フィラジル皮下注 30 mg シリンジ

2.6.1　緒言

シャイアー・ジャパン株式会社

目次

目次 ……2
表一覧 ……2
図一覧 ……2
略語一覧表 ……3
2.6.1　緒言 ……6
2.6.1.1　薬剤の情報 ……6
2.6.1.1.1 製剤の剤形 ……7
2.6.1.1.2 製剤の用量 ……8
2.6.1.2　薬効分類及び科学的背景 ……8
2.6.1.3　予定する効能又は効果及び用量 ……9
2.6.1.4　参考文献 ……9

表一覧

表 2.6.1-1 イカチバントの構造及び薬剤学的情報……6

図一覧

図 2.6.1-1 イカチバントの構造……7

略語一覧表

略語	定義	
ACE	angiotensin converting enzyme	アンジオテンシン変換酵素
ADME	absorption, distribution, metabolism, excretion	吸収，分布，代謝，排泄
ALP	alkaline phosphate	アルカリホスファターゼ
APTT	activated partial thromboplastin time	活性化部分トロンボプラスチン時間
AT1	angiotensin II receptor type 1	アンジオテンシン II 受容体 1 型
AUC	area under the concentration–time curve	濃度―時間曲線下面積
$AUC_{0-\infty}$	area under the concentration–time curve extrapolated to infinity	無限大時間までの濃度―時間曲線下面積
B1	bradykinin type–1	ブラジキニン B1
B2	bradykinin type–2	ブラジキニン B2
BK	bradykinin	ブラジキニン
BP	blood pressure	血圧
BSA	bovine serum albumin	ウシ血清アルブミン
C1–INH	C1 esterase inhibitor	C1 エステラーゼインヒビター
C_{DYN}	dynamic lung compliance	動肺コンプライアンス
CF	coronary flow	冠血流量
cGMP	cyclic guanosine monophosphate	環状グアノシン一リン酸
CHO	Chinese hamster ovary	チャイニーズハムスター卵巣
C_{max}	maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
CNS	central nervous system	中枢神経系
CO	cardiac output	心拍出量
COX	cyclooxygenase 1	シクロオキシゲナーゼ
C_{PAH}	renal plasma flow	パラアミノ馬尿酸クリアランス値
CRC	concentration–response curve	濃度―反応曲線
CV	coefficient of variation	変動係数
CYP450	cytochrome P450	チトクローム P450
DTH	delayed–type hypersensitivity	遅延型過敏反応
EC_{50}	half–maximal effective concentration	50%有効濃度
ECG	electrocardiogram	心電図
ED_{50}	half–maximal effective dose	50%有効用量
EDRF	endothelium–derived relaxing factor	内皮由来弛緩因子
ELISA	enzyme–linked immunosorbent assay	酵素免疫測定
EMA	European Medicines Agency	欧州医薬品庁
E_{max}	maximum effect	最大効果
FCA	Freund’s complete adjuvant	フロイントコンプリートアジュバント
FDA	Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
FSH	follicle stimulating hormone	卵胞刺激ホルモン
GFR	glomerular filtration rate	糸球体ろ過率

略語	定義	
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験 の実施の基準
HAE	hereditary angioedema	遺伝性血管性浮腫
hERG	human ether–à–go–go related gene	ヒト ether–a–go–go 関連遺伝子
HOE 140	icatibant	イカチバント
HPLC–UV	high–performance liquid chromatography with ultraviolet detection	UV 検出による高速液体クロマトグラフィー
HR	heart rate	心拍数
IC_{50}	half–maximal inhibitory concentration	50%阻害濃度
ICH	International Conference on Harmonisation	日米 EU 医薬品規制調和国際会議
ID_{50}	half–maximal inhibitory dose	50%阻害用量
IgG	immunoglobulin G	免疫グロブリン G
JE049	icatibant	イカチバント
K_d	affinity constant	解離定数
K_i	inhibition constant	阻害定数
LC–MS/MS	tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析
LD_{50}	median lethal dose (kills 50% of the animals)	半数致死量
LDL	low density lipoprotein	低比重リポたん白
LH	luteinizing hormone	黄体形成ホルモン
LH–RH	luteinizing hormone–releasing hormone	黄体形成ホルモン放出ホルモン
LLOQ	lower limit of quantification	定量下限
LOAEL	lowest–observable–effect level	最小毒性量
LSC	liquid scintillation counting	液体シンチレーション計測
LVP	left ventricular pressure	左室圧
LVW	left ventricular weight	左室重量
M	metabolite	代謝物
MAP	mean arterial pressure	平均動脈圧
MAPK	mitogen activated protein kinase	分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ
MBSA	methylated bovine serum albumin	メチル化ウシ血清アルブミン
MN–PCE	micronucleated polychromatic erythrocytes	小核を有する多染性赤血球
MTD	maximum tolerated dose	最大耐量
MCO_2	myocardial oxygen consumption	心筋酸素消費量
NADPH	nicotinamide adenine dinucleotide phosphate	ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸
NOAEL	no observed adverse effect level	無毒性量
NOEL	no–observed–effect level	無作用量
PAP s/d	systolic/diastolic pulmonary artery pressure	収縮期/拡張期肺動脈圧
PCA	passive cutaneous anaphylaxis	受動皮膚アナフィラキシー
PCE	polychromatic erythrocytes	多染性赤血球
PGI_2	prostacyclin	プロスタサイクリン
PK	pharmacokinetic(s)	薬物動態
RAIL	refractory ascites in liver	難治性腹水
RE	relative error	相対誤差

略語	定義	
RIA	radioimmunoassay	ラジオイムノアッセイ
R_L	pulmonary resistance	肺抵抗
SD	standard deviation	標準偏差
SIF	synthetic interstitial fluid	合成間質液
SIS	synthesis in solution	溶液中合成
SMA	spontaneous motor activity	自発運動量
SPE	solid phase extraction	固相抽出
SPPS	solid phase peptide synthesis	固相ペプチド合成
SV	stroke volume	1 回拍出量
$t_{1/2}$	apparent elimination half–life	みかけの消失半減期
TFA	trifluoroacetic acid	トリフルオロ酢酸
TGA	Therapeutic Goods Administration	オーストラリア保健省薬品・医薬品行政局
TIIC	test item interference control	検査項目干渉対照
TK	toxicokinetics	トキシコキネティクス
TLC	thin–layer chromatography	薄層クロマトグラフィー
T_{max}	time to reach maximum plasma concentration	最高血漿中濃度到達時間
TPR	total peripheral resistance	全末梢血管抵抗
ULOQ	upper limit of quantitation	定量上限
V1a	vasopressin 1a receptor	バソプレッシン 1a 受容体
VF	ventricular fibrillation	心室細動

2.6.1 緒言

カリクレイン–キニン系は多くの疾患の病態生理に関与することが明らかになっている。ブラジキニン（BK）は，この経路の最も強力なメディエーターの 1 つである。遺伝性血管性浮腫（HAE）では，C1 エステラーゼインヒビター（C1–INH）活性の低下に起因する BK レベルの上昇が，臨床症状の発現に重要な役割を果たしている。BK の主要な分解酵素の 1 つであるアンジオテンシン変換酵素（ACE）の阻害剤による治療中に，ごく一部の患者は血管浮腫を発現する。突発性血管浮腫の一部の症例においても，BK が症状の主なメディエーターである可能性がある。BK が重要な役割を果たす可能性がある他の病態としては，火傷及び肝硬変における難治性腹水（RAIL）がある。BK の 2 型（B2）受容体への結合を阻害することは，HAE の治療法として理論的根拠があり，また，多くの疾患領域の患者に臨床的に意味のあるベネフィットを示す可能性がある。

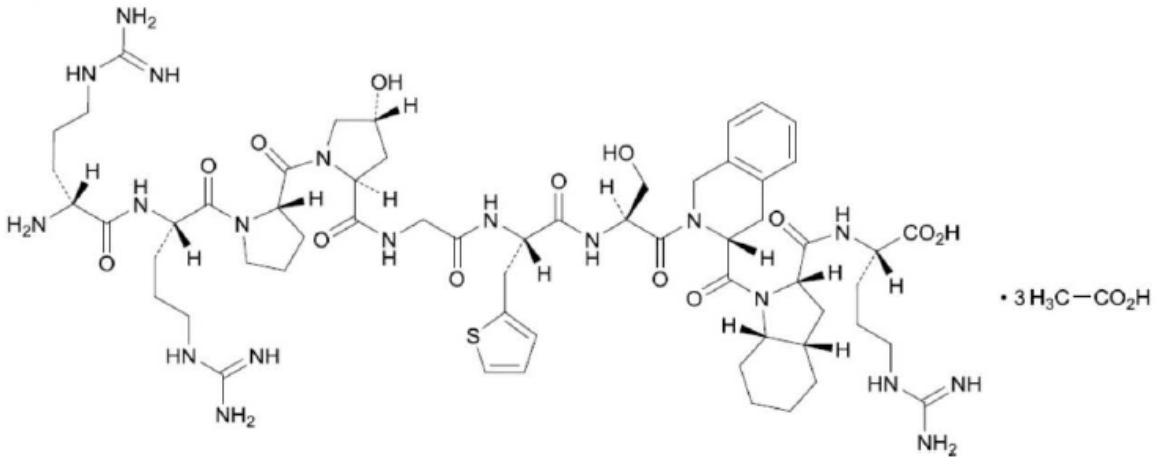
2.6.1.1 薬剤の情報

イカチバントは，B2 受容体を特異的に阻害するために開発された競合的拮抗剤である。イカチバントは BK と類似した構造を有する合成デカペプチドであるが，5 つの非たん白質原性アミノ酸を含んでいる。主に 2 つの酵素，ACE 及び中性エンドペプチダーゼにより，BK の消失半減期は極めて短いが，イカチバントは BK とは異なり，これらの酵素に対して安定である。したがって，イカチバントは代謝的に BK より安定であり，より長い半減期を示す。イカチバントのその他の情報を表 2.6.1-1 に示す。

表 2.6.1-1 イカチバントの構造及び薬剤学的情報

一般的名称（JAN）	イカチバント酢酸塩
国際一般名（INN）	icatibant
化学名	D-arginyl-L-arginyl-L-prolyl-L[(4R)-4-hydroxyprolyl]-glycyl-L[3-(2-thienyl)alanyl]-L-seryl-D-(1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-3-ylcarbonyl)-L(3aS,7aS)-octahydroindol-2-ylcarbonyl]-L-arginine, acetate salt
販売名	フィラジル皮下注 30 mg シリンジ
開発コード	JE049（別名 HOE 140 又は S 89 0140）
分子式	$C_{59}H_{89}N_{19}O_{13}S$（フリー体） $C_{59}H_{89}N_{19}O_{13}S \cdot 3CH_3COOH$（イカチバント三酢酸塩）
分子量	1304.55 g/mol（平均値，フリー体）
比旋光度	2 アミノ酸を除いて L 体（1 番目の Arg 及び 8 番目の Tic は D 体）
性状	白色～ほぼ白色の凍結乾燥粉末；水溶液は無色澄明

図 2.6.1-1　　イカチバントの構造



カリクレイン―キニン系の活性上昇，あるいは BK 不活性化の低下によって特徴づけられるすべての臨床状態は，イカチバントの適応症となる可能性がある。そのような疾患として，HAE，RAIL 及び急性変形性関節症があるが，その他にも薬剤誘発性の血管浮腫（主として ACE 阻害薬によって誘発される血管浮腫が含まれるが，それ以外のものも含む），特発性血管浮腫，慢性特発性蕁麻疹に伴う血管浮腫，放射線造影剤や低比重リポたん白アフェレーシスに対するアナフィラキシー，ハチ刺傷後のアナフィラキシー様反応，体外循環（心肺バイパス），血行動態（敗血症性）ショックの予防，神経因性疼痛，及び重度の火傷が含まれる。

イカチバントを開発するため，安全性，忍容性，薬物動態，薬力学，及び有効性を評価する目的でデザインされた臨床試験が実施された。これには，様々な剤形並びに鼻腔内，関節内，吸入，静脈内及び皮下投与を含む様々な投与経路が含まれる。開発当初は，仮説として BK が重要な役割を果たすと考えられる 3 つの適応症，アレルギー性鼻炎，喘息，及び術後疼痛が選択された。また，症候性変形性膝関節症及び肝硬変への適応を探索するため，第 I 相及び第 IIa 相試験が実施された。HAE のプログラムに関しては，Jerini AG 社が全ての臨床試験を実施し，2008 年 7 月 11 日に欧州連合（EU）で販売承認を取得した。米国では，Shire Orphan Therapies 社が 2011 年 8 月 25 日に販売承認を取得した。

HAE 患者の治療のためのイカチバントの臨床開発及び製品化をサポートするため，効力を裏付ける試験及び安全性薬理試験，薬物動態/吸収，分布，代謝，排泄（ADME）試験及び毒性試験を含む，完全な非臨床プログラムを実施した。

2.6.1.1.1　製剤の剤形

様々な疾患領域で，複数のイカチバントの剤形が検討されたが，現在のイカチバントの臨床開発は，HAE のための皮下注射剤に限定されている。

イカチバントは，pH は 5.5 に調整した，無菌，等張の酢酸緩衝液（塩化ナトリウム，酢酸，水酸化ナトリウム及び注射用水を含有）として調製される。溶液はいかなる防腐剤も含まない。製剤は，10 mg/mL（フリー体として）のイカチバント溶液を含有する，単回使用，ディスポーザブル，3 mL のプレフィルドシリンジとして供給される。

2.6.1.1.2　製剤の用量

HAE の発作に対するイカチバントの推奨用量は 30 mg の単回皮下注射であり，可能であれば腹部に投与する。ほとんどの症例では，発作の治療は単回投与で十分である。症状の緩和が不十分な場合や症状が再発する場合は，6 時間後以降に 2 回目の投与を行ってもよい。2 回目の投与でも症状の緩和が不十分な場合や症状が再発する場合には，6 時間後以降に 3 回目の投与を行ってもよい。イカチバントを 24 時間以内に 3 回を超えて投与してはならない。

イカチバントの自己注射は，欧州医薬品庁（EMA），オーストラリア保健省薬品・医薬品行政局（TGA）及び米国食品医薬品局（FDA）により承認されている。

2.6.1.2　薬効分類及び科学的背景

イカチバントは，B2 受容体に対する選択的な競合的拮抗剤である。

キニンの放出は，傷害，炎症，アレルギー，虚血，熱，寒さ，低 pH，コラーゲン，尿酸，細菌酵素及びリポ多糖等によって誘発されるため，拮抗薬の適応症としては多くの可能性が考えられる。ヒトでは，BK の最も関連性の高い効果は，B2 受容体を介して調節されていると考えられる。B1 受容体の役割はまだ不明であるが，おそらく慢性炎症において重要な役割を果たしていると考えられる。内皮由来又は外因性の BK は，内皮 B2 受容体の刺激を介し，内皮由来過分極因子，プロスタサイクリン，及び一酸化窒素等の血管拡張物質の合成及び放出を誘発し，結果的に可溶性グアニル酸シクラーゼ及び環状グアノシン一リン酸の上昇を伴って血管拡張を誘発する。キニンは，腎血流の主要な調節因子である。

HAE で最もよくみられる 2 つの表現型（I 型及び II 型）の病因には，機能性 C1–INH の欠損が関与している。このセリンプロテアーゼ阻害剤は，主として肝細胞で産生され，標的プロテアーゼと複合体を形成することにより，「自殺阻害剤」として作用する。C1–INH の主な機能には，補体 C1 の自己活性化の防止，凝固因子（第 XIIa，第 XIIf，第 XIa 因子）の不活性化，及び活性化カリクレインの直接阻害が含まれる。生理的条件下では，血漿カリクレインの約 40%は，C1–INH により不活性化されている。さらに，プレカリクレインを活性カリクレインに変換する第 XIIa 因子（活性化ハーゲマン因子）も，C1–INH により不活性化されている。HAE の病態生理における BK の中心的な役割は，公表された C1–INH 欠損マウスを用いた研究（Han et al. 2002，Han et al. 2003）からも裏付けられる。C1–INH 欠損マウスにおける血管透過性の増大は，ヒト C1–INH の静脈内投与や，血漿カリクレイン阻害剤（DX88，エカランチド）及びイカチバントによって正常に戻すことができた。

2.6.1.3　予定する効能又は効果及び用量

承認された際には，イカチバント（販売名：フィラジル皮下注 30 mg シリンジ）は成人の HAE の急性発作に対して使用される。イカチバントの推奨用量として，30 mg を腹部に緩徐に皮下注射する。

2.6.1.4　参考文献

[1] Han ED, MacFarlane RC, Mulligan AN, Scafidi J, Davis. (2002), Increased vascular permeability in C1 inhibitor-deficient mice mediated by the bradykinin type 2 receptor. J Clin Invest.; 109:1057-63.

[2] Han Lee ED, Pappalardo E, Scafidi J, Davis AE. (2003), Approaches toward reversal of increased vascular permeability in C1 inhibitor deficient mice. Immunol Lett.; 89(2-3):155-60.

フィラジル皮下注 30 mg シリンジ

2.6.2　薬理試験の概要文

シャイアー・ジャパン株式会社

目次

目次 …… 2
表一覧 …… 2
2.6.2　薬理試験の概要文 …… 3
2.6.2.1　まとめ …… 3
2.6.2.2　効力を裏付ける試験 …… 5
2.6.2.2.1　ブラジキニンのアンタゴニスト作用–*In Vitro* …… 5
2.6.2.2.2　イカチバントが摘出臓器に及ぼす作用 …… 9
2.6.2.2.3　ブラジキニンのアンタゴニスト作用–In Vivo …… 11
2.6.2.2.4　遺伝性血管性浮腫の動物モデルにおけるイカチバントの作用 …… 16
2.6.2.2.5　炎症モデル動物におけるイカチバントの作用 …… 16
2.6.2.3　副次的薬理試験 …… 18
2.6.2.4　安全性薬理試験 …… 19
2.6.2.4.1　イカチバントが中枢神経系に及ぼす作用 …… 21
2.6.2.4.2　イカチバントの心血管作用 …… 22
2.6.2.4.2.1　*In vitro* 試験 …… 22
2.6.2.4.2.2　*In vivo* 試験 …… 23
2.6.2.4.2.3　Ex Vivo 試験 …… 26
2.6.2.4.3　イカチバントが呼吸器系に及ぼす作用 …… 29
2.6.2.4.4　イカチバントが腎臓/泌尿器系に及ぼす作用 …… 30
2.6.2.4.5　イカチバントが胃腸管系に及ぼす作用 …… 31
2.6.2.4.6　イカチバントがグルコース代謝に及ぼす作用 …… 32
2.6.2.5　薬力学的薬物相互作用 …… 32
2.6.2.6　考察及び結論 …… 32
2.6.2.7　図表 …… 34
2.6.2.8　参考文献 …… 34

表一覧

表 2.6.2-1 摘出臓器におけるイカチバントの作用 …… 10
表 2.6.2-2 In vivo 安全性薬理の要約 …… 20

2.6.2 薬理試験の概要文

2.6.2.1 まとめ

イカチバント（JE049，HOE 140，及び S 89 0140 としても知られている）は，ブラジキニン（BK）と同程度の親和性を有するブラジキニン B2（B2）受容体の強力な拮抗剤である。*In vitro* でのイカチバントの B2 受容体への結合は，モルモットの回腸及び気管上皮細胞，ヒト滑膜細胞，並びにヒト B2 受容体を発現させた遺伝子組換えチャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞を含む様々な組織及び細胞で示されている。*In vitro* における BK 誘発反応に対する拮抗作用は，ラット，モルモット，ブタ，ウシ，及びヒトから摘出した臓器，組織，及び細胞で示されている。*In vitro* では，B2 受容体アゴニスト作用及びインバースアゴニスト作用の可能性も検討されている。*In vitro* の実験の一部では，イカチバントはアンタゴニスト作用に必要な濃度の 10000 倍を超える濃度で，ごくわずかなアゴニスト作用を示した。イカチバントは，CHO 細胞で発現させたヒトブラジキニン B1（B1）受容体に対する結合親和性が低く，また，B1 受容体を含むウサギ大動脈で BK により誘発される収縮を阻害できないことから示されるように，B2 受容体に選択的である。

In vivo では，イカチバントは，血圧低下及び気管支収縮のような BK に誘発される反応に拮抗することが示されている。イカチバント 20 nmol/kg を麻酔下ラットに皮下投与したとき，BK により誘発される低血圧は 1 時間にわたって完全に阻害され，生物学的半減期は 5 時間を超えていた。同様に，イカチバント 20 nmol/kg を麻酔下モルモットに皮下投与したとき，BK により誘発される気管支収縮は 2 時間にわたって完全に阻害され，生物学的半減期は 4 時間以上であった。

イカチバントの作用は炎症モデルを用いて検討されている。イカチバント（0.01 mg/kg から 1.0 mg/kg の静脈内投与及び 1.0 mg/kg の皮下投与）は，ラットのカラゲニン誘発足浮腫における炎症反応を用量依存的に阻害した。

