目次

1. 非臨床試験計画概略 6
2. 薬理試験 9
2.1 効力を裏付ける試験 9
2.2 副次的薬理試験 10
2.2.1 ミロガバリンの受容体等に対する作用 10
2.2.2 A204-4455 の受容体等に対する作用 10
2.3 安全性薬理試験 10
2.3.1 中枢神経系 10
2.3.2 心血管系 11
2.3.3 呼吸系 11
3. 薬物動態試験 13
3.1 分析法 13
3.2 吸収 13
3.2.1 単回投与時の薬物動態及び用量比例性 13
3.2.2 生物学的利用率 13
3.2.3 反復投与時の薬物動態 13
3.3 分布 14
3.3.1 組織分布試験 14
3.3.2 血漿タンパク結合率 14
3.3.3 血球分布 14
3.3.4 胎盤通過性 15
3.4 代謝（種間比較） 15
3.4.1 In vivo 代謝プロファイル 15
3.4.1.1 生体試料中の代謝物の構造解析 15
3.4.1.2 生体試料中の代謝物の定量的な分析 15
3.5 推定代謝経路 15
3.6 排泄 16
3.6.1 尿中及び糞中排泄 16
3.6.2 胆汁排泄 16
3.6.3 乳汁中排泄 17
3.7 薬物動態学的薬物相互作用 17
4. 毒性試験 18
4.1 反復投与毒性試験 18
4.2 遺伝毒性試験 21
4.3 がん原性試験 21

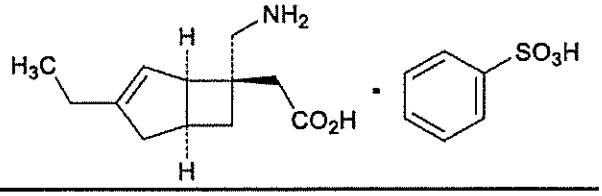
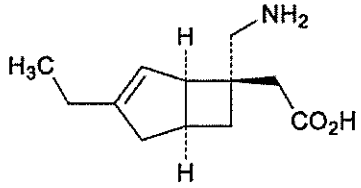
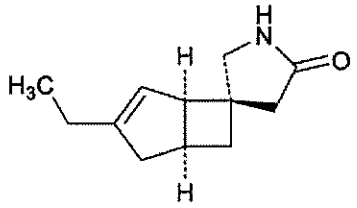
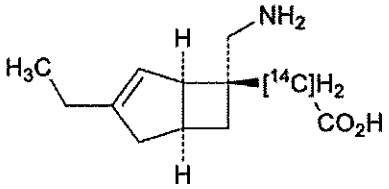
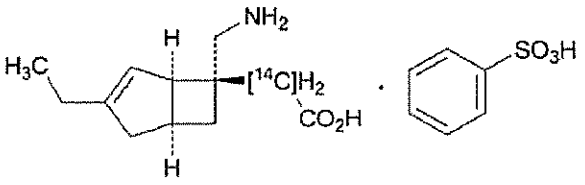
4.4　生殖発生毒性試験 24
4.4.1　受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 24
4.4.2　胚・胎児発生に関する試験 24
4.4.3　出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 25
4.5　局所刺激性試験 27
4.6　その他の毒性試験 27
4.6.1　依存性試験 27
4.6.2　不純物 27
5.　総括及び結論 29
5.1　薬理作用 29
5.2　薬物動態 29
5.3　毒性 30
6.　参考文献一覧 34

略語一覧

略語	略していない表現（英）	略していない表現（日）
APA	action potential amplitude	活動電位振幅
APD	action potential duration	（再分極までの）活動電位持続時間
APD_{30}	action potential duration at 30% repolarization	30%再分極までの活動電位持続時間
APD_{90}	action potential duration at 90% repolarization	90%再分極までの活動電位持続時間
AUC	area under the plasma concentration-time curve	血漿中濃度－時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}12h}$	area under the plasma concentration-time curve up to 12 hours	投与後 12 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}24h}$	area under the plasma concentration-time curve up to 24 hours	投与後 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
AUCinf	area under the plasma concentration-time curve up to infinity	無限大時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
$AUPTC_{0\text{-}8h}$	area under the pain threshold curve up to 8 hours	投与後 8 時間までの疼痛閾値曲線下面積
$AUPTC_{0\text{-}12h}$	area under the pain threshold curve up to 12 hours	投与後 12 時間までの疼痛閾値曲線下面積
$AUPTC_{0\text{-}24h}$	area under the pain threshold curve up to 24 hours	投与後 24 時間までの疼痛閾値曲線下面積
bid	bis in die, twice daily	1 日 2 回
CL	total body clearance	全身クリアランス
Cmax	maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
CYP	cytochrome P450	チトクローム P450
DDI	drug-drug interaction	薬物相互作用
DRG	dorsal root ganglion	後根神経節
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
h	hours	時間
HEK	human embryonic kidney	ヒト胎児腎臓
hERG	human *ether-á-go-go* related gene	ヒト *ether-á-go-go* 関連遺伝子
ICH	International Council for Harmonisation	医薬品規制調和国際会議
IC_{50}	half maximal inhibitory concentration	50%阻害濃度
LC-MS	liquid chromatography-mass spectrometry	液体クロマトグラフィー－質量分析法
LC-MS/MS	liquid chromatography – tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィー－タンデム質量分析法
MATE	multidrug and toxin extrusion	H+／有機カチオンアンチポーター
MC	methylcellulose	メチルセルロース
NOAEL	no observed adverse effect level	無毒性量
OAT	organic anion transporter	有機アニオントランスポーター
OATP	organic anion transporting polypeptide	有機アニオン輸送ポリペプチド
OCT	organic cation transporter	有機カチオントランスポーター
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development	経済協力開発機構
radio-HPLC	high performance liquid chromatography with radio-detector	放射能検出器付き高速液体クロマトグラフィー
STZ	streptozotocin	ストレプトゾトシン

略語	略していない表現（英）	略していない表現（日）
$T_{1/2}$	terminal elimination half-life	終末相の消失半減期
TK	toxicokinetics	トキシコキネティクス
Vss	volume of distribution at steady state	定常状態下の分布容積

化合物一覧

名称	定義	構造式
ミロガバリンベシル酸塩（DS-5565）	原薬	
ミロガバリン（A200-0700）	原薬のフリー体、原薬の活性本体	
A204-4455（[redacted]）	ミロガバリンのラクタム体代謝物、[redacted]	
[^{14}C] 標識ミロガバリン（A207-6077、[^{14}C] 標識 DS-5565 [フリー体]、又は [^{14}C] 標識 A200-0700）	ミロガバリンの [^{14}C] 標識体	
[^{14}C] 標識ミロガバリンベシル酸塩	ミロガバリンの [^{14}C] 標識体のベシル酸塩	

1. 非臨床試験計画概略

ミロガバリンは、電位依存性カルシウムチャネルの $\alpha_2\delta$ サブユニットに強力かつ特異的に結合する $\alpha_2\delta$ リガンドである。現在、糖尿病性末梢神経障害性疼痛、帯状疱疹後神経痛、及び線維筋痛症の治療薬として開発している。$\alpha_2\delta$ リガンドであるプレガバリンは、神経障害性疼痛及び線維筋痛症に伴う痛みに対して最もよく使用されている薬剤のひとつである。プレガバリンの正確な作用機序は明らかになっていないが、動物モデルでの薬理作用発現には電位依存性カルシウムチャネルの $\alpha_2\delta$ サブユニットのサブタイプのひとつである $\alpha_2\delta$-1 への結合が必要であることが、複数の研究から示唆されている[1),2)]。

ミロガバリンの薬理作用を検討するために、以下の試験を実施した。$\alpha_2\delta$-1 及び $\alpha_2\delta$-2 に対するミロガバリンの結合親和性は、ヒト又はラットの $\alpha_2\delta$ サブユニットを導入した細胞から調製した細胞膜画分を用いて検討した。また、ホールセル・パッチクランプ法を用いて、ラット後根神経節（dorsal root ganglion: DRG）ニューロンのカルシウムチャネル電流に対するミロガバリンの作用を検討した。ミロガバリンベシル酸塩の鎮痛作用は、2 種類の末梢性神経障害性疼痛モデル（坐骨神経部分結紮ラット及びストレプトゾトシン［streptozotocin: STZ］誘発糖尿病モデルラット）、1 種類の中枢性神経障害性疼痛モデル（脊髄損傷モデルラット）並びに 2 種類の線維筋痛症モデル（間歇的寒冷ストレスモデルマウス及び Sluka モデルラット）で検討した。

副次的作用のスクリーニングとして、ミロガバリンベシル酸塩及び A204-4455（ヒト主要代謝物）の各種受容体、チャネル、トランスポーター、及び酵素に対する in vitro 薬理作用を、放射性リガンド結合試験系及び酵素試験系を用いて評価した。

ミロガバリンベシル酸塩が生命維持機能に影響を及ぼす可能性を、一連の安全性薬理試験にて検討した。ミロガバリンベシル酸塩が in vitro で心臓の電気生理に及ぼす影響を、ヒト *ether-á-go-go* 関連遺伝子（human *ether-á-go-go* related gene: hERG）を導入したヒト胎児腎臓（human embryonic kidney: HEK）293 細胞を用いる hERG カリウムチャネル電流試験、及びモルモット摘出乳頭筋を用いる活動電位試験にて評価した。ミロガバリンベシル酸塩が in vivo で中枢神経系、心血管系、及び呼吸系に及ぼす影響を、ラットあるいはカニクイザルで評価した。

ミロガバリンベシル酸塩の非臨床薬物動態試験を実施し、吸収、分布、代謝、及び排泄を検討した。生体試料の評価に用いる分析方法を開発し、適切にバリデートした。In vivo 非臨床薬物動態試験は、主にラット及びカニクイザルへのミロガバリンベシル酸塩の非標識体、ミロガバリンの標識体（[^{14}C] 標識ミロガバリン）、又はそのベシル酸塩の経口又は静脈内投与によって実施した。In vitro 非臨床薬物動態試験は、主に動物及びヒト血漿／血液で、[^{14}C] 標識ミロガバリン又はそのベシル酸塩を用いて実施した。ヒト、カニクイザル、及びラットでの血漿タンパク結合率は、A204-4455 についても検討した。

ミロガバリンベシル酸塩の安全性プロファイルは、ラット及びカニクイザルの反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、マウス及びラットのがん原性試験、ラット及びウサギの生殖発生毒性試験、並びにその他の毒性試験（薬物依存性試験、ミロガバリンベシル酸塩の不純物及び

製造工程で生成する中間体の安全性試験など）にて評価した。

毒性試験は、日本の規制当局の関連指針に従うとともに、経済協力開発機構（Organisation for Economic Co-operation and Development: OECD）の試験ガイドライン及び医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（Good Laboratory Practice: GLP）原則への対応として施行された「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令」（厚生省令第 21 号、1997 年 3 月 26 日）（厚生省令第 21 号の一部改正、2008 年 6 月 13 日）に準拠して実施した。毒性試験は、M3(R2)を含む医薬品規制調和国際会議（International Council for Harmonisation: ICH）ガイドラインに準拠して実施した。

