

メサラジン
リアルダ錠 1200mg

第 2 部（モジュール 2）
CTD の概要（サマリー）

2.4 非臨床試験の概括評価

持田製薬株式会社

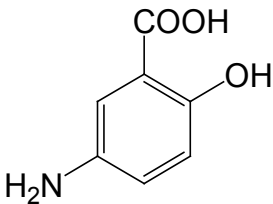
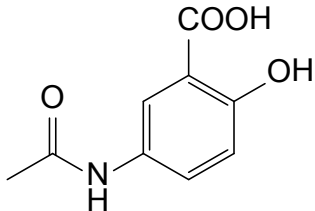
目次

2.4 非臨床試験の概括評価.....	5
2.4.1 非臨床試験計画概略.....	5
2.4.1.1 薬理試験.....	5
2.4.1.2 薬物動態試験.....	5
2.4.1.3 毒性試験.....	5
2.4.2 薬理試験.....	6
2.4.2.1 効力を裏付ける試験.....	6
2.4.2.2 副次的薬理試験.....	6
2.4.2.3 安全性薬理試験.....	7
2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用試験.....	7
2.4.3 薬物動態試験.....	7
2.4.3.1 吸収.....	7
2.4.3.2 分布.....	8
2.4.3.3 代謝.....	8
2.4.3.4 排泄.....	8
2.4.3.5 薬物動態学的薬物相互作用.....	9
2.4.4 毒性試験.....	9
2.4.4.1 単回投与毒性試験.....	9
2.4.4.2 反復投与毒性試験.....	9
2.4.4.3 遺伝毒性試験.....	10
2.4.4.4 がん原性試験.....	10
2.4.4.5 生殖発生毒性試験.....	11
2.4.4.6 局所刺激性試験.....	11
2.4.4.7 その他の毒性試験.....	11
2.4.5 総括および結論.....	11
2.4.5.1 薬理試験の総括.....	11
2.4.5.2 薬物動態試験の総括.....	12
2.4.5.3 毒性試験の総括.....	13
2.4.6 参考文献一覧.....	15

非臨床試験の概括評価の項の略語一覧

略語	内容
AAPH	2,2'-アゾビス (2-アミジノプロパン) ジヒドロクロリド
Ac-5-ASA	<i>N</i> -アセチル-5-アミノサリチル酸
AUC ₀₋₂₄	投与 0 時間から投与後 24 時間までの血漿中濃度-時間曲線下面積
AUC _{0-∞}	投与 0 時間から投与後無限大時間までの血漿中濃度-時間曲線下面積
BUN	血中尿素窒素
Ca	カルシウム
Caco-2	ヒト大腸がん細胞系
CHO 細胞	チャイニーズハムスター卵巣細胞
Cl	クロライド
C _{max}	最高血漿中濃度
Cre	クレアチニン
CYP	チトクローム P450
DDS	薬物送達システム
fMLP	ホルミルメチオニルロイシルフェニルアラニン
IC ₅₀	50%阻害濃度
K	カリウム
LD ₅₀	50%致死量
MMX	マルチマトリックスシステム
MPO	ミエロペルオキシダーゼ
Na	ナトリウム
NAT1	<i>N</i> -アセチルトランスフェラーゼ 1
NAT2	<i>N</i> -アセチルトランスフェラーゼ 2
NF-κB	核内因子 κB
PPAR-γ	ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体 γ
T _{max}	最高血漿中濃度到達時間
TNBS	2,4,6-トリニトロベンゼンスルホン酸
TPMT	チオプリンメチルトランスフェラーゼ

非臨床試験の概括評価の項の化合物一覧

一般名	化学名	構造式	由来
メサラジン	5-Aminosalicylic acid		原薬
<i>N</i> -アセチル-5-アミノサリチル酸 (Ac-5-ASA)	<i>N</i> -Acetyl-5-aminosalicylic acid		メサラジンの主代謝物

2.4 非臨床試験の概括評価

2.4.1 非臨床試験計画概略

MD-0901 は、イタリアの Cosmo 社および英国の Shire 社によって開発されたメサラジンを有効成分とする経口 DDS 製剤である。メサラジンの薬理試験、非臨床薬物動態試験および毒性試験については、国内外で数多くの論文および資料が公表されていることから、本申請では非臨床試験の評価にこれらの公表論文および公表資料の成績を使用した。

2.4.1.1 薬理試験

本申請では、メサラジンの薬理試験として Shire 社が MD-0901 の欧米豪での申請に用いた公表論文およびメサラジンの作用機序を説明する上で有用と考えられる公表論文の成績を使用した。これらの成績を用いることで MD-0901 の薬理作用の評価が可能と考えられたことから、新たな試験は実施しなかった。

2.4.1.2 薬物動態試験

本申請では、メサラジンの非臨床薬物動態試験として Shire 社が MD-0901 の欧米豪での申請に用いた公表論文に加え、欧米豪の申請資料には含まれていないものの、メサラジンの非臨床薬物動態に関する有用な情報であると考え、ペンタサ®錠の申請資料として用いられた「ラットにおけるメサラジンの生体内動態」に関する公表論文およびアサコール®錠の申請資料として用いられた「ヒト *in vitro* CYP 阻害試験」に関する公表資料の成績を使用した。

MD-0901 は、メサラジンの新規 DDS 製剤であることから、既存のメサラジン製剤とは消化管におけるメサラジンの放出、吸収および作用発現部位である大腸における分布（DDS 製剤としての薬物動態に関する特性）が異なると考えられた。しかしながら、DDS 製剤としての薬物動態に関する特性については、海外および国内の臨床薬理試験で評価されていること、また、MD-0901 の有効性や安全性を考察する上で重要な非臨床薬物動態情報（吸収、分布、代謝および排泄）は、有効成分であるメサラジンについての情報であり、それらは前述のメサラジンの非臨床薬物動態に関する公知の成績により評価は可能と考えられたことから、新たな試験は実施しなかった。

