目次

2.6.2 薬理試験の概要文 4
2.6.2.1 まとめ 4
2.6.2.1.1 効力を裏付ける薬理作用 4
2.6.2.1.1.1 モノアミン酸化酵素 B 阻害作用（ドパミン神経系に対する作用） 4
2.6.2.1.1.2 電位依存性ナトリウムチャネル阻害作用によるグルタミン酸放出抑制作用 4
2.6.2.1.1.3 パーキンソン病モデルにおける効果 4
2.6.2.1.1.4 その他の薬理試験 5
2.6.2.1.1.5 サフィナミドの代謝物並びに(*R*)-サフィナミドの薬理作用 5
2.6.2.1.2 安全性薬理 5
2.6.2.2 効力を裏付ける試験 8
2.6.2.2.1 ドパミン神経系に対する作用（in vitro 試験） 8
2.6.2.2.1.1 モノアミン酸化酵素 B（MAO-B）に対する作用 8
2.6.2.2.1.2 芳香族 L-アミノ酸脱炭酸酵素（AADC）に対する作用 9
2.6.2.2.1.3 カテコール-*O*-メチル基転移酵素（COMT）に対する作用 9
2.6.2.2.1.4 モノアミントランスポーターに対する作用 9
2.6.2.2.1.4.1 ドパミントランスポーター（DAT）に対する作用 9
2.6.2.2.1.4.2 セロトニントランスポーター（SERT）に対する作用 10
2.6.2.2.1.5 ドパミン受容体に対する作用 10
2.6.2.2.2 ドパミン神経系に対する作用（in vivo 試験） 10
2.6.2.2.2.1 モノアミン酸化酵素 B 型に対する作用 10
2.6.2.2.2.2 ドパミン及びセロトニントランスポーターに対する作用 11
2.6.2.2.2.3 ドパミン含量に対する作用 12
2.6.2.2.3 ドパミン神経系以外の作用 13
2.6.2.2.3.1 ナトリウムチャネルに対する作用 13
2.6.2.2.3.2 カルシウムチャネルに対する作用 14
2.6.2.2.3.3 グルタミン酸放出に対する作用 14
2.6.2.2.4 パーキンソン病モデルにおける効果 16
2.6.2.2.4.1 MPTP 投与マウスのドパミン含量 16
2.6.2.2.4.2 MPTP 誘発マウス黒質変性モデル 16
2.6.2.2.4.3 片側性 6-OHDA 誘発ラット内側前脳束変性モデル 17
2.6.2.2.4.4 片側性 6-OHDA 誘発ラットにおける wearing off 現象 17
2.6.2.2.4.5 MPTP 誘発パーキンソン病様カニクイザル 18
2.6.2.2.4.5.1 サフィナミドのパーキンソン病治療効果と抗ジスキネジア作用 18
2.6.2.2.4.5.2 ラサギリンのパーキンソン病治療効果と抗ジスキネジア作用 20
2.6.2.2.4.5.3 Lazabemide 及びリルゾールのパーキンソン病治療効果と抗ジスキネジア作用 21
2.6.2.2.4.5.4 アマンタジンのパーキンソン病治療効果と抗ジスキネジア作用 22
2.6.2.2.4.5.5 LID モデルのまとめ 23
2.6.2.2.4.6 薬物誘発性振戦モデルに及ぼす作用 24
2.6.2.3 副次的薬理試験 24
2.6.2.3.1 神経保護作用 24
2.6.2.3.1.1 スナネズミ両側頸動脈閉塞モデル 24
2.6.2.3.1.2 ラット多発性硬化症モデル 25
2.6.2.3.2 抗てんかん作用 25
2.6.2.3.3 代謝物の薬理作用 26

2.6.2.3.3.1 MAO-B、ナトリウムチャネル、カルシウムチャネルに対する作用 26
2.6.2.3.3.2 MAO-A に対する作用 26
2.6.2.3.3.3 芳香族 L-アミノ酸脱炭酸酵素（AADC）に対する作用 26
2.6.2.3.4 (*R*)-サフィナミドの薬理作用 27
2.6.2.4 安全性薬理試験 28
2.6.2.4.1 中枢神経系に対する作用 28
2.6.2.4.1.1 マウスを用いた Irwin 試験 28
2.6.2.4.1.2 ラットを用いた Irwin 試験 28
2.6.2.4.1.3 マウスを用いた運動協調性に対する作用 28
2.6.2.4.1.4 マウスを用いた自発運動量及びコカイン誘発活動亢進に対する作用 28
2.6.2.4.1.5 ラットを用いた自発運動量に対する作用 29
2.6.2.4.1.6 アカゲザルでの行動試験 29
2.6.2.4.1.7 ラットを用いた認知機能の評価 29
2.6.2.4.2 心血管系に対する作用 30
2.6.2.4.2.1 Kv11.1(hERG)イオンチャネルに対する作用 30
2.6.2.4.2.2 心臓イオンチャネルに対する作用 30
2.6.2.4.2.3 モルモット単離乳頭筋及びイヌプルキンエ繊維における心臓活動電位に対する作用 31
2.6.2.4.2.4 モルモット単離心臓標本における不応期及び収縮力に対する作用 31
2.6.2.4.2.5 ウサギ単離心臓標本に対する作用 31
2.6.2.4.2.6 ラットでの心血管及び呼吸器の評価 32
2.6.2.4.2.7 覚醒イヌにおける心血管作用 32
2.6.2.4.2.8 脊髄破壊ラットにおけるノルアドレナリン昇圧反応 33
2.6.2.4.2.9 正常血圧ラットにおけるチラミン昇圧反応 33
2.6.2.4.2.10 麻酔サル及び覚醒サルにおける試験 33
2.6.2.4.3 呼吸器系に対する作用 34
2.6.2.4.3.1 ラットでの呼吸器系評価 34
2.6.2.4.4 その他の安全性薬理試験 34
2.6.2.4.4.1 In vitro 受容体プロファイリング 34
2.6.2.4.4.2 腎機能 36
2.6.2.4.4.3 消化管機能 36
2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験 36
2.6.2.6 考察及び結論 37
2.6.2.7 参考文献一覧 41

略号一覧

AADC	Aromatic L-amino-acid decarboxylase	芳香族 L-アミノ酸脱炭酸酵素
AD_{50}	50% attenuation dose	50%減弱量
APD	Action potential duration	活動電位持続時間
BCO	Bilateral carotid occlusion	両側総頸動脈閉塞
Ca^{2+}	Calcium ion	カルシウム・イオン
C_{max}	Maximal plasma concentration	最高血漿中濃度
COMT	Catechol-*O*-methyltransferase	カテコール-*O*-メチル基転移酵素
DAT	Dopamine transporter	ドパミントランスポーター
DOPAC	3,4-Dihydroxyphenylacetic acid	3,4-ジヒドロキシフェニル酢酸
EAE	Experimental autoimmune encephalomyelitis	実験的自己免疫性脳脊髄炎
ED_{50}	50% effective dose	50%有効量
IC_{50}	50% inhibition concentration	50%阻害濃度
ID_{50}	50% inhibition dose	50%阻害量
i.p.	Intraperitoneal	腹腔内
K^+	Potassium ion	カリウム・イオン
LID	Levodopa induced dyskinesia	レボドパ誘発性ジスキネジア
L-dopa	Levodopa	レボドパ
MAO-A	Monoamine oxidase A	モノアミン酸化酵素 A
MAO-B	Monoamine oxidase B	モノアミン酸化酵素 B
MPTP	1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6- tetrahydropyridine	1-メチル-4-フェニル-1,2,3,6-テトラヒドロピリジン
Na^+	Sodium ion	ナトリウム・イオン
NMDA	*N*-methyl-D-aspartic acid	*N*-メチル-D-アスパラギン酸
p.o.	Per os	経口
s.c.	Subcutaneous	皮下
SERT	Serotonin transporter	セロトニントランスポーター
TD_{50}	50% toxic dose	50%毒性発現量
6-OHDA	6-Hydroxydopamine	6-ヒドロキシドパミン

2.6.2 薬理試験の概要文

2.6.2.1 まとめ

2.6.2.1.1 効力を裏付ける薬理作用

2.6.2.1.1.1 モノアミン酸化酵素 B 阻害作用（ドパミン神経系に対する作用）

サフィナミドメシル酸塩（以下、サフィナミド）は選択的モノアミン酸化酵素 B（monoamine oxidase B; MAO-B）阻害薬であり、その IC_{50} 値はヒト脳で 79 nM、ラット脳で 98 nM で、モノアミン酸化酵素 A（monoamine oxidase A; MAO-A）阻害作用よりヒト脳で約 1000 倍、ラット脳で約 6000 倍阻害活性が強かった。また MAO-B に対する阻害様式については、in vitro 並びに in vivo 試験で可逆的阻害薬であることが示された。芳香族 L-アミノ酸脱炭酸酵素（aromatic L-amino-acid decarboxylase; AADC）、カテコール-*O*-メチル基転移酵素（catechol-*O*-methyltransferase; COMT）、ドパミントランスポーター（Dopamine transporter; DAT）、及びドパミン受容体等のドパミン神経系に対するサフィナミドの作用は、MAO-B 阻害作用に比べて 1/100 以下であった。サフィナミドをサルに反復投与した結果、運動調節に関与する線条体被殻のドパミン含量が増加した。一方、報酬回路に関与する側坐核ではドパミン含量に変化は認められなかった。

2.6.2.1.1.2 電位依存性ナトリウムチャネル阻害作用によるグルタミン酸放出抑制作用

サフィナミドは電位依存性ナトリウムチャネルを活動状態依存的に阻害し、静止状態に対する IC_{50} 値は 13～82 μM であるが、不活性化状態のチャネルに対する IC_{50} 値は 1.6～4.9 μM であった。また、サフィナミドは電位依存性カルシウムチャネルも阻害し、IC_{50} 値は 14.2～113.2 μM であった。ラットを用いた微小透析試験では、ヒトにおける最高血漿中濃度（100 mg/日、7 日間で 1819 ng/mL）と同程度の血漿中濃度を示すと推測される投与量のサフィナミドは単独では海馬におけるグルタミン酸放出に影響することなく、veratridine（ナトリウムチャネル開口薬）により誘発されるグルタミン酸放出を有意に抑制した。また、サフィナミドは前頭皮質及び線条体におけるカリウム（K^+）刺激によるグルタミン酸放出に影響しなかった。K^+刺激によるグルタミン酸放出はカルシウムチャネルの活性化を介することから、サフィナミドは in vivo 試験においてはナトリウムチャネルの阻害を介してグルタミン酸放出を抑制することが示唆された。

2.6.2.1.1.3 パーキンソン病モデルにおける効果

1-メチル-4-フェニル-1,2,3,6-テトラヒドロピリジン（1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6- tetrahydropyridine; MPTP）を投与したマウスにサフィナミドをレボドパ及びベンセラジドと併用したところ、レボドパ／ベンセラジドのみを投与したマウスに比べて脳内ドパミン含量が有意に増加した。また、サフィナミドは MPTP が誘発するマウス黒質ドパミン作動性神経の変性と線条体ドパミン含量の低下を抑制した。さらに、6-ヒドロキシドパミン（6-Hydroxydopamine; 6-OHDA）を処置したラットにサフィナミドを投与すると、黒質ドパミン作動性神経の変性が抑制された。これらの結果からサフィナミドがドパミン神経保護作用を有することが示唆され、パーキンソン病の進行を抑制することが期待された。

また、6-OHDA を処置したラットにレボドパとベンセラジドを投与すると回転運動が観察され、さらにレボドパ／ベンセラジドを反復投与すると回転運動が減少する wearing off 現象が観察される。サフィナミドはこの回転運動の減少を有意に回復させた。また、*N*-メチル-D-アスパラギン酸（*N*-methyl-D-aspartic acid; NMDA）型グルタミン酸受容体阻害薬 MK-801 もサフィナミドと同様に回

転運動を有意に回復させたことから、wearing off 現象の改善にはグルタミン酸神経伝達を抑制することが有効である可能性が示唆された。

MPTP を処置したカニクイザルにレボドパを投与し作製したレボドパ誘発性ジスキネジア（Levodopa induced dyskinesia; LID）モデルにおいて、サフィナミドはレボドパ投与によるパーキンソン病治療効果持続時間を延長するとともに、レボドパにより誘発されるジスキネジアを抑制した。MAO-B 阻害薬のラサギリンはレボドパのパーキンソン病治療効果持続時間を延長したが、ジスキネジアに対する抑制作用に用量反応はみられず、別の MAO-B 阻害薬である国内未承認薬の lazabemide も同様にパーキンソン病治療効果持続時間を延長したが、ジスキネジアには影響しなかった。一方、電位依存性ナトリウムチャネル阻害作用とグルタミン酸放出抑制作用を有するリルゾールと NMDA 受容体拮抗作用を有するアマンタジンはジスキネジアを抑制した。これらの結果から MAO-B 阻害作用はレボドパによるパーキンソン病治療効果持続時間の延長に寄与するものと考えられ、グルタミン酸神経伝達抑制作用はレボドパが誘発する wearing off 現象やジスキネジアの軽減につながるものと考えられた。

サフィナミドは、ドパミン D_2 受容体拮抗薬のピモジド、ムスカリン受容体作動薬のピロカルピン、又はアセチルコリンエステラーゼ阻害薬のガランタミンで誘発されたラットの顎振戦に対して振戦回数を有意に減少した。

したがって、MAO-B 阻害作用とグルタミン酸放出抑制作用を有するサフィナミドは、パーキンソン病におけるレボドパ療法に伴う wearing off 現象の改善に有用であるとともに、ジスキネジアを軽減することが期待できるが、ジスキネジアの軽減については臨床試験で検証されていない。

2.6.2.1.1.4 その他の薬理試験

スナネズミの一過性脳虚血モデルにおいて、サフィナミドの前投与は虚血による海馬神経変性を有意に抑制し、虚血再灌流 3 時間後にサフィナミドの投与を開始した場合でも抑制効果が認められ、サフィナミドの神経保護作用が示唆された。さらにサフィナミドは虚血による認知機能障害についても改善した。また、ラットの多発性硬化症モデルである実験的自己免疫性脳脊髄炎モデルにおいて、神経障害発症後にサフィナミドを投与した場合でも神経症状及び軸索変性が有意に抑制され、サフィナミドの神経保護作用が示された。以上のことから、サフィナミドにはドパミン神経に限定されない神経保護作用が期待された。

サフィナミドは、ラットの最大電撃痙攣モデルやキンドリングモデルにおいて既存の抗てんかん薬と同様に抗てんかん作用を示した。

2.6.2.1.1.5 サフィナミドの代謝物並びに(*R*)-サフィナミドの薬理作用

サフィナミドの主要代謝物 NW-1153 及び NW-1689 は、MAO-B に対して 100 μM を超える濃度でも阻害作用を示さなかった。また、MAO-A、AADC、N 型及び L 型カルシウムチャネル並びにナトリウムチャネルに対する阻害作用も弱かった。サフィナミドの鏡像異性体である(*R*)-サフィナミドの MAO-B 阻害活性はサフィナミドの約 1/3～1/10 であり、MAO-A についてはサフィナミドに比べて 3～7 倍強かった。

2.6.2.1.2 安全性薬理

げっ歯類及びサルを用いた中枢神経系評価、覚醒ラット及びイヌを用いた心血管系機能評価及びげっ歯類を用いた呼吸器系機能評価を実施した。また、サルを用いた毒性試験で死亡が散見されため、

心血管系評価においては麻酔下サルを用いた試験を実施した。その他に、げっ歯類を用いた腎臓及び胃腸機能評価並びに標的以外の各種受容体、イオンチャネル、トランスポーター及び酵素に対する作用についても評価した。試験にはすべてサフィナミドメシル酸塩を用いた。

サフィナミドは中枢神経系に関して、マウスではサフィナミドとして 100～1000 mg/kg、ラットではサフィナミドメシル酸塩として 30～200 mg/kg の単回経口投与後に、一過性かつ用量依存的な中枢抑制性の作用を誘発した。マウスにサフィナミドを経口投与したロータロッド試験における TD_{50}（50%の動物が落下する用量）は 626 mg/kg（サフィナミドとして）であった。自発運動量の測定において、マウスではサフィナミドメシル酸塩として 100 mg/kg 腹腔内投与、ラットではサフィナミドとして 700 mg/kg 経口投与により自発運動量の低下が認められた。ラットを用いた認知機能評価では、評価した最高用量であるサフィナミド 400 mg/kg で影響は認められなかった。アカゲザルにおけるコカイン弁別刺激では、サフィナミドは 1 mg/kg 以上の前処置によりコカインの弁別刺激の ED_{50} を低下させたが、個体差が大きく、1 時間後と 24 時間後で影響の有無や強弱にも一貫性はなかった。また、1/4 例では ED_{50} の上昇がみられ、同一個体における反応にも一貫性がみられなかった。

心血管系では、サフィナミドは Kv11.1(hERG)チャネル電流を阻害し、IC_{50} 値は 27～37.7 μM であった。また NW-1153、NW-1689 及び NW-1689AG による hERG チャネルの IC_{50} 値は 10 μM よりも高かった。心機能に影響する主要な電位依存性イオンチャネル（LQT1/mink、Kv1.5、Cav1.2、Cav3.2、Kir2.1、HCN2、CFTR 及び CLC-1 チャネル）、ATP 依存性カリウムチャネル(Kir6.2/SUR2A）、ナトリウムチャネル（Nav1.5）、カリウムチャネル（Kv4.3）及び HCN4 チャネルに対し、サフィナミドは概ね 10 μM 以上の IC_{50} 値を示した。サフィナミドによる hERG チャネル阻害の IC_{50} 値はヒトに 100 mg/日を 7 日間反復投与した際の最高血漿中非結合型濃度（0.66 μM）と比較して 40 倍以上、その他のチャネルに関しても 15 倍以上であり、臨床使用においてこれらのチャネルへ影響する可能性は低いと考えられた。

