レイボー錠 50mg
レイボー錠 100mg

2.6.1　緒言

日本イーライリリー株式会社

目次

2.6.1 緒言 1

2.6.1 緒言

第 2.2 項参照

レイボー錠 50mg
レイボー錠 100mg

2.6.2　薬理試験の概要文

日本イーライリリー株式会社

目次

2.6.2 薬理試験の概要文 1
2.6.2.1 まとめ 1
2.6.2.2 効力を裏付ける試験 3
2.6.2.2.1 In vitro 薬効薬理試験 3
2.6.2.2.1.1 5-HT$_{1F}$ 受容体に対する作用 3
2.6.2.2.1.1.1 ヒト 5-HT$_{1F}$ 受容体への結合能及び選択性 3
2.6.2.2.1.1.2 マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒト 5-HT$_{1F}$ 受容体への結合能及び選択性 4
2.6.2.2.1.1.3 ヒト 5-HT$_{1F}$ 受容体への作動活性及び選択性 5
2.6.2.2.1.2 ラスミジタン代謝物の薬理活性 6
2.6.2.2.1.2.1 ラスミジタン代謝物のヒト 5-HT$_{1F}$ 受容体への結合能 6
2.6.2.2.1.2.2 ラスミジタン代謝物のマウス、ラット、ウサギ、イヌ 5-HT 受容体への結合能 7
2.6.2.2.2 Ex vivo 及び in vivo 薬効薬理試験 7
2.6.2.2.2.1 三叉神経活性化が関与する生化学モデルにおける作用 7
2.6.2.2.2.1.1 ラット硬膜の三叉神経刺激誘発血漿タンパク血管外漏出に対する阻害作用 7
2.6.2.2.2.1.2 ラット三叉神経尾側核及び膠様質における三叉神経刺激誘発 c-Fos 発現に対する阻害作用 10
2.6.2.2.2.1.3 ラット硬膜血管侵害刺激による三叉神経頸髄複合体活性化に対する阻害作用 12
2.6.2.2.2.2 三叉神経血管活性化及び CGRP 放出が関与する生化学モデルにおける作用 14
2.6.2.2.2.2.1 マウス三叉神経系からの CGRP 放出に対する阻害作用（ex vivo 試験） 14
2.6.2.2.2.2.2 電気刺激、カプサイシン又は CGRP で誘発された硬膜動脈の血管拡張に対する阻害作用 15
2.6.2.3 副次的薬理試験 18
2.6.2.3.1 受容体、チャネル及びトランスポーターに対するラスミジタン及び代謝物の作用 18
2.6.2.3.1.1 放射性リガンド結合アッセイ及び摘出組織標本を用いた検討 18
2.6.2.3.1.2 GABA$_A$ α サブユニットに対するラスミジタン及び代謝物の薬理活性 21
2.6.2.3.1.3 CB1 及び CB2 受容体に対するラスミジタン及び代謝物の結合能 22
2.6.2.3.1.4 ドパミントランスポーターに対するラスミジタン及び代謝物の結合能 23
2.6.2.3.2 非標的器官（血管）に対する作用 23
2.6.2.3.2.1 ウサギ伏在静脈に対する作用 23
2.6.2.3.2.2 ヒト内胸動脈に対する作用 24
2.6.2.3.2.3 ヒト冠動脈に対する作用 27
2.6.2.3.2.4 ヒト中硬膜動脈に対する作用 28
2.6.2.3.2.5 麻酔ビーグル犬の冠動脈径及び頸動脈径に対する作用 30
2.6.2.3.3 アロディニア誘発作用 31
2.6.2.4 安全性薬理試験 33
2.6.2.4.1 心血管系 34
2.6.2.4.1.1 In vitro hERG 試験 34
2.6.2.4.1.2 イヌを用いた in vivo 単回投与心血管系試験 34
2.6.2.4.2 中枢神経系 34

2.6.2.4.3 呼吸系 35
2.6.2.4.4 腎臓系 35
2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用 36
2.6.2.6 考察及び結論 36
2.6.2.6.1 薬効薬理試験 36
2.6.2.6.2 副次的薬理試験 36
2.6.2.6.3 安全性薬理試験 37
2.6.2.6.4 結論 39
2.6.2.7 図表 39
2.6.2.8 参考文献 39

2.6.2 薬理試験の概要文

2.6.2.1 まとめ

現在、片頭痛の急性期治療にはトリプタン系薬剤が汎用されている。従来、片頭痛は頭蓋内血管の拡張により生じ、トリプタン系薬剤は血管収縮作用により片頭痛に対する治療効果をもたらすと考えられてきた（Humphrey et al. 1990; Goadsby 2009; Mitsikostas and Tfelt-Hansen 2012）。しかしながら、トリプタン系薬剤は、血管平滑筋の 5-ヒドロキシトリプタミン（5-HT）$_{1B}$受容体への作用を介して血管収縮作用を示す（Neeb et al. 2010; Nilsson et al. 1999）ため、心臓又は末梢血管に重篤な有害事象を引き起こす懸念がある。

近年、片頭痛の病態に関する研究が進み、神経因性仮説が提唱されている。この仮説では片頭痛の疼痛等の症状は三叉神経系等の脳内部位の活性化と関連しており、薬剤の有効性に血管収縮作用は必ずしも必要ではないとされている（Mitsikostas and Tfelt-Hansen 2012; Goadsby 2012）。この仮説に基づき、血管を収縮させずに片頭痛の症状を緩和する選択的 5-HT$_{1F}$ 作動薬の開発が行われた（Ramadan et al. 2003）。

ラスミジタン（LY573144 又は COL-144 とも表記）はヒト 5-HT$_{1F}$受容体に高い選択性を示す強力な作動薬であり、片頭痛発作の急性期治療に用いる新規治療薬として開発中である。本項では、ラスミジタン及びその代謝物に関して実施した、一連の薬理試験の結果を詳述する。

効力を裏付ける試験で得られた主な成績を以下に示す。

- ラスミジタンは、ヒト 5-HT$_{1F}$受容体に強力に結合し、その他の 5-HT 受容体サブタイプへの結合と比較してヒト 5-HT$_{1F}$受容体に高い選択性を示した（報告書 CNS571 及び CLP-005c）。
- ラスミジタンは、マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒトの 5-HT$_{1F}$ 受容体に強力に結合し、その他の 5-HT 受容体サブタイプへの結合と比較して 5-HT$_{1F}$ 受容体に高い選択性を示した（報告書 CLP-002e-HTR）。
- ラスミジタンは、ヒト 5-HT$_{1F}$受容体に強力な作動活性を示し、その他の 5-HT 受容体サブタイプへの作用と比較してヒト 5-HT$_{1F}$ 受容体に高い選択性を示した（報告書 CNS558 及び CLP-005c）。
- 結合試験において、ラスミジタンの代謝物はヒト 5-HT$_{1F}$及びその他の 5-HT 受容体サブタイプに薬理活性を示さなかった（報告書 PM73）。
- マウス、ラット、ウサギ及びイヌの 5-HT$_{1F}$及びその他全ての 5-HT 受容体サブタイプに対するラスミジタンの代謝物の結合は、やや弱いもしくは全く認められなかった（報告書 CLP-002e-HTR）。
- ラスミジタンは、ラットにおいて、三叉神経刺激による硬膜での血漿タンパク血管外漏出を阻害した（報告書 CNS574 及び NS22）。
- ラスミジタンは、ラットにおいて、三叉神経刺激による三叉神経尾側核での c-Fos 発現を阻害した（報告書 CNS549）。
- ラスミジタンは、ラットにおいて、三叉神経血管侵害受容を阻害した（報告書 [redacted]-TCC）。
- ラスミジタンは、マウスにおいて、刺激による三叉神経節、硬膜及び三叉神経尾側核からのカルシトニン遺伝子関連ペプチド（calcitonin gene-related peptide：CGRP）の放出を阻害した（報告書 NS23-[redacted]2）。

- ラスミジタンは、電気刺激及びカプサイシンにより誘発された硬膜動脈の血管拡張を阻害したが、外因性 CGRP により誘発された硬膜動脈の血管拡張は阻害しなかった（報告書 NS23-[redacted]2）。

副次的薬理試験で得られた主な成績を以下に示す。

- 放射性リガンド結合試験において、ラスミジタン及び代謝物は、γ-aminobutyric acid（GABA）$_A$ 受容体ベンゾジアゼピン結合部位を除き、一連の神経伝達物質関連受容体、イオンチャネル、セカンドメッセンジャー、並びに脳／腸ペプチドに対して結合しなかった（報告書 PR0206、TO-01-7796、1120682、1120681 及び 1120683）。
- ラスミジタン及びその代謝物は、$GABA_A$ サブユニットの種々のアイソフォームに対して作動作用、拮抗作用及びポジティブアロステリックモジュレート（PAM）作用を示さなかった（報告書 100304.DME 及び 160217.DME）。
- ラスミジタン及びその代謝物は、ヒト及びラットカンナビノイド（CB）1 及び CB2 受容体に結合しなかった（報告書 CLP-002e-CBR）。
- ラスミジタン及びその代謝物は、ヒトドパミントランスポーターに結合しなかった（報告書 VDD4179-2016）。
- ラスミジタンはウサギ伏在静脈の収縮を誘発しなかった（報告書 CNS568）。
- ラスミジタンはヒト内胸動脈の収縮を誘発しなかった（報告書 [redacted]1）。
- ラスミジタンはヒト冠動脈の近位部又は遠位部の収縮を誘発しなかった（報告書 [redacted]1）。
- ラスミジタンはヒト中硬膜動脈の収縮を誘発しなかった（報告書 [redacted]1）。
- ラスミジタンは、麻酔ビーグル犬において、冠動脈径及び頚動脈径を変化させなかった（報告書 [redacted]-794-1503）。
- ラスミジタンをラットに反復投与したところ、頭部及び後足に一過性のアロディニアが誘発され、これはストレス及び一酸化窒素（NO）供与体により再発した（報告書 NS-32-[redacted]）。

安全性薬理試験で得られた主な成績を以下に示す。

- ラスミジタンのヒト ether-à-go-go 関連遺伝子（hERG）チャネル電流阻害作用を in vitro で評価した結果、その 50%阻害濃度（IC_{50} 値）は 3.1 μM（= 1170 ng/mL）であった。代謝物(S,S)-M18、M7、M8 及び(S,R)-M18 の hERG チャネル電流阻害作用はラスミジタンよりも弱かった（報告書 LLY01_21、100127.DME、090731.DME）。
- イヌを用いた静脈内投与による心血管系安全性薬理試験において、心拍数のごく軽度な増加が投与後 20～120 分に認められたが、血圧、心電図及び左室変力作用に対するラスミジタンの影響は認められなかったことから、本試験の無毒性量（NOAEL）は最高用量の 6 mg/kg と判断した（報告書 DV0302）。
- マウスを用いた静脈内投与による中枢神経系（CNS）安全性薬理試験では、12 mg/kg 群で CNS に関連する一般状態の変化が認められ、低用量から聴覚刺激に対する感覚運動反応が有意に増加した。聴覚刺激に対する感受性に関する無影響量（NOEL）は 0.1 mg/kg 未満であり、その他の CNS 及び行動評価に関する NOEL は最高用量の 4 mg/kg であった（報告書 PN0216 and PN0217）。

- ラットを用いた静脈内投与による呼吸系安全性薬理試験において、呼吸機能に対するラスミジタン投与の影響は認められず、NOEL は最高用量の 12 mg/kg であった（報告書 MN103025）。
- ラットを用いた静脈内投与による腎臓系の安全性薬理試験において、尿 pH の増加、尿中溶質排泄の増加及び希釈尿産生などラスミジタン投与による軽度の変化が全ての用量で認められたが、腎機能への有害な影響は認められず、NOEL は 1 mg/kg 未満、NOAEL は最高用量の 12 mg/kg 以上であった（報告書 R04902）。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

効力を裏付ける試験には、市販予定製剤に含有されるヘミコハク酸塩の他、塩酸塩又は遊離塩基のラスミジタンを用いた。In vivo 試験での用量は遊離塩基として表示した（塩酸塩を用いた試験では塩として表示）。

2.6.2.2.1 In vitro 薬効薬理試験

2.6.2.2.1.1 5-HT_{1F} 受容体に対する作用

2.6.2.2.1.1.1 ヒト 5-HT_{1F} 受容体への結合能及び選択性

報告書 CNS571 (4.2.1.1.1), CLP-005c (4.2.1.1.2)

ラスミジタンのヒト 5-HT_{1F} 受容体に対する結合能及び選択性を評価するため、ヒトクローン化 5-HT 受容体を用いて in vitro 放射性リガンド結合アッセイを実施した（報告書 CNS571）。その結果、ラスミジタン（遊離塩基又は塩酸塩）は 5-HT_{1F} 受容体に高い親和性を示し〔阻害定数（K_i）値＝2.22 ± 0.23 nM〕、検討した他の受容体との選択性は250倍以上であった(表 2.6.2-1）。

表 2.6.2-1 ヒト 5-HT 受容体に対するラスミジタンの結合親和性

受容体サブタイプ	標識リガンド	K_i 値 [a]
5-HT_{1A}	[^{3}H] 8-OH-DPAT	1055 ± 135 nM (8)
5-HT_{1B}	[^{3}H] 5-HT	982 ± 161 nM (6)
5-HT_{1D}	[^{3}H] 5-HT	1357 ± 157 nM (8)
5-HT_{1E}	[^{3}H] 5-HT	595 ± 59 nM (6)
5-HT_{1F}	[^{3}H] 5-HT	2.22 ± 0.23nM (8)
5-HT_{2A}	[^{125}I] DOI	>5.9 μM (6)
5-HT_{2B}	[^{3}H] 5-HT	>1.9 μM (6)
5-HT_{2C}	[^{125}I] DOI	>3 μM(6)
5-HT_6	[^{3}H] LSD	>3.9 μM (6)
5-HT_7	[^{3}H] 5-HT	>3 μM (6)

略語：5-HT＝5-ヒドロキシトリプタミン（セロトニン）、8-OH-DPAT＝8-ヒドロキシ-2-（ジ-n-プロピルアミノ）テトラリン、DOI＝1-（2,5-ジメトキシ-4-ヨードフェニル）-2-アミノプロパン、LSD＝リゼルグ酸ジエチルアミド、K_i＝阻害定数。
注：遊離塩基であるラスミジタン（LY573144）及びその塩酸塩（LSN587815）の両方を用いて評価した。
[a] K_i 値は括弧内に記載した数の独立した実験の平均値 ± 標準誤差で示す。

別の放射性リガンド結合試験により、ラスミジタンのヒト 5-HT_{1F} 受容体に対する結合能及び選択性を他の 5-HT 作動薬及びトリプタン系片頭痛治療薬と比較した（報告書 CLP-005c）。その結果、先の試験結果（報告書 CNS571）と同じく、ラスミジタン（ヘミコハク酸塩）はヒト 5-HT_{1F}受容体に高い親和性で結合し、検討した他の 5-HT 受容体サブタイプと比較して 5-HT_{1F}受容体に高い選択性を示すことが示された(表 2.6.2-2）。また、ラスミジタンは、他のいずれのトリ

プタン系薬剤とも異なり、5-HT_{1B} 受容体と比較して 5-HT_{1F} 受容体に高い選択性を示すことも明らかになった。5-HT_{1B} 受容体はトリプタン系薬剤の血管収縮特性と関連している。

表 2.6.2-2 ヒト 5-HT 受容体に対するラスミジタン及び他の 5-HT 作動薬の結合親和性

［K_i 値（nM）］

化合物	5-HT 受容体サブタイプ							
	1A	**1B**	**1D**	**1E**	**1F**	**2A**	**2B**	**7**
5-HT	0.076	0.53	0.30	6.64	11.0	87.5	13.7	0.45
5-CT	0.030	0.24	0.074	5004	763	660	125	0.18
エルゴタミン	0.20	0.45	0.49	412	73.4	7.22	11.4	59.4
スマトリプタン	72.9	5.13	1.00	1898	28.5	>3000	>5000	639
ゾルミトリプタン	16.4	0.47	0.11	15.5	28.1	>3000	34629	86.5
ナラトリプタン	15.0	0.60	0.50	7.35	1.79	>3000	8295	1162
リザトリプタン	47.4	10.3	1.47	167	152	>3000	3078	>10000
Almotriptan	184	3.56	5.55	>5000	26.7	>3000	10789	350
エレトリプタン	1.95	0.53	0.10	61.3	16.9	1155	446	199
Frovatriptan	45.8	2.69	1.65	6568	120	>3000	>5000	106
Donitriptan	11.68	0.17	0.14	1684	6639	446	806	617
Avitriptan	19.33	1.60	0.78	3517	78.3	2344	1145	753
ラスミジタン	228	1463	555	366	1.85	>30000	5977	17322
Alniditan	0.48	0.39	0.45	528	366	3741	133	55.5

略語：5-HT = 5-ヒドロキシトリプタミン（セロトニン）、5-CT = 5-カルボキサミドトリプタミン、K_i = 阻害定数。
注：ラスミジタン（ヘミコハク酸塩）を用いて評価した。灰色は作用標的である 5-HT_{1F} 受容体及びラスミジタンの値を示す。
値は 1 回の実験（duplicate）で得られた K_i 値を示す。

2.6.2.2.1.1.2 マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒト 5-HT_{1F} 受容体への結合能及び選択性

報告書 CLP-002e-HTR (4.2.1.1.3)

遺伝子組換えマウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒトの 5-HT_{1A}、5-HT_{1B}、5-HT_{1D}、5-HT_{1E}、5-HT_{1F} 及び 5-HT_{2A} 受容体に対するラスミジタンの結合能を放射性リガンド結合試験で評価し、結合能及び選択性の種差の有無を検討した（報告書 CLP-002e-HTR）。本試験に用いた方法は、上述の試験（報告書 CLP-005c）で用いた方法と基本的に同一であり、用いた細胞株が遺伝子組換え 5-HT 受容体を安定的に発現する（報告書 CLP-002e-HTR）か、又は一過性に発現する（報告書 CLP-005c）かという点のみが相違していた。ラット及びマウスにはヒト 5-HT_{1E} 受容体に相当する受容体が存在しないため、評価しなかった。その結果、ラスミジタン（ヘミコハク酸塩）はマウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒトの 5-HT_{1F} 受容体に高い親和性で結合し、評価した他の 5-HT 受容体と比較して 5-HT_{1F} に高い選択性を示した（表 2.6.2-3）。以上のことから、ラスミジタンの非臨床試験にこれらの動物を使用することの妥当性が確認された。

表 2.6.2-3 マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒト 5-HT 受容体に対するラスミジタンの結合能

		IC_{50} 値 (nM)					
動物種	受容体	5-HT_{1A}	5-HT_{1B}	5-HT_{1D}	5-HT_{1E}	5-HT_{1F}	5-HT_{2A}
マウス		1803	>100000	>100000	評価せず	1.29	>100000
ラット		1332	>100000	>10000	評価せず	3.32	>100000
ウサギ		>4000	>8000	1969	893	1.57	>100000
イヌ		>3000	>9000	1286	706	13.3	>100000
ヒト		737	>4000	>2000	731	4.87	>100000

略語：5-HT = 5-ヒドロキシトリプタミン（セロトニン）、IC_{50} = 50%阻害濃度。
注：ラスミジタン（ヘミコハク酸塩）を用いて評価した。値は 1 回の実験（duplicate）で得られた IC_{50} 値を示す。

2.6.2.2.1.1.3 ヒト 5-HT_{1F} 受容体への作動活性及び選択性

報告書 CNS558 (4.2.1.1.4), CLP-005c (4.2.1.1.2)

G タンパク質共役受容体である 5-HT_1 受容体に対する被験薬の機能活性（作動作用又は拮抗作用）は、グアノシン三リン酸（GTP）アナログである [^{35}S] GTPγS の細胞膜上 G タンパク質への結合に及ぼす被験薬の影響を測定することにより、評価可能である。同法（ [^{35}S] GTPγS 結合法）を用いて、ヒトクローン化 5-HT_{1A}、5-HT_{1B}、5-HT_{1D}、5-HT_{1E} 又は 5-HT_{1F} 受容体に対するラスミジタンの機能活性［最大反応の 50%を生じる濃度（EC_{50} 値）及び最大反応を 5-HT の反応と比較した際の百分率（E_{max} 値）］を評価した（報告書 CNS558）。その結果、ラスミジタン（塩酸塩）は 5-HT_{1F} の強力な作動薬であることが明らかとなった（表 2.6.2-4）。検討した他の 5-HT 受容体に対する EC_{50} 値を正確に求めることは出来なかったが、EC_{50} 値は試験最高濃度の 10 μM を超えると考えられた。ラスミジタンは 5-HT_{1A} 受容体に対して作動活性をほとんど示さなかったため、その拮抗作用を評価したところ、10 μM までの濃度において、5-HT（300 nM）で刺激した [^{35}S] グアノシン-5'-O-(3-チオ三リン酸)（GTPγS）結合を阻害しなかった（4 回実施、データ示さず）。