2.4.1.3 毒性試験

メサラジンの毒性については、既承認のメサラジン製剤であるペンタサ®錠およびアサコール®錠の承認申請時に評価されている。また、現在までに MD-0901 の国内外の臨床試験および海外における臨床使用においても新たな副作用が報告されていないことから、本申請では、Shire 社が MD-0901 の欧米豪での申請に用いた公表論文および公表資料の成績を使用した。欧米豪各国での承認申請において用いられた毒性関連の非臨床データパッケージはいずれも同一であり、国内の██████████相談においても用いられている。また、欧米豪の承認申請時（各々2006年、2005年および2008年）において、経口メサラジン製剤は臨床で20年以上

の使用実績があった。さらに、本剤はメサラジンを大腸内で放出するよう設計されていることから、メサラジンの大腸粘膜に対する刺激性の評価に有用と考え、上記資料に加えてペンタサ®注腸剤の国内申請時に用いられた「ウサギ 4 週間直腸内投与粘膜刺激性試験」に関する公表資料の成績を使用した。さらに、メサラジンの DDS 製剤であるアサコール®錠の国内申請時に用いられた「アサコール®錠のイヌの反復投与毒性試験」に関する公表資料の成績も併せて使用した。これらの公知の成績を用いることで MD-0901 の毒性評価が可能と考えられたことから、新たな試験は実施しなかった (2.6.6.1 項)。

MD-0901 原薬に含まれる不純物のうち、2 種 (スルファニル酸 (■%以下)、サリチル酸 (■%以下)) については設定した規格値が ICH Q3A ガイドラインにおいて安全性の確認が必要とされる閾値 (0.05%) を超えているが、不純物を用いた毒性試験を実施していない。しかしながら、いずれの不純物についても既存の反復投与毒性試験および遺伝毒性試験の成績から安全性を確認できるものと判断した (2.6.6.9.2.1 項)。

なお、製剤の不純物に関する規格値は、ICH Q3B ガイドラインにおいて安全性確認が必要とされる閾値を越えていないことから (2.6.6.9.2.2 項)、製剤の不純物についての毒性試験は実施していない。また、本製剤には、経口投与における使用前例のない新添加物および経口投与における使用前例量を超える新添加物は含まれていないことから (2.6.6.9.3 項)、新規添加物についての毒性試験は実施していない。

2.4.2 薬理試験

2.4.2.1 効力を裏付ける試験 ^{1) -24)}

メサラジンは、モルモットカラゲニン誘発潰瘍性大腸炎モデルの盲腸および結腸の潰瘍数、ならびにラット酢酸誘発潰瘍性大腸炎モデルの大腸の潰瘍発生率を低下させた。また、メサラジンは、ラット TNBS 誘発潰瘍性大腸炎モデルの結腸 MPO 活性および損傷スコア、ならびにラット AAPH 誘発潰瘍性大腸炎モデルの結腸 MPO 活性を低下させた。これらの試験成績から、メサラジンは各種潰瘍性大腸炎モデルにおいて有効性を示した。

各種 *in vitro* および *in vivo* 試験の結果、メサラジンは、活性酸素種産生の抑制、活性酸素種による組織／細胞傷害の抑制、PPAR- γ 活性化、NF- κ B 活性化の抑制、アラキドン酸代謝物産生の抑制およびホスホリパーゼ D 活性化を示すことが確認されたことから、メサラジンはこれらの作用機序により潰瘍性大腸炎に対して有効性を示すと考えられた。

2.4.2.2 副次的薬理試験 ^{5) -7)}

メサラジンのヒトでの主代謝物 Ac-5-ASA はキサンチンオキシダーゼ活性を阻害したが、その IC₅₀ 値はメサラジンの 500 倍高濃度であった。Ac-5-ASA は、高濃度においても fMLP で刺激したヒト多形核白血球における活性酸素種産生およびヒト赤血球における t-ブチルヒドロペルオキシド刺激による過酸化脂質産生に影響を及ぼさなかった。これらの試験成績か

ら、メサラジンの臨床での有効性にヒトでの主代謝物 Ac-5-ASA が寄与する可能性は低いと考えられた。

2.4.2.3 安全性薬理試験 ²⁵⁾

メサラジンの一般薬理試験を実施した結果、一般症状および行動に及ぼす影響の検討では、メサラジン 1000 mg/kg の経口投与により一過性の興奮に伴う反応性の増大と触覚反応、痛覚反応および耳介反射の亢進が認められた。中枢神経系に及ぼす影響の検討では、メサラジン 1000 mg/kg の経口投与により自発運動量の減少傾向が認められた。水および電解質代謝に及ぼす影響の検討では、メサラジン 300 mg/kg の経口投与により尿中 Na および Cl 排泄量が増加し、尿量および尿中 K 排泄量の増加傾向、1000 mg/kg の経口投与により尿量、尿中 Na、K および Cl 排泄量の増加が認められた。呼吸・循環器系、消化器系、自律神経系および平滑筋ならびに血液系に及ぼす影響の検討では、メサラジン 1000 mg/kg の経口投与あるいは十二指腸内投与、または 0.1 mmol/L (15.3 µg/mL) の濃度においても影響を及ぼさなかった。

これらの一般薬理試験において、水および電解質代謝への影響が観察されなかった最大用量 (100 mg/kg) における C_{max} (30.18 µg/mL、2.6.4.3 項) は、国内の健康成人男女に MD-0901 4.8 g を 1 日 1 回 7 日間反復投与したときの C_{max} (4.044 µg/mL、2.7.2.2.1.1.1 項) と比較して 7.5 倍であった。また、一般症状および行動に及ぼす影響および中枢神経系に及ぼす影響が認められなかった最大用量 (300 mg/kg) における C_{max} は前述のヒトの C_{max} の 20 倍以上と推定されたことから、MD-0901 の臨床使用上、これらの所見に関連する副作用が発現する可能性は低いと考えられた。

2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用試験 ²⁶⁾、²⁷⁾

メサラジンは、アザチオプリンおよび 6-メルカプトプリンを不活性代謝物へと変換する代謝酵素である TPMT の活性を高濃度で阻害した (IC_{50} 値: 1.24 mmol/L)。アザチオプリンまたは 6-メルカプトプリンによる治療中のクローン病患者にメサラジンを併用投与したところ、活性代謝物である 6-チオグアニンヌクレオチドの血中濃度の上昇傾向および白血球減少症の出現頻度の増加傾向が認められた。これらの試験成績から、メサラジンとアザチオプリンまたは 6-メルカプトプリンを併用することにより、アザチオプリンまたは 6-メルカプトプリンの代謝が阻害されることで、これらの薬物の作用が増強される可能性が考えられた。