モルモット単離乳頭筋を用いた試験で活動電位持続時間（APD）の短縮がみられ、10～100 μM の濃度において APD_{20} が 16～52%、APD_{50} が 10～47%、APD_{90} が 9～28%短縮した。APD の短縮はサフィナミド 3～30 μM を適用したイヌプルキンエ線維を用いた試験においても認められ、30 μM においては活動電位振幅及び脱分極最大立上り速度の減少もみられた。モルモット単離乳頭筋を用いた別の試験では、サフィナミド 3、10 及び 30 μM において濃度依存的な不応期の短縮（2、8 及び 19%）及び収縮力の低下（16、50 及び 76%）がみられた。

ウサギ乳頭筋単離標本を用いた試験では、1 Hz 刺激において 10 μM のサフィナミドは収縮力を減少させた。一方、3 Hz 刺激において、0.1 及び 1 μM では収縮力を有意に増大させた一方で、10 μM での収縮力は対照群と変わらず、100 μM では収縮力を有意に減弱させた。100 μM では、いずれの周波数においても有意な心室伝導時間の延長並びに右心房での有意な自動能低下が認められた。有効不応期は対照群に対して延長傾向が認められたが有意差はなかった。これらの変化は洗浄後にほぼ回復した。

覚醒ラットにサフィナミドメシル酸塩として 10、30 又は 100 mg/kg の用量で経口投与、あるいは 50 mg/kg の用量で静脈内投与、さらに麻酔ラットに 50 mg/kg の用量で静脈内持続投与したところ、100 mg/kg の経口投与あるいは 50 mg/kg の静脈内投与で心拍数がわずかに低下した。覚醒及び麻酔ラットのいずれも平均血圧に有意な変動はみられず、麻酔ラットにおける呼吸数の変化もみられなかった。

覚醒イヌにサフィナミドとして 5～50 mg/kg 又はサフィナミドメシル酸塩として 30～50 mg/kg、及び　類縁物質A*　（30 mg/kg）を経口投与したところ、サフィナミドでは心拍数及び平均血圧に対する有意な変化はみられなかったが、　類縁物質A*　では投与後 10～120 分において軽度かつ一過

＊新薬情報提供時に置き換えた。

性の心拍数の増加がみられた。いずれも QT 間隔が僅かに短縮した。Sarma 式で補正した QTc 間隔は短縮したが用量相関性はなく、Fridericia 式で補正した際には、QTc 間隔の短縮は認められなかった。血圧、呼吸数、体温、酸素飽和度及び血液パラメータに変化は認められなかった。

脊髄破壊ラットに対するノルアドレナリン静脈内投与による昇圧反応に対し、サフィナミドの 10 又は 50 mg/kg の腹腔内投与は影響を与えなかった。

覚醒ラットを用いた血圧測定において、サフィナミド（10 及び 20 mg/kg）とチラミン（10 mg/kg）との併用経口投与において昇圧反応はみられなかった。

麻酔下サルに対するサフィナミドの十二指腸内投与（120 又は 240 mg/kg）では血圧等に変動はみられなかった。240 mg/kg の十二指腸内投与では、その後 13 mg/kg を静脈内投与したところ死亡した。また、静脈内持続投与（113～171 mg/kg）で死亡がみられ、全てのサルに呼吸抑制が認められた。これらの動物では血圧及び収縮力の低下、軽度の心拍数低下がみられたが、心電図に対する作用は観察されなかった。大槽内投与（22.3 及び 118.8 mg）においても静脈内投与と同様の変化を呈した。静脈内投与及び大槽内投与でみられた血圧の低下は補助呼吸によって抑制されなかったが、ドブタミンの静脈内投与により回復した。一方で、覚醒サルに対する 75.2 mg/kg 静脈内投与では、神経症状がみられ、死亡したが、心電図及び血圧に変化はみられなかった。大槽内投与時の血漿中濃度（0.32 及び 5.6 μg/mL）は静脈内投与時（37.3～71.3 μg/mL）と比較して低かったが、脳脊髄液中濃度（397.5 μg/mL）は極めて高かった。これらの結果から、麻酔下サルにおいて極めて高い血漿中濃度においてみられた血圧の低下及び死亡は、サフィナミドの交感神経に対する作用を介して引き起こされた可能性が考えられたが、臨床使用範囲では血圧が低下する可能性は低いと考えられた。

覚醒ラットにサフィナミドメシル酸塩として 30～200 mg/kg 及び　類縁物質A*　30 mg/kg を単回経口投与し、全身プレチスモグラフィーを用いた呼吸機能測定の結果、いずれのパラメータにも影響は認められなかった。

サフィナミド、その代謝物（MW-1153、NW-1689 及び NW-1689AG）並びにサフィナミドの[redacted]である　類縁物質A*　について、標的以外の各種受容体、イオンチャネル、トランスポーター及び酵素に対する結合親和性評価を実施した結果、イミダゾリン 1 及び 2 受容体、ムスカリン 3 及び 4 受容体、並びにシグマ 1 及び 2 受容体の全て又はいずれかに対して結合がみられたが、in vitro 機能評価試験で臨床の最高血漿中非結合型濃度付近で作用がみられなかったこと、及び／又は in vivo 試験において当該受容体に関連した影響が認められなかったことから、サフィナミド及びその代謝物並びに　類縁物質A*　が標的以外の受容体等に作用して生体に重篤な影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。

覚醒ラットにサフィナミド 30～300 mg/kg を単回経口投与したところ、尿量、尿比重、尿中電解質、尿中窒素及び尿中クレアチニン濃度及び総排泄量に対する作用はみられなかった。

マウスにサフィナミド 30～300 mg/kg を単回経口投与したところ、腸管炭末輸送能に影響はみられなかった。

＊新薬情報提供時に置き換えた。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

サフィナミドの効力を裏付ける薬理学的特徴は、パーキンソン病治療薬としての有効性を評価する様々な in vitro 及び in vivo 試験において明らかにされている。実施した試験の概要を以下に示す。

なお、サフィナミドの投与量は、特に記載しない限り、メシル酸塩としての投与量を示す。

2.6.2.2.1 ドパミン神経系に対する作用（in vitro 試験）

2.6.2.2.1.1 モノアミン酸化酵素 B（MAO-B）に対する作用

4.2.1.1-01：0601002（評価資料）
4.2.1.1-02：9650210（評価資料）
4.2.1.1-03：0705002（参考資料）

モノアミン酸化酵素はドパミン、セロトニン、ノルエピネフリンを分解する酵素であり、A 型及び B 型 2 種類のサブタイプが存在する。ドパミンは A、B 両サブタイプにより代謝されるが、セロトニン、ノルエピネフリンは MAO-A により優先的に分解される。

サフィナミドの MAO-B に対する作用をヒト（脳、肝臓、血小板）及びラット（脳、肝臓）組織を用いて in vitro 試験で評価した。サフィナミドの MAO-B に対する阻害作用は MAO-A に比べて、ヒト脳で約 1000 倍、ラット脳で約 6000 倍強かった。その IC_{50} 値（μM）を表 2.6.2-1に示した。

表 2.6.2-1 ヒト及びラット組織の in vitro MAO 阻害

	IC_{50} 値（μM）				
	MAO-A		MAO-B		
組織	脳	肝	脳	肝	血小板
ヒト	~ 80[a]	> 100[a]	0.079[a]	0.052[a]	0.064[a] 0.0093[b]
ラット	584[b]	~ 100[a]	0.098[b]	0.079[a]	評価せず

a：ヒト脳及び肝、又はラット肝から調製したミトコンドリア画分及びヒト多血小板血漿を用いた酵素阻害試験（30 分間プレインキュベーション）
b：ラット脳ミトコンドリア及びヒト多血小板血漿を用いた酵素阻害試験（30 分間プレインキュベーション）

サフィナミドの MAO-B に対する阻害様式を評価した。ヒト多血小板血漿を用いて、酵素と阻害薬のプレインキュベーションの有無による影響を比較したところ、サフィナミドの MAO-B 阻害は時間依存性を示さず、プレインキュベーションの有無により IC_{50} 値に有意な差異はみられなかった。また、ラット脳ミトコンドリア画分を用いて、酵素―阻害薬複合体を繰り返し洗浄（遠心分離による除去）した場合、MAO-B 活性は 2 回の洗浄後に完全に回復した。これらの結果からサフィナミドは in vitro 試験において MAO-B の可逆的阻害薬であると考えられた。

サフィナミドと MAO-B タンパク質の相互作用の詳細を明らかにするため、サフィナミドとヒト型 MAO-B 複合体の三次元構造を高分解能の X 線分析によって解析した。その結果、サフィナミドは MAO-B と非共有結合することが明らかとなった。他の MAO-B 阻害薬であるセレギリンやラサギリンはフラビンとの共有結合を介して MAO-B と相互作用する非可逆的阻害薬である。サフィナミドは MAO-B と非共有結合する可逆的阻害薬であることから、両薬剤とは異なる阻害様式を示すと考えられた。

2.6.2.2.1.2 芳香族 L-アミノ酸脱炭酸酵素（AADC）に対する作用

4.2.1.1-04：1205009（参考資料）

芳香族 L-アミノ酸脱炭酸酵素（AADC）は、レボドパを特異的にドパミンに変換する酵素である。末梢 AADC 阻害薬（カルビドパ、ベンセラジドなど）はレボドパとの併用により、パーキンソン病患者の運動機能改善に寄与する。

ラット脳及び肝ホモジネートを用いてサフィナミドの AADC に対する阻害活性を in vitro 試験で評価した。その結果、サフィナミドは脳 AADC を高濃度でのみ阻害し、その IC_{50} 値は 573 μM であった。また、肝 AADC は最大 600 μM の濃度で阻害しなかった。なお、同一実験条件下で対照として使用したカルビドパは脳 AADC を阻害し、その IC_{50} 値は 2 μM であった。

2.6.2.2.1.3 カテコール-O-メチル基転移酵素（COMT）に対する作用

4.2.1.1-05：0504005（参考資料）
4.2.1.1-06：0405001（PR051740）（評価資料）

カテコール-*O*-メチル基転移酵素（COMT）は、レボドパを *O*-メチル化代謝物（3-*O*-methyl-dopa; 3-OMD）へと代謝する。カルビドパなどの AADC 阻害薬の存在下では、COMT によるメチル化がレボドパの最も主要な代謝経路になる。そのため、レボドパの治療効果の維持・増大において、COMT 阻害薬の併用は有用となる。

ブタ肝ホモジネートを用いた in vitro 試験において、サフィナミドは 10 μM までの濃度で COMT 活性を阻害しなかった。ラットを用いた in vivo 試験でも同様であり、ラットにサフィナミド（10 mg/kg, p.o.）、レボドパ（40 mg/kg, p.o.）及びカルビドパ（10 mg/kg, p.o.）の 3 剤を併用したところ、レボドパとカルビドパの 2 剤併用に比べてレボドパ及び代謝物 3-OMD の血漿中濃度に違いはなく、サフィナミドは COMT 活性に影響しないことが示唆された。

2.6.2.2.1.4 モノアミントランスポーターに対する作用

2.6.2.2.1.4.1 ドパミントランスポーター（DAT）に対する作用

4.2.1.1-07：1205014（参考資料）
4.2.1.1-08：0502001（参考資料）
4.2.1.1-09：1205008（参考資料）
4.2.1.1-10：1205007（参考資料）

ドパミントランスポーター（DAT）は中枢のドパミン作動性シナプスから分泌されたドパミンを再取り込みしている。この機能が阻害されると、ドパミン作動性のシグナル伝達増加による特徴的な行動変化がみられるが、これはコカインやアンフェタミンのような依存性薬物に共通する作用である。

ヒト型 DAT 発現細胞を用いてサフィナミドの DAT 結合に対する影響を評価した。[^{125}I]RTI-55 による DAT 結合試験において、サフィナミドの Ki 値は ＞9000 nM であったのに対し、コカインの Ki 値は 506 nM であり、DAT 結合部位に対するサフィナミドの親和性は、コカインの 1/18 以下であった。また、[^{3}H]ドパミンの再取り込みに対する阻害作用に関しては、コカインの IC_{50} 値が 267 nM であるのに対し、サフィナミドの IC_{50} 値は ＞8900 nM であり、コカインの 1/33 以下の効力であった。

ヒト型 DAT 発現細胞を用いた機能解析試験において、サフィナミドのドパミン再取り込み阻害の IC_{50} 値は 8.44 μM であった。

ラット脳において、DAT の[^{3}H]WIN35,428 結合部位に対するサフィナミドの IC_{50} 値は線条体で 8.8 μM、皮質で 16.4 μM であった。また、ラット線条体及び皮質シナプトソームにおけるドパミン再取り込み阻害の IC_{50} 値は、それぞれ 12.5 及び 14.1 μM であった。

K^+刺激が誘発するラット線条体及び皮質シナプトソームからのドパミン遊離に対して、サフィナミドの 10 及び 30 μM は影響しなかった。

2.6.2.2.1.4.2 セロトニントランスポーター（SERT）に対する作用

4.2.1.1-09：1205008（参考資料）

セロトニントランスポーター（serotonin transporter; SERT）は中枢シナプスにおけるセロトニンの再取り込みを担っており、抗うつ薬の主な作用部位の一つである。

ラット脳を用いた SERT リガンド[^{3}H]citalopram の結合試験において、サフィナミドの IC_{50} 値は線条体で 4.9 μM、皮質で 5.6 μM であった。また、ラット線条体及び皮質シナプトソームにおけるセロトニンの再取り込み阻害の IC_{50} 値は、それぞれ 14.3 及び 21 μM であった。

2.6.2.2.1.5 ドパミン受容体に対する作用

4.2.1.1-08：0502001（参考資料）
4.2.1.1-11：8920315（参考資料）
4.2.1.1-12：SER-023b（参考資料）

ドパミンアゴニストはドパミン受容体（D_1、D_2、D_3）を刺激することにより、パーキンソン病において治療効果を発揮する。

ヒト型ドパミン受容体サブタイプ発現細胞を用いた結合試験において、サフィナミドは 10 μM までの濃度で D_1、D_2、D_3、D_4 及び D_5 受容体サブタイプに対する親和性を示さなかった。これらのドパミン受容体機能試験では、サフィナミドはアゴニスト活性又はアンタゴニスト活性を示さなかった。

2.6.2.2.2 ドパミン神経系に対する作用（in vivo 試験）

2.6.2.2.2.1 モノアミン酸化酵素 B 型に対する作用

4.2.1.1-13：Strolin Benedetti-1994（参考資料）
4.2.1.1-01：0601002（評価資料）

In vitro 試験で認められたサフィナミドの選択的かつ可逆的 MOA-B 阻害作用について、in vivo 試験で検証した。

サフィナミドの経口投与はラット脳及び肝臓の MAO-B を 1～10 mg/kg で用量依存的に阻害した。サフィナミド経口投与 1 時間後の脳内 MAO-B 阻害の ED_{50} 値は 1.1 mg/kg であったが、MAO-A に対しては 60 mg/kg でも影響しなかった。サフィナミド 5 mg/kg の経口投与では、脳内 MAO-B 阻害率は 1 時間後に 79%、24 時間後に 13%であり（図 2.6.2-1）、サフィナミドが可逆的で選択的な MAO-B 阻害薬であることが示された。なお、ラットにサフィナミドの 10 mg/kg（遊離塩基として）を経口投与して血漿中濃度を測定した結果、t_{max} は 0.72 時間、$t_{1/2}$ は 1.3 時間であった（CTD (2.6.4.3.1)より引用）。

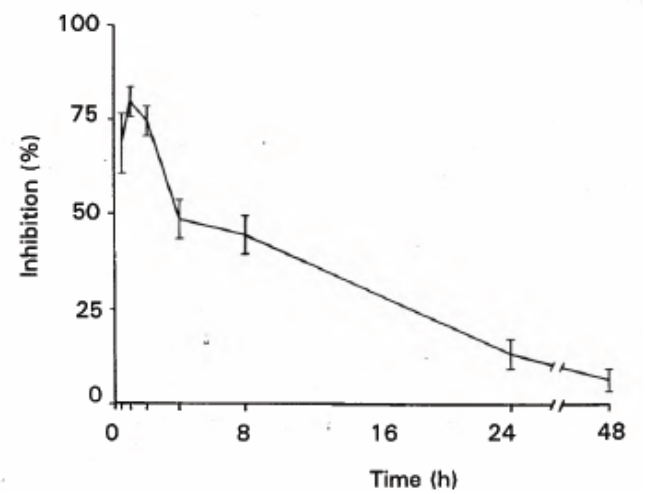


図 2.6.2-1 サフィナミド 5 mg/kg 経口投与後のラット脳内における経時的な MAO-B 阻害率

抑制率（%）を平均値±標準偏差で示す（n=5)。

マウスを用いた試験では、サフィナミド 20 mg/kg の腹腔内投与（i.p.）により脳内 MAO-B 阻害率は 1 時間後に 89%、24 時間後に 4%となり、酵素活性は完全に回復した。また、投与 1 時間後における脳内 MAO-B 阻害の ED_{50} 値は 0.6 mg/kg であった。