表 2.6.2-4 ヒト 5-HT_1 受容体に対するラスミジタンの作動活性（ [^{35}S] GTPγS 結合法）

	5-HT_{1A}		5-HT_{1B}		5-HT_{1D}		5-HT_{1E}		5-HT_{1F}	
	EC_{50} (nM)	E_{max} (%)	EC_{50} (nM)	E_{max} (%)	EC_{50} (nM)	E_{max} (%)	EC_{50} (nM)	E_{max} (%)	EC_{50} (nM)	E_{max} (%)
5-HT	72.4 ± 4.7 (n=12)	102 ± 0.5 (n=12)	18.2 ± 0.9 (n=7)	100 ± 1.0 (n=7)	2.63 ± 0.37 (n=6)	102 ± 2 (n=6)	26.4 ± 1.8 (n=7)	102 ± 1 (n=7)	167 ± 8 (n=15)	101 ± 1 (n=15)
ラスミジタン	ND (n=12)	15.7 ± 1.4* (n=12)	ND (n=7)	49.0 ± 2.2* (n=7)	ND (n=7)	73.2 ± 4.6* (n=7)	ND (n=7)	54.6 ± 2.5* (n=7)	43.1 ± 2.6 (n=15)	80.9 ± 1.4* (n=15)

略語：5-HT = 5-ヒドロキシトリプタミン（セロトニン）、EC_{50} = 最大反応の 50%を生じる濃度、E_{max} = 被験薬の最大反応を 5-HT（10 μM）の反応と比較した際の百分率、ND = 試験最高濃度（10 μM）で濃度反応曲線が漸近線に達しなかったため、信頼性のある値が得られなかった。
注：ラスミジタン（塩酸塩）を用いて評価した。
* 10 μM のラスミジタンで得られた最大反応にベースラインとの統計学的有意差（p<0.0001、t 検定）があることを示す。データは平均値 ± 標準誤差で示す。括弧内の数値は各々の測定回数を示す。

環状アデノシン一リン酸（cyclic adenosine monophosphate：cAMP）生成阻害試験により、ラスミジタンのヒトクローン化 5-HT_{1A}、5-HT_{1B}、5-HT_{1E} 又は 5-HT_{1F} 受容体に対する作動作用を他の 5-HT 作動薬及びトリプタン系薬剤と比較した（報告書 CLP-005c）。

5-HT_1 受容体が活性化されると、G_i タンパク質を介してアデニル酸シクラーゼが阻害される。フォルスコリン刺激による細胞内 cAMP 濃度上昇に対する抑制を指標に被験薬の 5-HT_1 受容体に

対する作動作用を定量化した。その結果、ラスミジタン（ヘミコハク酸塩）は 5-HT_{1F} の強力な作動薬であることが示された（表 2.6.2-5）。また、ラスミジタンは 10 μM までの濃度で 5-HT_{1A} 及び 5-HT_{1B} のいずれに対しても検出可能な作動活性を示さなかった。このように、ラスミジタンは血管収縮に寄与すると考えられる 5-HT_{1B}受容体よりも 5-HT_{1F}受容体に 2600 倍を超える選択性を示した。一方、トリプタン系片頭痛治療薬は、5-HT_{1B} 受容体に対する E_{max} 値がいずれも 85 %より大きく（avitriptan を除く）、5-HT_{1B} 受容体に強力な作動作用又は部分作動作用を示すと考えられた。

表 2.6.2-5 ヒト 5-HT_1 受容体に対するラスミジタンの作動活性（cAMP 生成阻害試験）

	5-HT_{1A}		5-HT_{1B}		5-HT_{1E}		5-HT_{1F}	
	EC_{50} (nM)	E_{max} (%)	EC_{50} (nM)	E_{max} (%)	EC_{50} (nM)	E_{max} (%)	EC_{50} (nM)	E_{max} (%)
5-HT	42.2	111.72	4.89	91.93	2.46	114.47	3.29	96.88
ラスミジタン	>10000	---	>10000	---	681	72.74	3.74	92.95
エルゴタミン	0.17	121.26	0.12	85.23	1133	73.53	1075	99.14
スマトリプタン	>10000	----	47.6	89.04	1025	103.56	9.28	68.74
ゾルミトリプタン	>10000	----	13.6	88.72	6.68	132.09	10.0	71.95
ナラトリプタン	>10000	----	8.95	96.94	17.8	101.51	4.15	87.18
リザトリプタン	>10000	----	83.0	97.30	45.7	102.19	287	104.64
Almotriptan	>100000	----	83.2	86.39	>10000	----	16.2	76.09
エレトリプタン	1806	73.86	10.0	89.61	29.8	89.87	7.41	54.94
Frovatriptan	>10000	----	10.4	106.99	9116	137.86	79.4	88.16
Donitriptan	1140	96.03	0.11	89.72	16929	83.11	>10000	----
Avitriptan	>10000	----	2.69	77.41	3029	74.65	82.0	86.07

略語：5-HT = 5-ヒドロキシトリプタミン（セロトニン）、EC_{50} = 最大反応の 50%を生じる濃度、E_{max} = 被験薬の最大反応を 5-HT 又は 5-CT（10 μM）の反応と比較した際の百分率。
注：ラスミジタン（ヘミコハク酸塩）を用いて評価した。試験最高濃度より EC_{50} 値が大きかった化合物については E_{max} 値を算出しなかった。値は 1 回の実験（duplicate）から得た。

2.6.2.2.1.2 ラスミジタン代謝物の薬理活性

2.6.2.2.1.2.1 ラスミジタン代謝物のヒト 5-HT_{1F} 受容体への結合能

報告書 PM73 (4.2.1.1.5)

ラスミジタンのヒト主要代謝物（M7、M8 及び M18；CTD 第 2.7.2.3.1.4 項参照）がヒトクローン化 5-HT 受容体に結合するか否かを in vitro 放射性リガンド結合アッセイで評価した（報告書 PM73）。その結果、評価した代謝物の 5-HT 受容体に対する K_i 値はいずれも 1506 nM よりも大きく（表 2.6.2-6）、臨床用量においていずれの代謝物も薬理活性を示さないことが示唆された。

表 2.6.2-6 ヒト 5-HT 受容体に対するラスミジタン主要代謝物の結合親和性［ K_i 値（nM）］

	5-HT 受容体サブタイプ									
	1A	1B	1D	1E	1F	2A	2B	2C	6	7
M7	>5687	>4247	>7023	>5513	>8280	>5000	>18321	>5652	>5830	>3338
M8	>2150	>1506	>2897	>3049	1753	>9459	>3359	2893	>3957	>3150
(S,S)-M18	>6939	>4911	>5500	>5655	>8043	>5000	22958	>5652	>5830	>2701
(S,R)-M18	>5687	>4246	>7023	>5513	>8280	>5000	>18321	>5652	5421	>3338

略語：5-HT = 5-ヒドロキシトリプタミン（セロトニン）、K_i = 阻害定数。
注：灰色は作用標的である 5-HT_{1F} 受容体を示す。不等号「>」は記載の濃度で得られた阻害率が 50%より小さいことを示す。
K_i 値は 2～3 回測定により得られた平均値で示す。

2.6.2.2.1.2.2 ラスミジタン代謝物のマウス、ラット、ウサギ、イヌ 5-HT 受容体への結合能

報告書 CLP-002e-HTR（4.2.1.1.3）

遺伝子組換えマウス、ラット、ウサギ及びイヌの 5-HT_{1A}、5-HT_{1B}、5-HT_{1D}、5-HT_{1E}、5-HT_{1F} 及び 5-HT_{2A} 受容体に対するラスミジタン代謝物の結合能を放射性リガンド結合試験で評価し、結合能及び選択性の種差の有無を検討した（報告書 CLP-002e-HTR）。その結果、いずれの代謝物も 5-HT 受容体への高い親和性は示さず（表 2.6.2-7）、種差は認められなかった。

表 2.6.2-7 ラスミジタン代謝物のマウス、ラット、ウサギ及びイヌ 5-HT 受容体への結合親和性

	IC_{50} (nM)			
受容体	**M3**	**M7**	**M8**	**(S,R)-M18**
マウス 5-HT_{1F}	586	>100000	461	>100000
ラット 5-HT_{1F}	1787	>100000	1620	>100000
ウサギ 5-HT_{1F}	634	>100000	308	>100000
イヌ 5-HT_{1F}	>6000	>100000	1390	>100000
マウス 5-HT_{1A}	>100000	>100000	>100000	>100000
ラット 5-HT_{1A}	>100000	>100000	>100000	>100000
ウサギ 5-HT_{1A}	>100000	>100000	>100000	>100000
イヌ 5-HT_{1A}	>100000	>100000	>100000	>100000
マウス 5-HT_{1B}	>100000	>100000	>100000	>100000
ラット 5-HT_{1B}	>100000	>100000	>100000	>100000
ウサギ 5-HT_{1B}	>100000	>100000	>100000	>100000
イヌ 5-HT_{1B}	>100000	>100000	>100000	>100000
マウス 5-HT_{1D}	>100000	>100000	>100000	>100000
ラット 5-HT_{1D}	>100000	>100000	>100000	>100000
ウサギ 5-HT_{1D}	>100000	>100000	>100000	>100000
イヌ 5-HT_{1D}	>100000	>100000	>100000	>100000
ウサギ 5-HT_{1E}	>100000	>100000	>100000	>100000
イヌ 5-HT_{1E}	>100000	>100000	>100000	>100000
マウス 5-HT_{2A}	>100000	>100000	>100000	>100000
ラット 5-HT_{2A}	>100000	>100000	>100000	>100000
ウサギ 5-HT_{2A}	>100000	>100000	>100000	>100000
イヌ 5-HT_{2A}	>100000	>100000	>100000	>100000

略語：5-HT = 5-ヒドロキシトリプタミン（セロトニン）、IC_{50} = 50%阻害濃度。
注：「>」で示す値は、濃度反応曲線が得られていないか、又は試験最高濃度での阻害能が低かったため、近似値である。値は 1 回の実験内での 2 回測定により得た。

2.6.2.2.2 Ex vivo 及び in vivo 薬効薬理試験

2.6.2.2.2.1 三叉神経活性化が関与する生化学モデルにおける作用

2.6.2.2.2.1.1 ラット硬膜の三叉神経刺激誘発血漿タンパク血管外漏出に対する阻害作用

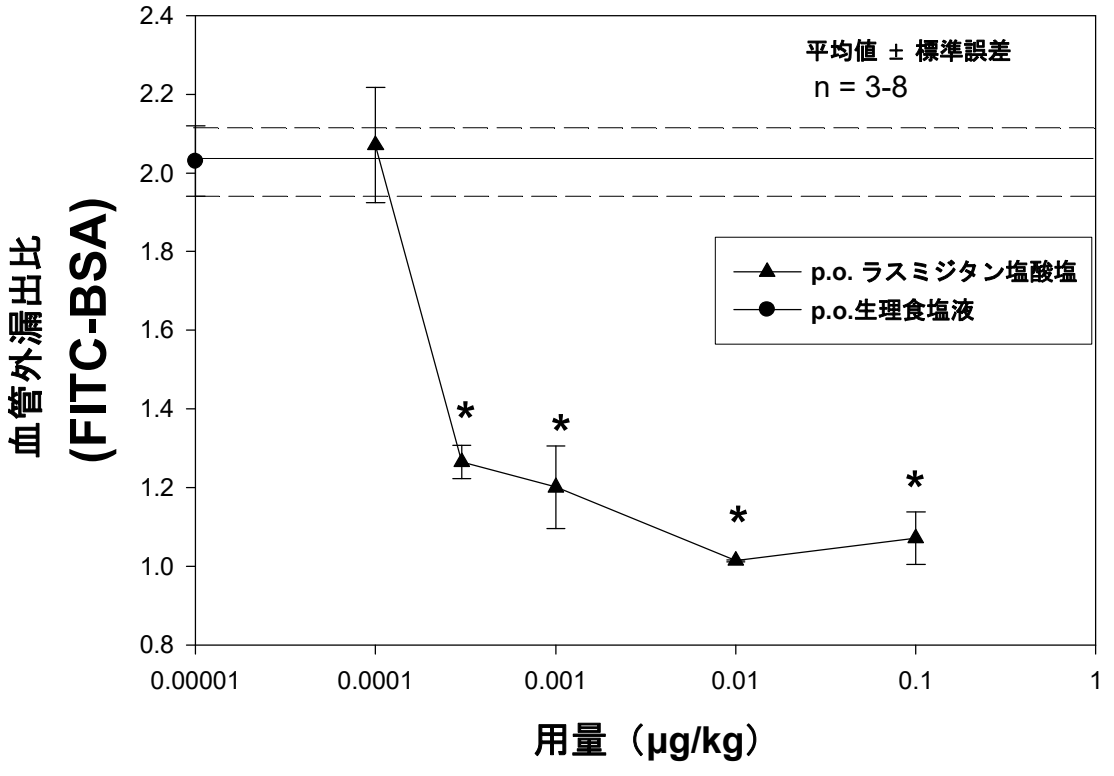
報告書 CNS574 (4.2.1.1.6), NS22 (4.2.1.1.7)

片頭痛は、硬膜における三叉神経血管の活性化、神経性炎症、並びに三叉神経系の活性化が関与する疼痛病態と考えられている。神経性炎症と関連性のある血漿タンパク血管外漏出は、ラットの硬膜で三叉神経節を電気刺激することにより誘導することが可能である。この血漿タンパク血管外漏出に対するラスミジタンの阻害作用を 2 つの試験で評価した。

ラスミジタン（塩酸塩として投与、用量は塩として表示）を雄 Wistar ラットに種々の用量で経口投与した。ペントバルビタールで麻酔し脳定位固定装置に固定した後に、三叉神経節内に刺激

電極を外科移植した（報告書 CNS574）。血漿タンパク血管外漏出のマーカーとして、フルオレセインイソチオシアネート標識ウシ血清アルブミン（fluorescein isothiocyanate-labeled bovine serum albumin：FITC-BSA）を用いた。FITC-BSA は 20 mg/kg の用量で電気刺激の 2 分前に静脈内に注入した。ラスミジタンの投与 1 時間後、左三叉神経節を電流強度 1.0 mA（5 Hz、パルス持続時間 4 msec）で 3 分間刺激し、その 15 分後にラットを失血により安楽死させた。両半球から硬膜組織を採取し、各組織において FITC-BSA の血管外漏出による蛍光量を分光光度法で測定した。血管外漏出は刺激した三叉神経節と同側に生じるため、刺激していない対側の硬膜を対照として使用した。各動物で血管外漏出比（非刺激側に対する刺激側の硬膜における血管外漏出量の比）を算出した。溶媒又は非薬効用量を投与した際の血管外漏出比は約 2.0、陽性対照薬を薬効用量で投与した際の血管外漏出比は約 1 であった。生理食塩液対照群との比較による統計解析を分散分析（analysis of variance：ANOVA）及び Student t 検定を用いて実施した。

その結果、ラスミジタンの経口投与 1 時間後、血漿タンパク血管外漏出が阻害され（図 2.6.2-1）、漏出を 100%阻害する用量（ID_{100} 値）は約 0.01 μg/kg であった。また、投与 24 時間後に評価した際も抑制作用が継続してみられたことから、げっ歯類における作用は長時間持続することが示唆された（報告書 CNS574 の図 3）。

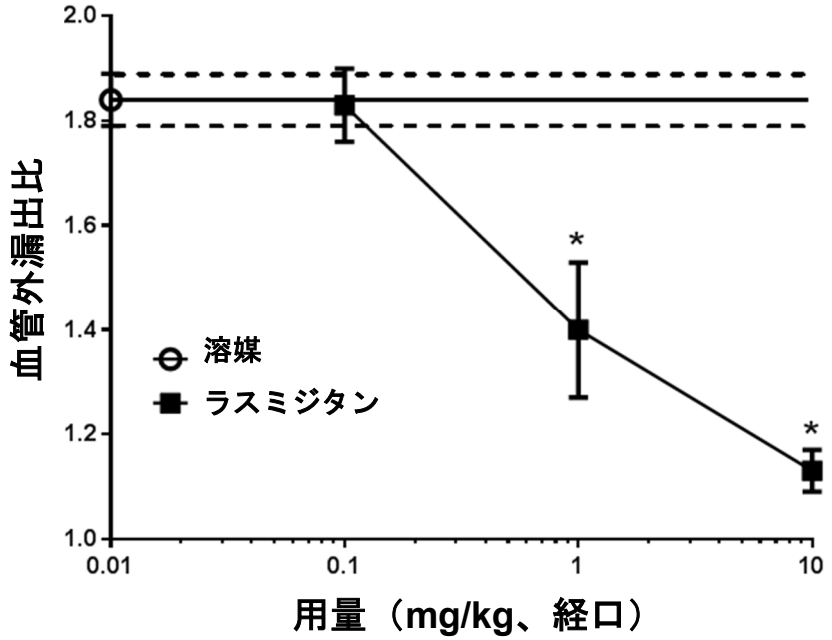


略語：p.o. = 経口
生理食塩液を前投与した際の血管外漏出比は約 2.0 であり、血管外漏出比 1 は血管外漏出が完全に阻害されたことを示す。生理食塩液対照群との比較による統計解析を ANOVA 及び Student t 検定を用いて実施した（*p<0.05）。

図 2.6.2-1. ラット硬膜における三叉神経刺激誘発血漿タンパク血管外漏出に対するラスミジタンの阻害作用

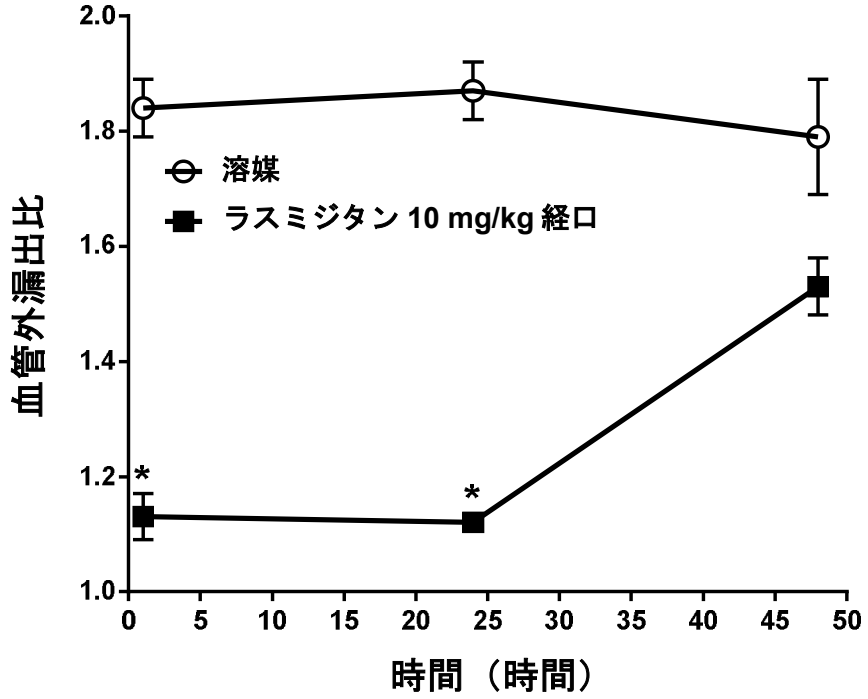
2つ目の試験（報告書NS22）では、既存の片頭痛治療薬の本モデルでの有効曝露量が臨床での有効曝露量とより相関するように試験条件（刺激頻度、刺激期間、待機時間及びラットの系統）を変更し、被験薬に対する感受性を低下させた。ラスミジタン（ヘミコハク酸塩として投与、用量は遊離塩基として表示）を雄 Sprague Dawley ラットに種々の用量で経口投与した。ペントバルビタールで麻酔し脳定位固定装置に固定した後に、三叉神経節内に刺激電極を外科移植した。FITC-BSA を 20 mg/kg の用量で電気刺激の 2 分前に静脈内に注入した。左三叉神経節を電流強度 1.0 mA（5 Hz、パルス持続時間 5 msec）で 5 分間刺激し、その 5 分後にラットを失血死させた。両半球から硬膜組織を採取し、各組織において FITC-BSA の血管外漏出による蛍光量を分光光度法で測定した。陰性対照を投与した際の血管外漏出比は約 1.8 であった。ラスミジタン投与 1 時間後での用量反応データを一元配置 ANOVA 後 Dunnett 検定で解析し、統計学的有意性（有意水準 0.05）を評価した。また、作用持続性の検討では、時点ごとに被験薬群と溶媒対照群の値を Student t 検定（有意水準 0.05）で比較した。

