アバレプト懸濁性点眼液 0.3%

CTD 第 2 部 CTD の概要（サマリー）

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.2 薬理試験の概要文

千寿製薬株式会社

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 薬理活性 4
2.6.2.1.2 ドライアイモデルラットにおける瞬目回数増加の抑制作用 4
2.6.2.1.3 他覚所見改善作用 5
2.6.2.1.4 三叉神経節細胞に対する作用 5
2.6.2.1.5 角膜上皮細胞に対する作用 5
2.6.2.1.6 活性化 T 細胞に対する作用 5
2.6.2.1.7 角膜知覚閾値に対する影響 5
2.6.2.1.8 主要なイオンチャネル、受容体及びトランスポーターに対する影響 5
2.6.2.1.9 中枢神経系への影響 5
2.6.2.1.10 心血管系への影響 6
2.6.2.1.11 呼吸系への影響 6
2.6.2.1.12 体温への影響 6
2.6.2.1.13 協調運動機能への影響 6
2.6.2.2 効力を裏付ける試験 7
2.6.2.2.1 薬理活性 7
2.6.2.2.2 ドライアイモデルラットにおける瞬目回数増加の抑制作用 7
2.6.2.2.2.1 ドライアイモデルラットにおける瞬目回数増加の抑制効果に対する用量反応性 7
2.6.2.2.2.2 ドライアイモデルラットにおける瞬目回数増加の抑制効果の持続性 8
2.6.2.2.3 他覚所見改善作用 9
2.6.2.2.4 三叉神経節細胞に対する作用 10
2.6.2.2.5 角膜上皮細胞に対する作用 11
2.6.2.2.6 活性化 T 細胞に対する作用 12
2.6.2.3 副次的薬理試験 13
2.6.2.3.1 角膜知覚閾値に対する影響 13
2.6.2.3.2 オフターゲットプロファイリング 13
2.6.2.4 安全性薬理試験 14
2.6.2.4.1 中枢神経系への影響 14
2.6.2.4.1.1 ラットにおける中枢神経系への影響 14
2.6.2.4.2 心血管系への影響 14
2.6.2.4.2.1 hERG 電流への影響 1 14
2.6.2.4.2.2 hERG 電流への影響 2 15
2.6.2.4.2.3 イヌにおける心血管系への影響 15
2.6.2.4.3 呼吸系への影響 16
2.6.2.4.3.1 ラットにおける呼吸系への影響 16
2.6.2.4.4 体温への影響 16
2.6.2.4.4.1 ラットにおける体温への影響 16

2.6.2.4.4.2 イヌにおける体温への影響.....17
2.6.2.4.4.3 サルにおける体温への影響.....18
2.6.2.4.5 協調運動機能への影響.....18
2.6.2.4.5.1 ラットにおける協調運動機能への影響（ロータロッド試験）.....18
2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用.....20
2.6.2.6 考察及び結論.....21
2.6.2.7 図表.....23
参考文献.....23

2.6.2 薬理試験の概要文

本項で使用した略語及び用語の定義を表 2.6.2-1 に示した。

表 2.6.2-1　略語及び用語の定義一覧

略語及び用語	内容
CCL5	C-C motif Chemokine Ligand 5
CHO	Chinese Hamster Ovary（チャイニーズハムスター卵巣）
C_{max}	Maximum Concentration（最高濃度）
DMSO	Dimethylsufoxide（ジメチルスルホキシド）
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay（酵素結合免疫吸着測定法）
HEK-293 細胞	Human Embryonic Kidney 293 Cells（ヒト胎児腎細胞 293）
hERG	Human *ether-a-go-go*- Related Gene（ヒト遅延整流性カリウムイオンチャネル遺伝子）
IC_{50}	Concentration Required for 50% Target Inhibition（50%阻害濃度）
IFNγ	Interferon gamma
MVT	モツギバトレプ懸濁液
PCR	Polymerase Chain Reaction（ポリメラーゼ連鎖反応）
QTc	Corrected QT Interval（補正 QT 間隔）
QTcF	Corrected QT Interval by Fridericia（Fridericia の式で補正した QT 間隔）
QTcQ	Corrected QT Interval by animal-specific formula（動物種固有の補正式で補正した QT 間隔）
SCOP	スコポラミン含有浸透圧ポンプ埋植
SD ラット	Sprague-Dawley ラット
SPK	Superficial Punctate Keratopathy（点状表層角膜症）
TRPA1	Transient Receptor Potential cation channel subfamily A member 1
TRPM8	Transient Receptor Potential cation channel subfamily M member 8
TRPV1	Transient Receptor Potential cation channel subfamily V member 1
TRPV3	Transient Receptor Potential cation channel subfamily V member 3
TRPV4	Transient Receptor Potential cation channel subfamily V member 4
5HT2a	5-Hydroxytryptamine receptor 2A（5-ヒドロキシトリプタミン 2A 受容体）
5HT2b	5-Hydroxytryptamine receptor 2B（5-ヒドロキシトリプタミン 2B 受容体）

2.6.2.1 まとめ

モツギバトレプは TRPV1 に対して強いアンタゴニスト活性を有するドライアイ治療薬である。モツギバトレプの効力を裏付ける試験として、薬理活性、ドライアイモデルラットでの瞬目回数増加の抑制及び他覚所見改善作用、三叉神経節細胞に対する作用、角膜上皮細胞に対する作用、活性化 T 細胞に対する作用について評価を行った。副次的薬理試験として角膜知覚閾値に対する影響及び主要なイオンチャネル、受容体及びトランスポーターに対する影響について評価を行った。安全性薬理試験として中枢神経系、心血管系、呼吸系、体温及び協調運動機能に対する影響について評価を行った。

2.6.2.1.1 薬理活性

カプサイシンによって活性化されたヒト TRPV1 又はラット TRPV1 に対するモツギバトレプの IC_{50} 値はそれぞれ 0.6635 nM 又は 0.4588 nM であり、モツギバトレプはヒト及びラット TRPV1 に対して強いアンタゴニスト活性を示した。また、その作用は TRPV1 に選択的であった。

2.6.2.1.2 ドライアイモデルラットにおける瞬目回数増加の抑制作用

スコポラミンを充填した浸透圧ポンプをラットの皮下に埋植し、ドライアイモデルラットを作製した。作製したドライアイモデルラットを低湿度環境で飼育し、0.1%、0.3%、1.0%モツギバト

レプ懸濁性点眼液の検討用製剤（検討用製剤）、又は検討用製剤の基剤（基剤）を単回点眼投与し、投与 30 分後から瞬目回数を 5 分間測定した。瞬目回数は、眼の乾燥及び不快感に対する動物の行動的指標とされており、薬効評価の指標として用いられている [1)2)]。検討用製剤は 0.1%～1.0%の濃度範囲で用量依存的にドライアイモデルラットにおける瞬目回数増加を抑制する傾向を示し、0.3%及び 1.0%検討用製剤投与群は基剤投与群に対し有意に瞬目回数増加を抑制した。また、1.0%検討用製剤点眼投与によるドライアイモデルラットにおける瞬目回数増加の抑制効果は 4 時間持続することが示された。

2.6.2.1.3 他覚所見改善作用

スコポラミンを充填した浸透圧ポンプをラットの皮下に埋植し、ドライアイモデルラットを作製した。作製したドライアイモデルラットに 0.3%モツギバトレプ懸濁液（MVT）、その基剤、又はムコスタ®点眼液 UD2%（2%レバミピド）を 1 日 4 回 14 日間点眼投与し、点状表層角膜症（SPK）の改善効果を検討した。ドライアイモデルラットの SPK スコアは、基剤投与群と比較して 0.3% MVT 投与群及び 2%レバミピド投与群で有意に改善した。また、0.3% MVT 投与群の方が 2%レバミピド投与群より SPK スコアが早期に改善したことから、モツギバトレプはドライアイの他覚所見を改善し、その効果は 2%レバミピドよりも早く発現することが示された。

