2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.1 緒言

小野薬品工業株式会社

目次

2.6　非臨床試験の概要文及び概要表 3
2.6.1　緒言 3
2.6.1.1　構造及び薬理学的特性 3
2.6.1.2　効能・効果及び用法・用量 3
2.6.1.3　参考文献 4

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.1 緒言

2.6.1.1 構造及び薬理学的特性

メチロシン（化学名：α-メチル-L-チロシン）は，米国 Merck Sharp and Dohme Research Laboratories により創製されたチロシン水酸化酵素阻害剤であり，天然アミノ酸であるチロシンのα位の水素をメチル基で置換した構造である．メチロシン化学構造を図 2.6.1.1-1 に示す.

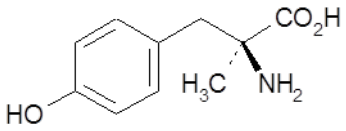


図 2.6.1.1-1 メチロシンの化学構造

メチロシンは，カテコールアミン生合成の律速酵素であるチロシン水酸化酵素を阻害することにより，褐色細胞腫患者においてカテコールアミン分泌過剰に伴う血圧上昇や頻脈などの諸症状を改善する治療薬である．既存薬であるα1 遮断薬及びβ遮断薬などの交感神経受容体遮断薬と異なる作用機序を有するメチロシンは，本邦の褐色細胞腫患者における新たな治療薬となることが期待される.

2.6.1.2 効能・効果及び用法・用量

メチロシンの効能・効果（案）及び用法・用量（案）を以下に示す.

・効能・効果（案）

褐色細胞腫のカテコールアミン分泌過剰状態の改善

・用法・用量（案）

通常，成人及び 12 歳以上の小児にはメチロシンとして 1 日 500 mg から経口投与を開始する.

効果不十分な場合は，経過を十分に観察しながら 3 日間以上の間隔をおいて 1 日 250 mg 又は 500 mg ずつ漸増し，患者の尿中カテコールアミン量及び症状の十分な観察のもと，適宜増減する.

ただし，1 日最高用量は 4,000 mg，1 回最高用量は 1,000 mg，投与間隔は 4 時間以上とし，1 日 500 mg は 1 日 2 回，1 日 750 mg は 1 日 3 回，1 日 1,000 mg 以上は 1 日 4 回に分割する.

2.6.1 緒言
メチロシン

2.6.1.3 参考文献

該当なし.

2.6.2 薬理試験の概要文

小野薬品工業株式会社

目次

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 4
2.6.2.3 副次的薬理試験 15
2.6.2.4 安全性薬理試験 15
2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験 21
2.6.2.6 その他の薬理試験 21
2.6.2.7 考察及び結論 26
2.6.2.8 図表 28
2.6.2.9 参考文献 28

2.6.2 薬理試験の概要文

本項で使用した用語及び略号を表 2.6.2-1 に示す.

表 2.6.2-1 用語及び略号一覧

用語及び略号	内容又は日本語名称
cAMP	環状アデノシン一リン酸
DOPS	DL-3,4-ジヒドロキシフェニルセリン
ED_{50}	50%有効用量
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}	50%阻害濃度
i.p.	腹腔内投与
i.v.	静脈内投与
Ki	阻害定数
MHPG	3-メトキシ-4-ヒドロキシフェニルエチレングリコール
NDA	新薬承認申請
p.o.	経口投与

2.6.2.1 まとめ

効力を裏付ける試験では，*in vitro* 試験としてチロシン水酸化酵素に対する阻害作用を評価し，*in vivo* 試験としてラット及びサルの中枢及び末梢組織におけるカテコールアミン含量減少作用を評価した．また，サルの尿中のカテコールアミン代謝物含量減少作用を評価した．更に，ラット及びイヌを用いて，間接型アドレナリン作動薬又は直接型アドレナリン作動薬による血圧上昇に対する抑制作用を評価した.

In vitro 試験において，メチロシンは，ウシ副腎髄質より精製したチロシン水酸化酵素及びモルモット脳ホモジネートのチロシン水酸化酵素による L-チロシンから L-ドパへの変換を競合的に阻害した．*In vivo* 試験において，メチロシンは，正常ラットの脳ノルアドレナリン，脳ドパミン及び心房ノルアドレナリン含量を単回腹腔内投与により減少させた．また，正常サルの脳，交感神経鎖，心房，脾臓及び副腎のカテコールアミン含量を 4 日間反復経口投与により減少させ，尿中カテコールアミン代謝物含量を 2 週間及び 4 週間反復経口投与により減少させた．更に，メチロシンは，正常ラットにおいて間接型アドレナリン作動薬（チラミン）により誘発した血圧上昇を 18 時間前の単回腹腔内投与により抑制した．一方，直接型アドレナリン作動薬（ノルアドレナリン）により誘発した血圧上昇は抑制しなかった．イヌにおいても，間接型アドレナリン作動薬（フェネチルアミン）により誘発した血圧上昇，心収縮力増加及び心拍数増加を 24 又は 48 時間前の単回静脈内投与により抑制したが，ノルアドレナリンの作用には影響しなかった．なお，間接型アドレナリン作動薬（フェネチルアミンなど）により誘発された血圧上昇を 100 分前の単回静脈内投与では抑制しなかった.

副次的薬理試験では，チロシン水酸化酵素以外の 8 種の酵素に対する作用を評価したが，これらに対する阻害作用は認められなかった．

安全性薬理試験では，マウス，イヌ，サル又はネコを用いて中枢神経系に対する作用，イヌを用いて心血管系に対する作用，マウス，ラット又はイヌを用いて消化器系に対する作用並びにラットを用いて腎機能に対する作用を評価した．また，呼吸系に対する作用をマウス，ラット又はイヌを用いた単回及び反復経口投与毒性試験において評価した．その結果，中枢神経系に対する作用として，メチロシンは薬理作用により各動物種で組織中のカテコールアミン含量を減少させ，鎮静作用などを示した．心血管系に対する作用として，覚醒下のイヌ（4 日間反復静脈内投与）及び迷走神経を切断した麻酔下のイヌ（単回静脈内投与）を用いて評価したが，メチロシンは血圧，心拍数あるいは心電図に対して明らかな作用を示さなかった．また，単回及び反復投与毒性試験において，メチロシンは呼吸系に対する明らかな作用を示さなかった．消化器系に対する作用として，メチロシンはマウスで消化管輸送能の亢進及びラットで胃排出能の抑制を示したが，イヌの胃酸分泌に影響しなかった．腎機能に対する作用として，ラットを用いて尿量及び電解質排泄量を評価したが，メチロシンはこれらに対して作用を示さなかった．なお，これらの安全性薬理試験は，いずれも一般薬理試験の一環として GLP 非適用で実施した．

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

2.6.2.2.1 *In vitro* 試験

2.6.2.2.1.1 メチロシンのチロシン水酸化酵素阻害作用

［参考資料 4.2.1.1-1，4.2.1.1-2］

メチロシンは，ウシ副腎髄質から精製したチロシン水酸化酵素による L-チロシンから L-ドパへの変換を競合的に阻害した．このときの IC_{50} 値は 25 μmol/L，Ki 値は 17 μmol/L であった．

メチロシンは，モルモット脳組織ホモジネートにおけるチロシン水酸化酵素による L-チロシンから L-ドパへの変換を競合的に阻害した．このときの阻害率は，0.1 μmol/L では 28%，1 μmol/L では 79%，100 μmol/L では 93～97%であった．

2.6.2.2.2 *In vivo* カテコールアミン含量減少作用

2.6.2.2.2.1 正常ラットにおけるメチロシンのカテコールアミン含量減少作用

［参考資料 4.2.1.1-2］

正常ラットにおけるメチロシンの各組織のカテコールアミン含量減少作用を検討した．試験結果を表 2.6.2.2.2.1-1 及び表 2.6.2.2.2.1-2 に示した．

正常ラットにメチロシンを 200 mg/kg で単回腹腔内投与し，投与後 1～32 時間に脳及び心房のカテコールアミン含量並びに脳セロトニン含量を測定した結果，脳ノルアドレナリン及びドパミン含量は減少した．脳ノルアドレナリンは投与後 16 時間に正常値（無処置群）の 22.7%，脳ドパミンは投与後 8 時間に 11.3%までそれぞれ減少したのち，投与後 32 時間には 60～70%まで回復した．心房ノルアドレナリン含量は投与後 32 時間まで経時的に減少し，投与後 32 時間では正常値の 70%であった．脳セロトニン含量に有意な変化はなかった．

正常ラットにメチロシンを 50～800 mg/kg で単回腹腔内投与し，投与後 16 時間に脳及び心房のノルアドレナリン含量を測定した結果，いずれも投与量に応じて減少した．

表 2.6.2.2.2.1-1　正常ラットにおけるメチロシンのカテコールアミン含量減少作用：単回腹腔内投与での経時推移

投与後時間（時間）	カテコールアミン又はセロトニン含量（無処置群を 1 としたときの比）			
	脳ノルアドレナリン	脳ドパミン	心房ノルアドレナリン	脳セロトニン
1	0.788	0.712	1.108	1.010
2	0.677	0.553	0.968	0.976
4	0.436	0.310	0.893	0.873
8	0.290	0.113	0.817	0.937
16	0.227	0.199	0.748	0.953
32	0.578	0.667	0.703	0.986
s	0.047	0.068	0.068	0.072

正常ラットにメチロシンを 200 mg/kg で単回腹腔内投与したときの脳及び心房のカテコールアミン並びに脳セロトニン含量（無処置群を 1 としたときの比）の平均値及び分散分析の標準偏差（s）を示した（各群 3 例）．

表 2.6.2.2.2.1-2　正常ラットにおけるメチロシンのカテコールアミン含量減少作用：単回腹腔内投与での用量反応性

メチロシン投与量（mg/kg）	脳ノルアドレナリン		心房ノルアドレナリン	
	含量（μg/g）	減少率（%）	含量（μg/g）	減少率（%）
0	0.30	—	1.53	—
50	0.27	-10	1.34	-12
100	0.21	-30	1.04	-33
200	0.051	-83	0.90	-42
400	0.028	-91	0.59	-62
800	0.020	-93	0.25	-84

正常ラットにメチロシンを単回腹腔内投与したときの投与後 16 時間における脳及び心房のノルアドレナリン含量の平均値及び対照群（0 mg/kg 投与群）に対する減少率を示した（各群 3 例）．なお，800 mg/kg 投与群では死亡例が認められたため，生存例のみの結果を示した．