その結果、ラスミジタンの経口投与 1 時間後、硬膜での血漿タンパク血管外漏出が用量依存的に阻害された。0.1 mg/kg では作用はみられなかったが、1 及び 10 mg/kg の用量では溶媒対照群との比較で統計学的有意性が認められた（図 2.6.2-2）。この抑制作用の持続性を評価するため、ラスミジタン（10 mg/kg）の単回経口投与 1、24 及び 48 時間後における硬膜での血漿タンパク血管外漏出に対する阻害作用を評価したところ、抑制作用は投与 1 時間後と 24 時間後で同等であったが、投与 48 時間後には減弱した（図 2.6.2-3）。このことから、本モデルにおいて、ラスミジタンの薬理作用は長時間持続することが示された。



ラスミジタンヘミコハク酸塩又は溶媒（水）を三叉神経節電気刺激の 1 時間前に強制経口投与した。データは血管外漏出比（刺激／非刺激）の平均値 ± 標準誤差で示す。*p<0.05（溶媒との比較、ANOVA 後 Dunnett 検定、n=4）。

図 2.6.2-2. ラット硬膜における三叉神経刺激誘発血漿タンパク血管外漏出に対するラスミジタンの阻害作用（用量依存性）



ラスミジタンヘミコハク酸塩又は溶媒（水）を三叉神経節電気刺激の 1、24 又は 48 時間前に強制経口投与した。データは血管外漏出比（刺激／非刺激）の平均値 ± 標準誤差で示す。*p<0.05（溶媒との比較、各時点において Student t 検定、n=4）。

図 2.6.2-3. ラット硬膜における三叉神経刺激誘発血漿タンパク血管外漏出に対するラスミジタンの阻害作用（作用持続性）

2.6.2.2.2.1.2 ラット三叉神経尾側核及び膠様質における三叉神経刺激誘発 c-Fos 発現に対する阻害作用

報告書 CNS549 (4.2.1.1.8)

片頭痛シグナルを中枢神経系に伝達する三叉神経求心路は双極性ニューロンであり、刺激を受けると中枢側及び末梢側の両神経終末から神経伝達物質を放出する。末梢側への投射は顔面や頭部の種々の部位（硬膜含む）を刺激する。中枢側への投射は脊髄膠様質の最吻側部及び脳幹尾側核で終結する。これらの部位は疼痛の中継点であることが知られており、神経伝達物質の放出による疼痛シグナルが「二次」ニューロンを活性化することにより、疼痛シグナルがより高次の中枢神経系に伝達される（Kaube et al. 1993）。ニューロンが強く活性化されると、がん原遺伝子や転写因子 c-fos を一過性に発現させる。通常、刺激後約 1 時間以内に c-fos の mRNA 発現がピークとなった後、刺激 1～4 時間後にそのタンパク発現がピークとなる（Nozaki et al. 1992）。この c-fos 発現は、シナプス性ニューロン活性化の指標として汎用されている。例えば、中枢神経系での片頭痛様疼痛伝達の指標として、三叉神経感覚ニューロンからの刺激を受けた細胞の c-fos 発現が評価されている（Nozaki et al. 1992; Kaube et al. 1993; Shepheard et al. 1995）。これらの試験において、硬膜の化学的もしくは電気刺激（Kaube et al. 1993）又は三叉神経の直接電気刺激（Shepheard et al. 1995）により三叉神経感覚ニューロンを活性化したところ、三叉神経感覚ニューロンが二次侵害受容ニューロンに神経伝達物質を放出してこれを活性化し、c-fos 遺伝子や Fos タンパク質の発現を上昇させた。三叉神経感覚ニューロンの神経終末からの神経伝達物質の放出を抑制する薬物は、二次侵害受容ニューロンにおける c-fos の発現上昇を抑制する。この評価法

を用いて、ラスミジタンが三叉神経感覚ニューロンの活性化を阻害し、三叉神経尾側核及び膠様質の二次侵害受容ニューロンの経シナプス性活性化を抑制するか否かを検討した。

絶食させた雄 Sprague Dawley ラットにラスミジタン塩酸塩（用量は塩として表示）、LY334370 フマル酸塩（用量は塩として表示）又は溶媒（水）を三叉神経電気刺激の 1 時間前に経口投与した。LY334370 フマル酸塩は、本モデルで過去に作用が認められた選択的 5-HT_{1F} 作動薬であり、陽性対照として用いた。刺激前に動物をペントバルビタールで麻酔し脳定位固定装置に固定した。左三叉神経節に挿入した刺激電極を介して電流強度 10 mA（5 Hz、パルス持続時間 4 msec）で 3 分間刺激した。動物を脳定位固定装置から取り出し、90 分間生存させた後、リン酸緩衝生理食塩液（phosphate buffered saline：PBS）に続いて 4%パラホルムアルデヒド PBS 溶液（pH 7.4）で経心腔的灌流固定を行った。各動物から脳幹及び頸髄を含む組織ブロックを摘出し、4%パラホルムアルデヒドで 2 時間固定した後、30%ショ糖溶液に 2 日間浸漬した。クリオスタットを用いて頸髄及び脳幹の冠状切片を作製し、フリーフローティング法を用いた標準的な手順で切片の Fos タンパク質を染色した。動物ごとに、頸髄又は尾側脳幹のおよそ 12 箇所の冠状断面を無作為に選択し、三叉神経刺激と同側及び対側の膠様質又は尾側核において、Fos タンパク質様免疫反応性を有する染色細胞数をコンピューター支援画像解析により盲検下で定量化した。

各動物で同側及び対側の各切片における平均細胞数を算出した。薬物の作用を検討するため、同側の Fos 陽性細胞数から対側（非刺激側）の Fos 陽性細胞数を減じ、刺激で誘導された 1 切片あたりの平均細胞数を算出した。動物を各投与群に分け、一元配置 ANOVA 後 Tukey-Kramer 検定を用いて比較した。全ての比較において有意水準 0.05 を使用した。明らかなはずれ値があった場合は、ジャックナイフ法によるマハラノビス距離のプロットにより、その値を解析から除外することが妥当であるか否かを評価した。はずれ値を除外した場合は、表の脚注に記載した。

表 2.6.2-8 に示すように、ラスミジタンは切片あたりの Fos 発現細胞数を用量依存的かつ有意に減少させた。このことから、ラスミジタンは、三叉神経電気刺激後の膠様質及び尾側核における二次ニューロンの活性化を阻害することが示唆された。

表 2.6.2-8 ラット三叉神経尾側核及び膠様質における
三叉神経刺激誘発 c-Fos 発現に対する阻害作用

	実験 1	実験 2	実験 3	併合結果
投与群	1 切片あたりの平均細胞数 ± 標準誤差（例数）			
溶媒	95 ± 12.7 (5)	84 ± 3.9 (6)	78 ± 11.1 (6)	85 ± 5.5 (17)
1 μg/kg ラスミジタン		73 ± 2.1 (6)		73 ± 2.1 (6)
3 μg/kg ラスミジタン		51 ± 5.6* (5)		51 ± 5.6* (5)
10 μg/kg ラスミジタン	45 ± 5.2* (5)	58 ± 6.2* (5)		52 ± 4.4* (10)
100 μg/kg ラスミジタン			47 ± 11.6 (5)	47 ± 11.6* (5)
LY334370	52 ± 8.9* (4)	37 ± 3.3* (4)	41 ± 3.9* (7)	43 ± 3.3* (15)

データは、3 回の独立した実験及びそれらの併合結果における 1 切片あたりの平均染色細胞数（三叉神経刺激と同側の細胞数から対側の細胞数を減じて算出）を示す。動物ごとに、頸髄又は尾側脳幹のおよそ 12 箇所の冠状断面を無作為に選択し、三叉神経刺激と同側及び対側の膠様質又は尾側核において、Fos タンパク質様免疫反応性を有する染色細胞数を定量化した。
*p<0.05（溶媒対照群との比較）
実験 1 の 10 μg/kg 群の 1 例、実験 2 の陽性対照群の 1 例、実験 3 の 100 μg/kg 群の 1 例をはずれ値として解析から除外した。

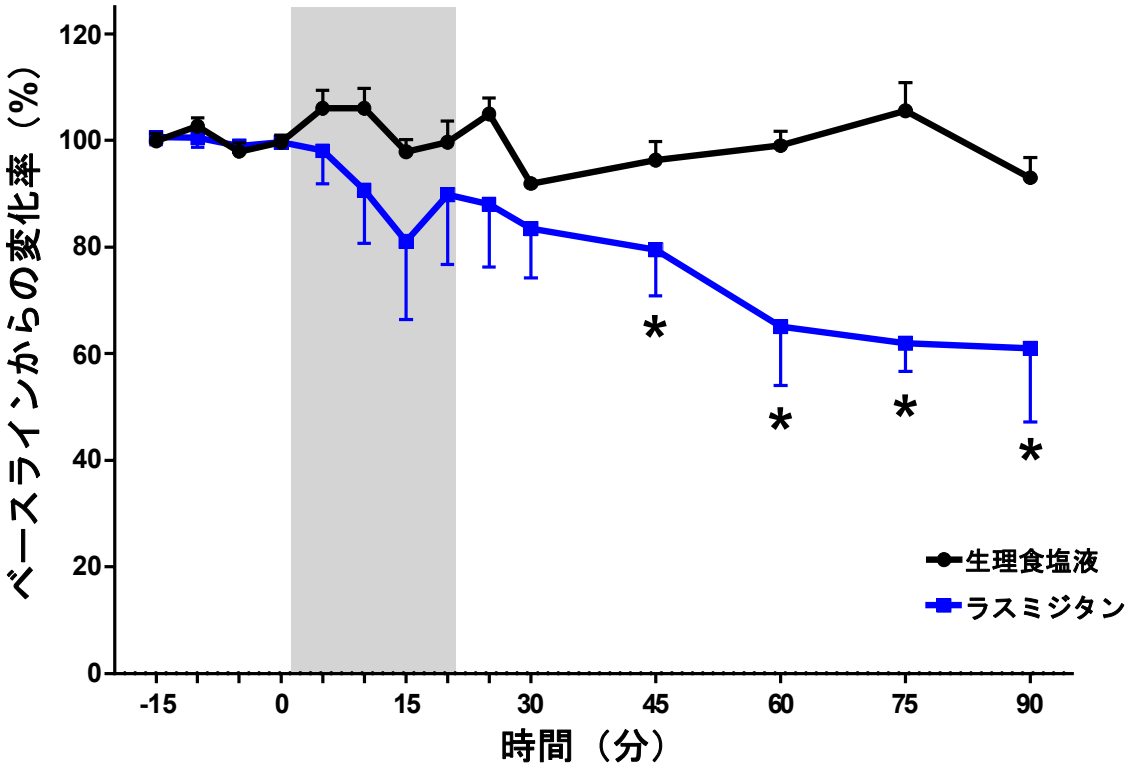
2.6.2.2.2.1.3 ラット硬膜血管侵害刺激による三叉神経頸髄複合体活性化に対する阻害作用

報告書[redacted]-TCC (4.2.1.1.9)

ラット硬膜血管を侵害刺激した際の三叉神経頸髄複合体（trigeminocervical complex：TCC）の神経活動を指標とした片頭痛モデルにおけるラスミジタン静脈内投与時の有効性を評価した。

雄 Sprague Dawley ラット（n=16）を、ラスミジタンヘミコハク酸塩（5 mg/kg、用量は遊離塩基として表示）投与群又は溶媒（生理食塩液）投与群に無作為に割り付けた。ラットをイソフルランで麻酔し、プロポフォールの静脈内持続注入により麻酔を維持した。血圧測定、麻酔薬の持続注入及び被験薬の持続投与のため、それぞれ左大腿動脈、左大腿静脈及び右大腿静脈にカニューレを挿入した。気管を切開して酸素富化空気を供給し、呼気終末二酸化炭素濃度を実験期間中モニタリングして生理学的正常範囲（3.5～4.5%）に維持した。サーモスタットで制御される加熱ブランケットに接続した直腸プローブにより温度を生理学的正常範囲（36.5～37°C）に維持し、ラットを脳定位固定装置に固定した。頭頂骨に穴をあけ、中硬膜動脈近傍の硬膜を露出させ、乾燥を防ぐためにその領域を鉱油で覆った。第 1 頸椎の椎弓を部分的に切除し、硬膜を徐々に開いて延髄尾側部を露出し、微小電極を挿入した。手術終了後、測定前に動物をそのまま 30 分以上休息させた。休息期間終了後、生理学的に安定であることを確認した後、中硬膜動脈を覆っている硬膜を刺激し、TCC の神経活動を活性化させた。ベースライン反応を 3 回測定した後、ラットにラスミジタン又は溶媒対照を 20 分かけて持続点滴静注し、TCC の神経活動を投与開始から 90 分間測定した。各群での作用の経時変化を、時間を主要因子とする反復測定 ANOVA で解析した。ANOVA で有意差がみられた場合、t 検定で 2 群比較した。

その結果、ラスミジタン（5 mg/kg）は、点滴静注開始 45 分後から、硬膜血管侵害刺激による TCC 神経活動の活性化を有意に抑制した（$F_{3.7,51}$=4.95、p=0.002）。ベースラインからの最大減少率は 39 ± 14%（静注開始 90 分後）であった（図 2.6.2-4）。ラスミジタンを点滴静注した際に動脈血圧の有意な変化は認められなかった（ANOVA を用いた経時的な解析、$F_{(1,7)}$=4.97、p=0.61）（図 2.6.2-5）。



ラスミジタンの静脈内投与により、点滴静注開始 45 分後から、硬膜血管侵害刺激による三叉神経頸髄複合体の活性化が有意に抑制された（*p<0.05）。灰色の部分は注入期間を示す。データは平均値 ± 標準誤差（n=8/群）を示す。

図 2.6.2-4. ラット硬膜血管侵害刺激による三叉神経頸髄複合体活性化に対する
ラスミジタンの阻害作用

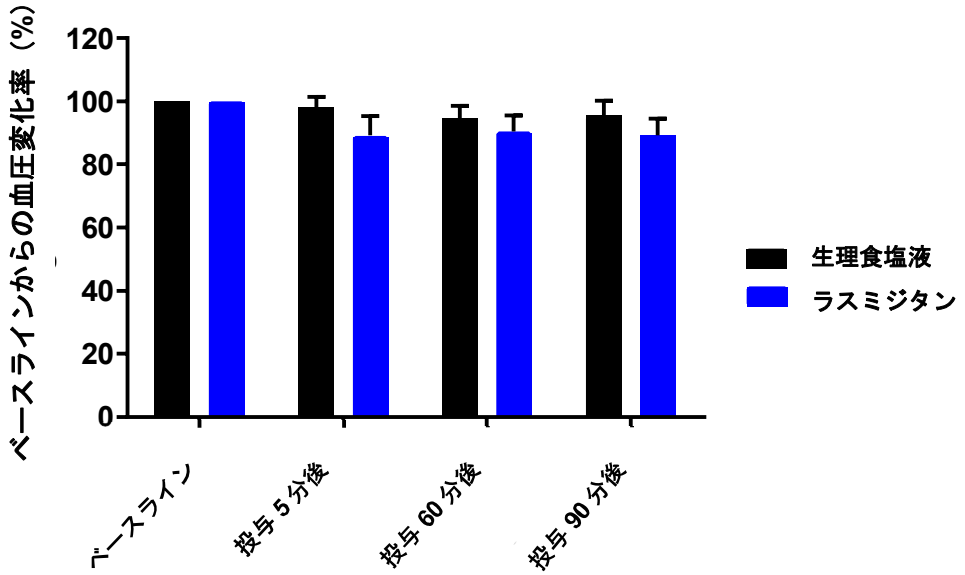


図 2.6.2-5. ラスミジタンはラット片頭痛モデルの血圧に有意な変化を及ぼさなかった
（$F_{(1,7)}$=4.97、p=0.61、n=8/群）

2.6.2.2.2.2 三叉神経血管活性化及び CGRP 放出が関与する生化学モデルにおける作用

CGRP は片頭痛発作に重要な役割を果たす。CGRP の薬理活性を阻害する抗体や受容体拮抗薬が片頭痛発作に有効であることが臨床的に確認されている（Schuster and Rapoport 2017）。また、中枢神経系において 5-HT_{1F} 受容体は CGRP と共に局在していること（Ahn et al. 2009）から、三叉神経血管系の活性化による CGRP 放出に対するラスミジタンの阻害作用を 2 つの生化学モデルで評価した。

2.6.2.2.2.2.1 マウス三叉神経系からの CGRP 放出に対する阻害作用（ex vivo 試験）

報告書 NS23-[redacted]2 (4.2.1.1.10)

三叉神経血管系（硬膜、三叉神経節及び三叉神経尾側核）からの塩化カリウム（potassium chloride：KCl）刺激による CGRP 放出に対するラスミジタンの阻害作用を、マウスを用いた ex vivo 試験で評価した。

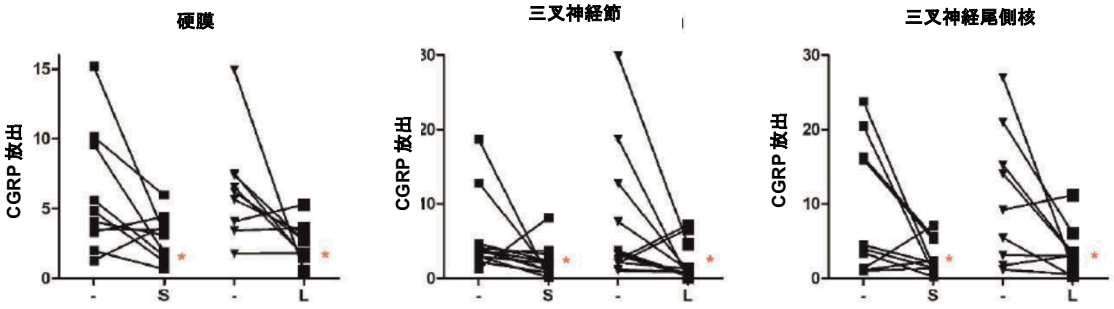
試験には雄 C57BL/6J マウス（13～14 週齢）を用いた（CGRP はエストロゲンサイクルと相互作用することが知られており、これを避けるために雄のみを使用）。マウスをペントバルビタールで麻酔後、断頭し、頭皮を除去して頭蓋骨を露出した。まず、ブレグマから尾側に 9～13 mm のところに位置している三叉神経尾側核を脳幹から摘出した。頭蓋骨を矢状縫合に沿って半分に切断し、大脳半球を慎重に除去した（脳硬膜は頭蓋骨に付着）。次に、三叉神経節を下顎神経の分岐点より 1 mm 近位及び遠位で切断して採取した。その後、中頭蓋窩の硬膜を傷つけないようにして、半切断頭蓋骨から残った脳組織を除去した。三叉神経尾側核、三叉神経節及び硬膜の付着した半切断頭蓋骨を、カルボゲン化合成間質液に 37°C で 30 分間浸漬し、洗浄した。洗浄後、摘出した組織を合成間質液の入ったプレートに移し、37°C の密閉恒湿器内の水浴中にプレートを固定した。組織ごとに CGRP のベースライン値を測定した後、KCl（60 mM）を灌流することにより CGRP 放出を誘導した。溶媒（生理食塩液）、スマトリプタン又はラスミジタンヘミコハク酸塩（30 μM）を KCl 負荷 10 分前に添加した。ベースライン測定を含むいずれの検体の測定においても、10 分間のインキュベーション後に溶液を回収し、アプロチニン（500 KIU/mL）と混合した。CGRP 濃度の測定には、検体を-80°C で保存した後、市販の CGRP 放射性免疫分析キットを用いた。アッセイの検出レベルは約 0.1 pg/mL であり、CGRP 濃度がこの検出限界を下回った場合は、その値を 0.1 pg/mL とした。データは平均値 ± 標準誤差で示した。CGRP 濃度のベースライン値に対する KCl 処理時の CGRP 濃度の比を算出し、KCl 刺激による CGRP 放出の指標とした。CGRP 濃度のベースライン値及び溶媒処理後に KCl で刺激した際の CGRP 放出について、群間での統計学的有意差の有無を対応のない片側 Mann-Whitney 検定で解析した。溶媒又は被験薬を処理した際の KCl 刺激による CGRP 放出の比較、並びに被験薬間での阻害率の比較には、対応のあるデータのノンパラメトリック解析に用いる片側 Wilcoxon 符号付順位検定を用いた。

