基礎と臨床 1980; 14 (14): 4511-29.
73. 中島敏夫，北川行夫，石川 浩，他．BS 100-141 のラットにおける慢性毒性試験．基礎と臨床 1980; 14 (14): 4531-50.
74. Bissonnette JM, Knopp SJ, Wright DM, MacMillan LB. Respiratory pattern and hypoxic ventilatory response in mice functionally lacking α_{2A}-adrenergic receptors. In: “Frontiers in Modeling and Control of Breathing.” Eds. Poon & Kazeni, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York. 2001; pp201-8.
75. O’Halloran KD, Herman JK, Bisgard GE. α_{2A}-Adrenoceptor mediated tachypnea in awake goats. Res Physiol 2001; 125: 169-79.

76. Smith BD, Baudendistel LJ, Gibbons JJ, Schweiss JF. A comparison of two epidural α_2-agonists, guanfacine and clonidine, in regard to duration of antinociception, and ventilatory and hemodynamic effects in goats. Anesth Analg 1992; 74: 712-8.
77. Lorenz W., Lomasney JW., Collins S., Regan JW., Caron MG., Lefkowitz RJ Expression of three α_2-adrenergic receptor subtypes in rat tissues:implications for α_2 receptor classification, Mol Pharm 1990, 38: 559-603.
78. Shockley DC, Wade LH, Williams-Johnson MM. Effects of α_{2A}-adrenoceptor agonists on induced diuresis in rats. Life Sci 1993; 53: 251-9.
79. Penner SB, Mueller HA, Smyth DD. α_2-Adrenoceptor stimulation in the periventricular nucleus increases urine flow rate with minimal effects on blood pressure. Proc West Pharmacol Soc 2002; 45: 13-4.
80. Intengan HD, Smyth DD. $\alpha_{2A/D}$-Adrenoceptor subtype stimulation by guanfacine increases osmolar clearance. J Pharmacol Exp Ther 1997; 281: 48-53.
81. Blandizzi C. Enteric alpha-$_2$-adrenoceptors: pathophysiological impications in functional and inflammatory bowel disorders. Neurochem Int 2007; 51: 282-8.
82. Liu L, Coupar IM. Characterisation of pre- and post-synaptic α_2-adrenoceptors in modulation of the rat ileum longitudinal and circular muscle activities. Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol 1997; 356: 248-56.
83. Medgett IC, McCulloch MW. Effects of clonidine, guanfacine and three imidazolidine derivatives related to clonidine on blood pressure, heart rate and gastric acid secretion in the anaesthetized rat. Arch Int Pharmacodyn Ther 1979; 240: 158-68.
84. Kunchandy J, Khanna S, Kulkarni SK. Effect of α_2 agonists clonidine, guanfacine and B-HT 920 on gastric acid secretion and ulcers in rats. Arch Int Pharmacodyn 1985; 275: 123-38.

インチュニブ錠 1mg, 同 3mg

第 2 部 (モジュール 2) : CTD の概要 (サマリー)

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.3 薬理試験概要表

塩野義製薬株式会社

目次

略号及び用語定義一覧表 3
2.6.3 薬理試験概要表 4
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 5
2.6.3.2.1 受容体，イオンチャネル，トランスポーター及び酵素に対する作用 5
2.6.3.2.2 ヒト α_2 アドレナリン受容体親和性及び選択性 6
2.6.3.2.3 多動性，衝動性及び持続的注意の低下に対する作用 7
2.6.3.3 副次的薬理試験 8
2.6.3.3.1 ヒト 5-HT_{2B} 受容体に対する作用 (1) 8
2.6.3.3.2 ヒト 5-HT_{2B} 受容体に対する作用 (2) 9
2.6.3.3.3 その他の作用 10
2.6.3.4 安全性薬理試験 11
2.6.3.4.1 安全性薬理試験成績 11
2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験 12
2.6.3.5.1 グアンファシン塩酸塩又は *d*-アンフェタミン硫酸塩の各単独投与及び両薬物の併用投与のラット ADHD モデルにおける多動性，注意欠如及び衝動性への影響 12

2.6.3 略号及び用語定義一覧表

略号	略号内容
ADHD	注意欠陥／多動性障害 (attention-deficit/hyperactivity disorder)
BOLD	Blood oxygenation level dependent
hERG	ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子 (human ether-a-go-go-related gene)
5-HT	セロトニン (serotonin)
IC_{50}	50%阻害濃度 (50% inhibitory concentration)
Ki	阻害定数 (inhibition constant)