2.6.2.2.2.2 ドパミン及びセロトニントランスポーターに対する作用

4.2.1.1-14：[redacted]-TANDD-invivo-[redacted]-013（参考資料）

In vivo 試験において血漿中サフィナミド濃度と DAT 及び SERT 部位の占有率との関係を明らかにするために、放射性リガンド[^{125}I]-CIT を用いた単一光子放出断層撮影法（single photon emission computed tomography; SPECT）を利用し、ヒヒにおける画像解析を行った。サフィナミド 8 及び 16 mg/kg を低速静脈内投与したヒヒでは、DAT 及び SERT 部位の占有は観察されなかった。撮像時間（サフィナミド投与後 30～60 及び 60～90 分）の血漿中サフィナミド濃度は 2200～7960 ng/mL 及び 1730～5450 ng/mL であり、100 mg/日を 7 日間反復投与したヒトの最高血漿中サフィナミド濃度（1819 ng/mL）を上回るにも関わらず、サフィナミドによる両トランスポーターの占有は検出されなかった。

In vitro 試験においてサフィナミドのドパミン及びセロトニン再取り込み阻害作用の IC_{50} 値はそれぞれ 8～16 µM 及び 14～21 µM であった。ヒトにおけるサフィナミドの最高血漿中非結合型濃度は 0.66 µM と想定されるため（ヒトでの最高血漿中濃度 1819 ng/mL と蛋白結合率 89%から算出）、こ

れらのトランスポーターに対する作用がサフィナミドの治療効果に寄与する可能性は低いと考えられた。

2.6.2.2.2.3 ドパミン含量に対する作用

4.2.1.1-15：0901003（評価資料）
4.2.1.1-16：ES0714002（参考資料）

霊長類を用いてサフィナミドの反復投与が線条体の神経化学的変化に及ぼす影響について評価した。サフィナミド 10 及び 20 mg/kg/日を 13 週間経口投与したカニクイザルの線条体では、最終投与 24 時間後に被殻におけるドパミン含量がそれぞれ 27 及び 48%増加し、ドパミン代謝物である 3,4-ジヒドロキシフェニル酢酸（3,4-Dihydroxyphenylacetic acid; DOPAC）はそれぞれ 19 及び 41%減少した。また、MAO-B は有意に阻害された。サフィナミドは海馬のセロトニン含量に影響しなかった。また、39 週間反復経口投与試験（8 及び 20 mg/kg/日）では、サフィナミド最終投与 24 時間後の線条体被殻のドパミン含量はそれぞれ 23 及び 33%増加した。一方、側坐核ではドパミン含量に変化は認められなかった。運動調節に関与する脳領域（線条体被殻）のドパミン含量が上昇する一方で、中脳辺縁系などの報酬回路に関与する脳領域には影響しないことから、サフィナミドでは薬物乱用の可能性は低いものと考えられた。

また、ラットにサフィナミドを経口投与（80 mg/kg まで）した場合、線条体のドパミン代謝に対して影響を及ぼさなかったことから、げっ歯類脳内におけるドパミン代謝は主に MAO-A を介し、サルではげっ歯類と異なり生理的条件下でドパミンは MAO-B によって優先的に脱アミノ化されるという知見と一致すると考えられた。

2.6.2.2.3 ドパミン神経系以外の作用

2.6.2.2.3.1 ナトリウムチャネルに対する作用

4.2.1.1-17：9750003（参考資料）
4.2.1.1-18：9750001（参考資料）
4.2.1.1-19：Salvati-1999（参考資料）
4.2.1.1-20：0606005（参考資料）
4.2.1.1-21：091112TSP（評価資料）

ラット海馬及び皮質神経を用いた結合試験及びパッチクランプ法による電気生理学的試験により、サフィナミドの電位依存性ナトリウムチャネル阻害活性を検討した。サフィナミドは 8.2 μM の IC_{50} 値でラット脳のナトリウムチャネルに結合した。また、サフィナミドはラット脳神経のナトリウム（Na^+）電流を阻害し、その作用は抗てんかん薬フェニトイン及びラモトリギンより強かった。

Na^+電流の電位依存的阻害作用について評価するため、ラット皮質神経を用いたパッチクランプ法により静止電位及び 50%不活性化電位（チャネルの 50%が不活性化する電位）におけるサフィナミドの作用を評価した。不活性化が生じない静止状態における負の保持電位から Na^+電流が誘発された場合、サフィナミドは弱い阻害作用（IC_{50} 値：180 μM）を示した。この結果から静止時（非不活性化）のチャネルに対してサフィナミドは低親和性であると推測された。一方、チャネルの 50%が不活性化する強い脱分極電位に細胞膜電位が保持された場合、サフィナミドは Na^+電流を大幅に阻害した。この状態で、IC_{50} 値は 7 μM であり、サフィナミドは不活性化状態のナトリウムチャネルに対して選択的に作用することが示された。不活性化状態におけるナトリウムチャネルに対する Ki 値は 3.6 μM であった。

電位依存性ナトリウムチャネル（Nav）各種サブタイプに対するサフィナミドの活動状態依存性の阻害作用をヒト型 Nav サブタイプ発現細胞を用い、電気生理学的方法により評価した。これらのチャネルサブタイプのうち、Nav1.1～1.3 及び Nav1.6 は脳で顕著に発現するチャネルである。その結果、生理的条件下の刺激では、サフィナミドの Nav サブタイプの選択性はわずかであることが示された（表 2.6.2-2）。また、静止状態のチャネルと不活性化状態のチャネルに対するサフィナミドの IC_{50} 値に大幅な違いがみられ、サフィナミドの阻害作用は活性化状態に依存した。サフィナミドによる Na^+電流の阻害は、静止状態に比べて繰り返し連続刺激（10 Hz）を加えることにより高まり（頻度依存性阻害）、脱分極条件により誘発された不活性化状態の Na^+電流はさらに強く抑制されたことから、サフィナミドは過剰な神経活動を選択的に抑え、正常の神経活動に及ぼす影響は小さいことが示唆された。

表 2.6.2-2 ヒト型電位依存性ナトリウムチャネルサブタイプに対するサフィナミドの IC_{50} 値（μM）

	Nav1.1	Nav1.2	Nav1.3	Nav1.4	Nav1.5	Nav1.6	Nav1.7	Nav1.8/β3
静止	13.05	28.45	36.33	51.23	81.96	18.03	48.06	32.68
10 Hz	6.01	16.19	8.82	15.99	23.57	5.02	12.4	18.63
不活性化	1.86	4.85	2.12	1.56	2.97	1.69	3.28	3.90

静止：静止電位-120 mV から脱分極させ（Nav1.1～3, 6, 7 チャネル；V_{test} = 0 mV、Nav1.4, 5 チャネル；V_{test} = -10 mV、Nav1.8 チャネル；V_{test} = 20 mV）、サフィナミド（5 分間の細胞外灌流）によるピーク電流の抑制を評価した。
10 Hz（頻度依存性阻害）：頻度依存性阻害は 11 回の反復刺激により Na^+電流を活性化し、刺激 11 回目のピーク電流をサフィナミド存在下と非存在下で比較した。

不活性化：脱分極電位（$V_{preconditioning}$ = -60 mV）から電流を惹起し、サフィナミド存在下のピーク電流を評価した。

2.6.2.2.3.2 カルシウムチャネルに対する作用

4.2.1.1-18：9750001（参考資料）
4.2.1.1-19：Salvati-1999（参考資料）
4.2.1.3-30：8060252（参考資料）
4.2.1.1-22：0401001（参考資料）
4.2.1.1-23：[redacted]-91（参考資料）
4.2.1.1-24：ES0303003（参考資料）
4.2.1.1-25：0604009（参考資料）

ラット海馬初代培養神経細胞を用いたパッチクランプ法により、サフィナミドの電位依存性カルシウム（Ca^{2+}）電流に対する影響を評価した。サフィナミドはフェニトイン及びラモトリギンと同様に電位依存性 Ca^{2+}電流を阻害し、200 μM において約 50%抑制した。結合試験の結果から、ナトリウムチャネル（単一濃度 10 μM で 67%結合）と比較して、カルシウムチャネル（単一濃度 10 μM で 25%未満の結合）に対するサフィナミドの親和性は低かった。ラット皮質神経における in vitro 電気生理学的実験で、高閾値活性化型カルシウムチャネル（N 及び L 型）に対する IC_{50} 値はそれぞれ 23 及び 56 μM であった。ヒト型 N 型（Cav2.2）及びウサギ型 L 型 Ca^{2+}チャネル（Cav1.2）発現細胞を用いた別の試験でサフィナミドの IC_{50} 値は 15～17 μM、ラット T 型カルシウムチャネル（Cav3.1、Cav3.3）発現細胞を用いた試験での IC_{50} 値は、それぞれ 113.2 及び 14.2 μM であった。サフィナミドのカルシウムチャネル及びナトリウムチャネルへの作用をラット三叉神経培養細胞における蛍光標識 Ca^{2+}濃度測定法により評価した。ナトリウムチャネルを介した細胞内 Ca^{2+}上昇に対するサフィナミドの IC_{50} 値は 0.25 μM であったのに対し、カルシウムチャネルを介する K^+誘発性 Ca^{2+}上昇に対する IC_{50} 値は 100 μM であったことから、サフィナミドはカルシウムチャネルに比べてナトリウムチャネルを介する作用をより強く阻害することが示唆された。

2.6.2.2.3.3 グルタミン酸放出に対する作用

4.2.1.1-26：0203001-E（参考資料）
4.2.1.1-19：Salvati-1999（参考資料）
4.2.1.1-27：1210013（評価資料）
4.2.1.1-28：Morari-2018（参考資料）
4.2.1.1-29：KEY-380（参考資料）

パーキンソン病において、基底核及び皮質におけるドパミン作動性神経とグルタミン酸作動性神経の不均衡が運動症状及び非運動症状の原因と考えられ、ドパミン作動性神経の変性によるグルタミン酸経路の活性化と細胞外グルタミン酸の上昇が興奮毒性の主要な原因と考えられている。

グルタミン酸は神経終末の脱分極に反応して Na^+及び Ca^{2+}依存的に細胞外に放出される。サフィナミドはラット海馬シナプトソームにおいて K^+刺激により誘発されたグルタミン酸及び γ-アミノ酪酸（gamma-aminobutyric acid; GABA）の放出を阻害し、その IC_{50} 値はそれぞれ 9.44 及び 9.61 μM であった。

サフィナミドは、ラット海馬スライスにおいて veratridine（ナトリウムチャネル開口薬）によるグルタミン酸放出を抑制し（IC_{50}=56 μM）、その作用はラモトリギン（IC_{50}=35 μM）、フェニトイン（IC_{50}=46 μM）及びカルバマゼピン（IC_{50}=77 μM）と同程度であった。K^+刺激によるグルタミン酸放出に対するサフィナミドの IC_{50} 値は 185.5 μM であった。

ラットにおける in vivo 微小透析試験で、サフィナミドの海馬内局所投与は、30 μM の濃度に相当する脳組織中濃度で、veratridine が誘発するグルタミン酸放出を 77 %低下させた。

シナプトソームにおける in vitro データと同様に、局所微量注入後のサフィナミドのグルタミン酸放出抑制作用は、グルタミン酸神経終末への直接作用によるシナプス前作用であることが示唆された。同様の試験で、サフィナミド 30 mg/kg（遊離塩基として）を腹腔内投与したところ、サフィナミド単独では海馬におけるグルタミン酸放出量に影響を及ぼすことなく、veratridine が誘発するグルタミン酸放出を投与 1 時間後のピーク値から 71%低下させ、有意な放出抑制が確認された（図 2.6.2-2）。

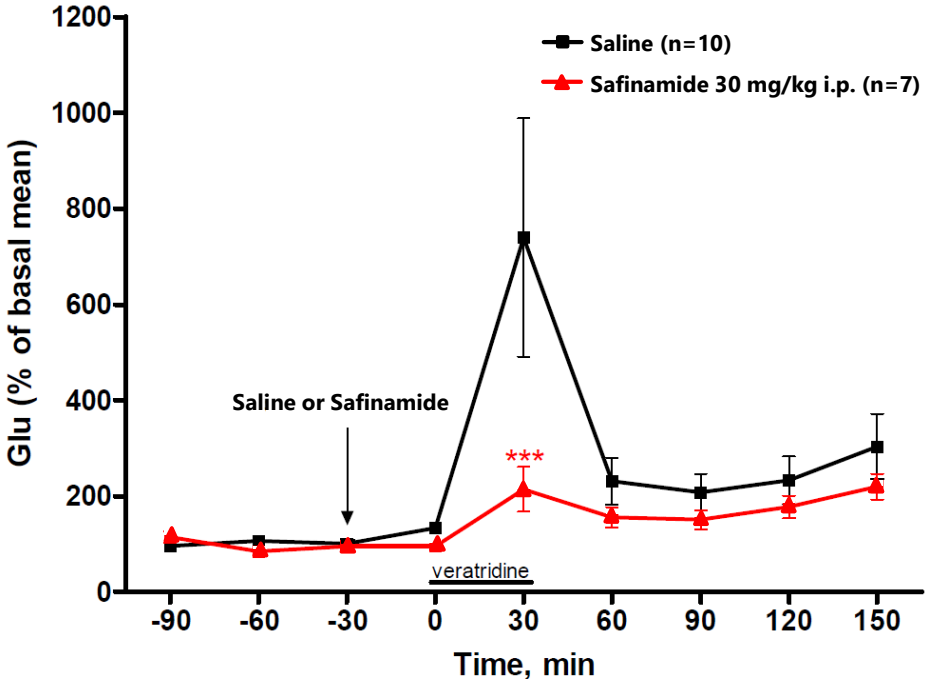


図 2.6.2-2 ラット海馬における veratridine 誘発グルタミン酸放出に対するサフィナミドの抑制作用

各ポイントはベースライン平均（100%）からの変化量（%）を示す。
*** P < 0.001 分散分析 Bonferroni 検定

ラットに対する単回腹腔内投与後に行われた薬物動態試験（DMPK09-08 試験）から、サフィナミド 30 mg/kg（遊離塩基として）の腹腔内投与 1 時間後の血漿中濃度が 1760 ng/mL に達することが示唆された。これは、100 mg/日を 7 日間反復投与したヒトの最高血漿中濃度（1819 ng/mL）とほぼ一致していた。サフィナミドは海馬のみならず、視床下核、淡蒼球など、パーキンソン病でグルタミン酸機能が亢進している脳部位において、1/2 量である 15 mg/kg の腹腔内投与でも veratridine が誘発するグルタミン酸放出を有意に抑制した。15 mg/kg 投与 40 分後の脳内蛋白非結合型サフィナミド濃度は 1.89 μM であり、脳内で多く発現する Nav 1.1、1.2、1.3 及び 1.6 の不活性化状態に対するサフィナミドによる抑制の IC_{50} 値（1.86、4.85、2.12 並びに 1.69 μM）と同程度であった。以上のことから、サフィナミドは 50 並びに 100 mg/日の臨床投与量において、ナトリウムチャネル阻害作用を介して視床下核や淡蒼球でのグルタミン酸放出を抑制するものと考えられた。

ラットを用いた微小透析試験で、浸透圧ポンプによりサフィナミドの 21.5 又は 110 mg/kg/日を 7 日間皮下投与したところ、前頭皮質及び線条体において K^+刺激によるグルタミン酸などの神経伝達物質放出量に影響はみられなかった。K^+刺激による脱分極はカルシウムチャネルの活性化を介するため、K^+刺激が誘発するグルタミン酸放出に対して有意な変化がみられなかったことから、サフィナミドは in vivo においてはカルシウムチャネルではなくナトリウムチャネルを阻害してグルタミン酸放出を抑制することが示唆された。

2.6.2.2.4 パーキンソン病モデルにおける効果

サフィナミドの効力を裏付けることを目的として実施したパーキンソン病モデルを用いた試験系とパーキンソン病において期待される効果について以下の表にまとめた（表 2.6.2-3）。

表 2.6.2-3 各試験系とパーキンソン病において期待される効果

試験系	効果の種類
MPTP 誘発マウス黒質変性モデル	ドパミン神経保護作用
片側 6-OHDA 誘発 ラット内側前脳束変性モデル	
	Wearing off 現象改善作用
MPTP 処置カニクイザルモデル	レボドパによるパーキンソン病 治療効果持続時間（on 時間）の延長
	レボドパにより誘発される ジスキネジアの抑制
ラット顎振戦モデル	振戦に対する作用

2.6.2.2.4.1 MPTP 投与マウスのドパミン含量

4.2.1.1-15：0901003（評価資料）

哺乳動物を用いたパーキンソン病モデル作製に広く使用されている MPTP は、黒質線条体神経の顕著なドパミン枯渇及び細胞死を引き起こす。

MPTP 投与 15 日目のマウスにサフィナミド（20 mg/kg, i.p.）をレボドパ（100 mg/kg, i.p.）及びベンセラジド（12.5 mg/kg, i.p.）と 3 剤併用したところ、脳内ドパミン量が 60%増加した。この結果は、MPTP モデルのようにドパミン神経終末でのドパミン代謝が障害されると、グリア細胞の MAO-B によるドパミンの脱アミノ化が優位になるとの仮説を支持するものであった。