ラット及びカニクイザルの 2 及び 4 週間反復投与毒性試験で死亡率及び急性毒性を評価したため、単回投与毒性試験は実施しなかった。毒性試験に用いる非げっ歯類動物種をサルとした根拠は、カニクイザルでの被験物質の代謝経路がヒトでの代謝経路と類似していること、また、サルが一般に中枢神経毒性（薬物依存性を含む）の評価に適した動物種であるためである。独立した薬物依存性試験（下記に示す）を実施した他、4 週間反復投与毒性試験では、8 週間の休薬期間を設け、ミロガバリンベシル酸塩に関連する毒性作用の回復性を評価するとともに、乱用性検討のため退薬症候の有無を評価した。亜慢性反復投与毒性は、ラット及びカニクイザルの 13 週間反復投与毒性試験で評価し、慢性反復投与毒性は、ラット 26 週間反復投与毒性試験及びカニクイザル 39 週間反復投与毒性試験で評価した。遺伝毒性試験及び薬物依存性試験を除くすべての試験で、ミロガバリンのトキシコキネティクス（toxicokinetics: TK）を評価した。ラットの 2 及び 26 週間反復投与毒性試験、並びにカニクイザルの 2 及び 39 週間反復投与毒性試験では、A204-4455 の TK も評価した。

In vitro 遺伝毒性試験として、細菌を用いた復帰突然変異試験及びチャイニーズ・ハムスター肺組織由来細胞を用いた染色体異常試験を実施した。また、in vivo 試験として、ラット骨髄小核試験を実施した。

がん原性試験は、FDA の Special Protocol Assessment を受けた上で、標準的ながん原性試験（マウス及びラットの 104 週間がん原性試験）を実施した。

生殖発生毒性試験として、ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験、ラット及びウサギ胚・胎児発生に関する試験、並びにラット出生前及び出生後の発生に対する毒性試験を実施した。

薬物依存性の評価として、ラット薬物弁別試験（ミダゾラムとの比較）、ラット身体依存性試験、及びアカゲザル自己投与試験を実施した。

関連ガイドライン（ICH Q3A 及び Q3B）を参考とし、不純物の試験を別途実施した。変異原性を有する不純物の評価及び管理は、2.3.S.3.2.2 に示すように、ICH M7 ガイドラインに準拠して実施し、ミロガバリンベシル酸塩の製造工程で生成する[redacted]は、細菌を用いた復帰突然変異試験で評価した。

ミロガバリンベシル酸塩は光吸収性を示さず、波長範囲 290～700 nm でのモル吸光係数は 1000 L/(mol·cm)未満であった。また、有色ラットの眼組織及び皮膚への分布はわずかであることが示された。そのため、ICH S10 ガイドラインに従って光毒性試験は実施しなかった。

ミロガバリンベシル酸塩は標準的な毒性試験で免疫系に影響を及ぼさなかったため、ICH S8ガイドラインに従って、免疫毒性試験を別途実施する必要はないと判断された。

2. 薬理試験

2.1 効力を裏付ける試験

ミロガバリンの in vitro 活性を評価するため、ヒト又はラット $\alpha_2\delta$ サブユニットを導入した細胞から調製した細胞膜画分を用いて、ミロガバリンの結合親和性を検討した。ミロガバリンはヒト及びラット $\alpha_2\delta$-1 サブユニットに対し、プレガバリンを上回る高い結合親和性を示した。ミロガバリンはヒト及びラット $\alpha_2\delta$-2 サブユニットにも結合親和性を示したが、$\alpha_2\delta$-1 サブユニットからの解離半減期は $\alpha_2\delta$-2 サブユニットからの解離半減期より長いため、$\alpha_2\delta$-1 サブユニットに対する薬理活性の方が相対的に強く表れると推定される。プレガバリンの $\alpha_2\delta$-1 サブユニットからの解離半減期は、$\alpha_2\delta$-2 サブユニットからの解離半減期と同程度であった。放射性リガンド結合試験（2.2 項に示す）では、ミロガバリンは、受容体、チャネル、トランスポーター、及び酵素（計 186 種）に対して 50 μmol/L で影響を及ぼさず、特異的な $\alpha_2\delta$ リガンドであることが示された。ホールセル・パッチクランプ法を用いた検討では、ミロガバリン 50 μmol/L 及びプレガバリン 200 μmol/L はラット DRG ニューロンのカルシウムチャネル電流を抑制した。

末梢性神経障害性疼痛の実験動物モデル 2 種類を用いて、ミロガバリンベシル酸塩及びプレガバリンの鎮痛作用を評価した。坐骨神経部分結紮ラットでは、3 及び 10 mg/kg のミロガバリンベシル酸塩を単回経口投与したとき、疼痛閾値がそれぞれ投与 2～6 時間後及び投与 2～8 時間後に有意に上昇した。プレガバリン（10 及び 30 mg/kg）群では、投与 2～4 時間後に疼痛閾値が有意に上昇した。投与後 8 時間までの疼痛閾値曲線下面積（area under the pain threshold curve up to 8 hours: $AUPTC_{0\text{-}8h}$）が用量依存的に上昇し、ミロガバリンベシル酸塩では 3 及び 10 mg/kg で、プレガバリンは 10 及び 30 mg/kg で有意な上昇が認められた。STZ 誘発糖尿病ラットでは、ミロガバリンベシル酸塩（2.5、5、及び 10 mg/kg 1 日 2 回）及びプレガバリン（10、20、及び 40 mg/kg 1 日 2 回）の経口投与により、疼痛閾値の低下が改善された。ミロガバリンベシル酸塩（10 mg/kg）は、疼痛閾値を投与 12 時間後まで正常レベルに維持させた。投与 5 日目の $AUPTC_{0\text{-}12h}$ に基づく 50%有効量（50% effective dose: ED_{50}）は、ミロガバリンベシル酸塩及びプレガバリンでそれぞれ 2.5 mg/kg 未満及び 29.3 mg/kg であった。ミロガバリンベシル酸塩は、末梢性神経障害性疼痛のモデルでプレガバリンより強力かつ持続的な鎮痛作用を示した。

中枢性神経障害性疼痛の実験動物モデル 1 種類を用いて、ミロガバリンベシル酸塩の鎮痛作用を検討した。脊髄損傷モデルラットでは、ミロガバリンベシル酸塩（2.5、5、及び 10 mg/kg）を単回経口投与したとき、疼痛閾値が有意に上昇した。2.5 及び 10 mg/kg では、投与 8 時間後でも疼痛閾値が有意な高値を示した。ミロガバリンベシル酸塩のいずれの投与量でも、$AUPTC_{0\text{-}8h}$ 及び $AUPTC_{0\text{-}24h}$ は媒体群と比較して有意に高値であった。ミロガバリンベシル酸塩は、中枢性神経障害性疼痛モデルで有意かつ持続的な鎮痛作用を示した。

線維筋痛症の実験動物モデル 2 種類を用いて、ミロガバリンベシル酸塩の鎮痛作用を評価した。間歇的寒冷ストレスモデルマウスでは、ミロガバリンベシル酸塩（1、3、及び 10 mg/kg）の単回経口投与により、少なくとも投与 6 時間後まで疼痛スコアが減少した。Sluka モデル

ラットでは、ミロガバリンベシル酸塩（1、3、及び 10 mg/kg）を単回経口投与したとき、疼痛閾値がそれぞれ投与 2～6、2～8、又は 1～8 時間後に有意に上昇した。プレガバリン（30 mg/kg）も、疼痛閾値を投与 1～8 時間後に有意に上昇させた。ミロガバリンベシル酸塩の単回経口投与は、線維筋痛症の両モデルで有意かつ持続的な鎮痛作用を示した。

2.2　副次的薬理試験

2.2.1　ミロガバリンの受容体等に対する作用

In vitro 副次的薬理試験として、各種受容体、チャネル、トランスポーター、及び酵素（計 187 種）に対するミロガバリンベシル酸塩の作用を、濃度 50 μmol/L で検討した。ミロガバリンベシル酸塩は、ラット大脳皮質のガバペンチン（選択的 $\alpha_2\delta$ リガンド）結合部位に対して親和性を示し、50%阻害濃度（half maximal inhibitory concentration: IC_{50}）は 16.0 nmol/L であった。その他の受容体、チャネル、トランスポーター、及び酵素（計 186 種）に対しては 50 μmol/L で影響を及ぼさなかった。

2.2.2　A204-4455 の受容体等に対する作用

受容体、チャネル、トランスポーター、及び酵素（計 183 種）に対する A204-4455（ミロガバリンのラクタム体代謝物）の作用を、濃度 50 μmol/L で検討した。A204-4455 は、メラトニン MT_2 結合部位に対して親和性を示し、IC_{50} 値は 13.3 μmol/L であった。この IC_{50} 値は、$\alpha_2\delta$ サブユニットへの結合に対するミロガバリンの IC_{50} 値より約 830 倍高かった。ヒトでの A204-4455 の全身曝露量がミロガバリンより低値であることを考慮すると、メラトニン MT_2 結合部位への結合が及ぼす影響はわずかと判断された。A204-4455 は、その他、ガバペンチン結合部位を含む受容体、チャネル、トランスポーター、及び酵素（計 182 種）に対しては 50 μmol/L で影響を及ぼさなかった。

2.3　安全性薬理試験

中枢神経系、心血管系、及び呼吸系安全性薬理試験（GLP 試験）にて、ミロガバリンベシル酸塩が生命維持機能に及ぼす影響を検討した。特筆すべき所見を表 2.4.2-1 に要約する。

2.3.1　中枢神経系

ミロガバリンベシル酸塩（0、3、10、30、100、又は 1000 mg/kg）がラットの一般症状及び行動に及ぼす影響を、Irwin の多次元観察法の変法で検討した。ミロガバリンベシル酸塩は 10 mg/kg まで一般症状及び行動に影響を及ぼさなかったが、30 及び 100 mg/kg では、自発運動、筋緊張、及び外部からの刺激に対する反応性（警戒性、受動性、触反応）の低下、正向反射の抑制、異常体姿勢（伏臥及び横臥）、ふらつき歩行、呼吸不整、並びに深大呼吸が認められた。1000 mg/kg では、30 及び 100 mg/kg で認められた変化に加え、異常歩行（引きずり歩行）、耳介反射の消失、流涙、流涎、及び体温低下が認められた。これら変化の発現時点は用量依存的に早まり、持続時間及び程度は用量依存的に増大した。最大変化が認められたの

は、30 及び 100 mg/kg で投与 6 時間後、1000 mg/kg で投与 4～8 時間後であった。また、30 及び 100 mg/kg では投与 8 時間後以降に回復傾向が認められ、投与 24 時間後までに症状は完全に回復した。

ミロガバリンベシル酸塩（0、1、3、10、30、又は 100 mg/kg）が協調運動能に及ぼす影響を、ラット Rota-rod 法により検討した。ミロガバリンベシル酸塩は、1 及び 3 mg/kg で協調運動能に有意な影響を及ぼさなかった。10 mg/kg 以上では協調運動能が有意に低下した。最大作用は投与 4～6 時間後に認められた。

ラットにミロガバリンベシル酸塩（0、3、10、30、又は 100 mg/kg）を投与し、Supermex 法により、投与 6 時間後から 10 分間隔で 1 時間にわたり自発運動量を測定した。ミロガバリンベシル酸塩は 3 及び 10 mg/kg で自発運動量に有意な影響を及ぼさなかった。しかし、30 mg/kg 以上では自発運動量を有意に減少させた。