2.6.2.1.4 三叉神経節細胞に対する作用

モツギバトレプはカプサイシン刺激により誘発される三叉神経節細胞からの Substance P の放出を濃度依存的に抑制し、その作用は 1 nM 以上の濃度において有意であった。

2.6.2.1.5 角膜上皮細胞に対する作用

モツギバトレプは、ヒト角膜上皮細胞（HCE-T）への高浸透圧刺激に伴う CCL5 の発現上昇を濃度依存的に抑制し、その作用は 0.1 μM 以上の濃度で有意であった。

2.6.2.1.6 活性化 T 細胞に対する作用

モツギバトレプは T 細胞の活性化を抑制し、1 nM 以上の濃度で IFNγ の産生を抑制することが示された。

2.6.2.1.7 角膜知覚閾値に対する影響

スコポラミンを充填した浸透圧ポンプをラットの皮下に埋植し、ドライアイモデルラットを作製した。作製したドライアイモデルラットに、0.3% MVT、基剤、又は 2%レバミピドを 1 日 4 回 14 日間点眼投与し角膜知覚閾値を測定した。偽処置群と基剤投与群の 2 群間並びに基剤投与群と 0.3% MVT 投与群及び 2%レバミピド投与群の群間に有意な差を認めず、モツギバトレプは角膜知覚閾値に影響を及ぼさないことが示された。

2.6.2.1.8 主要なイオンチャネル、受容体及びトランスポーターに対する影響

モツギバトレプは 5HT2a 及び 5HT2b をわずかに阻害したものの、TRPV1 に対して高い選択性を示した。

2.6.2.1.9 中枢神経系への影響

ラットにモツギバトレプを 0（媒体対照）、4、40 及び 400 mg/kg の用量で単回経口投与した試験では、すべてのモツギバトレプ投与群で接触反応の増加及びハンドリング時の発声の増加がみられたが、これらの中枢神経系への影響は一過性かつ軽度であったことから、臨床的に意義のある変化ではないと判断した。

2.6.2.1.10 心血管系への影響

hERG 導入 HEK-293 細胞を用い、モツギバトレプの hERG 電流抑制率を測定した試験では、溶解上限濃度である 2.48 μM（1 μg/mL）における hERG 電流抑制率は 12.8%±4.1%であり、モツギバトレプの hERG 電流に対する IC_{50} は、2.48 μM（1 μg/mL）を上回った。

イヌにモツギバトレプを 0（媒体対照）、4、40 及び 400 mg/kg の用量で単回経口投与した試験では、平均心拍数及び動脈圧に臨床的に意義のある変化はみられなかった。また、すべてのモツギバトレプ投与群で QTcF 及び QTcQ の短縮並びに体温上昇がみられたが、QT 間隔の短縮は体温上昇の二次的変化と考えられ、モツギバトレプに催不整脈の懸念はないと判断した。

2.6.2.1.11 呼吸系への影響

ラットにモツギバトレプを 0（媒体対照）、4、40 及び 400 mg/kg の用量で単回経口投与した試験では、いずれの評価項目にもモツギバトレプ投与に関連する臨床的に意義のある変化はみられなかった。

2.6.2.1.12 体温への影響

ラットにモツギバトレプを 0（媒体対照）及び 3 mg/kg/day の用量で、4 日間反復経口投与した試験では、モツギバトレプ投与群で単回経口投与後に体温上昇がみられたが、反復投与により体温上昇作用は減弱傾向を示した。

イヌにモツギバトレプを 0（媒体対照）及び 10 mg/kg の用量で単回経口投与した試験では、モツギバトレプ投与群で投与後 1～8 時間に媒体対照と比較して統計学的に有意な体温上昇がみられた。

サルにモツギバトレプを 0（媒体対照）及び 3 mg/kg の用量で経口投与した試験では、モツギバトレプ投与群で投与後 1～8 時間に体温上昇がみられた。

2.6.2.1.13 協調運動機能への影響

ラットにモツギバトレプを 0（媒体対照）、1、3 及び 10 mg/kg の用量で単回経口投与した試験では、いずれの評価項目にもモツギバトレプ投与に関連する臨床的に意義のある変化はみられなかった。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

2.6.2.2.1 薬理活性

……4.2.1.1-1, 4.2.1.1-2【4.2.1.1-2 は参考資料】

ヒト又はラット TRPV1 チャネルを発現している CHO 細胞を用いて、モツギバトレプの TRPV1 に対するアンタゴニスト活性を測定した。0.03～30 nM のモツギバトレプを処置した細胞を 10 nM カプサイシンで活性化し、細胞内カルシウム濃度を指標として、モツギバトレプの TRPV1 アンタゴニスト活性を測定した。カプサイシンによって活性化されたヒト TRPV1 又はラット TRPV1 に対するモツギバトレプの IC_{50} 値はそれぞれ 0.6635 nM 又は 0.4588 nM であり、モツギバトレプはヒト及びラット TRPV1 に対して強いアンタゴニスト活性を示した（表 2.6.2-2）。

ヒト TRPV1、ヒト TRPA1、ヒト TRPM8、ヒト TRPV3、又はヒト TRPV4 を発現している細胞を用いて、各 TRP ファミリーのアゴニスト刺激に対するモツギバトレプの作用を検討した。モツギバトレプは TRPV4 に弱い阻害作用を示したものの TRPA1、TRPM8、TRPV3 には作用せず、TRPV1 に選択的であることが示された。

マウス、イヌ、又はサル TRPV1 を発現している細胞を用いて、アゴニスト刺激に対するモツギバトレプの作用を検討した結果、マウス、イヌ、サル TRPV1 阻害作用に違いはなかった。

表 2.6.2-2 TRPV1 阻害活性

	IC_{50}（nM）
ヒト TRPV1	0.6635
ラット TRPV1	0.4588

2.6.2.2.2 ドライアイモデルラットにおける瞬目回数増加の抑制作用

…… 4.2.1.1-3, 4.2.1.1-4

スコポラミンを充填した浸透圧ポンプをラットの皮下に埋植して作製したドライアイモデルラット（ドライアイモデルラット）を低湿度環境で飼育し、瞬目回数を指標として、ドライアイモデルラットにおける瞬目回数増加の抑制効果に対するモツギバトレプの用量反応性及び持続性を検討した。

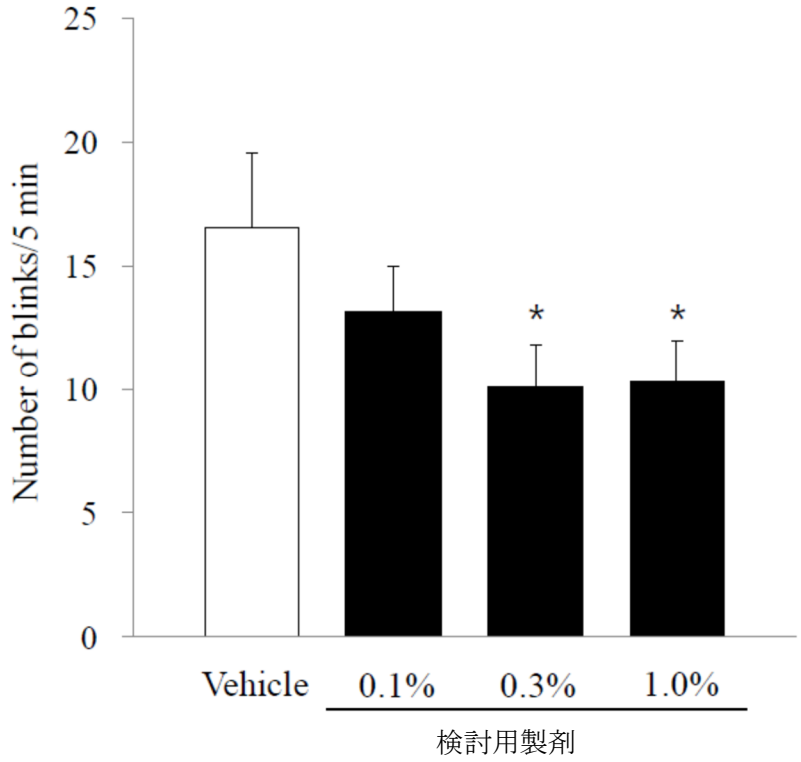
2.6.2.2.2.1 ドライアイモデルラットにおける瞬目回数増加の抑制効果に対する用量反応性