2.4.3 薬物動態試験

2.4.3.1 吸収 ²⁸⁾ -³²⁾

ラットに ^{14}C -メサラジンあるいはメサラジンを経口投与したときの T_{max} はいずれも早く (0.33~0.83 時間)、また、ラット空腸におけるメサラジンの吸収性は消化管の他の部位より高かったことから、メサラジンは主に上部消化管より速やかに吸収されるものと推察された。

メサラジンを経口投与したときの血漿中メサラジンおよび Ac-5-ASA 濃度は、雄に比べ雌が高く、絶食下投与に比べ非絶食下投与において低かった。

雄性ラットに ^{14}C -メサラジンを 1 日 1 回 14 日間反復経口投与したときの血液中放射能濃度は、投与回数の増加に伴い上昇し、11 回投与以降ほぼ定常状態に達した。

雄性イヌにメサラジンを単回経口投与したときの血漿中には、メサラジンのみが検出され、Ac-5-ASA はほとんど認められなかった。

Caco-2 単層膜を用いたメサラジンの *in vitro* 膜透過試験の結果から、消化管におけるメサラジンの膜透過には、低濃度では担体輸送が寄与し、高濃度では担体輸送は飽和し受動拡散が主となることが示唆された。

2.4.3.2 分布 [28\)](#) , [33\)](#) , [34\)](#)

雄性ラットに ^{14}C -メサラジンを単回経口投与したとき、吸収および排泄臓器以外の組織への放射能の移行は少なく、特に中枢神経への移行性は低いと考えられた。各組織の放射能は速やかに低下し、メサラジンの組織への蓄積性は低いものと推察された。雄性ラットに ^{14}C -メサラジンを 1 日 1 回 14 日間反復経口投与したときの投与後 24 時間における組織中放射能濃度は、ほとんどの組織で投与回数の増加に伴い緩やかに上昇し、特定の組織に蓄積することとはなかった。

妊娠ラットに ^{14}C -メサラジンを単回経口投与したときの組織中放射能濃度および全身オートラジオグラフィーにおいて、羊水あるいは胎児への低濃度の放射能の分布が認められたことから、母獣に比べ低濃度ではあるものの、メサラジンは胎児へ移行するものと推察された。

雄性ラットに ^{14}C -メサラジンを単回経口投与したときの血漿中放射能のたん白結合率は 79.7% (投与後 30 分) であった。また、血液中放射能の血球移行率は 2.1% (投与後 30 分) と低かった。メサラジンのヒト血漿たん白結合率は 42.9% (*in vitro*)、Ac-5-ASA のヒト血漿たん白結合率は 78.2%あるいは 83% (*in vitro*) であった。

2.4.3.3 代謝 [29\)](#) , [30\)](#) , [35\)](#) -[40\)](#)

メサラジンはラットでは *N*-アセチル化により代謝され、Ac-5-ASA が主代謝物であると考えられた。一方、イヌではアセチル化活性が弱く、メサラジンの Ac-5-ASA への代謝はほとんどないと考えられた。ラットに経口投与されたメサラジンのアセチル化には消化管による代謝が関与していると考えられたが、腸内細菌のアセチル化への関与は小さいと考えられた。

メサラジンのアセチル化には、マウスでは主に NAT2、ヒトでは NAT1 が関与していると考えられている。

2.4.3.4 排泄 [28\)](#) , [29\)](#)

雄性ラットに ^{14}C -メサラジンを単回経口投与したときの尿および糞中への放射能の排泄は速やかで、投与後 24 時間までに投与放射能の 95.4%が排泄された (尿 59.6%、糞 35.8%)。このときの投与後 120 時間の体内残存放射能は投与量の 0.1%、また、1 日 1 回 14 日間反復経

口投与したときの最終回投与後 120 時間の体内残存放射能も累積投与量の 0.1%とわずかであったことから、メサラジンの体内への残留性は低いと考えられた。

雄性ラットにメサラジンを単回経口投与したとき、投与後 72 時間までにメサラジンとして投与量の 15.9% (尿) および 3.1% (糞) が、Ac-5-ASA として投与量の 35.9% (尿) および 24.1% (糞) が排泄された。雌性ラットでは、雄に比べ尿中への排泄が多く糞中への排泄が少なかった。

胆管にカニューレを施した雄性ラットに ^{14}C -メサラジンを単回経口投与したときの投与後 48 時間までの投与放射エネルギーに対する胆汁中排泄率は 2.8%とわずかであった。

哺育中のラットに ^{14}C -メサラジンを単回経口投与したときの乳汁中放射能濃度は、投与後 2 時間に最高値 (血漿中濃度の約 3.5 倍) を示し、乳汁中への移行が認められた。

2.4.3.5 薬物動態学的薬物相互作用 ⁴¹⁾

主要な CYP 分子種 (CYP1A2、2B6、2C8、2C9、2C19、2D6、2E1、3A4 および 3A5) の代謝活性に対するメサラジンおよび Ac-5-ASA の 200 $\mu\text{mol/L}$ (メサラジン : 31 $\mu\text{g/mL}$ 、Ac-5-ASA : 39 $\mu\text{g/mL}$) における阻害率は、いずれの分子種に対しても 50%未満であった。国内の健康成人男女に MD-0901 4.8 g を 1 日 1 回 7 日間反復投与したときのメサラジンおよび Ac-5-ASA の C_{max} はそれぞれ 4.044 $\mu\text{g/mL}$ 、4.252 $\mu\text{g/mL}$ であり (2.7.2.2.1.1 項)、上記の CYP 分子種の代謝活性に対する阻害を検討した濃度は C_{max} のそれぞれ 8 倍および 9 倍であったことから、メサラジンおよび Ac-5-ASA が CYP を阻害することにより薬物相互作用が生じる可能性は低いと考えられた。