2.6.3 薬理試験概要表

2.6.3.1 薬理試験： 一覧表

被験物質：グアンファシン塩酸塩

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	試験報告書添付場所
効力を裏付ける試験					
受容体，イオンチャネル，トランスポーター及び酵素に対する作用	各種受容体，イオンチャネル，トランスポーター及び酵素	*In vitro*	[redacted]	V00662-SPD482-IIIF	4.2.1.1-01
ヒト α_2 アドレナリン受容体親和性及び選択性	ヒト遺伝子組換え型 α_{2A}，α_{2B}，又は α_{2C} アドレナリン受容体	*In vitro*	[redacted]	V00965-SPD503	4.2.1.1-02
多動性，衝動性及び持続的注意の低下に対する作用	雄性高血圧自然発症 (SH) ラット	腹腔内投与	[redacted]	R00837-SPD503	4.2.1.1-03
副次的薬理試験					
ヒトセロトニン (5-HT) $_{2B}$ 受容体に対する作用 (1)	ヒト遺伝子組換え型 α_{2A} アドレナリン受容体及び 5-HT_{2B} 受容体	*In vitro*	[redacted]	V2167-SSP-1024A	4.2.1.2-01
ヒト 5-HT_{2B} 受容体に対する作用 (2)	ヒト遺伝子組換え型 α_{2A}，α_{2B} 及び α_{2C} アドレナリン受容体並びに 5-HT_{2B} 受容体	*In vitro*	[redacted]	V2987M-EP015	4.2.1.2-02
その他の作用	雄性ラット	腹腔内投与	[redacted]	R00998-SPD503	4.2.1.2-03
安全性薬理試験					
ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子 (hERG) チャネルに及ぼす影響*	安定発現 HEK293 細胞	*In vitro*	[redacted]	V00168-SLI503-IIIF	4.2.1.3-01
心拍数，血圧及び心電図に及ぼす影響*	雄性ビーグルイヌ	経口投与，カプセル	[redacted]	D00023-SLI503-IIIF (A00381-SPD503-IIIF)[a]	4.2.1.3-02, 4.2.1.3-03
薬力学的薬物相互作用					
グアンファシン塩酸塩又は *d*-アンフェタミン硫酸塩の各単独投与及び両薬物の併用投与のラット ADHD モデルにおける多動性，注意欠如及び衝動性への影響	雄性 SH ラット	腹腔内投与	[redacted]	R01744M-SPD503	4.2.1.4-01