硬膜、三叉神経節及び三叉神経尾側核における CGRP 濃度のベースライン値（絶対値）に、スマトリプタン群とラスミジタン群で差は認められなかった［硬膜：それぞれ 10.7 ± 1.8（n=10）及び 9.7 ± 3.0（n=9）pg/mL、p=0.302、三叉神経節：それぞれ 14.7 ± 3.3（n=12）及び 18.4 ± 10.2（n=12）pg/mL、p=0.130、三叉神経尾側核：それぞれ 25.9 ± 13.2（n=10）及び 48.5 ± 21.9（n=9）pg/mL、p=0.219］。いずれの組織においても、溶媒処理後に KCl で刺激した際の CGRP 放出はスマトリプタン群とラスミジタン群で同程度であった［硬膜：それぞれ 6.0 ± 1.4（n=10）及び 6.4 ± 1.2（n=9）、p=0.275、三叉神経節：それぞれ 5.4 ± 1.5（n=12）及び 7.4 ± 2.6（n=12）、

p=0.267、三叉神経尾側核：それぞれ 9.2 ± 2.8（n=10）及び 10.9 ± 3.0（n=9）、p=0.330］。また、いずれの組織においても、溶媒、スマトリプタン又はラスミジタンを単独で処理した際に CGRP 濃度のベースライン値に変化は認められなかった。

溶媒と比較してスマトリプタンの存在下では、KCl 刺激による CGRP 放出が硬膜（6.0 ± 1.4 対 3.0 ± 0.5、n=10、p<0.05）、三叉神経節（5.4 ± 1.5 対 2.2 ± 0.6、n=12、p<0.05）及び三叉神経尾側核（9.2 ± 2.8 対 2.8 ± 0.7、n=10、p<0.05）で有意に減少した。ラスミジタン群でも KCl 刺激による CGRP 放出が硬膜（6.4 ± 1.2 対 2.6 ± 0.5、n=9、p<0.05）、三叉神経節（7.4 ± 2.6 対 2.1 ± 0.7、n=12、p<0.05）及び三叉神経尾側核（10.9 ± 3.0 対 3.6 ± 1.1、n=9、p<0.05）で有意に減少した（図 2.6.2-6）。

以上の成績から、ラスミジタンの作用機序の 1 つが三叉神経血管系での CGRP 放出阻害である可能性が示された。



* p<0.05（溶媒 + KCl 群との比較）。CGRP 放出はベースライン値に対する相対値。

図 2.6.2-6. 硬膜（n=9～10）、三叉神経節（n=12）及び三叉神経尾側核（n=9～10）における被験薬非存在下（-）、スマトリプタン存在下（S）又はラスミジタン存在下（L）での KCl 刺激による CGRP 放出

2.6.2.2.2.2.2 電気刺激、カプサイシン又は CGRP で誘発された硬膜動脈の血管拡張に対する阻害作用

報告書 NS23-[redacted]2 (4.2.1.1.10)

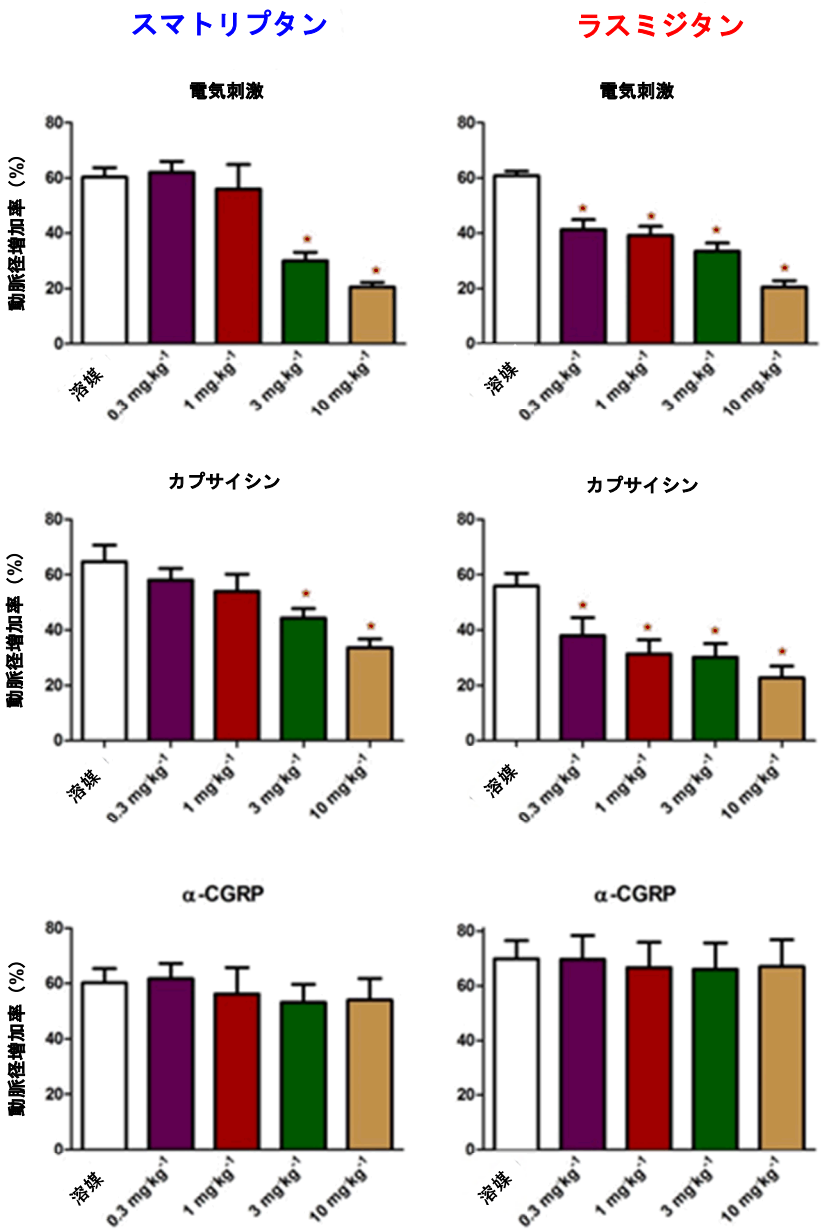
ラットを用いて、電気刺激、カプサイシン又は CGRP により誘発された硬膜動脈の血管拡張に対するラスミジタンの阻害作用を評価した。

雄 Sprague Dawley ラットをペントバルビタールにより麻酔し、実験中、恒温ブランケットで深部体温を 36.5°～37.5°C に維持した。被験薬の静脈内投与及び動脈血圧のモニタリングのため、それぞれ大腿静脈及び動脈にカニューレを挿入した。ラットを脳定位固定装置に固定し、中硬膜動脈が明確に視認できるようになるまで頭頂骨を削って薄くした。カメラをつなげた生体顕微鏡で硬膜動脈を撮影し、コンピューターソフトウェアにより硬膜動脈径を定量化した。動脈から約 200 µm 離れた骨の表面に双極刺激電極を装着した。頭蓋窓の表面を 5 Hz、1 msec で 10 秒間刺激し、50%以上の拡張がみられるまで電圧を上げた。動脈周囲電気刺激（150～300 µA）、カプサイシン（10 µg/kg の静脈内投与）又は αCGRP（1 µg/kg の静脈内投与）による硬膜動脈の血管拡張反応を、溶媒（生理食塩液）、被験薬（スマトリプタン又はラスミジタンヘミコハク酸塩、用量は遊離塩基として表示）の急速静注の前後に誘発した。電気刺激、カプサイシン又は αCGRP

処置の 5 分前に、被験薬を所定の用量（0.3、1、3 及び 10 mg/kg）で投与した。各血管拡張因子の処置後、動脈径をベースラインに回復させるため、30 分間休息させた。硬膜動脈径の最大変化をベースラインからの変化率（平均値 ± 標準誤差）で示した。一元配置反復測定 ANOVA 後、Dunnett 検定により群間比較し、$p<0.05$ を統計学的に有意と判断した。

その結果、動脈周囲電気刺激により硬膜動脈径は 62 ± 3%（n=20）増加し、カプサイシン又はαCGRP の静脈内注入により硬膜動脈径はそれぞれ 59 ± 3%（n=20）及び 66 ± 3%（n=14）増加した。電気刺激、カプサイシン又はαCGRP の投与を反復しても（5 回まで）、硬膜動脈径の増加に再現性が認められた（それぞれ p 値は 0.349、0.878、0.912）（データは示さず）。図 2.6.2-7（左図）に示すように、比較的高用量（3 及び 10 mg/kg）のスマトリプタンを前投与すると、対照群と比較して、電気刺激及びカプサイシンによる血管拡張が有意に阻害された（硬膜動脈径の増加率：電気刺激時に 3 mg/kg で 30 ± 3%、10 mg/kg で 21 ± 2%、カプサイシン投与時に 3 mg/kg で 44 ± 3%、10 mg/kg で 34 ± 3%）。一方、αCGRP による硬膜動脈径の変化に対する作用は、スマトリプタンのいずれの用量においても認められなかった（p=0.210）。スマトリプタンとは異なり、ラスミジタン（図 2.6.2-7、右図）は低用量において、対照群と比較して、電気刺激及びカプサイシンによる血管拡張を有意かつ用量依存的に阻害した（硬膜動脈径の増加率は、電気刺激時に 0.3、1、3 及び 10 mg/kg でそれぞれ 41 ± 4%、39 ± 3%、34 ± 3%及び 21 ± 2%、カプサイシン投与時に 0.3、1、3 及び 10 mg/kg でそれぞれ 38 ± 7%、31 ± 5%、30 ± 5%及び 23 ± 4%）。スマトリプタンと同様に、外因性 αCGRP の反応に対する作用は、ラスミジタンのいずれの用量においても認められなかった（p=0.911）。

以上の成績から、ラスミジタン及びスマトリプタンはいずれも、硬膜動脈径の変化を指標とする内因性 αCGRP の放出を阻害することが示された。スマトリプタンと比較し、ラスミジタンはより低用量で αCGRP の放出阻害作用を示した。しかしながら、これらの分子はいずれも外因性αCGRP の作用を阻害しなかったことから、αCGRP 受容体拮抗薬ではないことが示された。



*p<0.05（溶媒との比較）

図 2.6.2-7. 電気刺激（上図、それぞれ n=8）、カプサイシン（中図、それぞれ n=8）及び CGRP（下図、それぞれ n=5）により誘発した硬膜動脈の血管拡張に対するスマトリプタン（左）及びラスミジタン（右）の作用

2.6.2.3 副次的薬理試験

副次的薬理試験には、市販予定製剤に含有されるヘミコハク酸塩の他、塩酸塩のラスミジタンを用いた。In vivo 試験での用量は遊離塩基として表示した。

2.6.2.3.1 受容体、チャネル及びトランスポーターに対するラスミジタン及び代謝物の作用

2.6.2.3.1.1 放射性リガンド結合アッセイ及び摘出組織標本を用いた検討

報告書 PR0206 (4.2.1.2.1), TO-01-7796 (4.2.1.2.2), 1120682 (4.2.1.2.3), 1120683 (4.2.1.2.4), 1120681 (4.2.1.2.5)

ラスミジタンが非標的受容体を介して自律神経系に対する作用を誘発するか否かを、放射性リガンド結合アッセイ及び摘出組織標本を用いて評価した（報告書 PR0206）。放射性リガンド結合アッセイでは、ムスカリン受容体、α 及び β アドレナリン受容体、5-HT 受容体、ヒスタミン受容体、GABA 受容体並びにドパミン受容体に対するラスミジタンの親和性を評価した。また、摘出平滑筋及び心筋組織標本における収縮反応により、興奮性膜に対するラスミジタンの作用を検討した。

その結果、ラスミジタン（ヘミコハク酸塩）は 10 μM未満の濃度において、ムスカリン受容体、ドパミン D_1 及び D_2 受容体、α1 及び α2 アドレナリン受容体、β1 及び β2 アドレナリン受容体、ヒスタミン H_1 受容体並びに $GABA_A$ 受容体に親和性を示さなかった（表 2.6.2-9）。高濃度のラスミジタンは 5-HT_2 受容体に結合したが、その親和性は 5-HT_{1F} 受容体への親和性と比較して 1000 分の 1 未満であった。ラスミジタンは $GABA_A$ 受容体のベンゾジアゼピン結合部位に親和性を示したが、その親和性（K_i=0.29 μM）は 5-HT_{1F} 受容体への親和性と比較して 100 分の 1 未満であった。摘出組織標本を用いた試験において、ラスミジタンは評価した最高濃度（10 μM）で摘出モルモット心房及び回腸のベースライン収縮に軽微な作用を示した。ラスミジタンは評価した最高濃度（それぞれ 1 及び 10 μM）でも摘出モルモット回腸に対するアセチルコリンの収縮作用、及び摘出モルモット心房に対するイソプロテレノールの収縮作用を増強させなかった。

以上の成績から、ラスミジタンはヒスタミン受容体、ドパミン D_1 もしくは D_2 受容体、又は GABA 受容体を介した生理学的作用に影響する可能性は低く、自律神経系のアドレナリン受容体及びムスカリン受容体に関連した毒性も示さないと結論された。ラスミジタンはベンゾジアゼピン受容体に親和性を示したが、5-HT_{1F} 受容体への親和性との乖離の程度から、臨床曝露量では影響を及ぼさないと考えられた。また、ラスミジタンは摘出モルモット心房及び回腸に軽微な作用を示したが、高濃度での軽微な反応であったことから、いずれの系にも臨床曝露量では影響を及ぼさないと考えられた。

表 2.6.2-9 神経伝達物質受容体に対するラスミジタンの親和性定数（K_i 値）

受容体	放射性リガンド	K_i（平均値±標準誤差）
コリン受容体		
ムスカリン	[^{3}H]QNB	>10 μM
アドレナリン受容体		
α_1アドレナリン	[^{3}H]プラゾシン	>10 μM
α_2アドレナリン	[^{3}H]MK912	>10 μM
β_1アドレナリン	[^{125}I]ICP	>10 μM
β_2アドレナリン	[^{125}I]ICP	>10 μM
ドパミン受容体		
ドパミン D_1	[^{3}H]SCH23390	>10 μM
ドパミン D_2	[^{3}H]ラクロプリド	>10 μM
セロトニン受容体		
5-HT_2	[^{3}H]ケタンセリン	>3 μM
ヒスタミン受容体		
ヒスタミン H_1	[^{3}H]ピリラミン	>10 μM
GABA 受容体によるイオノフォア		
$GABA_A$	[^{3}H]ムシモール	>10 μM
ベンゾジアゼピン	[^{3}H]フルニトラゼパム	0.29 ± 0.02 μM

略語：ICP = ヨードシアノピンドロール、QNB = キヌクリジニルベンジレート。
実験は 3 回実施した。

より多くの非標的受容体に対する薬理作用の有無を検討するため、放射性リガンド結合アッセイにおいて、一連の神経伝達物質関連受容体、イオンチャネル、セカンドメッセンジャー、並びに脳／腸ペプチドに対するラスミジタン塩酸塩及び代謝物［M7、M8 及び(S,R)-M18］の阻害作用を評価した（報告書 TO-01-7796、1120682、1120681 及び 1120683）。

試験実施施設の基準に基づき、50%以上の阻害を示す化合物を活性ありと判定した。阻害率は、ラスミジタンについては 1 μM、代謝物については 10 μM で測定した 2 回の平均値として求めた。活性ありと判定されたのは、$GABA_A$ のベンゾジアゼピン結合部位のみであり、阻害率はラスミジタン及び M7 でそれぞれ 67%及び 68%であった（表 2.6.2-10）。$GABA_A$ のベンゾジアゼピン結合部位に結合する放射性リガンドの結合に対する M7 の IC_{50} 値は 2.88 μM であった（報告書 1120682）。

表 2.6.2-10 放射性リガンド結合アッセイにおけるラスミジタン及び代謝物の阻害率（N = 2）

標的	ラスミジタン (1 μM) [1]	M7 (10 μM) [2]	M8 (10 μM) [3]	(S,R)-M18 (10 μM) [4]
アデノシン、A_1	-16	-5	-1	-8
アデノシン、A_{2A}	12	17	1	15
アドレナリン、α_{1A}	2	0	-4	-7
アドレナリン、α_{1B}	22	1	8	9
アドレナリン、α_{2A}	-5	1	10	5
アドレナリン、α_{2B}	14	-14	-12	5
アドレナリン、α_{2C}	1	-6	-4	8
アドレナリン、β_1	12	2	1	-2
アドレナリン、β_2	5	-1	1	2
カルシウムチャネル L 型	-20	11	0	-2
カルシウムチャネル N 型	1	0	-3	0
コレシストキニン CCK_1（CCK_A）	10	-5	-4	9
コレシストキニン CCK_2（CCK_B）	7	0	-4	3
ドパミン D_1	7	9	7	5
ドパミン D_{2S}	2	7	2	5
$GABA_A$、クロライドチャネル	16	5	6	17
$GABA_A$、ベンゾジアゼピン結合部位	67	68	25	45
$GABA_A$、アゴニスト部位	-10	29	0	4
グルタミン酸、AMPA	-6	-21	-14	-21
グルタミン酸、NMDA、アゴニスト部位	4	4	-21	-11
グルタミン酸、NMDA、グリシン	-5	3	1	6
グルタミン酸、NMDA、フェンシクリジン	16	11	1	11
グリシン、ストリキニーネ感受性	21	-17	-6	8
ヒスタミン H_1	23	-1	3	13
ヒスタミン H_2	43	3	5	-3
ヒスタミン H_3	10	11	-5	-17
イノシトール三リン酸	-19	-3	0	-3
ムスカリン M_1	4	-7	2	-3
ムスカリン M_2	-10	-8	-1	-6
ニューロペプチド Y（非選択的）	12	ND	ND	ND
ニューロペプチド Y_1	ND	-6	-4	-12
ニューロペプチド Y_2	ND	8	2	-3
オピエートδ	-1	-9	-4	8
オピエートκ	34	11	13	16
オピエートμ	6	-1	1	0
カリウムチャネル[K_{ATP}]	5	9	3	-6
カリウムチャネル[SK_{CA}]	25	7	4	6
シグマσ_1	16	6	21	7
シグマσ_2	9	-3	0	-4
ナトリウムチャネル、サイト 2	48	10	9	9
ソマトスタチン sst1	-2	12	24	10
タキキニン NK_1	-17	8	7	12
タキキニン NK_2	-5	10	10	0
タキキニン NK_3	10	6	10	14
トランスポーター、アデノシン	24	31	6	15
トランスポーター、ノルエピネフリン	-1	1	4	5
トランスポーター、セロトニン	26	-2	-9	2

略語：AMPA = α-アミノ-3-ヒドロキシ-5-メチル-4-イソキサゾールプロピオン酸、GABA = γ-アミノ酪酸、ND = 測定せず、NMDA = N-メチル-D-アスパラギン酸。
1: 報告書 TO-01-7796、2: 報告書 1120682、3: 報告書 1120681、4: 報告書 1120683 より

2.6.2.3.1.2 $GABA_A$ αサブユニットに対するラスミジタン及び代謝物の薬理活性

報告書 100304.DME (4.2.1.2.6), 160217.DME (4.2.1.2.7)

放射性リガンド結合アッセイにおいて、ラスミジタン並びにその代謝物 M7 が $GABA_A$ のベンゾジアゼピン結合部位に結合性を示したこと（CTD 第 2.6.2.3.1.1 項）から、これらの化合物が $GABA_A$ に対して薬理活性を示すか否かを 2 つの試験で評価した。

1 つ目の試験（報告書 100304.DME）では、ヒトクローン化 $GABA_A$ チャネル（GABRA1、GABRB2 及び GABRG2 遺伝子によりコードされ、HEK293 細胞に共発現させた α1β2γ2）に対するラスミジタンの作用を評価した。

自動パラレルパッチクランプシステムを用いて、ラスミジタンの in vitro 作用を室温で評価した。細胞は保持電位 -80 mV で維持し、GABA（3 μM）で $GABA_A$（α1β2γ2）電流を誘発した。20 秒後に GABA を 90 秒間かけて洗い流し、30 秒間回復させた後、GABA 又は被験薬を適用した。ラスミジタン（3 μM）への曝露持続時間は 5 分とした。ジアゼパム（0.3 μM）を陽性対照とし、ベンゾジアゼピンによる $GABA_A$ 電流の増強に対する試験系の感受性を確認した。

その結果、ラスミジタン（3 μM）は、$GABA_A$（α1β2γ2）電流に明らかな影響を及ぼさなかった（平均変化率は-5.1 ± 5.5%、n=6）。一方、ジアゼパム（0.3 μM）は、GABA 刺激に対する $GABA_A$ チャネルの反応を約 78 ± 14.4%増加させた。

2 つ目の試験（報告書 160217.DME）では、HEK293 細胞に発現させたイオンチャネル（$GABA_A$α1/β3/γ2、$GABA_A$α2/β3/γ2、$GABA_A$α3/β3/γ2、$GABA_A$α4/β3/γ2 及び $GABA_A$α5/β3/γ2）に対するラスミジタンヘミコハク酸塩並びにその代謝物（M3 及び M7）の作用を評価した。

穿孔パッチを介したホールセル測定を内蔵のパッチクランプ用増幅器で膜電流を測定することにより実施した。測定（スキャン）は 2 回行った。1 回目のスキャンは作動作用を検出するため、被験薬の適用中に行い、2 回目のスキャンは被験薬のポジティブアロステリックモジュレート（PAM）作用及び拮抗作用を検出するため、被験薬適用 2 分後の陽性対照作動薬適用中（GABA を EC_{20} 及び EC_{90} 値で刺激）に行った。