以上、3 種の試験成績に基づく中枢神経系に対する無影響量は 3 mg/kg と判断された。

2.3.2　心血管系

心筋急速活性型遅延整流カリウム電流に寄与する hERG チャネルを導入した HEK293 細胞を用いて、hERG チャネルによるカリウム電流にミロガバリンベシル酸塩（30、100、又は 300 μmol/L）が及ぼす影響を検討した。ミロガバリンベシル酸塩は、300 μmol/L まで hERG 電流に影響を及ぼさなかった。

モルモットから摘出した乳頭筋心筋の活動電位にミロガバリンベシル酸塩（30、100、又は 300 μmol/L）が及ぼす影響を評価した。静止膜電位、活動電位振幅（action potential amplitude: APA）、30%及び 90%再分極までの活動電位持続時間（action potential duration at 30% and 90% repolarization: APD_{30} 及び APD_{90}）、APD_{30} と APD_{90} の差、並びに最大立ち上がり速度を測定した。ミロガバリンベシル酸塩は 30 μmol/L 以上で APD_{30} 及び APD_{90} を統計学的に有意に短縮させたが、用量依存性は認められなかった。また、明らかな用量依存性はみられないものの、30 μmol/L 以上で APA の減少傾向が認められた。以上、ミロガバリンベシル酸塩は 30 μmol/L 以上で APD_{30} 及び APD_{90} を短縮させ、APA を減少させる傾向を示した。活動電位のその他の評価項目には影響を及ぼさなかった。

カニクイザルを用いて、無麻酔・非拘束条件下でミロガバリンベシル酸塩（30、300、又は 2000 mg/kg）が心血管系に及ぼす影響を、テレメトリー法にて検討した。2000 mg/kg では、投与 4 時間後に収縮期血圧、拡張期血圧、及び平均血圧の低下が認められ、投与 7 時間後に回復した。しかし、心拍数及び心電図パラメータに対しては、いずれの投与量でもミロガバリンベシル酸塩に関連する変化は認められなかった。以上、心血管系に対する無影響量は 300 mg/kg と判断された。

2.3.3　呼吸系

心血管系試験で、ミロガバリンベシル酸塩（30、300、又は 2000 mg/kg）が無麻酔・非拘束条件下のカニクイザルの呼吸系に及ぼす影響を同時に検討した。いずれの投与量でも、呼

吸系パラメータの有意な変化は認められなかった。以上、呼吸系に対する無影響量は2000 mg/kg と判断された。

表 2.4.2-1　安全性薬理試験の要約

試験の種類	動物種／系統	投与経路（媒体）	投与量	性及び例数／群	特筆すべき所見
中枢神経系					
Irwin の多次元観察法の変法	ラット／F344	経口（0.5% MC）	0、3、10、30、100、1000 mg/kg	雄: 6	30 mg/kg 以上: 自発運動、筋緊張、及び外部からの刺激に対する反応性の低下、正向反射の抑制、異常体姿勢、ふらつき歩行、呼吸不整、並びに深大呼吸 1000 mg/kg: 異常歩行、耳介反射の消失、流涙、流涎、体温低下 無影響量: 10 mg/kg
協調運動能（Rota-rod 法）	ラット／F344	経口（0.5% MC）	0、1、3、10、30、100 mg/kg	雄: 8	10 mg/kg 以上: 協調運動能の有意な低下 無影響量: 3 mg/kg
自発運動量（Supermex 法）	ラット／F344	経口（0.5% MC）	0、3、10、30、100 mg/kg	雄: 8	30 mg/kg 以上: 自発運動量の有意な減少 無影響量: 10 mg/kg
心血管系					
hERG 試験	hERG 導入 HEK293 細胞	in vitro	0、30、100、300 μmol/L		300 μmol/L まで影響なし
活動電位試験	モルモット乳頭筋心筋	in vitro	0、30、100、300 μmol/L		30 μmol/L 以上: APD_{30} 及び APD_{90} の短縮、APA の減少傾向
テレメトリー法	カニクイザル	経口（0.5% MC）	0、30、300、2000 mg/kg	雄: 4	2000 mg/kg: 血圧低下、心拍数、心電図パラメータ、及び心電図波形に対する影響なし 無影響量: 300 mg/kg
呼吸系					
全身プレチスモグラフ法	カニクイザル	経口（0.5% MC）	0、30、300、2000 mg/kg	雄: 4	2000 mg/kg まで影響なし 無影響量: 2000 mg/kg

APA: 活動電位振幅、APD_{30} 及び APD_{90}: 30%及び 90%再分極までの活動電位持続時間、MC: メチルセルロース

3. 薬物動態試験

3.1 分析法

非臨床薬物動態及び毒性試験では、ミロガバリン及びA204-4455の血漿又は尿中濃度は、バリデートされた液体クロマトグラフィータンデム質量分析法（liquid chromatography-tandem mass spectrometry: LC-MS/MS）により測定した。

[^{14}C] 標識ミロガバリン又はそのベシル酸塩は、吸収（単回投与）、分布、代謝、及び排泄の検討に使用した。放射能濃度は、液体シンチレーション計測法、オートラジオルミノグラフィー、放射能検出器付き高速液体クロマトグラフィー（high performance liquid chromatography with radio-detector: radio-HPLC）、液体クロマトグラフィー質量分析法（liquid chromatography-mass spectrometry: LC-MS）、及びLC-MS/MSにより測定した。

3.2 吸収

3.2.1 単回投与時の薬物動態及び用量比例性

雄ラット及びカニクイザルにミロガバリンベシル酸塩（1、3、又は10 mg/kg）を単回経口投与したとき、ミロガバリンの血漿中濃度は、ラットで0.50時間以内、カニクイザルで2時間以内にCmaxに到達し、$T_{1/2}$は両動物種ともに約4～5時間であった。終末相は両動物種ともに二相性を示した。ミロガバリンのCmax及びAUCinfは、投与量に比例した。

[^{14}C] 標識ミロガバリンを3 mg/kgの投与量でラット及びサルに単回経口投与したとき、放射能の血漿中濃度プロファイルは、上記試験で得られたミロガバリンの血漿中濃度プロファイルと同様であった。

雄ラット及びカニクイザルにミロガバリンベシル酸塩（3 mg/kg）を静脈内投与した後、ミロガバリン$T_{1/2}$はラットで4.50時間、サルで2.76時間であった。ミロガバリンのCLは、ラットで13.5 mL/min/kg、サルで9.02 mL/min/kgであり、Vssは、ラットで1.73 L/kg、サルで1.04 L/kgであった。

3.2.2 生物学的利用率

3 mg/kgを経口投与したときの生物学的利用率は、ラットで97.6%、カニクイザルで85.2%であった。

3.2.3 反復投与時の薬物動態

STZ誘発糖尿病ラットにミロガバリンベシル酸塩を2.5、5、又は10 mg/kgの投与量で1日2回5日間反復経口投与したとき、ミロガバリンのCmax及び$AUC_{0\text{-}12h}$は投与量にほぼ比例し、投与1、3、及び5日目で大きな違いはなかった。

ミロガバリンベシル酸塩をラットに26週間（10、30、又は100 mg/kg／日）、カニクイザルに39週間（10、30、又は100 mg/kg／日）反復経口投与したとき、ミロガバリン及びA204-4455のCmaxは投与量比を下回る上昇を示したが、ミロガバリン及びA204-4455の$AUC_{0\text{-}24h}$は投与量にほぼ比例した。両動物種で、ミロガバリン及びA204-4455のTKパラメータに反復投

与による明らかな変化及び性差は認められなかった。

妊娠ラットにミロガバリンベシル酸塩（10、30、100、300、又は 1000 mg/kg／日）を 11 日間反復経口投与したとき、ミロガバリンの曝露量は低用量域（100 mg/kg までの用量）で投与量に比例し、高用量域で投与量比を下回る上昇を示した。特に高用量域では、反復投与後に血漿中曝露量が上昇傾向を示した。Tmax は、高用量域で遅延する傾向にあった。

妊娠ウサギにミロガバリンベシル酸塩（10、30、又は 100 mg/kg／日）を 13 日間反復経口投与したとき、ミロガバリンの血漿中曝露量は投与量に比例した。反復投与による明らかな変化は認められなかった。

3.3　分布

3.3.1　組織分布試験

白色ラットに［^{14}C］標識ミロガバリン（3 mg/kg）を単回経口投与したとき、放射能は広範な組織に速やかに分布した。投与 30 分後には、ほとんどすべての組織に放射能が観察された。この時点で、血液より明らかに高い放射能分布を認めた組織は、肝臓、腎臓、膀胱尿、小腸内容物、及び胃内容物であった。中枢神経系（大脳、小脳など）の放射能分布は他の組織より低かった。放射能は大部分の組織から速やかに消失した。

有色ラットの放射能分布プロファイルは白色ラットと同様であり、眼や皮膚のようなメラニン含有組織への蓄積性は認められなかった。

3.3.2　血漿タンパク結合率

ラット、サル、及びヒトの血漿に 0.1、1、及び 10 μg/mL、マウスの血漿に 0.176、1.76 、及び 17.6 μg/mL となるよう［^{14}C］標識ミロガバリン又はそのベシル酸塩を添加した後、ミロガバリンの in vitro 血漿タンパク結合率を超遠心法によって評価した。血漿タンパク結合率は比較的低く、マウスで 18.0%～23.4%、ラットで 21.4%～24.2%、サルで 10.7%～12.3%、ヒトで 23.4%～25.5%であった。

ラット、サル、及びヒトの血漿に A204-4455 を 0.01、0.03、及び 0.3 μg/mL となるよう添加した後、A204-4455 の in vitro 血漿タンパク結合率を迅速平衡透析法によって評価した。血漿タンパク結合率は、ラットで 83.0%～86.0%、サルで 62.7%～70.5%、ヒトで 75.0%～82.7%であった。

ミロガバリン及び A204-4455 の血漿タンパク結合率は、試験濃度範囲内で濃度依存性を認めず、動物種間で明らかな種差はみられなかった。

3.3.3　血球分布

ラット、サル、及びヒトの血液に［^{14}C］標識ミロガバリンを 0.1、1、及び 10 μg/mL となるよう添加した後、血球への分布を in vitro で評価した。血液／血漿中放射能濃度比は、ラットで 0.89～0.90、サルで 0.91～0.92、ヒトで 0.85～0.87 であった。

3.3.4　胎盤通過性

妊娠 18 日目のラットに［^{14}C］標識ミロガバリン（3 mg/kg）を単回経口投与したとき、投与 0.5 及び 2 時間後の母動物の生殖器（子宮、胎盤、卵巣など）中放射能濃度は、母動物の血中放射能濃度と比較して同程度、もしくはそれよりもわずかに低かった。羊膜、胎児の肝、肺、腎、及び脳でも、母動物の上記組織より低濃度ながらも放射能が検出された後、低下した。投与 24 時間後には、これら組織に放射能を視覚的に認めなかった。ミロガバリンの胎児への移行性は低いと判断された。

3.4　代謝（種間比較）

3.4.1　In vivo 代謝プロファイル

3.4.1.1　生体試料中の代謝物の構造解析

マウス、ラット、及びカニクイザルに［^{14}C］標識ミロガバリン又はそのベシル酸塩（100 mg/kg）を単回経口投与後、radio-HPLC、LC-MS、及び LC-MS/MS を用いて、代謝物の構造を解析した。マウスの血漿及び尿、ラットの血漿及び胆汁、並びにサルの血漿では、未変化体以外の成分として A204-4455 が同定された。その他の代謝物として、ミロガバリンの酸化体がラット及びサルの血漿、ミロガバリンのグルクロン酸抱合体がマウスの尿、並びにラット及びサルの胆汁で検出されたほか、A204-4455 の酸化体の *O*-グルクロン酸抱合体がラット胆汁で検出された。