* GLP 試験

a 血清中グアンファシン濃度測定試験

2.6.3.2　効力を裏付ける試験

2.6.3.2.1　受容体，イオンチャネル，トランスポーター及び酵素に対する作用

被験物質：グアンファシン塩酸塩
試験報告書添付場所：4.2.1.1-01
試験番号：V00662-SPD482-IIIF

評価系	各種受容体，イオンチャネル，トランスポーター及び酵素
評価項目	各種受容体，イオンチャネル，トランスポーター及び酵素に対する結合又は酵素阻害作用，阻害定数 (Ki)
評価方法	グアンファシン塩酸塩 (濃度：10^{-9}，10^{-7} 及び 10^{-5} mol/L) を用いて，グアンファシンと各種受容体，イオンチャネル，トランスポーター及び酵素との結合親和性について放射標識リガンド結合試験法により検討した．グアンファシンが 50%を超える特異的結合を示す受容体，トランスポーターや酵素については，より詳細な放射標識リガンド結合試験を実施し，Ki 値を算出した．
結果	グアンファシンは，以下の部位に対して親和性を示さなかった：アデノシン [A_1，A_2，A_{2A} (ヒト)，$A_{non\text{-}selective}$]，アドレナリン [α_{1A}，α_{1B}，β_1 (ヒト)，β_2 (ヒト)，β_3 (ヒト)]，ベンゾジアゼピン [$BDZ_{peripheral}$ (ヒト)]，カンナビノイド [CB_1 (ヒト)]，ドパミン [D_1 (ヒト)，D_2 (ヒト)，$D_{4.2}$ (ヒト)，$D_{4.4}$ (ヒト)]，γ-アミノ酪酸 ($GABA_A$，$GABA_B$)，$GABA_A$ ベンゾジアゼピンサブユニット (α_1，α_5，α_6)，グルタミン酸 [AMPA，Cl^-，kainate，MK 801，NMDA，$NMDA_{phencyclidine}$，$NMDA_{glycine}$)，グリシン，ヒスタミン (H_1，H_2，H_3)，イミダゾリン (I_2)，メラトニン，ムスカリン [M_1 (ヒト)，M_2 (ヒト)，M_3 (ヒト)，M_4 (ヒト)，M_5 (ヒト)]，ニコチン性，オピオイド (δ_1，δ_2，κ，μ)，プリン作動性 (P2Y)，5-HT [5-HT_1，5-HT_{1B}，5-HT_{1D} (ヒト)，5-HT_4，5-HT_{5A} (ヒト)，5-HT_6 (ヒト)]，シグマ (σ_1，σ_2)，GABA Cl^- イオンチャネル，脳 MAO_A，脳及び末梢 MAO_B，トランスポーター [セロトニン (ヒト)，アデノシン (ヒト)，コリン，GABA，グルタミン酸]．(略号：AMPA；α-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid，GABA；γ-aminobutyric acid，MAO：monoamine oxidase，NMDA；*N*-methyl-D-aspartate) グアンファシンが 50%を超える特異的結合を示す受容体，トランポーターや酵素は，アドレナリン [$\alpha_{1non\text{-}selective}$，$\alpha_{2non\text{-}selective}$，$\alpha_{2A}$ (ヒト)，α_{2B}，α_{2C} (ヒト)]，ノルアドレナリントランスポーター (NET)，イミダゾリン (I_1)，ドパミン ($D_{non\text{-}selective}$，D_3)，ドパミントランスポーター (DAT)，5-HT [5-HT_{1A} (ヒト)，5-HT_{2A} (ヒト)，5-HT_{2C}，5-HT_3，5-$HT_{non\text{-}selective}$]，及び末梢 MAO_A であった．Ki 値が 1 μmol/L 未満であったのは，$\alpha_{2non\text{-}selective}$ (Ki=4.7 nmol/L，Hill 係数 0.68)，α_{2A} (ヒト，Ki=15 nmol/L，Hill 係数 0.67)，α_{2B} (Ki=75 nmol/L，Hill 係数 0.64)，α_{2C} (ヒト，Ki=425 nmol/L，Hill 係数 0.78) 及び I_1 (Ki=889 nmol/L，Hill 係数 0.71) であったが，これら受容体の Hill 係数は 1 から大きく外れていたため (Hill 係数の許容基準=0.8～1.2)，推定 Ki 値は妥当ではなかった．また，Ki 値が 1 μmol/L 以上であったのは $\alpha_{1non\text{-}selective}$ (Ki=3.5 μmol/L, Hill 係数 0.82), NET (Ki=4.4 μmol/L, Hill 係数 0.9), $D_{non\text{-}selective}$ (Ki=11.6 μmol/L，Hill 係数 0.56)，D_3 (Ki=1.4 μmol/L，Hill 係数 0.9)，5-$HT_{non\text{-}selective}$ (Ki=3.5 μmol/L，Hill 係数 0.8)，5-HT_{1A} (ヒト，Ki=1.4 μmol/L，Hill 係数 1.06)，5-HT_{2A} (ヒト，Ki=2.44 μmol/L，Hill 係数 0.72)，5-HT_{2C} (Ki=2.5 μmol/L，Hill 係数 0.93)，5-HT_3 (Ki=2.3 μmol/L，Hill 係数 1.06)，末梢 MAO_A (Ki=2.2 μmol/L，Hill 係数 1.27)，及び DAT (Ki=14.1 μmol/L，Hill 係数 0.93) であった．