ドライアイモデルラットを、低湿度環境で飼育した。通常環境で飼育した正常ラットの 5 分間の瞬目回数は 4.50 ± 0.81 回（平均値±標準誤差）であったのに対して、低湿度環境で飼育した正常ラットの瞬目回数は 6.92 ± 0.94 回であった。また、低湿度環境で飼育したドライアイモデルラットの 5 分間の瞬目回数は 13.25 ± 1.57 回であった。

低湿度環境で飼育したドライアイモデルラットに 0.1%、0.3%、1.0%モツギバトレプ懸濁性点眼液の検討用製剤（検討用製剤）、又は検討用製剤の基剤（基剤）を単回点眼投与し、投与 30 分後から瞬目回数を 5 分間測定した。基剤投与群の瞬目回数は 16.58 ± 2.97 回であった。一方、0.1%、0.3%、1.0%検討用製剤投与群の瞬目回数はそれぞれ 13.17 ± 1.78 回、10.08 ± 1.74 回、10.33 ± 1.64 回であり、0.3%及び 1.0%検討用製剤投与群では基剤投与群と比較して有意に少なかった。

以上より、検討用製剤は 0.1%～1.0%の濃度範囲で用量依存的にドライアイモデルラットにおける瞬目回数増加を抑制する傾向を示し、0.3%及び 1.0%検討用製剤投与群は基剤投与群に対し有意な瞬目回数増加の抑制効果を示した。

図 2.6.2-1 低湿度環境で飼育したドライアイモデルラットでの瞬目回数増加の抑制効果の用量反応



平均値±標準誤差（n=12）
* p < 0.05：基剤投与群（Vehicle）との比較（Williams の多重比較検定）

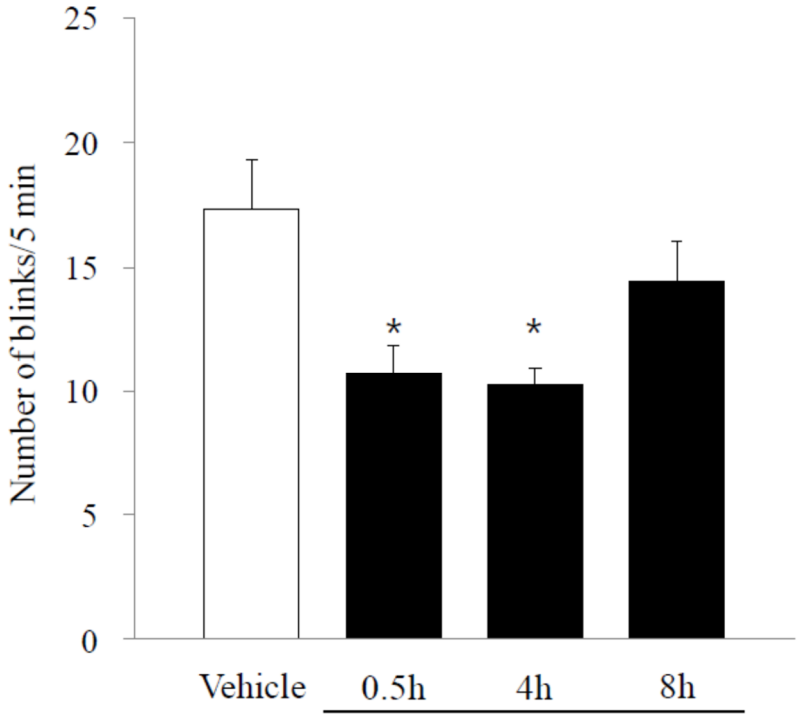
2.6.2.2.2.2 ドライアイモデルラットにおける瞬目回数増加の抑制効果の持続性

ドライアイモデルラットを、低湿度環境で飼育した。通常環境で飼育した正常ラットの 5 分間の瞬目回数は 2.33 ± 0.40 回（平均値±標準誤差）であったのに対し、低湿度環境で飼育したドライアイモデルラットの 5 分間の瞬目回数は 16.92 ± 1.40 回であった。

低湿度環境で飼育したドライアイモデルラットに 1.0%検討用製剤又は基剤を単回点眼投与し、基剤投与 0.5 時間後並びに 1.0%検討用製剤投与 0.5、4、8 時間後に 5 分間の瞬目回数を測定した。その結果、基剤投与 0.5 時間後、1.0%検討用製剤投与 0.5 時間、4 時間、8 時間後の瞬目回数はそれぞれ、17.33 ± 2.01 回、10.75 ± 1.14 回、10.25 ± 0.73 回及び 14.42 ± 1.60 回であり、1.0%検討用製剤投与 0.5 時間及び 4 時間後の瞬目回数は基剤投与 0.5 時間後に比べて有意に少なかった。