3.4.1.2　生体試料中の代謝物の定量的な分析

ラット及びカニクイザルに［^{14}C］標識ミロガバリン（100 mg/kg）を単回経口投与したとき、ラット及びサルの血漿、尿、及び糞中の主な放射能成分はミロガバリンであった。これらの試験では、代謝物の明らかな放射能ピークは検出されなかった。

TK データに基づくと、ミロガバリンの曝露量に対する A204-4455 の曝露量の比（重量比）は、ラットへの 26 週間投与後で 3.5%～6.0%（2.6.5.4.2）、サルへの 39 週間投与後で 0.9%～1.6%であった（2.6.5.4.3）。ラットの膀胱腫瘍発生に関する機序試験では、A204-4455 の尿中濃度はミロガバリンの尿中濃度の約 0.1%であった（2.6.7.10.6）。

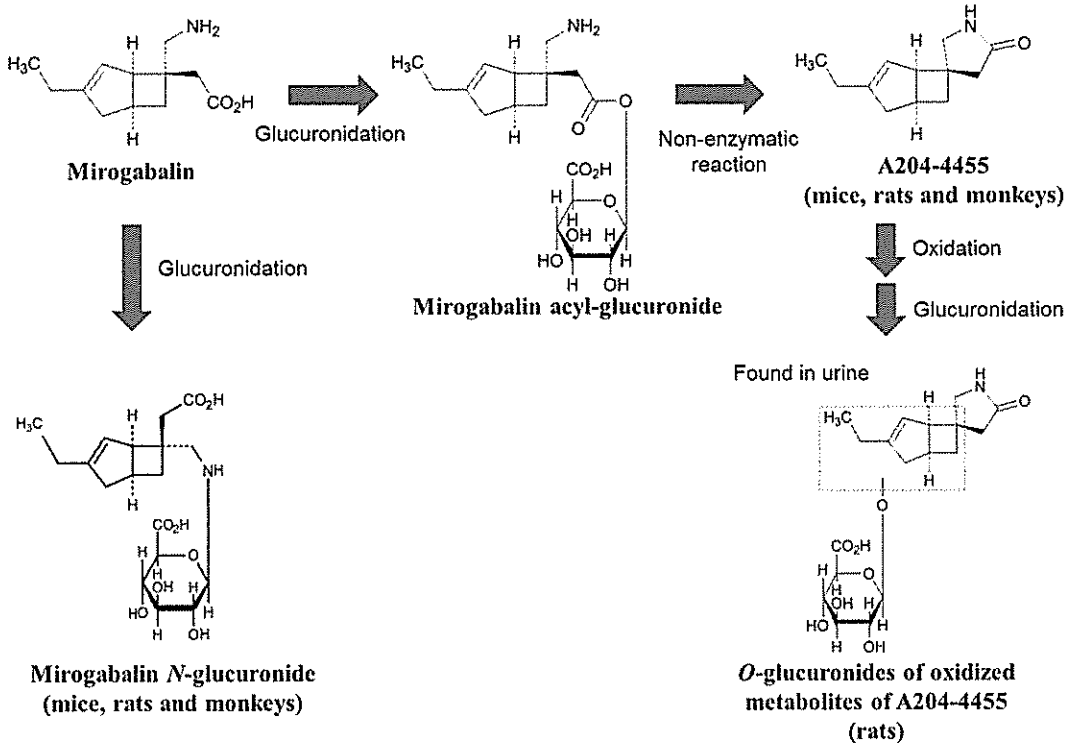
ラット及びサルでは、ミロガバリンはほとんど代謝されないと判断された。

3.5　推定代謝経路

ラット及びカニクイザルでの推定代謝経路を図 2.4.3-1 に示す。この代謝経路は、in vivo 構造解析試験結果（3.4.1.1 項）及びヒトでの代謝経路検討結果（2.7.2.2.1.2）を踏まえて推定した。ラット 及びサルの胆汁中で検出された代謝物は、アシルグルクロン酸抱合体又は N-グルクロン酸抱合体と考えられ、アシルグルクロン酸抱合体は水の存在下で速やかに A204-4455 に変換することから、N-グルクロン酸抱合体であると推定された。ミロガバリンの初発代謝反応はアミノ基とカルボン酸それぞれのグルクロン酸抱合反応と考えられ、アシルグルクロン酸抱合体は速やかに A204-4455 に変換された後、さらに酸化とグルクロン酸抱

合反応を受けると推測された。

図 2.4.3-1　ラット及びカニクイザルでのミロガバリンの推定代謝経路



3.6　排泄

3.6.1　尿中及び糞中排泄

マウスに［^{14}C］標識ミロガバリンベシル酸塩（100 mg/kg）を単回経口投与したとき、投与 24 時間後までに投与放射能の 72.1%が尿中に排泄された。また、投与 96 時間後までに、投与放射能の 80.8%が尿中に、12.3%が糞中に排泄された。

ラットに［^{14}C］標識ミロガバリン（3 mg/kg）を単回経口投与したとき、投与 24 時間後までに投与放射能の 92.5%が尿中に排泄された。また、投与 168 時間後までに、投与放射能の 94.5%が尿中に、3.2%が糞中に排泄された。

ラットに［^{14}C］標識ミロガバリンを静脈内投与したときの排泄プロファイルは、経口投与後と同様であった。

カニクイザルに［^{14}C］標識ミロガバリン（3 mg/kg）を単回経口投与したとき、投与 24 時間後までに投与放射能の 70.21%が尿中（尿由来と考えられるケージ洗浄液中放射能を含む）に排泄された。また、投与 168 時間後までに、投与放射能の 77.75%が尿中に、9.60%が糞中に排泄された。

3.6.2　胆汁排泄

胆管カニュレーションを施したラットに［^{14}C］標識ミロガバリンを単回経口投与したとき、

投与 48 時間後までに投与放射能の 88.9%が尿中に、8.8%が胆汁中に、0.7%が糞中に排泄された。本試験で得られた投与放射能の胆汁排泄率は、胆管カニュレーションを施していないラットへの経口投与後の投与放射能の糞中排泄率（3.6.1 項）より高かったことから、ラットでは、胆汁排泄された投与放射能の一部が再吸収されることが示唆された。

ラットに［^{14}C］標識ミロガバリンを単回静脈内投与したとき、投与 48 時間後までに投与放射能の 90.9%が尿中に、5.9%が胆汁中に、0.0%が糞中に排泄された。［^{14}C］標識ミロガバリンを静脈内投与したときの排泄プロファイルは、経口投与後と同様であった。

3.6.3　乳汁中排泄

授乳ラットに［^{14}C］標識ミロガバリンを単回経口投与したとき、乳汁中の Tmax は 2 時間であり、血漿中の Tmax よりわずかに遅かった。乳汁中の Cmax は血漿中の Cmax の約半分であった。乳汁中の $T_{1/2}$ 及び AUCinf は、血漿中の $T_{1/2}$ 及び AUCinf と同程度であった。ミロガバリンは乳汁中に排泄され、乳汁中曝露量は血漿中曝露量と同程度と判断された。

3.7　薬物動態学的薬物相互作用

ヒト生体試料を用いて薬物動態学的薬物相互作用を検討した。試験内容は 2.7.2 に示す。In vitro では、ミロガバリンは、チトクローム P450（cytochrome P450: CYP）分子種、ヒト有機アニオントランスポーター（organic anion transporter: OAT）1 及び OAT3、有機カチオントランスポーター（organic cation transporter: OCT）1 及び OCT2、有機アニオン輸送ポリペプチド（organic anion transporting polypeptide: OATP）1B1 及び OATP1B3、H+／有機カチオンアンチポーター（multidrug and toxin extrusion: MATE）1 及び 2-K、乳がん耐性タンパク、並びに P 糖タンパクを阻害しなかった。ミロガバリンはヒト肝細胞中の CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4 を誘導しなかった。これらの試験結果から、ミロガバリンが DDI によって併用薬の薬物動態に影響を及ぼす可能性は低いと判断された。ミロガバリンの能動的な腎分泌には、ヒト OAT1、OAT3、及び OCT2 が取り込みトランスポーターとして、ヒト MATE1 及び MATE2-K が排泄トランスポーターとして関与することが明らかとなった。これらの結果に基づいて、臨床薬物相互作用（drug-drug interaction: DDI）試験では、プロベネシド（OAT1/OAT3 の阻害剤）及びシメチジン（OCT2/MATE1/MATE2-K の阻害剤）を併用投与したときの影響を検討した（2.7.2.2.4.8）。

4. 毒性試験

4.1 反復投与毒性試験

ラットでは最長 26 週間、カニクイザルでは最長 39 週間の反復経口投与毒性試験を実施した。ラット及びカニクイザルの 4 週間反復投与毒性試験では、投与期間後に 8 週間の休薬期間を設け、観察された毒性の回復性とともに、薬物依存性検討のため退薬症候の有無を評価した。ラット及びサルでの特筆すべき所見を、それぞれ表 2.4.4-1 及び表 2.4.4-2 に示す。

ラット 2 週間反復投与毒性試験（0、100、300、及び 2000 mg/kg／日）では、2000 mg/kg／日において、雄 4 例及び雌 2 例が投与 4～6 日目に死亡した。その後、2000 mg/kg／日で、残りの動物も重度の中枢神経抑制症状の持続による一般状態の悪化のため、投与 7 日目に安楽死処置した。300 mg/kg／日以下では、動物は剖検予定日（投与 14 日目）まで生存した。生存例では、100 mg/kg／日以上で中等度の中枢神経抑制症状が認められ、300 mg/kg／日で雄に腺胃の糜爛、2000 mg/kg／日で雌雄に前胃の糜爛及び粘膜肥厚、並びに腺胃の糜爛が観察された。本試験の無毒性量は 100 mg/kg／日未満と判断された。

ラット 4 週間反復投与毒性試験（0、10、30、100、及び 1000 mg/kg／日）では、1000 mg/kg／日で雄 1 例が投与 3 日目に、雌 1 例が投与 2 日目に死亡した。雄の死因は重度の中枢神経抑制による二次的な一般状態の悪化、雌では重度の中枢神経抑制及び循環障害と考えられた。生存例では、10 mg/kg／日で軽度かつ一過性の中枢神経抑制が投与 10 日目まで散発的に認められたが、その後は消失した。この変化は生体の適応範囲の変化と考えられ、他の毒性所見が認められないことと併せて、毒性学的意義は乏しいと判断された。30 mg/kg／日以上では、中等度の中枢神経抑制が持続的に観察された。1000 mg/kg／日では、前胃と腺胃の糜爛及び潰瘍、並びに前胃の粘膜肥厚が雌雄に認められた。さらに、1000 mg/kg／日で雄には、腎で硝子滴の増加及び限局性の壊死が観察された。8 週間の休薬期間では、100 及び 1000 mg/kg／日で摂餌量減少が認められ、1000 mg/kg／日で体重減少が雄で休薬期間 15 日目まで、雌で 50 日目まで認められた。休薬期間中に認められた変化は退薬症候と判断された。投与に関連する重要な変化はいずれも、8 週間の回復期間中に回復又は回復傾向を示した。本試験の無毒性量は 10 mg/kg／日と判断された。