2.6.3.2.2　ヒト α_2 アドレナリン受容体親和性及び選択性

被験物質：グアンファシン塩酸塩
試験報告書添付場所：4.2.1.1-02
試験番号：V00965-SPD503

試験系	ヒト遺伝子組み換え型 α_{2A}，α_{2B} 及び α_{2C} アドレナリン受容体
評価項目	ヒト遺伝子組み換え型 α_{2A}，α_{2B} 及び α_{2C} アドレナリン受容体に対する結合阻害作用，Ki 値
評価方法	ヒト遺伝子組み換え型 α_{2A}，α_{2B} 及び α_{2C} アドレナリン受容体の放射標識リガンドとして，[^{3}H]RX 821002 (濃度：それぞれ 1，2.5 及び 2 nmol/L) を用いた．各受容体を発現したチャイニーズハムスター卵巣細胞膜をリガンドとともに，グアンファシン塩酸塩 [10 濃度：10^{-10}～10^{-5} mol/L (α_{2A}) 又は 10^{-9}～10^{-4} mol/L (α_{2B} 及び α_{2C})] の有無の条件下，22°C で 30 分間 (α_{2A} 及び α_{2C}) 又は 20 分間 (α_{2B}) それぞれインキュベートした．非特異的結合は 100 µmol/L の (−) アドレナリンを用いて算出した．放射活性を液体シンチレーションカウンターで計測し，用量反応曲線から，Ki 値を算出した．
結果	グアンファシン塩酸塩のヒト α_{2A}，α_{2B} 及び α_{2C} アドレナリン受容体結合に対する Ki 値 [平均値 ± 標準誤差 (n=4)] は，それぞれ 13.3 ± 0.9，255 ± 49 及び 201 ± 64 nmol/L であった (Hill 係数はそれぞれ 0.8、0.9 及び 0.8)．したがって，グアンファシン塩酸塩は α_{2B} 及び α_{2C} サブタイプより 15～20 倍，α_{2A} サブタイプに対して選択的であった．

2.6.3.2.3 多動性，衝動性及び持続的注意の低下に対する作用

被験物質：グアンファシン塩酸塩
試験報告書添付場所：4.2.1.1-03
試験番号：R00837-SPD503

試験系	雄性 SH ラット
評価項目	SH ラットを用いた二選択レバー押し課題，多動性 (評価中レバーを押した回数)，衝動性 [短い間隔 (<0.67 秒) で正解レバーを連続して押した回数] 及び持続的注意 (正解レバーを選択した割合)
評価方法	雄性 SH ラット (16 匹) を用いた二選択レバー押し課題によって，多動性，衝動性及び注意持続時間の低下に対するグアンファシン塩酸塩の効果を検討した．二選択レバー押し課題を習得させるため，摂水量を制限した SH ラットに対し，評価装置内にある 2 つのレバーの内，ライトの点灯した側のレバー (正解レバー) を押すと水報酬が得られるトレーニングを継続して実施した．この課題において，多動性の指標として評価中レバーを押した回数を，衝動性の指標として短い間隔 (<0.67 秒) で正解レバーを連続して押した回数を，持続的注意の指標として正解レバーを押した割合を用いた．評価はクロスオーバー法により実施し，媒体 (生理食塩液) 及びグアンファシン塩酸塩 (グアンファシン換算投与量：0.075，0.15，0.3 及び 0.6 mg/kg) の腹腔内投与 30 分後から，90 分間各指標を測定した．
結果	グアンファシン塩酸塩は用量依存的に SH ラットの多動性及び衝動性を抑制した．同様に SH ラットの注意持続時間の低下を改善し，0.3 mg/kg のときに最大の効果が得られた．一方，高用量 (0.3 及び 0.6 mg/kg) において，自発運動量の低下が観察された．

2.6.3.3　副次的薬理試験

2.6.3.3.1　ヒト 5-HT_{2B} 受容体に対する作用 (1)

被験物質：グアンファシン塩酸塩
試験報告書添付場所：4.2.1.2-01
試験番号：V2167-SSP-1024A

試験系	ヒト遺伝子組み換え型 α_{2A} アドレナリン受容体及び 5-HT_{2B} 受容体
評価項目	ヒト遺伝子組み換え型 α_{2A} アドレナリン受容体及び 5-HT_{2B} 受容体結合阻害作用 50%阻害濃度 (IC_{50} 値)
評価方法	ヒト遺伝子組み換え型 α_{2A} アドレナリン受容体の放射標識リガンドとして[^{3}H] (-) アドレナリン (濃度：1 nmol/L) を用いた．ヒト遺伝子組み換え型 5-HT_{2B} 受容体の放射標識リガンドとして[^{125}I] (±) DOI (濃度：0.2 nmol/L) を用いた．各受容体を発現したチャイニーズハムスター卵巣細胞膜をリガンドとともに，グアンファシン塩酸塩 [9 濃度：3×10^{-9}～3×10^{-5} mol/L (α_{2A} 及び 5-HT_{2B})] の有無の条件下，22°C で 90 分間 (α_{2A}) 又は 60 分間 (5-HT_{2B}) それぞれインキュベートした．非特異的結合は 1 μmol/L の RX 821002 (α_{2A}) 又は(±) DOI (5-HT_{2B}) を用いて算出した．放射活性を液体シンチレーションカウンター又はガンマカウンターで計測し，用量反応曲線から IC_{50} 値を算出した．
結果	グアンファシン塩酸塩のヒト 5-HT_{2B} 受容体に対する IC_{50} 値は，350 nmol/L (Hill 係数は 1) であった．一方，グアンファシン塩酸塩のヒト α_{2A} アドレナリン受容体に対する IC_{50} 値は最低試験濃度 (3 nmol/L) においても 50%を超える阻害があったため，算出できなかった．