以上より、1.0%検討用製剤点眼投与によるドライアイモデルラットにおける瞬目回数増加の抑制効果は 4 時間持続することが示された。

図 2.6.2-2 低湿度環境で飼育したドライアイモデルラットでの瞬目回数増加の抑制効果の持続



平均値±標準誤差（n=12）
* $p < 0.05$：基剤投与群（Vehicle）との比較（Williams の多重比較検定）

2.6.2.2.3 他覚所見改善作用

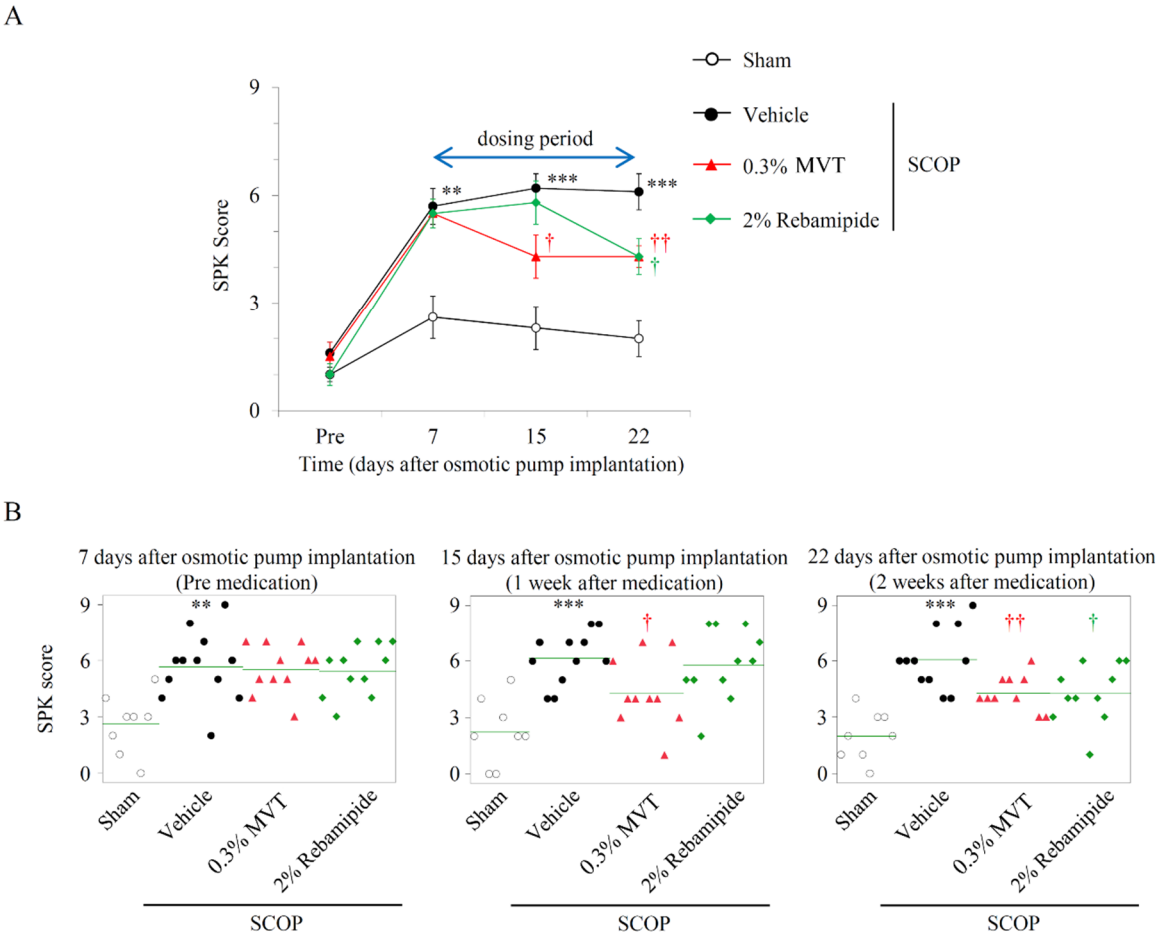
…… 4.2.1.1-5

ドライアイモデルラットを用いて、ドライアイの他覚所見に対するモツギバトレプの効果を検討した。スコポラミンを充填した浸透圧ポンプをラットの皮下に埋植し、埋植 8 日後から、0.3%モツギバトレプ懸濁液（MVT）、その基剤、又はムコスタ®点眼液 UD2%（2%レバミピド）を 1 日 4 回 14 日間点眼投与した。また、偽処置群として生理食塩液を充填したポンプを埋植したラットを用意した。埋植前、埋植 7 日後、15 日後（点眼投与開始 7 日後）、22 日後（点眼投与開始 14 日後）に角膜フルオレセイン染色スコアを測定し、それを指標として点状表層角膜症（SPK）の改善効果を検討した。

基剤投与群の SPK スコアは、偽処置群と比較して有意に上昇した。これより、ヒトのドライアイと同様の他覚所見がドライアイモデルラットで誘発されることが示された。更に、ドライアイモデルラットの SPK スコアは、基剤投与群と比較して 0.3% MVT 投与群及び 2%レバミピド投与群で有意に改善した。また、0.3% MVT 投与群の方が 2%レバミピド投与群より SPK スコアが早期に改善した。

以上より、モツギバトレプはドライアイの他覚所見を改善し、2%レバミピドよりも早く薬効が発現することが示された。

図 2.6.2-3 ドライアイモデルラットでの他覚所見改善作用



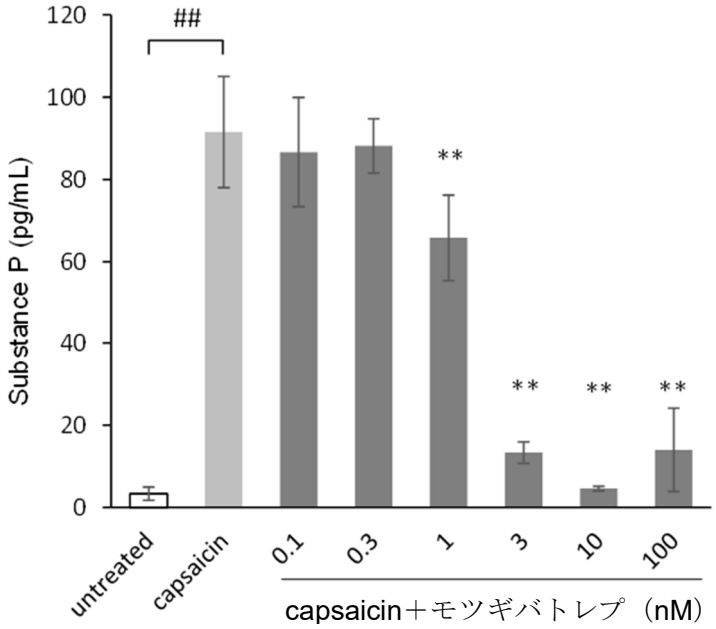
（A）平均値±標準誤差（n=8-12）
（B）平均値（横棒）及び個別値（n=8-12）
Sham：偽処置群、Vehicle：基剤投与群、0.3% MVT：0.3% モツギバトレプ懸濁液投与群、2% Rebamipide：ムコスタ®点眼液 UD2%投与群、SCOP：スコポラミン含有浸透圧ポンプ埋植群
** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$：偽処置群との比較（マン・ホイットニーの U 検定、片側）
† $p < 0.05$, †† $p < 0.01$：基剤投与群との比較（Steel 検定、片側）

2.6.2.2.4 三叉神経節細胞に対する作用

4.2.1.1-6

三叉神経節細胞を用いて、侵害刺激受容後の Substance P 放出に対するモツギバトレプの作用を検討した。ラットの三叉神経節から細胞を分離し、TRPV1 アゴニストであるカプサイシン単独又はカプサイシンと最終濃度 0.1～100 nM のモツギバトレプの混和液を添加して培養した。添加後 30 分で培養上清を回収し、放出された Substance P 量を ELISA 法で定量した。その結果、モツギバトレプはカプサイシン刺激により誘発される三叉神経節細胞からの Substance P の放出を濃度依存的に抑制し、その作用は 1 nM 以上の濃度において有意であった。

図 2.6.2-4 三叉神経節細胞での Substance P 放出抑制作用



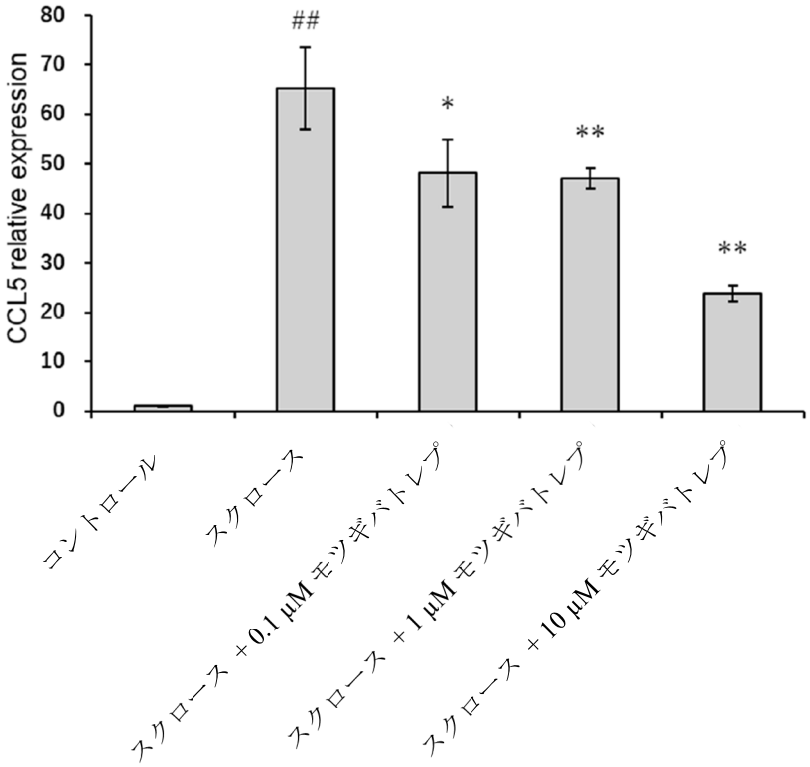
平均値±標準偏差（n=3）
p < 0.01：無処置群（untreated）との比較（Student の t 検定、片側）
** p < 0.025：カプサイシン刺激群（capsaicin）との比較（Williams の多重比較検定）