2.4.4 毒性試験

2.4.4.1 単回投与毒性試験 ^{42) -45)}

メサラジンを単回経口投与したときの LD_{50} 値は、マウスで 5000 mg/kg、ラットで 4594 mg/kg、腹腔内投与したときの LD_{50} 値は、ラットの雄で 2000 mg/kg 以上、雌で 1000~2000 mg/kg と推定された。また、メサラジンをサルに単回経口投与したときの概略の致死量は 3000 mg/kg と推定された。ラットでみられた主な急性毒性所見は、経口投与では死亡、自発運動の低下、赤色尿および体重増加抑制、腹腔内投与では死亡、自発運動の低下、赤色尿、よろめき歩行、うずくまり、立毛および体重減少であった。また、サルでみられた主な急性毒性所見は、死亡、軟便、鎮静、眼瞼下垂、尿の色調変化 (淡黄褐色~黒褐色)、尿潜血ならびに腎乳頭壊死および腎乳頭水腫などの腎病変であった。

2.4.4.2 反復投与毒性試験 ^{41) , 43) , 46) -48)}

メサラジンのラット 13 週間経口投与毒性試験 (投与量 : 0、100、200、400 mg/kg/day) では、200 mg/kg 以上の投与により死亡または瀕死期屠殺例がみられた。また、200 mg/kg 以上の投与により尿たん白陽性例の増加、尿潜血および腎乳頭壊死、400 mg/kg 投与により尿量

の増加、尿比重の低下、尿の黄褐色化、尿中電解質（Na、K、Cl）および尿中 Cre 濃度の減少、腎臓の実および比重量の増加ならびに腎乳頭部の白色化など、主に腎臓への影響が認められた。本試験の無毒性量は 100 mg/kg/day と推定された。

メサラジンのラット 26 週間経口投与毒性試験（投与量：0、80、170、360 mg/kg/day）では、360 mg/kg 投与により死亡例がみられた。また、170 mg/kg 以上の投与により、腎乳頭の浮腫、尿細管の変性、尿細管の鉍質沈着および尿路上皮の過形成の発現例数増加、360 mg/kg 投与により、BUN および血中 Cre の増加、尿中電解質（Na、K、Cl、Ca）濃度の減少、腎臓の実および比重量の増加ならびに腎乳頭壊死など、主に腎臓への影響が認められた。さらに、360 mg/kg 投与により、胃の粘膜／粘膜下の線維化および膀胱の粘膜炎症の発現例数増加が認められた。本試験の無毒性量は 80 mg/kg/day と推定され、無毒性量における曝露量（雌雄の平均血漿中薬物濃度 26.7 µg/mL）は、ヒトにおける曝露量（国内の健康成人男女、MD-0901 4.8 g/日、1 日 1 回 7 日間反復投与、C_{max}: 4.044 µg/mL（2.7.2.2.1.1.1 項））と比較すると、6.6 倍であった。

メサラジンのイヌ 52 週間経口投与毒性試験（投与量：0、40、80、160 mg/kg/day）では、死亡例はみられなかったが、80 mg/kg 以上の投与により、BUN および血中 Cre の増加、尿比重の低下、腎乳頭壊死および慢性腎炎など、主に腎臓への影響が認められた。本試験の無毒性量は 40 mg/kg/day と推定され、無毒性量における曝露量（雌雄の平均値、C_{max}: 59.0 µg/mL、AUC₀₋₂₄: 160.75 µg·h/mL）は、ヒトにおける曝露量（C_{max}: 4.044 µg/mL および AUC₀₋₂₄: 33.569 µg·h/mL（2.7.2.2.1.1.1 項））と比較すると、C_{max} で 14.6 倍、AUC₀₋₂₄ で 4.8 倍であった。

アサコール®錠を用いたイヌ 52 週間経口投与毒性試験（（試験 1）および（試験 2）：ともにメサラジンとして 0、40、120 および 200 mg/kg/day を投与）では、120 mg/kg 以上の投与により、軽度の体重減少および摂餌量の減少（試験 1）、または、眼の黄色分泌物および粘液性結膜炎（試験 2）のみが認められ、腎臓、消化管およびその他の器管・組織では所見は認められなかった。イヌ特有の症状を除いて明らかな毒性所見が認められなかった 200 mg/kg 群の最終投与後における曝露量（雌雄の平均値、C_{max}: 50.6 µg/mL、AUC_{0-∞}: 400.6 µg·h/mL）は、前述したヒトにおける曝露量と比較すると、C_{max} で 12.5 倍、AUC で 11.9 倍であった。

2.4.4.3 遺伝毒性試験 [49](#)、[50](#)

メサラジンの細菌を用いる復帰突然変異試験、CHO 細胞を用いる姉妹染色分体交換試験、CHO 細胞を用いる染色体異常試験およびマウスの骨髄細胞を用いる小核試験では、メサラジンに遺伝毒性は認められなかった。

2.4.4.4 がん原性試験 [46](#)、[51](#)

メサラジンのマウスがん原性試験（投与量：0、200、1000、2000 mg/kg/day）およびラットがん原性試験（投与量：0、60、120、360、480 mg/kg/day）では、メサラジンに催腫瘍性は認められなかった。また、メサラジンのラットを用いた肝二段階発がん試験（投与量：0、

150、300 mg/kg/day) では、メサラジンはジエチルニトロサミン (DEN) をイニシエーターとした場合に、肝臓および腎臓に対して影響を示さなかった。

2.4.4.5 生殖発生毒性試験 [52\)](#) -[54\)](#)

メサラジンの雄ラット生殖能への影響に関する試験 (投与量: 0、296 mg/kg/day) ならびにラット受胎能および生殖能への影響に関する試験 (投与量: 0~480 mg/kg/day) では、雌雄親世代動物の受胎能および生殖能に影響は認められなかった。また、メサラジンのラットおよびウサギ胚・胎児発生に関する試験 (投与量: 0~480 mg/kg/day) では、催奇形性および胎児毒性は認められなかった。さらに、メサラジンのラット出生前および出生後の発生ならびに母体の機能に関する試験 (投与量: 0、100、200、400 mg/kg/day) では、400 mg/kg 投与により、親世代動物 (F₀) の死亡、妊娠期間中の体重増加量および摂餌量の減少傾向がみられたが、親世代動物 (F₀) の生殖能、次世代動物 (F₁) および次々世代動物 (F₂) の発生に影響は認められなかった。