その結果、ラスミジタン並びにその代謝物（M3 及び M7）は検討した 5 種類のチャネルに対して検出可能な作動作用を示さず、いずれの濃度においても活性は GABA 誘導電流の 3%未満であった。試験最高濃度（100 μM）での作用が 50%より低かったため、作動活性の EC_{50} 値は 100 μM 超と推定された（表 2.6.2-11）。GABA（EC_{90} 値）で電流を誘導したときのピーク電流に対するラスミジタン、M3 及び M7 の最大阻害率は、$GABA_A$α4/β3/γ2 を除き、検討したいずれのチャネルにおいても 50%未満であったことから、拮抗活性の IC_{50} 値は 100 μM 超と推定された。M7 は $GABA_A$α4/β3/γ2 に弱い拮抗作用を示し、その IC_{50} 値は 77.8 μM と推定された（表 2.6.2-12）。しかしながら、この濃度は臨床曝露量よりも十分に高く［ヒト被験者に臨床最大用量（200 mg）を経口投与した際の M7 の最高血漿中濃度（C_{max}）は 0.38 μM（143 ng/mL）であった（LAHH 試験）］、同作用は臨床的に意義のあるものではないと考えられる。GABA（EC_{20} 値）で電流を誘導したとき、$GABA_A$α1/β3/γ2、α3/β3/γ2 及び α5/β3/γ2 チャネルに対するラスミジタンの弱い拮抗作用が検出され、ピーク電流に対する IC_{50} 値はそれぞれ 80.9、51.5 及び 24.1 μM であった。M3 及び M7 では、$GABA_A$α1/β3/γ2、α2/β3/γ2、α3/β3/γ2 及び α5/β3/γ2 チャネルにおいて、ごくわずかな増強作用が認められた。M3 及び M7 による増強作用を、ジアゼパムに対して正規化した百分

率で表すと、13～47%であった。しかしながら、EC_{50} 値は 100 μM 超と推定され、ジアゼパムで得られた EC_{50} 値の 0.01～0.1 μM とは大きく異なった。

以上、検討した条件下で、ラスミジタン、M3及びM7は、臨床で予想される曝露量において、$GABA_A$ 受容体のいずれの α サブユニットに対しても作動、拮抗あるいは PAM 活性を示さなかった。

表 2.6.2-11 ラスミジタン及び代謝物の $GABA_A$ 作動活性

	$GABA_A$α1/β3/γ2		**$GABA_A$α2/β3/γ2**		**$GABA_A$α3/β3/γ2**		**$GABA_A$α4/β3/γ2**		**$GABA_A$α5/β3/γ2**	
	EC_{50} (μM)		**EC_{50} (μM)**		**EC_{50} (μM)**		**EC_{50} (μM)**		**EC_{50} (μM)**	
被験薬	**ピーク**	**平均**	**ピーク**	**平均**	**ピーク**	**平均**	**ピーク**	**平均**	**ピーク**	**平均**
M3	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
M7	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
ラスミジタン	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
GABA（陽性対照）	8.3	5.7	14.3	10.9	14.1	14.1	11.3	4.8	5.3	5.0

値は 1 回の実験（quadruplicate）から得た。

表 2.6.2-12 ラスミジタン及び代謝物の $GABA_A$ 拮抗活性

	$GABA_A$α1/β3/γ2		**$GABA_A$α2/β3/γ2**		**$GABA_A$α3/β3/γ2**		**$GABA_A$α4/β3/γ2**		**$GABA_A$α5/β3/γ2**	
	IC_{50} (μM)		**IC_{50} (μM)**		**IC_{50} (μM)**		**IC_{50} (μM)**		**IC_{50} (μM)**	
被験薬	**ピーク**	**平均**	**ピーク**	**平均**	**ピーク**	**平均**	**ピーク**	**平均**	**ピーク**	**平均**
M3	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
M7	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	77.8	>100	>100
ラスミジタン	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
ピクロトキシン（陽性対照）	5.7	2.8	3.0	2.3	5.0	3.1	5.8	3.1	12.4	3.9
GABA 濃度 (μM)	60		30		60		30		30	

値は 1 回の実験（quadruplicate）から得た。

2.6.2.3.1.3 CB1 及び CB2 受容体に対するラスミジタン及び代謝物の結合能

報告書 CLP-002e-CBR (4.2.1.2.8)

遺伝子組換えヒト及びラット CB1 及び CB2 受容体に対するラスミジタンへミコハク酸塩並びにその代謝物［M3、M7、M8 及び(S,R)-M18］の結合能を評価した。CB1 受容体には[^{3}H]-SR141716A を、CB2 受容体には[^{3}H]-CP55,940 を用いて放射性リガンド結合競合アッセイを実施した。その結果、ラスミジタン及びいずれの代謝物とも、試験最高濃度（100 μM）においても CB1 及び CB2 受容体に明らかな結合を示さず、放射性リガンドの結合に対する IC_{50} 値は 100 μM 超と推定された。CB1 及び CB2 受容体は薬物乱用性に関与することが知られているが、これらの受容体への親和性はみられなかったことから、ラスミジタン及びその代謝物がカンナビノイド受容体を介した薬物乱用性のリスクを示す可能性は低いことが示唆された。

2.6.2.3.1.4 ドパミントランスポーターに対するラスミジタン及び代謝物の結合能

報告書 VDD4179-2016 (4.2.1.2.9)

チャイニーズハムスター卵巣（Chinese hamster ovary：CHO）細胞膜に発現させたヒトドパミントランスポーター（DAT）に対するラスミジタンヘミコハク酸塩並びにその代謝物［M3、M7、M8 及び(S,R)-M18］の結合能を、放射性リガンドに[^{3}H]-WIN35,428［(–)-2-β-カルボメトキシ-3-β-（4-フルオロフェニル）トロパン（β-CFT）］を用いた放射性リガンド結合競合アッセイで評価した。その結果、ラスミジタン及びいずれの代謝物とも、試験最高濃度（100 μM）においても DAT に明らかな結合を示さず、その K_i 値は 100 μM 超と推定された（表 2.6.2-13）。陽性対照のコカイン及び GBR12909 は活性を示したことから、試験の妥当性が確認された。以上、ラスミジタン及びその代謝物は、100 μM までの濃度でヒト DAT に結合しなかったことから、DAT を介した乱用性を示す可能性は低いことが示唆された。

表 2.6.2-13 ヒトドパミントランスポーターに対するラスミジタンの結合能

被験薬	$pK_i \pm SD$	傾き± SD	K_i (nM)	N
M3	NA	NA	NA	2
M7	NA	NA	NA	2
M8	NA	NA	NA	2
(S,R)-M18	NA	NA	NA	2
ラスミジタン	NA	NA	NA	2
コカイン	6.51 ± 0.14	-0.9 ± 0.0	308	2
GBR12909	8.41 ± 0.11	-1.0 ± 0.2	3.8	2

略語： NA = 該当なし（試験最高濃度で阻害率が 50%未満）、SD = 標準偏差。

2.6.2.3.2 非標的器官（血管）に対する作用

2.6.2.3.2.1 ウサギ伏在静脈に対する作用

報告書 CNS568 (4.2.1.2.10)

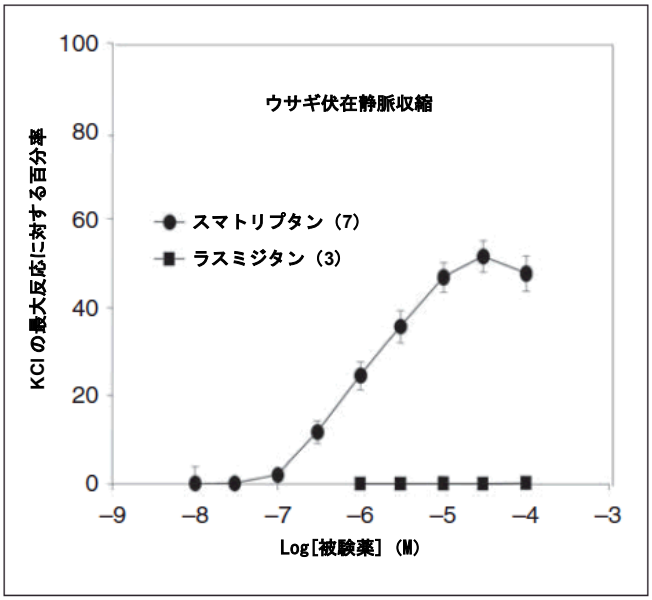
ヒト大脳動脈や冠動脈との類似性が認められるウサギ伏在静脈を用いた ex vivo モデル（Cohen et al. 1997）により、ラスミジタンの血管収縮作用の有無を検討した。

雄ニュージーランドホワイトウサギから摘出した伏在静脈リングを、改変 Krebs 溶液の入った 37°C の恒温槽中に固定し、95% O_2 及び 5% CO_2 を通気した。1～2 時間の平衡化期間の後、スマトリプタン又はラスミジタン塩酸塩を添加して得られた等尺性収縮を 4 g の静止張力からの張力変化（g）として測定した。一部の実験では、被験薬を添加する前に、プロスタグランジン（PG）F2α（3×10^{-7} M）で前収縮させた。

その結果、ラスミジタンは 100 μM までの濃度で伏在静脈を収縮させなかったが、スマトリプタンは 0.3 μM の低濃度で伏在静脈を収縮させた（図 2.6.2-8）。PGF2α により軽度に緊張させたとき、ラスミジタンによる収縮の増強は、5-HT_{1F} 受容体の活性化に必要な濃度よりほぼ 5 桁高い 10 μM を超える濃度まで認められなかった。一方、PGF2α 存在下でのスマトリプタンによる収縮は 30 nM の低濃度で認められた。

ヒトにスマトリプタンを 100 mg の用量で経口投与及び 6 mg の用量で皮下投与した際の血漿中非結合型 C_{max}（範囲）はそれぞれ 147 nM（80.6～288 nM）及び 204 nM（141～317 nM）であり（IMITREX® Nasal Spray 添付文書 2017）、スマトリプタンの治療用量では、一部のヒトにおいて、スマトリプタンの血漿中濃度が本試験で収縮がみられた濃度に近い濃度に達する可能性がある。一方、ラスミジタンでは、ヒトに臨床最大用量（200 mg）で経口投与した際の非結合型最高

血漿中濃度（約 300 nM、LAIE 試験）の約 300 倍の濃度においても、ウサギ伏在静脈の収縮は認められなかった。



データは括弧内に記載した組織数の平均値 ± 標準誤差で示す。

図 2.6.2-8. ウサギ伏在静脈に対するラスミジタン及びスマトリプタンの作用

2.6.2.3.2.2 ヒト内胸動脈に対する作用

報告書 [redacted]1 (4.2.1.2.11)

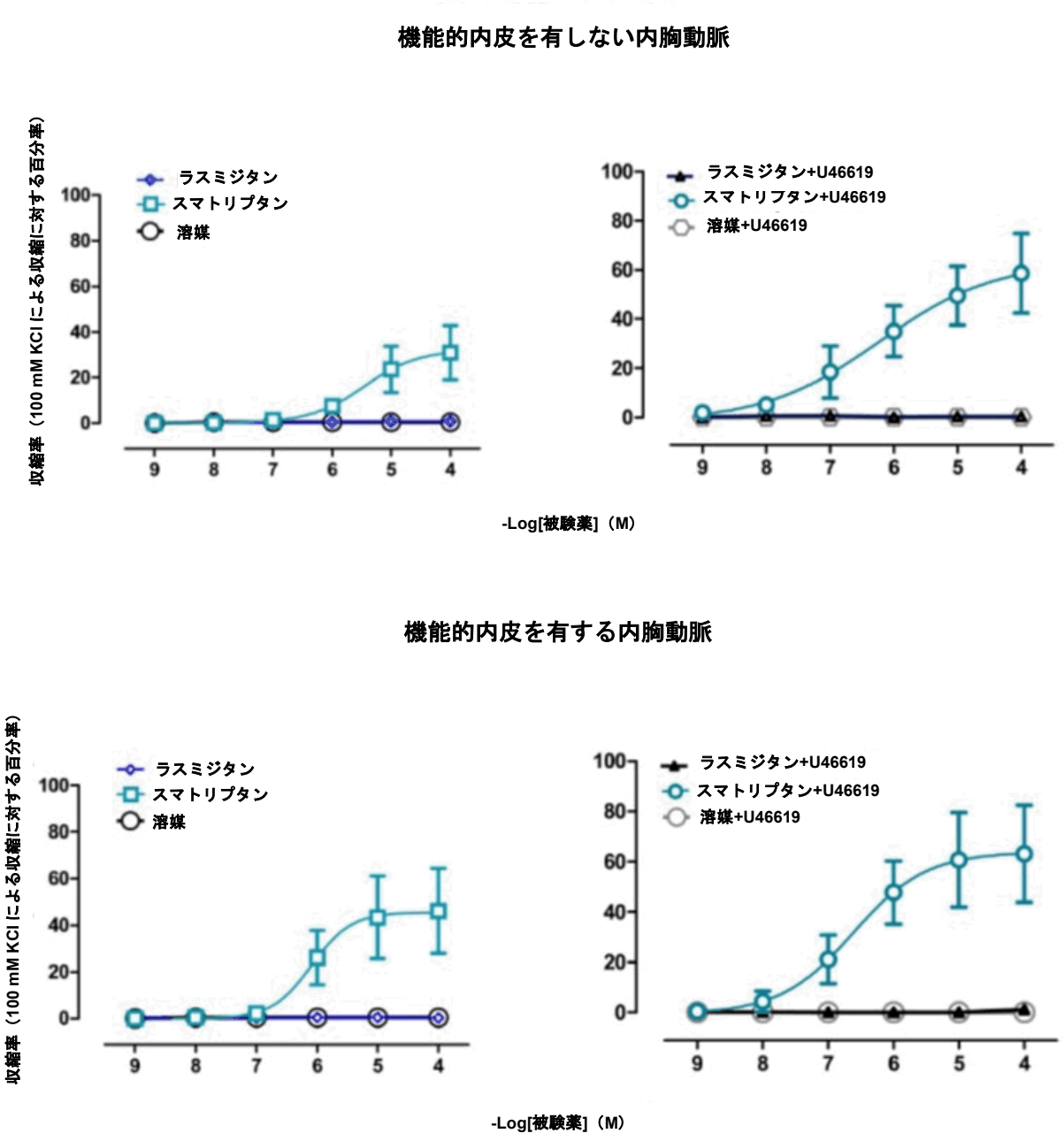
ヒト内胸動脈を用いて、ラスミジタンの血管収縮作用の有無を検討した。

ヒト内胸動脈は、冠動脈バイパス手術を受けた 18 名の患者（男性 16 名、女性 2 名、51～80 歳）から手術時に入手した。この組織を速やかに滅菌済み臓器保護溶液中に移し、15 分以内に実験室へ搬入した。その後、動脈から結合組織を除去し、酸素を通気した Krebs 冷緩衝液中に移し、Mulvany ミオグラフに固定した。トロンボキサン A_2 アナログである U46619（10～100 nM）添加後にブラジキニン（1 μM）を添加して内皮機能を評価した。血管の病状をより正確に反映させるため、内皮を機械的に除去する処置は行わなかった。その代わりに、文献（Barker et al. 1994）で確立されているブラジキニンの弛緩作用に基づき、良好な内皮を有する血管群（U46619 による前収縮に対するブラジキニンの弛緩率が 18%超）と機能的内皮を有しない血管群（U46619 による前収縮に対するブラジキニンの弛緩率が 3%未満）とに分けた。本試験では、内皮弛緩率が 3～18%の標本はなかった。閾値濃度（1～10 nM）の U46619 による前収縮の存在下及び非存在下で漸増濃度のラスミジタンヘミコハク酸塩（1 nM～100 μM）又はスマトリプタン（1 nM～100 μM）により得られた反応を、100 mM KCl と比較した収縮率として表し、濃度反応曲線を作成した。また、臨床血漿中濃度近傍の濃度のラスミジタンヘミコハク酸塩（1 μM）又はスマトリプタン（0.3 μM）で切片を前処理した後に、それぞれスマトリプタン又はラスミジタンの濃度反応性曲線を作成することにより、両被験薬の相互作用（収縮作用の増大など）の有無を検討した。濃度反応曲線を解析し、pEC_{50} 値（最大収縮反応 E_{max} 値の 50%の反応を引き起こす濃度の負の対数値）を算出した。濃度反応曲線がプラトーに達しなかった場合は、使用した最高濃度（100 μM）で得られた反応を E_{max} 値とした。データはいずれも平均値 ± 標準誤差で示した。対

応のあるデータの ANOVA で被験薬の集団が異なることが明らかになった場合は、pEC_{50} 値及び E_{max} 値の差を Tukey 検定で評価した。p 値が 0.05 未満の場合、有意差ありと判定した。

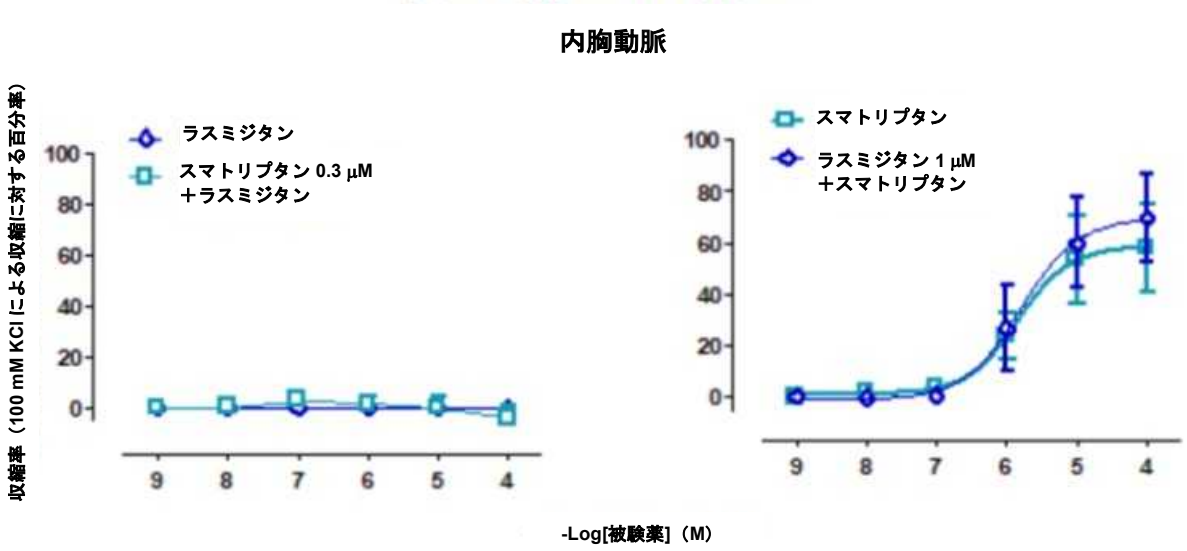
その結果、機能的内皮を有しない血管群において、スマトリプタンは濃度依存的な収縮を誘発し（E_{max} 値：31 ± 12%、pEC_{50} 値：5.58 ± 0.26、n=7）、統計学的に有意ではないものの、閾値濃度の U46619 による前収縮後の収縮に増強がみられた［E_{max} 値：59 ± 16%、pEC_{50} 値：6.02 ± 0.59（EC_{50} 値 = 955 nM）、n=7］（図 2.6.2-9、上図）。同様に、機能的内皮を有する血管群でも、スマトリプタンは濃度依存的な収縮を誘発し［E_{max} 値：46 ± 18%、pEC_{50} 値：6.07 ± 0.10（EC_{50} 値 =851 nM）、n=5］、閾値濃度の U46619 による前収縮後の収縮に増強傾向がみられた［E_{max} 値：63 ± 19%、pEC_{50} 値：6.83 ± 0.05、n=5］（図 2.6.2-9、下図）。一方、溶媒及びラスミジタンは、いずれの血管群においても、1 nM～100 μM の濃度でベースラインからの収縮及び U46619 による前収縮後の収縮を誘発しなかった。ラスミジタン（1 μM）の前処理はスマトリプタンの収縮に影響を及ぼさなかった［ラスミジタンの前処置（E_{max} 値：51 ± 19%、pEC50 値：5.71 ± 0.31、n=6）、非前処置（E_{max} 値：59 ± 16%、pEC_{50} 値：5.35 ± 0.22、n=6）］（図 2.6.2-10）。また、ラスミジタンはスマトリプタン（0.3 μM）の前処置後においても、収縮を示さなかった。