2.6.2.2.5 角膜上皮細胞に対する作用

……4.2.1.1-7

ヒト角膜上皮細胞（HCE-T）を用いて、高浸透圧刺激に伴う CCL5 の発現上昇に対するモツギバトレプの作用を検討した。HCE-T を完全培地又はスクロースを含む培地で培養した。モツギバトレプ処置群の HCE-T には、スクロースに加えて最終濃度 0.1～10 μM のモツギバトレプを培地中に添加し培養した。培養後、CCL5 の遺伝子発現量をリアルタイム PCR 法で定量した。その結果、スクロース添加に伴う高浸透圧刺激によって CCL5 の発現が上昇し、モツギバトレプはそれを濃度依存的に抑制した。また、その抑制作用は 0.1 μM 以上の濃度で有意であった。

図 2.6.2-5 角膜上皮細胞での CCL5 発現抑制作用



平均値±標準偏差（n=3）
p < 0.01; コントロール群とスクロース群との比較（t 検定、片側）
* p < 0.05, ** p < 0.01; スクロース群とモツギバトレプ添加群との比較（Dunnett 検定、両側）

2.6.2.2.6 活性化 T 細胞に対する作用

……4.2.1.1-8

マウス脾臓由来 CD4 陽性 T 細胞を用いて、T 細胞に対するモツギバトレプの作用を検討した。免疫磁気分離法を用いて、マウスより単離した脾臓細胞から CD4 陽性 T 細胞を分離した。培養培地に抗 CD3 抗体及び抗 CD28 抗体を混和してマウス脾臓由来 CD4 陽性 T 細胞を活性化させ、1 nM 及び 10 nM のモツギバトレプを添加した。2 日間培養後、培養上清中の IFNγ 産生量を ELISA 法で定量した。その結果、モツギバトレプは T 細胞からの IFNγ 産生を抑制し、この抑制効果は 3 回の試験を通して再現された。このことから、モツギバトレプは活性化 T 細胞からの IFNγ の産生を抑制することが示された（表 2.6.2-3）。

表 2.6.2-3 活性化 T 細胞からの IFNγ 産生量（平均値±標準誤差：pg/mL）

	抗体刺激		
	0 nM モツギバトレプ	1 nM モツギバトレプ	10 nM モツギバトレプ
1 回目	268.67 ± 105.33	166.32 ± 15.86	140.89 ± 2.88
2 回目	1171.36 ± 133.01	281.94 ± 35.20**	291.88 ± 26.41**
3 回目	1563.01 ± 188.85	281.71 ± 38.70**	256.37 ± 38.35**

** p < 0.01; 0 nM モツギバトレプ群との比較（Williams の多重比較検定）

2.6.2.3 副次的薬理試験

2.6.2.3.1 角膜知覚閾値に対する影響

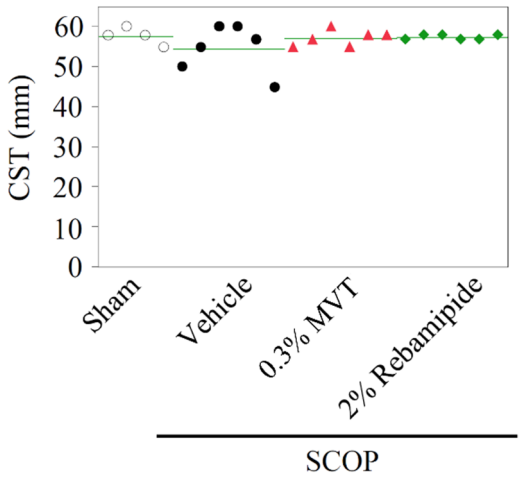
……4.2.1.2-1

ドライアイモデルラットの角膜知覚閾値に対するモツギバトレプの影響について検討した。スコポラミンを充填した浸透圧ポンプをラットの皮下に埋植し、埋植 8 日後から、0.3% MVT、その基剤、又は 2%レバミピドを 1 日 4 回 14 日間点眼投与し、埋植 22 日後（点眼投与開始 14 日後）に Cochet & Bonnet 角膜知覚計を用いて角膜知覚閾値を測定した。

偽処置群、基剤投与群、0.3% MVT 投与群、及び 2%レバミピド投与群の角膜知覚閾値はそれぞれ 57.9 ± 1.0 mm、54.4 ± 2.4 mm、57.2 ± 0.8 mm 及び 57.5 ± 0.4 mm であり、偽処置群と基剤投与群の 2 群間並びに基剤投与群と 0.3% MVT 投与群及び 2%レバミピド投与群の群間に有意な差を認めなかった。

以上より、モツギバトレプは角膜知覚閾値に影響を及ぼさないことが示された。

図 2.6.2-6 角膜知覚閾値に対する影響



平均値（横棒）及び個別値（n=4–6）
Sham：偽処置群、Vehicle：基剤投与群、0.3% MVT：0.3% モツギバトレプ懸濁液投与群
2% Rebamipide：ムコスタ®点眼液 UD2%投与群、SCOP：スコポラミン含有浸透圧ポンプ埋植群

2.6.2.3.2 オフターゲットプロファイリング

……4.2.1.2-2【参考資料】

主要なイオンチャネル、受容体、トランスポーター、及び酵素に対する放射性リガンド結合アッセイ及び酵素アッセイからなる [redacted] Pharmacology Profiling を用いてモツギバトレプを評価した。モツギバトレプは 5HT2a 及び 5HT2b をわずかに阻害したものの、TRPV1 に対して高い選択性を示した。

2.6.2.4 安全性薬理試験

2.6.2.4.1 中枢神経系への影響

2.6.2.4.1.1 ラットにおける中枢神経系への影響

……4.2.1.3-1

モツギバトレプの中枢神経系への影響を評価するため、1 群あたり 6 例の雄性 Han Wistar ラットにモツギバトレプを 0（媒体対照）、4、40 及び 400 mg/kg の用量で単回経口投与した。媒体としてコーン油を使用した。陽性対照群にはクロルプロマジン塩酸塩を 20 mg/kg の用量で単回経口投与した。投与後 1、2、4 及び 8 時間に、感覚、運動及び行動機能、体温並びに一般状態について評価した。

モツギバトレプ投与に関連した変化として、4 mg/kg 投与群で、投与後 1 時間に接触反応の増加及びハンドリング時の発声の増加がみられたが、投与後 2、4 及び 8 時間にはみられなかった。媒体対照群と比較して統計学的に有意な体温の上昇（平均値：2.1°C）が投与後 1 時間にみられたが、その他の測定時点では統計学的に有意な変化はみられなかった。40 mg/kg 投与群では、すべての観察時点においてハンドリング時の発声の増加がみられた。眼球突出及び接触反応の増加が投与後 1 時間にみられたが、投与後 2、4 及び 8 時間にはみられなかった。媒体対照群と比較して統計学的に有意な体温の上昇（平均値：1.0°C）が投与後 4 時間にみられたが、その他の測定時点では統計学的に有意な変化はみられなかった。400 mg/kg 投与群では、ハンドリング時の発声の増加が投与後 1 及び 4 時間に、ケージ内の離散行動が投与後 4 時間にみられた。いずれの変化も投与後 2 及び 8 時間にはみられなかった。投与後 1 及び 4 時間に媒体対照群と比較して統計学的に有意な体温の上昇（それぞれ 2.0°C 及び 0.8°C）がみられたが、その他の測定時点では統計学的に有意な変化はみられなかった。

陽性対照群では、中枢神経系への影響がみられ、自発運動、体調、驚愕反応、警戒行動、耳介反射、角膜反射あるいは握力の低下もみられた。体温は媒体対照群と比較して投与後 1、2、4 及び 8 時間にそれぞれ 0.2°C、1.7°C、1.2°C 及び 0.6°C 低下し、投与後 2 及び 4 時間は統計学的に有意な低下を示した。陽性対照群でみられた変化は既知のクロルプロマジン投与時の薬理学的活性と一致しており、本試験は中枢神経系への作用を評価するのに適切であったと判断した。

以上のように、モツギバトレプを 4、40 及び 400 mg/kg の用量でラットに単回経口投与した結果、投与後 4 時間まで一過性で軽度な中枢神経系への影響（接触反応の増加及びハンドリング時の発声の増加）及び非用量依存的な体温上昇がみられた。投与後 8 時間までにほとんどの動物は正常（又は投与前）の状態に戻った。用量の増加に伴った所見の発現頻度の増加や重篤化はみられなかった。これらの中枢神経系への影響は、一過性かつ軽度であったことから、臨床的に意義のある変化ではないと判断した。