2.6.2.2.4.2 MPTP 誘発マウス黒質変性モデル

4.2.1.1-30：ES0610006（評価資料）

セレギリンなどの MAO-B 阻害薬は MPTP の活性代謝物 MPP^+への代謝を阻害し、MPP^+が誘発する神経毒性を抑制する。MPTP から MPP^+へ完全に代謝された場合では、薬剤の投与に伴って認められる神経細胞死の抑制は、MAO-B 阻害活性とは関連しないと考えられる。

MPTP を 2 日間連続で投与したマウスの黒質ドパミン作動性神経変性に対するサフィナミドの神経保護作用を評価した。その結果、1 日目の MPTP 投与 30 分前と 4 時間後及び 2 日目の MPTP 投与 30 分前の計 3 回のサフィナミド（4、10、20、40 及び 80 mg/kg, i.p.）は、全ての用量で線条体ドパミン含量の低下を抑制した。免疫組織化学的検討では、サフィナミド 10 mg/kg 以上の用量は黒質ドパミ

ン作動性神経変性を完全に抑制し、神経保護作用が確認された（予防的効果）。サフィナミドのこの作用はセレギリンと同様に MAO-B を介する作用と考えられた。一方、MPTP から MPP^+への代謝が完了している 2 日目の MPTP 投与 4 時間後、8 時間後及び 24 時後の計 3 回のサフィナミド（10、20、40 及び 80 mg/kg, i.p.）は、MPP^+の急性作用を反映する線条体のドパミン含量低下に影響しなかったが、20 mg/kg 以上の投与では黒質ドパミン作動性神経変性を有意に抑制した（治療的効果）。以上の結果から、サフィナミドの MAO-B 阻害作用以外の作用である電位依存性ナトリウムチャネルの阻害作用又はグルタミン酸放出抑制作用が神経保護作用に関与することが示唆された。

2.6.2.2.4.3 片側性 6-OHDA 誘発ラット内側前脳束変性モデル

4.2.1.1-31：Sadeghian-2011（参考資料）

6-ヒドロキシドパミン（6-OHDA）は、ラットの内側前脳束に局所投与すると黒質のドパミン作動性神経の変性を誘発する神経毒である。6-OHDA を片側前脳束に投与したラットは、早期パーキンソン病における神経細胞の一次変性に対する薬剤の神経保護作用や、常同性の運動症状に対する作用を観察するために広く使用される。

ラットにおいて片側内側前脳束への 6-OHDA 局所投与時に、サフィナミド 50 又は 150 mg/mL を持続皮下投与した（10 µL/時、12 又は 36 mg/日に相当）。生理食塩液を投与した対照群では、対側（非処置側）と比較して同側（処置側）の黒質緻密部のドパミン作動性神経が 49%と有意に減少し、MHC-クラス II 陽性活性化ミクログリア数は有意に増加した。サフィナミド 50 又は 150 mg/mL を投与したラットでは、同側黒質緻密部のドパミン作動性神経はそれぞれ 30 及び 18%が変性し、対照群と比較してドパミン含有神経の変性が有意に抑制された。さらに、同側黒質緻密部の活性化ミクログリア数は、サフィナミド 150 mg/mL 投与により対照群と比較して 55%と有意に減少した。したがって、このモデルにおいてサフィナミドはパーキンソン病における 2 つの病理的変化である黒質ドパミン作動性神経の変性及び神経炎症を抑制することが確認された。

2.6.2.2.4.4 片側性 6-OHDA 誘発ラットにおける wearing off 現象

4.2.1.1-32：ES0610005（評価資料）
4.2.1.1-33：[redacted]-76A（参考資料）

パーキンソン病の治療において数年間に及ぶ長期間にわたってレボドパを投与すると、運動症状に対するレボドパの有効性持続時間が短縮する「wearing off 現象」が運動合併症として発生する。片側性 6-OHDA 処置ラットを用いたこの現象のモデルにおいて、レボドパ（25 mg/kg, i.p.）とベンセラジド（12.5 mg/kg, i.p.）の 2 剤を 1 日 2 回併用投与すると投与開始 28 日目にレボドパ／ベンセラジドに応答する回転運動が有意に減少する wearing off 現象が観察された。投与開始 29 日目にサフィナミド（20 mg/kg, i.p.）をレボドパ／ベンセラジドと併用すると、回転運動は有意に回復した（図 2.6.2-3）。この結果より、サフィナミドはレボドパ療法に伴う wearing off 現象の改善に有用である可能性が示唆された。また、NMDA 型グルタミン酸受容体阻害薬 MK-801（0.1 mg/kg, i.p.）もサフィナミドと同様に回転運動を有意に回復させたことから、wearing off 現象の改善にはグルタミン酸神経伝達を抑制することが有効である可能性が示唆された。大脳皮質神経細胞において NMDA が誘発する電流に対するサフィナミドの抑制作用の IC_{50} 値は 39.4 µM であったことから、サフィナミドの wearing off 現象の改善作用は NMDA 受容体阻害ではなく、グルタミン酸放出抑制作用が寄与すると考えられた。

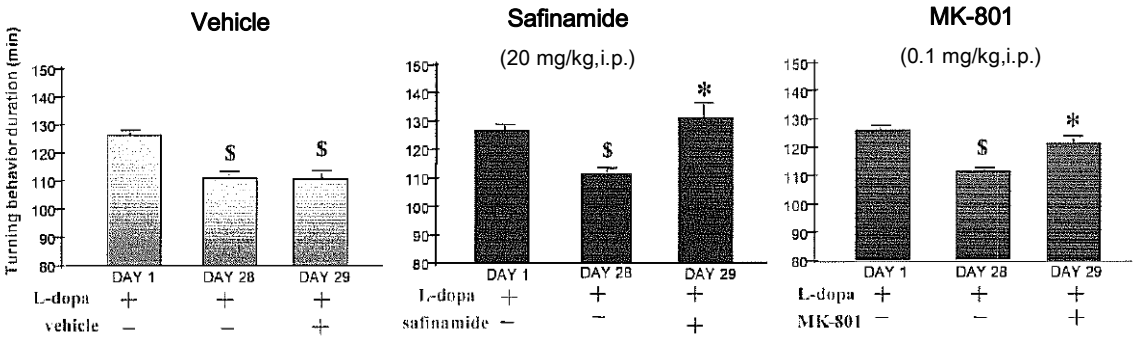


図 2.6.2-3 6-OHDA 処置ラットの回転行動を指標としたサフィナミドの wearing off 改善作用

$P < 0.05（対 Day1 の L-dopa）、* P < 0.05（対 Day28 の L-dopa）一元配置分散分析及び Newman-Keuls 多重比較法

2.6.2.2.4.5 MPTP 誘発パーキンソン病様カニクイザル

パーキンソン病患者では、進行する神経変性に加えて、数年間にわたるレボドパ連日投与によってレボドパ誘発性ジスキネジア（levodopa induced dyskinesia; LID）と呼ばれる持続性で制御できない不随意運動が発生することがある。この副作用を軽減するため、通常、レボドパの使用が制限されるが、その結果パーキンソン病の主症状を効果的に抑制することが困難になる。ジスキネジアの神経化学的な機序は十分に解明されていないが、グルタミン酸の関与が示唆されている[1)]。

MPTP 投与カニクイザルでは、中後期パーキンソン病患者同様のドパミン神経障害が誘発され、数ヶ月のレボドパ反復投与によってジスキネジアが誘発されることから、LID の非臨床モデルとして広く用いられている[1)]。本モデルを用いてパーキンソン病の主症状及び LID に対する各種治療薬の影響について評価した。

2.6.2.2.4.5.1 サフィナミドのパーキンソン病治療効果と抗ジスキネジア作用

4.2.1.1-34：TANDD-invivo-[redacted]-009（評価資料）
4.2.1.1-35：Gregoire-2013（参考資料）
4.2.1.1-36：[redacted]-[redacted]（参考資料）
4.2.1.1-37：TANDD-invivo-[redacted]-011-work-plan-4（評価資料）

LID モデルに対し、レボドパ投与 1 時間前にサフィナミドの 3、10 及び 30 mg/kg を経口投与した。サフィナミドはいずれの用量でも溶媒と比較して、レボドパによるパーキンソン症状スコアの減少及び自発運動の増加には影響を及ぼさなかったが、パーキンソン病治療効果持続時間（on 時間）を 30 分以上延長した（図 2.6.2-4, A）。また、サフィナミドの 10 及び 30 mg/kg ではジスキネジアスコアが有意に減少した（図 2.6.2-4, B）。なお、全評価期間における平均ジスキネジアスコアは溶媒と比較してサフィナミドの 3 用量全群で用量依存的かつ有意な減少を示し（3 及び 10 mg/kg でそれぞれ 50%、30 mg/kg で 80%）、30 mg/kg では最大ジスキネジアスコアも有意に減少した。

並行して行われた薬物動態試験から、サフィナミドの 10 及び 20 mg/kg を経口投与した 6 時間後の血漿中濃度はそれぞれ 680、1409 ng/mL であり、サフィナミドの 50 又は 100 mg/日を 7 日間反復投与したヒトの臨床最高血漿中濃度（それぞれ 746、1819 ng/mL）とほぼ一致していた。

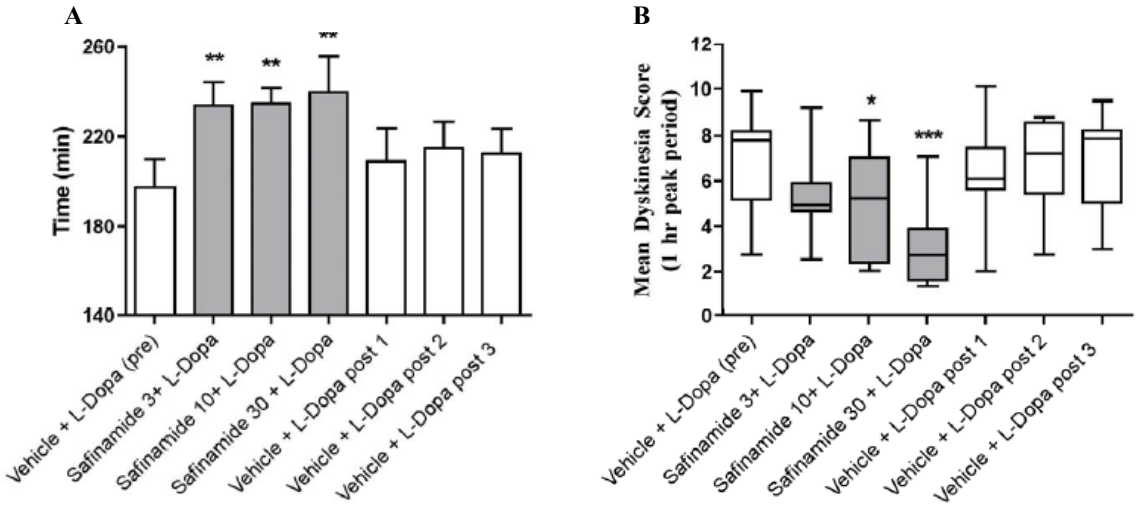


図 2.6.2-4 LID モデルにおけるサフィナミドのパーキンソン病治療効果及び抗ジスキネジア作用

図 A：パーキンソン病治療効果持続時間を平均値+標準誤差で示す（n=7）。
** P < 0.01（対 Vehicle + L-Dopa (pre)）反復測定分散分析　Fisher の検定
図 B：1 時間ピーク期間におけるジスキネジアスコアについて、中央値、四分位値範囲、最小値及び最大値を示す（n=7）。* P < 0.05, *** P < 0.001（対 Vehicle + L-Dopa (pre)）
Friedman のノンパラメトリック検定順位に基づく多重比較検定

サフィナミド 10 mg/kg を 1 日 2 回 7 日間投与した場合、レボドパによるパーキンソン症状スコアの減少及び自発運動の増加を維持したまま、on 時間が 30 分以上延長し、この効果はサフィナミド投与期間中維持された（図 2.6.2-5, A）。ジスキネジアに関しても投与期間にわたりジスキネジアスコアの有意な減少が確認された（図 2.6.2-5, B）。さらに、レボドパの運動症状に対する効果はサフィナミド投与 7 日目におけるレボドパ投与後早期に始まり、これはサフィナミドの蓄積が原因と考えられた。

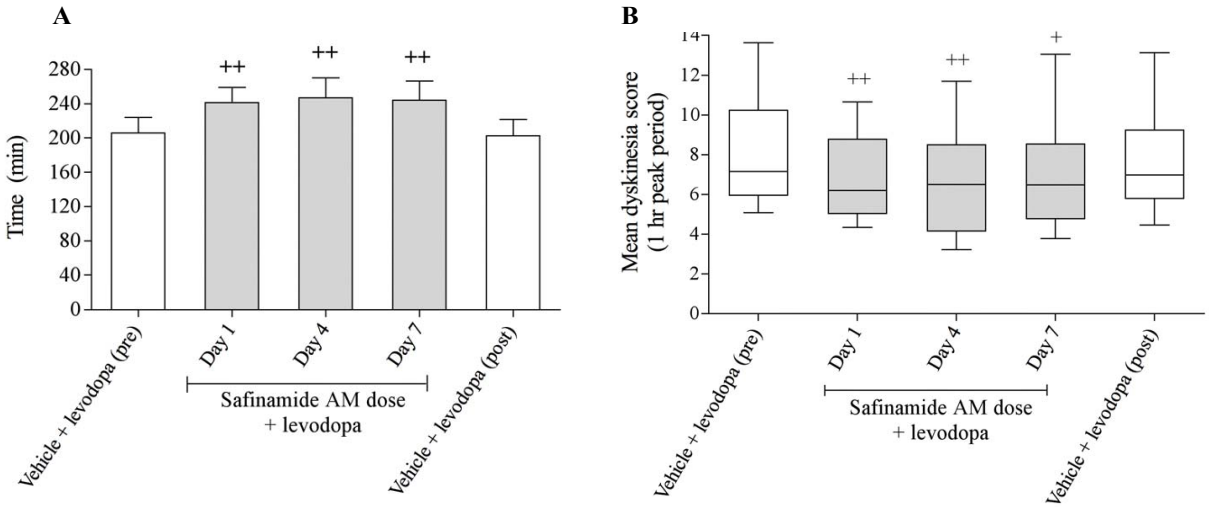


図 2.6.2-5 LID モデルにおけるサフィナミド反復投与によるパーキンソン病治療効果及び抗ジスキネジア作用

図 A：パーキンソン病治療効果持続時間を平均値+標準誤差で示す（n=7）。
$^{++}$ P < 0.01（対 Vehicle + L-Dopa (pre)）反復測定分散分析　Fisher の検定
図 B：1 時間ピーク期間におけるジスキネジアスコアについて、中央値、四分位値範囲、最小値及び最大値を示す。（n=7）$^{+}$ P < 0.05, $^{++}$ P < 0.01（対 Vehicle + L-Dopa (pre)）　Friedman のノンパラメトリック検定　順位に基づく多重比較検定

2.6.2.2.4.5.2 ラサギリンのパーキンソン病治療効果と抗ジスキネジア作用

4.2.1.1-38：TANDD-invivo-[redacted]-012-work-plan-7（評価資料）

LID モデルに対し、レボドパと併用してラサギリン（0.1、1 及び 5 mg/kg）を経口投与したところ、1 及び 5 mg/kg で on 時間が有意に延長した。ラサギリンのパーキンソン病治療効果延長作用は投与後 15 及び 21 日目でも持続し、ラサギリンの非可逆的な MAO-B 阻害作用が確認された（図 2.6.2-6, A）。一方、ラサギリンは用量依存的な抗ジスキネジア作用を示さなかった。唯一、ラサギリン 1 mg/kg ではジスキネジアを抑制したが、この用量ではパーキンソン症状の悪化がみられた（図 2.6.2-6, B）。

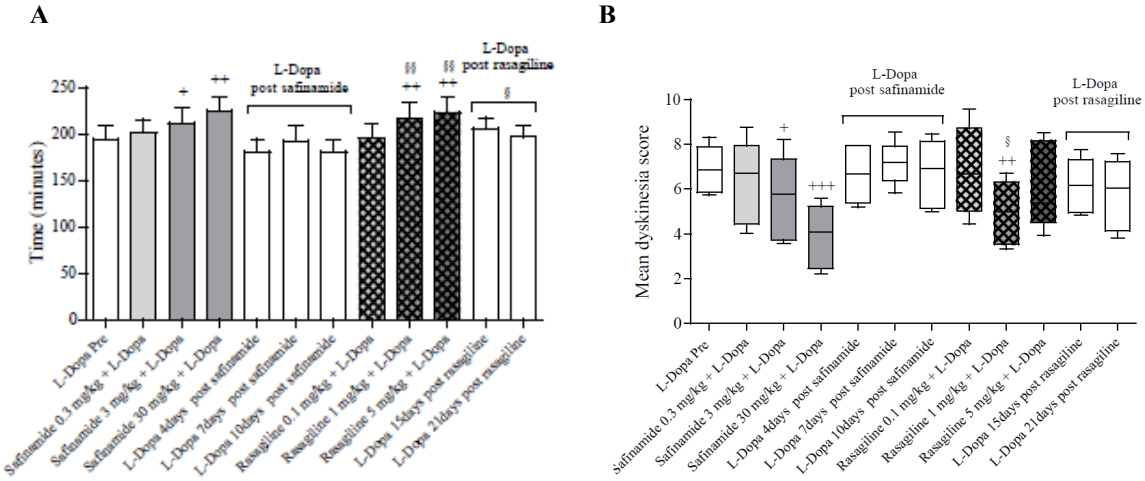


図 2.6.2-6 LID モデルにおけるラサギリンのパーキンソン病治療効果及び抗ジスキネジア作用

図 A：パーキンソン病治療効果持続時間を平均値+標準誤差で示す（n=6）。
$^{+}P < 0.05$, $^{++}P < 0.01$（対 L-Dopa Pre）, $^{§}P < 0.05$, $^{§§}P < 0.01$（対 L-Dopa post サフィナミド）
反復測定分散分析　Dunnett の検定
図 B：1 時間ピーク期間におけるジスキネジアスコアについて、中央値、四分位値範囲、最小値及び最大値を示す（n=6）。$^{+}P < 0.05$, $^{++}P < 0.01$, $^{+++}P < 0.001$、$^{§}P < 0.05$（対 L-Dopa post サフィナミド）
Friedman のノンパラメトリック検定　Dunn の多重検定