2.6.2.2.2.2 正常サルにおけるメチロシンの各組織のカテコールアミン含量減少作用及び尿中カテコールアミン代謝物含量減少作用

［参考資料 4.2.1.1-2，4.2.1.1-3］

正常サルにおけるメチロシンの各組織のカテコールアミン含量減少作用及び尿中カテコールアミン代謝物含量減少作用を検討した．試験結果を表 2.6.2.2.2.2-1 及び表 2.6.2.2.2.2-2 に示した．

正常ベニガオザルにメチロシンを 400 mg/kg で 1 日 1 回 4 日間反復経口投与し，最終投与翌日のカテコールアミン含量を測定した結果，尾状核，視床下部及び交感神経鎖のノルアドレナリン及びドパミン含量はいずれも減少した．心房及び脾臓のノルアドレナリン並びに副腎のアドレナリン含量も減少したが，頸動脈のノルアドレナリン並びに心房，脾臓及び頸動脈のドパミン含量は減少しなかった．

正常ベニガオザルにメチロシンを 250 mg/kg で 1 日 2 回 4 週間反復経口投与し，投与開始後 2 及び 4 週並びに休薬後 3 週の 24 時間畜尿中カテコールアミン代謝物（MHPG）含量を測定した結果，投与前に比べて投与開始後 2 及び 4 週において有意に減少し，その作用は休薬後 3 週までに消失した．

表 2.6.2.2.2.2-1 正常サルにおけるメチロシンのカテコールアミン含量減少作用：4 日間反復経口投与の作用

組織	カテコールアミン含量（μg/g）			
	ノルアドレナリン [a)]		ドパミン	
	対照	メチロシン	対照	メチロシン
尾状核	0.169	0.047	1.761	0.285
視床下部	0.593	0.157	0.318	0.082
交感神経鎖	1.523	0.873	1.091	0.648
心房	1.236	0.122	0.132	0.102
脾臓	0.243	0.150	0.095	0.131
頸動脈	0.727	0.648	0.399	0.700
副腎	115	26	－	－

正常サルにメチロシンを 400 mg/kg で 1 日 1 回 4 日間反復経口投与したときの各組織のカテコールアミン含量（2 又は 3 例の平均値）を示した．a)：副腎はアドレナリンを測定した．

表 2.6.2.2.2.2-2　正常サルにおけるメチロシンの尿中カテコールアミン代謝物含量減少作用：4 週間反復経口投与の作用

	尿中 MHPG 含量（μg/24 時間蓄尿）		投与前値に対する割合（%）
投与前	324±46.3	―	―
投与開始後 2 週	96±2.99	p<0.025	29.0
投与開始後 4 週	92±10	p<0.005	28.4
休薬後 3 週	607±92	p<0.02	187

正常サル 4 例にメチロシンを 250 mg/kg で 1 日 2 回 4 週間反復経口投与したときの，24 時間畜尿中の MHPG 含量の平均値±標準誤差及び投与前値に対する割合を示した．p：投与前との比較（Welch 検定）．

2.6.2.2.2.3　その他の試験（*In vivo* カテコールアミン含量減少作用）

［参考資料 4.2.1.1-2，4.2.1.1-4］

米国 NDA 資料及び文献に記載されている，メチロシンのカテコールアミン含量減少作用を検討したその他の試験結果の概要を表 2.6.2.2.2.3-1 に示した．

メチロシンは，マウス，ラット，モルモット及びイヌにおいて，セロトニン含量に影響を与えずにカテコールアミン含量を減少させた．

表 2.6.2.2.2.3-1　メチロシンのカテコールアミン含量減少作用：その他の試験一覧

動物種	メチロシン投与量（mg/kg）	投与回数	投与経路	結果
正常マウス	100 400	単回	p.o.	脳ノルアドレナリン・ドパミン，心臓ノルアドレナリン減少
正常マウス	75	単回	i.p.	
正常マウス	37.5 75	単回	i.p.	
正常マウス	不明	3 回反復	i.p.	
正常ラット	80～188	13 週反復	p.o.	脳ノルアドレナリン・ドパミン，心臓ノルアドレナリン，脾臓ノルアドレナリン減少，脳セロトニン及び副腎アドレナリン変化なし
正常モルモット	80	単回	i.p.	脳，心臓，脾臓ノルアドレナリン減少，脳，脾臓セロトニン変化なし
	80	8 回反復	i.p.	脳ノルアドレナリン・ドパミン，心臓，脾臓ノルアドレナリン，副腎アドレナリン減少，脳，脾臓セロトニン変化なし
正常イヌ	100	単回	i.v.	脳，心臓，頸動脈ノルアドレナリン減少
正常イヌ	25 50 100	13 週反復	p.o.	脳ドパミン・ノルアドレナリン，心臓ノルアドレナリン減少，脳セロトニン，副腎アドレナリン変化なし

2.6.2.2.3 循環器に対する作用

2.6.2.2.3.1 正常ラットにおけるメチロシンのチラミン又はノルアドレナリン誘発血圧上昇に対する作用

［参考資料 4.2.1.1-2］

正常ラットにおけるメチロシンのチラミン（間接型アドレナリン作動薬）又はノルアドレナリン（直接型アドレナリン作動薬）誘発血圧上昇に対する作用を検討した．試験結果を表 2.6.2.2.3.1-1 及び表 2.6.2.2.3.1-2 に示した．

正常ラットにメチロシンを 400 mg/kg で単回腹腔内投与し，投与後 18～20 時間にチラミン（6.25～400 μg）又はノルアドレナリン（0.0075～0.125 μg）を静脈内投与したときの血圧を，麻酔下で観血的に測定した．その結果，メチロシンはチラミン誘発血圧上昇を抑制したが，ノルアドレナリンによる血圧上昇を抑制しなかった．血圧測定終了後に心房ノルアドレナリン含量を測定した結果，心房ノルアドレナリン含量の減少が認められた．

表 2.6.2.2.3.1-1 正常ラットにおけるメチロシンのチラミン又はノルアドレナリン誘発血圧上昇に対する作用

	投与量（mg/kg）	例数	チラミン投与前からの血圧変化量（mmHg）						
			チラミン投与量（μg）						
			6.25	12.5	25	50	100	200	400
対照	0	8	+17	+25	+34	+44	+62	+83	+97
メチロシン	400	4	+9	+11	+15	+21	+26	+35	+48

	投与量（mg/kg）	例数	ノルアドレナリン投与前からの血圧変化量（mmHg）				
			ノルアドレナリン投与量（μg）				
			0.0075	0.015	0.03	0.06	0.125
対照	0	8	+19	+32	+43	+57	+70
メチロシン	400	4	+36	+47	+56	+66	+79

正常ラットにメチロシンを単回腹腔内投与し，投与後 18～20 時間にチラミン又はノルアドレナリンを静脈内投与したときの血圧変化を麻酔下で測定した．値はチラミン又はノルアドレナリン投与前血圧からの最大変化量の平均値を示した．

表 2.6.2.2.3.1-2 正常ラットにおけるメチロシンの心房ノルアドレナリン含量減少作用

	投与量（mg/kg）	例数	心房ノルアドレナリン含量（μg/g）
対照	0	6	1.51
メチロシン	400	4	0.59

正常ラットにメチロシンを単回腹腔内投与し，投与後 18～20 時間にチラミン又はノルアドレナリンを静脈内投与したときの血圧を麻酔下で測定し，血圧測定終了後に心房ノルアドレナリン含量を測定した．値は心房ノルアドレナリン含量の平均値を示した．

2.6.2.2.3.2 イヌにおけるメチロシンのフェネチルアミン又はノルアドレナリン誘発血圧上昇，心収縮力増加及び心拍数増加に対する作用

［参考資料 4.2.1.1-2］

イヌにおけるメチロシンのフェネチルアミン（間接型アドレナリン作動薬）又はノルアドレナリンによる血圧上昇，心収縮力増加及び心拍数増加に対する作用を検討した．試験結果を表 2.6.2.2.3.2-1～表 2.6.2.2.3.2-4 に示した．

イヌにメチロシンを 100 mg/kg で単回静脈内投与し，投与後 24 及び 48 時間にフェネチルアミン（25～400 μg/kg）又はノルアドレナリン（0.25～4 μg/kg）を静脈内投与したときの血圧，心収縮力及び心拍数を，麻酔下で測定した．その結果，メチロシンはフェネチルアミンによる血圧上昇，心収縮力増加及び心拍数増加を抑制したが，ノルアドレナリンの作用には影響しなかった．なお，メチロシンはノルアドレナリンによる心拍数増加を部分的に抑制する傾向を示したが，これは 4 例中 1 例でノルアドレナリンに対する反応性が低下したことが要因と考えられた．測定終了後に心房ノルアドレナリン含量を測定した結果，メチロシン投与後 24 及び 48 時間で心房ノルアドレナリン含量の減少が認められた．

表 2.6.2.2.3.2-1 イヌにおけるメチロシンのフェネチルアミン又はノルアドレナリン誘発血圧上昇に対する作用

	投与後時間（時間）	例数	刺激前血圧（mmHg）	血圧変化（mmHg） フェネチルアミン投与量（μg/kg）				
				25	50	100	200	400
対照		8	133	+21	+40	+64	+96	+137
メチロシン	24	4	81	+14	+22	+41	+67	+82
	48	4	89	+14	+20	+35	+63	+104

	投与後時間（時間）	例数	刺激前血圧（mmHg）	血圧変化（mmHg） ノルアドレナリン投与量（μg/kg）				
				0.25	0.5	1	2	4
対照		8	133	+34	+50	+69	+104	+144
メチロシン	24	4	81	+27	+43	+69	+102	+139
	48	4	89	+34	+48	+72	+105	+152

イヌにメチロシンを 100 mg/kg で単回静脈内投与し，投与後 24 又は 48 時間にフェネチルアミン又はノルアドレナリンを静脈内投与したときの血圧を麻酔下で測定した．なお，対照群には蒸留水をフェネチルアミン又はノルアドレナリン投与前 24 時間に投与した．刺激前の値は血圧の実測値の平均値，フェネチルアミン又はノルアドレナリン投与後の値は刺激前からの血圧変化量の平均値を示した．

表 2.6.2.2.3.2-2　イヌにおけるメチロシンのフェネチルアミン又はノルアドレナリン誘発心収縮力増加に対する作用

	投与後時間（時間）	例数	刺激前心収縮力（g）	心収縮力変化（g）				
				フェネチルアミン投与量（μg/kg）				
				25	50	100	200	400
対照		8	59	+18	+49	+79	+113	+127
メチロシン	24	4	58	+6	+20	+38	+69	+104
	48	4	61	+7	+10	+28	+59	+106

	投与後時間（時間）	例数	刺激前心収縮力（g）	心収縮力変化（g）				
				ノルアドレナリン投与量（μg/kg）				
				0.25	0.5	1	2	4
対照		8	59	+38	+60	+93	+115	+130
メチロシン	24	4	58	+29	+45	+79	+101	+120
	48	4	61	+32	+41	+94	+131	+158