2.4.4.6 局所刺激性試験 [55\)](#)

メサラジンのウサギ 4 週間直腸内投与粘膜刺激性試験 (投与量: 0、50、100 mg/kg/day) では、メサラジンは直腸粘膜刺激性 (表面上皮の変性など) を示したものの、変化の程度は極く軽度であり、また、明らかな用量反応関係も認められなかった。なお、これらの変化は 4 週間の休薬により回復することが確認された。

2.4.4.7 その他の毒性試験 [56\)](#) , [57\)](#)

メサラジンのモルモットにおける能動的全身性アナフィラキシー (ASA) 反応試験、モルモットにおける受動的皮膚アナフィラキシー (PCA) 反応試験および感作マウス血清を用いたラットにおける異種受動的皮膚アナフィラキシー (PCA) 反応試験では、メサラジンに抗原性は認められなかった。

また、メサラジンのイヌにおける乾燥性角結膜炎の検討試験 (投与量: 0、40、60、100 mg/kg/day) では、40 mg/kg 以上の投与により、乾燥性角結膜炎および涙液の減少が認められたが、これらの所見はイヌ特有の症状であると考えられた ([2.6.6.9.1](#) 項)。

2.4.5 総括および結論

2.4.5.1 薬理試験の総括

メサラジンは各種潰瘍性大腸炎モデルにおいて有効性を示した。メサラジンは、活性酸素種産生の抑制、活性酸素種による組織/細胞傷害の抑制、PPAR- γ 活性化、NF- κ B 活性化の抑制、アラキドン酸代謝物産生の抑制およびホスホリパーゼ D 活性化を示し、これらの作用がメサラジンの潰瘍性大腸炎に対する有効性に寄与すると考えられた。メサラジンの主代謝物

である Ac-5-ASA は、活性酸素種産生抑制作用を示すものの、メサラジンと比較してその抑制作用は顕著に弱く、臨床での有効性に Ac-5-ASA が寄与する可能性は低いと考えられた。

メサラジンの一般薬理試験を実施した結果、一般症状および行動、中枢神経系、水および電解質代謝への影響が認められたが、いずれの所見も高用量投与時（所見が観察されなかった最大用量における C_{max} はヒトの C_{max} と比較して 7.5 倍以上）にのみ観察されたことから、MD-0901 の臨床使用上、これらの所見に関連する副作用が発現する可能性は低いと考えられた。

メサラジンとアザチオプリンまたは 6-メルカプトプリンを併用することにより、アザチオプリンまたは 6-メルカプトプリンの代謝が阻害されることで、これらの薬物の作用が増強される可能性が示唆された。

2.4.5.2 薬物動態試験の総括

ラットに ^{14}C -メサラジンあるいはメサラジンを経口投与したときの T_{max} はいずれも早く、ラットにおけるメサラジンの吸収性は空腸が消化管の他の部位より高かったことから、経口投与されたメサラジンは主に上部消化管より速やかに吸収されるものと推察された。メサラジンを単回経口投与したときの血漿中メサラジンおよび Ac-5-ASA 濃度は、雄に比べ雌が高く、また、絶食下投与に比べ非絶食下投与において低かった。雄性イヌにメサラジンを単回経口投与したときの血漿中にはメサラジンのみが検出され、Ac-5-ASA はほとんど認められなかった。

雄性ラットに ^{14}C -メサラジンを 14 日間反復経口投与したときの血液中放射能濃度は、投与回数の増加に伴い上昇し、11 回投与以降ほぼ定常状態に達した。

In vitro 膜透過試験の結果から、メサラジンの吸収には一部担体輸送が関与していることが示唆された。

雄性ラットに ^{14}C -メサラジンを単回経口投与したとき、吸収および排泄臓器以外の組織への放射能の移行は少なく、特に中枢神経への移行性は低いと考えられた。各組織の放射能は速やかに低下し、メサラジンの組織への蓄積性は低いものと推察された。また、14 日間反復経口投与したときの組織中放射能濃度は、ほとんどの組織で投与回数の増加に伴い緩やかに上昇し、特定の組織に蓄積することはなかった。

妊娠ラットに ^{14}C -メサラジンを経口投与したとき、母獣に比べ低濃度ではあるものの、羊水あるいは胎児への放射能の移行が認められた。

メサラジンのヒト血漿たん白結合率は 42.9% (*in vitro*)、Ac-5-ASA のヒト血漿たん白結合率は 78.2%あるいは 83% (*in vitro*) であった。

メサラジンの代謝は、ラットでは主に Ac-5-ASA へ代謝され、イヌでは Ac-5-ASA への代謝はほとんどないと考えられた。

雄性ラットに ^{14}C -メサラジンを単回経口投与したとき、投与後 24 時間までの尿および糞中に投与放射能の 59.6%および 35.8%が排泄された。雄性ラットに ^{14}C -メサラジンを単回ある

いは14日間反復経口投与したときの投与後120時間における体内残存放射能はいずれも投与量の0.1%とわずかであったことから、メサラジンの体内への残留性は低いと考えられた。

雌雄ラットにメサラジンを単回経口投与したとき、尿および糞中にメサラジンおよびAc-5-ASAの排泄が認められ、雌性ラットでは、雄に比べ尿中への排泄が多く糞中への排泄が少なかった。

哺育中のラットに¹⁴C-メサラジンを経口投与したとき、乳汁への放射能の移行が認められた。

主要なCYP分子種に対するメサラジンおよびAc-5-ASAの阻害作用を検討した結果、各種CYPの代謝活性に対するメサラジンおよびAc-5-ASAの200 μmol/L（メサラジン：31 μg/mL、Ac-5-ASA：39 μg/mL）における阻害率は、いずれの分子種に対しても50%未満であったことから、メサラジンおよびAc-5-ASAがCYPを阻害することにより薬物相互作用が生じる可能性は低いと考えられた。