2.6.2.4.2 心血管系への影響

2.6.2.4.2.1 hERG 電流への影響 1

……4.2.1.3-2【参考資料】

モツギバトレプの遅延整流性カリウムチャネル電流への作用を検討するため、hERG 導入 HEK-293 細胞（n=3）を用い、パッチクランプ法により、1 μM（0.40 μg/mL）モツギバトレプの hERG 電流抑制率を測定した。媒体として 0.1% DMSO を使用した。

1 μM モツギバトレプの hERG 電流抑制率は 8.5% ± 2.7%（平均値±標準偏差）であった。媒体

対照である 0.1% DMSO の hERG 電流抑制率は 1.0%±8.2%であった。

2.6.2.4.2.2 hERG 電流への影響 2

……4.2.1.3-3, 4.2.1.3-4【4.2.1.3-4 は参考資料】

モツギバトレプの遅延整流性カリウムチャネル電流への用量反応性を評価するため、hERG 導入 HEK-293 細胞(n=4)を用い、パッチクランプ法により、0.248 μM(0.1 μg/mL)、0.744 μM(0.3 μg/mL)及び溶解上限濃度である 2.48 μM（1 μg/mL）モツギバトレプの hERG 電流抑制率を測定した。媒体対照として 0.3% DMSO（n=6)、陽性対照として 100 nM E-4031（n=4）を使用した。

媒体対照と比較したモツギバトレプの hERG 電流抑制率は、0.248 μM で 5.0%±7.2%、0.744 μM で 3.2%±4.3%、2.48 μM で 12.8%±4.1%であった。また、モツギバトレプの 2.48 μM における hERG の無処置に対する割合は媒体対照より有意に低かった。陽性対照である E-4031 の hERG 電流抑制率は 97.6%±1.4%であり、本試験条件が hERG 電流阻害作用を評価するうえで適切であったことが確認された（標準偏差は申請者が非 GLP 下で算出した)。

以上の結果から、本試験条件下でモツギバトレプの hERG 電流に対する IC_{50} は、2.48 μM(1 μg/mL)を上回ることが明らかとなった。

2.6.2.4.2.3 イヌにおける心血管系への影響

……4.2.1.3-5

モツギバトレプの心血管系への影響を評価するため、4 例の雄性ビーグル犬にモツギバトレプを 0（媒体対照)、4、40 及び 400 mg/kg の用量で単回経口投与し、覚醒下でテレメトリー測定を行った。媒体としてコーン油を使用した。テレメトリー測定は投与前 0.5 時間並びに投与後 0.5、1、2、3、4、6、8、12 及び 20 時間に行った。

平均心拍数及び動脈圧（収縮期、拡張期及び平均）測定では、媒体対照群と比較して一貫性のある統計学的に有意な変化はみられず、生理学的意義のある変化もみられなかった。心電図測定では、QTcF 及び QTcQ の非用量依存的な短縮がすべての用量において投与後 0.5～3 時間にみられた。40 及び 400 mg/kg 投与後 1 時間、すべての用量の投与後 2 時間、並びに 40 mg/kg 投与後 12 時間において、同時点の媒体対照群と比較して QTcF の統計学的に有意な短縮がみられた。また、40 及び 400 mg/kg 投与後 0.5 時間、すべての用量の投与後 2 時間、4 mg/kg 投与後 3 時間、並びに 40 mg/kg 投与後 12 時間において、同時点の媒体対照群と比較して QTcQ の統計学的に有意な短縮がみられた。PR 間隔及び QRS 複合波はいずれの用量でも変化はみられず、QTc の延長もみられなかった。体温測定では、すべての用量の投与後 1～20 時間において、非用量依存的かつ媒体対照群と比較して統計学的に有意な体温上昇がみられた。体温は投与前値と比較して投与後 2 時間で最も上昇し、媒体対照では 0.33°C 上昇したのに対し、4 mg/kg では 1.75°C、40 mg/kg では 1.88°C、400 mg/kg では 1.85°C 上昇した。

以上のように、モツギバトレプは本試験条件下でイヌの平均心拍数及び動脈圧に影響を及ぼさなかった。また、本試験ではすべての用量で QTcF 及び QTcQ の短縮並びに非用量依存的かつ媒体対照群と比較して統計学的に有意な体温上昇がみられた。体温の上昇により QT 間隔は短縮することが報告されていることから [1]、QTcF 及び QTcQ の短縮は体温上昇の二次的変化と考えられ、モツギバトレプに催不整脈の懸念はないと判断した。

2.6.2.4.3 呼吸系への影響

2.6.2.4.3.1 ラットにおける呼吸系への影響

……4.2.1.3-6

モツギバトレプの呼吸系への影響を評価するため、1 群あたり 8 例の覚醒下の雄性 Han Wistar ラットにモツギバトレプを 0（媒体対照）、4、40 及び 400 mg/kg の用量で単回経口投与した。媒体としてコーン油を使用した。陽性対照群にはモルヒネ塩酸塩を 10 mg/kg の用量で単回静脈内投与した。呼吸数及び一回換気量を投与前、投与後約 4 及び 8 時間にヘッドアウトプレチスモグラフ法により測定した。

媒体対照群と比較して、いずれの用量でも呼吸数及び一回換気量に統計学的に有意な変化はみられなかった。陽性対照群では、投与後 4 時間までに 4 例が陽性対照物質投与により死亡した。また、覚醒ラットの呼吸数が投与前値と比較して投与後 4 及び 8 時間に顕著に減少した。一回換気量は投与前値と比較して統計学的に有意な差はなかった。

以上のように、モツギバトレプは本試験条件下でラットの呼吸系へ影響を及ぼさなかった。

2.6.2.4.4 体温への影響

2.6.2.4.4.1 ラットにおける体温への影響

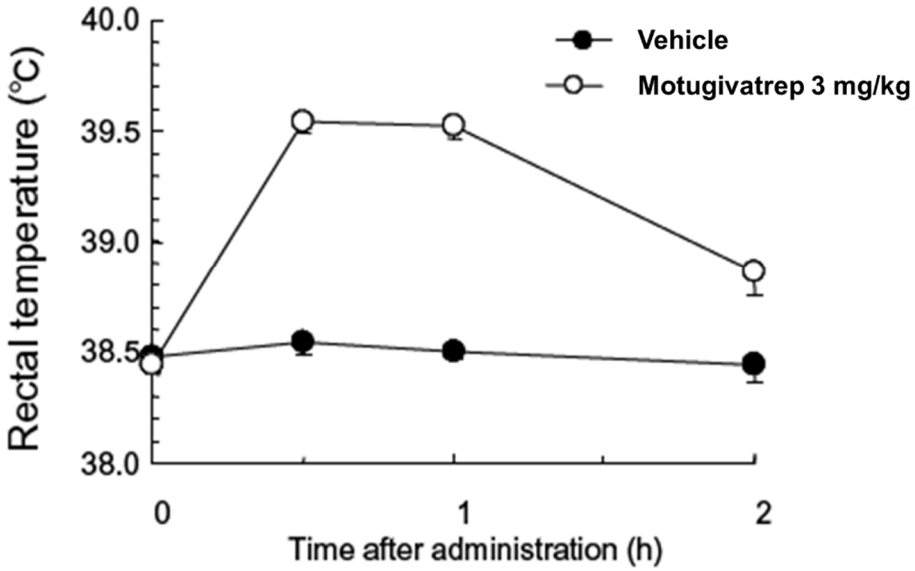
……4.2.1.3-7【参考資料】

モツギバトレプの体温への影響を評価するため、5 例の雄性 SD ラットにモツギバトレプを 0（媒体対照）及び 3 mg/kg/day の用量で、4 日間反復経口投与し、直腸温を測定した。媒体として 20% Gelucire を使用した。直腸温は、投与 1 日目は投与前並びに投与後 0.5、1 及び 2 時間に、投与 2～4 日目は投与前及び投与後 0.5 時間に測定した。