イヌにメチロシンを 100 mg/kg で単回静脈内投与し，投与後 24 又は 48 時間にフェネチルアミン又はノルアドレナリンを静脈内投与したときの心収縮力を麻酔下で測定した．なお，対照群には蒸留水をフェネチルアミン又はノルアドレナリン投与前 24 時間に投与した．刺激前の値は心収縮力の実測値の平均値，フェネチルアミン又はノルアドレナリン投与後の値は刺激前からの心収縮力変化量の平均値を示した．

表 2.6.2.2.3.2-3　イヌにおけるメチロシンのフェネチルアミン又はノルアドレナリン誘発心拍数増加に対する作用

	投与後時間（時間）	例数	刺激前心拍数（bpm）	心拍数変化（bpm）				
				フェネチルアミン投与量（μg/kg）				
				25	50	100	200	400
対照		8	161	+6	+20	+57	+100	+124
メチロシン	24	4	149	+5	0	+8	+45	+74
	48	4	149	+8	+9	+17	+33	+83

	投与後時間（時間）	例数	刺激前心拍数（bpm）	心拍数変化（bpm）				
				ノルアドレナリン投与量（μg/kg）				
				0.25	0.5	1	2	4
対照		8	161	+3	+20	+41	+68	+91
メチロシン	24	4	149	+6	+10	+24	+42	+57
	48	4	149	+20	+22	+39	+66	+92

イヌにメチロシンを 100 mg/kg で単回静脈内投与し，投与後 24 及び 48 時間にフェネチルアミン又はノルアドレナリンを静脈内投与したときの心拍数を麻酔下で測定した．なお，対照群には蒸留水をフェネチルアミン又はノルアドレナリン投与前 24 時間に投与した．刺激前の値は心拍数の実測値の平均値，フェネチルアミン又はノルアドレナリン投与後の値は刺激前からの心拍数変化量の平均値を示した．

表 2.6.2.2.3.2-4　イヌにおけるメチロシンの心房ノルアドレナリン含量減少作用

	投与後時間（時間）	例数	心房ノルアドレナリン含量（μg/g）
対照		8	2.00
メチロシン	24	4	1.01
	48	4	0.78

イヌにメチロシンを 100 mg/kg で単回静脈内投与し，投与後 24 及び 48 時間にフェネチルアミン又はノルアドレナリンを静脈内投与して血圧，心収縮力及び心拍数を測定後に心房ノルアドレナリン含量を測定した．なお，対照群には蒸留水をフェネチルアミン又はノルアドレナリン投与前 24 時間に投与した．値は心房ノルアドレナリン含量の平均値を示した．

2.6.2.2.3.3　イヌにおけるメチロシンの各種刺激誘発血圧変化に対する作用

［参考資料 4.2.1.1-2］

両側性に迷走神経を切断したイヌを用い，メチロシンの各種刺激誘発血圧変化に対する作用を検討した．試験結果を表 2.6.2.2.3.3-1 及び表 2.6.2.2.3.3-2 に示した．

メチロシンを 10，20 及び 50 mg/kg で単回静脈内投与後 100 分までの評価では，麻酔下でメチロシン投与前に 1 回，投与後 100 分までに 2 回，頸動脈閉塞，迷走神経切断部位の刺激（中枢側又は末梢側），1 μg/kg のメサコリン（ムスカリン受容体作動薬）静脈内投与，1.5 μg/kg のアドレナリン静脈内投与，1 μg/kg のノルアドレナリン静脈内投与又は 200 μg/kg のフェネチルアミン（間接型アドレナリン作動薬）静脈内投与により血圧変化を誘発した．メチロシンを 25，50 及び 100 mg/kg で単回静脈内投与後 16～24 時間までの評価では，麻酔下で 1 μg/kg のノルアドレナリン静脈内投与，500 μg/kg のフェネチルアミン静脈内投与，中枢側の迷走神経刺激又は 500 μg/kg のアンフェタミン（間接型アドレナリン作動薬）静脈内投与により血圧変化を誘発した．その結果，メチロシンは投与後 100 分まではいずれの刺激による血圧変化に対しても影響しなかった．投与後 16～24 時間では，メチロシンはフェネチルアミン又はアンフェタミン投与による血圧上昇を抑制したが，ノルアドレナリン投与又は中枢側の迷走神経刺激による血圧上昇は抑制しなかった．投与後 16～24 時間の血圧測定終了後に心房ノルアドレナリン含量を測定した結果，メチロシン投与群で心房ノルアドレナリン含量の減少が認められた．

表 2.6.2.2.3.3-1　麻酔下イヌにおけるメチロシンの各種刺激誘発血圧変化に対する作用（投与後 100 分まで）

メチロシン投与量（mg/kg）		頸動脈閉塞（1 分）		中枢側迷走神経刺激（10 V，10 秒）		末梢側迷走神経刺激（7 V，7 秒）		メサコリン 1 μg/kg，i.v.		アドレナリン 1.5 μg/kg，i.v.		ノルアドレナリン 1 μg/kg，i.v.		フェネチルアミン 200 μg/kg，i.v.	
		血圧（mmHg）		血圧（mmHg）		血圧（mmHg）		血圧（mmHg）		血圧（mmHg）		血圧（mmHg）		血圧（mmHg）	
		刺激前	刺激後	刺激前	刺激後	刺激前	刺激後	刺激前	刺激後	刺激前	刺激後	刺激前	刺激後	刺激前	刺激後
10	Control	116	+48	114	+56	126	-92	124	-48	126	+38	126	+58	120	+54
	Test 1	114	+50	124	+34	126	-66	106	-22	104	+34	118	+30	122	+46
	Test 2	122	+40	126	+54	128	-60	124	-28	114	+26	116	+46	124	+66
20	Control	138	+42	140	+54	150	-120	144	-36	140	+52	136	+84	138	+72
	Test 1	122	+102	128	+102	132	-102	124	-28	126	+80	124	+70	120	+86
	Test 2	124	+78	120	+94	124	-94	122	-42	118	+90	110	+70	100	+106
20	Control	126	+66	126	+134	134	-118	132	-30	130	+114	138	+116	132	+88
	Test 1	66	0	70	+120	92	-64	84	-32	86	+96	116	+124	100	+54
	Test 2	100	+78	90	+162	106	-94	96	-36	92	+130	100	+126	98	+62
20	Control	122	+50	114	+50	126	-110	122	-32	120	+104	126	+106	118	+68
	Test 1	108	+40	110	+92	124	-118	122	-38	112	+112	120	+114	118	+58
	Test 2	116	+36	108	+68	118	-100	112	-36	108	+116	114	+104	102	+42
50	Control	140	+36	132	+64	144	-118	140	-50	140	+96	134	+110	126	+68
	Test 1	114	+28	120	+102	124	-98	126	-50	128	+82	124	+82	124	+48
	Test 2	122	+38	124	+88	122	-96	118	-52	112	+78	108	+84	102	+44

麻酔下イヌに，表中に示す 7 種の刺激を左から順に 5～7 分間隔で実施し，血圧を測定した（Control：メチロシン投与前）．メチロシンを単回静脈内投与し，投与後 15 分より 7 種の刺激を 5～7 分間隔で行った（Test 1：メチロシン投与後 15～55 分），その後，同様に 7 種の刺激を行った（Test 2：メチロシン投与後 55～100 分）．刺激前は血圧の実測値，刺激後は刺激前からの血圧変化量の個体値を示した．

表 2.6.2.2.3.3-2　麻酔下イヌにおけるメチロシンの各種刺激誘発血圧及び心拍数変化に対する作用（投与後 16～24 時間）

メチロシン 投与量 (mg/kg)	心房 ノルアドレナリン 含量 (μg/g)	ノルアドレナリン 1 μg/kg，i.v.		フェネチルアミン 500 μg/kg，i.v.		中枢側迷走神経 刺激 (10 V，10 秒)		アンフェタミン 500 μg/kg，i.v.			
		血圧（mmHg）		血圧（mmHg）		血圧（mmHg）		血圧（mmHg）		心拍数（bpm）	
		刺激前	刺激後	刺激前	刺激後	刺激前	刺激後	刺激前	刺激後	刺激前	刺激後
対照	1.24	150	+71	138	+138	135	+115	132	+110	141	+110
25	0.79	146	+82	144	+140	138	+62	134	+118	148	+106
	0.92	138	+98	132	+116	134	+140	132	+98	136	+132
50	-	112	+130	112	+142	116	+158	96	+104	156	+86
	0.34	100	+54	104	+88	118	+120	112	+24	140	+36
100	0.79	82	+70	82	+54	90	+28	86	+24	192	+58
	0.59	124	+68	128	+70	132	+102	118	+34	164	+44
	0.85	98	+92	100	+78	110	+108	100	+42	160	+90

麻酔下イヌにメチロシンを単回静脈内投与し，投与後 16～24 時間に麻酔下で表中に示す 4 種の刺激を左から順に 5～7 分間隔で実施し，血圧を測定した．なお，対照群には蒸留水を静脈内投与し，同様に測定した．測定終了後，左心耳ノルアドレナリン含量を測定した．刺激前は血圧及び心拍数の実測値，刺激後は刺激前からの血圧及び心拍数の変化量を示した（対照群：10 例の平均値，メチロシン投与群：個体値）．

2.6.2.2.3.4　　その他の試験（循環器に対する作用）

［参考資料 4.2.1.1-2］

米国 NDA 資料及び文献に記載されているメチロシンの循環器に対する作用を検討したその他の試験結果の概要を表 2.6.2.2.3.4-1 に示した．高血圧自然発症ラットにメチロシンを単回腹腔内投与したとき，20 mg/kg 以上で血圧が低下し，心拍数が減少した．高血圧自然発症ラットにメチロシンを単回経口投与したとき，20 及び 80 mg/kg で血圧が低下し，20 mg/kg で心拍数が減少した．

腎性高血圧ラットにメチロシンを 100 mg/kg で単回腹腔内投与したとき，投与後 15 分より血圧上昇，投与後 4 及び 5 時間に血圧低下が認められ，メチロシンを投与した 4 例中 2 例が測定終了後に死亡した．また，腎性高血圧ラットにメチロシンを 50 mg/kg で 3 日間反復腹腔内投与したとき，2 及び 3 日目のメチロシン投与前の血圧低下が認められたが，投与後 6 時間以内の急性的な作用は認められなかった．

イヌにメチロシンを 100 mg/kg で単回静脈内投与又は 4 時間間隔で 2 回静脈内投与したとき，投与後 24 時間において交感神経刺激による心拍数増加を抑制した．