ヒトにスマトリプタンを 100 mg の用量で経口投与及び 6 mg の用量で皮下投与した際の血漿中非結合型 C_{max}（範囲）はそれぞれ 147 nM（80.6～288 nM）及び 204 nM（141～317 nM）であり（IMITREX® Nasal Spray 添付文書 2017）、スマトリプタンの治療用量では、一部のヒトにおいて、スマトリプタンの血漿中濃度が本試験で収縮がみられた濃度に近い濃度に達する可能性がある。一方、ラスミジタンでは、ヒトに臨床最大用量（200 mg）で経口投与した際の非結合型最高血漿中濃度（約 300 nM、LAIE 試験）の約 300 倍の濃度においても、内胸動脈の収縮は認められなかった。



データは平均値 ± 標準誤差で示す。上段の図は n = 7（溶媒群は n = 5）、下段の図は n = 5

図 2.6.2-9. ヒト内胸動脈に対するラスミジタン及びスマトリプタンの作用



データは平均値 ± 標準誤差で示す（n = 6）

図 2.6.2-10. ヒト内胸動脈に対するスマトリプタン前処置のラスミジタンの作用への影響（左図）及びラスミジタン前処置のスマトリプタンの作用への影響作用（右図）

2.6.2.3.2.3 ヒト冠動脈に対する作用

報告書 [redacted]1 (4.2.1.2.11)

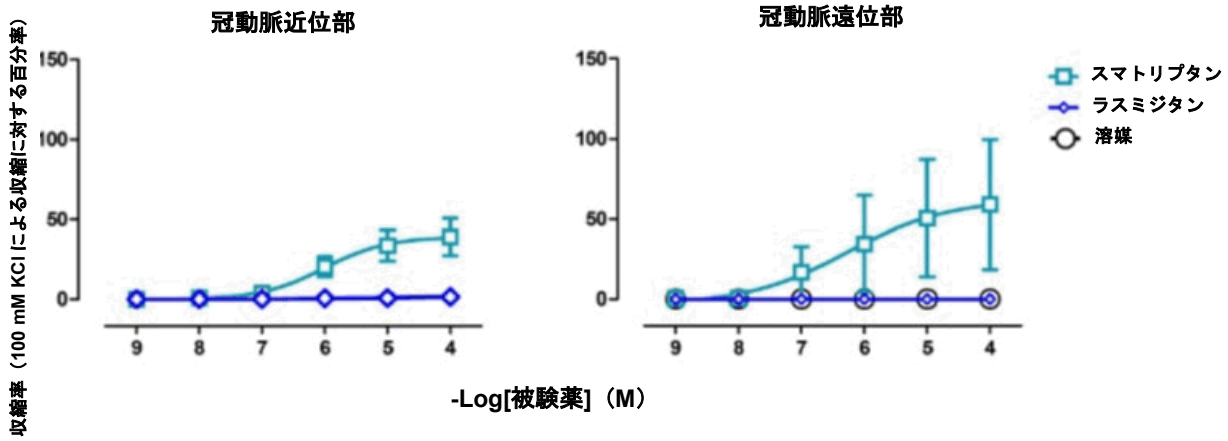
ヒト冠動脈を用いて、ラスミジタンの血管収縮作用の有無を検討した。

心臓移植患者（4 名）及び心障害以外の原因で死亡した「心臓が拍動している」臓器提供者（2 名）（24 時間以内に組織を実験室に搬送）からヒト右冠動脈を入手した（合計女性 3 名、男性 3 名、年齢 48～62 歳）。[redacted]（[redacted]）から提供された心臓は、移植の目的で大動脈弁及び肺動脈弁が除去されており、循環停止後速やかに滅菌済み臓器保護溶液中に移し、0～4°C で保存されていた。実験室に到着後、右冠動脈の近位部（内径 3～5 mm）及び遠位部（内径 0.5～1 mm）を切断し、酸素（95% O_2/5% CO_2）を通気した Krebs 冷緩衝液中に移した。翌日、肉眼で視認できる明らかなアテローム動脈硬化病変を除き、動脈を長さ 2～4 mm の切片に切断した。酸素を通気し、37°C の Krebs 緩衝液で満たした 15 mL の恒温槽（近位部切片）又は Mulvany ミオグラフ（遠位部切片）に血管切片を固定した。30 分以上にわたり平衡化した後、15 分ごとに洗浄し、近位部切片は約 15 mN（過去の試験で求めた最適な張力）の一定張力になるように、遠位部切片は正規化した張力が I_{100}（壁内外圧差が 100 mmHg のときの動脈径）の 90%になるように引き伸ばした。組織張力の変化を等尺性トランスデューサーで測定した。安定した収縮を誘発するための前処理として、切片を KCl（30 mM）に 1 回（遠位部切片）又は 2 回（近位部切片）曝露した。洗浄後、組織に KCl（100 mM）を曝露し、KCl による最大収縮反応を測定した。30 分間のインキュベーションの後、ラスミジタンヘミコハク酸塩又はスマトリプタンの濃度反応曲線を作成した。収縮は、100 mM KCl による収縮に対する百分率で示した。内皮の機能的完全性を確認するため、トロンボキサン A_2 アナログである U46619（10 nM）による前収縮後のサブスタンス P（10 nM）による弛緩を評価した。濃度反応曲線を解析し、pEC_{50} 値（最大収縮反応 E_{max} 値の 50%の反応を引き起こす濃度の負の対数値）を算出した。濃度反応曲線がプラトーに達しなかった場合は、使用した最高濃度（100 μM）で

得られた反応を E_{max} 値とした。データはいずれも平均値±標準誤差で示した。対応のあるデータの ANOVA で被験薬の集団が異なることが明らかになった場合は、pEC_{50} 及び E_{max} 値の差を Tukey 検定で評価した。p 値が 0.05 未満の場合、有意差ありと判定した。

その結果、ヒト摘出冠動脈において、スマトリプタンによる濃度依存的な収縮が近位部切片［E_{max} 値：39 ± 12%、pEC_{50} 値：6.38 ± 0.28（EC_{50} 値=417 nM）、n=6］及び遠位部切片［E_{max} 値：59 ± 41%、pEC_{50} 値：6.02 ± 0.32（EC_{50} 値=955 nM）、n=6］で認められた（図 2.6.2-11）。一方、ラスミジタンは、検討したいずれの動脈においても 1 nM～100 μM の濃度で収縮を誘発しなかった。冠動脈の近位部及び遠位部でのスマトリプタンによる収縮の程度はラスミジタンよりも有意に大きく、冠動脈遠位部におけるラスミジタンの作用に溶媒との差は認められなかった（冠動脈近位部を用いた試験では溶媒群は設定せず）。

ヒトにスマトリプタンを 100 mg の用量で経口投与及び 6 mg の用量で皮下投与した際の血漿中非結合型 C_{max}（範囲）はそれぞれ 147 nM（80.6～288 nM）及び 204 nM（141～317 nM）であり（IMITREX® Nasal Spray 添付文書 2017）、スマトリプタンの治療用量では、一部のヒトにおいて、スマトリプタンの血漿中濃度が本試験で収縮がみられた濃度に近い濃度に達する可能性がある。一方、ラスミジタンでは、ヒトに臨床最大用量（200 mg）で経口投与した際の非結合型最高血漿中濃度（約 300 nM、LAIE 試験）の約 300 倍の濃度においても、冠動脈の収縮は認められなかった。



データは平均値±標準誤差で示す（n=6）。冠動脈遠位部では溶媒の検討も行った（n=6）。冠動脈の近位部及び遠位部でのスマトリプタンによる収縮の程度はラスミジタンよりも有意に大きかった（$p<0.05$）。

図 2.6.2-11. ヒト冠動脈に対するラスミジタン及びスマトリプタンの作用

2.6.2.3.2.4 ヒト中硬膜動脈に対する作用

報告書 [redacted]1 (4.2.1.2.11)

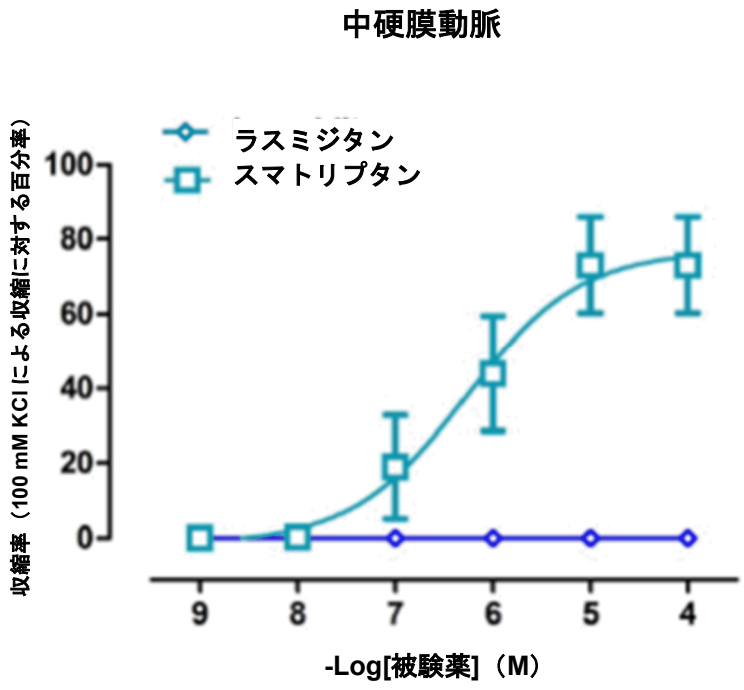
ヒト中硬膜動脈を用いて、ラスミジタンの血管収縮作用の有無を検討した。

中硬膜動脈（内径 0.5～1.5 mm）は、神経外科手術を受けた 6 名の患者（男性 2 名、女性 4 名、12～68 歳）の硬膜から入手した。硬膜を硬膜動脈の小片とともに採取して滅菌済み臓器保護溶液中に移し、直ちに実験室へ搬送した。硬膜及び結合組織を切除し、酸素を通気した Krebs 冷溶液中に移した。動脈は全て同日の機能試験に使用するか又は一晩保存して翌日の機能試験に使用し

た。動脈を長さ 2 mm の切片に切断し、酸素を通気した 37°C の Krebs 緩衝液を満たした Mulvany ミオグラフに固定した。30 分以上にわたり平衡化した後、15 分ごとに洗浄し、正規化した張力が I_{100}（壁内外圧差が 100 mmHg のときの動脈径）の 90%になるように血管切片を引き伸ばした。組織張力の変化を PowerLab ユニット及び LabChart を用いて測定した。安定した収縮を誘発するための前処理として、切片を KCl（30 mM）に曝露した。洗浄後、組織を KCl（100 mM）に曝露し、KCl による最大収縮反応を測定した。30 分間のインキュベーション期間の後、ラスミジタンヘミコハク酸塩又はスマトリプタンの濃度反応曲線を作成した。収縮は、100 mM KCl による収縮に対する百分率で示した。内皮の機能的完全性を確認するため、トロンボキサン A_2 アナログである U46619（10 nM）による前収縮後のサブスタンス P（10 nM）による弛緩を評価した。

その結果、ヒト中硬膜動脈において、スマトリプタンは有意かつ濃度依存的な収縮を誘発した［E_{max} 値：73 ± 13%、pEC_{50} 値：6.33 ± 0.22（EC_{50} 値=468 nM）、n=6］が、ラスミジタンは検討したいずれの濃度においても明らかな収縮を誘発しなかった（図 2.6.2-12）。

ヒトにスマトリプタンを 100 mg の用量で経口投与及び 6 mg の用量で皮下投与した際の血漿中非結合型 C_{max}（範囲）はそれぞれ 147 nM（80.6～288 nM）及び 204 nM（141～317 nM）であり（IMITREX® Nasal Spray 添付文書 2017）、スマトリプタンの治療用量では、一部のヒトにおいて、スマトリプタンの血漿中濃度が本試験で収縮がみられた濃度に近い濃度に達する可能性がある。一方、ラスミジタンでは、ヒトに臨床最大用量（200 mg）で経口投与した際の非結合型最高血漿中濃度（約 300 nM、LAIE 試験）の約 300 倍の濃度においても、中硬膜動脈の収縮は認められなかった。ヒト中硬膜動脈は、疼痛を含む片頭痛の症状に関連する生理学的に重要な解剖学的位置にあることが知られている。したがって、これらのデータから、ラスミジタンの臨床での片頭痛発作抑制効果が中硬膜動脈の血管収縮によるものではないとの仮説が裏付けられる。



データは平均値 ± 標準誤差（n=6）で示す。

図 2.6.2-12. ヒト中硬膜動脈に対するラスミジタン及びスマトリプタンの作用

2.6.2.3.2.5 麻酔ビーグル犬の冠動脈径及び頸動脈径に対する作用

報告書 [redacted]-794-1503 (4.2.1.2.12)

麻酔ビーグル犬にラスミジタンを点滴静注した際の冠動脈径及び頸動脈径に及ぼす作用を評価した。

雌ビーグル犬を麻酔し、冠動脈径及び血流量、左頸動脈径及び血流量、心拍数、並びに全身動脈血圧の測定のための装置を装着した。これらのイヌに溶媒（滅菌生理食塩液：n=6）、ラスミジタンヘミコハク酸塩［0.03、0.1、1、3及び7 mg/kg（用量は遊離塩基として表示）：n=6］又はスマトリプタン（0.03、0.1、1、3及び7 mg/kg：n=6）を漸増投与デザインで総投与期間100分間（20分間の投与を5回）にわたり持続点滴静注（0.1 mL/kg/minで20分間）した。ラスミジタン及びスマトリプタンでそれぞれ 20 分間の注入期間後に得られた累積用量は 0.03、0.13、1.13、4.13 及び 11.13 mg/kg であった。投与期間中、イソフルラン麻酔薬が正常に代謝されるようにするため、イソフルランの量を微量に保ち、体温を正常に維持した。ベースライン値は、投与開始15分前に5分間ずつ測定した3つの値の平均値とした。各血行力学的パラメータは、5用量のそれぞれについて5、10、15及び20分の時点におけるベースラインからの変化を反復測定共分散分析（repeated measure analysis of covariance：RANCOVA）で解析した。非単調用量反応の評価を行った。溶媒投与群対ラスミジタン投与群、溶媒投与群対スマトリプタン投与群の比較をRANCOVAモデルで実施した。また、各時点での比較を、投与及びベースラインを共変量として効果を検討する共分散分析（analysis of covariance：ANCOVA）モデルで実施した。これらの非単調投与群の比較は、有意水準0.01で実施した。有意水準0.01の設定には、解析したパラメータが複数あることを考慮した（p値0.05をパラメータ数8で除すことによりp=0.00625が得られ、これを丸めてp=0.01とした）。ベースラインのデータはANOVAで解析した。モデルの因子には投与を含めた。各累積用量（0.03、0.13、1.13、4.13 及び 11.13 mg/kg）において、20 分の時点（注入終了時）での冠動脈径及び頸動脈径を、スマトリプタン投与群と溶媒投与群、及びラスミジタン投与群と溶媒投与群で比較する post-hoc 検定を行った。2 つのパラメータ（冠動脈径及び頸動脈径）についての RANCOVA では、Bonferroni の補正に基づき、有意水準 0.025 を使用した。有意水準 0.025 の設定には、解析したパラメータがこれら 2 種類であることを考慮した（p 値 0.05 をパラメータ数 2 で除すことにより p=0.025 が得られた）。

その結果、ラスミジタン（最高11.13 mg/kg、臨床用量を上回る用量）により統計学的に有意又は生理学的に意義のある冠動脈径の変化は生じなかった（図 2.6.2-13）。一方、スマトリプタン投与群では、全ての用量において、同時点の溶媒対照群と比較して、統計学的に有意かつ生理学的に意義のある冠動脈径の減少が認められた。この所見は最低用量の 0.03 mg/kg でも認められた（p<0.025）が、スマトリプタン0.03 mg/kgは、ヒトで承認されている最低用量25 mgに相当する用量（70 kg の成人に 25 mg を経口投与し、バイオアベイラビリティが 15%であると想定した場合、0.05 mg/kg となる）を下回る用量である。ラスミジタン投与群では、同時点の溶媒対照群と比較して、統計学的に有意な頸動脈径の変化は認められなかった（図 2.6.2-13）。ラスミジタン投与群の心拍数は試験期間をとおして一定であり、ベースラインからの明らかな変化は認められなかった。スマトリプタンは用量依存的に頸動脈径を減少させたが、冠動脈径よりもばらつきが大きかった。臨床的に意義のあるヒト用量に相当する 0.13 mg/kg 及び治療用量を上回る用量の11.13 mg/kg におけるこれらの動脈径の変化は、溶媒対照群と比較して、統計学的に有意（p<0.025）であった。

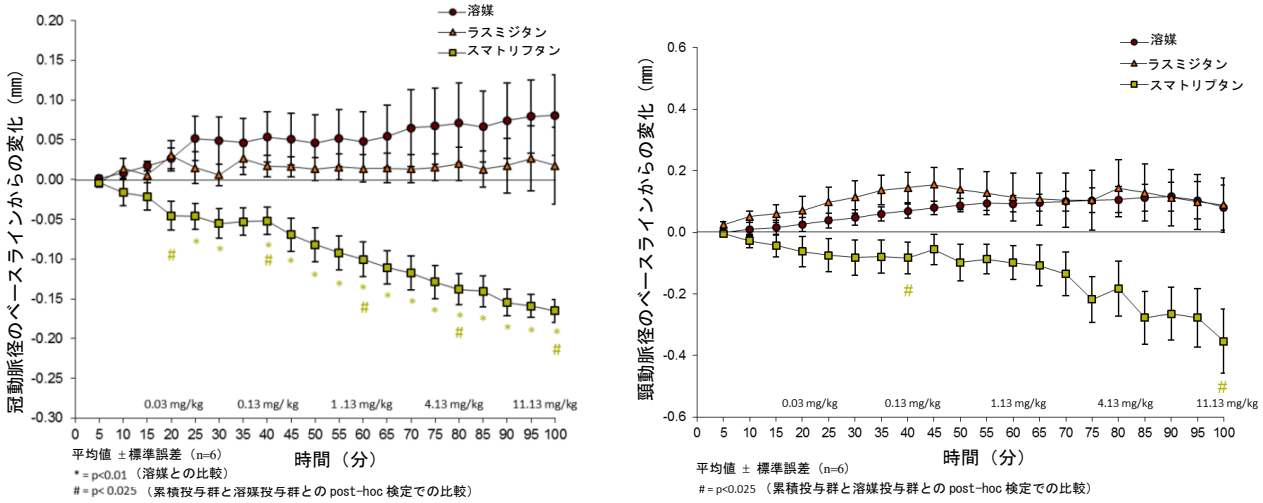


図 2.6.2-13. イヌ冠動脈径（左）及び頸動脈径（右）に対する
ラスミジタン及びスマトリプタンの作用

2.6.2.3.3　アロディニア誘発作用

報告書 NS32-[redacted] (4.2.1.2.13)

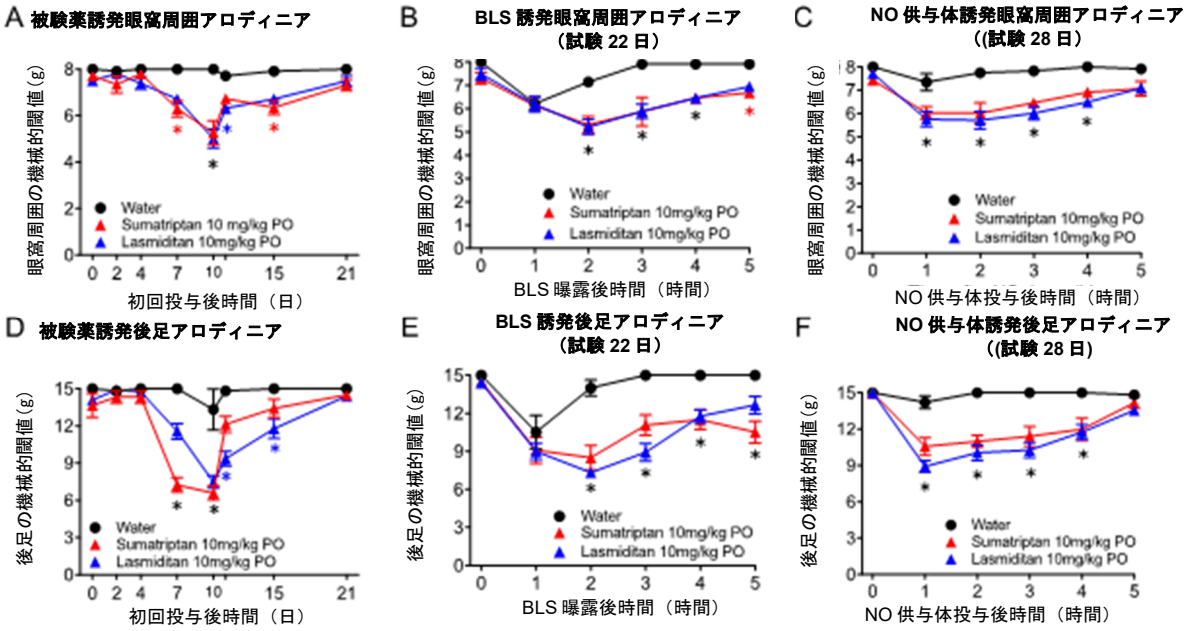
ラットにラスミジタンを反復投与した際に頭部及び後足アロディニアが誘発されるか否か評価した。また、ラスミジタンを前投与したラットが高照度光ストレス（bright light stress：BLS）又は NO 供与体の処理によりアロディニアを再発するか否かも評価した。片頭痛の治療に用いられる医薬品の一部（スマトリプタン、オピオイド）は臨床で薬物乱用頭痛（medication overuse headache：MOH）を誘発することが知られているが、これらの薬剤は本モデルで作用を示す。そのため、本モデルは MOH の非臨床モデルとして提唱されている（De Felice et al. 2010）。