2.6.3.3.2 ヒト 5-HT_{2B} 受容体に対する作用 (2)

被験物質：グアンファシン塩酸塩
試験報告書添付場所：4.2.1.2-02
試験番号：V2987M-EP015

試験系	ヒト遺伝子組み換え型 α_{2A}，α_{2B} 及び α_{2C} アドレナリン受容体並びにヒト 5-HT_{2B} 受容体
評価項目	ヒト遺伝子組み換え型 α_{2A}，α_{2B},及び α_{2C} アドレナリン受容体並びにヒト 5-HT_{2B} 受容体結合阻害作用，IC_{50} 値
評価方法	ヒト遺伝子組み換え型 α_{2A}，α_{2B} 及び α_{2C} アドレナリン受容体の放射標識リガンドとして [メチル-^{3}H] ラウオルシン (濃度：それぞれ 2, 3 及び 0.95 nmol/L) を用いた. ヒト遺伝子組み換え型 5-HT_{2B} 受容体の放射標識リガンドとして[^{3}H] lysergic acid diethylamide (LSD) (濃度 : 1.6 nmol/L) を用いた．各受容体を発現したチャイニーズハムスター卵巣細胞膜をリガンドとともに，グアンファシン塩酸塩 [10 濃度 : 10^{-11}～10^{-5} mol/L (α_{2A} 及び α_{2C}) 又は 10^{-10}～5×10^{-5} mol/L (α_{2B}) 及び 11 濃度 : 10^{-11}～5×10^{-5} mol/L (5-HT_{2B})] の有無の条件下，25°C で 60 分間それぞれインキュベートした．非特異的結合は 100 µmol/L のラウオルシン (α_{2A}，α_{2B} 及び α_{2C}) 及び 10 µmol/L のセロトニン (5-HT_{2B}) を用いて算出した．放射活性を液体シンチレーションカウンターで計測し，用量反応曲線から IC_{50} 値を算出した.
結果	グアンファシン塩酸塩のヒト α_{2A}, α_{2B} 及び α_{2C} アドレナリン受容体結合に対する IC_{50} 値は, それぞれ 178, 622 及び 572 nmol/L (Hill 係数は，それぞれ 0.7，0.8 及び 1.4) であった．グアンファシン塩酸塩のヒト 5-HT_{2B} 受容体に対する IC_{50} 値は，2797 nmol/L (Hill 係数は 1.2) であった.

2.6.3.3.3 その他の作用

被験物質：グアンファシン塩酸塩
試験報告書添付場所：4.2.1.2-03
試験番号：R00998-SPD503

試験系	雄性ラット
評価項目	ラット各脳部位 [前頭葉 (前頭連合野，二次運動野及び前辺縁皮質)，尾状核被殻，側坐核，分界条床核，外側淡蒼球及び嗅内皮質] での blood oxygenation level dependent (BOLD) 効果
評価方法	麻酔下の雄性 SD ラット (9 例/群) を個別に磁気共鳴画像法装置 (2.35T，Bruker 製) に入れ，ベースの信号強度変化を 90 分間測定後，次に媒体 (生理食塩液) 又はグアンファシン塩酸塩 (グアンファシン換算投与量：0.3 mg/kg) を腹腔内投与してから，90 分間測定した．Statistical parametric maps を用いて，ベーサル及び対照 (媒体投与)群に対するグアンファシン塩酸塩投与群の各脳部位における BOLD 反応の変化から，BOLD 効果を解析した．
結果	正の BOLD 効果が認められたのは，前頭連合野，二次運動野及び前辺縁皮質といった前頭葉であった．また，負の BOLD 効果で最も大きな変化が観察されたのは尾状核被殻であり側坐核，分界条床核，外側淡蒼球及び嗅内皮質でも，負の BOLD 効果が観察された．このとき，グアンファシン塩酸塩投与による血圧や呼吸速度への影響はなかった．