ラット 13 週間反復投与毒性試験（0、10、100、及び 300 mg/kg／日）では、いずれの投与量でも被験物質投与に関連する死亡例は認められなかった。100 mg/kg／日以上で、中枢神経抑制に関連する一般状態の異常が認められた。病理組織学的検査では、300 mg/kg／日で前胃の粘膜肥厚が認められた。以上、本試験の無毒性量は 10 mg/kg／日と判断された。

ラット 26 週間反復投与毒性試験（0、10、30、及び 100 mg/kg／日）では、被験物質投与に関連する死亡例は認められなかった。30 mg/kg／日以上で、中枢神経抑制に関連する一般状態の異常が認められた。以上、本試験の無毒性量は 10 mg/kg／日と判断された。

カニクイザル 2 週間反復投与毒性試験（0、30、300、及び 2000 mg/kg／日）では、2000 mg/kg／日で雄 1 例が投与 3 日目に死亡した。本例では、死亡前に運動失調、間代性痙攣、活動性低下、及び嘔吐といった中枢神経抑制症状が認められた。死因は、中枢神経抑制作用による一般状態の悪化と判断された。300 mg/kg／日以上の生存例では、上記の中枢抑制症状のうち、

間代性痙攣以外の症状が認められた。2000 mg/kg／日では、心筋変性、並びに胃の扁平上皮の水腫性変性、粘膜萎縮、及び粘膜下出血も認められた。本試験の無毒性量は 30 mg/kg／日と判断された。

カニクイザル 4 週間反復投与毒性試験（0、30、100、及び 1000 mg/kg／日）では、いずれの群においても死亡例はみられなかった。100 mg/kg／日以上で、中枢神経抑制に関連する一般状態の異常が認められた。1000 mg/kg／日で、雄に胃の扁平上皮の水腫性変性が認められた。回復群では、1000 mg/kg／日で活動性低下が休薬 6 日目まで持続したが、それ以降に一般状態の異常はみられなかった。1000 mg/kg／日で認められた変化はすべて、8 週間の休薬期間中に回復した。無毒性量は 30 mg/kg／日と判断された。

カニクイザル 13 週間反復投与毒性試験（0、10、100、及び 300 mg/kg／日）では、いずれの群でも死亡例はみられなかった。100 mg/kg／日以上で、中枢神経抑制に関連する一般状態の異常が認められた。無毒性量は 10 mg/kg／日と判断された。

カニクイザル 39 週間反復投与毒性試験（0、10、30、及び 100 mg/kg／日）では、100 mg/kg／日で中枢神経抑制に関連する一般状態の異常が認められた。無毒性量は 30 mg/kg／日と判断された。

ヒト主要代謝物である A204-4455 のヒトでの曝露量は、ミロガバリンに関連する総曝露量の 10%未満であった。さらに、ラット及びカニクイザルでの A204-4455 の全身曝露量は、ヒトへのミロガバリンベシル酸塩（15 mg 1 日 2 回）投与後の A204-4455 の全身曝露量より高かった（表 2.4.5-2）。したがって、A204-4455 の安全性は、ミロガバリンベシル酸塩の非臨床毒性プログラムで十分に評価されたと考えられる。

表 2.4.4-1　ラット反復投与毒性試験の要約

動物種／系統	投与経路（媒体）	投与量（mg/kg／日）	投与期間	性及び例数／群	特筆すべき所見
ラット／F344	経口（0.5% MC）	0、100、300、2000	2 週間	雄: 5 雌: 5	100 mg/kg／日以上: 腹臥位、活動性低下、歩行困難、ふらつき歩行、被毛の汚れ、糞量減少 300 mg/kg／日以上: 腺胃の糜爛 2000 mg/kg／日: 死亡、筋弛緩、呼吸不整、体温低下、摂餌量↓、体重↓（雄）、前胃の糜爛及び粘膜肥厚、心臓の限局性出血及び心筋壊死 無毒性量: 100 mg/kg／日未満
ラット／F344	経口（0.5% MC）	0、10、30、100、1000	4 週間	雄: 10 雌: 10 回復性試験 雄: 5 雌: 5	10 mg/kg／日: 腹臥位、活動性低下、ふらつき歩行（散発的に観察され、投与 11 日目以降に消失） 30 mg/kg／日以上: 10 mg/kg／日で認められた一般状態の異常の発生頻度上昇及び持続期間延長 1000 mg/kg／日: 死亡、尿による会陰部の汚れ、糞量減少、呼吸不整、前胃の粘膜肥厚及び糜爛、腺胃の糜爛及び潰瘍（雄）、腎尿細管上皮の限局性壊死（雄）、心内膜下の限局性石灰化（雌） 無毒性量: 10 mg/kg／日
ラット／F344	経口（0.5% MC）	0、10、100、300	13 週間	雄: 10 雌: 10	100 mg/kg／日以上: 活動性低下、ふらつき歩行、流涙 300 mg/kg／日: 会陰部の汚れ、紅涙、前胃の粘膜肥厚 無毒性量: 10 mg/kg／日
ラット／F344	経口（0.5% MC）	0、10、30、100	26 週間	雄: 10 雌: 10	30 mg/kg／日以上: ふらつき歩行 100 mg/kg／日: 活動性低下 無毒性量: 10 mg/kg／日

MC: メチルセルロース
↓: 減少

表 2.4.4-2　カニクイザル反復投与毒性試験の要約

動物種／系統	投与経路（媒体）	投与量（mg/kg／日）	投与期間	性及び例数／群	特筆すべき所見
カニクイザル	経口（0.5% MC）	0、30、300、2000	2 週間	雄: 2 雌: 2	300 mg/kg／日以上: 運動失調、活動性低下、吐物 2000 mg/kg／日: 死亡、間代性痙攣、軟便、摂餌量↓、体重↓、フィブリノーゲン↑、C 反応性タンパク↑、電解質↓、総タンパク↓、アルブミン↓、アルブミン／グロブリン比↓、胃噴門部の扁平上皮の水腫性変性、胃の粘膜萎縮及び粘膜下組織の出血、心臓の心筋変性 無毒性量: 30 mg/kg／日
カニクイザル	経口（0.5% MC）	0、30、100、1000	4 週間	雄: 3 雌: 3 回復性試験 雄: 2 雌: 2	100 mg/kg／日以上: 活動性低下 1000 mg/kg／日: 運動失調、筋攣縮（雄）、嘔吐、流涎、好中球数↑、大型非染色細胞数↑、フィブリノーゲン↑、アルブミン／グロブリン比↓、ナトリウム↓、胃噴門部の扁平上皮の水腫性変性（雄） 無毒性量: 30 mg/kg／日
カニクイザル	経口（0.5% MC）	0、10、100、300	13 週間	雄: 3 雌: 3	100 mg/kg／日: 体温低下（雄）、横臥位（雄） 100 mg/kg／日以上: 活動性低下、運動失調 300 mg/kg／日: 流涎、嘔吐（雄） 無毒性量: 10 mg/kg／日
カニクイザル	経口（0.5% MC）	0、10、30、100	39 週間	雄: 4 雌: 4	100 mg/kg／日: 活動性低下、運動失調 無毒性量: 30 mg/kg／日

MC: メチルセルロース
↑: 増加、↓: 減少

4.2　遺伝毒性試験

細菌を用いた復帰突然変異試験、染色体異常試験、及びラット単回経口投与後の骨髄小核試験で、ミロガバリンベシル酸塩は遺伝毒性を示さなかった。これらの試験で得られた結果を総合すると、ミロガバリンベシル酸塩は遺伝毒性を示さないと考えられた。

4.3　がん原性試験

標準的なマウス及びラットの 104 週間がん原性試験で、ミロガバリンベシル酸塩のがん原性を評価した。ラットの膀胱腫瘍発生に関する機序試験を追加実施した。特筆すべき所見を表 2.4.4-4 に要約する。

マウス 104 週間がん原性試験（0、10、30、及び 100 mg/kg／日）では、ミロガバリンベシル酸塩による腫瘍あるいは非腫瘍性病変による死亡の増加はみられなかった。100 mg/kg／日まで投与に関連する腫瘍発生あるいは増殖性病変は雌雄ともに認められなかった。ラット 104 週間がん原性試験（0、10、30、及び 100 mg/kg／日）では、ミロガバリンベシル酸塩による腫瘍あるいは非腫瘍性病変による死亡の増加はみられなかった。100 mg/kg／日において

雄では膀胱の移行上皮乳頭腫（良性腫瘍）の発生頻度が統計学的に有意に上昇したが、その発生頻度（60 例中 3 例）は低かった。雄では、移行上皮乳頭腫の発生頻度が統計学的に有意な用量反応性を示したが、いずれの群でも、膀胱の過形成の発生頻度に有意な上昇はみられなかった。さらに、膀胱粘膜上皮の変性及び壊死はみられなかった（表 2.4.4-3）。報告されている知見によれば、膀胱粘膜上皮の増殖性病変は各種刺激への反応として発生するもので、膀胱の増殖性病変は、過形成から乳頭腫、そして最終的に癌へと進展すると考えられる[5),6),7),8)]。雄ラットを用いた膀胱腫瘍発生に関する追加の機序試験では、ミロガバリンベシル酸塩（100 mg/kg／日）を雄に 4、13、26、及び 104 週間反復投与したとき、Ki-67 陽性率あるいは 5-ブロモ-2'-デオキシウリジン陽性率を指標とする評価で、膀胱粘膜細胞の増殖活性の亢進はみられなかった。走査型電子顕微鏡による評価では、ミロガバリンベシル酸塩を投与した雄で尿中の微細結晶が増加したが、その発現頻度及び程度に明らかな用量依存性はみられなかった。100 mg/kg／日を 4 週間投与後に膀胱粘膜上皮に対する傷害作用は認められなかった。したがって、移行上皮乳頭腫の形成は、ミロガバリンベシル酸塩に起因するものでないと判断された。これらの試験結果から、ミロガバリンベシル酸塩の造腫瘍性は極めて低いと判断した。

表 2.4.4-3　ラットがん原性試験で膀胱に認められた腫瘍性及び非腫瘍性病変の要約

Organ	Sex		Male				Female			
	Dose (mg/kg/day)		0	10	30	100	0	10	30	100
Findings	Number of animals	Grade	120	60	60	60	120	60	60	60
Urinary bladder			<120>	<60>	<60>	<60>	<120>	<60>	<60>	<59>[3]
Transitional cell carcinoma			0	0	0	0	0	0	0	1[4]
P-value by Peto's test[1]			—	—	—	—	0.1873	0.5936	0.5936	0.1873
Transitional cell papilloma			0[a]	2	1	3[b]	0	0	2	1
P-value by Peto's test[1]			0.0206	0.0715	0.1578	0.0215	0.0723	0.4686	0.0570	0.1873
Hyperplasia, mucosal epithelium, diffuse (incidence and grade)		(Total)	0	2	1	1	1	0	0	0
		Grade # 1	0	1	0	1	1	0	0	0
		2	0	0	1	0	0	0	0	0
		3	0	1	0	0	0	0	0	0
Hyperplasia, mucosal epithelium, focal		1	1	2	0	0	2	0	1	1
Toxicokinetics of mirogabalin										
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL) on Day 182			NE	16.1	46.9	112	NE	15.4	44.9	113
Exposure margin to human[2]			NE	7.6	22.1	52.9	NE	7.2	21.2	53.4