表 2.6.2.2.3.4-1　メチロシンの循環器に対する作用：その他の試験一覧

試験項目	動物種	メチロシン投与量（mg/kg）	投与回数	投与経路	結果
血圧及び心拍数に対する作用	高血圧自然発症ラット	0.312 5 20 40 80	単回	i.p.	20 mg/kg 以上で血圧低下，心拍数減少
		20 80	単回	p.o.	20 及び 80 mg/kg で血圧低下，20 mg/kg で心拍数減少
	腎性高血圧ラット	100	単回	i.p.	投与後 15 分より血圧上昇，投与後 4 及び 5 時間で血圧低下，4 例中 2 例死亡
		50	3 日 反復	i.p.	2 及び 3 日目のメチロシン投与前血圧低下，投与後 6 時間以内の急性的な降圧作用なし
交感神経刺激誘発心拍数増加に対する作用	イヌ	100	単回 2 回反復	i.v.	交感神経刺激誘発心拍数増加を抑制

2.6.2.3 副次的薬理試験

2.6.2.3.1 メチロシンの各種酵素に対する作用

［参考資料 4.2.1.2-1］

メチロシンの各種酵素に対する阻害作用を検討した．試験結果を表 2.6.2.3.1-1 に示した．

メチロシンを 0.02，0.1 又は 1 mmol/L で処置したとき，いずれの酵素に対しても 50%以上の阻害活性を示さなかった．

表 2.6.2.3.1-1 各種酵素に対するメチロシンの作用

酵素	動物種及び組織	メチロシン処置濃度	結果
フェニルエタノールアミン *N*-メチル基転移酵素	ウシ副腎組織	0.1 mmol/L	10～13%阻害
グルタミナーゼ	イヌ腎組織	1 mmol/L	阻害作用なし
アデニル酸シクラーゼ	ウシ大脳皮質組織	1 mmol/L	阻害作用なし
	ラット副睾丸脂肪細胞	0.1 mmol/L	阻害作用なし
cAMP ホスホジエステラーゼ	ウシ心臓組織	1 mmol/L	阻害作用なし
C_{27}-C_{21} デスモラーゼ	ウシ黄体由来酵素	0.1 mmol/L	19%阻害
インスリナーゼ	ラット肝組織	1 mmol/L	陽性対照阻害剤と比べて明らかな阻害作用なし
キサンチン酸化酵素	精製酵素	0.02 mmol/L	阻害作用なし
ヒスチジン脱炭酸酵素	ラット胃組織	0.1 mmol/L	阻害作用なし

2.6.2.4 安全性薬理試験

安全性薬理試験として，マウス，イヌ，サル，ネコを用いた腹腔内，静脈内又は経口投与による中枢神経系に対する作用，イヌを用いた静脈内投与による心血管系に対する作用，マウス，ラット及びイヌを用いた静脈内，経口又は皮下投与による消化器系に対する作用及びラットを用いた腹腔内投与による腎機能に対する作用を評価した．

2.6.2.4.1 中枢神経系に対する作用

2.6.2.4.1.1 一般症状及び行動に対する作用

［参考資料 4.2.1.3-1］

CF_1 系マウス（雌 5 例／群）にメチロシンを 6，30，150 及び 450 mg/kg の投与量で単回腹腔内投与し，一般症状及び行動に対する作用を検討した結果，450 mg/kg まで中枢神経系に対する作用は認められなかった．

イヌ（14 例）にメチロシンを 100 mg/kg の投与量で単回静脈内投与し，一般症状及び行動に対する作用を検討した結果，投与後 24 時間以降に鎮静，歩行失調及び縮瞳が認められた．また，イヌ（2 例）にメチロシンを 100 mg/kg（50 mg/kg の 1 日 2 回投与）の投与量で 4 日間反復静脈内投与した結果，鎮静及び注意力喪失が認められた．

アカゲザル（8 例）にメチロシンを 50，100，200 及び 400 mg/kg の投与量で単回経口投与し，一般症状及び行動に対する作用を検討した結果，400 mg/kg で閉眼を伴う傾眠及び休息姿勢が認められた．なお，このとき弱い感覚刺激を与えると，一時的に正常動物と同様の攻撃姿勢や警戒行動が認められ，感覚刺激を除くと再び傾眠及び休息姿勢が認められた．

ベニガオザル（2 例）にメチロシンを 400 mg/kg の投与量で 1 日 1 回 4 日間反復経口投与し，投与 4 日に 1 例にドパ（DL 体）を 200 mg/kg の投与量で単回腹腔内投与して，メチロシンの鎮静作用に対するドパの作用を検討した結果，メチロシンによる鎮静作用はドパの投与により完全に拮抗され，拮抗作用はドパの投与後 3 又は 4 時間まで持続した．

ネコ（雌雄 8 例）にメチロシンを 35，50，75，150 及び 200 mg/kg の投与量で単回腹腔内投与し，一般症状及び行動に対する作用を検討した結果，鎮静及び縮瞳が認められた．

以上，メチロシンはイヌ，サル及びネコにおいて主に鎮静作用を示し，傾眠，注意力喪失，歩行失調及び縮瞳が認められた．

2.6.2.4.1.2　　脳内カテコールアミン及びセロトニン含量に対する作用

［参考資料 4.2.1.3-1］

CF_1 系マウス（雌 3 例／群）にメチロシンを 15，45 及び 135 mg/kg の投与量で単回腹腔内投与し，投与後 6 時間に脳内ノルアドレナリン，ドパミン及びセロトニン含量を測定した．また，レセルピンを 0.25，0.75 及び 2.25 mg/kg の投与量で単回腹腔内投与し，投与後 24 時間に同様に脳内モノアミン含量を測定した．

その結果，メチロシンは 15，45 及び 135 mg/kg で脳内ノルアドレナリン含量をそれぞれ 36.2，49.9 及び 71.0%減少させ，脳内ドパミン含量をそれぞれ 27.7，47.5 及び 75.9%減少させたが，135 mg/kg まで脳内セロトニン含量に影響しなかった．一方，レセルピンはいずれの投与量においても脳内ノルアドレナリン，ドパミン及びセロトニン含量を減少させ，2.25 mg/kg ではこれら脳内モノアミン含量をそれぞれ 85.0，88.5 及び 74.3%減少させた．

以上，メチロシンは脳内ドパミン及びカテコールアミン含量を減少させたが，脳内セロトニン含量には影響しなかった．

2.6.2.4.1.3 ヘキソバルビタール誘発睡眠時間に対する作用

［参考資料 4.2.1.3-1］

マウス（雌）にメチロシンを 50，75，112，169 及び 253 mg/kg の投与量で単回腹腔内投与し，投与後 6 時間にヘキソバルビタール誘発睡眠時間に対する作用を検討した．また，レセルピンを 0.38，0.86，1.95 及び 4.4 mg/kg の投与量で単回腹腔内投与し，投与後 3 時間にヘキソバルビタール誘発睡眠時間に対する作用を検討した．ヘキソバルビタールは 100 mg/kg の投与量で単回腹腔内投与した．

その結果，メチロシンは，253 mg/kg でヘキソバルビタール誘発睡眠時間を 2.4 倍延長させた．一方，比較対照としたレセルピンは，4.4 mg/kg でヘキソバルビタール誘発睡眠時間を 3 倍延長させた．

以上，メチロシンはヘキソバルビタール誘発睡眠時間を延長させたが，その作用はレセルピンと比較して同等以下であった．

2.6.2.4.1.4 痙攣に対する作用

［参考資料 4.2.1.3-1］

マウスにメチロシンを 12.5，25，50，100 及び 200 mg/kg の投与量で単回腹腔内投与し，投与後 1～6 時間に最大電撃痙攣法により抗痙攣作用を検討した．

その結果，メチロシンは 200 mg/kg まで抗痙攣作用を示さなかった．

2.6.2.4.1.5 抗痙攣薬の薬効に対する作用

［参考資料 4.2.1.3-1］

CF_1 系マウス（雌）にメチロシンを 15，45 及び 135 mg/kg の投与量で単回腹腔内投与し，投与後 6 時間に最大電撃痙攣法によりメタゾラミド，ジフェニルヒダントイン，フェノバルビタール及びアセタゾラミドの抗痙攣作用に対する影響を検討した．また，レセルピンを 0.25，0.75 及び 2.25 mg/kg の投与量で単回腹腔内投与し，投与後 24 時間にこれらの抗痙攣作用に対する影響を検討した．抗痙攣作用は，最大電撃刺激による強直性伸展痙攣の発生率を 50％抑制する投与量（ED_{50} 値）を指標に評価した．

その結果，メチロシンは 135 mg/kg までメタゾラミド，ジフェニルヒダントイン及びフェノバルビタールの ED_{50} 値に影響しなかった．また，メチロシンはアセタゾラミドの ED_{50} 値をわずかに低下させたが，有意な変化ではなかった．一方，レセルピンはいずれの投与量に

おいてもメタゾラミド，ジフェニルヒダントイン，フェノバルビタール及びアセタゾラミドの ED_{50} 値を上昇させ，メタゾラミドの抗痙攣作用に対して拮抗的に作用した．

CF_1 系マウス（雌）にメチロシンを 50 及び 100 mg/kg の投与量で 6 時間ごとに 2 日間反復経口投与し，最終投与後 6 時間に最大電撃痙攣法によりメタゾラミドの抗痙攣作用に対する作用を検討した．

その結果，メチロシンはいずれの投与量においてもメタゾラミドの ED_{50} 値を上昇させ，メタゾラミドの抗痙攣作用に対して拮抗的に作用した．このときの 100 mg/kg における脳内ノルアドレナリン及びドパミン含量は，対照群に比べてそれぞれ 86.0 及び 82.4%減少しており，メチロシンの単回腹腔内投与時（2.6.2.4.1.2）と比較して脳内カテコールアミンの減少幅は大きかった．また，メチロシンを反復投与しても脳内セロトニン含量には影響しなかった．

CF_1 系マウス（雌）にレセルピンを 2 mg/kg の投与量で単回腹腔内投与し，レセルピン投与後 24 時間にメチロシンを 150 mg/kg の投与量で単回腹腔内投与し，メチロシン投与後 4 時間にメタゾラミドの抗痙攣作用に対するレセルピンの拮抗作用について，メチルドパ及びアンフェタミン処置による回復性を検討した．回復性は，最大電撃刺激による強直性伸展痙攣の発生率を 50%抑制する投与量（ED_{50} 値）を指標に評価した．

その結果，メチルドパ及びアンフェタミンは，レセルピン投与によるメタゾラミドの ED_{50} 値上昇を抑制し，その抑制の程度はレセルピンを単独で投与したときと比べてレセルピン及びメチロシンを投与したときに増強した．