イカチバントを用いた非臨床の副次的薬理試験（オフターゲット）及び安全性薬理試験が実施されている。イカチバント（10 μM ; 13 mg/mL）及び 2 つの主要代謝物（M1 及び M2）について，標準リガンドを用いた広範な受容体結合が検討されている。イカチバントは，BK の B2 受容体への結合を 98%阻害した。また，30%を超える対照特異的な結合の阻害が，M_3，NK_2，VIP_1，VIP_2，及び V_{1a}受容体で検出された。NK_2 受容体の結合に対する 50%阻害濃度（IC_{50}）は 420 nM であった。M2 に関しては，対照特異的な結合の阻害が B2 受容体（62%阻害）のみで観察されたが，M1 による阻害は観察されなかった。酵素アッセイでは，イカチバントはシクロオキシゲナーゼ 1（COX_1：1 μM で 19%阻害）及びヒトアンジオテンシン変換酵素（ACE：IC_{50} は，保存溶液では 2.3 μM，新鮮な溶液では 5.1 μM）に対するわずかな阻害のみを示した。臨床における最高濃度（C_{max}：30 mg 単回投与後で 975 ng/mL［約 0.7 μM］）ではごくわずかな作用しかみられなかったため，これらの作用は臨床的に意味のあるものではないと考えられる。

安全性薬理試験では，イカチバントが心血管系，胃腸管系，神経行動，呼吸器系，及び腎臓系に及ぼす影響を評価した。摘出ラット拍動心臓において，イカチバントは 0.1 nM 及び 1 nM の濃

度で，虚血後再灌流による不整脈の持続期間を延長させた。高濃度（10 nM）のイカチバントは，BK 様の心保護作用を示し，心室細動（VF）の頻度及び持続時間が減少した。

イカチバントの静脈内投与は，10 mg/kg までラットの胃腸管輸送に影響を及ぼさなかった。イカチバント 1 mg/kg 又は 3 mg/kg の静脈内投与は，ラットの胃酸分泌に影響を及ぼさなかったが，10 mg/kg では胃液量及び酸度が有意に低下した。0.3 mg/kg の静脈内投与では，イカチバントはラットのヒスタミン刺激による胃酸分泌に対して阻害作用を示さなかった。

0.01 mg/kg から 10 mg/kg の投与量範囲で静脈内投与したとき，イカチバントはマウスの行動に影響を及ぼさなかった。自発運動量，ペンテトラゾール誘発痙攣，ヘキソバルビタールによる睡眠時間の増強，及びアポモルヒネ誘導性のよじ登り行動を含む一連の試験において，イカチバントはマウスの中枢神経系（CNS）に影響を及ぼさなかった。1 mg/kg までの投与量で静脈内投与したとき，イカチバントは投与後 6 時間まで血糖値に影響を及ぼさなかった。

1 mg/kg までの投与量で皮下投与したとき，イカチバントはラットのナトリウム及びクロール利尿作用に有意ではない影響を及ぼした。ビーグル犬では，イカチバント 0.03 mg/kg の静脈内投与は，尿排泄，カリウム又はナトリウム濃度，糸球体ろ過率（GFR），あるいは腎血漿流量に影響を及ぼさなかった。しかし，0.3 mg/kg では，尿量及びナトリウム排泄量が減少した。

イカチバント 1 mg/kg 又は 3 mg/kg の静脈内投与は，覚醒下ラットの呼吸機能に影響を及ぼさなかった。しかし，10 mg/kg では軽微かつ一過性の気管支拡張作用を示した。

イカチバント 0.01 mg/kg 又は 0.1 mg/kg の静脈内投与は，覚醒下イヌの血圧又は心拍数に影響を及ぼさなかった。しかし，投与量を 0.6 mg/kg 又は 1 mg/kg まで増加させたとき，イカチバントは血圧を顕著に低下させ，疼痛反応，不穏，散瞳及び流涎過多を伴っていた。

ラットでは，イカチバント 40 μg/0.05 mL/min の静脈内インフュージョン投与は，急性腎血管性高血圧の発現に有意な影響を及ぼさなかった。イカチバント 0.83 nmol/min/kg を動脈内インフュージョンによりラットに投与したとき，血漿レニン活性に影響はみられなかった。

アフリカツメガエル卵母細胞モデルを用いた *in vitro* の試験では，イカチバントは心臓伝導に変化をもたらさず，また，CHO 細胞におけるヒト急速活性型遅延整流カリウムチャネル遺伝子（hERG）を介した外向き電流に対しても，300 μM の濃度まで有意な作用を示さなかった。イカチバント 0.13 mg/kg 又は 1.3 mg/kg を麻酔下ラットに静脈内投与したとき，平均動脈圧（MAP）は 3 分間にわたりそれぞれ約 10%及び 33%低下した。皮下（13 mg/kg まで）又は経鼻（33 μg/kg）投与では影響は観察されなかった。麻酔下ラットにおいて，イカチバントは虚血プレコンディショニングの有益な効果を減弱させなかった。運動負荷及び心筋梗塞の *in vivo* イヌモデルの評価では，心臓伝導又は血行力学的作用は観察されなかった。いずれの用量においても，イカチバントが心室異所性活動を悪化又は誘発するという明白なエビデンスは認められなかった。

本申請で提示する薬理試験は，効力を裏付ける試験，副次的薬理試験及び安全性薬理試験に分けられている。これらの中には，イカチバントの薬理作用をサポートすると考えられる追加の薬理評価として，摘出臓器を用いた *in vitro* での評価，また，異なる投与経路及び投与スケジュー

ルを用いた *in vivo* での評価が含まれている。これらの試験では，イカチバントの正式な安全性評価とは別に，BK に誘発される様々な適応症（例，喘息，アレルギー，疼痛）及び B2 拮抗作用（例，降圧反応，呼吸，腎，及び心血管に及ぼす作用）を検討した。したがって，これらの試験はイカチバントの薬力学的作用の裏付けになると考えられる。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

イカチバントは 5 つの非たん白質原性アミノ酸を含む合成デカペプチドである（2.6.1.1 項）。イカチバントは強力かつ選択的な B2 受容体拮抗剤であり，B2 受容体に対しては BK と同程度の親和性を有し，B1 受容体に対する親和性は約 1000 分の 1 である。

以下に要約した試験は，イカチバントの薬力学的活性を示す主要なエビデンスである。効力を裏付ける試験，副次的薬理試験及び安全性薬理試験として，本申請には JE049-0001 試験が含まれている。本報告書は，異なる施設からの多数の試験の報告書をまとめたものであるが，一部の試験は安全性薬理試験に現行の医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）が適用される以前の [redacted] 年代に実施されている。そのため，本試験は現在の GLP 基準下で実施されたものではなく，報告書の裏付けとなるデータや生データは利用できないが，薬理作用を裏付けるデータが含まれており，本報告書の内容は本剤の申請にとって重要であると考えている。このため，本報告書は評価資料として提出する。

2.6.2.2.1 ブラジキニンのアンタゴニスト作用–*In Vitro*

受容体結合試験により，イカチバント並びにその代謝物 M1 及び M2 の，B1 受容体と比較した B2 受容体に対する特異性を検討した。イカチバントの B2 受容体拮抗作用は，BK で刺激したラット，イヌ及びヒトの細胞株，培養ブタ及びウシ内皮細胞，ラット脂肪細胞，モルモット気管上皮細胞，並びにヒト滑膜細胞を用いて評価した。

ヒト B1 及び B2 受容体–イカチバントの試験（JE049-0003 試験，評価資料）

イカチバントと遺伝子組換え CHO 細胞に発現させたヒト B1 及び B2 受容体との相互作用を，競合的結合試験で検討した（JE049-0003 試験，［2.6.3 薬理試験概要表］，表 2.6.3.2）。B1 受容体の試験では，リガンドとして[^{3}H]-desArg^{10}-kallidin を用い，0.35 nM の濃度で 60 分間 22ºC でインキュベートした。非特異的結合は，非標識の desArg^9[Leu^8]-BK（10 μM）を用いて決定した。B2 受容体の試験では，リガンドとして[^{3}H]-BK を用い，0.2 nM の濃度で 90 分間 22^{o}C でインキュベートした。非特異的結合は，非標識の BK（1 μM）を用いて決定した。両試験とも検出方法はシンチレーション測定であり，リガンドの受容体への特異結合は，全結合量と過剰の非標識リガンド存在下で決定した非特異的結合量との差として定義した。IC_{50} 値及びヒル係数（nH）は，競合曲線をヒルの式にあてはめ，非線形回帰分析により算出した。

イカチバントは放射性リガンドを置換し，B1 及び B2 試験における IC_{50} は，それぞれ 6 μM 及び 4.3 nM であった。阻害定数（K_i）値は B1 受容体では 1.2 μM，B2 受容体では 2 nM であった。

ヒト B1 及び B2 受容体–M1，M2，及びイカチバントの試験（JE049-0004 試験，評価資料)

イカチバント及びその代謝物（M1 及び M2)と，遺伝子組換え CHO 細胞で発現させたヒト B1 及び B2 受容体並びにモルモット回腸の B2 受容体との相互作用を，それぞれ 0.35 nM の[^{3}H]-desArg^{10}-kallidin，0.2 nM の[^{3}H]-BK，及び 0.03 nM の[^{3}H]-BK を用いた競合的結合試験で検討した（JE049-0004 試験，［2.6.3 薬理試験概要表］，表 2.6.3.2）。

その結果，放射性リガンドの組換えヒト B1 受容体への結合は，イカチバント（10 μM で 83%阻害）及び M2（100 μM で 45%阻害）により阻害されるが，M1 では阻害されないことが示された。同様に，放射性リガンドの組換えヒト B2 受容体への結合も，イカチバント（10 μM で 100%阻害）及び M2（100 μM で 56%阻害）により阻害されたが，M1 では阻害されなかった。モルモット B2 受容体への結合は，イカチバント(10 μM で 100%阻害)，M2（10 μM で 58%阻害)，及び M1（10 μM で 48%阻害）により阻害された。

[^{3}H-BK]及びモルモット回腸膜を用いた HOE 140 の受容体結合試験（JE049-0001 試験，評価資料）

イカチバントとモルモット回腸の B2 受容体との相互作用を，1 nM の[^{3}H]-BK を用いた競合的結合試験で検討した（JE049-0001 試験）。IC_{50} 値は，BK 及びイカチバントついて，それぞれ 1.6 nM 及び 1.2 nM であった。

BK で刺激した培養内皮細胞における HOE 140 の拮抗作用 （JE049-0001 試験，評価資料）

培養ブタ大動脈内皮細胞を用い，イカチバントが BK 刺激による細胞内カルシウム及び内皮由来弛緩因子（EDRF）分泌増加に及ぼす影響を検討した。また，ウシ大動脈内皮細胞を用い，BK により誘発されるプロスタサイクリン（PGI_2）放出への影響を検討した（JE049-0001 試験）。

ブタ大動脈内皮細胞から放出される EDRF は，培養液の可溶性グアニル酸シクラーゼを活性化して環状グアノシン一リン酸（cGMP）を産生する能力を測定することにより評価した。30 nM の BK で 3.5 分間又は 4.5 分間処理した細胞の培養液では，cGMP 産生が 9 nmol/min/mg protein（基底レベル）からそれぞれ 53 nmol/min/mg protein 及び 57 nmol/min/mg protein に増加した。この反応は，10 nM のイカチバントを用いた 5 分間の前処理により約 50%阻害され，100 nM 及び 1 μM の濃度では完全に抑制された。イカチバントは基底レベルの EDRF 放出に影響を及ぼさなかった。

蛍光プローブ indo–1 を用い，ブタ大動脈内皮細胞における細胞内遊離カルシウムに及ぼす影響を評価した。イカチバントは，1 nM の BK で誘発した細胞内遊離カルシウム上昇を用量依存的に阻害し，IC_{50} 値は 1 nM であった。

ウシ大動脈からの初代培養内皮細胞を BK と 1 分間インキュベートしたとき，PGI_2 の放出が刺激された（最大放出は 100 nM で観察された）。100 nM のイカチバントを用いた 5 分間の前処理は，BK を介した PGI_2 の放出を完全に抑制したが，基底レベルの PGI_2 には影響を及ぼさなかった。

HOE 140(S 89 0140)がラット腹膜肥満細胞のヒスタミン遊離に及ぼす作用（JE049-0001 試験，評価資料）

イカチバントがラット腹膜肥満細胞からのヒスタミン遊離に及ぼす作用を検討した（JE049-0001 試験）。Wistar ラットの腹膜肥満細胞を，0.1 μM から 100 μM のイカチバントと 30 分間 37°C でインキュベートした。ヒスタミン遊離を誘発することが知られている物質（カルシウムイオノフォア A 23 187［3 μg/ml］，化合物 48/80［3 μg/ml］，又は BK［10 μg/ml］）を添加し，試料をさらに 30 分間インキュベートし，ヒスタミン濃度を高速液体クロマトグラフィーで測定した。

その結果，イカチバント単独ではヒスタミン遊離を誘発しないことが示された。イカチバントは BK により誘発されるヒスタミン遊離を阻害したが，化合物 48/80 又はカルシウムイオノフォア A 23 187 によって誘発されるヒスタミン遊離にはほとんど影響を及ぼさなかった。

モルモット気管上皮細胞及びヒト滑膜細胞において，HOE 140 が BK 受容体及び BK 誘発反応に及ぼす作用（JE049-0002 試験，参考資料）

モルモット気管上皮細胞には，[^{3}H]-BK の高親和性部位と低親和性部位の両方が存在する（細胞当たり 4000 部位では解離定数（K_d）が 44 pM，9600 部位では K_d が 10 nM）。イカチバントのこれらの BK 受容体に対する作用を評価するため，放射性標識した BK 1 nM を用いた結合置換試験を実施した（JE049-0002 試験，［2.6.3 薬理試験概要表］表 2.6.3.2）。

イカチバントは BK を置換し，1 nM の[^{3}H]–BK では IC_{50} は 4 nM，50 nM の[^{3}H]–BK では IC_{50} は 200 nM であったのに対し，これらの試験における BK の IC_{50} 値は 1.8 nM 及び 100 nM であった。イカチバントは 10 nM の BK で誘導したプロスタグランジン E_2（PGE_2）産生を阻害し，これらの細胞における IC_{50} は 2 nM であった。

培養ヒト滑膜細胞は，単一の[^{3}H]-BK 結合部位を含んでいる（細胞当たり 40,000 部位で K_d は 2.6 nM)。イカチバントは 1 nM の[^{3}H]-BK を置換し，IC_{50} は 3 nM であったが，一方この試験における BK の IC_{50} 値は 8 nM であった。

BK は，これらの細胞において用量依存的な細胞内カルシウム濃度の上昇をもたらす。イカチバントは，3 nM の BK により誘発した反応を阻害し，IC_{50} 値は約 10 nM であった。インターロイキン 1 に予め曝露した細胞では，BK は用量依存的な PGE_2 産生の増加をもたらした。イカチバントは 10 nM の BK で誘発したこの反応を阻害し，IC_{50} 値は 10 nM であった。

MAPK 活性化及びカルシウム動員試験を用いたイカチバントの種特異性及び潜在的アゴニスト活性の解析の要約（JE049-0013 試験，参考資料)

ラット，イヌ，ヒト細胞株を用い，イカチバントが分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ（MAPK）の活性化及びカルシウム動員に及ぼすアゴニスト及びアンタゴニスト作用を検討した（JE049-0013 試験，［2.6.3 薬理試験概要表］，表 2.6.3.2）。

カルシウム動員は，カルシウム指示薬を用いた蛍光定量法により遊離カルシウムイオンを測定することによって評価した。細胞としては，BK を介して安定したカルシウム動員を示す性質に基づき，以下の細胞株を選択した：HF15/ヒト包皮線維芽細胞（50%有効濃度［EC_{50}］=4 nM），CF52.Tr/イヌ気管線維芽細胞（EC_{50}=4 nM），MDCK/イヌ腎臓上皮細胞，及び Rat2/ラット胚性線維芽細胞（EC_{50}=5 nM）。また，組換えヒト B2 受容体を発現する HEK–293 細胞も用いた。

その結果，ヒト HF15，イヌ CF52.Tr，及びラット Rat2 細胞において，イカチバントは BK により誘発されるカルシウム動員に拮抗し，IC_{50} 値は 0.4 nM から 4 nM であった。いずれの細胞株においても，50 μM までの濃度でイカチバントのアゴニスト作用は検出されなかった。

HF15 細胞及び組換えヒト B2 受容体を発現するヒト HEK–293 細胞を用い，高濃度のイカチバントがアゴニスト反応を生じる可能性を評価した。ヒト HF15 細胞では，300 μM を超える濃度でアゴニスト活性が観察され，組換えヒト B2 受容体を発現する HEK–293 細胞では 1 mM を超える濃度でアゴニスト活性が観察された。カルシウム濃度の上昇は，BK に対する最大反応よりもかなり低いものであった。臨床において，30 mg を単回投与したときの曝露量は約 0.7 nM である。HEK–293 の親株では，イカチバントの濃度 10 mM まで反応は観察されなかった。

また，リン酸化 p44/42 MAPK に対する抗体を用いたウェスタンブロット法を用い，細胞溶解液から免疫沈降させた ERK1（MAPK p44)が，基質である MBP をリン酸化する能力を評価することにより，MAPK の活性化を測定した。最初の一連の実験では，HF15，PC–12（ラット褐色細胞腫），MDCK，及び CF52 細胞を用い，3 つの処理条件（BK［1 μM］，イカチバント［10 μM］，及び BK［1 μM］＋イカチバント［10 μM］）を評価した。

ヒト HF15 細胞では，イカチバントは BK により誘発される MAPK の活性化に拮抗した。逆に，PC–12 及び CF52.Tr 細胞ではイカチバントはアゴニスト活性を示し，BK に対する反応に影響を及ぼさなかった。MDCK 細胞は基底レベルの活性が高く，BK 又はイカチバントによる処理はこの活性を低下させた。

2 回目の評価では，異なる処理条件でより広範な濃度を評価した。これらの実験において，ヒト HF15 細胞は基底レベルで高い MAPK 活性を示し，その活性は 50 nM の BK によっても変化し

なかった（イカチバントは検討せず）。検討した全てのラットの細胞（RFL–6［肺］，PC–12，及び Rat2）及びイヌの細胞（MDCK 及び CF52.Tr）において，BK は検討した濃度（0.1 nM から 1 μM）で MAPK の活性化を誘導した。イカチバントも，これらの全細胞においてアゴニスト活性を示したが，イヌ細胞では，特定の濃度でインバースアゴニスト活性及びアンタゴニスト活性も観察された。

これらの結果から，*in vitro* における MAPK 活性化の測定は，実験プロトコルに対して極めて敏感であり，ラット及びイヌ細胞株では，イカチバントは特定の条件下で MAPK 活性化の程度を上昇させることが示された。

2.6.2.2.2 イカチバントが摘出臓器に及ぼす作用

平滑筋の収縮に関し，BK により誘発される作用に対するイカチバントの拮抗作用を，B2 受容体を含むモルモット回腸，モルモット肺動脈，ラット子宮，及びウシ冠動脈からの平滑筋標本，並びに B1 受容体を含むウサギ大動脈からの標本を用いて評価した。また，モルモット回腸，モルモット肺動脈，及びラット子宮を用い，アゴニスト作用についても評価した。

摘出臓器における HOE 140 及び D-Arg [Hyp^2,Thi^{5,8},D-Phe^7]-BK（JE049-0001 試験，評価資料）

イカチバントの B2 受容体拮抗作用を評価するとともに，B1 受容体に関するアゴニスト活性又はアンタゴニスト活性の可能性を評価するため，B2 受容体を含むモルモット回腸，モルモット肺動脈，及びラット子宮からの平滑筋標本を用いてイカチバントを評価した。また，B1 受容体を含むウサギ大動脈標本も使用した（JE049-0001 試験）。組織を摘出し，等尺性収縮を記録した。

B2 受容体拮抗活性を評価するため，BK をモルモット回腸では 40 nmol/L，ラット子宮では 10 nmol/L，モルモット肺動脈では 200 nmol/L の濃度で添加して収縮を誘発した。B1 受容体拮抗活性を評価するため，Des-Arg^9-BK（300 nmol/L）を添加して収縮を誘発した。イカチバントは 100 μM までの濃度で使用し，収縮の誘発前に添加した。結果を表 2.6.2-1 に示す。

すべての B2 を含む組織で，イカチバントは BK に誘発される筋収縮を阻害し，IC_{50} は 4.9 nM から 11 nM であったが，B1 受容体を含むウサギ大動脈では作用を示さなかった。モルモットの回腸及び肺動脈ではアゴニスト活性が観察されたが，ラット子宮又はウサギ大動脈では観察されなかった。モルモット回腸では，イカチバント（100 μmol/L）は BK（40 nmol/L）によって生じる反応の 16%に相当するアゴニスト活性を示し，また，モルモット肺動脈では，BK（200 nmol/L）によって生じる反応と同程度のアゴニスト活性を示した。2 回目の実験において，モルモット回腸切片を累積濃度 10^{-9} mol/L から 10^{-6} mol/L の BK により収縮させたとき，イカチバントのアンタゴニスト活性（pA_2 値）は 8.42 と算出された。

表 2.6.2-1　　摘出臓器におけるイカチバントの作用

組織	IC_{50} (nM)	内因性アゴニスト活性 (100 µmol/L)
モルモット回腸	11	+/–
ラット子宮	4.9	–
モルモット肺動脈	5.4	+
ウサギ大動脈	作用なし	作用なし