<>, number of animals examined; #, Grade: 1, minimal; 2, mild; 3, moderate; NE: Not examined
[1] *P*-values by the trend test are presented in the column in the control group (0 mg/kg/day) and those by the Pairwise comparison test are presented in the column in each dose group.
[2] Compared with $AUC_{0\text{-}24h}$ in humans given 15 mg. bid (2.114 μg·h/mL, Study No. DS5565-A-E103)
[3] The tissue of 1 female was not examined due to autolysis.
[4] Transitional cell carcinoma of 1 female receiving 100 mg/kg/day was considered to be related to incidental calculus noted in the urinary bladder.
[a] Significantly positive trend; $P < 0.025$ (Trend test, Peto's test, rare tumor)
[b] Significantly different from the control group; $P < 0.05$ (Pairwise comparison test, Peto's test, rare tumor)

表 2.4.4-4　マウス及びラットがん原性試験、並びにラット機序試験の要約

動物種／系統	投与経路（媒体）	投与量（mg/kg／日）	投与期間	性及び例数／群	特筆すべき所見
マウス／B6C3F1	経口（0.5% MC）	0、10、30、100	104 週間	雄: 60 雌: 60	投与に関連する腫瘍の発生頻度上昇なし（雄、雌）
ラット／F344	経口（0.5% MC）	0、10、30、100	104 週間	雄: 60 雌: 60 対照; 60 × 2 群／性	100 mg/kg／日: 膀胱の移行上皮乳頭腫の発生頻度上昇（雄） 投与に関連する腫瘍の発生頻度上昇なし（雌）
ラット／F344[a]	経口（0.5% MC）	13 週間: 0、10、100 26 週間: 0、10、30、100	13 及び 26 週間	雄: 10	13 及び 26 週間反復投与毒性試験では、100 mg/kg／日まで、膀胱の Ki-67 陽性率の有意な変化なし
ラット／F344	経口（0.5% MC）	0、10、30、100	4 週間	雄: 10	10 mg/kg／日以上: 尿中の微細結晶の発現頻度上昇（発現頻度及び程度に明らかな用量依存性なし） 膀胱の走査型電子顕微鏡解析で、BrdU 陽性率及び尿路上皮の形態の有意な変化なし
ラット／F344[b]	経口（0.5% MC）	0、10、30、100	104 週間	雄: 20	100 mg/kg／日まで、膀胱の Ki-67 陽性率の有意な変化なし

MC: メチルセルロース
[a] 13 及び 26 週間反復投与毒性試験のパラフィン包埋標本を評価に使用した。
[b] 104 週間がん原性試験のパラフィン包埋標本を評価に使用した。

4.4　生殖発生毒性試験

ミロガバリンベシル酸塩について、ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験、ラット及びウサギ胚・胎児発生に関する試験、並びにラット出生前及び出生後の発生に対する試験を実施した。特筆すべき所見を表 2.4.4-5 に要約する。

4.4.1　受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

ラットの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験では、100 mg/kg／日で歩行困難が認められた。投与期間終了後に、100 mg/kg／日で雌に体重及び摂餌量の減少が認められた。100 mg/kg／日で発情前期及び発情期の持続が認められた。雄生殖能に対する毒性、並びに受胎能及び着床までの初期胚発生の異常はみられなかった。雌雄親動物の一般毒性に対する無毒性量は 30 mg/kg／日と判断された。親動物の生殖に対する無毒性量は、雄で 100 mg/kg／日、雌で 30 mg/kg／日と判断された。次世代発生に対する無毒性量は 100 mg/kg／日と判断された。

4.4.2　胚・胎児発生に関する試験

ラット胚・胎児発生に関する試験では、母動物の死亡が 1000 mg/kg／日で認められた。活動性低下、ふらつき歩行、及び歩行困難が 100 mg/kg／日以上で認められた。さらに、300 mg/kg／日以上で会陰部の汚れが認められ、1000 mg/kg／日で鼻周囲の汚れ及び呼吸不整が認められた。母動物では、100 mg/kg／日以上で投与終了後に体重及び摂餌量の減少が認められた。胎児では、30 mg/kg／日以上で外表・内臓・骨格異常を伴わない生存胎児体重減少が認められた。1000 mg/kg／日で胸椎体未骨化の出現頻度の増加及び仙尾椎骨の骨化数の減少が認められ、胎児体重の減少に起因すると判断された。母動物で投与終了後に認められた体重及び摂餌量の減少は、ラット 4 週間反復投与毒性試験で認められた症状と同じ退薬症候であり、胎児体重に悪影響を及ぼした可能性があると判断された。母動物の一般毒性に対する無毒性量は 30 mg/kg／日、生殖に対する無毒性量は 1000 mg/kg／日、次世代発生に対する無毒性量は 10 mg/kg／日と判断された。

ウサギ胚・胎児発生に関する試験では、母動物の死亡が 1000 mg/kg／日で認められた。30 mg/kg／日以上で活動性低下及びふらつき歩行が認められた。100 mg/kg／日以上で流産が認められた。母動物では、10 mg/kg／日以上で投与終了後に体重及び摂餌量の減少が認められた。胎児では、30 mg/kg／日以上で外表・内臓・骨格異常を伴わない生存胎児体重減少が認められた。母動物で投与終了後に認められた体重及び摂餌量の減少は、妊娠ラットで認められた症状と同じ退薬症候であり、胎児体重に悪影響を及ぼした可能性があると判断された。母動物の一般毒性に対する無毒性量は 10 mg/kg／日未満、生殖に対する無毒性量は 30 mg/kg／日、次世代発生に対する無毒性量は 10 mg/kg／日と判断された。

ミロガバリンベシル酸塩はラット及びウサギで催奇形性を示さなかった。

4.4.3　出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

ラット出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験では、30 mg/kg／日以上で、親動物の活動性低下が投与期間（妊娠期間及び哺育期間）を通してみられた。100 mg/kg／日では、妊娠期間の延長がみられた。F1 出生児では、30 mg/kg／日以上で出生率の低下がみられた。出生児数、出生時の生存児数、性比、生後 4 日の生存児数、生存率、離乳時の生存児数、離乳率、一般状態、体重、機能発達、身体発達、剖検、外生殖器の形態分化、行動、学習、生殖機能、同腹児（黄体数、着床数、着床率）データ、及び妊娠 15 日胚検査に被験物質投与に関連する変化はみられなかった。母動物の一般毒性に対する無毒性量は 10 mg/kg／日、生殖に対する無毒性量は 30 mg/kg／日、次世代の出生前及び出生後の発生に対する無毒性量は 10 mg/kg／日と判断された。

表 2.4.4-5　ラット及びウサギ生殖発生毒性試験の要約

動物種／系統	投与経路（媒体）	投与量（mg/kg／日）	投与期間	性及び例数／群	特筆すべき所見
受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験					
ラット／SD	経口（0.5% MC）	0、10、30、100	雄: 交配前2週間から交尾成立の前日まで 雌: 交配前2週間から妊娠7日まで	雄: 20 雌: 20	100 mg/kg／日: 歩行困難（雄、雌）、発情前期及び発情期の持続（雌）、 体重及び摂餌量↓（雌、投与期間終了後） 雌雄親動物の一般毒性に対する無毒性量: 30 mg/kg／日 親動物（雄）の生殖に対する無毒性量: 100 mg/kg／日 親動物（雌）の生殖に対する無毒性量: 30 mg/kg／日 次世代発生に対する無毒性量: 100 mg/kg／日
胚・胎児発生に関する試験					
ラット／SD	経口（0.5% MC）	0、100、300、1000	妊娠7～17日	雌: 21～22	100 mg/kg／日以上: 活動性低下、ふらつき歩行、歩行困難、体重及び摂餌量↓（投与期間終了後）、胎児体重↓ 300 mg/kg／日以上: 会陰部の汚れ 1000 mg/kg／日: 母動物の死亡、鼻周囲の汚れ、呼吸不整、胸椎体未骨化の出現頻度↑、仙尾椎骨骨化数↓ 催奇形性を示さず 母動物の一般毒性に対する無毒性量: 100 mg/kg／日未満 母動物の生殖に対する無毒性量: 1000 mg/kg／日 次世代発生に対する無毒性量: 100 mg/kg／日未満
ラット／SD	経口（0.5% MC）	0、10、30	妊娠7～17日	雌: 22	30 mg/kg／日: 胎児体重↓（雄） 母動物の一般毒性に対する無毒性量: 30 mg/kg／日 次世代発生に対する無毒性量: 10 mg/kg／日
ウサギ／NZW	経口（0.5% MC）	0、10、30、100	妊娠6～18日	雌: 18～19	10 mg/kg／日以上: 体重↓、摂餌量↓（投与期間終了後） 30 mg/kg／日以上: 活動性低下及びふらつき歩行、胎児体重↓ 100 mg/kg／日: 流産 母動物の一般毒性に対する無毒性量: 10 mg/kg／日未満 母動物の生殖に対する無毒性量: 30 mg/kg／日 次世代発生に対する無毒性量: 10 mg/kg／日
出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験					
ラット／SD	経口（0.5% MC）	0、10、30、100	妊娠7日～分娩21日後	雌: 18～19	30 mg/kg／日以上: 活動性低下、F1児の出生率↓ 100 mg/kg／日: 妊娠期間の延長 母動物の一般毒性に対する無毒性量: 10 mg/kg／日 母動物の生殖に対する無毒性量: 30 mg/kg／日 次世代発生に対する無毒性量: 10 mg/kg／日

MC: メチルセルロース、↓: 減少, ↑: 増加

4.5　局所刺激性試験

投与経路が経口であるため、局所刺激性試験は実施していない。

4.6　その他の毒性試験

4.6.1　依存性試験

薬物依存性の評価として、ラット薬物弁別試験（ミダゾラムとの比較）、ラット身体依存性試験、及びアカゲザル自己投与試験を実施した。特筆すべき所見を表 2.4.4-6 に要約する。

ラット薬物弁別試験では、ミロガバリンベシル酸塩の弁別刺激効果は、ミダゾラムとの類似性を示さなかった。ラット 4 週間反復経口投与身体依存性試験では、3 週間の休薬期間中、摂餌量の減少が 30 mg/kg／日以上で認められ、体重増加率の一過性の減少が 30 mg/kg／日、体重増加率の継続的な減少が 100 mg/kg／日以上で認められた。また、300 mg/kg／日でハンドリングに対する反応性亢進及び体重減少が認められた。

ミロガバリンベシル酸塩はラットで身体依存形成能を示し、その重症度はジアゼパム 200～600 mg/kg／日（陽性対照）と比較して低かった。上記のように、カニクイザル 4 週間反復投与毒性試験では、ミロガバリンベシル酸塩の 1000 mg/kg／日まで退薬症候はみられなかった。

アカゲザル静脈内自己投与試験では、3 mg/kg/infusion で 4 例中 2 例に自己投与が認められたが、0.3 及び 1 mg/kg/infusion では自己投与はみられなかった。ミロガバリンベシル酸塩はアカゲザル自己投与試験で精神依存形成能を示し、その強度はペントバルビタール 1 mg/kg/infusion（陽性対照）と比較して低かった。