単回経口投与後 0.5 時間に、ラットの直腸温はベースラインと比較して約 1°C 上昇し、投与後 2 時間にかけて徐々に減少した（図 2.6.2-7）。4 日間反復経口投与した結果、投与 1 日目では投与後 30 分の直腸温の上昇幅は約 1°C であったが、投与 3 及び 4 日目では 0.2°C であった（図 2.6.2-8）。

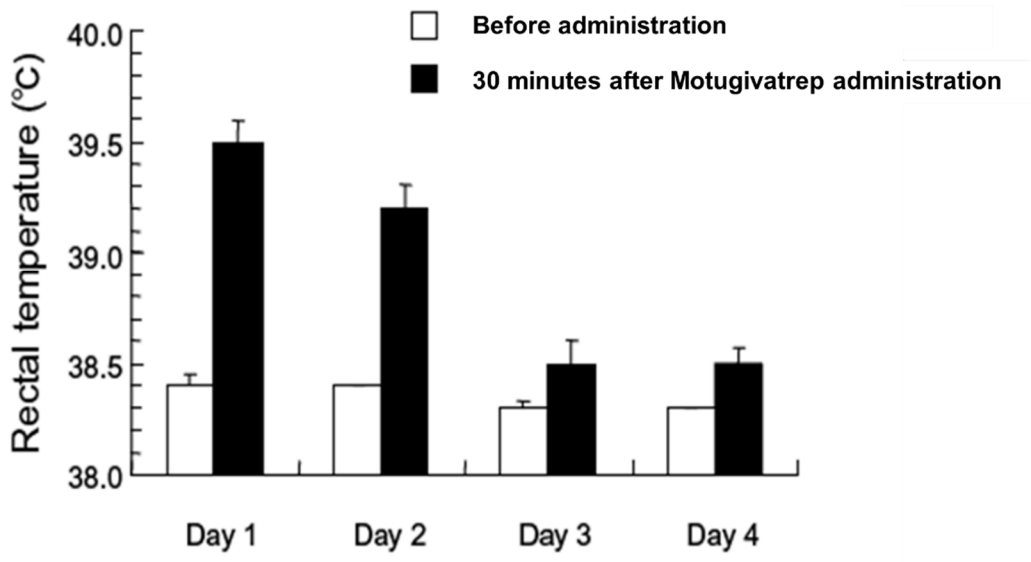
以上のように、モツギバトレプを 3 mg/kg/day の用量でラットに経口投与したとき体温上昇がみられ、反復投与により体温上昇作用は減弱傾向を示した。文献においても、TRPV1 拮抗薬投与による体温上昇 [4]及び反復投与による体温上昇作用の減弱 [5]が報告されている。

図 2.6.2-7　モツギバトレプ単回経口投与後のラット直腸温推移



Each symbol represents the mean and standard error of the mean for 5 animals.

図 2.6.2-8　モツギバトレプ反復経口投与後のラット直腸温



Each column represents the mean and standard error of the mean of 5 animals.

2.6.2.4.4.2 イヌにおける体温への影響

……4.2.1.3-8【参考資料】

モツギバトレプの体温への影響を評価するため、3 例の雄性ビーグル犬にモツギバトレプを 0（媒体対照）及び 10 mg/kg の用量で単回経口投与し、覚醒下でテレメトリー測定を行った。初めに媒体であるコーン油を投与し、1 週間後にモツギバトレプを投与した。動物は各投与前に一晩絶食させた。一般行動、体温及び血漿中のモツギバトレプ濃度について評価した。体温は投与前 0.5 時間並びに投与後 0.5、1、2、4、8 及び 24 時間に測定した。投与後 0.5、1、2、4、8 及び 24 時間

に血液を採取し、血漿中のモツギバトレプ濃度を測定した。

媒体投与後 24 時間までの平均体温は 38.1℃～38.4℃ であった。モツギバトレプ投与後 1～8 時間に同時点の媒体対照と比較して統計学的に有意な体温の上昇（平均値：39.6℃～40.2℃）がみられた。モツギバトレプ投与後 24 時間における体温（平均値：39.3℃）は、媒体投与後の同時点と比較して約 1℃ 高かったが、統計学的に有意な差ではなかった。媒体投与後とモツギバトレプ投与後で一般行動に明らかな差はみられなかった。

モツギバトレプを 10 mg/kg 単回経口投与後の血漿中 C_{max} は 1.50 µg/mL、投与後 0 時間から 24 時間までの血漿中濃度-時間曲線下面積（AUC_{0-24}）は 22.1 µg·h/mL、及び最高濃度到達時間（T_{max}）は 8 時間であった。モツギバトレプ投与後のイヌの体温上昇は T_{max} より前に発生し、その後に減弱するものの、投与後 24 時間においてもみられた。

以上のように、モツギバトレプを 10 mg/kg の用量でイヌに単回経口投与したとき、投与後 1～8 時間に媒体対照と比較して統計学的に有意な体温上昇がみられた。

2.6.2.4.4.3 サルにおける体温への影響

……4.2.1.3-9【参考資料】

モツギバトレプの体温への影響を評価するため、3 例の雄性カニクイザルにモツギバトレプを 0（媒体対照）及び 3 mg/kg の用量で経口投与し、覚醒下でテレメトリー測定を行った。初めに媒体である 20% Gelucire を 1 日 1 回、3 日間投与し、4 週間後にモツギバトレプを単回投与した。媒体投与 1 日目及びモツギバトレプ投与前は一晩絶食させ、媒体投与の 2 及び 3 日目は投与前に給餌を停止した。一般行動及び体温について評価した。体温は投与前並びに投与後 0.5、1、2、4、8 及び 24 時間に測定した。

媒体投与後 24 時間までの平均体温は、1、2 及び 3 日目にそれぞれ 37.8℃～38.6℃、38.2℃～38.5℃ 及び 38.2℃～38.5℃ の範囲であった。モツギバトレプ投与後 1～8 時間の平均体温は 38.7℃～38.8℃ であり、モツギバトレプ投与前及び投与後 0.5 時間（いずれも平均値 38.3℃）よりも上昇した。投与後 24 時間の平均体温は 38.4℃ であり、投与前の値と同程度であった。媒体投与後とモツギバトレプ投与後で一般行動に明らかな差はみられなかった。

以上のように、モツギバトレプを 3 mg/kg の用量でサルに単回経口投与したとき、投与後 1～8 時間に体温上昇がみられた。

2.6.2.4.5 協調運動機能への影響

2.6.2.4.5.1 ラットにおける協調運動機能への影響（ロータロッド試験）

…… 4.2.1.3-10【参考資料】

1 群あたり 10 例の雄性 SD ラットにモツギバトレプを 0（媒体対照）、1、3 及び 10 mg/kg の用量で単回経口投与し、ロータロッド試験により協調運動機能を評価した。媒体として 20% Gelucire 44/14 を使用した。陽性対照群にはモルヒネを 10 mg/kg の用量で単回皮下投与した。ロータロッド試験は投与後 1、3 及び 5 時間に行った。

いずれの用量においてもモツギバトレプ投与による変化はみられなかった。陽性対照群では、投与後 1 時間に協調運動機能への影響がみられ、本試験条件が協調運動機能を評価するうえで適切であったことが確認された。