IC_{50} = 50%阻害濃度
– 活性なし
+/– 弱
+ 刺激のために臓器で使用した濃度での BK の作用と同程度

これらの結果から，*in vitro* においてイカチバントが非常に強力な BK 拮抗剤であることが示された。一部の組織では，BK 拮抗作用の IC_{50} の約 10000 倍の濃度でアゴニスト反応が観察された。B1 受容体のみを発現するウサギ大動脈（Regoli 1980）では作用がみられなかったことから，イカチバントの B2 受容体に対する選択性が示された。

摘出モルモット心臓において，HOE 140 及び D-Arg-[Hyp^2, Thi5^{,8}, D-Phe^7]-BK が冠血流量の変化に及ぼす作用（JE049-0001 試験，評価資料）

BK により誘発される冠血流量（CF）の増加に対するイカチバントの拮抗作用を評価するため，モルモット心臓を摘出し，クレブス–ヘンゼライト液で灌流した。大動脈カニューレを通して化合物を灌流液中に注入し，ドロップカウンターで CF を測定した（JE049-0001 試験）。イカチバント（3 nM から 100 nM）を 4 分間注入し，注入開始 2 分後に BK（10 µM）を注入した。イカチバントは BK により誘発される CF の増加を用量依存的に拮抗し，IC_{50} 値は 31 nM であった。

摘出ウシ冠動脈において，HOE 140 が BK 誘発内皮依存性弛緩に及ぼす作用 （JE049-0001 試験，評価資料）

本試験の目的は，予め収縮させたウシ冠動脈の BK に誘発される弛緩に対するイカチバントの拮抗作用を評価することであった（JE049-0001 試験）。ウシ冠動脈の細片を PGF2α（1 µM）を用いて予め収縮させた。BK（0.1 nM から 30 nM）を 45 分後に添加し，最初の BK 添加の 5 分前にイカチバントを添加した。

BK は濃度依存的な正常内皮細胞の弛緩を誘発した。イカチバントを 1 nM，3 nM 及び 10 nM の濃度で添加したとき，BK の用量反応曲線は濃度依存的に右方向にシフトし，本試験系でイカチバントが BK に誘発される反応を拮抗できることが示された。

新規 BK 類似体はモルモット回腸で二重拮抗剤として作用する（JE049-0005 試験，参考資料）

摘出モルモット回腸を用い，BK に誘発される筋収縮に対するイカチバントの拮抗作用を検討した（JE049-0005 試験，［2.6.3 薬理試験概要表］，表 2.6.3.2）。

回腸の小片（1.5 cm）をタイロード液に浮遊させ（37°C，O_2 中 5% CO_2 ガス供給下），予め 2 g を負荷した条件で等張性収縮を記録した。各小片について，BK（1 nM から 9 μM）を 10 分間かけて累積的に添加し，濃度–反応曲線を作成した。15 分間の平衡期間の後，イカチバント（10 nM から 300 nM）を実験槽に添加し，BK に対する濃度–反応曲線を得るために，3 分後から BK を繰り返し添加した。対照の組織では，拮抗剤の代わりに同容量の生理食塩水を添加した。

BK により誘発された収縮は，BK の濃度を累積的に増加させて最初に組織を検討したときに得られた最大反応に対するパーセントとして表した。BK の最大効果（E_{max}）が拮抗剤によって濃度依存的に低下したかどうかを検査するため，拮抗剤存在下での E_{max} を，生理食塩水で処理した組織の E_{max} と比較した。E_{max} を得るために必要な BK の濃度（C_{max}）が増加することを示すため，同じ試験法を用いた。

イカチバントの拮抗作用は，実験槽の液を繰り返し交換したにもかかわらず 30 分間持続した。イカチバントは BK の濃度反応曲線を右方向にシフトさせ，濃度依存的に E_{max} を減少させた。

2.6.2.2.3　ブラジキニンのアンタゴニスト作用–*In Vivo*

効力を裏付ける試験における BK のアンタゴニスト作用は *in vivo* で評価されており，以下では社内試験と同様に文献の考察を示す。

高用量で投与した場合，又は静脈内ボーラス投与した場合，イカチバントは潜在的にアゴニスト作用を生じる可能性があるため，低血圧，粘膜の腫脹，気管支収縮，及び疼痛の悪化などの BK に関連した作用を増強させる可能性がある（Félétou 1994）。イカチバントの作用機序を裏付けるため，追加の *in vivo* 試験でこれらの潜在的な BK に関連する作用を評価した。

薬理評価のために，C1 エステラーゼインヒビター（C1–INH）を欠損する疾患モデルマウスの特徴が明らかにされている。このマウスでは血管透過性が亢進しており，これは尾静脈に静脈内注射したエバンスブルーの溢血により検出することができる。C1–INH 及び B2 受容体の両方を欠くマウスは血管透過性の亢進を示さず，このモデルにおける血管透過性の亢進が B2 受容体を介したものであることを示している。C1–INH 欠損マウスの尾静脈にイカチバントを静脈内投与したとき，血管透過性は完全に元に戻った（Han 2002）。

麻酔下ラットにおける BK 誘発低血圧の HOE 140 による阻害（JE049-0001 試験，評価資料）

麻酔下ラットにおいて，BK で誘発した低血圧に対するイカチバントの阻害効果を評価するため，雄 Sprague–Dawley ラットをチオペンタールナトリウム（100 mg/kg 腹腔内投与）で麻酔し，左大腿動脈で全身血圧を直接測定した（JE049-0001 試験）。イカチバントの投与前後に，BK

（100 pmol）をボーラス投与により左頸動脈に 10 分間隔で繰り返し投与した。イカチバントは，5 分間の動脈内インフュージョン又は皮下投与により投与した。

BK は，MAP を一過性に低下させた。イカチバント（75 pmol）を 5 分間かけて動脈内インフュージョン投与したとき，BK により誘発される MAP の低下は 58%軽減された。作用の半減期は約 30 分間と推定された。750 pmol の投与量では，イカチバントは BK により誘発される低血圧を完全に予防し，半減期は 60 分間を超えていた。

BK の降圧作用は，イカチバント 20 nmol/kg の皮下投与 1 時間後に完全に阻害された。拮抗作用は 5 時間を超えて持続し，BK により誘発される血圧低下は，5 時間後も 60%阻害されていた。

麻酔下ラットにおいて，HOE 140 は競合的 BK 拮抗剤として作用する（JE049-0006 試験，参考資料）

麻酔下ラットを用い，イカチバントが BK により誘発される低血圧に及ぼす作用が，BK の投与量を増やすことで打ち消されるかどうかを評価した（JE049-0006 試験，［2.6.3 薬理試験概要表］，表 2.6.3.2）。雄 Sprague–Dawley ラットをチオペンタールナトリウム（100 mg/kg 腹腔内投与）で麻酔し，左大腿動脈で全身血圧を直接測定した。BK は，10 分間隔で左頸動脈に動脈内ボーラス投与した。イカチバントは，20 nmol/kg の投与量で動脈内投与した。

対照として BK（0.1 nmol）を 2 回注射したとき，血圧は約 30%低下した。この作用はイカチバントの投与によりほぼ完全に消失した。BK の漸増投与は，用量依存的にイカチバントの作用を打ち消すことができた。BK 100 nmol の投与量では，血圧の低下はイカチバント投与前に BK 0.1 nmol を投与した場合と同程度であった。

十二指腸内投与後の HOE 140 の作用（JE049-0007 試験，参考資料）

イカチバントの十二指腸内投与を評価するため，麻酔下ラットを用いて BK により誘発される低血圧に及ぼす作用を評価した。雄 Sprague–Dawley ラットをチオペンタールナトリウム（100 mg/kg 腹腔内投与）で麻酔し，左大腿動脈で全身血圧を 1 時間直接測定した（JE049-0007 試験，［2.6.3 薬理試験概要表］，表 2.6.3.2）。BK は，100 pmol の投与量で左頸動脈にボーラス投与した。イカチバントは，0.02 µmol/kg，0.2 µmol/kg，及び 2 µmol/kg の投与量を，0.1 mL/kg の NaCl 溶液として十二指腸内投与した。

イカチバントの十二指腸内投与は，BK により誘発される低血圧を阻害した。作用の強さ及び効果発現時間はいずれも用量依存的であり，0.2 µmol/kg 投与群では 30 分後から，2 µmol/kg 投与群では 10 分後から有意な作用が認められた。

経鼻投与による HOE 140 のラットの BK 誘発血圧低下に対する作用（JE049 0001 試験; 評価資料）

イカチバントの経鼻投与を評価するため，麻酔下ラットを用いて BK により誘発される低血圧に及ぼす作用を評価した。雄 Sprague–Dawley ラットをチオペンタールナトリウム（100 mg/kg 腹腔内投与）で麻酔し，左大腿動脈で全身血圧を直接測定した（JE049-0001 試験）。イカチバント処理の前後に，BK（100 pmol）を 10 分間隔のボーラス投与により左頸動脈に反復投与した。

BK は，MAP を一過性に 19%から 21%低下させた。イカチバント（33 μg/kg）の経鼻投与は，BK の作用（MAP の低下）を約 7%まで減少させた。

経鼻投与後の HOE 140 の作用（JE049-0008 試験，参考資料）

イカチバントの経鼻投与を評価するため，麻酔下ラットを用いて BK により誘発される低血圧に及ぼす作用を評価した。雄 Sprague–Dawley ラットをチオペンタールナトリウム（100 mg/kg 腹腔内投与）で麻酔し，左大腿動脈で全身血圧を直接測定した（JE049-0008 試験，［2.6.3 薬理試験概要表］，表 2.6.3.2）。BK（100 pmol）は，10 分間隔で左頸動脈にボーラス投与した。
イカチバントは，33 μg/kg 及び 330 μg/kg を 20 μL の容量で経鼻投与した。

BK は，一過性に MAP を 25%低下させた。イカチバントを 33 μg/kg 又は 330 μg/kg の投与量で投与したとき，BK の作用（MAP 低下）はそれぞれ約 10%及び 3%まで減少した。最初の評価時点である投与 10 分後から明らかな作用が認められ，作用は実験期間（5 時間）を通してわずかしか低下しなかった。

麻酔下モルモットにおける，HOE 140 による BK 誘発気管支収縮の阻害（JE049-0001 試験，評価資料）

イカチバントの静脈内又は皮下投与が BK に誘発される気管支収縮に及ぼす作用を評価するため，モルモットをペントバルビタール（70 mg/kg 腹腔内投与）で麻酔し，全身プレチスモグラフィーを実施した（JE049-0001 試験）。反復投与により誘発されるタキフィラキシーを予防するため，プロプラノロール（10 mg/kg 皮下投与）を用いた。肺抵抗（R_L）がベースライン値と比較して 42%から 58%上昇し，動肺コンプライアンス（C_{DYN}）が 33%から 39%低下するよう，BK の投与量を動物ごとに設定した（300 pmol から 600 pmol の範囲での静脈内投与）。

イカチバント（1 pmol/kg から 1000 pmol/kg）の静脈内投与は，BK により誘発される気管支収縮を用量依存的に阻害し，50%阻害用量（ID_{50}）は，R_L については 13.4 pmol/kg，C_{DYN} については 31.8 pmol/kg であった。最大作用は投与 1 分後に観察された。反応の持続時間も用量依存的であり，BK に対する反応性は，イカチバント 1 pmol/kg 投与後は 5 分以内に完全に回復したが，イカチバント 1 nmol/kg の投与 1 時間後では，BK により誘発される R_L の上昇は 60%阻害され，C_{DYN} の低下は 46%阻害されたままであった。

イカチバント（20 nmol/kg）を試験 30 分前に皮下投与したとき，BK により誘発される気管支収縮は 2 時間にわたって阻害された。前投与の 4 時間後でも，BK により誘発される R_L の上昇は 50%阻害されたままであった。

高用量のイカチバントがアゴニスト活性を示すかどうかについても評価した。プロプラノロール を前投与した動物で，イカチバント 1 μmol/kg の静脈内投与は R_L を 16%増加させたが，一方 C_{DYN} は 14%低下した。プロプラノロールを投与しなかった場合は，R_L（+6%）及び C_{DYN}（–5%）に一過性の変化が観察された。

麻酔下モルモットにおける気管支拡張作用（JE049-0001 試験，参考資料）

イカチバントが BK により誘発される気管支収縮に及ぼす作用を評価した。アルビノモルモットをウレタンの腹腔投与により麻酔し，開胸して自発呼吸を妨害した（JE049-0001 試験）。呼吸はスターリングポンプを用いて行った。肺に吸入されない空気容量を記録した。イカチバント（静脈内投与）を 0.03，0.1，0.3，1，3，10，30，100，又は 300 g/kg の投与量で，BK 注射の 5 分前に投与した。5 分後にブラジキニン三酢酸塩（初回は 10 μg/kg 静脈内投与，以降は 20 μg/kg 投与）を投与して気管支収縮を誘発した。イカチバントは BK により誘発される気管支収縮を阻害し，50%有効用量（ED_{50}）は 0.03 g/kg から 0.1 g/kg であった。

イカチバントが卵白アルブミンにより誘発される気管支収縮に及ぼす作用も評価した。上述した気管支収縮の評価 22 日前から 2 日間連続して，アルビノモルモットを卵白アルブミン（0.1%）を用いて感作した。イカチバント（1 mg/kg，3 mg/kg，又は 6 mg/kg）又は塩化ナトリウムを静脈内投与した後，0.1%卵白アルブミンでチャレンジした。イカチバントは卵白アルブミンにより誘発される気管支収縮を阻害し，ED_{50} は 3 mg/kg から 6 mg/kg であった。

麻酔下モルモットにおいて，HOE 140 が BK 誘発気管支収縮に及ぼす作用：エアロゾルと静脈内投与の比較 （JE049-0009 試験，参考資料）

イカチバント（静脈内及び吸入）が BK の静脈内及び吸入投与により誘発される気管支収縮に及ぼす作用を評価するため，モルモットをペントバルビタール（70 mg/kg 腹腔内投与）で麻酔し，全身プレチスモグラフィーを実施した（JE049-0009 試験，［2.6.3 薬理試験概要表］，表 2.6.3.2）。イカチバントは 1 pmol/kg から 1 nmol/kg の投与量で静脈内投与，又は 1 nmol/kg から 100 nmol/kg の投与量で 60 呼吸かけてエアロゾルにより投与した。対照群には生理食塩水を投与した。

最初の一連の実験では，BK を約 10 分間隔で静脈内投与した。R_L が約 50%上昇するよう，BK の投与量を動物ごとに設定した。反復注射により誘発されるタキフィラキシーを予防するため，プロプラノロール（1 mg/kg 静脈内投与）を使用した。イカチバント（静脈内投与）は BK により誘発される気管支収縮を用量依存的に阻害し，R_L に関する ID_{50} は 13.4 pmol/kg であった。BK の反復チャレンジにより，最大の阻害は投与 1 分後に生じ，また，反応の持続時間は用量依存的

であることが示された。イカチバント 1 nmol/kg 投与 60 分後でも，BK により誘発される R_L の上昇は 60%阻害されていた。溶媒には作用はなかった。エアロゾル化したイカチバントでも気管支収縮に対する用量依存的な阻害が観察され，ID_{50} は 1.3 nmol/kg であった。BK の反復チャレンジにより，最大の阻害は投与 2 分後に生じ，また，反応持続時間は用量依存的であることが示された。イカチバント 100 nmol/kg の投与 60 分後でも，BK により誘発される気管支収縮は 38%阻害されていた。溶媒には作用はなかった。

第 2 の一連の実験では，エアロゾル化した BK を吸入投与した。エアロゾル化した BK を 235 nmol/kg の投与量で 30 呼吸かけて投与したとき，R_L は一過性に上昇した。R_L は投与 2 分後にピーク（約 400%）に到達し，R_L の回復は 6 分後に認められた。タキフィラキシーにより反復投与回数が制限されたため，対照群及びイカチバント投与群に別の動物を使用する必要が生じた。イカチバントの静脈内投与 （10 nmol/kg）又はエアロゾル投与（0.1 nmol/kg 及び 1 nmol/kg）は BK により誘発される R_L の上昇を阻害し，ピーク R_L は，10 nmol/kg 静脈内投与では 85%阻害，0.1 nmol/kg エアロゾルでは 69%阻害され，また，1 nmol/kg エアロゾルでは 95%阻害された。溶媒には作用はなかった。

第 3 の実験では，高用量のイカチバントがアゴニスト作用を示すかどうか評価した。プロプラノロールを前投与した動物では，イカチバント 1 μmol/kg の静脈内投与により R_L が 16%上昇した。プロプラノロールを前投与しなかった場合，R_L に一過性の変化（+6%）が観察された。

覚醒下モルモットにおいて，BK に対する preconvulsion time に及ぼす作用に関する試験（実験的喘息）（JE049-0001 試験，評価資料）

イカチバントの吸入投与が BK により誘発される喘息発作に及ぼす作用を検討するため，アルビノモルモットを 0.1%卵白アルブミンで感作し，0.01% BK スプレーに曝露させた（JE049-0001 試験）。BK チャレンジに反応して喘息反応を示した（5 分以内に側臥位を呈した）動物を本試験に用いた。抗喘息活性を被試験物質の吸入直後に評価した。Preconvulsion time の変化をパーセントで示した（10 分間の吸入）。

イカチバントは，BK 吸入後の preconvulsion time を有意に延長し（165%，$p < 0.05$），イカチバントが BK により誘発される反応を拮抗できることが示された。

HOE 140 による BK 皮内投与に対する侵害刺激反応の阻害（JE049-0010 試験，参考資料）

イカチバントが BK により誘発される痛覚に及ぼす作用を検討するため，雌 Hartley モルモットに，BK（0.26 mg/kg）の皮内投与の 15 分前にイカチバント 0.3 mg/kg 又は 1 mg/kg を腹腔内投与した（JE049-0010 試験，［2.6.3 薬理試験概要表］，表 2.6.3.2）。反応を 1 分間記録し，侵害反応スコアに変換した。BK を投与した動物では，侵害反応スコアが 28±9.4 であった。イカチバント（腹腔内投与）は BK により誘発された侵害反応スコアを有意かつ用量依存的に低下させた（0.3 mg/kg：15±6.9，1 mg/kg：4.5±4.8; $p < 0.01$）。

2.6.2.2.4 遺伝性血管性浮腫（HAE）の動物モデルにおけるイカチバントの作用

C1–INH 欠損マウスにおける B2 受容体を介する血管透過性の亢進（Han 2002）

イカチバントが C1–INH 欠損マウスの血管透過性に及ぼす作用を評価した。C1–INH 欠損マウス（7 週齢から 8 週齢）に，エバンスブルー（30 mg/kg）の尾静脈への投与直前にイカチバント 30 μg を静脈内投与した。投与 1 分後及び 15 分後に，麺棒を用いてカラシ油（5%）を耳の背側及び腹側表面に塗布した。マウスは 30 分後に安楽死させ，足及び小腸を採取した。1 mL のホルムアミドで 55°C，一晩かけてエバンスブルーを抽出し，分光光度計（600 nm）で測定した。データは，平均 ± 標準誤差，並びに独立スチューデントの t 検定により評価した未投与動物と投与動物との比較として報告されている。

イカチバントは足及び腸で血管透過性を有意に低下させた（P = 0.00081［足］及び P = 0.0007［腸］，投与マウス vs 未投与マウス）。小腸における血管透過性は，未投与の C1–INH 欠損マウスでは 0.41 ± 0.08，イカチバント 30 μg を投与したマウスでは 0.0252 ± 0.03 であった。

C1–INH 欠損マウスにおける血管透過性亢進の回復に向けたアプローチ（Han Lee 2003）

イカチバントが C1–INH 欠損マウスの血管透過性に及ぼす作用を評価した。7 週齢から 8 週齢の C1–INH 欠損マウスに，エバンスブルー（30 mg/kg）の尾静脈への投与直前にイカチバントを 0，0.3，0.5，1，2，3，又は 30 μg の用量で静脈内投与した。マウスは安楽死させ，耳及び足を採取した。1 mL のホルムアミドで 55°C，一晩かけてエバンスブルーを抽出し，分光光度計（600 nm）で測定した。データは SigmaPlot を用いて解析し，平均 ± 標準誤差，独立 t 検定で評価した群間比較として報告されている。

イカチバントは 0.5 μg 以上の用量で血管透過性を低下させた。最大阻害効果はイカチバント 3 μg の投与後 4 時間持続し，投与 8 時間後でも血管透過性はベースライン値に戻らなかった。

2.6.2.2.5 炎症モデル動物におけるイカチバントの作用

イカチバントの作用機序を裏付けるため，追加の *in vivo* 試験で，イカチバントがカラゲニン疼痛浮腫，熱傷浮腫，アジュバント誘発関節炎，及び遅延型過敏反応（DTH）に及ぼす作用を評価した。

ラットのカラゲニン誘発足浮腫における抗炎症作用（JE049-0001 試験，評価資料）

イカチバントの *in vivo* における抗炎症活性を評価するため，ラットのカラゲニン足浮腫モデルを用いた。イカチバントを 0，0.01，0.1，及び 1 mg/kg の投与量で，雄 Sprague Dawley ラットの尾静脈に投与した（JE049-0001 試験）。その直後にカラゲニンを左後足に投与した。足部容積を 0，1，2 及び 3 時間後に測定した。