雄 Sprague Dawley ラットに、ラスミジタンヘミコハク酸塩 10 mg/kg（用量は遊離塩基として表示、n =12）、スマトリプタン 10 mg/kg（n=6）又は精製水（n=6）を試験 0、2、4、7、10 及び 11 日に経口投与した。被験薬投与前（ベースライン）及び投与後 21 日間にわたり眼窩周囲及び後足の機械的アロディニアを von Frey モノフィラメントを用いて測定した。von Frey 試験では、陽性反応が得られるまで機械的刺激を徐々に増加させた後、陰性結果が得られるまで減少させた。行動変化が 3 回みられるまでこれを繰り返した（「上げ下げ」法）（Chaplan et al. 1994）。50% 足逃避閾値を$[10^{(Xf+k\delta)}]/10000$（Xf＝最後に使用した von Frey フィラメントの値、k＝陽性／陰性パターンの Dixon 値、及び δ＝刺激間の差の対数値）として算出した。ラットにおけるカットオフ値は下限が 0.2 g、上限が 15 g であった（5.18 フィラメント）。機械的刺激の閾値がベースラインレベルまで戻った試験 21 及び 22 日に、それぞれ 1 時間ずつ非拘束下で BLS に曝露した。試験 22 日の BLS 曝露後 5 時間にわたり眼窩周囲及び後足の機械的アロディニアを測定した。試験 28 日に NO 供与体（ニトロプルシドナトリウム、3 mg/kg 腹腔内投与）を投与した。NO 供与体投与後 5 時間にわたり顔面及び後足の機械的アロディニアを測定した。二元配置反復測定 ANOVA 後、Tukey の事後多重比較検定を行い、投与群間の有意差を解析した。$p<0.05$ を統計学的に有意と判断した。データは平均値 ± 標準誤差で示した。

ラスミジタンの反復経口投与により、スマトリプタン誘発アロディニアと同様の一過性の後足及び眼窩周囲アロディニアが誘発され、試験 21 日までに回復した（ラスミジタン（10 mg/kg）又はスマトリプタン（10 mg/kg）を反復投与すると眼窩周囲（A）及び後足（D）アロディニアが誘

発され、試験 21 日までに回復した。高照度光ストレスへの曝露を試験 21 及び 22 日に計 2 回行うと、ラスミジタン又はスマトリプタンでプライミングを行ったラットに眼窩周囲（B）及び後足（E）アロディニアが再発した。試験 28 日に NO 供与体を投与すると、ラスミジタン又はスマトリプタンでプライミングを行ったラットに眼窩周囲（C）及び後足（F）アロディニアが再発した。図 2.6.2-14）。ラスミジタンでプライミングを行ったラットに試験 21 及び 22 日に計 2 回 BLS 曝露を行ったとき、後足及び眼窩周囲アロディニアが誘発され、これは 4～5 時間持続した。スマトリプタンでプライミングを行ったラットにおける BLS 誘発アロディニアとの統計学的な差は認められなかった。各動物にニトロプルシドナトリウムを試験 28 日に投与したところアロディニアが誘発されたことから、ラスミジタン又はスマトリプタンでプライミングすると感作状態が長期間持続することが示された。

以上、スマトリプタンと同様に、ラスミジタンはラットに反復投与した際に頭部及び後足アロディニアを誘導した。しかしながら、本モデルは MOH の非臨床モデルとして提唱されているものの、陰性対照として使用可能な急性期片頭痛治療薬は存在せず、本げっ歯類モデルの予測的妥当性は完全には確立していない。また、別の制限として、本モデルは MOH に関連性にある頭痛の頻度を評価するものではなく、体外のストレス要因により誘発されるアロディニアを評価するものであることが挙げられる。そのため、本モデルで得られた結果が臨床でのラスミジタンの MOH 誘発傾向を反映するか否かは明らかではない。



平均値 ± 標準誤差、n = 6～12。*スマトリプタン投与群及びラスミジタン投与群の両方が精製水投与群との比較で有意差あり（p<0.05）。*スマトリプタン投与群のみが精製水投与群との比較で有意差あり（p<0.05）。*ラスミジタン投与群のみが精製水投与群との比較で有意差あり（p<0.05）。
略語：BLS = 高照度光ストレス、NO = 一酸化窒素、PO = 経口

ラスミジタン（10 mg/kg）又はスマトリプタン（10 mg/kg）を反復投与すると眼窩周囲（A）及び後足（D）アロディニアが誘発され、試験 21 日までに回復した。高照度光ストレスへの曝露を試験 21 及び 22 日に計 2 回行うと、ラスミジタン又はスマトリプタンでプライミングを行ったラットに眼窩周囲（B）及び後足（E）アロディニアが再発した。試験 28 日に NO 供与体を投与すると、ラスミジタン又はスマトリプタンでプライミングを行ったラットに眼窩周囲（C）及び後足（F）アロディニアが再発した。

図 2.6.2-14. ラットにラスミジタン又はスマトリプタンでプライミングを行った際の眼窩周囲及び後足アロディニア

2.6.2.4 安全性薬理試験

ラスミジタンの安全性薬理試験として in vitro hERG アッセイ、イヌを用いた心血管系安全性薬理試験、マウスを用いた CNS 安全性薬理試験、並びにラットを用いた呼吸系及び腎臓系安全性薬理試験を実施した。ラスミジタンは経口製剤であるが、開発初期には静脈内投与製剤として開発されたため、安全性薬理試験はいずれも静脈内投与で実施した。ラット及びイヌにおいて投与経路の違いによる血漿中代謝物プロファイルに明らかな違いは認められなかった（CTD 第 2.6.4.5.2 項参照）。安全性薬理試験は ICH S7 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）に準拠して計画し、実施したが、例外として 2 つの hERG アッセイ［報告書 LLY01_21（20[redacted] 年実施）及び 100127.DME］は、実施施設の標準操作手順書に従って GLP 非適用下で実施した。hERG アッセイにはラスミジタン塩酸塩を使用し、その他の安全性薬理試験にはラスミジタンヘミコハク酸塩を使用した。ラスミジタン静脈内投与液は、生理食塩液（注射用 0.9%塩化ナトリウム）で調製した。

2.6.2.4.1 心血管系

2.6.2.4.1.1 In vitro hERG 試験

報告書 LLY01_21 (4.2.1.3.1), 100127.DME (4.2.1.3.2), 090731.DME (4.2.1.3.3)

hERG を発現させたヒト胎児腎臓由来 HEK-293 細胞株を用いてラスミジタン及びその代謝物［M7、M8、(S,S)-M18 及び(S,R)-M18］の hERG チャネル電流（I_{Kr}、急速活性型遅延整流心臓カリウム電流）阻害作用を検討した。陽性対照薬（テルフェナジン）及び対照物質（E-4031）処理群を設け、背景データとの一貫性により試験の妥当性を確認した。

ラスミジタンを 0.1、0.3、1、3、10 及び 100 μM の濃度範囲で処理したとき、1 μM 以上の濃度で濃度依存的に hERG チャネル電流を阻害し、その IC_{50} 値は 3.1 μM であった（報告書 LLY01_21）。M7 及び M8 は 10、30、100 及び 300 μM で濃度依存的に hERG チャネル電流を阻害し、その IC_{50} 値はそれぞれ 129.8 μM 及び 40.2 μM であった（報告書 090731.DME）。(S,S)-M18 は 10、30 及び 100 μM の濃度範囲で 50%を超える hERG チャネル電流阻害作用を示さず、IC_{50} 値は 100 μM 超であった（報告書 100127.DME）。(S,R)-M18 は検討した最高濃度である 30 μM で hERG 電流を 9.0%阻害した。溶解度の限界のため、より高濃度での検討は不可能であった。したがって、IC_{50} 値は 30 μM 超であった（報告書 090731.DME）。

2.6.2.4.1.2 イヌを用いた in vivo 単回投与心血管系試験

報告書 DV0302 (4.2.1.3.4)

ビーグル犬（雄 2 例、雌 6 例）にラスミジタンを 0、0.6、2 又は 6 mg/kg の用量で 20 分間かけて単回点滴静注し、心血管系への影響を評価した。用量は予定臨床用量を含む範囲に設定し、乱塊法（ラテン方格法）により投与した。テレメトリー装置はイヌの腹腔内に外科的に埋め込み、留置カテーテルを心臓の左心室及び腹大動脈に挿入した。投与前約 60 分から投与後 24 時間まで左室変力状態、全身動脈血圧、心拍数及び心電図を覚醒下で測定した。

6 mg/kg 投与群において心拍数のごく軽度な増加（12 回／分）が投与後 20～120 分に認められたが、約 10%の軽度な変化であった。左室変力作用、心電図並びに収縮期、拡張期及び平均動脈血圧に投与に関連した変化は認められなかった。以上より、本試験における NOAEL は最高用量の 6 mg/kg と判断した。

2.6.2.4.2 中枢神経系

報告書 PN0216 and PN0217 (4.2.1.3.5)

雄 CD-1 マウス（9 又は 10 例／群）にラスミジタンを急速静脈内投与し、一連の薬理学的検査により行動及び CNS への影響を評価した。予備試験（PIN0216）において、ラスミジタンを 0、1、4 及び 12 mg/kg の用量で投与し自発運動量を測定した結果、12 mg/kg で投与後 15 分における歩行活動量並びに投与後 15 及び 30 分における非歩行活動量が有意に減少したことから、本試験（PIN217）の用量は予備試験と同じ用量に設定した。聴覚性驚愕反応の評価については用量反応曲線を作成するため、0.1 mg/kg の用量を追加した。

12 mg/kg 群では、投与後 5 及び 30 分に、一般状態観察において活動量の低下が認められ、深部体温が有意に低下した。また同群では電気ショック及びペンチレンテトラゾールにより誘発した

痙攣閾値が上昇した。ヘキソバルビタール誘発睡眠時間への影響は認められなかったことから、ラスミジタンはヘキソバルビタール代謝に関与する肝酵素を阻害しないことが示唆された。

握力の評価において、ラスミジタンによる筋機能への影響は認められなかった。聴覚性驚愕反応の評価では、全ての用量で聴覚刺激に対する感覚運動反応が有意に増加した。12 mg/kg 群では酢酸の腹腔内投与により誘発したライジングの回数が有意に減少したことから、ラスミジタンが高用量で疼痛感受性を低下させる可能性が示された。

以上、ラスミジタンは聴覚刺激に対する感受性を増加させ、高用量（12 mg/kg）では鎮痛、鎮静及び体温低下を引き起こす可能性が示唆されたほか、痙攣閾値の上昇が認められた。ラスミジタンを静脈内投与したときの聴覚刺激に対する感受性に関する無影響量（no-observed-effect level：NOEL）は 0.1 mg/kg 未満であり、その他の CNS 及び行動評価に関する NOEL は 4 mg/kg であった。

2.6.2.4.3 呼吸系

報告書 MN103025 (4.2.1.3.6)

雄 Sprague Dawley ラット（8 例／群）にラスミジタンを 0、1、4 又は 12 mg/kg の用量で単回急速静脈内投与したときの呼吸系への影響の有無を評価した。投与は 20 分間かけて点滴静注し、投与前（Day 1）、投与開始 6 時間後（Day 1）及び投与約 24 時間後（Day 2）に全身プレスチモグラフを用いて拘束下で呼吸数、1 回換気量及び分時換気量を測定した。

いずれの用量においても明らかなパラメータの変化は認められなかったことから、NOEL は最高用量の 12 mg/kg であった。

2.6.2.4.4 腎臓系

報告書 R04902 (4.2.1.3.7)

雌 Fischer 344 ラット（8 例／群）にラスミジタンを 0、1、4 又は 12 mg/kg の用量で単回静脈内投与し、腎機能及び水分／電解質排泄に対する影響を評価した。ラスミジタン投与後速やかに注射用 0.9%塩化ナトリウムを 25 mL/kg の用量で経口投与し、約 5 時間にわたり尿を採取した。尿量、pH、ナトリウム量、カリウム量、クロール量、クレアチニン量、浸透圧及び尿中酵素活性［γ-グルタミルトランスフェラーゼ（γ-GTP）及び乳酸脱水素酵素（lactate dehydrogenase：LDH）］を測定し、ナトリウム、カリウム、クロール及びクレアチニンの総排泄量、並びにクレアチニンクリアランス及びナトリウム排泄率を算出した。また、尿中クレアチニンに対する尿中 γ-GTP 及び LDH の活性の比を算出した。尿採取後、血液検体を採取し、血清クレアチニン、ナトリウム、カリウム及び浸透圧を測定した。

ラスミジタンの投与による腎機能への有害な影響は認められなかった。ラスミジタン投与に関連する腎機能への影響として、全ての用量で尿 pH 及び尿中電解質排泄のおおむね用量依存的な軽微～ごく軽度の増加が認められ、希釈尿産生が認められた。しかしながらいずれも軽度の変化で投与群内の全ての個体で一貫して認められたわけではなく、血清電解質の変化を伴っていなかったことから毒性変化ではないと判断し、本試験の NOAEL は最高用量の 12 mg/kg 以上、NOEL は 1 mg/kg 未満であった。

2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用

該当なし

2.6.2.6 考察及び結論

2.6.2.6.1 薬効薬理試験

一連の効力を裏付ける試験においてラスミジタンの in vitro 及び in vivo 作用を評価した。In vitro 結合試験において、ラスミジタンはヒト 5-HT_{1F} 受容体に高い親和性と選択性を示し、トリプタン系薬剤の血管収縮作用に関連している 5-HT_{1B} 受容体と比較して 5-HT_{1F} 受容体に 440 倍以上の高い親和性を示した。ラスミジタンはヒト 5-HT_{1F} 受容体に強力な作動活性を示した。ラスミジタンはマウス、ラット、ウサギ及びイヌの 5-HT_{1F} 受容体にも高い効力と選択性を示したことから、これらの動物を非臨床試験に使用することの妥当性が確認された。ラスミジタンの主要代謝物は、ヒト 5-HT_{1F} 受容体を含む全ての 5-HT 受容体サブタイプに薬理活性を示さなかった。その他の代謝物のマウス、ラット、ウサギ及びイヌ 5-HT 受容体への結合は、やや弱い又は全く認められなかった。

片頭痛に関連する非臨床モデルにおいて、ラスミジタンは三叉神経の侵害受容を阻害した。即ち、3 種のげっ歯類三叉神経活性化モデルにおいて、ラスミジタンは、1）硬膜での血漿タンパク血管外漏出（三叉神経刺激による神経性炎症モデル）、2）三叉神経尾側核での c-Fos 誘導（三叉神経侵害受容の中枢伝達モデル）、及び 3）三叉神経血管侵害受容伝達（硬膜刺激による三叉神経血管侵害受容モデル）に対する阻害作用を示した。

以上の結果から、ラスミジタンを片頭痛の急性期治療薬として開発することの妥当性が得られた。

2.6.2.6.2 副次的薬理試験

副次的薬理試験においてラスミジタンの選択性を評価した。52 種の神経伝達物質関連受容体、イオンチャネル、セカンドメッセンジャー、並びに脳／腸ペプチドに対するラスミジタンの結合能を評価したところ、$GABA_A$ 受容体ベンゾジアゼピン結合部位を除き、1 又は 10 μM までの濃度で明らかな結合能は認められなかった。ラスミジタンは $GABA_A$ 受容体ベンゾジアゼピン結合部位に親和性を示したが、5-HT_{1F} 受容体への親和性との乖離の程度から、臨床曝露量では影響を及ぼさないと考えられた。また、$GABA_A$ α サブユニットの種々のアイソフォームに対するラスミジタン及びその代謝物の活性を評価したところ、100 μM までの濃度で作動活性及び拮抗活性は認められなかった。ラスミジタン及びその代謝物は、ヒトドパミントランスポーター並びにヒト及びラット CB1 及び CB2 受容体に結合せず、これらの分子が関与する薬物乱用性を示す可能性は低いことが示された。

血管収縮作用を評価した副次的薬理試験において、ラスミジタンは一貫して血管収縮作用を示さなかった。5-HT 作動薬に対するウサギ伏在静脈の反応性には、ヒト冠血管及びヒト脳血管の反応性との高い類似性が認められること（Cohen et al. 1997）から、ウサギ伏在静脈を用いてラスミジタンの血管収縮作用を評価した。ラスミジタンは、スマトリプタンとは異なり、ウサギ伏在静脈の収縮を誘発しなかった。また、犬の冠動脈及び頸動脈を用いた in vivo モデル、並びにヒト内胸動脈、ヒト冠動脈及びヒト中硬膜動脈を用いた評価においても、ラスミジタンは、スマトリプタンとは異なり、臨床用量（濃度）を超える用量（濃度）でも血管収縮作用を示さなかった。

以上の結果から、ラスミジタンがオフターゲット作用を示す可能性は低いことが示された。

2.6.2.6.3 安全性薬理試験

一連の安全性薬理試験により、ラスミジタンを単回静脈内投与したときの心血管系、CNS、呼吸系及び腎機能に対する影響の有無を検討した。また臨床最大用量（200 mg）をヒトに投与したときの C_{max} と、安全性薬理試験の NOAEL 又は NOEL における推定曝露量を比較した（表 2.6.2-15）。

hERG チャネル電流阻害作用を in vitro で評価した結果、その IC_{50} 値（3.1 μM = 1170 ng/mL）は臨床最大用量（200 mg）投与時の $C_{max,u}$ の約 10 倍であり（表 2.6.2-14）、臨床使用時に hERG チャネル電流が阻害される可能性は低いと考えられた。ヒトにおける主要代謝物［M7、M8 及び(S,R-M18)］の hERG チャネル電流阻害作用はラスミジタンよりもさらに弱く、その IC_{50} 値はいずれも、ヒトにラスミジタンを 400 mg の用量で投与したときの代謝物の $C_{max,u}$[1]と比較して 35 倍超であった。In vitro hERG 試験の結果より、ラスミジタンを臨床最大用量でヒトに投与したときに QT 延長を示す可能性は低いと考えられた（Hazell et al. 2017）。心血管系安全性薬理試験において、テレメトリーを装着した覚醒イヌに単回静脈内投与したとき、最高用量の 6 mg/kg において、投与 20～120 分後にわたって心拍数がごく軽度に増加したが、心血管系機能への重大な影響は認められなかった。イヌに 6 mg/kg を静脈内投与したときのラスミジタンの $C_{max,u}$ はヒトに 200 mg を投与したときの 6.6 倍と推定された（表 2.6.2-14）。なおイヌ 39 週間毒性試験では、高用量群で ECG の変化（QTc 及び QRS 間隔延長）が認められたが（CTD 第 2.6.6.3.3.5 項）、このときの C_{max} 及び $C_{max,u}$ はそれぞれ臨床最大用量の 11 倍及び 14 倍に相当する（表 2.6.2-14）。以上の結果より、ラスミジタンを臨床最大用量でヒトに投与したとき、QT 延長を含め心血管系に重大な安全性上の懸念を示す可能性は低いと考えられた。なお、ラスミジタンの第 1 相 thorough QT 試験（H8H-CD-LAHP）において健康被験者に 400 mg までの用量を投与したとき、明らかな心室再分極の遅延は認められなかった（CTD 第 2.7.2.2.2.6 項）。

[1] マスバランス試験（H18H-MC-LAHE 試験）においてラスミジタンをヒトに 400 mg/kg の用量で投与したときの Day 1 における M7、M8、(S,S)-M18、及び(S,R)-M18 の C_{max}（CTD 第 2.7.2.5.2.6 項）及び各代謝物の非結合型分率（f_u）（CTD 第 2.7.2.2.1.1 項）に基づき算出。

表 2.6.2-14 hERG 試験の IC_{50} 値又はイヌでの $C_{max,u}$ とヒトでの $C_{max,u}$ を比較した曝露量比

	C_{max} (ng/mL)	$C_{max,u}$ (ng/mL)	曝露量比
ヒト、200 mg 経口	249 [a]	112	-
hERG 試験 IC_{50} 値(ng/mL) [b]	NA	1170	10
イヌ（心血管系安全性薬理試験） 6 mg/kg IV [c]	1277	741	6.6
イヌ（39 週間毒性試験） 50/40 mg/kg PO [d]	2776	1610	14