以上，メチロシンは脳内カテコールアミンを減少させ，メタゾラミドの抗痙攣作用に対して拮抗的に作用したが，その程度はレセルピンに比べ弱かった．また，メチロシンは脳内セロトニン含量には影響しなかった．

2.6.2.4.1.6　　オペラント行動に対する作用

［参考資料 4.2.1.3-1］

ラット（3 例／群）を用い，コンデンスミルクを報酬とするレバー押し行動の条件付け訓練を施し，メチロシンを 3，12 及び 48 mg/kg の投与量で単回経口投与したときの正強化刺激（報酬）条件付けのオペラント行動に対する作用を検討した．メチロシンの投与前及び投与後 30 分に 30 分間のレバー押しテストを実施し，レバー押し行動回数を計測した．

その結果，メチロシンは 48 mg/kg までレバー押し行動回数に影響しなかった．

ラット（6例／群），イヌ（4例／群，対照群は2例）及びリスザル（12例／群）を用い，電撃刺激から回避するためのレバー押し行動の条件付け訓練を施し，メチロシンの負強化刺激（電撃）条件付けのオペラント行動に対する作用を検討した．メチロシンの投与後 2 又は 3 時間ごとに 30 分間のレバー押しテストを実施し，電撃刺激から回避するためのレバー押し行動回数を計測した．ラットでは 100 mg/kg の投与量で単回腹腔内投与，イヌでは 150 mg/kg の投与量で単回経口投与，リスザルでは 25 及び 50 mg/kg の投与量で単回腹腔内投与又は 50 mg/kg の投与量で単回経口投与した．

その結果，メチロシンはいずれの動物種においても電撃刺激回避のレバー押し行動回数を減少させた．なお，メチロシンのサルにおける電撃刺激回避のレバー押し行動に対する抑制作用は，レセルピンによる抑制作用と比較して明らかな差を示さなかった．また，向精神薬やレセルピンと同様に，メチロシンの電撃刺激回避のレバー押し行動に対する抑制作用は，抗コリン薬のベンツトロピンにより拮抗された．

以上，メチロシンは正強化刺激（報酬）条件付けのオペラント行動に対して影響しなかったが，負強化刺激（電撃）条件付けのオペラント行動を抑制した．

2.6.2.4.2 心血管系に対する作用

2.6.2.4.2.1 覚醒下のイヌにおける血圧及び心拍数に対する作用

［参考資料 4.2.1.3-1］

覚醒下のイヌ（1～2 例／群）にメチロシンを 50 及び 100 mg/kg/日の投与量（25 及び 50 mg/kg を 1 日 2 回投与）で 4 日間反復静脈内投与し，血圧（収縮期，拡張期及び平均血圧）及び心拍数に対する作用を検討した．

その結果，メチロシンはいずれの投与量においても初回投与時及び反復投与後の血圧及び心拍数に作用を示さなかった．なお，100 mg/kg では，一般状態観察で鎮静及び注意力喪失が認められたことから，薬理作用が十分に発揮される投与量と考えられた．

以上より，覚醒下のイヌにおいてメチロシンは血圧及び心拍数に影響しなかった．

2.6.2.4.2.2 麻酔下のイヌにおける血圧，心拍数及び心電図に対する急性作用

［参考資料 4.2.1.3-1］

迷走神経を切断した麻酔イヌ（1～3 例／群）にメチロシンを 10，20 及び 50 mg/kg の投与量で単回静脈内投与し，投与後 60 分までの平均血圧，心拍数及び心電図に対する急性作用を検討した．

その結果，メチロシンは 20 mg/kg の 1/3 例及び 50 mg/kg の 1/3 例で一過性の血圧低下を示したが，平均血圧，心拍数及び心電図に対する明らかな急性作用を示さなかった．なお，50 mg/kg の 2/3 例で顕著かつ持続的な血圧低下による心血管虚脱を示し，うち 1 例が死亡したが，メチロシンの薬理作用に基づくカテコールアミンの減少は投与後 60 分でもほとんど発現せず（表 2.6.2.2.2.1-1），覚醒下の 100 mg/kg（50 mg/kg を 1 日 2 回投与）では血圧に対する影響が認められない（2.6.2.4.2.1）ことから，死因は麻酔の影響と考えられた．

2.6.2.4.3 呼吸系に対する作用

［参考資料 4.2.3.1-1，4.2.3.2-1］

呼吸系に対する安全性薬理試験として独立した試験は実施していない．

マウス及びラットにおける単回投与毒性試験において呼吸緩徐，ラットにおける 13 週間反復投与毒性試験において呼吸数増加，イヌにおける 33 週間反復投与毒性試験において浅速呼吸が認められた．これらの呼吸器症状は，これらとともに認められた自発運動減少及び鎮静又は活動性亢進に付随した変化と考えられ，ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験において器官重量，剖検及び病理組織学的検査で呼吸系に対する影響を示唆する変化は認められなかった．

2.6.2.4.4 消化器系に対する作用

［参考資料 4.2.1.3-1］

マウスにメチロシンを 100 mg/kg の投与量で単回皮下投与し，消化管輸送能に対する作用を検討した．炭末懸濁液を経口投与し，メチロシンの投与後 1，2，6 及び 24 時間における消化管内の炭末移動距離を測定した．

その結果，メチロシンは投与後 1 時間に炭末移動距離をわずかに亢進させたが，投与後 2 時間以降の炭末移動距離には影響しなかった．

ラットにメチロシンを 100 及び 200 mg/kg の投与量で単回経口投与し，胃排出能に対する作用を検討した．メチロシンの投与後 30 分にペレット状のアンバーライト（不溶性のイオン交換樹脂）を一定数経口投与し，その 4 時間後に胃内に残留したペレット数を計測した．

その結果，メチロシンは 200 mg/kg で胃内残留ペレット数の高値を示し，胃排出を抑制した．無影響量は 100 mg/kg であった．

イヌ（雌）にメチロシンを 100 mg/kg の投与量で単回経口投与又は静脈内投与し，胃酸分泌に対する作用を検討した．また，レセルピンを 0.032 mg/kg の投与量で経口投与又は 8

mg/kg の投与量で単回静脈内投与した．経口投与では投与後 6 時間まで，静脈内投与では投与後 5 時間まで 1 時間ごとに胃瘻から胃液を採取し，胃液量及び胃酸分泌量を測定した．

その結果，メチロシンはいずれの投与経路においても胃酸分泌に影響しなかった．一方，レセルピンはいずれの投与経路においても胃液量及び胃酸分泌量を増加させた．

以上，メチロシンはイヌの胃液及び胃酸分泌に影響しなかったが，ラットの胃排出能を抑制し，マウスでは消化管輸送能を亢進させた．

2.6.2.4.5 腎機能に対する作用

［参考資料 4.2.1.3-1］

ラットを用い，メチロシンを 10 及び 100 mg/kg の投与量で単回腹腔内投与し，投与後 5 時間までの蓄尿及び投与後 5～24 時間の蓄尿を用いて，尿量及び尿電解質排泄量に対する作用を検討した．

その結果，いずれの投与量においても投与後 24 時間まで尿量及び尿電解質排泄量に影響しなかった．

2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験

薬力学的薬物相互作用試験は実施していない．

2.6.2.6 その他の薬理試験

2.6.2.6.1 その他の *in vitro* 試験

［参考資料 4.2.1.1-5］

米国 NDA 資料に記載されているメチロシンのその他の *in vitro* 試験概要を表 2.6.2.6.1-1 に示した．

表 2.6.2.6.1-1　各種 *in vitro* 評価系におけるメチロシンの作用

評価系	動物種及び組織	メチロシン処置濃度	結果
黄体形成ホルモン惹起 cAMP 生成	ウシ黄体新鮮切片	0.1 mg/mL	影響なし
脂肪合成	ラット副睾丸脂肪由来脂肪細胞	100 μ mol/L	影響なし
インスリン拮抗活性	ラット副睾丸脂肪由来脂肪細胞	2 μ g/vial	42%阻害
ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド還元	ウシ心臓粗ミトコンドリア画分	1 μ mol/L	影響なし
In vitro 抗菌及び抗真菌作用	各種細菌及び真菌 20 種	0.1，0.4, 1.0 mg/mL	0.4 mg/mL で 5 種に活性あり
細菌のメタン生成に対する作用	ウシの第一胃液由来メタン生成細菌	0.25 mg/mL	5%阻害
抗マイコプラズマ作用		1 mg/mL	作用なし
抗ウイルス活性スクリーニング	ヒト口腔類上皮がん細胞株 KB 細胞に感染させたウイルス 6 種	0.2 mg/mL	作用なし 宿主細胞に対する毒性なし
抗トリ白血病 T ウイルス活性		11～300 μ g/mL	抗ウイルス活性なし
ヒト腺がん及び扁平上皮がんの増殖及び転移に対する作用	孵化鶏卵へのがん移植モデル	7.5～15 mg/egg	影響なし
補体阻害作用	ヒト及びモルモット血清	340 μ mol/L	作用なし

2.6.2.6.2　その他の *in vivo* 試験

2.6.2.6.2.1　正常マウスにおけるメチロシンのカテコールアミン含量低下作用に対する各種薬剤の影響

［参考資料 4.2.1.1-5］

正常マウスにおけるメチロシンのカテコールアミン含量低下作用に対する，カテコールアミンの生合成又は代謝に影響する薬剤の影響を検討した．試験結果の概要を表 2.6.2.6.2.1-1 に示した．メチロシンとカテコールアミン含量を減少させる薬剤を併用すると，カテコールアミン含量が相加的に減少した．また，メチロシンとカテコールアミンを増加させる薬剤を併用すると，組織中カテコールアミン増加作用を減弱させる傾向にあった．

表 2.6.2.6.2.1-1　正常マウスにおけるメチロシンのカテコールアミン含量低下作用に対する各種薬剤の影響

試験系	評価項目	併用薬	メチロシン 投与量 投与回数 投与経路	結果
正常 マウス	脳及び心臓 カテコール アミン含量	ドパミンβ水酸化酵素阻害薬 （ヒドララジン又はジスルフィラム）	10 mg/kg 単回 腹腔内投与	メチロシンのノルアドレナリン減少作用を増強，ドパミン減少作用を抑制
		モノアミン酸化酵素阻害薬 （フェニプラジン）	75 mg/kg 単回 腹腔内投与	メチロシンのノルアドレナリン，ドパミン減少作用を抑制
		ドパ脱炭酸酵素阻害薬 （ベンセラジド）	100 mg/kg 単回 経口投与	メチロシンのノルアドレナリン減少作用を増強，ドパミン減少作用を抑制
	心臓 カテコール アミン含量	ドパ脱炭酸酵素阻害薬 （カルビドパ）	40 mg/kg 単回 経口投与	メチロシンのノルアドレナリン減少作用を抑制
		αメチルフェニルアラニン	100 mg/kg 単回 腹腔内投与	メチロシンのノルアドレナリン減少作用を増強