カラゲニンの投与 1，2 及び 3 時間後に，足部容積は 0.36 mL，0.62 mL 及び 0.75 mL 増加した。イカチバントはこの反応を用量依存的に阻害した。作用は 3 用量すべてで投与 1 時間後に有意であり，0.1 mg/kg 及び 1 mg/kg では 2 時間後及び 3 時間後にも有意であった。

ラットの足の熱傷浮腫に対する S 89 0140 の阻害作用（JE049-0001 試験，評価資料）

本試験では，熱湯（熱傷）浮腫に対するイカチバント静脈内投与の作用を評価した。エーテル麻酔下の雄 Sprague Dawley ラットの左右後肢を熱湯（55°C）に 10 秒間浸け，熱傷浮腫を誘発した（JE049-0001 試験）。

熱湯に浸けた直後に，イカチバントを 0 mg/kg，0.1 mg/kg，及び 1 mg/kg の投与量で尾静脈に投与した。熱傷誘発前，1，2 及び 4 時間後に足部容積を測定した。対照群の動物では，足部容積が 1 時間以内に増加し，実験期間を通して増加したままであった。イカチバントを投与した動物では，足部容積は減少したが，作用は 1 mg/kg の投与 4 時間後のみ有意（$p < 0.05$）であった。

ラットのアジュバント誘発関節炎に対する抗炎症作用（JE049-0001 試験，評価資料）

イカチバントの *in vivo* における抗炎症作用を評価するため，ラットのアジュバント誘発関節炎モデルを用いた。雄 Wistar Lewis ラットに *Mycobacterium butyricum* を含むフロイントコンプリートアジュバント（FCA）を左後足に足底内投与した（JE049-0001 試験）。イカチバントは，埋め込み型浸透圧ポンプを用いた静脈内インフュージョンにより，アジュバント投与日から 2.5 mg/kg/day で連続 27 日間投与した。炎症は，投与した後足と未投与の後足の容積を測定して評価した。

イカチバントを投与した動物では，Day 21 から Day 27 の間に，投与/未投与の両方の足でわずかな炎症活性の減少が認められたが，その作用は有意でなかった。

HOE 140 がラットのカラゲニン足浮腫及びラット及びマウスの遅延性過敏症（DTH）に及ぼす作用（JE049-0001 試験，評価資料）

イカチバントの *in vivo* 抗炎症活性をラットのカラゲニン足浮腫モデルで評価し，DTH に及ぼす作用をラット及びマウスを用いて評価した（JE049-0001 試験）。

最初の実験では，イカチバント（1 mg/kg）又は生理食塩水をエーテル麻酔下の雄 CFHB ラットに皮下投与した。投与 15 分後にカラゲニンを右後足に注射し，生理食塩水を左後足に注射した。ラットを 3 時間後に屠殺し，後足を足首で切断して重量を測定した。対照の足は 940 $\pm$ 99 mg であった。イカチバントは足重量を 73%減少（254 $\pm$ 18 mg）させた（$p < 0.005$）。

DTH 試験では，*M. tuberculosis* H37RA を含む FCA を雄 CFHB ラットの背側尾根部に皮下投与して感作した。陰性対照群には溶媒のみ（流動パラフィン）を投与した。7 日後，エーテル麻酔

下で，ラットに *M. tuberculosis*（右後肢）又は生理食塩水（左後肢）をチャレンジ投与した。チャレンジから 15 分，3 時間及び 6 時間後に，ラットにイカチバント 1 mg/kg 又は生理食塩水 10 mL/kg を皮下投与した。24 時間後にラットを屠殺し，後肢を足首で切断して重量を測定した。非感作ラットの非特異的炎症を補正した後，右足重量から左足重量を差し引いて浮腫を評価した。イカチバントにより 24 時間後の後足浮腫が 9%増強したが，差は有意ではなかった。

第 2 の DTH 試験では，エーテル麻酔下の雄 CD 1 マウスに，1 mg のメチル化ウシ血清アルブミン（MBSA）を含む生理食塩水/FCA 乳濁液 0.2 mL を皮下投与して感作した。対照群には生理食塩水/FCA のみを投与した。7 日後，エーテル麻酔下で，マウスに MBSA（右後肢）又は生理食塩水（左後肢）をチャレンジ投与した。チャレンジから 15 分，3 時間及び 6 時間に，マウスにイカチバント 1 mg/kg 又は生理食塩水を注射（皮下）した。24 時間後にマウスを屠殺し，後足を足首で切断して重量を測定した。非感作マウスの非特異的炎症を補正した後，右足重量から左足重量を差し引いて浮腫を評価した。イカチバントにより 24 時間後の後足浮腫が 5%増強したが，差は有意ではなかった

2.6.2.3 副次的薬理試験

イカチバント（HOE 140）の各種受容体結合及び酵素試験（JE049-0201 試験，評価資料）

オフターゲットとの相互作用を評価するため，受容体結合及び酵素活性アッセイのパネルを用いてイカチバント（10 μM; 13.04 mg/L）を評価した（JE049-0201 試験，［2.6.3 薬理試験概要表］，表 2.6.3.3）。受容体は，α_1，α_2，β_1，β_2，AT_1，AT_2，CGRP，CB_1，D_1，D_2，ETA，ETB，GABA，IL Iβ，TNF–α，M_1 から M_5，NK_1，オピエート，μ，ORL1，EP_1，P2X，P2Y，5 HT，VIP_1，及び VIP_2 について検討した。酵素は，ホスホリパーゼ A_2，COX_1，COX_2，ACE，ECE，カテプシン G，及び中性エンドペプチダーゼについて検討した。10%を超える結合阻害は，5 種の受容体のみでみられた：M_4（16%），オピエート（19%），EP_1（13%），VIP_1（56%），及び VIP_2（41%）。また，2 種の酵素で 10%を超える作用がみられた：COX_1（対照の 203%の活性，刺激と考えられる）及び ACE（100%の阻害）。これらの作用をより詳細に検討するため，0.1 nM から 1 μM の範囲の 5 段階の濃度を試験した。COX_1（1 μM で 19%の阻害）及び ACE（保存溶液では IC_{50} 値は 2.3 μM，新鮮な溶液では IC_{50} 値は 5.1 μM）に対してわずかな阻害が見られた。なお，臨床における 30 mg 単回投与後の曝露量は 1 μg/mL（約 0.7 nM）未満である。

***In vitro* 薬理：ハイスループットプロファイル―イカチバント，M2，及び M1 の試験（JE049-0218 試験，評価資料）**

オフターゲットとの相互作用を評価するため，受容体，イオンチャネル，及びトランスポーターのパネルを用いた結合試験により，イカチバント並びにその代謝物 M1 及び M2 を 10 μM（イカチバント：13.04 mg/L）の濃度で試験した（JE049-0218 試験，［2.6.3 薬理試験概要表］，表 2.6.3.3）。受容体は，A_1，A_{2A}，A_3，α1，α_2，β_1，β_2，AT_1，AT_2，BZD（中枢），BZD（末梢），

BB（非選択的），B2，CGRP，CB_1，CCK_A，CCK_B，D_1，D_{2S}，D_3，$D_{4.4}$，D_5，ET_A，ET_B，GABA（非選択的），GAL1，GAL2，PDGF，CXCR2，TNF–α，CCR1，H_1，H_2，MC_4，MT_1，M_1からM_5，NK_1，NK_2，NK_3，Y_1，Y_2，NT_1，δ_2，κ，μ，ORL1，PACAP，PCP，TXA_2/PGH_2，P2X，P2Y，$5–HT_{1A}$，$5–HT_{1B}$，$5–HT_{2A}$，$5–HT_{2C}$，$5–HT_3$，$5–HT_{5A}$，5–HT6，$5–HT_7$，σ（非選択的），sst（非選択的），V_{1a}及びVIP_2について検討した。イオンチャネルはCa^{2+}（L，ベラパミル部位），K^+_v，SK^+_{Ca}，Na^+（サイト 2），及びCl^-について検討した。トランスポーターは NE，DA，及び 5–HT について検討した。イカチバントは，B2 受容体結合を 98%阻害した。また，イカチバントによる 30%を超える結合阻害が他の 3 受容体でみられた：M_3（52%），NK_2（96%），及びV_{1a}（66%）。M2 では，30%を超える阻害は B2 受容体（62%）のみで観察され，M1 では，すべての標的について 30%を超える阻害はみられなかった。イカチバントのNK_2受容体に対する作用をさらに詳細に検討するため，0.3 nM から 10 μM の範囲の 8 段階の濃度を試験した。NK_2受容体アッセイにおけるイカチバントのIC_{50}値は 420 nM であった。なお，臨床における 30 mg 単回投与後の曝露量は 1 μg/mL（約 0.7 nM）未満である。

***In vitro* 薬理：LH–RH 受容体結合アッセイ–イカチバント，M2，及び M1 の試験（JE049-0217 試験，評価資料）**

イカチバント並びにその代謝物 M1 及び M2 と，黄体形成ホルモン放出ホルモン（LH–RH）受容体との相互作用の可能性を，1 μM 及び 10 μM 濃度での結合試験で検討した（JE049-0217 試験，［2.6.3 薬理試験概要表］，表 2.6.3.3）。LH–RH 受容体への結合に対する阻害は観察されなかった。

2.6.2.4　安全性薬理試験

マウス，ラット，及びイヌを用いた安全性薬理試験の標準バッテリーでイカチバントを評価した。試験は以下に要約し，一覧を表 2.6.2-2 に示す。

表 2.6.2-2 *In vivo* 安全性薬理の要約

試験の種類/ 試験番号/ (GLP 適用)	動物種	投与経路/投与量	特記すべき所見
中枢神経系			
行動観察 JE049-0001 (非 GLP)	マウス/NMRI (雄)	静脈内/ 0.01，0.1，1，10 mg/kg	NOEL=0.1 mg/kg
自発運動量 JE049-0001 (非 GLP)	マウス (雄)	静脈内/ 0.01，0.1，1 mg/kg	NOEL=1.0 mg/kg 検討した用量において自発運動量への影響はなかった。
ヘキソバルビターールによる睡眠時間の増強 JE049-0001 (非 GLP)	マウス/NMRI (雄)	静脈内/ 0，0.01，0.1，1 mg/kg	NOEL=1.0 mg/kg 検討した用量においてヘキソバルビタールによる睡眠時間の増強はなかった。
心血管系			
急性腎血管性高血圧 JE049-0001 (非 GLP)	ラット/Sprague–Dawley (雄) –麻酔下	静脈内インフュージョン/ 40 µg/0.05 mL/min	急性腎血管性高血圧の発現に対する顕著な影響はなかった。
血漿レニン活性 JE049-0001 (非 GLP)	ラット/Wistar (雄)	動脈内インフュージョン/ 0.83 nmol/min/kg	血漿レニン活性の上昇をもたらさなかった。
血圧及び心拍数 JE049-0001 (非 GLP)	イヌ/ビーグル	静脈内/ 0.01，0.1，0.6，1 mg/kg	0.01 又は 0.1 mg/kg で影響は認められなかった。0.6 及び 1 mg/kg では，2 頭のイヌで 5 から 10 分間血圧が著しく低下し，疼痛反応，不穏，散瞳及び流涎過多を伴っていた。1 mg/kg 群のイヌでは，血圧及び心拍数が 5 分間測定できなかった。
血行力学的及び心電図上の作用 JE049-0205 (非 GLP)	イヌ/雑種	静脈内/ 0.1，0.3，0.5 mg/kg	0.1 又は 0.3 mg/kg では有意な影響は観察されなかった。0.5 mg/kg では全身動脈圧がわずかに上昇し，心拍数が有意に増加した。変化は一過性であり，15 分以内に投与前値に戻った。0.5 mg/kg は，血管拡張も際立たせると考えられた。心室異所性活動誘発のエビデンスはいずれの投与量でもみられなかった。
心電図上の作用 (反復投与毒性試験の一部) JE049-0116 (GLP)	イヌ/雑種	静脈内/ 1，3.3 mg/kg 1 日 3 回，週 2 回 (投与間隔 6 時間)	心電図は Day 1，15，及び 25 (投与日) の注射 4 時間後まで，予め規定した間隔で測定した。心電図に影響は観察されなかった。
虚血による不整脈 JE049-0207 (非 GLP)	ラット/Sprague Dawley(雄)	静脈内ボーラス投与/ 40，400 µg/kg，4 mg/kg	心室期外収縮，心室細動，心室性頻脈の平均回数及び死亡率は用量依存的に低下した。プレコンディショニングの有益な効果を減弱させなかった。4 mg/kg は抗不整脈作用を示した。

試験の種類/ 試験番号/ (GLP 適用)	動物種	投与経路/投与量	特記すべき所見
心血管系 JE049-0206 (非 GLP)	イヌ/ジャーマンシェパード	冠動脈内インフュージョン /0.5 ng/kg/min x 1 時間	軽度から中程度の血行力学的変化。梗塞サイズには影響なし。対照群より高い死亡率がみられたが，おそらく BK 受容体の遮断が原因であり，HOE 140 の心血管系に対する好ましくない作用又は毒性作用が原因ではないと考えられる。
呼吸器系			
呼吸器系 JE049-0208 (GLP)	ラット/ Wistar (Han) (雄)	静脈内/ 0，1，3，10 mg/kg	1 及び 3 mg/kg では影響なし。10 mg/kg では，軽微かつ一過性のポーズの減少がみられ，わずかな気管支拡張が示唆された。
腎臓/泌尿器系			
腎機能 JE049-0213 (非 GLP)	イヌ/ビーグル	静脈内/ 0.03，0.3 mg/kg	0.3 mg/kg の静脈内投与では，糸球体ろ過率又は腎血漿流量に影響はなかったが，尿量及びナトリウム排泄が減少した。
胃腸管系			
消化管通過 JE049-0209 (GLP)	ラット/ Rj:Wistar (Han) (雄)	静脈内/ 0，1，3，10 mg/kg	検討した用量では消化管通過に影響なし。
胃酸分泌 JE049-0210 (非 GLP)	ラット/ Wistar (雄)	静脈内ボーラス投与(30 秒)/1，3，10 mg/kg	1 及び 3 mg/kg では影響はなかったが， 10 mg/kg の静脈内投与は胃液量及び酸度を低下させた。
ヒスタミン誘発胃酸分泌 JE049-0211 (非 GLP)	Sprague–Dawley (雄)	静脈内/ 0.3 mg/kg	0.3 mg/kg の静脈内投与で影響なし。
イカチバントのグルコース代謝に及ぼす作用			
血糖値 JE049-0001 (非 GLP)	ラット/ Wistar (雄)	静脈内/ 0.1，0.5，1 mg/kg	一部に有意な差が認められたが，初期値が既に有意に異なっていたため，最終的に意義はないと考えられた。検討した用量では，投与後 6 時間まで血糖値に影響なし。

GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準，NOEL = 無作用量

2.6.2.4.1 イカチバントが中枢神経系に及ぼす作用

イカチバントの行動学的作用をマウスで検討し，また，イカチバントが中枢神経系に及ぼす作用を解明するため，マウスを用いた一連の試験を実施した。以下に要約した試験は，反復投与毒性試験内での一般症状観察/評価によって裏付けられている（2.6.6.3 項参照）。

マウスの行動観察（JE049-0001 試験，参考資料）

行動観察を検討するため，1 群 6 匹の雄 NMRI マウスにイカチバントを 0.01，0.1，1，又は 10 mg/kg の投与量で静脈内投与した（JE049-0001 試験，［2.6.3 薬理試験概要表］，表 2.6.3.4）。Irwin スケールを用いて，投与後 15，30，60，120，及び 360 分，並びに 24 時間にイカチバントの作用を観察した。

10 mg/kg で死亡がなかったため，半数致死量（LD_{50}）は静脈内投与では 10 mg/kg を超えると判断された。イカチバントに関連する作用は，0.01 mg/kg 又は 0.1 mg/kg 静脈内投与では観察されなかった。1 mg/kg 静脈内投与では，運動量の低下（6 匹中 2 匹），体温の低下（6 匹中 4 匹），及び眼瞼下垂（6 匹中 6 匹）が観察された。10 mg/kg 静脈内投与 15 分後に全動物で運動量及び呼吸数が低下し，眼瞼下垂が観察された。投与 15 分後の体温は，1 mg/kg 投与群の 6 匹中 4 匹で低下し（–1.7°C），10 mg/kg 投与群の 6 匹中 5 匹で 2.2°C 低下した。

マウスの自発運動量（6 時間）（JE049-0001 試験，参考資料）

自発運動量（SMA）を検討するため，1 群 5 匹の雄マウスを各種試験群に無作為に割り付けた（JE049-0001 試験，［2.6.3 薬理試験概要表］，表 2.6.3.4）。SMA は電磁気センサーを用いて測定した。動物には，イカチバント 0.01 mg/kg，0.1 mg/kg，又は 1 mg/kg 又は対照として生理食塩水を静脈内投与した。投与 15 分後に動物を SMA チャンバーに入れ，6 時間スコアを記録した（最初の 1 時間までは 10 分間隔，1 時間後から 6 時間後までは 20 分間隔）。イカチバントは検討した用量で SMA に明らかな影響を及ぼさないと考えられた。

S 89 0140 がマウスのヘキソバルビタール睡眠増強に及ぼす作用（JE049-0001 試験，参考資料）

1 群 10 匹の雄 NMRI マウスに，イカチバントを 0（生理食塩水/Haemaccel），0.01 mg/kg，0.1 mg/kg，又は 1 mg/kg の投与量で静脈内投与した（JE049-0001 試験，［2.6.3 薬理試験概要表］，表 2.6.3.4）。イカチバントの投与 15 分後に，ヘキソバルビタール 55 mg/kg を尾静脈に投与した。直後にマウスを背臥位にし，正向反射消失の持続時間を記録した。各動物の睡眠時間を記録し，各群の計算値を対照群と比較した。イカチバントは，マウスのヘキソバルビタール睡眠時間を増強しなかった。

2.6.2.4.2 イカチバントの心血管作用

2.6.2.4.2.1 In vitro 試験

イカチバント並びに代謝物 M1 及び M2 が hERG を介したカリウム電流に及ぼす作用に関する電気生理学的試験（JE049-0203 試験，評価資料）

イカチバント，M1 及び M2 が hERG を介したカリウム電流に及ぼす作用に関する電気生理学的検討を行った（［2.6.3 薬理試験概要表］，表 2.6.3.4）。hERG カリウムチャネル遺伝子を安定的に形質導入した CHO 細胞を試験に用いた。CHO 細胞を用いた whole–cell パッチクランプ法により，カリウム電流の生理学的検討を行った。イカチバント及び代謝物 M2 は名目濃度 10 μM，100 μM 及び 300 μM で検討し，代謝物 M1 は名目濃度 10 μM，100 μM 及び 308 μM で検討した。ハロペリドールを陽性対照として用い，溶媒を陰性対照とした。

イカチバントは，hERG を介した外向き電流に明らかな影響を及ぼさなかった。バス溶液中の試験物質の実際の濃度を測定したところ，イカチバント，M1，及び M2 のそれぞれについて，最高濃度は 261.5 μM，133 μM，及び 353.1 μM であった。時間を一致させた陰性溶媒対照群では，溶媒対照条件下での電流の長時間の安定性が示された。時間を一致させた陽性対照群の実験により，分析感度と細胞の反応性が示された。本試験では IC_{50} 値は算出されなかった。

アフリカツメガエル卵母細胞に発現した心カリウムチャネルに対する HOE 140 の作用（JE049-0202 試験，参考資料）

イカチバントが QT 間隔に何らかの作用を及ぼすかどうかを検討するため，アフリカツメガエル卵母細胞に hERG ヒトイオンチャネル（I_{Kr}）をコードする cRNA を注入した（JE049-0202 試験，［2.6.3 薬理試験概要表］，表 2.6.3.4）。注入後 1 日後から 8 日後に，2 つの微小電極による膜電位固定法を用いて電流を記録した。イオン電流を電圧ステップにより脱分極電位まで活性化した。卵母細胞を常時灌流するために使用した生理緩衝液に，イカチバントを 10 μM，30 μM 及び 100 μM の濃度で添加した。電流は 5 分間のインキュベーション後に測定した。

その結果，hERG 導入アフリカツメガエル卵母細胞において，イカチバントは 100 μM までの濃度でイオン電流に明らかな阻害作用を示さなかった。

2.6.2.4.2.2 In vivo 試験

麻酔下ラットにおいて，BK 拮抗剤 S 89 0140 の静脈内投与が急性腎血管性高血圧の発現に及ぼす作用（JE049-0001 試験，評価資料）

イカチバントの静脈内投与が急性腎血管性高血圧の発現に影響を及ぼす可能性を検討するため，1 群 4 匹の雄 Sprague Dawley ラットをペントバルビタールナトリウム（70 mg/kg 腹腔内投与）で麻酔し，左腎茎を 4 時間クランプした（JE049-0001 試験，［2.6.3 薬理試験概要表］，表 2.6.3.4）。血圧トランスデューサーを用いて頸動脈で血圧を測定した。クランプを外した後，3 分から 6 分以内に顕著な血圧上昇を伴う急激な急性腎血管性高血圧が発現し，持続した。クランプを取り外す 5 分前に，イカチバントを 40 μg/0.05 mL/min の投与量で 30 分間ラットに静脈内投与した。対照群の動物には生理食塩水のみを投与した。麻酔下ラットにイカチバントを静脈内インフュージョン投与したとき，急性腎血管性高血圧の発現に明らかな影響は観察されなかった。