表 2.4.4-6　ラット及びアカゲザル依存性試験の要約

試験の種類	動物種／系統	投与経路（媒体）	投与量	投与期間	性及び例数／群	特筆すべき所見
薬物弁別試験	ラット／F344	経口（0.5% MC）	0、3、10、30 mg/kg	単回	雄: 8	ミダゾラムへの般化なし
身体依存性試験	ラット／F344	経口（0.5% MC）	0、30、100、300 mg/kg／日	4 週間の投与期間及び 3 週間の休薬期間	雄: 10	30 mg/kg／日: 摂餌量↓、体重増加率↓（一過性） 100 mg/kg／日以上: 摂餌量↓、体重増加率↓（継続的） 300 mg/kg／日: ハンドリングに対する反応性亢進、体重↓
精神依存性試験	アカゲザル	静脈内	0、0.3、1、3 mg/kg/infusion	2 週間／用量	雄: 2 雌: 2	3 mg/kg: 強化作用あり

MC: メチルセルロース、↓: 減少

4.6.2　不純物

製剤中の不純物 不純物A* （試験報告書内では [redacted] ）は、2 週間反復投与毒性試験、細菌を用いた復帰突然変異試験、及び染色体異常試験で、ミロガバリンベシル酸塩と比較して、

＊新薬承認情報提供時に置換

新たな毒性変化を示さず、ミロガバリンベシル酸塩の安全性に影響を及ぼさないと判断された。原薬中の分解生成物（不純物B*、不純物C*、及び 不純物D*）は変異原性を示さなかった。ミロガバリンベシル酸塩の製造工程で生成する[redacted]（物質A*、物質B*、物質C*、及び物質D*）も、変異原性を示さなかった。

＊新薬承認情報提供時に置換

5. 総括及び結論

5.1 薬理作用

In vitro では、ミロガバリンベシル酸塩は $\alpha_2\delta$ サブユニットに高い結合親和性を示し、その他の受容体、チャネル、トランスポーター、及び酵素（計 186 種）に対して 50 μmol/L で影響を及ぼさなかった。また、ミロガバリンはラット DRG ニューロンのカルシウムチャネル電流を抑制した。プレガバリンとの相違点として、ミロガバリンの $\alpha_2\delta$-1 サブユニットからの解離半減期は $\alpha_2\delta$-2 サブユニットからの解離半減期と比較して長かった。ミロガバリンのユニークな結合プロファイルから、プレガバリンと比較して、$\alpha_2\delta$-1 由来のより強力かつ持続的な鎮痛作用、並びに $\alpha_2\delta$-2 由来の中枢神経関連副作用の軽減が期待される。プレガバリンは、神経障害性疼痛及び線維筋痛症に伴う痛みの治療薬として承認されている。プレガバリンの鎮痛作用には、カルシウムイオン流入抑制による興奮性神経伝達物質の過剰放出抑制の他、下行性疼痛抑制系のノルアドレナリン経路及びセロトニン経路に対する作用も関与すると考えられている[3),4)]。In vivo では、ミロガバリンベシル酸塩は 2 種類の末梢性神経障害性疼痛モデルで、プレガバリンより強力かつ持続的な鎮痛作用を示した。ミロガバリンベシル酸塩は、中枢性神経障害性疼痛モデル及び 2 種類の線維筋痛症モデルで有意な鎮痛作用を示した。In vitro 及び in vivo 薬理試験の結果を踏まえると、ミロガバリンベシル酸塩は、神経障害性疼痛及び線維筋痛症の患者に効果的な疼痛緩和をもたらすことが期待される。

中枢神経系に対するラット安全性薬理試験では、ミロガバリンベシル酸塩により、10 mg/kg 以上で協調運動能の低下（Rota-rod 法）、30 mg/kg 以上で中枢神経抑制症状（Irwin 変法）及び自発運動量の減少（Supermex 法）が認められた。これらの変化は、ミロガバリンベシル酸塩の中枢神経系に対する過度の薬理学的作用と判断された。心血管系試験では、ミロガバリンベシル酸塩は 300 μmol/L まで hERG 電流に影響を及ぼさなかったが、30 μmol/L 以上で APD_{30} 及び APD_{90} を短縮させ、APA を減少させる傾向を示した。活動電位のその他の評価項目には影響を及ぼさなかった。一方、無麻酔サルでは、2000 mg/kg で血圧低下が認められた。しかし、2000 mg/kg まで心拍数及び心電図パラメータの変化はみられなかった。ミロガバリンベシル酸塩は、過度の薬理学的作用である中枢神経抑制症状を示したが、心血管系及び呼吸系に対しては、300 mg/kg まで有意な影響を及ぼさなかった。

5.2 薬物動態

ラット及びサルへの経口投与後、ミロガバリンは速やかに吸収された後、全身血中から消失した。AUC 及び Cmax は投与量にほぼ比例した。経口投与時の生物学的利用率は、両動物種とも高かった。

ラットへの経口投与後、ミロガバリンは全身の広範な組織に分布した後、大部分の組織から速やかに消失した。中枢神経系への分布は他の組織より低かった。妊娠ラットでは、低濃度のミロガバリンが胎盤を通過して胎児に移行した。授乳ラットでは、ミロガバリンは乳汁中にも排泄された。マウス、ラット、サル、及びヒトでのミロガバリンの in vitro 血漿タンパク結合率は比較的低かった。

マウス、ラット、及びサルでは、ミロガバリンはほとんど代謝されず、これらの動物にミロガバリンを経口投与後、大部分が未変化体として尿中排泄された。投与されたミロガバリンの一部は、*N*-グルクロン酸抱合体及びアシルグルクロン酸抱合体へと代謝された後、アシルグルクロン酸抱合体は非酵素的に A204-4455（ヒト主要代謝物）に変換されると推定される。

In vitro 試験の結果、ミロガバリンが DDI によって併用薬の薬物動態に影響を及ぼす可能性は低いと判断された。腎トランスポーター（OAT1、OAT3、OCT2、MATE1、及び MATE2-K）は、ミロガバリンの能動的な腎分泌に関与すると判断された。臨床 DDI 試験では、これらのトランスポーターの阻害剤の併用投与が及ぼす影響を評価した（2.7.2.2.4.8）。

5.3　毒性

ラット、カニクイザル、及びウサギの毒性試験では、ラットで 1000 mg/kg／日以上、カニクイザルで 2000 mg/kg／日、妊娠ウサギで 1000 mg/kg／日で死亡例が認められた。死因は、ミロガバリンベシル酸塩の中枢神経抑制による一般状態の悪化であった。

ラット及びカニクイザルの反復投与毒性試験での用量制限毒性は、中枢神経抑制による一般状態の異常と判断された。この中枢神経抑制は過度の薬理学的作用によるものと考えられた。高用量域での標的臓器は、ラットでは胃、心臓、及び腎、カニクイザルでは胃及び心臓であった。ラット 2 週間反復投与毒性試験では、300 mg/kg／日以上で腺胃の糜爛、2000 mg/kg／日で前胃の糜爛及び粘膜肥厚が認められた。ラット 4 週間反復投与毒性試験では、1000 mg/kg／日で前胃の粘膜肥厚及び糜爛、並びに腺胃の糜爛及び潰瘍が認められた。ラット 13 週間反復投与毒性試験では、300 mg/kg／日で前胃に粘膜肥厚（粘膜の再生性変化）が認められた。カニクイザル 4 週間反復投与毒性試験では 1000 mg/kg／日、2 週間反復投与毒性試験では 2000 mg/kg／日で、胃噴門部の扁平上皮の水腫性変性が認められた。胃扁平上皮の病理組織学的変化は、胃粘膜刺激性を有する他の薬物あるいは化学物質でも報告されている[9]。胃で認められた所見は、高濃度投与懸濁液でのミロガバリンベシル酸塩分子内のベシル酸成分の局所刺激性によるものと考えられた。ラット 4 週間反復投与毒性試験では、1000 mg/kg／日で心内膜下の限局性石灰化が認められ、2 週間反復投与毒性試験では、2000 mg/kg／日で心臓に限局性出血及び心筋壊死が認められた。カニクイザル 2 週間反復投与毒性試験では、2000 mg/kg／日で心筋変性が認められた。ラット 4 週間反復投与毒性試験では、1000 mg/kg／日で雄に腎尿細管上皮の限局性の壊死及び硝子滴の増加が認められた。ラット 26 週間反復投与毒性試験では 100 mg/kg／日まで、カニクイザル 13 週間反復投与毒性試験では 300 mg/kg／日まで、39 週間反復投与毒性試験では 100 mg/kg／日まで、臓器毒性は認められなかった。ラット 26 週間反復投与毒性試験では、無毒性量（10 mg/kg／日）での Cmax 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ は、最大推奨臨床用量（15 mg 1 日 2 回）での Cmax 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ と比較して、それぞれ 7.9 及び 4.7 倍高かった。カニクイザル 39 週間反復投与毒性試験では、無毒性量（30 mg/kg／日）での Cmax 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ は、最大推奨臨床用量（15 mg 1 日 2 回）での Cmax 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ と比較して、それぞれ 32.0 及び 24.7 倍高かった（表 2.4.5-1）。

細菌を用いた復帰突然変異試験、染色体異常試験、及びラット単回経口投与後の骨髄小核試験で、ミロガバリンベシル酸塩は遺伝毒性を示さなかった。

マウス 104 週間がん原性試験では、ミロガバリンベシル酸塩による腫瘍あるいは非腫瘍性病変による死亡の増加はみられなかった。100 mg/kg／日まで、投与に関連する腫瘍発生及び増殖性病変は雌雄ともに認められなかった。マウスでは、100 mg/kg／日でのミロガバリンの $AUC_{0\text{-}24h}$ は、最大推奨臨床用量（15 mg 1 日 2 回）での $AUC_{0\text{-}24h}$ と比較して 13.5 倍高かった（表 2.4.5-1）。ラット 104 週間がん原性試験では、ミロガバリンベシル酸塩による腫瘍あるいは非腫瘍性病変による死亡の増加はみられなかった。100 mg/kg／日で、膀胱の移行上皮乳頭腫（良性腫瘍）の発生頻度が雄で統計学的に有意に上昇したが、その発生頻度（60 例中 3 例）は低かった。雄ラットの膀胱腫瘍発生に関する機序試験では、100 mg/kg／日まで、膀胱尿路上皮の細胞傷害性あるいは増殖活性は認められなかった。ミロガバリンベシル酸塩は遺伝毒性を示さなかったことも併せて考えると、移行上皮乳頭腫の形成は、ミロガバリンベシル酸塩に起因するものでないと判断された。30 mg/kg／日では、雄ラットで移行上皮乳頭腫の発生頻度が有意な上昇を示さず、同投与量でのミロガバリンの $AUC_{0\text{-}24h}$ は、最大推奨臨床用量（15 mg 1 日 2 回）での $AUC_{0\text{-}24h}$ と比較して 22.1 倍高かった（表 2.4.5-1）。以上のことから、雄ラットの 100 mg/kg／日で認められた膀胱の移行上皮乳頭腫は、ヒトでの造腫瘍性リスクを示唆するものではないと考えられた。