2.6.2.6.2.2　正常ラットにおけるメチロシンのチラミン誘発血圧上昇抑制作用に対する各種薬剤の影響

［参考資料 4.2.1.1-5］

正常ラットにおけるメチロシンのチラミン誘発血圧上昇抑制に対するノルアドレナリン，ハルミン（モノアミン酸化酵素 A 阻害薬），DOPS（ノルアドレナリン補充薬），αメチルドパ（中枢アドレナリンα受容体作動薬）及びαメチルノルアドレナリン（αメチルドパの活性代謝物）の影響を検討した．その結果，交感神経終末のノルアドレナリン量を増加させるノルアドレナリン，ハルミン及び DOPS はメチロシンのチラミン誘発血圧上昇抑制作用を回復させたが，中枢アドレナリン作動薬であるαメチルドパ及びαメチルノルアドレナリンは同作用に影響しなかった．

2.6.2.6.2.3　アンフェタミンの中枢興奮作用に対するメチロシンの影響

［参考資料 4.2.1.1-5］

マウスにおけるアンフェタミンによる中枢興奮作用に対するメチロシンの影響を検討した．メチロシンをマウスに 40 mg/kg で腹腔内投与し，投与後 6.5 時間にアンフェタミンを 0.5, 1.5 及び 4.5 mg/kg で皮下投与した．対照群には生理食塩液を投与した．その結果，対照群で

認められたアンフェタミンによる用量依存的な興奮行動は，メチロシンの投与によりほぼ完全に抑制された．

2.6.2.6.2.4 高血圧自然発症ラットの血圧に対するメチロシン及びカルビドパの併用投与の作用

［参考資料 4.2.1.1-5］

高血圧自然発症ラットの血圧に対するメチロシン及びカルビドパ（ドパ脱炭酸酵素阻害薬）の併用投与による作用を検討した．高血圧自然発症ラットにカルビドパを 25 mg/kg で腹腔内投与し，投与後 5 分にメチロシンを 0.078，0.156，0.312，1.25 及び 20 mg/kg で腹腔内投与して，覚醒下で血圧及び心拍数を測定した．その結果，カルビドパはメチロシンの血圧低下作用を増強した．

2.6.2.6.2.5 腎性高血圧ラットの血圧及び心拍数に対するメチロシン及びメチルドパの併用投与の作用

［参考資料 4.2.1.1-5］

腎性高血圧ラットの血圧及び心拍数に対するメチロシン及びメチルドパの併用投与による作用を検討した．腎性高血圧ラットにメチロシンを 200 mg/kg で腹腔内投与し，投与後 7 時間にメチルドパを 40 mg/kg で腹腔内投与した．その結果，メチロシンはメチルドパの血圧低下及び心拍数増加作用に対して影響しなかった．

2.6.2.6.2.6　　その他の *in vivo* 試験一覧

米国 NDA 資料に記載されているその他の *in vivo* 試験結果の概要を表 2.6.2.6.2.6-1 に示した.

［参考資料 4.2.1.1-5］

表 2.6.2.6.2.6-1　各種 *in vivo* 評価系におけるメチロシンの作用（カテコールアミン含量減少作用及び循環器に対する作用以外）

評価系	動物種	メチロシン投与量, 投与回数及び投与経路	結果
L-m-チロシンから L-ドパへの変換に対する影響	マウス	75 mg/kg 単回腹腔内投与	影響なし
カラゲニン惹起足浮腫	ラット	10 及び 100 mg/kg 単回経口投与	影響なし
ビール酵母誘発炎症性疼痛	ラット	128 mg/kg 単回経口投与	鎮痛作用なし
ゴナドトロピン阻害評価	ラット	500 mg/kg 7 日間混餌投与	体重，精巣・精嚢及び腹側前立腺重量に変化なし
生殖能力に対する作用	マウス	1 mg/日 12 日間反復経口投与	交配，卵子の輸送，着床及び胎児の発育に影響なし，31%の体重増加抑制
着床に対する作用	妊娠ラット	1.5 mg/日 単回又は 4 日間反復経口投与	黄体・胎児数に影響なし
精子形成に対する作用	ラット	100 mg/kg 14 日間反復経口投与	影響なし
エストロゲンの発情誘発効果に対する作用	ラット	100 及び 200 mg/kg 経口投与	影響なし
受精膜形成に対する作用	ウニ	100～500 μ g/mL	影響なし
ストレプトゾシン誘発糖尿病モデル	ラット	300 mg/kg 単回皮下投与	血糖値が 18%低下した
脂肪合成に対する作用	マウス	100 mg/kg 単回皮下投与	影響なし
摂餌量に対する作用	ラット	33 mg/kg 単回皮下投与	影響なし
Schistosoma 感染に対する作用	マウス	0.3% 14 日間混餌投与	影響なし
アスカリス感染に対する作用	マウス	0.3% 9 日間混餌投与	影響なし
駆虫活性評価	ヒツジ ウシ	200，400 mg/kg 経口投与	作用なし
コクシジウム感染に対する作用	トリ	0.1% 混餌投与	影響なし
マイコプラズマ感染に対する作用	トリ	250 mg/kg 皮下投与	影響なし
アジュバント惹起遅発性皮膚反応に対する作用	ラット	30 mg/kg 2 日間反復経口投与	影響なし

2.6.2.7 考察及び結論

In vitro 試験では，メチロシンは，ウシ副腎髄質より精製したチロシン水酸化酵素及びモルモット脳ホモジネートのチロシン水酸化酵素による L-チロシンから L-ドパへの変換を競合的に阻害し，ウシ副腎髄質由来酵素における Ki 値は 17 μmol/L（3.3 μg/mL）であった．日本人健康成人にメチロシンを単回経口投与したときの血漿中メチロシン濃度推移［2.7.2.2.2.1］から，メチロシンは 250 mg 以上の単回経口投与により，Ki 値を超える血漿中濃度を 4 時間以上維持すると考えられた．

In vivo 試験では，メチロシンは，正常ラットの脳及び心房カテコールアミン含量並びに正常サルの脳，交感神経鎖，心房，脾臓及び副腎のカテコールアミン含量及び尿中カテコールアミン代謝物（MHPG）含量を減少させた．メチロシンは，生体内において各種組織でのカテコールアミン生合成を阻害し，組織中カテコールアミン含量を減少させ，それに伴って尿中のカテコールアミン代謝物含量を減少させたと考えられた．

ラット及びイヌにおいて，メチロシンは，チラミンやフェネチルアミンなどの間接型アドレナリン作動薬により誘発した血圧上昇を，投与後 18 時間以降に抑制した．しかし，直接型アドレナリン作動薬であるノルアドレナリンにより直接交感神経を刺激して誘発した血圧上昇には抑制作用を示さなかった．また，メチロシンは，間接型アドレナリン作動薬により誘発した血圧上昇を，100 分前の単回静脈内投与では抑制しなかった．間接型アドレナリン作動薬は，組織中で産生された内因性ノルアドレナリンを交感神経終末から遊離させることで，血圧の上昇及び心拍数の増加などを誘発する [1) 2)]．したがって，メチロシンは組織中カテコールアミン含量を減少させ，間接型アドレナリン作動薬によって交感神経終末から遊離されるカテコールアミン量を減らすことにより血圧上昇を抑制し，その効果発現には時間を要すると考えられた．なお，メチロシンは，チロシン水酸化酵素以外に検討した 8 種の酵素に対する阻害作用を示さなかった．

以上より，メチロシンはカテコールアミンの生合成律速酵素であるチロシン水酸化酵素を選択的に阻害し，カテコールアミン生合成を特異的に抑制することで，既存薬である α_1 遮断薬や β 遮断薬などの交感神経遮断薬とは異なる作用機序により，褐色細胞腫患者におけるカテコールアミン分泌過剰に伴う高血圧などの諸症状を改善すると考えられた．

安全性薬理試験では，メチロシンは薬理作用であるカテコールアミン生合成抑制作用に基づき，主に中枢神経系及び消化器系に対する作用を示した．中枢神経系に対する作用として，メチロシンは，マウス，ラット及びサルの脳内のカテコールアミン含量を減少させ，イヌ，サル又はネコの一般症状及び行動観察において鎮静，傾眠，注意力喪失，歩行失調及び縮瞳を示した．同様の中枢神経系に対する作用は，ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験においても認められた．メチロシンはマウスのヘキソバルビタール誘発睡眠時間を延長させた

が，その作用は類薬のレセルピンと比較して同等以下であった．その他，メチロシンは，抗痙攣作用を示さず，抗痙攣薬であるメタゾラミドに対して拮抗的に作用し，また，負強化刺激（電撃）に対する回避行動を抑制した．これらは，いずれもメチロシンによる脳内カテコールアミン含量の減少に起因した影響と考えられた．なお，レセルピンは脳内のカテコールアミンだけでなくセロトニンの含量も減少させたが，メチロシンは脳内セロトニン含量には影響しなかった．脳内セロトニンの枯渇は不安やうつなどの精神症状に関与することから，メチロシンの中枢神経系に対する作用はレセルピンよりも弱い可能性が考えられた．

心血管系に対する作用は，覚醒下のイヌを用いて 100 mg/kg/日（50 mg/kg の 1 日 2 回投与）を 4 日間反復静脈内投与して評価したが，メチロシンは血圧及び心拍数に影響しなかった．本試験では一般状態変化として鎮静及び注意力喪失が認められていたことから，メチロシンの薬理作用は発揮されていたと考えられ，メチロシンは正常動物の血圧には影響しにくいと考えられた．また，迷走神経を切断した麻酔下のイヌを用いて単回静脈内投与によるメチロシンの心血管系に対する急性作用を評価したが，投与後 60 分まで血圧，心拍数及び心電図に対する明らかな影響は認められなかった．メチロシンは投与後 100 分までの迷走神経反射による昇圧反応を抑制しなかったことから，心血管系に対する急性変化が生じる可能性は低いと考えられた．なお，イヌを用いた 33 週間反復経口投与毒性試験において，メチロシンは最大耐量である 100 mg/kg/日（50 mg/kg の 1 日 2 回投与）まで心電図及び心拍数に影響しなかった．

メチロシンの呼吸系に対する独立した安全性薬理試験は実施していない．マウス及びラットを用いた単回投与毒性試験において呼吸緩徐，ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験において呼吸数増加，イヌを用いた 33 週間反復投与毒性試験において浅速呼吸が認められた．これらの呼吸器症状は，これらとともに認められた自発運動減少及び鎮静又は活動性亢進に付随した変化と考えられ，ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験において器官重量，剖検及び病理組織学的検査で呼吸系に対する影響を示唆する変化は認められなかったことから，メチロシンが呼吸系に対して明らかな作用を示す可能性は低いと考えられた．

消化器系に対する作用として，メチロシンはマウスで消化管輸送能を亢進させ，ラットで胃排出能を抑制したが，イヌの胃酸分泌に影響しなかった．イヌを用いた反復投与毒性試験で認められた嘔吐及び下痢といった消化器症状は，これらメチロシンの胃排出能や消化管輸送能への作用に関連した変化と考えられた．

腎機能に対する作用として，メチロシンはラットの投与後 24 時間まで尿量及び尿電解質排泄量に影響しなかった．

以上，メチロシンは中枢神経系への作用としてカテコールアミン生合成抑制作用に基づく鎮静作用などを示し，また，消化器系に対する影響として消化管輸送能の亢進作用及び胃排出能の抑制作用を示した.