D-Arg-[Hyp^2, Thi^{5,8}, D-Phe^7]-BK と比較した，S 89 0140 がラットの血漿レニン活性に及ぼす作用（JE049-0001，評価資料）

イカチバントが血漿レニン活性に及ぼす影響を評価するため，1 群 5 匹の雄 Wistar ラット群を Trapanal® 5%（1 mL/kg 腹腔内投与）で麻酔した（JE049-0001 試験，［2.6.3 薬理試験概要表］，表 2.6.3.4）。頸動脈にカテーテルを挿入し，その後生理食塩水及びイカチバント

0.83 nmol/min/kg を動脈内投与した。血漿レニン活性（PRA）を測定するため，0 分後，30 分後及び 60 分後に後眼窩静脈叢から採血した。

イカチバントを投与したラットの 60 分時点での血漿レニン活性は 11.29±3.53 ng/mL/h であり，対照群の値（14.11±8.22 ng/mL/h）と同程度であった。したがって，イカチバントは対照群と比較して血漿レニン活性の上昇をもたらさなかった。

HOE 140 の静脈内投与が覚醒下イヌの血圧及び心拍数に及ぼす作用（JE049-0001 試験，評価資料）

イカチバントの静脈内投与が血圧及び心拍数に及ぼす作用を評価するため，覚醒下のビーグル犬（雄 4 頭及び雌 1 頭）に，イカチバント及び DAP（D-Arg-[Hyp^{2},Thi^{5,8},D-Phe^{7}]-BK）を 0.01 mg/kg から 1 mg/kg の漸増用量で静脈内投与した（JE049-0001 試験, ［2.6.3 薬理試験概要表］，表 2.6.3.4）。各イヌの尾に合わせた血圧モニターカフを用い，化合物の投与前及び投与 1，3，5，10，及び 15 分後に血圧を測定した。対照群の動物には生理食塩水のみを静脈内投与した。約 90 分間隔で漸増投与した。

15 分間の観察期間中，イカチバントは 0.01 mg/kg 又は 0.1 mg/kg の投与量で収縮期，拡張期，又は MAP，あるいは心拍数に影響を及ぼさなかった。0.6 mg/kg 又は 1 mg/kg の投与量では，イカチバントは覚醒下イヌの血圧を顕著に低下させた。0.6 mg/kg では，1 頭のイヌで血圧が 162/97 mmHg（Time 0）から，イカチバントの静脈内投与 1 分後に 73/39 mmHg まで低下した（MAP は 117 mmHg から 48 mmHg まで低下）。血圧は徐々に回復し，投与 30 分後には投与前のレベルに近づいていた。心拍数は Time 0 の 84 beat/min から，イカチバント投与 1 分後に 70 beat/min まで低下した。心拍数は徐々に低下し続け，静脈内投与 30 分後の心拍数は 58 beat/min であった。1 mg/kg の投与量では，Time 0 では血圧は 138/94 mmHg であったのに対し，投与 5 分後には 40/28 mmHg となり，MAP は同じ間隔で 108 mmHg から 33 mmHg に低下した。心拍数は 93 beat/min（Time 0）から投与 5 分後には 110 beat/min まで，投与 30 分後には 119 beat/min まで上昇した。疼痛反応，不穏，散瞳及び流涎過多が観察された。

覚醒下イヌの運動条件下における HOE 140 の血行力学的及び心電図上の作用（JE049-0205 試験，参考資料）

覚醒下イヌの運動条件下におけるイカチバントの血行力学的及び心電図上の作用を評価した。（JE049-0205 試験, ［2.6.3 薬理試験概要表］，表 2.6.3.4）。また，心調律の障害における作用の可能性を検討するため，虚血下での BK の保護作用に対する抑制作用もモニターした。

雌雄 6 頭の雑種イヌを，Woodway トレッドミル上で運動するよう 1 週間以上トレーニングした。その後，イヌをペントバルビタールナトリウムで麻酔し，左総頸動脈又は左心室（1 頭）にカテーテルを挿入した。1 週間以上かけて実験条件に再馴化した後，イヌをトレッドミル上で運動させ，イカチバントを 0.1 mg/k，0.3 mg/k，又は 0.5 mg/kg の投与量で静脈内投与した。各イヌ

には 3 回，ほとんどの場合連続した日に投与した。最初の運動期間前，薬剤投与前，及び最後（4 回目）の運動期間終了時に動脈採血を行った。心拍数及び心電図の間隔（PQ，QRS，QT）をモニターし，心筋酸素消費量（MVO_2）の大まかな指標として rate–pressure product とともに記録した。

イカチバント 0.1 mg/k 又は 0.3 mg/kg の投与後，運動により誘発される血圧及び心電図変化の正常なパターンに明らかな影響は観察されなかった。イカチバントはいずれの用量でも PQ 又は QRS 間隔を有意に変化させなかった。最高投与量（0.5 mg/kg）では，イカチバントは全身動脈血圧をわずかに上昇させ（MAP は対照群で 129 mmHg，イカチバント投与群で 136 mmHg），心拍数を有意に上昇させ（20%増），これにより MVO_2 が 23%増加した。これらの変化は一過性であった。イカチバント 0.5 mg/kg 投与により，運動後の血管拡張（わずかではあるが有意な拡張期動脈圧の低下）がわずかに増強されたが（運動終了後の平均血圧低下は，対照群のイヌでは 4.3 mmHg であったのに対し，イカチバントを投与したイヌでは 10.5 mmHg），この作用は有意ではなかった。

投与直後又は運動中のいずれにおいても，イカチバントが心室異所性活動を誘発するというエビデンスは認められなかった。しかし，2 頭のイヌの定例の剖検では，カテーテル誘発性の心内膜損傷がわずかな範囲で認められた。これらのイヌでは，運動後に心室性頻脈の期間を含む心室異所性活動が認められた。これは心内膜の損傷部位から引き起こされたものと推察されたため，内因性の心筋保護物質としての BK に関する知見（Schoelkens 1992）と併せてさらに検討した。

これら 2 頭のイヌにおいて，運動により誘発される異所性活動に，イカチバントの投与前後で明らかな差はなかった。また，これら 2 頭のイヌ，又はカテーテル誘発性の心内膜損傷のないイヌにおいて，イカチバントがいずれかの用量で心室異所性活動を誘導するという明らかなエビデンスはなかった。

結論として，運動は一貫した血圧及び心拍数の上昇をもたらし，運動中止直後には拡張期動脈圧がわずかではあるが有意に低下し，運動開始直前の値よりも低くなった（運動後血管拡張）。イカチバントがいずれかの用量で心室期外収縮を悪化させる又は誘発するという明白なエビデンスはなかった。

ビーグル犬を用いた 1 日 3 回，週 2 回投与（+ 8 週間の休薬期間）による 4 週間皮下投与毒性試験（JE049-0116 試験，評価資料）

ICH S7B ガイドラインに沿って，イヌでの *in vivo* 心電図モニタリングにより，hERG に対する潜在的影響を検討した試験を補完した。この評価は，成熟イヌを用いた 4 週間反復投与毒性試験（JE049-0116 試験，［2.6.7 毒性試験概要表］，表 2.6.7.7）に組み込まれた。イカチバントを 1 mg/kg 及び 3.3 mg/kg の投与量で，6 時間間隔で 1 日 3 回，週 2 回動物に投与した。Day 1，Day 15，及び Day 25（投与日）の 1 回目の投与の 45 分前から 20 時間後までテレメトリーにより

心電図をモニターし，心電図の解析は，各投与 4 時間後までの規定された間隔で実施した。その結果，心電図への影響は観察されなかった。

傷害/疾患の動物モデルにおける安全性試験

BK は心血管系において強力な血管拡張物質として作用し，虚血組織においては心保護作用を有するメディエーターとしても作用する（JE049-5101）。非臨床試験により，BK は多くの心保護作用の重要なメディエーターであり，ACE 阻害剤及び AT1 受容体拮抗剤の降圧作用及び心保護作用に関与していることが示されている（Perez 2001）。したがって，イカチバントのような BK 拮抗剤は，期待される BK の心保護作用を減弱又は妨害する可能性が考えられる。虚血条件下でのイカチバントの作用を明らかにするため，摘出ラット心臓（JE049-0001 試験），ラット冠動脈閉塞モデル（JE049-0207 試験），及びイヌ心筋梗塞モデル（JE049-0206 試験）を用いてイカチバントを評価した。

2.6.2.4.2.3 Ex Vivo 試験

ラットの摘出拍動心臓において，HOE 140 が虚血後再灌流不整脈に及ぼす作用（JE049 0001 試験，評価資料）

本試験では，ラットの摘出拍動心臓を用い，BK の灌流がある場合とない場合とで，異なる濃度のイカチバントが虚血後再灌流不整脈を示す心臓の心力学及び心代謝に及ぼす作用を検討した（JE049-0001 試験，［2.6.3 薬理試験概要表］，表 2.6.3.4）。

雌雄 Wistar ラットから拍動心臓を摘出し，0.1 nM から 10 nM のイカチバント，0.1 nM 又は 1 nM の BK あり又はなしの条件で灌流した。対照群はクレブス–ヘンゼライト緩衝液のみで灌流した。各群 10 個の心臓を用い，3 つの別々の期間（対照灌流期間［虚血前期間］，虚血期間［急性局所性心筋梗塞の誘導後］，及び再灌流期間）を解析した。

対照灌流期間では，0.1 nM 濃度のイカチバントは作用を及ぼさなかった。1.0 nM の濃度では，心拍数に影響はなかったが，イカチバントは左室圧（LVP；mmHg）を対照群の 60±3 から 41±4 に低下させた。LV dP/dt_{max}（mmHg/sec）及び冠血流量（CF；mL/g/min）に対照群に比較して統計学的に有意な低下が認められ，LV dP/dt_{max} は 2163±137 から 1242±88 に，CF は 10.1±0.3 から 7.9±0.5 に低下した。クレアチンキナーゼ及び乳酸脱水素酵素の酵素活性は，対照群と比較して統計学的に有意に上昇した。10 nM では，イカチバントにより LV dP/dt_{max} 及び CF は増加し，静脈流出液における酵素活性は有意に低下した。

虚血期間は，1.0 nM のイカチバント存在下で，左冠動脈閉塞により LVP 及び LV dP/dt_{max} は対照群と比較して有意に低下し（LVP は 39±3 から 28±2 mmHg），LV dP/dt_{max} は 1149±81 から 864±75 mmHg/sec），また，CF も低下した（7.9±0.6 mL/g/min から 6.4±0.2 mL/g/min）。心拍数に変化はなかった。酵素活性の有意な上昇が観察された。虚血により生じた変化は，イカチバント 0.1 nM では変化せず，イカチバント 1 nM では悪化したが，イカチバント 10 nM では改善した。

再灌流期間は，対照群の心臓は心室細動（VF）を示し，30 分の再灌流期間のうち 17.2±3.0 分間にわたって持続した。VF はすべての心臓で観察された。1 nM 濃度のイカチバントで灌流することにより VF は有意に延長し，27.6 ± 3.2 分（$p < 0.05$）となった。イカチバント 0.1 nM が VF をわずかに延長させた（20.6±3.1 分）のに対し，イカチバント 10 nM は虚血後再潅流性不整脈に対する心保護作用を示し，VF 時間は 7.4±2.4 分となった（$p < 0.05$）。冠動脈閉塞の解放後，対照群の心臓では CF は直ちに増加した。イカチバント 1 nM の灌流により CF の増加は有意に低下した。0.1 nM では差はみられなかったが，10 nM は再灌流後の CF を有意に増加させた。その他の心力学的パラメータも心拍数を除いて同様に変化したが，心拍数は明らかな影響を受けなかった。酵素活性は対照群又は虚血期間のレベルと同程度であった。

心筋組織の内容物を分析した。グリコーゲン，アデノシン三リン酸，及びクレアチニンリン酸は，1 nM 濃度のイカチバントで灌流した心臓では減少したが，10 nM では増加した。

イカチバントと BK を組み合わせた潅流の影響を検討した。BK（0.1 nM）は CF に作用を及ぼさなかったが，細胞膜を安定化し，心筋代謝を改善し，虚血後再潅流性不整脈を減少させた。イカチバントは，虚血後再潅流性不整脈の持続時間を濃度依存的に悪化させた。BK（1 nM）は CF を増加させ，その他のパラメータにも同様の作用を及ぼした。イカチバントは虚血後再潅流性不整脈の持続時間を濃度依存的に悪化させた。BK はイカチバントの拮抗作用を濃度依存的に元に戻した。

プレコンディショニングあり又はなしの麻酔下ラットにおいて，HOE 140 が虚血誘発性不整脈に及ぼす作用（JE049-0207 試験，参考資料）

麻酔下ラットを用い，プレコンディショニングあり又はなしの条件で，持続的な冠動脈閉塞期間中に選択的 BK 拮抗剤のイカチバントを用いることにより，内因性 BK の潜在的な抗不整脈作用を検討した（JE049-0207 試験, ［2.6.3 薬理試験概要表］，表 2.6.3.4）。イカチバントが虚血に誘発される不整脈に及ぼす作用を評価するために，雄 Sprague Dawley ラットをペントバルビタールナトリウムで麻酔した。

左大腿動脈及び静脈を摘出し，ポリエチレンカテーテルを挿入した。静脈カテーテルは，イカチバント又は生理食塩水，及び必要に応じて追加の麻酔薬を投与するために用いた。動脈カテーテルは，校正済みの Statham 圧トランスデューサーで血圧を測定するために用いた。冠動脈をクランプし，クランプを外すことで再潅流を起こさせた。ラットを安定化した後，プレコンディショニング又は 30 分間の冠動脈閉塞のみのいずれかに割り当てた。プレコンディショニングは，30 分間の閉塞前に，3 分間の閉塞に続いて 10 分間再潅流することで実施した。イカチバントは，実験手順の 10 分前に，静脈内ボーラス投与により 40 μg/kg，400 μg/kg，又は 4 mg/kg を投与し，対照群には生理食塩水を静脈内投与した。実験期間を通して，心室性不整脈（心室性頻脈及び VF を含む），動脈圧，及び心拍数をモニターした。

対照群のラットでは，30 分間の冠動脈閉塞により重度の不整脈が発現し，心室期外収縮の平均回数は 1257±270，また，高頻度で VF（74%）及び死亡（58%）がみられた。対照的に，各用量のイカチバントを投与したラットは，用量依存的な不整脈の重症度の低下を示した。40 μg/kg の投与量では，イカチバントは全不整脈パラメータを低下させたが，有意ではなかった。イカチバントの用量を 400 μg/kg まで増加することにより，心室期外収縮の合計回数が減少し（843±269），VF の発現頻度が低下した（33%）。この群の動物は死亡せず，死亡率は対照群のラットと有意に異なっていた（$p < 0.05$）。

3 分間の冠動脈閉塞に続く 10 分間の再潅流（プレコンディショニング）により，冠動脈をさらに 30 分間閉塞した時に起こった不整脈の重症度は，プレコンディショニングを受けなかったラットと比較して顕著に低下した。心室期外収縮の合計回数は，プレコンディショニング対照群では 76±36 回であり，30 分間冠動脈閉塞のみの群の 1257±270 回よりも有意に少なかった（$p < 0.001$）。心室頻脈及び VF の発現頻度は，それぞれ 100%から 50%及び 74%から 14%に有意に低下した（いずれも $p < 0.05$）。また，死亡率は 50%から 7%へと改善した（$p < 0.05$）。

イカチバントの投与により，観察したすべての不整脈パラメータは用量依存的にさらに低下したが，そのほとんどは有意でなかった。40 μg/kg の投与量では，心室期外収縮の合計回数並びに VF 及び死亡の発現頻度がわずかに低下した。同様に，400 μg/kg の投与量では，イカチバントはすべての不整脈パラメータをさらに少し低下させた。イカチバントの用量を 4 mg/kg まで増加させると，プレコンディショニングを行った生理食塩水対照群と比較して，イカチバントは心室期外収縮の合計回数を有意に低下させた（$p < 0.05$）。

3 分間のプレコンディショニング期間に続いて冠動脈閉塞を開放した後，50%のラットが心室性不整脈（単発，二段脈，3 連発以上，及び心室性頻脈）を示した。それらのラットのうち 7%が VF を発現した。心室期外収縮の平均回数は 112±47 回であった。イカチバントは虚血後再潅流不整脈に対して有意な作用を及ぼさなかった。プレコンディショニングは閉塞に誘発される不整脈の重症度を著しく軽減させたが，これは BK の遊離によるものである可能性がある。しかし，イカチバントはプレコンディショニングの有益な効果を減弱させなかった。実際には，イカチバントは極めて高用量（4 mg/kg）で，再潅流期間及び持続的閉塞期間のいずれにおいても，さらなる抗不整脈作用を示した。

結論として，内因性 BK は，麻酔下ラットにおけるプレコンディショニングの抗不整脈作用に関与していないと考えられる。イカチバントは，本実験モデルでみられた虚血プレコンディショニングの有益な効果を減弱させなかった。

麻酔下イヌの心筋梗塞モデルにおける BK 拮抗剤 HOE 140 の作用（JE049-0206 試験，参考資料）

心筋梗塞モデルにおけるイカチバントの作用を検討した（JE049-0206 試験，［2.6.3 薬理試験概要表］，表 2.6.3.4）。ジャーマンシェパードで再潅流なしに左冠動脈前下行枝を 6 時間閉塞することにより心筋梗塞を誘発した。生理食塩水又はイカチバント 0.5 ng/kg/min の冠動脈内インフ

ュージョン投与を，閉塞 30 分前から閉塞 30 分後まで行った。計 31 頭のイヌを用い，14 頭の「虚血」イヌに生理食塩水を投与し，12 頭の「虚血」イヌ及び 5 頭の「非虚血」イヌにイカチバントを投与した。血圧，心拍数，LVP，及び CF を含む様々なパラメータを測定した。

「虚血」イヌ及び「非虚血」イヌの両方で，イカチバントは軽度から中等度の血行力学的変化を誘発した。対照群の虚血イヌでは，冠動脈閉塞により，左心室拡張末期圧（LVEDP），収縮期/拡張期肺動脈圧（PAP s/d），全末梢血管抵抗（TPR），及び CF が増加した一方，心拍出量（CO），一回拍出量（SV），また閉塞後期には左室重量（LVW）及び MVO_2 が低下した。対照群のイヌで閉塞により誘発された血行力学的変化の一部は，イカチバントを投与した虚血イヌでもみられ，LVEDP，PAP s/d，TPR，及び CF が増加した。対照群と比較して，イカチバントを投与した虚血イヌでは，閉塞により誘発される SV 及び CO の低下が遅延し，収縮期/拡張期血圧，LVW，及び MVO_2 の増加が認められた。非虚血イヌでは，イカチバントの投与によりわずかであるが持続的な収縮期/拡張期血圧の上昇（約 10 mmHg）がみられ，同様に，他のパラメータ（PAP s/d，CO，SV，CR，LVW，及び MVO_2）も，イカチバントを投与した非虚血イヌにおいてわずかに増加した。

生理食塩水を投与した対照群と比較して，イカチバントの投与は梗塞サイズに影響を及ぼさなかった。対照群のイヌの死亡率は 28%（14 頭中 4 頭死亡）であったが，イカチバントを投与したイヌでは 58%（12 頭中 7 頭）であった。しかし，イカチバントを投与した冠動脈閉塞なしの群では死亡した動物はなかった。死亡した対照群の「虚血」イヌは，すべて冠動脈閉塞後 20 分以内に死亡した。イカチバントを投与した虚血イヌでは，12 頭中 3 頭が冠動脈虚血後 20 分以内に死亡し，さらに 4 頭が閉塞後 210 分から 320 分の間に死亡した。閉塞後早期の死亡は VF が原因であったのに対し，閉塞後後期の死亡は急性左室不全が原因である可能性が高いと考えられた（全身血圧の低下及び LVEDP の顕著な増加とそれに続く VF により反映される）。

摘出ラット心臓では，イカチバント（0.1 nM 及び 1 nM）は虚血後再潅流性不整脈を増加させ，BK の心保護作用を減弱させた（JE049-0001 試験）。また，イカチバントの冠動脈内インフュージョン投与は，麻酔下イヌにおいて冠動脈閉塞後の死亡を増加させた（JE049-0206 試験）。これらの試験結果は，イカチバントが心血管疾患を有する患者に潜在的なリスクをもたらす可能性があるということを示唆している。その一方，BK の作用や BK 受容体の分布には，明らかな種差が存在する可能性が高い。このことが，動物で観察された結果をヒトに外挿することを困難にしている。

2.6.2.4.3 イカチバントが呼吸器系に及ぼす作用

覚醒下ラットに静脈内投与したときの呼吸機能に関するイカチバント酢酸塩の安全性薬理試験（全身プレチスモグラフィー）（JE049-0208 試験，評価資料）

イカチバントを覚醒下ラットに静脈内投与したときの呼吸機能への影響を検討した（JE049-0208 試験, ［2.6.3 薬理試験概要表］，表 2.6.3.4）。1 群 8 匹の雄 Wistar（Han）ラットに，イカ