2.4.5.3 毒性試験の総括

メサラジンの単回投与毒性試験の結果、ラットでみられた主な急性毒性所見は、経口投与では死亡、自発運動の低下、赤色尿および体重増加抑制、腹腔内投与では死亡、自発運動の低下、赤色尿、よろめき歩行、うずくまり、立毛および体重減少であった。また、サルでみられた主な急性毒性所見は、死亡、軟便、鎮静、眼瞼下垂、尿の色調変化（淡黄褐色～黒褐色）および尿潜血に加え、腎乳頭壊死および腎乳頭水腫などの腎病変であった。

メサラジンの反復投与毒性試験の結果、主な毒性所見として、ラットおよびイヌで腎毒性（腎乳頭壊死、腎乳頭浮腫、尿細管変性など）、ラットで膀胱の炎症および消化管毒性（胃粘膜下の炎症・線維化）が認められた。これらの毒性のうち最も低い用量より認められたのは腎毒性であった。無毒性量におけるメサラジンの曝露量はヒトにおける曝露量と比較すると、血漿中濃度またはC_{max}で6～14倍程度、AUC₀₋₂₄で4倍程度であったが、ヒトにおけるMD-0901（4.8 g/日）の反復経口投与時のメサラジンの曝露量は、既存のメサラジン製剤であるアサコール®錠（3.6 g/日）およびペンタサ®錠（4.0 g/日）の反復経口投与時と大きく異なるものではなかったことから、本剤の安全性はこれらの製剤と同程度と考えられた（2.6.6.9.1項）。

メサラジンの遺伝毒性試験、がん原性試験および抗原性試験の結果はいずれも陰性であった。

メサラジンのラット受胎能および生殖能への影響に関する試験の結果、雌雄親世代動物の受胎能および生殖能に影響は認められなかった。また、メサラジンのラットおよびウサギ胚・胎児発生に関する試験の結果、催奇形性および胎児毒性は認められなかった。さらに、メサラジンのラット出生前および出生後の発生ならびに母体の機能に関する試験の結果、親世代動物（F₀）の生殖能、次世代動物（F₁）および次々世代動物（F₂）の発生に影響は認められなかった。

メサラジンのウサギ直腸内投与粘膜刺激性試験の結果、メサラジンは直腸粘膜刺激性を示したものの、変化の程度は極く軽度であり、明らかな用量反応関係も認められず、また、回復性の変化であった。なお、アサコール[®]錠を用いたイヌ 52 週間経口投与毒性試験では、腸管粘膜に病理組織学的変化は認められなかったことより、MD-0901 についても、腸管粘膜に病理組織学的な影響を与える可能性は低いと考えられた。

2.4.6 参考文献一覧

- 1) Goto M, Okamoto Y, Yamamoto M, Aki H. Anti-inflammatory effects of 5-aminosalicylic acid conjugates with chenodeoxycholic acid and ursodeoxycholic acid on carrageenan-induced colitis in guinea-pigs. *J Pharm Pharmacol.* 2001; 53: 1711-20. <資料番号 4.3.1-1>
- 2) Rodrigues LV, Ferreira FV, Regadas FS, Matos D, Viana GS. Morphologic and morphometric analyses of acetic acid-induced colitis in rats after treatment with enemas from *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Aroeira do Sertão). *Phytother Res.* 2002; 16: 267-72. <資料番号 4.3.1-2>
- 3) Tozaki H, Fujita T, Odoriba T, Terabe A, Okabe S, Muranishi S, et al. Validation of a pharmacokinetic model of colon-specific drug delivery and the therapeutic effects of chitosan capsules containing 5-aminosalicylic acid on 2,4,6-trinitrobenzenesulphonic acid-induced colitis in rats. *J Pharm Pharmacol.* 1999; 51: 1107-12. <資料番号 4.3.1-3>
- 4) Tamai H, Levin S, Gaginella TS. Induction of colitis in rats by 2-2'-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride. *Inflammation.* 1992; 16: 69-81. <資料番号 4.3.1-4>
- 5) Simmonds NJ, Millar AD, Blake DR, Rampton DS. Antioxidant effects of aminosalicylates and potential new drugs for inflammatory bowel disease: assessment in cell-free systems and inflamed human colorectal biopsies. *Aliment Pharmacol Ther.* 1999; 13: 363-72. <資料番号 4.3.1-5>
- 6) Nielsen OH, Bouchelouche PN, Berild D, Ahnfelt-Rønne I. Effect of 5-aminosalicylic acid and analogous substances on superoxide generation and intracellular free calcium in human neutrophilic granulocytes. *Scand J Gastroenterol.* 1993; 28: 527-32. <資料番号 4.3.1-6>
- 7) Greenfield SM, Boswell DJ, Punchard NA, Thompson RP. The effects of 5-aminosalicylic acid and acetyl-5-aminosalicylic acid on lipid peroxidation in erythrocytes and prostaglandin production by mononuclear cells. *Aliment Pharmacol Ther.* 1992; 6: 671-83. <資料番号 4.3.1-7>
- 8) Valentine JF. Mesalamine induces manganese superoxide dismutase in rat intestinal epithelial cell lines and in vivo. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2001; 281: G1044-50. <資料番号 4.3.1-8>
- 9) Kennedy M, Wilson L, Szabó C, Salzman AL. 5-Aminosalicylic acid inhibits iNOS transcription in human intestinal epithelial cells. *Int J Mol Med.* 1999; 4: 437-43. <資料番号 4.3.1-9>
- 10) Cavicchi M, Gibbs L, Whittle BJ. Heme oxygenase-1 (HO-1) induction in human intestinal epithelial cells by sulphasalazine and 5-aminosalicylic acid: A potential therapeutic mechanism. *Gastroenterology.* 2000; 118: A804. <資料番号 4.3.1-10>
- 11) Horváth K, Varga C, Berkó A, Pósa A, László F, Whittle BJ. The involvement of heme oxygenase-1 activity in the therapeutic actions of 5-aminosalicylic acid in rat colitis. *Eur J Pharmacol.* 2008; 581: 315-23. <資料番号 4.3.1-11>
- 12) Sandoval M, Liu X, Mannick EE, Clark DA, Miller MJ. Peroxynitrite-induced apoptosis in human intestinal epithelial cells is attenuated by mesalamine. *Gastroenterology.* 1997; 113: 1480-8. <資料番号 4.3.1-12>
- 13) McKenzie SM, Doe WF, Buffinton GD. 5-Aminosalicylic acid prevents oxidant mediated damage of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase in colon epithelial cells. *Gut.* 1999; 44: 180-5. <資料番号 4.3.1-13>
- 14) Kvietys PR, Smith SM, Grisham MB, Mancini EA. 5-Aminosalicylic acid protects against ischemia/reperfusion-induced gastric bleeding in the rat. *Gastroenterology.* 1988; 94: 733-8. <資料番号 4.3.1-14>
- 15) Lutz J, Augustin AJ. Ischemia reperfusion damage in the gut and its treatment with drugs of the aminosalicylic acid group. *Adv Exp Med Biol.* 1994; 361: 327-32. <資料番号 4.3.1-15>
- 16) Hansen PR, Svendsen JH, Høst NB, Hansen SH, Haunsø S. Effect of 5-aminosalicylic acid on