2.6.2.2.4.5.3 Lazabemide 及びリルゾールのパーキンソン病治療効果と抗ジスキネジア作用

4.2.1.1-39：[redacted]-[redacted]-work-plan-6（評価資料）

LID モデルに対し、レボドパ投与の 1 時間前に MAO-B 阻害薬である lazabemide 0.1、0.5 及び 5 mg/kg、又は電位依存性ナトリウムチャネル阻害作用とグルタミン酸放出抑制作用を有するリルゾール 0.2、2 及び 10 mg/kg を経口投与した（図 2.6.2-7）。Lazabemide 0.5 及び 5 mg/kg は on 時間を延長したが、いずれの用量でもピーク濃度期間におけるジスキネジアに対する作用はみられなかった。一方、リルゾール 2 及び 10 mg/kg ではピーク濃度期間におけるジスキネジアスコアが有意に減少した。リルゾール 10 mg/kg では on 時間が延長したが、レボドパによるパーキンソン症状スコア減少効果の減弱傾向が見られた。また、lazabemide 5 mg/kg とリルゾール 2 mg/kg を併用した場合は、on 時間の延長とピーク濃度期間におけるジスキネジアスコアの減少が確認され、パーキンソン病治療効果の延長と抗ジスキネジア作用が示された。

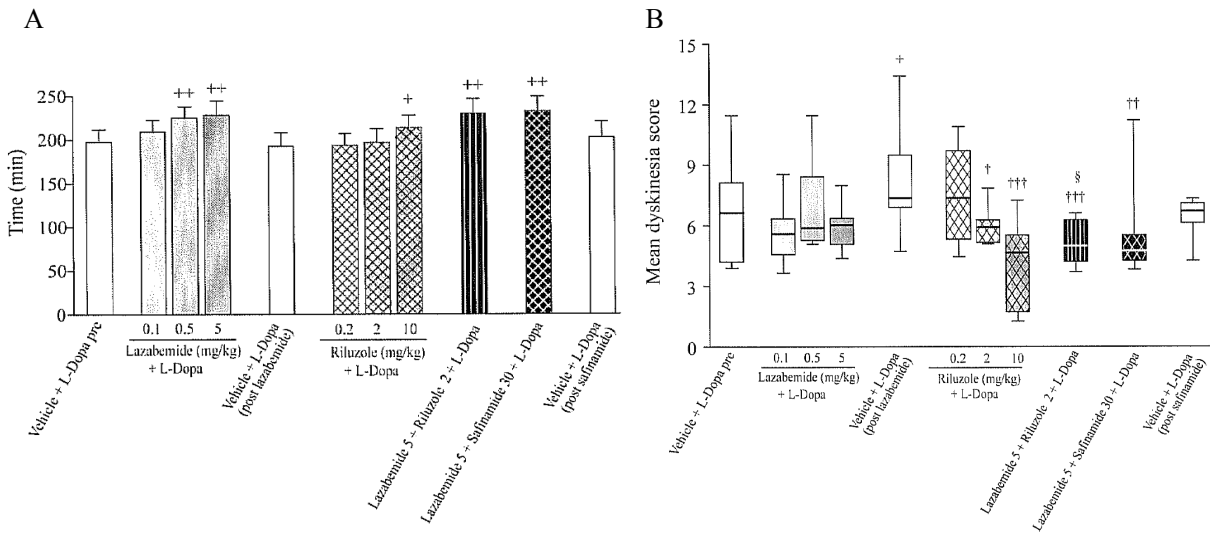


図 2.6.2-7 LID モデルにおける lazabemide 及びリルゾールのパーキンソン病治療効果及び抗ジスキネジア作用

図 A：パーキンソン病治療効果持続時間を平均値+標準誤差で示す（n=7）。
$^{+}$ P < 0.05, $^{++}$ P < 0.01（対 Vehicle + L-Dopa Pre）反復測定分散分析　Dunnett の検定
図 B：1 時間ピーク期間におけるジスキネジアスコアについて、中央値、四分位値範囲、最小値及び最大値を示す（n=7）。† P < 0.05, †† P < 0.01, ††† P < 0.001（対 Vehicle + L-Dopa (post lazabemide)）
$^{+}$ P < 0.05（対 Vehicle + L-Dopa）, § P < 0.05（対 Vehicle + L-Dopa (post lazabemide)）
Friedman のノンパラメトリック検定　順位に基づく多重比較検定

2.6.2.2.4.5.4 アマンタジンのパーキンソン病治療効果と抗ジスキネジア作用

4.2.1.1-40：[redacted]-[redacted]-work-plan-8（評価資料）

LID モデルに対し、NMDA 受容体拮抗作用によりグルタミン酸神経伝達を抑制するアマンタジン 0.3、1、5 及び 20 mg/kg をレボドパと併用した（
図 2.6.2-8）。アマンタジンは用量依存的に on 時間を短縮し、5 及び 20 mg/kg では on 時間の有意な短縮がみられ、20 mg/kg ではパーキンソン症状スコアの増加も確認された。一方、ジスキネジアに対しては用量依存的な改善を示し、ピーク濃度期間におけるジスキネジアスコアは 5 及び 20 mg/kg で有意に減少し、ジスキネジアの改善がみられた。

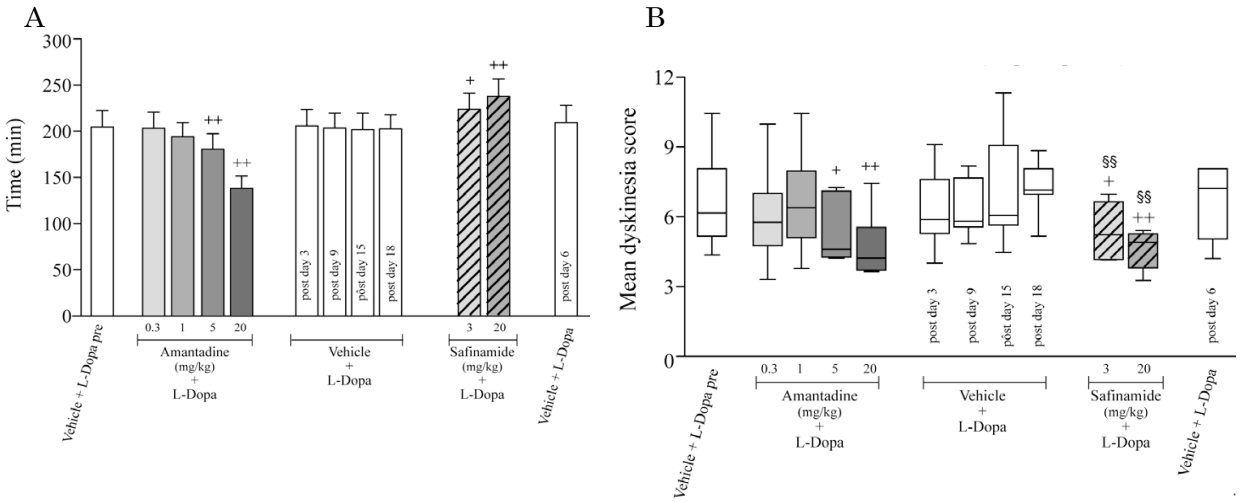


図 2.6.2-8 LID モデルにおけるアマンタジンのパーキンソン病治療効果及び抗ジスキネジア作用

図 A：パーキンソン病治療効果持続時間を平均値+標準誤差で示す（n=7）。
$^{+}$ P < 0.05, $^{++}$ P < 0.01（対 Vehicle + L-Dopa pre）反復測定分散分析　Dunnett の検定
図 B：1 時間ピーク期間におけるジスキネジアスコアについて、中央値、四分位値範囲、最小値及び最大値を示す（n=7）。$^{+}$P < 0.05, $^{++}$ P < 0.01（対 Vehicle + L-Dopa pre）, §§ P < 0.01（対 Vehicle + L-Dopa post day 18）
Friedman のノンパラメトリック検定　Dunnett の検定

2.6.2.2.4.5.5 LID モデルのまとめ

4.2.1.1-41：MMSCH1（参考資料）
4.2.1.1-42：MMSCH2（参考資料）

表 2.6.2-4 LID モデルにおける各種薬剤の作用比較

	作用機序		発現する作用	
薬剤	MAO-B 阻害	グルタミン酸 神経伝達抑制	パーキンソン病 治療効果持続時間 （on 時間）	ジスキネジア
サフィナミド	○	○ （グルタミン酸放出抑制）	延長	○
ラサギリン	○	×	延長	×
Lazabemide	○	×	延長	×
リルゾール	×	○ （グルタミン酸放出抑制）	×	○
Lazabemide +リルゾール	○	○ （グルタミン酸放出抑制）	延長	○
アマンタジン	×	○ （NMDA 受容体拮抗）	×	○

表中○：作用あり、×：作用なし

LID モデルにおける各種薬剤の作用比較をまとめた（表 2.6.2-4）。

サフィナミドはレボドパのパーキンソン症状スコア改善効果及び自発運動レベルの増加を維持したまま、on 時間を有意に延長し、これは単回投与（3～30 mg/kg）及び反復投与（10 mg/kg）両方の実験で確認された。また、同じく MAO-B 阻害薬であるラサギリン、lazabemide も同様に on 時間の延長が確認されたことから、サフィナミドでみられた on 時間の延長は MAO-B 阻害の結果、ドパミン作用が増強されたことによるものであると考えられた。

ジスキネジアに関しては、サフィナミドはこれを改善したが、ラサギリンや lazabemide では一貫した効果がみられなかった。MAO-B 阻害薬は、治療においてはそのドパミン作動性の一部を介して LID を進行させることが知られており、サフィナミドの抗ジスキネジア作用の機序が MAO-B 阻害である可能性は低い。サフィナミドはレボドパの治療効果増強に関しては検討した全ての用量で効果を示す一方で、抗ジスキネジア作用に関しては用量依存的な効果を示したことから、サフィナミドは MAO-B 阻害とは異なる作用により、LID モデルを改善していることが示唆された。

線条体におけるグルタミン酸の過剰放出が LID の病態生理に関与すると考えられている。NMDA 受容体拮抗作用を有するアマンタジンやグルタミン酸放出抑制作用を有するリルゾールが LID モデルにおいて抗ジスキネジア作用を示したことから、グルタミン酸の神経伝達の抑制が抗ジスキネジア作用に関与することが示唆された。サフィナミドは NMDA 受容体に対する阻害作用を示さないため、ナトリウムチャネル阻害作用を介してグルタミン酸放出を抑制することで、抗ジスキネジア作用をもたらすと考えられた。

パーキンソン病様症状を示すカニクイザルを用いた別の試験において、サフィナミドはジスキネジアを改善しないとの結果が示されている。サフィナミドの改善効果が認められた上記の実験（2.6.2.2.4.5.1～2.6.2.2.4.5.4）では、ジスキネジアが発現する 4～6 時間にわたって持続的に観察が行

われ、顔、首、胴、両腕及び両足の身体区分 7 か所について 0～3 の 4 段階でスコア化された（最大スコア=21、レボドパ単独投与群のピーク時スコア中央値=6～8）。結果の解析においても、最大スコアやピーク期間スコア（連続する 4 回の観察で得られる最大平均スコア）など、多角的に検討された。一方、改善効果が得られなかった試験（MMSCH1 試験、MMSCH2 試験）では、30 分ごとに 10 分間の断続的な観察が行われ、各身体部分ではなく全身症状として舞踏症とジストニアが 0～4 の 5 段階に評価された（最大スコア = 両症状のそれぞれについて 4）。レボドパ単独投与群とサフィナミド併用群とも連続して最大スコア 4 に達しており、明らかなピークが見られず、スコア設定がサフィナミドの薬効評価には不十分であった可能性が考えられた。このような実験条件の差異により、後者の検討ではサフィナミドの効果が十分に検出できなかったものと考えられた。

2.6.2.2.4.6 薬物誘発性振戦モデルに及ぼす作用

4.2.1.1-43：Salamone-2012 （評価資料）
4.2.1.1-44：Podurgiel-2013（参考資料）

振戦はパーキンソン病の主症状の一つである。ドパミン D_2 受容体拮抗薬のピモジド、ムスカリン受容体作動薬のピロカルピン並びにアセチルコリンエステラーゼ阻害薬のガランタミンがラットに誘発する顎振戦は、レボドパ、ドパミンアゴニスト、抗コリン薬及びアデノシン A_2 拮抗薬など広範なパーキンソン病治療薬によって軽減される。

サフィナミドがこれらの振戦に及ぼす影響を検討した。サフィナミドの 5 及び 10 mg/kg, i.p.はピロカルピン（0.5 mg/kg, i.p.）或いはガランタミン（3.0 mg/kg, i.p.）がラットに誘発する顎振戦をそれぞれ有意に抑制した。またピモジド（1.0 mg/kg, i.p.）8 日間反復処置がラットに誘発する顎振戦についても有意に抑制した。以上のことから、サフィナミドにはパーキンソン病に伴う振戦に対する有効性が期待された。

2.6.2.3 副次的薬理試験

2.6.2.3.1 神経保護作用

パーキンソン病においては脆弱な神経の保護による進行抑制が期待されるが、現段階でヒトにおける明らかな有効性を示す薬剤は確認されていない。サフィナミドによるパーキンソン病の進行抑制については MPTP や 6-OHDA 処置動物で神経保護作用が示されたが（2.6.2.2.4.1、2.6.2.2.4.2、2.6.2.2.4.3）、以下の動物モデルにおいても神経保護作用が認められた。

2.6.2.3.1.1 スナネズミ両側頸動脈閉塞モデル

4.2.1.2-01：ES0610007（参考資料）

スナネズミにおける両側総頸動脈閉塞（bilateral carotid occlusion; BCO）は海馬神経変性及び認知障害に至る一過性脳虚血の一般的なモデルである。5 分間の BCO により海馬 CA1 領域の錐体神経の 95%が変性したが、サフィナミド（100 mg/kg, i.p.）の BCO 30 分前と 30 分後の 2 回投与は BCO による神経変性をほぼ完全に抑制した。さらに、サフィナミドの BCO 180 分後とその 1 時間後の 2 回投与でも有意な神経保護作用が認められた。一方、BCO により受動回避反応を指標とした認知機能が障害されたが、サフィナミド（100 mg/kg, i.p.）は BCO 30 分前後に投与した場合だけでなく、BCO 180 分後に投与した場合でも認知障害を改善した。ナトリウムチャネル阻害作用を有する抗てんかん薬

フェニトイン（200 mg/kg, i.p.）の BCO 2 時間前投与は、BCO による神経変性を有意に抑制したが、認知機能障害に影響しなかった。以上の結果より、サフィナミドの神経保護作用には一部ナトリウムチャネルの関与が考えられた。

2.6.2.3.1.2 ラット多発性硬化症モデル

4.2.1.2-02：Morsali -2013（参考資料）

多発性硬化症モデルである実験的自己免疫性脳脊髄炎（experimental autoimmune encephalomyelitis; EAE）モデルラットでは神経症状及び軸索変性が誘発される。サフィナミドを 4～10 μM の薬物曝露量を維持するようミニポンプで 2 週間皮下へ持続投与した結果、神経障害発症後にサフィナミドを投与した場合でも、神経症状及び軸索変性が有意に抑制された。軸索の保護は、処置ラットの脊髄後索内の機能的軸索数の増加で示され、中枢神経系内のミクログリア及びマクロファージの有意な活性低下とも関連した。

サフィナミドの薬物曝露量である 4～10 μM は 1200～3000 ng/mL に相当し、臨床試験においてサフィナミド 100 mg を 1 日 1 回 7 日間反復投与したヒトで報告された曝露量（臨床最高血漿中濃度：1819 ng/mL）と類似するため、この所見は多発性硬化症の軸索保護におけるサフィナミドの臨床効果を示唆するものである。

EAE におけるサフィナミドの効果は、フレカイニドなどの他のいくつかのナトリウムチャネル阻害薬と共通するもので、軸索に対する直接的な作用とミクログリアやマクロファージに対する直接的な作用の両作用を介してサフィナミドが軸索保護作用を示すことが示唆される。実際、リポ多糖類によって活性化されたラット初代培養細胞における別の実験でも、サフィナミドはミクログリアのスーパーオキシド産生を強く抑制し、抗酸化物質グルタチオンの産生を促進した。

2.6.2.3.2 抗てんかん作用

4.2.1.2-03：9850139（参考資料）
4.2.1.3-03：9650206（参考資料）
4.2.1.2-04：9650208（参考資料）
4.2.1.2-05：9650209（参考資料）
4.2.1.2-06：9750002（参考資料）
4.2.1.2-07：9650201（参考資料）