チバント 0（生理食塩水），1 mg/kg，3 mg/kg 又は 10 mg/kg を静脈内ボーラス投与，又はテオフィリン（参照物質）16 mg/kg を静脈内投与した。全身プレチスモグラフィーを用いて，吸気時間及び呼気時間，最大吸気流量及び最大呼気流量，1 回換気量，呼吸数，弛緩時間，ポーズ及びエンハンスドポーズを含む呼吸パラメータを測定した。記録は試験物質の投与 30 分前及び 2 時間後に行った。

対照群の動物では，取扱いや実験操作によるストレスが原因と考えられる変化が観察された。イカチバント 1 mg/kg 及び 3 mg/kg は 2 時間の試験期間に測定した 9 つの呼吸パラメータ（吸気，呼気，及び弛緩時間，最大吸気流量及び最大呼気流量，1 回換気量，呼吸数，ポーズ，及びエンハンスドポーズ）のいずれにも有意な作用を及ぼさなかった。イカチバント 10 mg/kg 投与では，唯一の有意な作用として，ポーズ（ポーズは［(Te–Tr)/Tr］で定義され，Te は呼気時間［ms］，Tr は弛緩時間［ms］を表す）の一過性のわずかな減少が観察されたが，投与 45 分後の測定時点のみで統計学的に有意であった（最大 23%の減少，溶媒対照群では 3%の減少，$p < 0.05$）。

これらの結果から，イカチバントは 1 mg/kg 及び 3 mg/kg では気道機能に作用を及ぼさないことが示されたが，10 mg/kg の静脈内投与ではわずかな気管支拡張を示唆する軽微な作用が観察された。対照的に，テオフィリンは顕著な呼吸刺激作用及び気管支拡張作用を示した。

なお，麻酔下モルモットを用いた BK により誘発される気管支収縮の阻害を評価するための試験（JE049-0001 試験）において，呼吸機能の追加評価が実施されている（2.6.2.2.3 項）。

2.6.2.4.4 イカチバントが腎臓/泌尿器系に及ぼす作用

ビーグル犬において，HOE 140 がナトリウム及びカリウムの尿中排泄並びに腎クリアランスに及ぼす作用（JE049-0213 試験，参考資料）

本試験の目的は，覚醒下ビーグル犬において，イカチバントが尿，ナトリウム，及びカリウムの排泄，並びに糸球体濾過率（GFR），腎血漿流量（C_{PAH}）及び浸透圧クリアランスに及ぼす作用を評価することであった（JE049-0213 試験，［2.6.3 薬理試験概要表］，表 2.6.3.4）。

10 頭の覚醒下ビーグル犬に 0.9%塩化ナトリウム液を 1 時間かけて頸静脈に持続注入し，利尿を促した。尿検体を採取した。イカチバントは 0.03 mg/kg 及び 0.3 mg/kg の用量で静脈内投与した。血液検体を採取し，尿を 10 分ごとに 60 分後まで採取した。イヌリンを投与して GFR を測定した。パラアミノ馬尿酸ソーダのインフュージョン投与後に C_{PAH} を測定した。

イカチバント 0.03 mg/kg の投与は，尿排泄，ナトリウム，カリウム，GFR，C_{PAH}，又は浸透圧クリアランスに影響を及ぼさず，対照群の動物の範囲と類似した値を示した。0.3 mg/kg の投与量では，投与 10 分後の時点で，イカチバントは尿排泄を約 57%，及びナトリウム排泄を 61%低下させたが，いずれの作用とも時間とともに徐々に回復し，また，GFR 又は C_{PAH} への影響はなかった。

2.6.2.4.5　イカチバントが胃腸管系に及ぼす作用

イカチバント酢酸塩をラットに静脈内投与したときの胃腸通過に及ぼす作用の評価（JE049-0209 試験，評価資料）

1 群 8 匹の雄 Rj:Wistar（Han）ラットに，生理食塩水溶媒，アトロピン硫酸塩（参照物質）1 mg/kg，又はイカチバント 1 mg/kg，3 mg/kg，又は 10 mg/kg を 30 秒間のボーラス投与により尾静脈に投与した（JE049-0209 試験，［2.6.3 薬理試験概要表］，表 2.6.3.4）。投与 10 分後，ラットに活性炭の懸濁液（2 mL/rat）を経口投与し，投与 20 分後に安楽死させた。噴門から盲腸までの小腸を摘出し，活性炭が移動した距離を測定した。

その結果，イカチバントは検討した用量において，活性炭で覆われた部分の距離に溶媒対照群と比較して統計学的に有意な作用を及ぼさなかったのに対し，アトロピン硫酸塩は対照群と比較して活性炭で覆われた部分の距離を有意に減少させた。したがって，イカチバントは，対照と比較してラットの胃腸管輸送に作用を及ぼさなかった。

イカチバント酢酸塩をラットに静脈内投与したときの胃酸分泌に及ぼす作用の評価 （JE049-0210 試験，評価資料）

本試験では，イカチバント静脈内投与がラットの胃酸の量及び組成に及ぼす影響を評価した。1 群 8 匹の雄 Rj:Wistar（Han）ラットに，生理食塩水溶媒，アトロピン硫酸塩（参照物質）2 mg/kg，又はイカチバント 1 mg/kg，3 mg/kg，又は 10 mg/kg を 30 秒間のボーラス投与により静脈内投与した（JE049-0210 試験，［2.6.3 薬理試験概要表］，表 2.6.3.4）。10 分後，動物をイソフルランで麻酔し，開腹して幽門を結紮した。腹腔内に生理食塩水を投与することにより動物に水分を補給した。腹部を縫合し，4 時間後に動物を屠殺し，胃を摘出して総胃液量を測定した。

イカチバント 1 mg/kg 及び 3 mg/kg の静脈内投与は，胃液量又は pH，遊離塩酸酸度及び総酸度に溶媒対象群と比較して統計学的に有意な作用を及ぼさなかった。イカチバント 10 mg/kg は，胃液量（$p < 0.05$），遊離塩酸酸度（$p < 0.01$），及び総酸度（$p < 0.05$）を有意に低下させた。また，胃液 pH もわずかに上昇したが，作用は統計学的に有意ではなかった。アトロピン硫酸塩（2 mg/kg 静脈内投与）は，胃液量（$p < 0.001$），遊離塩酸酸度（$p < 0.001$），総酸度（$p < 0.01$）を有意に低下させ，また，胃液 pH（$p < 0.001$）を有意に上昇させた。これらの結果から，イカチバント 1 mg/kg 及び 3 mg/kg 静脈内投与は本試験で胃液分泌に作用を及ぼさないが，10 mg/kg 静脈内投与は胃液量及び酸度を低下させることが示された。

胃内腔灌流ラットにおいて，HOE 140 がヒスタミン刺激による胃酸分泌に及ぼす阻害作用（JE049-0211 試験，参考資料）

胃酸分泌を 4 匹の雄 Sprague–Dawley ラットで測定した。動物は 18 時間にわたって絶食させ，水のみ自由飲水とした（JE049-0211 試験，［2.6.3 薬理試験概要表］，表 2.6.3.4）。動物をウレ

タンで麻酔し，食道及び幽門を結紮し，ダブルルーメン灌流カテーテルを挿入した。胃を継続的に生理食塩水で灌流し，15 分間隔で灌流液を回収して pH 及び酸分泌量を測定した。ヒスタミン（10 mg/kg/hour）を 45 分間のベースライン期間後に投与した。ヒスタミンの投与 90 分後に，イカチバントを 0.3 mg/kg の投与量で静脈内投与した。この用量で，イカチバントは胃内腔灌流ラットのヒスタミン刺激による胃酸分泌に阻害作用を示さなかった。

2.6.2.4.6 イカチバントがグルコース代謝に及ぼす作用

S 89 0140 を正常ラットに静脈内投与したときの血糖値 （JE049-0001 試験，参考資料）

イカチバントが血糖値に及ぼす作用を評価するため，1 群 7 匹の雄 Wistar ラットに，イカチバント 0.1 mg/kg，0.5 mg/kg 又は 1 mg/kg を静脈内投与した（JE049-0001 試験，［2.6.3 薬理試験概要表］，表 2.6.3.4）。追加の 7 匹の動物には溶媒を投与した。投与直前，及び投与 20，40 分，及び 1，2，4，6 時間後に尾端から採血し，血糖値を測定した。

対照群の動物とイカチバント 0.1 mg/kg を投与した動物との間に差は認められなかった。イカチバント 0.5 mg/kg を投与した動物では投与 1 時間後，1 mg/kg を投与した動物では 0，20，40 及び 60 分後に統計学的に有意な血糖値の低下が観察された。しかし，0.5 mg/kg 及び 1 mg/kg 投与群の初期値は対照群よりも低かったため，これらの値は生物学的に意味のあるものではないと考えられた。したがって，イカチバント静脈内投与は，1 mg/kg までの用量で，投与後 6 時間まで血糖値に影響を及ぼさないと考えられた。

2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用

薬力学的薬物相互作用を評価する試験は実施していない。

2.6.2.6 考察及び結論

HAE でもっとも頻度が多い 2 つの表現型変異（HAE I 型及び II 型）の病因には，機能性 C1–INH の欠損が関連している。C1–INH の主な機能には，補体 C1 の自己活性化の抑制，凝固因子 XIIa，XIIf，XIa の不活性化，活性化カリクレインの直接阻害が含まれる。生理的条件下では，血漿中カリクレインの約 40%が C1–INH により不活性化されている。さらに，プレカリクレインを活性化カリクレインに変換する XIIa 因子（活性化ハーゲマン因子）も C1–INH により不活性化される。BK は他の血管作動性物質と共に，血管透過性の亢進，血管拡張，及び非血管性平滑筋の収縮を直接引き起こすことにより，大部分の血管性浮腫の臨床症状に寄与していると考えられている（Han 2002）。

イカチバントは BK と類似した構造を有する合成デカペプチドであるが，1，4，6，8 及び 9 番目の部位に 5 つの非タンパク質原性アミノ酸，D-Arg, L-Hyp [L-(4R) 4 hydroxyproline]，L-Thi [L-3-(2-thienyl) alanine], D-Tic [D-(1,2,3,4-tetrahydro 3 isoquinolyl) carbonic acid]，及び L-Oic [L-(3aS,

7aS)-(hexahydro-2-indolinyl) carbonic acid] を含んでいる（2.6.1.1 項参照）。結果として，BK の非常に短い半減期の原因である 2 つの主な酵素，ACE 及び中性エンドペプチダーゼによる分解を受けないため，イカチバントは BK よりも代謝的に安定しており，半減期はかなり長い。

イカチバントは強力かつ特異的な B2 受容体拮抗剤であり，B2 受容体に対して BK と同程度の親和性を有する。イカチバント及びその代謝物は，B1 受容体と相互作用せず，IC_{50} 値が 420 nM であった NK2 受容体を除き，これまでに試験したその他のペプチドの受容体（例として，アンジオテンシン II，サブスタンス P，ニューロキニン A，Des-Arg^9-BK，ノルアドレナリン，アセチルコリン）とも相互作用しない。イカチバントは競合的 BK 受容体拮抗剤として作用し，細胞，摘出組織及び臓器，並びに *in vivo* において BK 誘発反応を阻害する。特に，イカチバントは，BK により誘発される非血管性平滑筋の収縮及び血圧低下を阻害し，炎症性刺激に対する浮腫反応を低下させる。これにより，HAE の臨床症状のいくつかを模倣した動物モデルにおいてイカチバントが有効であることが示されている。さらに，イカチバントは C1–INH 欠損マウスにおいて血管透過性を有意に低下させることが報告されている。イカチバントは鎮痛作用のモデルでは作用を示さなかったが，モルモットで BK の皮内注射前にイカチバントを投与することにより，疼痛反応に典型的な行動反応は有意に阻害された。これらの結果は，イカチバントが BK により誘発される作用を特異的に阻害し，他のメディエーターが関与している可能性があるモデルでは作用を及ぼさないことを示している。また，これらの結果は，イカチバントがアゴニストとしては作用せず，観察されたいずれの作用も増強しないことを示している。

イカチバント並びに代謝物 M1 及び M2 の安全性薬理を評価した。イカチバントはマウスにおいて行動学的作用又は中枢作用を示さなかった。

イカチバント，M1，及び M2 は，308 μM の濃度まで，hERG を介した電流に有意な作用を及ぼさなかった。*In vivo* のイヌモデルにおいて，イカチバントは心臓伝導又は血行力学に影響を及ぼさなかった。さらに，イヌの 4 週間反復投与毒性試験において，心電図への作用は観察されなかった。イカチバントはラットの急性腎血管性高血圧の発現又は血漿レニン活性にほとんどあるいはまったく作用を及ぼさなかった。覚醒下イヌでは，イカチバント（≤ 0.1 mg/kg）は血圧又は心拍数に作用を及ぼさなかった。しかし，より高用量のイカチバントは，血圧を顕著に低下させ，疼痛反応，不穏，散瞳及び流涎過多を伴っていた。

摘出ラット心臓において，イカチバント（0.1 nmol/L 及び 1 nmol/L）は虚血後再灌流不整脈の持続時間を増加させた。高用量（10 nmol/L）は心保護作用を示し，VF の頻度及び持続期間を低下させた。イカチバントを麻酔下ラットに静脈内投与したとき，MAP は一過性に低下した。皮下又は経鼻投与後に作用は観察されなかった。さらに，麻酔下ラットにおいて，イカチバントは虚血プレコンディショニングの有益な作用を減弱させなかった。イヌの心筋梗塞モデルでは，イカチバントは冠動脈閉塞後の死亡率を増加させた。

非臨床試験から，BK は多くの心保護作用の重要なメディエーターであることが示されている。したがって，イカチバントのような BK 拮抗剤は，BK の期待される心保護作用を減弱又は妨害する可能性がある。しかし，BK の作用及び BK 受容体の分布にはおそらく種差があり，このこ

とが非臨床の結果を臨床に外挿することを困難にしている（Expert Opinion Report on the Cardiovascular Safety of Icatibant, 2006- JE049-5101）点は留意する必要がある。

イカチバント（≤ 3 mg/kg）は覚醒下ラットの呼吸機能に作用を及ぼさなかった。しかし，10 mg/kg の投与量は，軽微かつ一過性の気管支拡張作用を示した。

イカチバントはラットの胃腸管輸送に影響を及ぼさなかった。10 mg/kg では，胃液量及び酸度の有意な低下がみられた。0.3 mg/kg では，イカチバントはラットのヒスタミン刺激による胃酸分泌に影響を及ぼさなかった。イカチバントはラットの血糖値に影響を及ぼさなかった。イカチバント（1 mg/kg 皮下投与）は，ラットのナトリウム及びクロール排泄に有意ではない影響を及ぼした。ビーグル犬では，イカチバント（0.03 mg/kg 静脈内投与）は尿排泄，カリウム又はナトリウム濃度，GFR，あるいは腎クリアランスに影響を及ぼさなかった。しかし，0.3 mg/kg の投与量では，尿量及びナトリウム排泄が減少した。

まとめると，これらの安全性薬理試験のデータは，イカチバントのヒトへの投与に関して何らかの懸念を示すものではないと考えられる。

2.6.2.7 図表

その他の図表はない。

2.6.2.8 参考文献

[1] Félétou M, Germain M, Thurieau C, Fauchère JL, Canet E (1994). Agonistic and antagonistic properties of the bradykinin B2 receptor antagonist, Hoe 140, in isolated blood vessels from different species. Br J Pharmacol; 112(2): 683-9.

[2] Han ED, MacFarlane RC, Mulligan AN, Scafidi J, Davis (2002). Increased vascular permeability in C1 inhibitor-deficient mice mediated by the bradykinin type 2 receptor. J Clin Invest; 109:1057-63.

[3] Han Lee ED, Pappalardo E, Scafidi J, Davis AE 3rd (2003). Approaches toward reversal of increased vascular permeability in C1 inhibitor deficient mice. Immunol Lett; 89(2-3):155-60.

[4] Perez M, Molinaro G, Adam A (2001). Bradykinin, an Important Mediator of the Cardiovascular Effects of Metallopeptidase Inhibitors: Experimental and Clinical Evidences. J Clin Basic Cardiol; 4:39-46.

[5] Regoli D, Barabe J (1980). Pharmacology of bradykinin and related kinins. Pharmacol Rev; 32:1 46.

[6] Schoelkens BA, Linz W (1992). Bradykinin-mediated metabolic effects in isolated perfused rat hearts. Agents Actions Suppl; 38 (Pt 2):36-42.

フィラジル皮下注 30 mg シリンジ

2.6.3　薬理試験概要表

シャイアー・ジャパン株式会社

目次

目次　……2
2.6.3.1　薬理試験：一覧表……3
2.6.3.2　効力を裏付ける試験……12
2.6.3.3　副次的薬理試験……16
2.6.3.4　安全性薬理……18
2.6.3.5　薬力学的薬物相互作用試験……27

2.6.3.1　　薬理試験：一覧表

被験物質：**Icatibant**

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	GLP 適用	記載箇所
効力を裏付ける試験—主要データ						
ヒト B1 及び B2 受容体—イカチバントの試験	CHO 細胞	*In vitro*	[redacted] France	JE049-0003	非 GLP	4.2.1.1-1
In Vitro 薬理試験：ブラジキニン受容体 -M1，M2 及びイカチバントの試験	CHO 細胞	*In vitro*	[redacted] France	JE049-0004	非 GLP	4.2.1.1-2
モルモット気道上皮細胞及びヒト滑膜細胞において，イカチバントがブラジキニン受容体及びブラジキニン誘発反応に及ぼす作用	モルモット気道上皮細胞及びヒト滑膜細胞	*In vitro*	[redacted] USA	JE049-0002	非 GLP	4.2.1.1-3
プロジェクト概要：MAPK 活性化及びカルシウム動員におけるイカチバントの種特異性の解析	遺伝子組換え細胞株	*In vitro*	Jerini AG, Berlin	JE049-0013	非 GLP	4.2.1.1-4
新規ブラジキニン類似体はモルモット回腸で二重拮抗薬として作用する。	モルモット回腸	*In vitro*	[redacted] Austria	JE049-0005	非 GLP	4.2.1.1-5
麻酔下ラットにおいて，イカチバントは競合的ブラジキニン拮抗薬として作用する。	ラット/Sprague-Dawley（雄）	動脈内投与	Hoechst Aktiengesellschaft PGU Heart Circulation P.O.B 80 03 30 FR Germany	JE049-0006	非 GLP	4.2.1.1-6
十二指腸内投与後のイカチバントの作用	ラット/Sprague-Dawley（雄）	十二指腸内投与	Hoechst Aktiengesellschaft PGU Heart Circulation P.O.B 80 03 30 FR Germany	JE049-0007	非 GLP	4.2.1.1-7

2.6.3.1 薬理試験：一覧表

被験物質：**Icatibant**

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	GLP 適用	記載箇所
経鼻投与後のイカチバントの作用	ラット/Sprague-Dawley（雄）	経鼻投与	Hoechst Aktiengesellschaft PGU Heart Circulation P.O.B 80 03 30 FR Germany	JE049-0008	非 GLP	4.2.1.1-8
麻酔下モルモットにおいて，イカチバントがブラジキニン誘発気管支収縮に及ぼす作用：エアロゾルと静脈内投与の比較	モルモット	静脈内投与及び吸入投与	Hoechst Aktiengesellschaft PGU Heart Circulation P.O.B 80 03 30 FR Germany	JE049-0009	非 GLP	4.2.1.1-9
イカチバントによるブラジキニン皮内投与に対する侵害刺激反応の阻害	モルモット（雌）	皮内投与	Hoechst Aktiengesellschaft SBU Metabolism P.O.B 80 03 20 D-6230 Frankfurt (Main) 80 FR Germany	JE049-0010	非 GLP	4.2.1.1-10
効力を裏付ける試験—補足データ						
^{3}H-ブラジキニン及びモルモット回腸膜を用いたイカチバントの受容体結合試験	モルモット回腸	*In vitro*	Hoechst Aktiengesellschaft PGU Heart Circulation P.O.B 80 03 20 D-6230 Frankfurt (Main) 80 FR Germany	JE049-0001	非 GLP	4.2.1.1-11
ブラジキニンで刺激した培養内皮細胞におけるイカチバントの拮抗作用	内皮細胞	*In vitro*	Hoechst Aktiengesellschaft PGU Heart Circulation P.O.B 80 03 20 D-6230 Frankfurt (Main) 80 FR Germany	JE049-0001	非 GLP	4.2.1.1-11