略号：C_{max}=最高血漿中濃度、$C_{max,u}$ = 非結合型最高血漿中濃度［ラスミジタンの非結合型分率（f_u）はヒトで 0.45、イヌで 0.58 として算出（CTD 第 2.7.2.2.1.1 項）］、hERG＝ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子、IC_{50}＝50%阻害濃度、IV＝静脈内、NA＝該当せず、PO＝経口。曝露量比＝（動物における $C_{max,u}$）/（ヒトにおける $C_{max,u}$）

a. ヒト：H8H-JE-LAIE において日本人健康被験者に 200 mg の用量で単回経口投与したときの曝露量（CTD 第 2.7.2.5.2.1 項）。

b. hERG 試験（LLY 01_21）。

c. イヌ心血管系安全性薬理試験（DV0302）。イヌ 2 週間静脈内投与試験（57494）における投与 1 日目の C_{max}（雌雄平均値）に基づき曝露量を推定した。

d. イヌ 39 週間毒性試験（8204494）の投与 39 週における C_{max}（雌雄平均値）。状態悪化のため投与 25 日目（雌）又は 30 日目（雄）から 40 mg/kg に減量した。

ラスミジタン投与によりラット呼吸機能への影響は認められなかった。

CNS 安全性薬理試験では、ラスミジタン投与により CNS に関する抑制性（自発運動の低下、歩行活動の減少、痙攣閾値の上昇など）と興奮性（聴覚刺激に対する感受性の増加など）の両方の一般状態が認められた。CNS に関連した一般状態の変化は毒性試験においても全ての動物種で認められたが、痙攣などの重篤な症状は、ヒトに臨床最大用量の 200 mg を経口投与したときの 10 倍超に相当する高い C_{max} が得られる用量でのみ発現した（CTD 第 2.6.6.9 項）。臨床試験においてラスミジタン投与に関連した平衡障害や振戦などCNS関連の有害事象が報告されているが、ラスミジタン投与に関連した痙攣は報告されていない（CTD 第 2.7.4.2.1.4 項）。またラスミジタン投与により、運転能力への影響を評価した臨床試験のうち、H8H-MC-LAHG 試験では、投与から約 1.5 時間後（t_{max} 付近）の模擬運転で運転能力に障害が認められたが、H8H-MC-LAIF 試験では、ラスミジタン投与から 8、12 及び 24 時間後の模擬運転で臨床的に意味のある障害は認められなかった（CTD 第 2.7.4.5.8 項）。第 3 相及び第 2 相試験では交通事故関連データの収集及び関連する個別症例情報が限られていることから、評価及び結論は限定的であった。

腎臓系安全性薬理試験において、ラットにラスミジタンを単回投与したとき、ラスミジタン投与に関連した軽度な腎機能への影響は認められたものの、腎機能の毒性変化は認められなかった。ラットの毒性試験においてラスミジタンを反復経口投与したとき、腎臓では臨床検査値の変化を伴う病理組織学的変化が認められたが、加齢により自然発生するラット特異的な慢性進行性腎症が長期投与により悪化したものであり、臨床最大用量を超える曝露量においてのみ認められたことから、ヒトへの外挿性は低いと考えられた（CTD 第 2.6.6.9 項）。

以上、安全性薬理試験成績から、臨床最大用量の 200 mg 投与時に、臨床上問題となる安全性上の懸念は示されなかった。

表 2.6.2-15 安全性薬理パラメータに関する Cmax 曝露量及び動物：ヒト Cmax 曝露量比

安全性薬理試験	NO(A)EL (mg/kg, IV)	C_{max} (ng/mL)	曝露量比 [a]
ヒト、200 mg、経口 [b]	-	249	-
イヌ心血管系安全性薬理試験（DV0302）	6	1277 [c]	5.1
マウス CNS 安全性薬理試験（PN0216 and PN0217）	4 [d]	利用可能な曝露量データなし	-
ラット呼吸系薬理試験（MN103025）	12	894 [e]	3.6
ラット腎臓系薬理試験（R04902）	12	894 [e]	3.6

略号：NO(A)EL = 無影響量又は無毒性量

[a] 曝露量比 =（動物における C_{max}）/（ヒトにおける C_{max}）。

[b] H8H-JE-LAIE において日本人健康被験者に 200 mg の用量で単回経口投与したときの曝露量（CTD 第 2.7.2.5.2.1 項）。

[c] イヌ 15 日間静脈内投与試験（57494 試験）における投与 1 日目の C_{max}（雌雄平均値）に基づく推定値。

[d] 聴覚刺激に対する作用を除く CNS 症状に関する NOEL。

[e] ラット 2 週間静脈内投与試験（57493 試験）における投与 1 日目の C_{max}（雌雄平均値）に基づく推定値。

2.6.2.6.4 結論

ラスミジタンの薬理作用及び安全性を評価した非臨床薬理試験結果から、ラスミジタンは、血管収縮に関連した安全性上の懸念がより少ない新たな治療選択肢を片頭痛患者に提供するものと期待される。

2.6.2.7 図表

図表は該当する項に記載した。

2.6.2.8 参考文献

Ahn SK, Khalmuratova R, Jeon SY, Kim JP, Park JJ, Dong Gu Hur, et al. Colocalization of 5-HT_{1F} receptor and calcitonin gene-related peptide in rat vestibular nuclei. *Neuroscience Letters*. 2009;465:151-156.

Barker JE, Anderson J, Treasure T, Piper PJ. Influence of endothelium and surgical preparation on responses of human saphenous vein and internal thoracic artery to angiotensin II. *Br J Clin Pharmacol*. 1994;38(1):57-62.

Chaplan SR, Bach FW, Pogrel JW, Chung JM, Yaksh TL. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw. *J Neurosci Methods* 1994;53(1):55-63.

Cohen ML, Johnson KW, Schenck KW, Phebus LA. Migraine therapy: relationship between serotonergic contractile receptors in canine and rabbit saphenous veins to human cerebral and coronary arteries. *Cephalalgia*. 1997;17(6):631-638.

De Felice M, Ossipov MH, Wang R, Lai J, Chichorro J, Meng I, et al. Triptan-induced latent sensitization a possible basis for medication overuse headache. *Ann Neurol*. 2010;67:325-337.

Goadsby PJ. The vascular theory of migraine—a great story wrecked by the facts. *Brain.* 2009;132(Pt 1):6-7.

Goadsby PJ. Pathophysiology of migraine. *Ann Indian Acad Neurol*. 2012;15(suppl 1):S15-S22.

Hazell L, Raschi E, De Ponti F, Thomas SHL, Salvo F, Helgee EA, et al. Evidence for the hERG liability of antihistamines, antipsychotics, and anti-infective agents: a systematic literature review from the ARITMO project. *J Clin Pharmacol.* 2017;57(5):558-572.

Humphrey PPA, Feniuk W, Perren MJ, Beresford IJM, Skingle M, Whalley ET. Serotonin and migraine. *Ann NY Acad Sci*. 1990;600:587-598.

IMITREX® (sumatriptan) Nasal Spray [package insert]. Research Triangle Park, NC: GlaxoSmithKline; 2017.

Kaube H, Keay KA, Hoskin KL, Bandler R, Goadsby PJ. Expression of c-fos-like immunoreactivity in the caudal medulla and upper cervical spinal-cord following stimulation of the superior sagittal sinus in the cat. *Brain Res*. 1993;629:95-102.

Mitsikostas DD, Tfelt-Hansen P. Targeting to 5-HT_{1F} receptor subtype for migraine treatment: lessons from the past, implications for the future. *Cent Nerv Syst Agents Med Chem*. 2012;12(4):241-249.

Neeb L, Meents J, Reuter U. 5-HT_{1F} receptor agonists: a new treatment option for migraine attacks? *Neurotherapeutics*. 2010;7(2):176-182.

Nilsson T, Longmore J, Shaw D, Olesen IJ, Edvinsson L. Contractile 5-HT_{1B} receptors in human cerebral arteries: pharmacological characterization and localization with immunocytochemistry. *Br J Pharmacol*. 1999;128(6):1133-1140.

Nozaki K, Boccalini P, Moskowitz MA. Expression of c-fos-like immunoreactivity in brainstem after meningeal irritation by blood in the subarachnoid space. *Neuroscience*. 1992;49(3):669-680.

Ramadan NM, Skljarevski V, Phebus LA, Johnson KW. 5-HT_{1F} receptor agonists in acute migraine treatment: a hypothesis. *Cephalalgia*. 2003;23(8):776-85.

Schuster NM, Rapoport AM. Calcitonin gene-related paptide-targeted therapies for migraine and cluster headache: a review. *Clinical Neuropharmacology*. 2017;40(4):169-174.

Shepheard SL, Williamson DJ, Williams J, Hill RG, Hargreaves RJ. Comparison of the effects of sumatriptan and the NK_1 antagonist CP- 99,994 on plasma extravasation in dura mater and c-fos mRNA expression in trigeminal nucleus caudalis of rats. *Neuropharmacology*. 1995;34(3):255-261.

レイボー錠 50mg
レイボー錠 100mg

2.6.3　薬理試験概要表

日本イーライリリー株式会社

目次

2.6.3. Pharmacology Tabulated Summary 1
2.6.3.1. Pharmacology: Overview 1
2.6.3.2. Primary Pharmacodynamics (See the Pharmacology Written Summary, Module 2.6.2.2) 5
2.6.3.3. Secondary Pharmacodynamics (See the Pharmacology Written Summary, Module 2.6.2.3) 5
2.6.3.4. Safety Pharmacology 6
2.6.3.5. Pharmacodynamic Drug Interactions (Not Applicable) 8

2.6.3. Pharmacology Tabulated Summary

Note: Lasmiditan is also referred to as LY573144 or COL-144 in some study reports.

2.6.3.1. Pharmacology: Overview

Type of Study	Test System	Route	Testing Facility	Document ID	Section #
Primary Pharmacodynamics					
Radioligand binding assays	Cloned human 5-HT receptors	In vitro	Eli Lilly and Company Indianapolis, Ind ana, USA	CNS571	4.2.1.1.1
Radioligand binding assays and cAMP functional assays	Cloned human 5-HT receptors	In vitro	[redacted], Belgium	CLP-005c	4.2.1.1.2
Radioligand binding assays of lasmiditan and metabolites	Human, mouse, rat, dog, and rabbit 5-HT receptors	In vitro	[redacted] Belgium	CLP-002e-HTR	4.2.1.1.3
[^{35}S]GTPγS binding assay of functional activity	Cloned human 5-HT$_1$ receptors	In vitro	Eli Lilly and Company Indianapolis, Indiana, USA	CNS558	4.2.1.1.4
Radioligand binding assays of lasmiditan metabolites	Cloned human 5-HT receptors	In vitro	Eli Lilly and Company Indianapolis, Indiana, USA	PM73	4.2.1.1.5
Stimulation-induced dural plasma protein extravasation	Rat, Wistar	IV and oral	Eli Lilly and Company Indianapolis, Indiana, USA	CNS574	4.2.1.1.6
Stimulation-induced dural plasma protein extravasation	Rat, Sprague Dawley	Oral	Eli Lilly and Company Indianapolis, Indiana, USA	NS22	4.2.1.1.7
Stimulation-induced c-Fos expression	Rat, Sprague Dawley	Oral	Eli Lilly and Company Indianapolis, Indiana, USA	CNS549	4.2.1.1.8
Trigeminovascular nociception	Rat, Sprague Dawley	IV	[redacted], UK	[redacted]-TCC	4.2.1.1.9
KCl-stimulated CGRP release from ex-vivo dura mater, trigeminal ganglion and trigeminal nucleus caudalis	Mice, C57BL/6J	Ex-vivo	[redacted], The Netherlands	NS23-[redacted]2	4.2.1.1.10
Vasodilation of dural artery induced by electrical stimulation and capsaicin	Rat, Sprague Dawley	IV	[redacted], The Netherlands	NS23-[redacted]2	4.2.1.1.10

(continued)

2.6.3.1 Pharmacology: Overview (continued)

Type of Study	Test System	Route	Testing Facility	Document ID	Section #
Secondary Pharmacodynamics					
Isolated tissue bath assays and receptor binding assays [a]	Isolated Tissue: Hartley guinea pigs (ileum and atria) Receptor Binding: Sprague Dawley (SD) rat brain tissue (striatum, cortex, and whole brain minus cerebellum) and Duncan Hartley (DH) guinea pig brain tissue (cerebellum)	In vitro	Eli Lilly and Company Greenfield, Indiana, USA	PR0206	4.2.1.2.1
Radioligand binding assays of lasmiditan	Panel of 52 neurotransmitter-related receptors and sites, ion channels, second messengers, and brain/gut peptides	In vitro	[redacted]	TO-01-7796	4.2.1.2.2
Radioligand binding assays of metabolite M7	Panel of neurotransmitter-related receptors and sites, ion channels, second messengers, and brain/gut peptides	In vitro	[redacted], Taiwan	1120682	4.2.1.2.3
Radioligand binding assays of metabolite (S,R)-M18	Panel of neurotransmitter-related receptors and sites, ion channels, second messengers, and brain/gut peptides	In vitro	[redacted], Taiwan	1120683	4.2.1.2.4
Radioligand binding assays of metabolite M8	Panel of neurotransmitter-related receptors and sites, ion channels, second messengers, and brain/gut peptides	In vitro	[redacted], Taiwan	1120681	4.2.1.2.5
Patch clamp assays to characterize potentiation of $GABA_A$ current	Human cloned $GABA_A$ channel ($\alpha1\beta2\gamma2$)	In vitro	[redacted], USA	100304.DME	4.2.1.2.6

(continued)

2.6.3.1 Pharmacology: Overview (continued)

Type of Study	Test System	Route	Testing Facility	Document ID	Section #
Secondary Pharmacodynamics (continued)					
Whole cell recordings for lasmiditan and metabolites M3 and M7	HEK293 cells expressing $GABA_A$ isoforms ($\alpha1/\beta3/\gamma2$, $\alpha2/\beta3/\gamma2$, $\alpha3/\beta3/\gamma2$, $\alpha4/\beta3/\gamma2$, $\alpha5/\beta3/\gamma2$)	In vitro	[redacted], USA	160217.DME	4.2.1.2.7
Radioligand binding assays of lasmiditan and metabolites	Human and rat cannabinoid receptors (CB1 and CB2)	In vitro	[redacted], Belgium	CLP-002e-CBR	4.2.1.2.8
Radioligand binding assays for lasmiditan and metabolites	Chinese hamster ovary (CHO) cells expressing human dopamine transporter	In vitro	[redacted], Italy	VDD4179-2016	4.2.1.2.9
Contraction of ex vivo tissue	Rabbit, New Zealand white; saphenous vein	Ex vivo	Eli Lilly and Company Indianapolis, Indiana, USA	CNS568	4.2.1.2.10
Contraction of ex vivo tissue	Human isolated internal mammary, coronary, and middle meningeal arteries	Ex vivo	[redacted] The Netherlands	[redacted]1	4.2.1.2.11
Measurement of coronary and carotid artery diameter [b]	Anesthetized Beagle dogs	IV	[redacted], USA	[redacted]-794-1503	4.2.1.2.12
Transient cephalic and hindpaw allodynia	Rat, Sprague Dawley	Oral	[redacted], USA	NS-32-[redacted]	4.2.1.2.13

(continued)

2.6.3.1 Pharmacology: Overview (continued)

Type of Study	Test System	Route	Testing Facility	Document ID	Section #
Safety Pharmacology					
Cardiovascular Ion Channel	HEK 293 cells transfected with hERG clone	In vitro	[redacted], USA	LLY01_21	4.2.1.3.1
Cardiovascular Ion Channel (for metabolite)	HEK 293 cells transfected with hERG clone	In vitro	[redacted], USA	100127.DME	4.2.1.3.2
Cardiovascular Ion Channel [a] (for metabolite)	HEK 293 cells transfected with hERG clone	In vitro	[redacted], USA	090731.DME	4.2.1.3.3
Cardiovascular [a]	Dog, beagle	In vivo, IV infusion	Eli Lilly and Company Greenfield, Indiana, USA	DV0302	4.2.1.3.4
Central Nervous System [a]	Mouse, CD-1	In vivo, IV bolus	Eli Lilly and Company Greenfield, Indiana, USA	PN0216 and PN0217	4.2.1.3.5
Respiratory Function [a]	Rat, Sprague Dawley	In vivo, IV infusion	[redacted], USA	MN103025	4.2.1.3.6
Renal Function [a]	Rat, Fischer 344	In vivo, IV bolus	Eli Lilly and Company Greenfield, Indiana, USA	R04902	4.2.1.3.7
Pharmacodynamic Drug Interactions					
Not applicable					

Abbreviations: # = number; 5-HT = 5-hydroxytryptamine, serotonin; CB1 = cannabinoid receptor type 1; CB2 = cannabinoid receptor type 2; CNS = central nervous system; $GABA_A$ = gamma-aminobutyric acid type A receptor; HEK = human embryonic kidney; hERG = human ether–à-go-go-related gene; IV = intravenous

[a] Contains a GLP compliance statement.

[b] Contains a GLP compliance statement, but not submitted as a GLP study because GLP regulatory inspection history isn't available.

2.6.3.2. Primary Pharmacodynamics (See the Pharmacology Written Summary, Module 2.6.2.2)

2.6.3.3. Secondary Pharmacodynamics (See the Pharmacology Written Summary, Module 2.6.2.3)

2.6.3.4. Safety Pharmacology

Organ Systems Evaluated	Species, Strain	Route	Test article(s) Doses[a]	Sex #/Group	Noteworthy Findings	GLP	Document ID	Section #
Cardiovascular ion channel	HEK 293 cells transfected with hERG clone	In vitro	0.1, 0.3, 1, 3, 10, 100 µM	n=5 replicates	IC_{50} = 3.1 µM	No	LLY01_21	4.2.1.3.1
Cardiovascular ion channel	HEK 293 cells transfected with hERG clone	In vitro	(S,S)-M18[b] 10, 30, 100 µM	n=3-4 replicates	IC_{50} >100 µM	No	100127.DME	4.2.1.3.2
Cardiovascular ion channel	HEK 293 cells transfected with hERG clone	In vitro	M7[b], M8[b], 10, 30, 100, 300 µM (S,R)-M18[b] 10, 30 µM	n=3 replicates	M7[b] IC_{50} = 129.8 µM M8[b] IC_{50} = 40.2 µM (S,R)-M18[b] IC_{50}>30 µM	Yes	090731.DME	4.2.1.3.3
Cardiovascular system	Dog, beagle	IV infusion	0.6, 2, 6 mg/kg	6 female, 2 male	NOAEL: 6 mg/kg 6 mg/kg: ↑HR (12 bpm; 10%) 20 min to 120 min postdose	Yes	DV0302	4.2.1.3.4

(continued)

2.6.3.4. Safety Pharmacology (concluded)

Organ Systems Evaluated	Species, Strain	Route	Test article(s) Doses[a]	Sex #/Group	Noteworthy Findings	GLP	Document ID	Section #
Central nervous system	Mouse, CD-1	IV bolus	0.1 (auditory only), 1, 4, 12 mg/kg	9 or 10 male	PN0216 NOEL: 4 mg/kg 12 mg/kg: ↓ambulatory activity (15 min postdose), ↓nonambulatory activity (15 and 30 min postdose)	Yes	PN0216 and PM0217	4.2.1.3.5
					PN217 NOEL (except auditory): 4 mg/kg NOEL (auditory only): <0.1 mg/kg ≥0.1 mg/kg: ↑auditory sensorimotor reactivity to auditory startle 12 mg/kg: ↓writhes, ↓qualitative activity (5 and 30 min postdose), ↓BT (5 and 30 min postdose), ↑convulsive threshold			
Respiratory function	Rat, Sprague Dawley	IV infusion	1, 4, 12 mg/kg	8 male	NOEL: 12 mg/kg None	Yes	MN103025	4.2.1.3.6
Renal function	Rat, Fischer 344	IV bolus	1, 4, 12 mg/kg	8 female	NOEL: <1 mg/kg NOAEL: ≥12 mg/kg ≥1 mg/kg: ↑urine pH, ↑urine solute and electrolyte excretion (osmoles, sodium, potassium, and chloride), ↑urine dilution, ↓urine osmolality	Yes	R04902	4.2.1.3.7

Abbreviations: # = number; ↑ = increased; ↓ = decreased; bpm = beats per minute; BT = body temperature; hERG = human ether-à-go-go-related gene; HEK = human embryonic kidney; HR = heart rate; IC_{50} = half maximal inhibitory concentration; IV = intravenous; NOAEL = no-observed-adverse-effect level; NOEL = no-observed-effect level

[a] Single doses of lasmiditan unless specified otherwise.

[b] Metabolite of Lasmiditan.

2.6.3.5. Pharmacodynamic Drug Interactions (Not Applicable)