In vitro 及び in vivo におけるサフィナミドの抗痙攣作用のプロファイルについて、対照化合物と比較した。ラモトリギン、フェニトイン又はカルバマゼピンなどのナトリウムチャネル阻害薬はてんかんの治療や非臨床てんかん発作モデルに有効である。

最大電撃痙攣に対し、サフィナミド経口投与での ED_{50} 値（遊離塩基として）はマウスで 8.0 mg/kg 及びラットで 11.8 mg/kg であった。Bicuculline、picrotoxin、3-mercaptopropionic acid 及び strychnine などの痙攣誘発物質によって誘発された発作に対して、サフィナミドの経口投与は有効であった。サフィナミドの抗痙攣活性は、治療指数（therapeutic index; TI：抗痙攣における有効用量とロータロッド試験における運動失調用量との比）が大きく、マウスを用いた最大電撃痙攣試験におけるサフィナミド経口投与後の TI は 78 であり、他の薬剤と比較して安全域が広かった。また、抗痙攣活性はサフィナミドの血漿中濃度及び脳内濃度に比例した。

サフィナミドは複雑部分発作のキンドリングモデルにおける痙攣スコアを用量依存的に減少させた（30 mg/kg, i.p.で 80%）。カイニン酸誘発性てんかん重積モデルでは、溶媒投与群のラットの 87%がてんかん重積発作を示したが、サフィナミドの 10 及び 30 mg/kg, i.p.は、てんかん重積発作を示したラット数をそれぞれ 57%及びで 47%に減少させ、これに続く神経損傷も抑制した。サフィナミド（25 mg/kg, p.o.）は霊長類の複雑部分発作モデルにおいて、扁桃核基底外側部への後発射を誘発する電気刺激による痙攣を有意に軽減させた。また、より高用量でも局所における後発射持続時間が有意に短縮した。

2.6.2.3.3 代謝物の薬理作用

2.6.2.3.3.1 MAO-B、ナトリウムチャネル、カルシウムチャネルに対する作用

4.2.1.2-08：[redacted]-int-commun-[redacted]（参考資料）

サフィナミド並びに 2 種の主要代謝物 NW-1153 及び NW-1689 の薬理作用について、ラット脳 MAO-B 阻害作用、N 型及び L 型カルシウムチャネル阻害作用並びにラットのナトリウムチャネル阻害作用を評価した。

サフィナミドは MAO-B（IC_{50}=0.098 μM）、N 型カルシウムチャネル（IC_{50}=10 μM）、及び L 型カルシウムチャネル（IC_{50}=17 μM）並びにナトリウムチャネル Nav1.3（IC_{50}=19 μM）に対する作用を有するが、代謝物は 100 μM を超える濃度でも活性を示さず、サフィナミドの薬理作用はこれらの代謝物によるものではないことが示唆された（表 2.6.2-5）。

表 2.6.2-5 MAO-B 活性並びにカルシウムチャネル及びナトリウムチャネルに対するサフィナミド、NW-1153 及び NW-1689 の in vitro 作用

化合物	MAO-B IC_{50}		N 型カルシウム流入 IC_{50}		L 型カルシウム流入 IC_{50}		Nav1.3 電流 IC_{50}	
	μM	ng/mL	μM	ng/mL	μM	ng/mL	μM	ng/mL
safinamide	0.098	39	10	3980	17	6766	19	7562
NW-1153	> 300	> 102000	> 100	> 34000	> 100	> 34000	> 100	> 34000
NW-1689	> 100	> 24600	> 100	> 24600	> 100	> 24600	> 100	> 24600

2.6.2.3.3.2 MAO-A に対する作用

4.2.1.2-09：DMPK-156-08（評価資料）

NW-1689、NW-1153 及び NW-1199 について MAO-A 阻害活性を in vitro 試験で評価した。ヒト肝ミトコンドリアにおいて、サフィナミドの各代謝物は、100 μM までの濃度で MAO-A を直接又は時間依存的に阻害する結果は認められなかった。

2.6.2.3.3.3 芳香族 L-アミノ酸脱炭酸酵素（AADC）に対する作用

4.2.1.1-04：1205009（参考資料）
4.2.1.2-10：NWR-16（参考資料）

NW-1153 及び NW-1689 について、ラット脳ホモジネートの AADC を高い濃度域でしか阻害せず、IC_{50} 値はそれぞれ 94 及び 97 μM であった。また、ヒト肝ホモジネートにおいては、陽性対照のベン

セラジドはほぼ完全に AADC を阻害したが、NW-1689 及び NW-1153（各 50 μM）はいずれも AADC を阻害しなかった。

2.6.2.3.4 (*R*)-サフィナミドの薬理作用

4.2.1.2-11：[redacted]-66A（参考資料）
4.2.1.2-12：Strolin Benedetti-1995（参考資料）

ラット脳ホモジネートを用いてサフィナミドの鏡像異性体である(*R*)-サフィナミドの MAO-B 及び MAO-A 阻害活性を 2 つの試験で評価した。(*R*)-サフィナミドの MAO-B に対する IC_{50} 値は 0.34 及び 1.77 μM であり、サフィナミドの約 1/3～1/10 の活性であった。一方、MAO-A にする IC_{50} 値は 42 及び 50 μM でありサフィナミドに比べて 3～7 倍強かった。

2.6.2.4 安全性薬理試験

2.6.2.4.1 中枢神経系に対する作用

2.6.2.4.1.1 マウスを用いた Irwin 試験

4.2.1.3-01：N858X (9750104)（参考資料）

雄性 CD-1(ICR)BR マウス（5 例/群）にサフィナミドとして 30、100、300 及び 1000 mg/kg の用量で単回経口投与し、行動観察を行った。

1000 mg/kg では、投与 30 分以内に 2 例が死亡した。100 mg/kg 以上の用量で用量依存的に、自発運動及び敏捷性の低下、正向反射の喪失、筋緊張及び握力低下、運動失調、眼瞼下垂、呼吸抑制並びに呼吸困難などがみられ、これらの症状は投与 6 時間後まで持続した。300 mg/kg 以上の用量では、立毛、ライジング、挙尾及び体温低下が一過性にみられ、1000 mg/kg では眼球突出及び痙攣もみられた。

2.6.2.4.1.2 ラットを用いた Irwin 試験

4.2.1.3-02：11.0016（評価試料）

RJ:Wistar(Han)ラット（雌雄各 6 例/群）にサフィナミドメシル酸塩として 0（媒体対照）、30、70 及び 200 mg/kg、　類縁物質A*　を 3、10 及び 30 mg/kg の用量で単回経口投与し、Irwin 法に従い行動、自律神経系機能、自発運動及び体温に対する影響を投与 48 時間後まで観察した。

サフィナミドでは 30 mg/kg 以上で投与後に散瞳及び軽度の鎮静（活動性及び筋緊張の低下）が用量依存的にみられ、180 分間持続した。　類縁物質A*　では 3 mg/kg 以上で用量依存的に常同運動（嗅ぎ回り行動）が認められ、10 mg/kg の 1 例では一過性の首振りがみられた。30 mg/kg では、易刺激性の亢進、散瞳、活動亢進及び眼球突出がみられ、投与後 180 分間持続した。サフィナミド及び　類縁物質A*　のいずれも雌雄で反応性に差異はみられなかった。

2.6.2.4.1.3 マウスを用いた運動協調性に対する作用

4.2.1.3-03：9650206（参考資料）

雄性 CD-1(ICR)マウス（10～20 例/群）にサフィナミド、比較対照としてカルバマゼピン、フェニトイン、バルプロ酸、ラモトリギン及びジアゼパムを経口投与し、60 分後にロータロッド試験で運動協調性に対する影響を評価した。

TD_{50}（50%の動物が落下する用量）は、サフィナミドで 626 mg/kg（サフィナミドメシル酸塩として）であったのに対し、カルバマゼピン、フェニトイン、バルプロ酸、ラモトリギン、ジアゼパムはそれぞれ 106 mg/kg、243 mg/kg、1178 mg/kg、84 mg/kg 及び 6.8 mg/kg であった。

2.6.2.4.1.4 マウスを用いた自発運動量及びコカイン誘発活動亢進に対する作用

4.2.1.3-04：1205013（参考資料）

雄性 Swiss-Webster (Hsd:ND4)マウス（8 例/群）にサフィナミド及びコカインを腹腔内投与し、1 時間及び 8 時間における自発運動量について赤外線センサーで評価した。

＊新薬情報提供時に置き換えた。

1 時間における評価では、サフィナミドメシル酸塩として 3、10、30 及び 100 mg/kg の用量で評価開始 20 分前に腹腔内投与したところ、100 mg/kg で有意な低下がみられ、ID_{50} 値は 31.6 mg/kg であった。また、コカイン 20 mg/kg との併用投与では、サフィナミドの前処理によりコカインにより誘発された活動亢進を減弱させ、その AD_{50} 値（コカイン誘発の活動亢進を 50%減弱する用量）は 43.7 mg/kg であった。

8 時間における評価では、サフィナミドメシル酸塩として 3、10、30 及び 56 mg/kg の用量で評価 20 分前に腹腔内投与したところ、自発運動量の低下が用量依存的に観察された。56 mg/kg 群ではこの変化は投与 10 分以内からみられ約 180 分間持続した。最も影響が大きい評価開始 30 分間における ID_{50} は 58.9 mg/kg と推定された。一方、コカインは 10～40 mg/kg の用量で投与直後から用量依存的な自発運動量の亢進が認められた。

2.6.2.4.1.5 ラットを用いた自発運動量に対する作用

4.2.1.3-05：9650207（参考資料）

雄性 Crl（WI）BR ラット（10 例/群）にサフィナミドとして 0（媒体対照）、10、100、400 又は 700 mg/kg の用量で単回経口投与し、投与 1 時間後から 30 分間における自発運動量について評価した。

その結果、サフィナミド 700 mg/kg において、対照群と比較して自発運動量の有意な低下がみられた。一方、陽性対照としたハロペリドール 1 mg/kg でも自発運動量の顕著な低下がみられた。

2.6.2.4.1.6 アカゲザルでの行動試験

4.2.1.3-06：0907024（参考資料）

4 匹のアカゲザルを用いて、コカインの弁別刺激に及ぼすサフィナミドの影響について検討した。サフィナミドメシル酸塩 0（媒体対照）、0.32、1.0、3.2 又は 10 mg/kg（2～3 用量/匹）を筋肉内投与した 1 時間後及び 24 時間後にコカインを 0.013～1.3 mg/kg の用量で累積的に筋肉内投与して、弁別反応を評価した。

その結果、サフィナミドは 1 mg/kg 以上の前処置によりコカインの弁別刺激の ED_{50} を低下させたが、影響がみられた用量は個体毎に 1.0、3.2 又は 10 mg/kg（いずれも各個体の最高適用量）と個体差が大きく、1 時間後と 24 時間後で影響の有無や強弱にも一貫性はなかった。また、1 例では中間用量である 3.2 mg/kg の前処置により ED_{50} の上昇がみられ、同一個体における反応にも一貫性がみられなかった。

2.6.2.4.1.7 ラットを用いた認知機能の評価

4.2.1.3-05：9650207（参考資料）

雄性 Crl：（WI）BR ラット（10 例/群）にサフィナミドとして 10、100 及び 400 mg/kg を単回経口投与し、受動回避試験で認知機能に対する作用を評価した。陽性対照として NMDA 型グルタミン酸受容体阻害薬である MK-801 を 0.1 mg/kg の用量で腹腔内投与また比較対照としてラモトリギンを 4、40 及び 160 mg/kg の用量で経口投与し同様に評価した。

その結果、サフィナミドは 400 mg/kg においても移動潜時に変化はみられず受動回避行動に影響を及ぼさなかった。MK-801 及びラモトリギン 160 mg/kg では移動潜時の短縮がみられ受動回避行動を障害した。

以上の結果から、サフィナミドが認知機能へ影響を及ぼす可能性は低いことが示唆された。

2.6.2.4.2 心血管系に対する作用

2.6.2.4.2.1 Kv11.1(hERG)イオンチャネルに対する作用

4.2.1.3-07：091104.NFS（評価資料）
4.2.1.3-08：1205010（参考資料）
4.2.1.3-09：100819.NFS（参考資料）
4.2.1.3-10：ZNA15799.001（参考資料）
4.2.1.3-11：EGSP_MP_091211_MPC（参考資料）

Kv11.1（hERG）チャネルを安定的に発現している遺伝子組み換え細胞を用いたホールセルパッチクランプ法により hERG チャネル電流に対するサフィナミドの作用を評価した。HEK293 細胞を用いた試験において、サフィナミドの hERG チャネル電流阻害の IC_{50} 値は 28.3 μM であった。CHO 細胞を用いた別の試験では、27 又は 37.7 μM であった。これはヒトに 100 mg/日を 7 日間反復投与した際の最高血漿中非結合型濃度（0.66 μM)の約 40 倍以上であった。

サフィナミドの代謝物 NW-1153、NW-1689 及び NW-1689AG による hERG チャネルへの IC_{50} 値は 10 μM よりも高かった。

以上より、サフィナミド及びその代謝物 NW-1153、NW-1689、NW-1689AG が QT 間隔の延長による、Torsade de Pointes 不整脈を誘発するリスクは極めて低いと考えられた。

2.6.2.4.2.2 心臓イオンチャネルに対する作用

4.2.1.3-09：100819.NFS（参考資料）
4.2.1.3-12：100821.NFS（参考資料）
4.2.1.3-13：1204014（参考資料）

心機能に影響する主要な電位依存性イオンチャネル（LQT1/mink、Kv1.5、Cav1.2、Cav3.2、Kir2.1、HCN2、CFTR 及び CLC-1 チャネル）について、ヒト型チャネルのクローン化細胞株を用いて、ホールセルパッチクランプ法によりサフィナミドの作用を評価した。その結果、いずれのチャネルにおいても IC_{50}>100 μM であり、サフィナミドの作用はみられなかった。

サフィナミドによる ATP 依存性カリウムチャネル(Kir6.2/SUR2A;IC_{50}=9.3 μM）、ナトリウムチャネル(Nav1.5; phasic stimulation IC_{50}=34.1 μM、tonic stimulation IC_{50}>100 μM）並びにカリウムチャネル（Kv4.3; IC_{50}=32.4 μM）の IC_{50} 値は、ヒトに 100 mg/日を 7 日間反復投与した際の最高血漿中非結合型濃度 0.66 μM の約 14 倍以上であった。

洞房結節のペースメーカーである HCN4 チャネルについて、ヒト型 HCN4 を発現させた HEK293 細胞を用いた試験では、サフィナミドの 10 μM は HCN4 チャネル電流を 47%遮断した。阻害の機序を検討したところ、間接的な HCN4 阻害が示唆されアーティファクトである可能性が考えられた。

ヒト型 HCN4 クローン化細胞株を使用した別の試験では、IC_{50} 値は 100 μM を上回り HCN4 イオン電流の阻害は確認できなかった。単離ウサギ洞房結節筋細胞を用いた試験では、10 μM 以下で HCN4 イオン電流に対するサフィナミドの作用が認められなかった。以上のデータを総合すると、臨床使用においてサフィナミドが HCN4 イオン電流を阻害する可能性は低いと考えられた。

2.6.2.4.2.3 モルモット単離乳頭筋及びイヌプルキンエ繊維における心臓活動電位に対する作用

4.2.1.3-14：EGSP_OP_100910_010（参考資料）
4.2.1.3-15：20040414PECM（評価資料）

モルモット単離乳頭筋を用いて、心臓における活動電位持続時間（APD）、活動電位振幅、脱分極最大立ち上がり速度及び静止膜電位に対するサフィナミドの 3、10、30 及び 100 μM の作用を評価した。

3 μM のサフィナミドは、APD_{20}（20%再分極での活動電位持続時間）、APD_{50} 及び APD_{90} をそれぞれ 4、2 並びに 2%短縮した。10、30 及び 100 μM では、それぞれ APD_{20} が 16～52%、APD_{50} が 10～47%、APD_{90} が 9～28%短縮した。また、30 及び 100 μM では、活動電位振幅及び脱分極最大立ち上がり速度が減少した。また、静止膜電位に対する影響はみられなかった。

活動電位持続時間に対する作用は、ヒトに 100 mg/日を 7 日間投与した際の最高血漿中非結合型濃度 0.66 μM の 45 倍以上の濃度（30 μM）で認められた。

イヌ単離プルキンエ線維を用いてサフィナミド 0.3、3、30 及び 300 μM で心臓活動電位に対する作用を評価した。

0.3 μM では、標準（1 Hz）又は低刺激頻度（0.33 Hz）のいずれにおいても活動電位指標に対する有意な作用はみられなかった。3 又は 30 μM では、両刺激頻度下で APD_{50}、APD_{70} 及び APD_{90} が濃度依存的に有意に短縮した。30 μM では、両刺激頻度下で活動電位振幅及び脱分極最大立ち上がり速度が有意に低下し、静止膜電位の増大が認められた。300 μM では興奮はみられず、測定は行わなかった。

2.6.2.4.2.4 モルモット単離心臓標本における不応期及び収縮力に対する作用

4.2.1.3-16：EGSP_OP_100810_008（参考資料）

モルモット単離乳頭筋の不応期及び収縮力に対するサフィナミドの 1、3、10 及び 30 μM（6 例/群）の作用を周波数 1 Hz で評価した。

1 μM では不応期及び収縮力のいずれにも変化がなかった。3、10 及び 30 μM では濃度依存的に不応期がそれぞれ 2、8 及び 19%短縮し、収縮力が 16、50 及び 76%減少した。