2.6.3.1 薬理試験：一覧表

被験物質：Icatibant

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	GLP 適用	記載箇所
イカチバントがラット腹膜肥満細胞のヒスタミン遊離に及ぼす作用	ラット腹膜肥満細胞	*In vitro*	Hoechst Aktiengesellschaft PGU Heart Circulation P.O.B 80 03 20 D-6230 Frankfurt (Main) 80 FR Germany	JE049-0001	非 GLP	4.2.1.1-11
摘出臓器内におけるイカチバント及び D-Arg-[Hyp^2, Thi^{5,8}, D-Phe^7]-BK の作用	モルモット回腸及び肺動脈，ラット子宮ウサギ大動脈	*In vitro*	Hoechst Aktiengesellschaft PGU Heart Circulation P.O.B 80 03 20 D-6230 Frankfurt (Main) 80 FR Germany	JE049-0001	非 GLP	4.2.1.1-11
摘出モルモット心臓において，イカチバント及び D-Arg-[Hyp^2, Thi5^{,8}, D-Phe^7]-BK が冠血流量の変化に及ぼす作用	モルモット心臓	*In vitro*	Hoechst Aktiengesellschaft PGU Heart Circulation P.O.B 80 03 20 D-6230 Frankfurt (Main) 80 FR Germany	JE049-0001	非 GLP	4.2.1.1-11
摘出ウシ冠動脈において，イカチバントがブラジキニン誘発内皮依存性弛緩に及ぼす作用	ウシ冠動脈	*In vitro*	Hoechst Aktiengesellschaft PGU Heart Circulation P.O.B 80 03 20 D-6230 Frankfurt (Main) 80 FR Germany	JE049-0001	非 GLP	4.2.1.1-11
麻酔下ラットにおけるブラジキニン誘発低血圧のイカチバントによる阻害	ラット/Sprague-Dawley	動脈内投与	Hoechst Aktiengesellschaft PGU Heart Circulation P.O.B 80 03 20 D-6230 Frankfurt (Main) 80 FR Germany	JE049-0001	非 GLP	4.2.1.1-11

2.6.3.1 薬理試験：一覧表

被験物質：**Icatibant**

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	GLP 適用	記載箇所
経鼻投与後のラットにおいて，イカチバントがブラジキニン誘発血圧低下に及ぼす作用	ラット/Sprague-Dawley（雄）	経鼻投与	Hoechst Aktiengesellschaft PGU Heart Circulation P.O.B 80 03 30 FR Germany	JE049-0001	非 GLP	4.2.1.1-11
麻酔下モルモットにおけるブラジキニン誘発気管支収縮のイカチバントによる阻害	モルモット	静脈内投与又は皮下投与	Hoechst Aktiengesellschaft PGU Heart Circulation P.O.B 80 03 30 FR Germany	JE049-0001	非 GLP	4.2.1.1-11
麻酔下モルモットにおける気管支拡張作用	アルビノモルモット（雌）	静脈内投与	Hoechst Aktiengesellschaft PGU Heart Circulation P.O.B 80 03 20 D-6230 Frankfurt (Main) 80 FR Germany	JE049-0001	非 GLP	4.2.1.1-11
覚醒モルモットにおいて，ブラジキニンに対する preconvulsion time に及ぼす作用に関する試験（実験的喘息）	アルビノモルモット	経鼻投与	Hoechst Aktiengesellschaft PGU Heart Circulation P.O.B 80 03 20 FR Germany	JE049-0001	非 GLP	4.2.1.1-11
ラットのカラゲニン誘発足浮腫に対するイカチバントの抗炎症作用	ラット/Sprague-Dawley（雄）	静脈内投与	Hoechst Aktiengesellschaft PGU Heart Circulation P.O.B 80 03 30 FR Germany	JE049-0001	非 GLP	4.2.1.1-11
ラット足の熱傷浮腫に対するイカチバントの阻害作用	ラット/Sprague-Dawley（雄）	静脈内投与	Hoechst Japan Limited 3-2 Minamida 1-chome Kawgoe, Saitama 350 - Japan	JE049-0001	非 GLP	4.2.1.1-11

2.6.3.1　薬理試験：一覧表

被験物質：**Icatibant**

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	GLP 適用	記載箇所
ラットのアジュバント誘発関節炎に対する抗炎症作用	ラット/Wistar-Lewis（雄）	静脈内投与 インフュージョン	Hoechst Aktiengesellschaft PGU Heart Circulation P.O.B 80 03 20 D-6230 Frankfurt (Main) 80 FR Germany	JE049-0001	非 GLP	4.2.1.1-11
ラット足のカラゲニン浮腫及びラットとマウスの遅延性過敏症に対してイカチバントが与える影響	ラット/CFHB（雄）及びマウス/CD-1	皮下投与	[redacted]	JE049-0001	非 GLP	4.2.1.1-11
副次的薬理試験						
各種受容体及び酵素を用いたイカチバントの受容体結合/酵素阻害試験	受容体及び酵素	*In vitro*	[redacted] France	JE049-0201	非 GLP	4.2.1.2-1
In Vitro 薬理作用：ハイスループットプロファイル―イカチバント，M1 及び M2 の試験	受容体，イオンチャネル，及びトランスポーター	*In vitro*	[redacted] France	JE049-0218	非 GLP	4.2.1.2-2
In Vitro 薬理作用：LH-RH 受容体結合試験―イカチバント，M1 及び M2 の試験	LH-RH 受容体	*In vitro*	[redacted] France	JE049-0217	非 GLP	4.2.1.2-3
安全性薬理試験						
マウスの行動観察	マウス/NMRI（雄）	静脈内投与	Hoechst Aktiengesellschaft P.O.B 80 03 20 D-6230 Frankfurt (Main) 80 FR Germany	JE049-0001	非 GLP	4.2.1.1-11

2.6.3.1　薬理試験：一覧表

被験物質：**Icatibant**

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	GLP 適用	記載箇所
マウスの自発運動量（6 時間）	マウス（雄）	静脈内投与	Hoechst Aktiengesellschaft P.O.B 80 03 20 D-6230 Frankfurt (Main) 80 FR Germany	JE049-0001	非 GLP	4.2.1.1-11
マウスにおいて，イカチバントがヘキソバルビタール睡眠の増強に及ぼす作用	マウス/NMRI（雄）	静脈内投与	Hoechst Aktiengesellschaft P.O.B 80 03 20 D-6230 Frankfurt (Main) 80 FR Germany	JE049-0001	非 GLP	4.2.1.1-11
イカチバント並びに代謝物 M1 及び M2 が hERG を介したカリウム電流に及ぼす作用に関する電気生理学的試験	hERG カリウムチャネル遺伝子を安定的に形質導入した CHO 細胞	*In vitro*	[redacted] Germany	JE049-0203	GLP	4.2.1.3-1
イカチバントがアフリカツメガエル卵母細胞で発現させた心臓カリウムチャネルに及ぼす作用	アフリカツメガエル卵母細胞	*In vitro*	[redacted] Germany	JE049-0202	非 GLP	4.2.1.3-2
摘出ラット拍動心臓において，イカチバントが虚血後再灌流不整脈に及ぼす作用	ラット/Wistar の摘出心臓	*In vitro*	Hoechst Aktiengesellschaft PGU Heart Circulation P.O.B 80 03 20 D-6230 Frankfurt (Main) 80 FR Germany	JE049-0001	非 GLP	4.2.1.1-11

2.6.3.1 薬理試験：一覧表

被験物質：Icatibant

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	GLP 適用	記載箇所
覚醒下イヌにおいて，イカチバントの静脈内投与が血圧と心拍数に及ぼす作用	イヌ/ビーグル	静脈内投与	Hoechst Aktiengesellschaft PGU Heart Circulation P.O.B 80 03 20 D-6230 Frankfurt (Main) 80 FR Germany	JE049-0001	非 GLP	4.2.1.1-11
運動時の覚醒下イヌにおけるイカチバントの血行力学的及び心電図上の作用	イヌ/雑種	静脈内投与	[redacted] Hungary	JE049-0205	非 GLP	4.2.1.3-3
イカチバントが心血管系機能及び電気生理学的変化に及ぼす作用を評価した 4 週間毒性試験	イヌ/ビーグル	皮下投与	[redacted]France	JE049-0116	GLP	4.2.3.2-14
麻酔下ラットにおいて，ブラジキニン拮抗薬イカチバントの静脈内インフュージョンが急性腎血管性高血圧の発現に及ぼす作用	ラット/Sprague-Dawley	静脈内投与 インフュージョン	Hoechst Aktiengesellschaft PGU Heart Circulation P.O.B 80 03 20 D-6230 Frankfurt (Main) 80 FR Germany	JE049-0001	非 GLP	4.2.1.1-11
麻酔下イヌを用いた心筋梗塞モデルにおけるブラジキニン拮抗薬イカチバントの作用	イヌ/ジャーマンシェパード	冠動脈内投与	[redacted] Germany	JE049-0206	非 GLP	4.2.1.3-4
プレコンディショニングあり又はなしの麻酔下ラットにおいて，イカチバントが虚血による不整脈に及ぼす作用	ラット/Sprague-Dawley（雄）	静脈内投与 ボーラス	[redacted]	JE049-0207	非 GLP	4.2.1.3-5

2.6.3.1　薬理試験：一覧表

被験物質：**Icatibant**

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	GLP 適用	記載箇所
D-Arg-[Hyp^{2}, Thi^{5,8}, D-Phe^{7}]-BK と比較した，イカチバントがラットの血漿レニン活性に及ぼす作用	ラット/Wistar（雌）	動脈内投与 インフュージョン	Hoechst Aktiengesellschaft P.O.B 80 03 20 D-6230 Frankfurt (Main) 80 FR Germany	JE049-0001	非 GLP	4.2.1.1-11
覚醒下ラットに静脈内投与したときの呼吸機能に関する酢酸イカチバントの安全性薬理試験（全身プレチスモグラフィー）	ラット/Han Wistar（雄）	静脈内投与	[redacted] France	JE049-0208	GLP	4.2.1.3-6
ビーグル犬において，イカチバントがナトリウム及びカリウムの尿中排泄並びに腎クリアランスに及ぼす作用	イヌ/ビーグル（雄）	静脈内投与	Hoechst Aktiengesellschaft SBU Cardiovascular P.O.B 80 03 20 D-6230 Frankfurt/M.80 FR Germany	JE049-0213	非 GLP	4.2.1.3-7
酢酸イカチバントをラットに静脈内投与したときの胃腸通過に及ぼす作用の評価	ラット/Rj：Wistar (Han)（雄）	静脈内投与	[redacted] France	JE049-0209	GLP	4.2.1.3-8
酢酸イカチバントをラットに静脈内投与したときの胃酸分泌に及ぼす作用の評価	ラット/Rj：Wistar (Han)（雄）	静脈内投与	[redacted] France	JE049-0210	GLP	4.2.1.3-9

2.6.3.1 薬理試験：一覧表

被験物質：**Icatibant**

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	GLP 適用	記載箇所
胃内腔灌流ラットにおいて，イカチバントがヒスタミン刺激による胃酸分泌に及ぼす阻害作用	ラット/Sprague-Dawley（雄）	静脈内投与	Hoechst Aktiengesellschaft P.O.B 80 03 20 D-6230 Frankfurt/M.80 FR Germany	JE049-0211	非 GLP	4.2.1.3-10
イカチバントを正常ラットに静脈内投与したときの血糖値	ラット/Wistar（雄）	静脈内投与	Hoechst Aktiengesellschaft P.O.B 80 03 20 D-6230 Frankfurt (Main) 80 FR Germany	JE049-0001	非 GLP	4.2.1.1-11

BK = ブラジキニン；CHO = チャイニーズハムスター卵巣；GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準；hERG = ヒト遅延整流性カリウムイオンチャネル；LH-RH = 黄体形成ホルモン放出ホルモン；MAPK = マイトジェン活性化プロテインキナーゼ；M = 代謝物

2.6.3.2　効力を裏付ける試験

被験物質：Icatibant

試験系	投与方法	濃度/用量	性別/ 一群の動物数	GLP 適用	試験番号
ヒト遺伝子組換え CHO 細胞	*In vitro*	該当なし	該当なし	非 GLP	JE049-0003
結果： ヒト B1 及び B2 受容体とイカチバントの相互作用を結合試験で検討した。イカチバントは B1 及び B2 受容体と結合し，IC_{50} はそれぞれ 6 μM 及び 4.3 nM であった。K_i 値は，B1 受容体に対しては 1.2 μM，B2 受容体に対しては 2 nM であった。					
モルモット回腸及びヒト遺伝子組換え CHO 細胞	*In vitro*	イカチバント：10 μM M1：10 μM M2：10, 100 μM	該当なし	非 GLP	JE049-0004
結果： イカチバントは，B1 及び B2 受容体（ヒト及びモルモット）への対照の結合をそれぞれ 83%及び 100%阻害した 。M2 は，10 μM の濃度でモルモット B1 及び B2 受容体への対照の結合を 58%阻害した。100 μM の濃度では，M2 はヒト B1 及び B2 受容体への対照の結合をそれぞれ 45%及び 56%阻害した。M1 は，ヒト B1 及び B2 受容体に対する作用はなかったが，10 μM の濃度でモルモット B2 受容体への対照の結合を 48%阻害した。					
モルモット気道上皮細胞及びヒト滑膜細胞	*In vitro*	該当なし	3	非 GLP	JE049-0002
結果： モルモット細胞では，ブラジキニン刺激によって生じる PGE_2 産生はイカチバントによって阻害され，IC_{50} は 2 nM であった。 ヒト滑膜細胞内では，ブラジキニンは用量依存的に細胞内カルシウム濃度を増加させた。ブラジキニン 3 nM の細胞内カルシウム増加作用は，イカチバントとのインキュベーションによって阻害され，IC_{50} は約 10 nM であった。 インターロイキン 1 で前処理したヒト滑膜細胞内では，ブラジキニンは，PGE_2 産生の明らかな用量依存的増加をもたらした。イカチバントはブラジキニン 10 nM による作用を阻害し，IC_{50} は 10 nM であった。					

2.6.3.2　効力を裏付ける試験

被験物質：Icatibant

試験系	投与方法	濃度/用量	性別/一群の動物数	GLP 適用	試験番号
ヒト，ラット，及びイヌ細胞株で発現する内因性の B2 受容体	*In vitro*	イカチバント：0–1000 nM ブラジキニン：0–1000 nM	該当なし	非 GLP	JE049-0013
結果： カルシウム動員試験では，イカチバントは 50 μM までの濃度で，評価したすべての細胞で有意な部分アゴニスト作用を示さなかった。ブラジキニンとの組み合わせでは，イカチバントは，ヒト，ラット，及びイヌの細胞における B2 受容体の活性化に対して有意なアンタゴニスト作用を示した。 1 mM を超える濃度では，BK と比較してカルシウム動員の程度は非常に小さかった。 MAPK 活性化試験では，低 nM 濃度のイカチバントは，ラット（PC-12，RFL-6，rat2 細胞株）及びイヌ（MDCK 及び CF52.Tr 細胞株）の B2 受容体に対して有意なアゴニスト作用を示したが，ヒト細胞（HF15，HEK-293 細胞株）では作用を示さなかった。多くの非ヒト細胞で，イカチバントは BK 誘発 MAKP 活性化も阻害できなかった。					
モルモット回腸	*In vitro*	イカチバント：10 nM–300 nM ブラジキニン：1 nM–9 μM 化合物 II (D-Arg^{0}, Hyp^{3}, DTic^{7}, Oic^{8}-BK）：30 nM-1 μM 化合物 III (Arg[Tos]^{1}，Hyp^{3}，Thi^{5}，DTic^{7}，Oic^{8}-BK）：100 nM–3 μM DAP（標準物質）：1 μM–30 μM	該当なし	非 GLP	JE049-0005
結果： イカチバント，化合物 II 及び化合物 III で観察されたブラジキニンの濃度反応曲線の右方へのシフトは，明らかな曲線の傾きの低下なしに濃度依存的な最大効果の低下を伴っていた。対照的に，DAP では E_{max} の低下は見られなかった。したがって，イカチバント，化合物 II 及び化合物 III は，非競合的阻害とともに競合的阻害，すなわち二重競合作用を示すと考えられる。					

2.6.3.2　効力を裏付ける試験

被験物質：Icatibant

試験系	投与方法	濃度/用量	性別/一群の動物数	GLP 適用	試験番号
ラット/Sprague-Dawley	動脈内投与	イカチバント：20 nmol/kg ブラジキニン：0.1–100 nmol	雄/6	非 GLP	JE049-0006
結果： イカチバントは，ブラジキニン 0.1 nmol で誘発される血圧降下をほぼ完全に阻害した。しかし，ブラジキニンの量を増やすことで，イカチバントの作用は用量依存的に打ち消された。ブラジキニン 100 nmol の用量では，血圧降下はイカチバント投与前にブラジキニン 0.1 nmol を投与した場合と同程度であった。					
ラット/Sprague-Dawley	十二指腸内投与	イカチバント：0.02，0.2，及び 2 µmol/kg ブラジキニン：100 pmol	雄/ 5（0.02 µmol/kg） 6（0.2 µmol/kg） 6（2 µmol/kg）	非 GLP	JE049-0007
結果： イカチバント 0.02 µmol/kg は，ブラジキニンにより誘発した血圧降下を減少させたが，有意ではなかった。 イカチバント 0.2 µmol/kg は，投与 30 分後にブラジキニンにより誘発した低血圧を有意に阻害し，60 分後ではさらに強い効果がみられた。 イカチバント 2 µmol/kg は拮抗作用をもたらし，作用は 10 分後から示され，60 分間の測定期間中に減弱しなかった。					
ラット/Sprague-Dawley	経鼻投与	イカチバント：20 及び 200 nmol/kg（33 及び 330 µg/kg） ブラジキニン：100 pmol	雄/6	非 GLP	JE049-0008
結果： イカチバントを 33 µg/kg 及び 330 µg/kg の用量で左鼻孔に投与したとき，ブラジキニンの作用はそれぞれ約 10%及び 3%に減少した。作用はイカチバントの投与 10 分後からみられた。イカチバントの作用は，5 時間にわたってわずかしか減少しなかった。					

2.6.3.2　効力を裏付ける試験

被験物質：Icatibant

試験系	投与方法	濃度/用量	性別/一群の動物数	GLP 適用	試験番号
モルモット	静脈内投与及び吸入投与	イカチバント（静脈内）：0，1，10，100 又は 1000 pmol/kg イカチバント（エアロゾル）：0，1，10 又は 100 nmol/kg，60 回吸入 ブラジキニン（静脈内）：0.3–0.6 nmol/kg ブラジキニン（エアロゾル）：235 nmol/kg，30 回吸入	雌雄/6	非 GLP	JE049-0009
結果： イカチバントは，BK の静脈内及び吸入投与による気管支収縮をいずれも非常に強力に阻害した。 イカチバント (静脈内投与）は，用量依存的な気管支収縮の阻害をもたらし，肺抵抗に関する ID_{50}は 13.4 pmol/kg であった。イカチバントのエアロゾルでは，静脈内投与に比べ BK の静脈内投与に対する効果が約 100 倍弱かった。					
モルモット/Hartley	腹腔内投与	イカチバント：0.3 及び 1.0 mg/kg（ブラジキニン投与の 15 分前） ブラジキニン：0.26 mg/kg (皮内投与)	雌/12	非 GLP	JE049-0010
結果： イカチバントは，ブラジキニン皮内投与によって誘発された侵害作用を有意かつ用量依存的に減少させることが明らかになった（$p < 0.01$）。					

BK = ブラジキニン；CHO = チャイニーズハムスター卵巣；DAP = D-Arg-[Hyp^2,$Thi^{5,8}$,D-Phe^7]-BK；E_{max} = 最大効果；GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準；IC_{50} = 最大阻害作用の 50%での阻害濃度；ID_{50} = 最大結合量の 50%が標的受容体に結合する濃度；K_i = 阻害定数；MAPK = マイトジェン活性化プロテインキナーゼ；PGE_2 = プロスタグランジン E2

2.6.3.3 副次的薬理試験

被験物質：Icatibant

試験系	投与方法	濃度/用量	GLP 適用	試験番号
受容体：α_1，α_2，β_1，β_2，AT_1，AT_2，CGRP，CB_1，D_1，D_2，ETA，ETB，GABA，IL-Iβ，TNF-α，M_1からM_5，NK_1，オピエート，μ，ORL_1，EP_1，P2X，P2Y，5-HT，VIP_1及びVIP_2 酵素：ホスホリパーゼA_2，COX_1，COX_2，ACE，ECE，カテプシン G，及び中性エンドペプチダーゼ	*In vitro*	最初の解析：10 μM 以降の解析： 0.1 nM–1 μM	非 GLP	JE049-0201
結果： 最初の解析では，5 種の受容体のみで 10%を超える結合阻害がみられた；M_4（16%），オピエート（19%），EP_1（13%），VIP_1（56%），及びVIP_2（41%）。2 種の酵素で 10%を超える作用がみられた；COX_1（203%の活性化）及び ACE（100%の阻害）。その後の解析では，COX_1（最高用量で 19%の阻害）及び ACE（保存溶液ではIC_{50}は 2.3 μM，新鮮な溶液ではIC_{50}は 5.1 μM）に対してわずかな阻害が見られた。				
受容体：アデノシンA_1，A_{2A}，A_3，α_1，α_2，β_1，β_2，AT_1，AT_2，BZD（中枢），BZD（末梢），BB（非選択的），B_2，CGRP，CB_1，CCK_A，CCK_B，D_1，D_{2S}，D_3，$D_{4.4}$，D_5，ET_A，ET_B，GABA（非選択的），GAL1，GAL2，PDGF，CXCR2，TNF-α，CCR1，H_1，H_2，MC_4，MT_1，M_1からM_5，NK_1，NK_2，NK_3，Y_1，Y_2，NT_1，δ_2，κ，μ，ORL_1，PACAP，PCP，TXA_2/PGH_2，P2X，P2Y，$5\text{-}HT_{1A}$，$5\text{-}HT_{1B}$，$5\text{-}HT_{2A}$，$5\text{-}HT_{2C}$，$5\text{-}HT_3$，$5\text{-}T_{5A}$，$5\text{-}HT_6$，$5\text{-}HT_7$，σ（非選択的），sst（非選択的），VIP_1，及びVI_{1a} イオンチャネル：Ca^{2+}（L，ベラパミル部位），K^+_v，SK^+_{Ca}，Na^+（site 2），及びCl^- トランスポーター：NE，DA，及び 5-HT	*In vitro*	イカチバント，M1，及び M2：10 μM NK_2の解析（イカチバント）：0.1 nM–10 μM	非 GLP	JE049-0218
結果： イカチバントは，B_2受容体の結合を 98%阻害した。M_3（52%），NK_2（96%），及びV_{1a}（66%）で，イカチバントによる 30%を超える結合阻害がみられた。 M2 では，30%を超える阻害がB_2受容体（62%）のみでみられたが，M_1ではいずれの標的に対しても阻害はみられなかった。 NK_2受容体の解析におけるイカチバントのIC_{50}値は，420 nM であった。				