以上の結果から、本試験条件下でモツギバトレプはラットの協調運動機能に影響を与えないと

判断した。

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

低湿度環境で飼育したドライアイモデルラットを用いてモツギバトレプの効果を検討した結果、低湿度環境で誘発される瞬目回数の増加をモツギバトレプ懸濁性点眼液の検討用製剤（検討用製剤）は単回点眼投与 30 分後に 0.1%～1.0%の濃度範囲で用量依存的に抑制する傾向を示した。また、0.3%及び 1.0%検討用製剤投与群はその基剤投与群に対し有意な抑制効果を示した。このことから、モツギバトレプはドライアイの自覚症状を改善することが示された。また、1.0%検討用製剤点眼投与による瞬目回数抑制効果は 4 時間持続した。更に、ドライアイモデルラットの点状表層角膜症（SPK）スコアは、0.3%モツギバトレプ懸濁液（MVT）又はムコスタ®点眼液 UD2%（2%レバミピド）を 1 日 4 回 14 日間点眼投与することにより、その基剤投与群と比較して有意に改善した。加えて、0.3% MVT 投与群の方が 2%レバミピド投与群より早期に SPK スコアが改善した。すなわち、モツギバトレプはドライアイの他覚所見を改善し、2%レバミピドよりも早くその効果を示した。

モツギバトレプの三叉神経節細胞、ヒト角膜上皮細胞、活性化 T 細胞に対する作用を評価した。その結果、モツギバトレプはカプサイシン刺激により誘発される三叉神経節細胞からの Substance P の放出を濃度依存的に抑制した。また、モツギバトレプはヒト角膜上皮細胞への高浸透圧刺激に伴う CCL5 の発現上昇を濃度依存的に抑制した。更に、モツギバトレプは T 細胞の活性化に伴う IFNγ の産生を濃度依存的に抑制した。

モツギバトレプは TRPV1 に対して選択的かつ高いアンタゴニスト活性を有する。TRPV1 は知覚神経に発現し、ドライアイモデルラットでは TRPV1 の発現が増加していることが報告されている [6]。これらより、モツギバトレプは三叉神経節細胞の TRPV1 を阻害することで自覚症状の改善効果を示すと考える。

また、TRPV1 は角膜上皮細胞にも発現しており、ドライアイを模した高浸透圧培地で角膜上皮細胞を培養すると、TRPV1 が活性化し、炎症性サイトカインが分泌される [7]。炎症性サイトカインの一種である IL-6 や CCL5 は TRPV1 の活性閾値の低下に関与し [8][9]、更に、IL-6 は角膜上皮障害に [10]、CCL5 は T 細胞の遊走に関与する [11]。三叉神経節細胞から放出される Substance P も、角膜上皮細胞に作用して眼炎症の誘導に寄与する [12]とともに T 細胞に作用して T 細胞の増殖を引き起こす [13]。T 細胞は IFNγ を産生し、IFNγ によって角膜上皮障害が誘導される [14]。よって、モツギバトレプは三叉神経節細胞、角膜上皮細胞、及び T 細胞に発現する TRPV1 を阻害することによりドライアイの角膜上皮障害を抑制すると考える。

ラット、イヌ及びサルにモツギバトレプを経口投与した結果、体温上昇がみられたが、体温上昇幅は反復投与により減少した。TRPV1 拮抗薬は体温上昇作用を有し [4]、反復投与により体温上昇作用は減弱する [5]ことが報告されている。よって、モツギバトレプ投与でみられた体温上昇及びその反復投与による減弱は TRPV1 拮抗薬のクラスエフェクトであると判断した。しかし、体温上昇に伴った臨床学的意義のある全身影響はみられず、ウサギ及びイヌを用いた反復点眼投与毒性試験（2.6.6.3.1、2.6.6.3.2 及び 2.6.6.3.3）では体温上昇はみられなかったことから、0.3%モツギバトレプ懸濁性点眼液（以下、本剤）の臨床使用上の懸念は低いと考える。

心血管系への影響について、モツギバトレプの hERG 電流に対する IC_{50} は 1 μg/mL を上回り、本剤を申請用法・用量で投与したときの定常状態におけるヒト推定血漿中 C_{max}（1.92 ng/mL、探索試験より算出）は IC_{50} より低かった。また、イヌにおいて QTcF 及び QTcQ の短縮及び体温上昇がみられたが、QTcF 及び QTcQ の短縮は体温上昇の二次的変化であり、モツギバトレプに催不整

脈の懸念はないと判断した。よって、本剤が心血管系へ影響を及ぼす可能性は低いと考える。

中枢神経系、呼吸系及び協調運動機能については、モツギバトレプ投与による臨床的に意義のある変化はみられなかった。これらの試験のうち最も投与量設定範囲が低かった協調運動機能試験の最高用量（10 mg/kg）と本剤の申請用量（0.015 mg/kg/day、投与回数を 1 日 4 回、両眼投与、体重を 60 kg と仮定して算出）との用量比は 667 倍確保されており、本剤の臨床使用上の懸念は低いと考える。

以上の結果から、モツギバトレプは TRPV1 の拮抗薬であり、ドライアイの自覚症状及び他覚所見を改善する有用性の高い治療薬になると考える。

2.6.2.7 図表

本文中に記載した。

参考文献

1)Kilic S, Kulualp K. Efficacy of several therapeutic agents in a murine model of dry eye syndrome. Comp Med. 2016;66(2):112–118.

2)Chen M, Seo S, Simmons X, Maroud Y, Wong T, Schubert W, Yiu SC. Precise longitudinal monitoring of corneal change through in vivo confocal microscopy in a rat dry eye disease model. Mol Vis. 2024;30:150–159.

3)Van der Linde HJ, Van Deuren B, Teisman A, Towart R, Gallacher DJ. The effect of changes in core body temperature on the QT interval in beagle dogs: a previously ignored phenomenon, with a method for correction. Br J Pharmacol. 2008;154:1474-81.

4)Gavva NR, Bannon AW, Surapaneni S, Hovland DN Jr, Lehto SG, Gore A, et al. The vanilloid receptor TRPV1 is tonically activated in vivo and involved in body temperature regulation. J Neurosci. 2007;27:3366-74.

5)Gavva NR, Bannon AW, Hovland DN Jr, Lehto SG, Klionsky L, Surapaneni S, et al. Repeated administration of vanilloid receptor TRPV1 antagonists attenuates hyperthermia elicited by TRPV1 blockade. J Pharmacol Exp Ther. 2007;323:128-37.

6)Fakih D, Migeon T, Moreau N, Baudouin C, Réaux-Le Goazigo A, Mélik Parsadaniantz S. Transient Receptor Potential Channels: Important Players in Ocular Pain and Dry Eye Disease. Pharmaceutics. 2022;14:1859.

7)Zan Pan, Zheng Wang, Hua Yang, Fan Zhang, Peter S Reinach. TRPV1 activation is required for hypertonicity-stimulated inflammatory cytokine release in human corneal epithelial cells. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2011;52:485-93.

8)Andratsch M, Mair N, Constantin CE, Scherbakov N, Benetti C, Quarta S, et al. A key role for gp130 expressed on peripheral sensory nerves in pathological pain. J Neurosci. 2009;29:13473-83.

9)González-Rodríguez S, Álvarez MG, García-Domínguez M, Lastra A, Cernuda-Cernuda R, Folgueras AR, et al. Hyperalgesic and hypoalgesic mechanisms evoked by the acute administration of CCL5 in mice. Brain Behav Immun. 2017;62:151-161.

10)Higuchi A, Kawakita T, Tsubota K. IL-6 induction in desiccated corneal epithelium in vitro and in vivo. Mol Vis. 2011;17:2400-6.

11)Murooka TT, Rahbar R, Platanias LC, Fish EN. CCL5-mediated T-cell chemotaxis involves the initiation of mRNA translation through mTOR/4E-BP1. Blood. 2008;111(10):4892-901.

12)M T Tran, R N Lausch, J E Oakes. Substance P differentially stimulates IL-8 synthesis in human corneal epithelial cells. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2000;41:3871-7.

13)Lambrecht BN, Germonpré PR, Everaert EG, Carro-Muino I, De Veerman M, de Felipe C, et al. Endogenously produced substance P contributes to lymphocyte proliferation induced by dendritic cells and direct TCR ligation Eur J Immunol. 1999;29:3815-25.

14)Yang X, Zuo X, Zeng H, Liao K, He D, Wang B, et al. IFN-γ facilitates corneal epithelial cell pyroptosis through the JAK2/STAT1 pathway in dry eye. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2023;64:34.