3 μM で収縮力に対する影響が僅かに認められたが、in vivo 試験では陰性変力作用に関するエビデンスが示されないことから、この影響は重大でないと考えられた。

2.6.2.4.2.5 ウサギ単離心臓標本に対する作用

4.2.1.3-17：7243-96-080（参考資料）
4.2.1.3-09：100819.NFS（参考資料）

ウサギ乳頭筋単離標本を用いて、サフィナミド 0.01、0.1、1、10 及び 100 μM が収縮力に与える影響について評価した。1 Hz の周波数で刺激したところ、10 μM のサフィナミドは対照群に対して収縮力を減少させた。一方、3 Hz の周波数で刺激した場合は二相性の作用が認められ、0.1 及び 1 μM では対照群に対して収縮力を有意に増大させた一方で、10 μM での収縮力は対照群と変わらず、100 μM では収縮力を有意に減弱させた。100 μM では、いずれの周波数においても有意な心室伝導時間の延長並びに有意な右心房での自動能低下が認められた。有効不応期は対照群に対して延長傾向が認められたが有意差はなかった。これらの作用は洗浄後にほぼ回復した。サフィナミドの 100 μM は、ヒトに 100 mg/日を 7 日間投与した際の最高血漿中非結合型濃度(0.66 μM)の 152 倍であることから、臨床用量において影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。

2.6.2.4.2.6 ラットでの心血管及び呼吸器の評価

4.2.1.3-18：7243-97-016（参考資料）

覚醒の雄性 Sprague Dawley ラット(5 例/群)にサフィナミドメシル酸塩として 10、30 又は 100 mg/kg の用量で経口投与、あるいは 50 mg/kg の用量で静脈内投与、さらに麻酔ラットに 50 mg/kg の用量で静脈内持続投与して心血管系への作用を評価した。投与開始前から投与 3 時間後まで平均血圧及び心拍数を測定したところ、100 mg/kg の経口投与あるいは 50 mg/kg の静脈内投与で心拍数はわずかに低下したが、覚醒及び麻酔ラットのいずれにおいても平均血圧に有意な変動はみられなかった。また、50 mg/kg を静脈内持続投与した麻酔ラットにおいて呼吸数の変化はみられなかった。

2.6.2.4.2.7 覚醒イヌにおける心血管作用

4.2.1.3-19：R15130 (20010479PCC)（評価資料）
4.2.1.3-20：GSP0018ECG（参考資料）

覚醒イヌ（雌雄各 6 例/群）にサフィナミドとして 5、15 又は 50 mg/kg の用量で単回経口投与し、血圧、心拍数及び心電図（テレメトリー法）に対する作用を評価した。5、15 及び 50 mg/kg では、心拍数及び平均血圧に対する有意な変化はみられなかった。Sarma 式で補正した QTc 間隔は、5 mg/kg で投与 24 時間後、15 mg/kg で投与 2 時間後に有意に短縮した。50 mg/kg 投与後の QTc 間隔は、投与 1～8 時間後及び 16～24 時間後に有意に短縮した。しかし、5、15 及び 50 mg/kg の投与 24 時間後にみられた QTc 間隔の短縮に用量相関はみられず、これらの結果は Fridericia 式で補正した際には、QTc 間隔の短縮は認められなかった。

以上より、15 及び 50 mg/kg の経口投与後は、心室再分極に影響を及ぼし、QTc を短縮させたと考えられる。これらの結果は in vitro 試験で観察された活動電位持続時間及び不応期への作用と一致した。

覚醒イヌを用いたもう一つの試験では、サフィナミドメシル酸塩として 30 又は 50 mg/kg、類縁物質A* を 30 mg/kg で単回経口投与し、心拍数、血圧及び心電図に対する影響を検討した。サフィナミドメシル酸塩の 50 mg/kg では、心拍数を僅かに増加させた。QT 間隔は 30 mg/kg より投与後 10～240 分に僅かな短縮が用量依存的に認められたが、QTc には影響がみられなかった。 類縁物質A* の投与後 10～120 分において、心拍数に軽度かつ一過性の増加が認められた。QT 間隔は有意な短縮が認められたが心拍数に基づいて補正した QTc 間隔に有意な変化は認められなかった。また、いずれも血圧、呼吸数、体温、酸素飽和度及び血液パラメータに変化は認められなかった。

＊新薬情報提供時に置き換えた。

2.6.2.4.2.8 脊髄破壊ラットにおけるノルアドレナリン昇圧反応

4.2.1.3-21：[redacted]-39（参考資料）

ノルアドレナリンの取り込み又はアドレナリン受容体に対するサフィナミドの作用を評価した。麻酔下で雄性 Wistar ラット（6 例/群）の脊柱管にスチールロッドを挿入し、脊髄を破壊した。ノルアドレナリンの投与及び平均血圧の測定のために、それぞれ頸静脈及び頸動脈に留置カニューレを挿置した。媒体あるいはサフィナミドとして 10 又は 50 mg/kg の腹腔内投与前後に、ノルアドレナリン（25、50、100 及び 200 ng 静脈内投与）の用量-反応曲線を求めた。

ノルアドレナリンの静脈内投与によって、用量依存的な平均血圧の上昇が確認された。サフィナミドは平均血圧に作用せず、ノルアドレナリンに対する昇圧反応曲線に影響を与えなかった。

2.6.2.4.2.9 正常血圧ラットにおけるチラミン昇圧反応

4.2.1.3-22：[redacted]-42（参考資料）

非選択的なモノアミン酸化酵素阻害薬及びチーズ等に多く含まれるチラミンを同時に摂取することによって、相互作用として血圧上昇（チーズ効果）がみられる。本試験はサフィナミドとチラミンの相互作用を評価した。

血圧測定のため、麻酔下で雄性 Wistar ラット（5～6 例/群）の左頸動脈にカテーテルを埋め込んだ。24 時間後、同じラットの覚醒状態において、サフィナミドとして 10 及び 20 mg/kg をチラミン 10 mg/kg と併用して経口投与するとともに、チラミン 10 mg/kg を単独投与した。その結果、非選択的なモノアミン酸化酵素阻害薬と異なり、サフィナミドはチラミンと併用投与しても、昇圧反応を引き起こさなかった。

2.6.2.4.2.10 麻酔サル及び覚醒サルにおける試験

4.2.1.3-23：N826X（9750238）（参考資料）

雄 5 匹及び雌 3 匹の麻酔カニクイザルにサフィナミドを投与し、心拍数、血圧、左心室内圧、心臓の収縮力、心電図及び呼吸機能を測定した。投与方法は十二指腸内投与後の静脈内投与、静脈内持続投与及び大槽内持続投与の 3 条件を設定した。用量は、サフィナミドとして 120 又は 240 mg/kg の十二指腸内と 13 mg/kg の静脈内投与、総用量 113、123、146 及び 171 mg/kg の静脈内持続投与並びに総用量 22.3 又は 118.8 mg の大槽内投与とした（各 1 匹）。また、無麻酔下の雄性サルにサフィナミド 75.2 mg/kg を静脈内投与し、同様に評価した。血漿中濃度並びに大槽内投与においては脳脊髄液中濃度についても評価した。

サフィナミドを 240 mg/kg 十二指腸内投与した際、投与 4.5 時間後までいずれの指標も変化しなかった。その後同じ個体にサフィナミド 13 mg/kg を静脈内投与したところ死亡した。血圧及び心拍数の変化はなく、呼吸抑制がみられた。一方、120 mg/kg の十二指腸内投与は、240 mg/kg と同様にいずれの指標も変化しなかったが、13 mg/kg を静脈内投与したところ、心拍数及び血圧が僅かに低下した。累積総用量 113～171 mg/kg（投与中の血漿中濃度 37.3～71.3 μg/mL）の静脈内投与では、血圧の低下及び心臓の収縮力の低下がみられ、死亡が認められた。心拍数の低下は軽度であり、心電図

に対する作用は観察されなかった。全例に呼吸抑制がみられ、22.3 mg/kg の 1 匹に補助呼吸を適用したが、血圧の低下を抑制できなかった。

総用量22.3及び118.8 mgのサフィナミド大槽内持続投与では静脈内投与と同様な作用を呈したが、血漿中濃度は低く、それぞれ 0.32 及び 5.6 µg/mL であった。一方、118.8 mg を投与した動物の脳脊髄液中濃度は 397.5 µg/mL であった。この個体も、補助呼吸によって血圧の低下を抑制できなかった。

無麻酔下のサルに静脈内投与したところ、振戦、よろめき歩行、活動性低下等を示した後に、首振り及び痙攣がみられ、死亡した。瀕死状態となる前には心電図及び血圧に変化はみられなかった。死亡前の血漿中濃度は 56.1 µg/mL であった。

静脈内投与した1匹及び大槽内投与した2匹で低血圧発現時にドブタミンの静脈内投与をしたところ、血圧は回復した。

以上の結果から、極めて高いサフィナミド血漿中濃度でみられたサルの血圧の低下及び死亡は、主としてサフィナミドの交感神経に対する作用を介して引き起こされた可能性が高いと考えられた。また、血漿中濃度が極めて高いサルでの血圧の低下及び死亡は中枢神経を介している可能性が高く、サフィナミドの交感神経性緊張への影響に起因すると考えられ、忍容性のある用量範囲では血圧低下のリスクは低いと考えた。また、反復及び単回投与試験では覚醒動物に血圧の低下が認められず、麻酔動物に顕著に血圧の低下が表れる理由として、麻酔とサフィナミドの相乗作用又は麻酔による中枢神経系徴候のマスキング効果と考えられた。

2.6.2.4.3 呼吸器系に対する作用

2.6.2.4.3.1 ラットでの呼吸器系評価

4.2.1.3-24：GSP0010RF（評価資料）

覚醒の雄性 CD ラット（7～8 例/群）にサフィナミドメシル酸塩として 30、70 若しくは 200 mg/kg で、又は　類縁物質A*　を 30 mg/kg で単回経口投与し、機械的呼吸機能に対する影響を投与 240 分後まで調べた。

サフィナミドを最高で 200 mg/kg、　類縁物質A*　を 30 mg/kg の投与量で単回経口投与したところ、呼吸数、一回換気量、毎分換気量、吸気時間、呼気時間、弛緩時間、最大吸気量、最大呼気量、休止及び促進休止（肺抵抗）のいずれのパラメータにも病態生理学的な影響は認められなかった。

2.6.2.4.4 その他の安全性薬理試験

2.6.2.4.4.1 In vitro 受容体プロファイリング

4.2.1.3-25：8920172（参考資料）
4.2.1.3-26：8920174（参考資料）
4.2.1.3-27：8920175（参考資料）
4.2.1.3-28：8920177（参考資料）
4.2.1.3-29：8920196（参考資料）
4.2.1.3-30：8060252（参考資料）
4.2.1.3-31：8920254（参考資料）
4.2.1.3-32：8920256（参考資料）
4.2.1.3-33：8920286（参考資料）
4.2.1.3-34：8920316（参考資料）

＊新薬情報提供時に置き換えた。

4.2.1.3-35：8920326（参考資料）
4.2.1.3-36：8920178（参考資料）

In vitro 受容体プロファイリング試験では、サフィナミド、3 つの代謝物（NW-1153、NW-1689 及び NW-1689AG）及び　類縁物質A*　についての標的分子以外の受容体、イオンチャネル、トランスポーター酵素及びプロテインキナーゼ等のヒト分子に対する影響を検討した。

最終濃度 10 μM で標的以外の分子に 50%以上の結合を示した場合、表 2.6.2-6に示すように IC_{50} 値を求めた。また、受容体結合が機能的な作用に反映されるかを明らかにするため機能評価を実施した。プロテインキナーゼについては、in vitro 酵素アッセイを実施した。NW-1689AG は化学的に不安定であることから、評価終了時に当該化合物の安定性を HPLC 分析により確認した。

表 2.6.2-6 受容体-リガンド結合試験の概要

	サフィナミド 試験番号 8060252 8920175 8920177 8920256 8920196	類縁物質A* 試験番号 8920316	**NW-1153** 試験番号 8920174 8920177	**NW-1689** 試験番号 8920172 8920175 8920177	**NW-1689AG** 試験番号 8920286 8920326 8920254
イミダゾリン受容体 1	73%	(2)			
イミダゾリン受容体 2	(0.72)		(0.8～1.4)	(>100)	
ムスカリン受容体 3	(0.25)		(>100)	(>100)	
ムスカリン受容体 4	(12–66)				
シグマ受容体 1	(0.12)		(3.4)		
シグマ受容体 2	(2.8)				
シグマ受容体（非選択的）	(1.8)		(>30)	(>100)	
オピオイド受容体 μ					(54)
ノルエピネフリントランスポーター	(10)				
ドパミントランスポーター	(14)	(6.9)			
カテプシン-X			(11)		
ナトリウムチャネル	67%				
MAO-A		(6.6)			

データは IC_{50} 値（μM）、又は 10 μM 濃度における阻害率（%）を示す。

10 μM のサフィナミドはイミダゾリン 1 受容体を 73%阻害した。イミダゾリン 1 受容体は降圧作用が知られるが、ヒトにサフィナミド 100 mg/日を 7 日間投与した際の最高血漿中非結合型濃度は 0.66 μM であり、これは評価濃度 10 μM の 1/15 以下であった。

MAO-B 酵素のアロステリック結合部位として知られるイミダゾリン 2 受容体は、サフィナミド、NW-1153 及び NW-1689 によって阻害され、IC_{50} 値はそれぞれ 0.72 μM、0.8～1.4 μM 及び>100 μM であった。イミダゾリン 2 受容体は血圧に影響することが知られるが、覚醒イヌを用いた安全性薬理試験又はサルを用いた毒性試験において、サフィナミドは血圧に影響を与えなかった。これらのことから、臨床使用においてサフィナミド、NW-1153 及び NW-1689 のイミダゾリン 2 受容体への結合により、重篤な影響がみられる可能性は低いと考えられた。

サフィナミドはムスカリン受容体、特に M3 に対する結合活性を示した（IC_{50}=0.25 μM）。しかし、機能評価試験において、細胞内 Ca^{2+}濃度の増加量を指標とした M3（EC_{50}>10 μM）に対する作用は、受容体結合試験の結果に比べて弱かった。サフィナミドは M4 に対しても結合活性（IC_{50}=12～66 μM）を示したが、細胞内 cAMP 濃度の増加量を指標とした機能評価試験においてアゴニスト及びアンタゴニスト作用のどちらも示さなかった（EC_{50}>30 μM）。なお、M3 及び M4 の機能評価試験で用いた

＊新薬情報提供時に置き換えた。

サフィナミドの評価濃度（10 及び 30 μM）は、ヒトにサフィナミド 100 mg/日を 7 日間投与した際の最高血漿中非結合型濃度（0.66 μM）と比較して、それぞれ約 15 倍及び約 45 倍であった。

サフィナミド及び NW-1153 はシグマ 1（サフィナミド：IC_{50}=0.12 μM、NW-1153：IC_{50}=3.4 μM）及びシグマ 2 受容体に結合したが、その強度から判断して、ヒトに 100 mg/日を 7 日間反復投与した時にサフィナミドの影響を受けるのはシグマ 1 受容体と考えられた。シグマ 1 受容体の機能は十分に解明されていないが、細胞内 Ca^{2+}濃度の調節に関与することが報告されている。モルモット精管を用いてシグマ 1 受容体へのサフィナミドの機能的影響を評価したところ、サフィナミド 3、10 及び 30 μM で拮抗作用がみられ、阻害率はそれぞれ 14、41 及び 74%であった。NW-1153 及び NW-1689 は、30 μM においても 50%以上の阻害作用はみられなかった。

以上より、サフィナミド、代謝物（NW-1153、NW-1689 及び NW-1689AG）及び　類縁物質A* は、評価したオフ・ターゲット作用部位の多くに対して結合活性を示さなかった。結合がみられたイミダゾリン 1 及び 2 受容体、ムスカリン 3 及び 4 受容体、シグマ 1 及び 2 受容体については、in vitro 機能評価試験で臨床の最高血漿中非結合型濃度付近で作用がみられなかったこと、及び／又は当該受容体に関連した影響が in vivo において認められなかったことから、臨床上問題となる可能性は低いと考えられた。

2.6.2.4.4.2 腎機能

4.2.1.3-37：N856-Q1519 (9750236)（評価資料）

覚醒雄性 Sprague Dawley ラット（10 例/群）にサフィナミドとして 30、100 又は 300 mg/kg の用量で単回経口投与した。陽性対照としてフロセミド 50 mg/kg を経口投与した。

その結果、フロセミドにおいては水及び電解質排泄量の増加を認めたが、サフィナミドでは尿量、尿比重並びに尿中電解質、尿中窒素及び尿中クレアチニンの濃度及び総排泄量に対する作用はみられなかった。

2.6.2.4.4.3 消化管機能

4.2.1.3-38：N859-Q1520（9750274）（評価資料）

雄性 CD-1 マウス（16 例/群）にサフィナミドとして 30、100 又は 300 mg/kg の用量で単回経口投与し、腸管炭末輸送能を評価した。陽性対照としてメトクロプラミド 30 mg/kg を経口投与した。結果はメトクロプラミドによる腸管輸送能の亢進がみられたが、サフィナミドは影響を及ぼさなかった。