2.6.3.3　副次的薬理試験

被験物質：Icatibant

試験系	投与方法	濃度/用量	GLP 適用	試験番号
LH-RH 受容体	*In vitro*	イカチバント，M1， 及び M2：1 及び 10 µM	非 GLP	JE049-0217
結果： 検討したいずれの濃度においても，イカチバント，M1，又は M2 による LH-RH 受容体結合の有意な阻害は認められなかった（–16 から 11%の阻害）。				
IC_{50} = 最大阻害作用の 50%の阻害濃度；GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準；LH-RH = 黄体形成ホルモン放出ホルモン；M = 代謝物				

2.6.3.4　安全性薬理

被験物質：Icatibant

試験系	投与方法	濃度/用量	性別/一群の動物数	GLP 適用	試験番号
中枢神経系					
マウス/NMRI	静脈内投与	0.01，0.1，1,0，及び 10 mg/kg	雄/6	非 GLP	JE049-0001
結果： 静脈内投与 1 mg/kg の用量で，運動量の低下（6 例中 2 例），体温の低下（6 例中 4 例），及び眼瞼下垂（6 例中 6 例）が観察された。10 mg/kg 静脈内投与後，全動物で運動量及び呼吸が低下し，眼瞼下垂が観察された。6 例中 4 例の動物で体温が低下した（–1.7ºC）。すべての所見は投与後 15 分で認められた。					
マウス	静脈内投与	0.01，0.1，1.0 mg/kg	雄/10	非 GLP	JE049-0001
結果： 6 時間にわたる観察期間中，すべての用量で自発運動量への影響はなかった。					
マウス/NMRI	静脈内投与	0.01，0.1，1.0 mg/kg （ヘキソバルビタール：55 mg/kg）	雄/10	非 GLP	JE049-0001
結果： マウスにおいて，イカチバントはヘキソバルビタールによる睡眠時間の延長をもたらさなかった。					

2.6.3.4　安全性薬理

被験物質：Icatibant

試験系	投与方法	濃度/用量	性別/一群の動物数	GLP 適用	試験番号
心血管系					
hERG カリウムチャネル遺伝子を安定的に形質導入した CHO 細胞	*In vitro*	イカチバント： 10，100，及び 300 µM イカチバント (1-5)トリフルオロ酢酸塩： 10，100，及び 308 µM イカチバント (7-10)トリフルオロ酢酸塩： 10，100，及び 300 µM ハロペリドール（陽性対照）：100 nM テルフェナジン（標準物質）：100 nM	該当なし	GLP	JE049-0203
結果： イカチバントは，hERG を介した外向き電流に対して有意な影響を及ぼさなかった。 時間を一致させた陰性溶媒対照群の実験により，溶媒対照条件下での電流の長時間の安定性が示された。時間を一致させた陽性対照群の実験により，分析感度と細胞の反応性が示された。本試験では，被験物質は hERG を介した外向き電流に有意な作用を及ぼさなかった。					
アフリカツメガエル卵母細胞（hERG イオンチャネルをコードする cRNA を注入）	*In vitro*	10，30，及び 100 µM	該当なし	非 GLP	JE049-0202
結果： アフリカツメガエル卵母細胞において，イカチバントは 100 µM までの濃度でイオン電流に有意な阻害作用を示さなかった。					

2.6.3.4　安全性薬理

被験物質：Icatibant

試験系	投与方法	濃度/用量	性別/一群の動物数	GLP 適用	試験番号
ラット/Wistar，摘出心臓	*In vitro*	0.1–10 nM	該当なし	非 GLP	JE049-0001

結果：

イカチバントは，0.1 及び 1.0 nM の濃度で，虚血後再灌流による不整脈の持続期間を用量依存的に延長させた。

対照群の灌流期：

1.0 nM：対照群に比較し，LV dP/dt_{max}（2163 から 1242 mmHg × sec^{-1}）及び冠血流量（10.1 から 7.9 mL/g/min）の統計学的に有意な低下；対照群に比較し，CK（25 から 36 mU/g/min）及び LDH（22 から 29 mU/g/min）の酵素活性の統計学的に有意な上昇。

10 nM：LV dP/dt_{max}（3225 mmHg × sec^{-1}）及び CF（13.3 mL/g/min）の有意な上昇，また，酵素活性の有意な低下（CK 及び LDH についてそれぞれ 17 及び 18 mU/g/min）。

虚血期：

1.0 nM：対照群に比較し，LVP（39 から 28 mmHg），LV dP/dt_{max}（1149 から 864 mmHg × sec^{-1}），及び CF（7.9 から 6.4 mL/g/min）の有意な低下。CK（70 から 96 mU/g/min）及び LDH（53 から 69 mU/g/min）の有意な上昇。

10 nM：LVP（53 mmHg）及び LV dP/dt_{max}（1430 mmHg × sec^{-1}）の有意な上昇，また，酵素活性（CK 及び LDH についてそれぞれ 45 及び 40 mU/g/min）の有意な低下。

再灌流期：

1.0 nM：対照群に比較し，LVP（49 から 20 mmHg），LV dP/dt_{max}（1199 から 590 mmHg × sec^{-1}），及び CF（9.7 から 7.7 mL/g/min）の有意な低下。VF 時間（17 から 28 分），CK（36 から 59 mU/g/min）及び LDH（28 から 40 mU/g/min）の有意な増加。

10 nM：LV dP/dt_{max}（1906 mmHg × sec^{-1}）及び CF（12.8 mL/g/min）の有意な上昇，VF 時間（7 分），及び酵素活性（CK 及び LDH についてそれぞれ 23 及び 19 mU/g/min）の有意な低下。

グリコーゲン（70 から 48 µmol/g 乾燥重量），ATP（7 から 4 µmol/g 乾燥重量），及び CP（8 から 3 µmol/g 乾燥重量）は，1.0 nM の濃度で有意な低下を示した。反対に，これらの値は 10.0 nM の濃度では有意な増加を示した（それぞれ，105，14，及び 15 µmol/g 乾燥重量）。

いずれの濃度においても，心拍数に有意な変化はみられなかった。

ブラジキニンをイカチバントに併用して潅流させて検討した結果，ブラジキニンはイカチバントの拮抗作用を用量依存的に減弱させた。

2.6.3.4　安全性薬理

被験物質：Icatibant

試験系	投与方法	濃度/用量	性別/一群の動物数	GLP 適用	試験番号
イヌ/ビーグル	静脈内投与（1 分間かけて）	0.01，0.1，0.6，及び 1 mg/kg（1.5 時間間隔で投与）	雄/4 雌/1	非 GLP	JE049-0001
結果： 0.01 及び 0.1 mg/kg の用量では，15 分間の観察期間中に収縮期血圧，拡張期血圧，及び平均動脈圧（MAP），並びに心拍数に変化はみられなかった。 0.6 mg/kg の用量では，覚醒下のイヌ 1 頭で血圧が急激に低下した（投与 1 分後に 162/97 から 73/39 mmHg）。平均動脈圧は 117 から 48 mmHg に低下した。投与 30 分後までに，血圧は投与前レベルに近づいた。心拍数は投与 5 分後に 84 bpm から 59 bpm に低下し，投与後 30 分でも継続していた（58 bpm）。 1 mg/kg では，覚醒下イヌ 1 頭で最初の 2 時点での血圧及び平均動脈圧は測定できなかった。血圧は，投与 5 分後に 138/94 mmHg から 40/28 mmHg に低下した。平均動脈圧は，投与 5 分後に 108 から 33 mmHg に低下した。心拍数は，30 分の観察期間を通じて上昇した（93 から 199 bpm）。疼痛反応，不穏，散瞳及び流涎過多が観察された。					
イヌ/雑種	静脈内投与	0.1，0.3，及び 0.5 mg/kg	雌雄/6	非 GLP	JE049-0205
結果： イカチバント 0.1 又は 0.3 mg/kg の投与後，運動により誘発される血圧及び心電図の正常なパターンに有意な作用は観察されなかった。イカチバントは，いずれの用量でも PQ 又は QRS 間隔に有意な変化を及ぼさなかった。0.5 mg/kg の用量では，イカチバントは心拍数を有意に上昇させ（20%），それにより心筋酸素消費量が 23%増加した。これらの変化は一過性であった。運動後の血管拡張が，イカチバント 0.5 mg/kg 投与によりわずかに増強されたが，この効果は有意ではなかった。					
イヌ/ビーグル	皮下投与	3 及び 10 mg/kg/day	雌雄/5	非 GLP	JE049-0116
結果： 雌雄で Day 1，Day 15，及び Day 25 の投与日に心拍数及び心電図パラメータを測定したとき，被験物質に関連する作用はみられなかった。					

2.6.3.4　安全性薬理

被験物質：Icatibant

試験系	投与方法	濃度/用量	性別/一群の動物数	GLP 適用	試験番号
ラット/Sprague-Dawley	静脈内投与（30 分間インフュージョン）	40 µg/0.05 mL/min	雄/4	非 GLP	JE049-0001
結果： 左腎茎をクランプして 4 時間閉塞した後，クランプを外すことにより高血圧が誘発された。イカチバントを投与したラットでは，クランプを外した後に血圧上昇の増強は観察されなかった。					
イヌ/ジャーマンシェパード（虚血）	冠動脈内投与（60 分間インフュージョン）	0.5 ng/kg/min	雌雄/虚血イヌ 14 頭-生理食塩水， 虚血イヌ 12 頭-イカチバント， 非虚血イヌ 5 頭-イカチバント	非 GLP	JE049-0206
結果： 対照の虚血イヌでは，冠動脈閉塞により LVEDP，PAP s/d，TPR 及び CF が上昇する一方，CO 及び SV は低下し，また，閉塞の後期では LVW と MVO_2 が低下した。対照のイヌにおいて閉塞により誘発された血行動態の変化の一部（すなわち LVEDP，PAP s/d，TPR，及び CF の上昇）は，イカチバントを投与した虚血イヌでもみられた 。一方これらの動物で，イカチバントは，閉塞により誘発される SV 及び CO の低下を遅延させ，BP s/d，LVW，及び MVO_2 を上昇させた。 非虚血イヌでは，イカチバントの投与はわずかだが（約 10 mmHg）持続的な BPs 及び BPd の上昇をもたらした。dp/dt_{max} は，わずかだが（150–200 mmHg/sec）持続的な上昇を示した。PAP s/d は，上昇傾向を示した（最大の上昇は 360 分での 2.8 及び 3 mmHg）。CO は，わずかに上昇し（294 $mL.min^{-1}$），SV も同様であった。CR は上昇傾向を示した（0.4 $mmHg.min.mL^{-1}$）。同様に，LVW 及び MVO_2 はわずかな上昇を示した（それぞれ 0.9 $kg.m.min^{-1}$ 及び 1.3 mL O_2/100 g/min）。 死亡率は，対照のイヌでは 28%であっが，イカチバントを投与したイヌでは 58%であった。しかし，冠動脈を閉塞せずにイカチバントを投与した群では死亡動物はなかった。イカチバントの心血管系に及ぼす作用が死亡の原因はとは考えられない。					

2.6.3.4　安全性薬理

被験物質：Icatibant

試験系	投与方法	濃度/用量	性別/一群の動物数	GLP 適用	試験番号
ラット/Sprague-Dawley	静脈内投与	40 µg, 400 µg, 4 mg	雄/NR	非 GLP	JE049-0207
結果： 冠動脈閉塞は重度の不整脈をもたらしたが，イカチバントは，心室期外収縮の平均回数，心室細動，心室性頻脈，及び死亡の発現率の用量依存的な減少を示した。一方，プレコンディショニングは，ブラジキニンの遊離が原因である可能性がある，閉塞により誘発される不整脈の重症度を顕著に低下させた。しかし，イカチバントはプレコンディショニングの有益な効果を減弱させなかった。4 mg/kg では，再灌流及び持続的な閉塞期間のいずれにおいても，イカチバントはさらなる抗不整脈作用を有していた。					
ラット/Wistar	動脈内投与	0.83 nmol/min/kg	雄/5	非 GLP	JE049-0001

結果：

血漿レニン活性レベル (ng/mL/h ± SD）：

時点 (分)	対照群	イカチバント群
0	11.61 ± 6.33	7.96 ± 3.32
30	8.62 ± 2.83	8.26 ± 2.60
60	14.11 ± 8.22	11.29 ± 3.53

2.6.3.4　安全性薬理

被験物質：Icatibant

試験系	投与方法	濃度/用量	性別/一群の動物数	GLP 適用	試験番号
呼吸器					
ラット/Wistar	静脈内投与	イカチバント：1，3，及び 10 mg/kg テオフィリン（標準物質）：16 mg/kg	雄/8	GLP	JE049-0208
結果： 溶媒対照群では，吸気時間（40%，$p < 0.001$），呼気時間（38%，$p < 0.001$），弛緩時間（29%，$p < 0.001$），ポーズ（31%，$p < 0.001$）及びエンハンスドポーズ（40%，$p < 0.01$）の一時的な減少，並びに最大吸気流量（77%，$p < 0.001$），最大呼気流量（60%，$p < 0.001$），呼吸数（103%，$p < 0.001$）の一時的な増加が投与 10 分後にみられた。これらの作用は，古典的に投与期間中の処置による動物のストレスが原因と考えられている。その後，全てのパラメータは投与前値付近まで戻り，120 分の試験期間の終了時までほぼ一定であった。 イカチバント（1 及び 3 mg/kg）は，120 分の試験時間にわたって，9 つのパラメータのいずれにも溶媒と比較して有意な作用を示さなかった。イカチバント（10 mg/kg）も，溶媒と比較して，吸気時間，呼気時間，弛緩時間，最大吸気流量，最大呼気流量，1 回換気量，呼吸数，及びエンハンスドポーズに有意な作用を示さなかった。イカチバント（10 mg/kg）ではポーズのわずかかつ一過性の減少がみられたが，統計学的に有意な作用は投与 45 分後のみ（最大 23%に対して 溶媒対照群では 3%，$p < 0.05$）であった。 対照的に，テオフィリンは顕著な呼吸刺激作用及び気管支拡張作用を示した。					
腎臓系					
イヌ/ビーグル	静脈内投与	0.03，0.3 mg/kg	雄/6	非 GLP	JE049-0213
結果： イカチバント 0.03 mg/kg の投与は，尿排泄，ナトリウム，カリウム，GFR，C_{PAH}，又は腎クリアランスに作用を及ぼさなかった。0.3 mg/kg の用量では，イカチバントは尿量（投与後 20 分で 50%）及びナトリウム排泄（投与後 10 分で 39%）を減少させたが，GFR 又は C_{PAH} には作用を及ぼさなかった。					

2.6.3.4　安全性薬理

被験物質：Icatibant

試験系	投与方法	濃度/用量	性別/一群の動物数	GLP 適用	試験番号
胃腸管系					
ラット/Wistar	静脈内投与	イカチバント：1，3，及び 10 mg/kg 硫酸アトロピン（標準物質）：1 mg/kg	雄/8	GLP	JE049-0209
結果： イカチバント 1，3，及び 10 mg/kg は，溶媒対照群と比較して，消化管の活性炭で覆われた部分の距離に統計学的に有意な作用を及ぼさなかった（それぞれ 6%，8%，及び–5%）。 硫酸アトロピン 1 mg/kg は，溶媒対照群と比較して，活性炭で覆われた部分の距離を有意に減少させた（–27%；$p < 0.001$）。 したがって，対照と比較して，イカチバントはラットの消化管輸送に作用を及ぼさなかった。					
ラット/Wistar	静脈内投与	イカチバント：1，3，及び 10 mg/kg 硫酸アトロピン（標準物質）：2 mg/kg	雄/8	GLP	JE049-0210
結果： イカチバント（1 及び 3 mg/kg）は，溶媒対照群と比較して，胃液量，胃液 pH，遊離塩酸の酸度及び総酸度に統計学的に有意な作用を及ぼさなかった。 対照的に，イカチバント（10 mg/kg）は，胃液量（2.7 ± 0.3 に対し，対照群では 5.2 ± 0.5 ml，$p < 0.05$），遊離塩酸の酸度（44.8 ± 3.6 に対し，対照群では 77.6 ± 6.3 mEq/L; $p < 0.01$），及び総酸度（71.7 ± 3.8 に対し，対照群では 96.9 ± 5.4 mEq/L; $p < 0.05$）を有意に低下させた。イカチバントは胃液 pH をわずかに上昇させたが，統計学的に有意な作用ではなかった（1.67 ± 0.05 vs 対照群の 1.54 ± 0.07）。 硫酸アトロピンは，胃液量（0.9 ± 0.2 に対し，対照群では 5.2 ± 0.5 mL；$p < 0.001$），遊離塩酸の酸度（27.7 ± 8.3 に対し，対照群では 77.6 ± 6.3 mEq/L；$p < 0.001$），及び総酸度（65.6 ± 6.5 に対し，対照群では 96.9 ± 5.4 mEq/L；$p < 0.01$）を低下させた。硫酸アトロピンは胃液 pH も有意に上昇させた（2.42 ± 0.19 に対し，対照群では 1.54 ± 0.07; $p < 0.001$）。					
ラット/Sprague-Dawley	静脈内投与	0.3 mg/kg	雄/4	非 GLP	JE049-0211
結果： 胃内腔灌流ラットにおいて，イカチバントはヒスタミン刺激による胃酸分泌に対して阻害作用を示さなかった。					

2.6.3.4　安全性薬理

被験物質：Icatibant

試験系	投与方法	濃度/用量	性別/一群の動物数	GLP 適用	試験番号
グルコース代謝					
ラット/Wistar	静脈内投与	0.1，0.5，又は 1.0 mg/kg	雄/7（被験薬群）14（対照群）	非 GLP	JE049-0001

結果：

血糖値 (mmol/L)（平均 ± SEM）

測定時点（分）	対照群	イカチバント (mg/kg)		
		0.1	**0.5**	**1.0**
0	6.2 ± 0.08	5.8 ± 0.13	5.8 ± 0.21	5.7 ± 0.14[a]
20	6.3 ± 0.08	6.0 ± 0.10	6.1 ± 0.10	5.3 ± 0.20[a]
40	6.2 ± 0.10	5.9 ± 0.10	5.9 ± 0.19	5.5 ± 0.24[a]
60	6.1 ± 0.10	5.8 ± 0.10	5.7 ± 0.09[a]	5.5 ± 0.20[a]
120	5.9 ± 0.09	5.9 ± 0.10	6.1 ± 0.12	5.8 ± 0.09
240	5.9 ± 0.07	6.0 ± 0.11	6.1 ± 0.19	6.2 ± 0.11
360	6.9 ± 0.12	6.3 ± 0.08	5.9 ± 0.12	6.2 ± 0.09

[a] これらの統計学的に有意な数値は，0.5 及び 1 mg/kg 群の初期値が対照群よりも低かったため，生物学的意義はないと考えられた。

ATP = アデノシン三リン酸；BP = 血圧；bpm = 1 分間の心拍数；CF = 冠血流量；CHO = チャイニーズハムスター卵巣；CK = クレアチニンキナーゼ；CO = 心拍出量；CP = クレアチニンリン酸；C_{PAH} = 腎血漿流量；CR = 冠動脈抵抗；d = 拡張期；dP/dt = 左室圧増加速度；ECG = 心電図；GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準；GFR = 糸球体ろ過率；hERG = ヒト遅延整流性カリウムイオンチャネル遺伝子；LDH = 乳酸脱水素酵素；LVEDP = 左心室拡張末期圧；LVP = 左室圧；LVW = 左室仕事量；MAP = 平均動脈圧；MVO2 = 心筋酸素消費量；NA = 該当なし；NR = 報告なし；PAP = 肺動脈圧；PC = 陽性対照；s = 収縮期；SV = 1 回拍出量；TPR = 総肺血管抵抗

2.6.3.5　　薬力学的薬物相互作用試験

本申請では該当する試験なし。