メチロシンは，薬力学的薬物相互作用試験が実施されていないが，薬理作用及び海外の臨床使用成績より，アルコール，睡眠薬，鎮静剤及び精神安定剤などの中枢神経系抑制薬の鎮静作用を増強する可能性，またフェノチアジン又はハロペリドールの錐体外路障害を増強する可能性がある[3)]．したがって，メチロシン服薬時はアルコールや薬剤によるこれら症状の増強に十分注意する必要がある.

以上，メチロシンはカテコールアミンの生合成を抑制することで，カテコールアミン分泌過剰に伴う諸症状や合併症を改善することが期待され，国内の褐色細胞腫患者における新たな治療薬となり得る.

2.6.2.8 図表

図表は本文中に記載した.

2.6.2.9 参考文献

1） von Euler U, Lishajko F. Release of noradrenaline from adrenergic transmitter granules by tyramine. Experientia. 1960;16:376-7.

2） Burn JH, Rand MJ. The effect of precursors of noradrenalin on the response to tyramine and sympathetic stimulation. Br J Pharmacol Chemother. 1960;15:47-55.

3） Valeant Pharmaceuticals North America LLC. DEMSER® Prescribing Information. issued December 2017.（DEMSER® 添付文書, 2017 年 12 月発行）.

2.6.3 薬理試験の概要表

小野薬品工業株式会社

目次

2.6.3 薬理試験の概要表 3
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 6
2.6.3.3 副次的薬理試験 9
2.6.3.4 安全性薬理試験 10
2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験 14

2.6.3 薬理試験の概要表

2.6.3.1 薬理試験：一覧表

被験物質：メチロシン

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	CTD における記載箇所
効力を裏付ける試験					
チロシン水酸化酵素阻害作用	ウシ副腎髄質由来精製酵素	*In vitro*	不明	不明	［4.2.1.1-1］
	モルモット脳組織ホモジネート	*In vitro*	不明	不明	［4.2.1.1-2］
正常ラットにおけるカテコールアミン減少作用	正常ラット	腹腔内	不明	不明	［4.2.1.1-2］
正常サルにおける各組織のカテコールアミン含量減少作用及び尿中カテコールアミン代謝物含量減少作用	正常ベニガオザル	経口	不明	不明	［4.2.1.1-2］ ［4.2.1.1-3］
その他の試験（*In vivo* カテコールアミン含量減少作用）	正常マウス	経口 腹腔内	不明	不明	［4.2.1.1-2］
	正常ラット	経口	不明	不明	［4.2.1.1-2］
	正常モルモット	腹腔内	不明	不明	［4.2.1.1-4］
	正常イヌ	経口	不明	不明	［4.2.1.1-2］
正常ラットにおけるチラミン又はノルアドレナリン誘発血圧上昇に対する作用	正常ラット	腹腔内	不明	不明	［4.2.1.1-2］
イヌにおけるフェネチルアミン又はノルアドレナリン誘発血圧上昇，心収縮力増加及び心拍数増加に対する作用	イヌ	静脈内	不明	不明	［4.2.1.1-2］

2.6.3.1　　薬理試験：一覧表（続き）

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	CTD における記載箇所
イヌにおける各種刺激誘発血圧変化に対する作用	迷走神経切断イヌ	静脈内	不明	不明	［4.2.1.1-2］
血圧及び心拍数に対する作用	高血圧自然発症ラット	経口 腹腔内	不明	不明	［4.2.1.1-2］
血圧及び心拍数に対する作用	腎性高血圧ラット	腹腔内	不明	不明	［4.2.1.1-2］
交感神経刺激誘発心拍数増加に対する作用	イヌ	静脈内	不明	不明	［4.2.1.1-2］

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	CTD における記載箇所
副次的薬理試験					
各種酵素に対する作用	8 種類の酵素	*In vitro*	不明	不明	［4.2.1.2-1］

2.6.3.1　　薬理試験：一覧表（続き）

試験の種類	試験項目	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	CTD における記載箇所
安全性薬理試験						
中枢神経系に対する作用	一般症状及び行動に対する作用	マウス	腹腔内	不明	不明	［4.2.1.3-1］
		イヌ	静脈内	不明	不明	［4.2.1.3-1］
		アカゲザル	経口	不明	不明	［4.2.1.3-1］
		ベニガオザル	経口	不明	不明	［4.2.1.3-1］
		ネコ	腹腔内	不明	不明	［4.2.1.3-1］
	脳内カテコールアミン及びセロトニン含量に対する作用	マウス	腹腔内	不明	不明	［4.2.1.3-1］
	ヘキソバルビタール誘発睡眠時間に対する作用	マウス	腹腔内	不明	不明	［4.2.1.3-1］
	痙攣に対する作用	マウス	腹腔内	不明	不明	［4.2.1.3-1］
	抗痙攣薬の薬効に対する作用	マウス	腹腔内／経口	不明	不明	［4.2.1.3-1］
	オペラント行動に対する作用	ラット	経口	不明	不明	［4.2.1.3-1］
		ラット	腹腔内	不明	不明	［4.2.1.3-1］
		イヌ	経口	不明	不明	［4.2.1.3-1］
		リスザル	腹腔内／経口	不明	不明	［4.2.1.3-1］
心血管系に対する作用	血圧及び心拍数に対する作用	覚醒下イヌ	静脈内	不明	不明	［4.2.1.3-1］
	血圧，心拍数及び心電図に対する急性作用	迷走神経切断麻酔イヌ	静脈内	不明	不明	［4.2.1.3-1］
補足的安全性薬理試験	消化器系に対する作用	マウス	皮下	不明	不明	［4.2.1.3-1］
		ラット	経口	不明	不明	［4.2.1.3-1］
		イヌ	経口／静脈内	不明	不明	［4.2.1.3-1］
	腎機能に対する作用	ラット	腹腔内	不明	不明	［4.2.1.3-1］

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	CTD における記載箇所
薬力学的薬物相互作用試験 該当なし					

2.6.3.2 効力を裏付ける試験

被験物質：メチロシン

試験項目	動物種／系統	投与方法	投与量	試験成績	試験番号
チロシン水酸化酵素阻害作用	ウシ副腎髄質由来精製酵素 モルモット脳組織ホモジネート	*In vitro*	不明 0.1，1，100 μ mol/L	ウシ副腎髄質から精製したチロシン水酸化酵素による L-チロシンから L-ドパへの変換を競合的に阻害し，IC_{50} 値は 25 μ mol/L，Ki 値は 17 μ mol/L であった. モルモット脳組織ホモジネートにおけるチロシン水酸化酵素による L-チロシンから L-ドパへの変換を競合的に阻害し，このときの阻害率は，0.1 μ mol/L で 28%，1 μ mol/L で 79%，100 μ mol/L で 93～97%であった.	不明
正常ラットにおけるカテコールアミン減少作用	ラット（3 例／群）	腹腔内投与	200 mg/kg（単回投与） 50～800 mg/kg（単回投与）	メチロシンを投与後 1～32 時間において，脳ノルアドレナリン及びドパミン含量は減少した．脳ノルアドレナリンは投与後 16 時間に 22.7%，脳ドパミンは投与後 8 時間に 11.3%まで減少し，投与後 32 時間には正常値（無処置群）の 60～70%まで回復した．心房ノルアドレナリン含量は投与後 32 時間まで経時的に減少し，投与後 32 時間では正常値の 70%であった．脳セロトニン含量に有意な変化はなかった. メチロシンを投与後 16 時間に脳及び心房のノルアドレナリン含量を測定した結果，いずれも投与量に応じて減少した.	不明

2.6.3.2　　効力を裏付ける試験（続き）

試験項目	動物種／系統	投与方法	投与量	試験成績	試験番号
正常サルにおける各組織のカテコールアミン含量減少作用及び尿中カテコールアミン代謝物含量減少作用	ベニガオザル（2又は3例／群） ベニガオザル（4例）	経口投与 経口投与	400 mg/kg（1日1回4日間反復投与） 250 mg/kg（1日2回4週間反復投与）	メチロシンの最終投与翌日において，尾状核，視床下部及び交感神経鎖のノルアドレナリン及びドパミン含量は減少した．心房及び脾臓のノルアドレナリン並びに副腎のアドレナリン含量も減少したが，頸動脈のノルアドレナリン並びに心房，脾臓及び頸動脈のドパミン含量は減少しなかった． メチロシンを投与開始後2及び4週並びに休薬後3週の24時間畜尿中カテコールアミン代謝物3-メトキシ-4-ヒドロキシフェニルエチレングリコール（MHPG）含量を測定した結果，投与前に比べて投与開始後2及び4週において有意に減少し，その作用は休薬後3週までに消失した．	不明
その他の試験（*In vivo* カテコールアミン含量減少作用）：正常マウス	マウス	経口投与 腹腔内投与 腹腔内投与 腹腔内投与	100，400 mg/kg（単回投与） 75 mg/kg（単回投与） 37.5，75 mg/kg（単回投与） 不明（3回反復投与）	脳ノルアドレナリン・ドパミン，心臓ノルアドレナリン減少	不明
その他の試験（*In vivo* カテコールアミン含量減少作用）：正常ラット	ラット	経口投与	80～188 mg/kg（13週反復投与）	脳ノルアドレナリン・ドパミン，心臓ノルアドレナリン，脾臓ノルアドレナリン減少，脳セロトニン及び副腎アドレナリン変化なし	不明