- myocardial capillary permeability following ischaemia and reperfusion. *Cardiovasc Res.* 1992; 26: 798-803. <資料番号 4.3.1-16>
- 17) Rousseaux C, Lefebvre B, Dubuquoy L, Lefebvre P, Romano O, Auwerx J, et al. Intestinal antiinflammatory effect of 5-aminosalicylic acid is dependent on peroxisome proliferator-activated receptor- γ . *J Exp Med.* 2005; 201: 1205-15. <資料番号 4.3.1-17>
- 18) Kaiser GC, Yan F, Polk DB. Mesalamine blocks tumor necrosis factor growth inhibition and nuclear factor κ B activation in mouse colonocytes. *Gastroenterology.* 1999; 116: 602-9. <資料番号 4.3.1-18>
- 19) Yan F, Polk DB. Aminosalicic acid inhibits I κ B kinase α phosphorylation of I κ B α in mouse intestinal epithelial cells. *J Biol Chem.* 1999; 274: 36631-6. <資料番号 4.3.1-19>
- 20) Bantel H, Berg C, Vieth M, Stolte M, Kruis W, Schulze-Osthoff K. Mesalazine inhibits activation of transcription factor NF- κ B in inflamed mucosa of patients with ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol.* 2000; 95: 3452-7. <資料番号 4.3.1-20>
- 21) Schmidt C, Fels T, Baumeister B, Vetter H. The effect of 5-aminosalicylate and para-aminosalicylate on the synthesis of prostaglandin E₂ and leukotriene B₄ in isolated colonic mucosal cells. *Curr Med Res Opin.* 1996; 13: 417-25. <資料番号 4.3.1-21>
- 22) Zijlstra FJ, van Dijk AP, Ouwendijk RJ, van Riemsdijk-Overbeeke IC, Wilson JH. Eicosanoid production by the mucosa in inflammatory bowel disease after 5-ASA treatment. *Agents Actions.* 1993; 38 Spec No: C122-4. <資料番号 4.3.1-22>
- 23) Warner TD, Giuliano F, Vojnovic I, Bukasa A, Mitchell JA, Vane JR. Nonsteroid drug selectivities for cyclo-oxygenase-1 rather than cyclo-oxygenase-2 are associated with human gastrointestinal toxicity: A full *in vitro* analysis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999; 96: 7563-8. <資料番号 4.3.1-23>
- 24) Gómez-Muñoz A, O'Brien L, Salh B, Steinbrecher UP. 5-Aminosalicylate stimulates phospholipase D activity in macrophages. *Biochim Biophys Acta.* 2001; 1533: 110-8. <資料番号 4.3.1-24>
- 25) 田中和彦, 岩崎栄, 宇土研二, 長瀬孝彦, 狩野真由美, 山口和政, 他. Mesalazine (5-Aminosalicylic acid) の一般薬理作用. *応用薬理.* 1994; 48: 225-38. <資料番号 4.3.1-25>
- 26) Szumlanski CL, Weinshilboum RM. Sulphasalazine inhibition of thiopurine methyltransferase: possible mechanism for interaction with 6-mercaptopurine and azathioprine. *Br J Clin Pharmacol.* 1995; 39: 456-9. <資料番号 4.3.1-26>
- 27) Lowry PW, Franklin CL, Weaver AL, Szumlanski CL, Mays DC, Loftus EV, et al. Leucopenia resulting from a drug interaction between azathioprine or 6-mercaptopurine and mesalamine, sulphasalazine, or balsalazide. *Gut.* 2001; 49: 656-64. <資料番号 4.3.1-27>
- 28) 田中友希夫, 米澤克信, 高尾厚志, 神谷恵子, 高市松夫, 江角凱夫. Mesalazine の生体内動態 (第 1 報) Mesalazine のラットにおける単回及び反復投与後の吸収, 分布及び排泄. *医薬品研究.* 1994; 25: 704-18. <資料番号 4.3.1-28>
- 29) 田中友希夫, 中山悟, 北條直美, 米澤克信. メサラジンの生体内動態 (第 2 報) —メサラジンのラットにおける血漿中濃度推移および排泄—. *薬理と治療.* 1994; 22: 3501-10. <資料番号 4.3.1-29>
- 30) Bilyard KG, Joseph EC, Metcalf R. Mesalazine: An overview of key preclinical studies. *Scand J Gastroenterol.* 1990; 25(suppl 172): 52-5. <資料番号 4.3.1-30>
- 31) Zhou SY, Fleisher D, Pao LH, Li C, Winward B, Zimmermann EM. Intestinal metabolism and transport of 5-aminosalicylate. *Drug Metab Dispos.* 1999; 27: 479-85. <資料番号 4.3.1-31>
- 32) Liang E, Proudfoot J, Yazdani M. Mechanisms of transport and structure-permeability relationship of sulfasalazine and its analogs in Caco-2 cell monolayers. *Pharm Res.* 2000; 17:

- 1168-74. <資料番号 4.3.1-32>
- 33) Klotz U, Maier KE, Fischer C, Bauer KH. A new slow-release form of 5-aminosalicylic acid for the oral treatment of inflammatory bowel disease. Biopharmaceutic and clinical pharmacokinetic characteristics. *Arzneimittelforschung*. 1985; 35: 636-9. <資料番号 4.3.1-33>
- 34) Rasmussen SN, Bondesen S, Hvidberg EF, Hansen SH, Binder V, Halskov S, et al. 5-Aminosalicylic acid in a slow-release preparation: bioavailability, plasma level, and excretion in humans. *Gastroenterology*. 1982; 83: 1062-70. <資料番号 4.3.1-34>
- 35) Květa J, Svoboda Z, Nobilis M, Pastera J, Anzenbacher P. Experimental Goettingen minipig and beagle dog as two species used in bioequivalence studies for clinical pharmacology (5-aminosalicylic acid and atenolol as model drugs). *Gen Physiol Biophys*. 1999; 18: 80-5. <資料番号 4.3.1-35>
- 36) Pieniaszek HJ Jr, Bates TR. Capacity-limited gut wall metabolism of 5-aminosalicylic acid, a therapeutically active metabolite of sulfasalazine, in rats. *J Pharm Sci*. 1979; 68: 1323-5. <資料番号 4.3.1-36>
- 37) Peppercorn MA, Goldman P. The role of intestinal bacteria in the metabolism of salicylazosulfapyridine. *J Pharmacol Exp Ther*. 1972; 181: 555-62. <資料番号 4.3.1-37>
- 38) Estrada-Rodgers L, Levy GN, Weber WW. Substrate selectivity of mouse *N*-acetyltransferases 1, 2, and 3 expressed in COS-1 cells. *Drug Metab Dispos*. 1998; 26: 502-5. <資料番号 4.3.1-38>
- 39) Ricart E, Taylor WR, Loftus EV, O’Kane D, Weinshilboum RM, Tremaine WJ, et al. *N*-acetyltransferase 1 and 2 genotypes do not predict response or toxicity to treatment with mesalamine and sulfasalazine in patients with ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol*. 2002; 97: 1763-8. <資料番号 4.3.1-39>
- 40) Cantilena LR Jr, Katki AG, Klecker RW, Collins JM. Metabolism by *N*-acetyltransferase 1 in vitro and in healthy volunteers: a prototype for targeted inhibition. *J Clin Pharmacol*. 2004; 44: 1405-11. <資料番号 4.3.1-40>
- 41) アサコール®錠 400mg 審査報告書, 独立行政法人医薬品医療機器総合機構, 平成 21 年 8 月 20 日. <資料番号 4.3.1-41>
- 42) Koelzer PP, Giesen J. Investigation of the toxicity of p-aminosalicylic acid and its derivatives. *Z Naturforsch*. 1951; 6b: 183-90. <資料番号 4.3.1-42>
- 43) Lecchini S. Relazione tossicologica del prodotto ASACOL. Università di Pavia. 1985. <資料番号 4.3.1-43>
- 44) 太田隆雄, 藤村高志, 本行孝幸, 石井美民, 川瀬重雄. Mesalazine のラット単回投与毒性試験. *応用薬理*. 1994; 47: 505-7. <資料番号 4.3.1-44>
- 45) 中浦槇介, 鶴田真章, 恒成靖生, 本行孝幸, 石井美民, 川瀬重雄. Mesalazine のカニクイザルにおける単回投与毒性試験. *応用薬理*. 1994; 47: 509-11. <資料番号 4.3.1-45>
- 46) USA Summary Basis of Approval for Supplement to NDA 19,651 (SE1-005, 4 June 1996) for Asacol® (mesalamine) Delayed-Release Tablets. <資料番号 4.3.1-46>
- 47) 木村均, 藤村高志, 本行孝幸, 石井美民, 川瀬重雄. Mesalazine のラット 13 週間反復投与毒性試験および回復性試験. *応用薬理*. 1994; 48: 277-88. <資料番号 4.3.1-47>
- 48) 医薬品インタビューフォーム 潰瘍性大腸炎治療剤 アサコール®錠 400mg, 製造販売元: ゼリア新薬工業株式会社, 2012 年 5 月 (第 6 版). <資料番号 4.3.1-48>
- 49) 永澤佳子, 三輪芳久, 本行孝幸, 菅原母里, 川瀬重雄. Mesalazine の変異原性試験. *応用薬理*. 1994; 48: 501-9. <資料番号 4.3.1-49>
- 50) Witt KL, Bishop JB, McFee AF, Kumaroo V. Induction of chromosomal damage in mammalian cells in vitro and in vivo by sulfapyridine or 5-aminosalicylic acid. *Mutat Res*. 1992; 283: 59-64. <資料番号 4.3.1-50>
- 51) 廣内康彦, 各務進, 庄子明德, 小林克己, 榎本眞, 畠山茂樹, 他. Mesalazine のラットを用

- いた肝二段階発癌試験. J Toxicol Sci. 1998; 23(suppl III): 539-52. <資料番号 4.3.1-51>
- 52) Ó'Moráin C, Smethurst P, Doré CJ, Levi AJ. Reversible male infertility due to sulphasalazine: studies in man and rat. Gut. 1984; 25: 1078-84. <資料番号 4.3.1-52>
- 53) Asacol® (mesalamine) Delayed-Release Tablets (Procter and Gamble Pharmaceuticals). Physicians' Desk Reference, revised Mar 2004. <資料番号 4.3.1-53>
- 54) 太田隆雄, 藤村高志, 本行孝幸, 川瀬重雄. Mesalazine のラット器官形成期, 周産期および授乳期経口投与試験. 応用薬理. 1994; 47: 513-22. <資料番号 4.3.1-54>
- 55) ペンタサ®注腸 1g 審査報告書, 国立医薬品食品衛生研究所長, 平成 14 年 8 月 13 日. <資料番号 4.3.1-55>
- 56) 和田浩, 山田恭史, 本行孝幸, 川瀬重雄. Mesalazine の抗原性試験. 応用薬理. 1994; 47: 523-8. <資料番号 4.3.1-56>
- 57) Barnett KC, Joseph EC. Keratoconjunctivitis sicca in the dog following 5-aminosalicylic acid administration. Hum Toxicol. 1987; 6: 377-83. <資料番号 4.3.1-57>