ラットの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験では、100 mg/kg／日で発情前期及び発情期の持続が認められた。雄生殖能に対する毒性、並びに受胎能及び着床までの初期胚発生の異常はみられなかった。雌生殖能への影響（発情前期及び発情期の持続）に関する無毒性量（30 mg/kg／日）での $AUC_{0\text{-}24h}$ は、最大推奨臨床用量（15 mg 1 日 2 回）での $AUC_{0\text{-}24h}$ と比較して 12.5 倍高かった（表 2.4.5-1）。

ラット胚・胎児発生に関する試験では、母動物の死亡が 1000 mg/kg／日で認められた。母動物では、100 mg/kg／日以上で投与終了後に体重及び摂餌量の減少が認められた。胎児では、30 mg/kg／日以上で外表・内臓・骨格異常を伴わない生存胎児体重減少が認められた。したがって、次世代発生（胎児体重減少）に対する無毒性量（10 mg/kg／日）での $AUC_{0\text{-}24h}$ は、最大推奨臨床用量（15 mg 1 日 2 回）での $AUC_{0\text{-}24h}$ と比較して 7.3 倍高かった（表 2.4.5-1）。ウサギ胚・胎児発生に関する試験では、母動物の死亡が 1000 mg/kg／日で認められた。100 mg/kg／日以上で流産が認められた。母動物では、10 mg/kg／日以上で投与終了後に体重及び摂餌量の減少が認められた。胎児では、30 mg/kg／日以上で外表・内臓・骨格異常を伴わない生存胎児体重減少が認められた。次世代発生（胎児体重減少）に対する無毒性量（10 mg/kg／日）での $AUC_{0\text{-}24h}$ は、最大推奨臨床用量（15 mg 1 日 2 回）での $AUC_{0\text{-}24h}$ と比較して 4.3 倍高かった（表 2.4.5-1）。結論として、ミロガバリンベシル酸塩はラット及びウサギで催奇形性を示さなかった。

ラット出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験では、30 mg/kg／日以上で、親動物の活動性の低下が投与期間（妊娠期間及び哺育期間）を通してみられた。100 mg/kg／日では、妊娠期間の延長がみられた。F1 出生児では、30 mg/kg／日以上で出生率の低下が

みられた。次世代発生（F1 出生児の出生率の低下）に対する無毒性量（10 mg/kg／日）での $AUC_{0\text{-}24h}$ は、最大推奨臨床用量（15 mg 1 日 2 回）での $AUC_{0\text{-}24h}$ と比較して 5.2 倍高かった（表 2.4.5-1）。

ラット薬物弁別試験では、ミロガバリンベシル酸塩の弁別刺激効果はミダゾラムとの類似性を示さなかった。ラット 4 週間反復投与身体依存性試験では、300 mg/kg／日で明らかな退薬症候が認められ、30 mg/kg／日で一過性の身体依存性が認められた。4 週間反復投与毒性試験では、30 mg/kg／日での $AUC_{0\text{-}24h}$ は、最大推奨臨床用量（15 mg 1 日 2 回）での $AUC_{0\text{-}24h}$ と比較して 12 倍高かった。アカゲザル静脈内自己投与試験では、3 mg/kg/infusion で 4 例中 2 例に自己投与が認められたが、0.3 及び 1 mg/kg/infusion では自己投与はみられなかった。ミロガバリンベシル酸塩はサル自己投与試験で精神依存形成能を示し、その強度はペントバルビタール 1 mg/kg/infusion（陽性対照）と比較して低かった。また、カニクイザル 4 週間経口投与毒性試験では、ミロガバリンベシル酸塩の 1000 mg/kg／日まで退薬症候はみられなかった。

A204-4455（ミロガバリンのラクタム体代謝物）はヒト主要代謝物であるが、ヒトでの全身曝露量は、ミロガバリンに関連する総曝露量の 10%未満であった。また、ラット及びカニクイザルでの A204-4455 の曝露量は、最大推奨臨床用量（15 mg 1 日 2 回）でのヒトでの A204-4455 の曝露量より高かった（表 2.4.5-2）。A204-4455 は、各種受容体、チャネル、トランスポーター、及び酵素（計 183 種、$\alpha_2\delta$ サブユニットを含む）に対し、臨床的に意義のある影響を及ぼさないと判断された。したがって、A204-4455 はミロガバリンベシル酸塩の非臨床プログラムで十分に評価され、ヒトにリスクをもたらすことはないと考えられる。

原薬又は製剤中の不純物（不純物A*、不純物B*、不純物C*、及び 不純物D*）は、ミロガバリンベシル酸塩と比較して、新たな毒性変化を示さず、ミロガバリンベシル酸塩の安全性に影響を及ぼさないと判断された。ミロガバリンベシル酸塩の製造工程で生成する[redacted]（物質A*、物質B*、物質C*、及び物質D*）は、変異原性を示さなかった。

毒性評価の結論として、ラット、カニクイザル、妊娠ラット、及び妊娠ウサギへのミロガバリンベシル酸塩投与により認められた主な毒性は、過度の薬理学的作用によると考えられる中枢神経機能抑制症状であった。ミロガバリンベシル酸塩は遺伝毒性及び催奇形性を示さなかった。しかし、生殖発生毒性試験では、母動物の発情前期及び発情期の持続、胎児体重の減少、及び F1 出生児の出生率の低下が認められた。ミロガバリンベシル酸塩はマウスで造腫瘍性を示さなかった。ラットがん原性試験で移行上皮乳頭腫の発生頻度が統計学的に有意な上昇を示したが、機序試験の結果から、ミロガバリンベシル酸塩が造腫瘍作用を示す可能性は極めて低いと判断された。ミロガバリンベシル酸塩は、ラットで身体依存性、アカゲザルで精神依存性形成能を示した。ラットでは、ミロガバリンベシル酸塩の弁別刺激効果はミダゾラムとの類似性を示さなかった。

最大推奨臨床用量（15 mg 1 日 2 回）と非臨床毒性試験での無毒性量でのミロガバリン及び A204-4455 の曝露量の比較に基づく安全域を、表 2.4.5-1 及び表 2.4.5-2 に示す。これらの安全域とともに、ラット及びカニクイザルで用量制限毒性となる臓器毒性が認められなかっ

＊新薬承認情報提供時に置換

たことに基づき、非臨床データからは、ミロガバリンベシル酸塩を臨床で長期間投与しても問題ないと考えられる。

以上、非臨床試験で評価したミロガバリンベシル酸塩の薬理作用、薬物動態、及び毒性の特性は、神経障害性疼痛及び線維筋痛症の治療薬としてミロガバリンを臨床使用することの妥当性を裏付けるものである。

表 2.4.5-1　ミロガバリンの安全域: 臨床用量と重要な試験での無毒性量での曝露量の比較

Type of Study	Species	Dose/ NOAEL (mg/kg/day)	Sex	Cmax (μg/mL)	$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	MOS
Clinical Trial[a]	Human	15 mg bid	—	0.381[h]	2.114[i]	—
Repeated-dose toxicity (26 weeks)	Rat/F344	10[b]	M	3.02	10.2	4.8
		10[b]	F	3.19	10.1	4.7
Repeated-dose toxicity (39 weeks)	Cynomolgus monkey	30[b]	M	13.9	58.1	27.4
		30[b]	F	12.2	52.4	24.7
Carcinogenicity (104 weeks)	Mouse/ B6C3F1	100[c]	M	15.2	28.7	13.5
		100[c]	F	18.5	34.4	16.2
Carcinogenicity (104 weeks)	Rat/F344	30[c]	M	14.9	46.9	22.1
		100[c]	F	30.4	113	53.4
Fertility and early embryonic development	Rat/SD	100[d]	M	17.3	105	49.6
		30[e]	F	7.16	26.5	12.5
Embryo-fetal development	Rat/SD	10[f]	F	4.57	15.5	7.3
	Rabbit/NZW	10[f]	F	3.07	9.25	4.3
Pre- and postnatal development	Rat/SD	10[g]	F	3.42	11.0	5.2

M: male, F: female, NOAEL: no observed adverse effect level, MOS: margin of safety on the $AUC_{0\text{-}24h}$ of mirogabalin

[a] Study No. DS5565-A-E103
[b] NOAEL for abnormal clinical signs related to the central nervous system
[c] The dose level of no-observed significant increase in tumor
[d] NOAEL for reproduction (No reproductive toxicity)
[e] NOAEL for the reproduction (Persistent proestrus and estrus)
[f] NOAEL for the next generation (Decrease in fetal body weight)
[g] NOAEL for the next generation (Decrease in live birth index of F1)
[h] Cmax,ss for Japanese subjects at Day 7 (Cmax,ss = Cmax at steady state)
[i] AUCtau × 2 for Japanese subjects at Day 7 (AUCtau = AUC from time 0 to 12 hours)

表 2.4.5-2　A204-4455 の安全域: 臨床用量と重要な試験の無毒性量での曝露量の比較

Type of Study	Species	Dose/ NOAEL (mg/kg/day)	Sex	Cmax (μg/mL)	$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	MOS
Clinical Trial[a]	Human	15 mg bid	—	0.0179	0.2788	—
Repeated-dose toxicity (26 weeks)	Rat/F344	10[b]	M	0.0767	0.392	1.4
		10[b]	F	0.153	0.607	2.1
Repeated-dose toxicity (39 weeks)	Cynomolgus monkey	30[b]	M	0.136	0.796	2.8
		30[b]	F	0.116	0.586	2.1

M: male, F: female, NOAEL: No observed adverse effect level, MOS: margin of safety on the $AUC_{0\text{-}24h}$ of A204-4455

[a] Study No. DS5565-A-U104
[b] NOAEL for abnormal clinical signs related to the central nervous system

6. 参考文献一覧

1) Gee NS, Brown JP, Dissanayake VU, et al. The novel anticonvulsant drug, gabapentin (Neurontin), binds to the α2δ subunit of a calcium channel. J Biol Chem. 1996;271:5768-76.
2) Field MJ, Cox PJ, Stott E, et al. Identification of the α2-δ-1 subunit of voltage-dependent calcium channels as a molecular target for pain mediating the analgesic actions of pregabalin. Proc Natl Acad Sci USA. 2006;103:17537-42.
3) Tanabe M, Takasu K, Takeuchi Y, et al. Pain relief by gabapentin and pregabalin via supraspinal mechanisms after peripheral nerve injury. J Neurosci Res. 2008;86:3258-64.
4) Bee LA, Dickenson AH. Descending facilitation from the brainstem determines behavioural and neuronal hypersensitivity following nerve injury and efficacy of pregabalin. Pain. 2008;140:209-23.
5) Greaves P. Urinary Tract. Urinary Bladder. Urothelial (transitional epithelial) hypertrophy and hyperplasia. In: Histopathology of preclinical toxicity studies. Interpretation and relevance in drug safety studies. 4th ed. Elsevier; 2012. p. 587-9.
6) Greaves P. Urinary Tract. Neoplasia. In: Histopathology of preclinical toxicity studies. Interpretation and relevance in drug safety studies. 4th ed. Elsevier; 2012.p. 589-94.
7) Cohen SM. Urinary bladder carcinogenesis. Toxicol Pathol. 1998;26:121-7.
8) Cohen SM. Comparative pathology of proliferative lesions of the urinary bladder. Toxicol Pathol. 2002;30:663-71.
9) Greaves P. Digestive system. Forestomach. Non-neoplastic lesions. In: Histopathology of preclinical toxicity studies. Interpretation and relevance in drug safety studies. 4th ed. Elsevier; 2012. p. 343-6.