2.6.3.4　安全性薬理試験

2.6.3.4.1　安全性薬理試験成績

被験物質：グアンファシン塩酸塩

評価対象となる組織	試験の種類	動物種/系統	投与方法	投与量[a] (mg/kg)	性別及び動物数/群	特記すべき所見	GLP適用	試験番号 [試験報告書添付場所]
心血管系	hERG チャネルに及ぼす影響	hERG cDNA 安定発現 HEK293 細胞	*In vitro*	1 μg/mL	5 細胞/群	グアンファシン (15 分間曝露) は，1 μg/mL の濃度において，hERG チャネルの有意な抑制を示さなかった (IC_{50} ≥1 μg/mL).	適	V00168-SLI503-IIIF [4.2.1.3-01]
	心拍数, 血圧及び心電図に及ぼす影響	イヌ/ビーグル	経口，カプセル	0.5，1.5，5.0	雄 4，(高用量群では雄 2)	0.5 及び 1.5 mg/kg：動脈血圧，QRS 時間，QT 間隔，Fridericia 法補正 QT 間隔及び Quintiles 法補正 QT 間隔には生物学的に意義のある影響を及ぼさなかった．明らかに持続的な徐脈 [投与 1.5～6 時間後にかけて心拍数減少 (最大で投与 2 時間後に, それぞれ 36 及び 62 bpm の減少)] が観察され，それに伴い RR 及び PR 間隔も増大していた．これらの所見は両用量でほぼ同程度かつ同時間帯に発現していた. 徐脈性律動不整を有する 2 例において，第 II 誘導心電図波形検査の結果，洞性徐脈及び房室結節での伝導時間遅延が引き起こされ，徐脈性律動不整の悪化が観察された．残りの 2 例では，心電図波形やリズムへの変化は認められなかった. 1.5 mg/kg：嘔吐 (4 例中 2 例). 5.0 mg/kg：嘔吐 (2～3 回)，運動失調，立毛，末梢循環不全. 血清中グアンファシン濃度 (投与 2 時間後) 0.5 mg/kg：9.1 ng/mL 1.5 mg/kg：36.1 ng/mL	適	D00023-SLI503-IIIF [4.2.1.3-02] A00381-SPD503-IIIF[b] [4.2.1.3-03]

a：グアンファシン換算投与量 (単回投与) 又は濃度.
b：血清中グアンファシン濃度測定試験

2.6.3.5　薬力学的薬物相互作用試験

2.6.3.5.1　グアンファシン塩酸塩又は *d*-アンフェタミン硫酸塩の各単独投与及び両薬物の併用投与のラット ADHD モデルにおける多動性，注意欠如及び衝動性への影響

被験物質：グアンファシン塩酸塩
d-アンフェタミン硫酸塩

動物種 /系統	投与 方法	投与量 [a] (mg/kg)	性別及び 動物数/群	特記すべき所見及び結語	GLP 適用	試験番号 [試験報告書添付場所]
ラット/SH	腹腔内, 単回	単独投与 グアンファシン塩酸塩：0.25，0.5 *d*-アンフェタミン硫酸塩：0.65，1.3 併用投与 グアンファシン塩酸塩 0.125 + *d*-アンフェタミン硫酸塩 0.325, グアンファシン塩酸塩 0.25 + *d*-アンフェタミン硫酸塩 0.65	雄 16	グアンファシン塩酸塩：0.25, 0.5 全運動量及び運動速度の減少, 衝動性及び突発的活動減少，注意欠如改善 *d*-アンフェタミン硫酸塩：1.3 レバー押し反応 (多動性) 減少，全運動量及び運動速度の増加，測定の序盤に衝動性及び突発的活動の減少 高用量併用投与 レバー押し反応 (多動性) 減少，全運動量及び運動速度の増加，測定の終盤に衝動性及び突発的活動の減少 グアンファシン塩酸塩と *d*-アンフェタミン硫酸塩の有効量以下の併用投与において，ADHD 関連行動の改善作用なし	非	R01744M-SPD503 [4.2.1.4-01]

a：グアンファシン又は *d*-アンフェタミン換算投与量