2.6.3.2　　効力を裏付ける試験（続き）

試験項目	動物種／系統	投与方法	投与量	試験成績	試験番号
その他の試験（*In vivo* カテコールアミン含量減少作用）：正常モルモット	モルモット	腹腔内投与	80 mg/kg（単回投与） 80 mg/kg（8 回反復投与）	脳，心臓，脾臓ノルアドレナリン減少，脳，脾臓セロトニン変化なし 脳ノルアドレナリン・ドパミン，心臓，脾臓ノルアドレナリン，副腎アドレナリン減少，脳，脾臓セロトニン変化なし	不明
その他の試験（*In vivo* カテコールアミン含量減少作用）：正常イヌ	イヌ	静脈内投与	100 mg/kg（単回投与）	脳，心臓，頸動脈ノルアドレナリン減少	不明
その他の試験（*In vivo* カテコールアミン含量減少作用）：正常イヌ	イヌ	経口投与	25，50，100 mg/kg（13 週反復）	脳ドパミン・ノルアドレナリン，心臓ノルアドレナリン減少，脳セロトニン，副腎アドレナリン変化なし	不明
正常ラットにおけるチラミン又はノルアドレナリン誘発血圧上昇に対する作用	ラット（4～8 例／群）	腹腔内投与	400 mg/kg（単回投与）	メチロシンは投与後 18～20 時間において，チラミン誘発血圧上昇を抑制したが，ノルアドレナリンによる血圧上昇は抑制しなかった．血圧測定終了後において，心房ノルアドレナリン含量の減少が認められた．	不明
イヌにおけるフェネチルアミン又はノルアドレナリン誘発血圧上昇，心収縮力増加及び心拍数増加に対する作用	イヌ（4～8 例／群）	静脈内投与	100 mg/kg（単回投与）	メチロシンは投与後 24 及び 48 時間において，フェネチルアミンによる血圧上昇，心収縮力増加及び心拍数増加を抑制したが，ノルアドレナリンの作用には影響しなかった．測定終了後において，心房ノルアドレナリン含量の減少が認められた．	不明

2.6.3.2　　効力を裏付ける試験（続き）

試験項目	動物種／系統	投与方法	投与量	試験成績	試験番号
イヌにおける各種刺激誘発血圧変化に対する作用	イヌ（1～3 例／群）	静脈内投与	10～100 mg/kg（単回投与）	メチロシンは投与後 100 分まではいずれの刺激による血圧変化に対しても影響しなかった．投与後 16～24 時間では，メチロシンはフェネチルアミン又はアンフェタミン投与による血圧上昇を抑制したが，ノルアドレナリン投与又は中枢側の迷走神経刺激による血圧上昇は抑制しなかった．投与後 16～24 時間の血圧測定終了後において，メチロシン投与群で心房ノルアドレナリン含量の減少が認められた．	不明
その他の試験：血圧及び心拍数に対する作用	高血圧自然発症ラット	腹腔内投与	0.312～80 mg/kg（単回投与）	20 mg/kg 以上で血圧低下，心拍数減少	不明
		経口投与	20，80 mg/kg（単回投与）	20 及び 80 mg/kg で血圧低下，20 mg/kg で心拍数減少	不明
その他の試験：交感神経刺激誘発心拍数増加に対する作用	イヌ	静脈内投与	100 mg/kg（2 回反復投与）	交感神経刺激誘発心拍数増加を抑制	不明

2.6.3.3　　副次的薬理試験

被験物質：メチロシン

試験項目	動物種／系統	投与方法	投与量	試験成績	試験番号
各種酵素に対する作用	8 種類の酵素	*In vitro*	0.02～1 mmol/L	いずれの酵素に対しても 50%以上の阻害活性を示さなかった．	不明

2.6.3.4 安全性薬理試験

被験物質：メチロシン

評価対象となる組織	試験項目	動物種／系統	投与方法	投与量[a]（mg/kg/day）	性別及び動物数／群	方法	特記すべき所見	GLP適用	試験番号
中枢神経系	一般症状及び行動に対する作用	マウス／CF_1	腹腔内	6，30，150，450	雌 5	一般症状及び行動に対する作用を検討	無影響	不適	不明
		イヌ	静脈内	100	14	一般症状及び行動に対する作用を検討	鎮静，歩行失調，縮瞳	不適	不明
		イヌ	静脈内	100[b]（4 日間反復投与）	2	一般症状及び行動に対する作用を検討	鎮静，注意力喪失	不適	不明
		アカゲザル	経口	50，100，200，400	8	一般症状及び行動に対する作用を検討	400 mg/kg：閉眼を伴う傾眠，休息姿勢	不適	不明
		ベニガオザル	経口	400（4 日間反復投与）	2	投与 4 日にドパ 200 mg/kg を腹腔内投与し，メチロシンの鎮静作用に対するドパの作用を検討	メチロシンによる鎮静作用はドパにより完全に拮抗され，拮抗作用はドパの投与後 3 又は 4 時間まで持続	不適	不明
		ネコ	腹腔内	35，50，75，150，200	雌雄 8	一般症状及び行動に対する作用を検討	鎮静，縮瞳	不適	不明
	脳内カテコールアミン及びセロトニン含量に対する作用	マウス／CF_1	腹腔内	15，45，135	雌 3	投与後 6 時間に脳内ノルアドレナリン，ドパミン，セロトニン含量を測定	15，45，135 mg/kg：それぞれ脳内ノルアドレナリン含量を 36.2，49.9，71.0％減少，脳内ドパミン含量を 27.7，47.5，75.9％減少 脳内セロトニン含量には影響せず	不適	不明
	ヘキソバルビタール誘発睡眠時間に対する作用	マウス	腹腔内	50，75，112，169，253	雌	投与後 6 時間にヘキソバルビタール誘発睡眠時間に対する作用を検討	253 mg/kg：ヘキソバルビタール誘発睡眠時間を 2.4 倍延長	不適	不明

a：特に断りがない限り単回投与　　b：50 mg/kg の 1 日 2 回投与

2.6.3.4　　安全性薬理試験（続き）

評価対象となる組織	試験項目	動物種／系統	投与方法	投与量[a]（mg/kg/day）	性別及び動物数／群	方法	特記すべき所見	GLP適用	試験番号
中枢神経系（続き）	痙攣に対する作用	マウス	腹腔内	12.5，25，50，100，200		投与後 1～6 時間に最大電撃痙攣法により抗痙攣作用を検討	無影響	不適	不明
	抗痙攣薬の薬効に対する作用	マウス／CF_1	腹腔内	15，45，135	雌	投与後 6 時間に最大電撃痙攣法によりメタゾラミド，ジフェニルヒダントイン，フェノバルビタール及びアセタゾラミドの抗痙攣作用に対する影響を検討	メタゾラミド，ジフェニルヒダントイン及びフェノバルビタールの抗痙攣作用の ED_{50} 値に対して無影響 アセタゾラミドの抗痙攣作用の ED_{50} 値をわずかに低下	不適	不明
		マウス／CF_1	経口	50，100（6 時間ごとに 2 日間反復投与）	雌	最終投与後 6 時間に最大電撃痙攣法によりメタゾラミドの抗痙攣作用に対する作用を検討	メタゾラミドの ED_{50} 値を上昇させ，メタゾラミドの抗痙攣作用に対して拮抗的に作用	不適	不明
		マウス／CF_1	腹腔内	150	雌	レセルピン 2 mg/kg を腹腔内投与後 24 時間にメチロシンを投与し，メチロシン投与後 4 時間にメタゾラミドの抗痙攣作用に対するレセルピンの拮抗作用について，メチルドパ及びアンフェタミン処置による回復性を検討	メチルドパ及びアンフェタミンは，レセルピン投与によるメタゾラミドの ED_{50} 値上昇を抑制	不適	不明

a：特に断りがない限り単回投与

2.6.3.4　　安全性薬理試験（続き）

評価対象となる組織	試験項目	動物種／系統	投与方法	投与量[a]（mg/kg/day）	性別及び動物数／群	方法	特記すべき所見	GLP適用	試験番号
中枢神経系（続き）	オペラント行動に対する作用	ラット	経口	3，12，48	3	コンデンスミルクを報酬とするレバー押し行動の条件付け訓練を施し，メチロシン投与前及び投与後 30 分に 30 分間のレバー押しテストを実施し，レバー押し行動回数を計測	無影響	不適	不明
		ラット	腹腔内	100	6	電撃刺激から回避するためのレバー押し行動の条件付け訓練を施し，メチロシン投与後 2 又は 3 時間ごとに 30 分間のレバー押しテストを実施し，電撃刺激から回避するためのレバー押し行動回数を計測	電撃刺激回避のレバー押し行動回数を減少 メチロシンの電撃刺激回避のレバー押し行動に対する抑制作用は，抗コリン薬のベンツトロピンにより拮抗	不適	不明
		イヌ	経口	150	4			不適	不明
		リスザル	腹腔内／経口	25，50／50	12			不適	不明
心血管系	血圧及び心拍数に対する作用	覚醒下イヌ	静脈内	50[b]，100[c]（4 日間反復投与）	1～2	血圧（収縮期，拡張期及び平均血圧）及び心拍数に対する作用を検討	無影響	不適	不明
	血圧，心拍数及び心電図に対する急性作用	迷走神経切断麻酔イヌ	静脈内	10，20，50	1～3	投与後 60 分までの平均血圧，心拍数及び心電図に対する急性作用を検討	20 mg/kg 以上で一過性の血圧低下を示す例が認められたが，平均血圧，心拍数及び心電図に対する明らかな急性作用を示さず	不適	不明

a：特に断りがない限り単回投与　　b：25 mg/kg の 1 日 2 回投与　　c：50 mg/kg の 1 日 2 回投与

2.6.3.4　　安全性薬理試験（続き）

評価対象となる組織	試験項目	動物種／系統	投与方法	投与量[a]（mg/kg/day）	性別及び動物数／群	方法	特記すべき所見	GLP適用	試験番号
消化器系	消化管輸送能に対する作用	マウス	皮下	100		炭末懸濁液を経口投与し，メチロシン投与後1，2，6及び24時間に消化管内の炭末移動距離を測定して，消化管輸送能に対する作用を検討	投与後1時間：炭末移動距離をわずかに亢進 投与後2時間以降：無影響	不適	不明
	胃排出能に対する作用	ラット	経口	100，200		投与後30分にペレット状のアンバーライトを一定数経口投与し，その4時間後に胃内に残留したペレット数を計測して，胃排出能に対する作用を検討	200 mg/kg：胃排出を抑制	不適	不明
	胃酸分泌に対する作用	イヌ	経口／静脈内	100	雌	経口投与では投与後6時間まで，静脈内投与では投与後5時間まで1時間ごとに胃瘻から胃液を採取し，胃液量及び胃酸分泌量を測定して，胃酸分泌に対する作用を検討	無影響	不適	不明
腎臓	腎機能に対する作用	ラット	腹腔内	10，100		投与後5時間までの蓄尿及び投与後5～24時間の蓄尿を用いて，尿量及び尿電解質排泄量に対する作用を検討	無影響	不適	不明

a：特に断りがない限り単回投与

2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験

該当なし