2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験

該当なし

＊新薬情報提供時に置き換えた。

2.6.2.6 考察及び結論

パーキンソン病ではレボドパ治療を開始して数年の経過で wearing off 現象やジスキネジアなどの運動合併症が生じ、患者の日常生活動作が損なわれることが大きな課題となっている。国内のパーキンソン病治療ガイドラインにおいて、レボドパやドパミンアゴニストで wearing off 現象が充分に改善されない場合には、COMT 阻害薬、MAO-B 阻害薬、イストラデフィリンやゾニサミドが推奨されている[2)]。国内で使用可能な MAO-B 阻害薬はセレギリンのみであったが、別の MAO-B 阻害薬であるラサギリンが 2018 年 3 月に製造販売承認されている。セレギリンは覚せい剤原料に指定されており、アンフェタミン骨格構造を有し、アンフェタミン類に代謝される[3)]ため、これに関連した副作用に注意を要する。

サフィナミドは、ヒト及びラットの組織を用いた in vitro 試験において MAO-B 阻害作用を示し、脳組織での IC_{50} 値はヒトで 79 nM、ラットで 98 nM であった。MAO-A に対する作用は弱く、MAO-B 阻害作用は MAO-A 阻害作用に比べてヒトで約 1000 倍、ラットで約 6000 倍と選択的であった。ラットを用いた in vivo 試験においてもサフィナミドの MAO-B に対する高い選択性が確認されている。サフィナミドの in vitro 試験における MAO-B 選択性をセレギリン、ラサギリンと比較すると、セレギリンはヒトで 250 倍、ラットで 260~1000 倍、ラサギリンはヒトで約 50 倍、ラットで約 90 倍であり[3),4)]、ヒトとラットともにサフィナミドの選択性が最も高かった。

セレギリンのパーキンソン病患者における標準維持投与量は 7.5 mg/日であるが、10 mg/日を超えると非選択的 MAO 阻害による危険性があるとされている[5)]。セレギリンは MAO-B に対する選択性が低いことから血圧変動等の副作用発現の可能性があり、高用量（5 mg/日以上の場合）では分割投与が必要である。一方、ラサギリンは海外における承認用量である 1 mg/日まで MAO-B に対して選択的であることが示されているが、1 mg/日を超えると用量依存的に選択性が低下することが海外添付文書に記載されている[6)]。MAO-B 選択性が最も高いサフィナミドは、血圧や脳内セロトニン神経系に影響を及ぼす薬剤との併用時の副作用リスクが最も低いことが期待される[7),8)]。

MAO-B に対する阻害様式について、サフィナミドは in vitro 並びに in vivo 試験で可逆的阻害薬であることが確認された。一方、セレギリンやラサギリンの MAO-B 阻害作用は非可逆的であり、ヒトでの効果は最高 40 日まで持続するとされている[2)]。セレギリンを反復投与した健康人並びにパーキンソン病患者を対象とした陽電子放射断層撮影（positron emission tomography: PET）において、脳内の MAO-B 活性がセレギリン投与終了後に 50%回復するのに 40 日を要することが示されている[9)]。ラサギリンについての PET を用いた健康人の試験では、脳内 MAO-B 活性が投与前のレベルに戻るまでに 4～6 週間以上を要することが示されている[10)]。セレギリンの添付文書にはレボドパとの併用により不随意運動、幻覚、妄想等の副作用が現れた場合には両薬の減量等適切な処置が必要になるが、セレギリンの MAO-B 阻害作用は長期間持続するため減弱に時間を要することが記載されている[5)]。また、ラサギリンの審査報告書においても、MAO-B に対して非可逆的な阻害作用を示すため、薬理作用に基づく重篤な有害事象が発現した後に減量しても、発現した有害事象が継続する又は発現した有害事象の回復までに時間を要する可能性があることが明記された[11)]。一方、サフィナミドの MAO-B 阻害作用は可逆的であるため、副作用が発現した場合でも、減量又は休薬することで副作用を速やかに減弱させることが期待できる使いやすい薬物と考えられる[7),8)]。

当初は抗てんかん薬としての有用性が期待されていたことから、サフィナミドは電位依存性ナトリウムチャネルを活動状態依存的に阻害し、電位依存性カルシウムチャネルも阻害した。サフィナミドは、in vitro において veratridine（ナトリウムチャネル開口薬）によるグルタミン酸放出を抑制し、ラットを用いた脳内微小透析試験でもサフィナミドは veratridine によるグルタミン酸放出を抑制した。以上のことから、サフィナミドは in vivo においてもナトリウムチャネルに対して作用することが示唆

され、最大電撃痙攣やキンドリングモデルにおいて既存の抗てんかん薬と同様に抗てんかん作用を示した。

パーキンソン病モデルを用いた検討では、MPTP を投与したマウスにサフィナミドをレボドパ及びベンセラジドと併用したところ、脳内ドパミン含量が 60%増加した。また、サフィナミドは MPTP が誘発するマウス黒質ドパミン作動性神経の変性と線条体ドパミン含量の低下を抑制した。黒質ドパミン作動性神経の変性に対する保護効果は、MPTP 投与 4 時間後にサフィナミドを投与した場合でも観察された。これらの結果からサフィナミドがドパミン神経保護作用を有することが示唆され、パーキンソン病の進行を抑制することが期待される。ラサギリンも MPTP 処置したマウスにおける線条体のドパミン量の低下を抑制するが、MPTP 処置後に投与した場合では抑制効果は認められない[12)]。MPTP は MAO-B により MPP^+に酸化され、線条体のドパミン神経終末に取り込まれてドパミン神経細胞の変性を引き起こすため、MAO-B 阻害薬のラサギリンは MPP^+の産生を抑制することで神経保護作用を示すものと考えられる。サフィナミドは MPTP 処置後に投与した場合においても神経保護作用を示したことから MAO-B 阻害作用とは異なる作用機作の寄与が考えられ、ナトリウムチャネル阻害作用やグルタミン酸放出抑制作用の関与が推察される。また、サフィナミドはスナネズミの一過性前脳虚血モデル及びラットの実験的自己免疫性脳脊髄炎モデルにおいても神経保護作用を示したことから、ドパミン神経に限定されない神経保護作用が期待される。

Wearing off 現象はパーキンソン病の進行とともにレボドパの効果持続時間が短縮し、薬物濃度の変動とともに症状が変動する現象である。パーキンソン病の運動症状の日内変動における wearing off 現象について、6-OHDA を処置したラットで検討した。このラットにレボドパとベンセラジドを投与すると回転運動が観察され、さらにレボドパとベンセラシドを反復投与すると回転運動が減少する wearing off 現象が観察される。サフィナミドはこの回転運動の減少を有意に回復させたことから、レボドパ療法に伴う wearing off 現象の改善に有用である可能性が示唆された。NMDA 型グルタミン酸受容体阻害薬 MK-801 もサフィナミドと同様に回転運動の減少を有意に回復させたことから、wearing off 現象の改善にはグルタミン酸神経伝達を抑制することが有効である可能性が示唆された。以上の結果から、wearing off 現象の改善にはサフィナミドのグルタミン酸放出抑制作用が関与していることが考えられた。

また、MPTP を処置したカニクイザルにレボドパを投与して作製された LID モデルにサフィナミドを投与したところ、レボドパのパーキンソン病治療効果持続時間が延長し、ジスキネジアも用量依存的に抑制された。ラサギリンはレボドパのパーキンソン病治療効果持続時間を延長したが、ジスキネジアに対する抑制作用に用量依存性はみられなかった。別の MAO-B 阻害薬である lazabemide はパーキンソン病治療効果持続時間を延長したが、ジスキネジアには影響せず、電位依存性ナトリウムチャネル阻害作用とグルタミン酸放出抑制作用を有するリルゾールと NMDA 受容体拮抗作用を有するアマンタジンはジスキネジアを抑制した。これらの結果から、MAO-B 阻害作用はパーキンソン病治療効果持続時間の延長に、グルタミン酸神経伝達抑制作用はジスキネジアの抑制に寄与するものと考えられる。両作用を併せ持つサフィナミドには、パーキンソン病におけるレボドパによる治療効果持続時間を延長するとともに、ジスキネジアを軽減することが期待できるが、ジスキネジアの軽減については臨床試験で検証されていない。

パーキンソン病では黒質線条体ドパミン神経の変性により大脳基底核の神経回路に異常が生じ、グルタミン酸神経や GABA 神経の活動性が変化していると考えられている[13)]。視床下核から淡蒼球内節に投射するグルタミン酸神経はパーキンソン病で過剰に興奮していると考えられており、グルタミン酸神経伝達を抑制する薬剤のパーキンソン病治療薬としての開発が進められている。サフィナミドはこれらの脳部位において veratridine によるグルタミン酸放出を抑制することから、グルタミン酸神

経の過剰興奮を抑制することで、パーキンソン病の治療効果を発揮することが示唆される。さらに、薬物療法で改善が不十分な運動症状の日内変動とジスキネジアに対して脳深部刺激療法が用いられるが、ラットのパーキンソン病モデルではグルタミン酸含量の増加が視床下核の刺激により抑制されることから[14]、脳深部刺激療法の治療効果にグルタミン酸神経系が関与している可能性が考えられる。なお、国際パーキンソン病・運動障害学会（International Pakinson and Movement Disorder Society）による総説においてサフィナミドは「MAO-B 阻害+チャネル阻害薬」として分類され、運動症状の日内変動の治療に対して有効であるとされている[15]。

サフィナミドは、ドパミン D_2 受容体拮抗薬のピモジド、ムスカリン受容体作動薬のピロカルピン並びにアセチルコリンエステラーゼ阻害薬のガランタミンの 3 種類の薬物それぞれがラットに誘発する顎振戦を有意に抑制した。以上のことから、サフィナミドにはパーキンソン病に伴う振戦に対する有効性が期待される。

これらの結果から、サフィナミドは既存の MAO-B 阻害薬と異なり、選択的かつ可逆的な MAO-B 阻害作用とともに電位依存性ナトリウムチャネル阻害作用とグルタミン酸放出抑制作用を併せ持つ特徴を有することが示された。このような特徴から、サフィナミドは MAO-B 阻害作用によりレボドパによるパーキンソン病治療効果持続時間の延長に効果を示し、ナトリウムチャネル阻害作用を介したグルタミン酸放出抑制作用によりレボドパ療法に伴う wearing off 現象とジスキネジアを改善するものと考えられるが、ジスキネジアの改善については臨床試験で検証されていない。さらにサフィナミドには MAO-B 阻害作用、ナトリウムチャネル阻害作用及びグルタミン酸放出抑制作用による神経保護作用も期待される。

以上のことから、サフィナミドはパーキンソン病治療の新たな選択肢になりうるものと考えられる。

安全性薬理試験において、中枢神経系に対する作用として、マウスではサフィナミドとして 100～1000 mg/kg、ラットではサフィナミドメシル酸塩として 30～200 mg/kg の単回経口投与後に、一過性の鎮静が用量依存的に誘発された。この影響は、サフィナミドを 50 mg/kg 以上の用量で経口投与したサルの反復投与毒性試験においても認められたが、この用量はサル LID モデルにおける最小有効量（3 mg/kg）の 16 倍より高く、有効用量付近において鎮静はみられていない。一方、自発運動低下や運動失調等の神経系作用はサフィナミドの臨床推奨用量におけるヒトでの曝露量との比が小さいことからヒトでもみられる可能性が考えられたが、臨床試験において、ジスキネジアを除く神経系障害の有害事象はプラセボ群と比較して増加していないことから、これらの変化が臨床上問題となることはないと考えられた。

アカゲザルを用いたコカイン弁別試験において、サフィナミドは 1 mg/kg 以上の前処置によりコカインの弁別刺激の ED_{50} を低下させたが、各個体で影響がみられた用量は 1.0、3.2 又は 10 mg/kg（各個体の最高適用量）と個体差が大きく、1 時間後と 24 時間後で影響の有無や強弱にも一貫性はなかった。また、1 例では評価した中間用量である 3.2 mg/kg の前処置により ED_{50} の上昇がみられ、同一個体における反応にも一貫性がみられなかった。一方で、マウスを用いた自発運動量の評価において、サフィナミドの腹腔内投与はコカインのような自発運動の亢進を引き起こさず、コカインによる自発運動の亢進を 43.7 mg/kg の AD_{50} 値で抑制した。以上のように、サフィナミドはコカインの作用に対して明らかな増強効果を示さなかった。

心血管系に対する作用として、QT 間隔に関する評価では、hERG チャネル電流の阻害活性（IC_{50} 値=27 μM）が認められたが、ヒトに 100 mg/日を 7 日間反復投与した際の最高血漿中非結合型濃度（0.66 μM）との安全域は約 40 倍以上と推察された。In vitro 心血管系の試験では、APD 短縮、不応

期の短縮及び収縮力の低下が用量依存的にみられ、in vivo 試験では QT 間隔の短縮がみられた。これらの変化は、サフィナミドのナトリウムチャネル（Nav1.5）阻害作用（パッチクランプ法：phasic stimulation IC_{50}=34.1 μM）に起因する可能性が考えられた。In vivo 試験において Sarma 式で補正した QTc 間隔は短縮がみられたものの用量相関性はなく、Fridericia 式で補正した QTc 間隔の短縮は認められていない。また、覚醒ラット及びイヌを用いた試験において血圧及び心拍数に明らかな変化はみられず、心血管系に影響を及ぼす可能性は低いと考えられる。

麻酔下サルを用いた試験において、麻酔下の動物では血圧の低下が顕著にみられたが、ドブタミンによる回復がみられたことから、血圧低下は中枢神経を介する可能性が高く、交感神経性緊張への影響に起因するものと考えられた。麻酔下ではサフィナミドと麻酔の相乗作用又は麻酔による中枢神経系兆候のマスキング効果により血圧の低下が顕著にみられたと考えられる。一方、覚醒サルにおいては血圧低下はみられず、顕著な神経系作用を呈した後に死亡した。他の試験においても覚醒動物では血圧の低下が認められていないことから、サルを用いた毒性試験でみられた死亡は、心血管系に起因するものではなく中枢神経系症状に起因したものと考えられたが、忍容性のある用量範囲では血圧へ影響する可能性は低いと考えられる。

呼吸器系、腎臓系及び消化器系の機能に変化は認められなかった。また、サフィナミド、NW-1153、NW-1689、NW-1689AG 及び　類縁物質A*　が標的以外の受容体、イオンチャネル、トランスポーター及び酵素に作用して生体に重篤な影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。

＊新薬情報提供時に置き換えた。

2.6.2.7 参考文献一覧

1) 【4.3-12】Jenner P. Molecular mechanisms of L-DOPA-induced dyskinesia. Nat Rev Neurosci 2008;9(9):665-77.
2) 【5.4-11】「パーキンソン病診療ガイドライン」作成委員会編集. パーキンソン病診療ガイドライン 2018. 日本神経学会監修. 医学書院 2018
3) エフピー株式会社. エフピー®OD 錠 2.5. インタビューフォーム. 2016 年 2 月改定（改定第 8 版）
4) 【4.3-05】Youdim MB, Gross A, Finberg JP. Rasagiline [N-propargyl-1R(+)-aminoindan], a selective and potent inhibitor of mitochondrial monoamine oxidase B. Br J Pharmacol 2001;132(2):500-6.
5) エフピー株式会社. エフピー®OD 錠 2.5. 添付文書. 2015 年 12 月改定（改定第 9 版）
6) 【4.3-13】AZILECT Labeles for NDA 021641, 05/29/2014. Drugs@FDA: FDA Approved Drug Products URL：https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2014/021641s016s017lbl.pdf
7) 【4.3-08】Stocchi F, Torti M. Adjuvant therapies for Parkinson's disease: critical evaluation of safinamide. Drug Des Devel Ther 2016;5(10):609-18.
8) 【4.3-09】Teixeira FG, Gago MF, Marques P, Moreira PS, Magalhães R, Sousa N et al. Safinamide: a new hope for Parkinson's disease? Drug Discov Today 2018;23:736-44.
9) 【4.3-06】Fowler JS, Volkow ND, Logan J, Wang GJ, MacGregor RR, Schyler D et al. Slow recovery of human brain MAO B after L-deprenyl (Selegeline) withdrawal. Synapse 1994;18(2):86-93.
10) 【4.3-07】Freedman NM, Mishani E, Krausz Y, Weininger J, Lester H, Blaugrund E et al. In vivo measurement of brain monoamine oxidase B occupancy by rasagiline, using ^{11}C-L-deprenyl and PET. J Nucl Med 2005;46(10):1618-24.
11) アジレクト錠 0.5 mg、同錠 1 mg . 審査結果報告書. 医薬・生活衛生局医薬品審査管理課 2018
12) 【4.3-11】Teva Neuroscience. Azilect (Rasagiline Mesylate) Tablet . 審査資料 (NDA No.21-641)
13) 【4.3-10】小川 紀雄. パーキンソン病の病因と病態. 日内会誌 2003;92:1394-9.
14) 【4.3-14】Chassain C, Melon C, Salin P, Vitale F, Couraud S, Durif F et al. Metabolic, synaptic and behavioral impact of 5-week chronic deep brain stimulation in hemiparkinsonian rats. J Neurochem 2016;136(5):1004-16.
15) 【5.4-18】Fox SH, Katzenschlager R, Lim SY, Barton B, de Bie RMA, Seppi K et al. International Parkinson and movement disorder society evidence-based medicine review: Update on treatments for the motor symptoms of Parkinson's disease. Mov Disord 2018 Mar;23:https://doi.org10.1002/mds.27372. [Epub ahead of print].