

2.4 非臨床試験の概括評価

【目次】

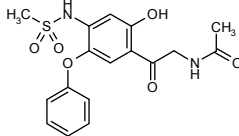
2.4 非臨床試験の概括評価	1
2.4.1 非臨床試験計画概略	1
2.4.1.1 非臨床試験に使用した被験物質について	2
2.4.1.1.1 イグランチモド原薬について	2
2.4.1.1.2 代謝物及び類縁物質	2
2.4.1.2 薬理試験	3
2.4.1.2.1 効力を裏付ける試験	3
2.4.1.2.2 副次的及び安全性薬理試験並びに薬力学的薬物相互作用試験	3
2.4.1.3 薬物動態試験	5
2.4.1.4 毒性試験	5
2.4.1.4.1 臨床試験開始前に実施した試験	5
2.4.1.4.2 申請までに実施した試験	6
2.4.2 薬理試験	8
2.4.2.1 薬理作用に関する類薬との比較	8
2.4.2.2 作用機序に関して	11
2.4.2.2.1 細胞学的機序について	11
2.4.2.2.2 分子標的について	13
2.4.2.2.3 PG産生抑制作用について	14
2.4.2.3 薬理試験と薬物動態試験成績との関連	15
2.4.2.3.1 <i>In vitro</i> 試験	15
2.4.2.3.2 <i>In vivo</i> 試験	15
2.4.2.3.3 代謝物の関与	16
2.4.2.4 副次的及び安全性薬理試験並びに薬力学的薬物相互作用試験	16
2.4.3 薬物動態試験	18
2.4.3.1 分析法、薬物動態モデル及び薬物動態パラメータ	18
2.4.3.2 ラット及びサルにおける薬物動態並びにヒトとの比較－吸収と分布－	18
2.4.3.3 ラット及びサルにおける薬物動態並びにヒトとの比較－代謝と排泄－	20
2.4.3.3.1 ラット反復投与試験における代謝物濃度及びヒト代謝物濃度との比較	22
2.4.3.3.2 ヒトにおける腸肝循環の可能性	24
2.4.3.4 薬物動態学的薬物相互作用	24
2.4.3.4.1 代謝物組成及び薬物相互作用について	24
2.4.3.4.2 トランスポーターの関与について	25
2.4.3.4.2.1 胆汁中排泄に関わるトランスポーターの関与	25
2.4.3.4.2.2 P-糖蛋白質の関与	27
2.4.3.5 代謝物と薬効・毒性及びヒト安全性との関係	28
2.4.3.5.1 代謝物とヒトでの血漿中濃度との関係	28
2.4.3.5.2 代謝物の蓄積性に関して	30
2.4.3.5.3 動物とヒトにおける代謝物の量的比較に関して	31
2.4.4 毒性試験	33
2.4.4.1 単回投与毒性試験	33
2.4.4.2 反復投与毒性試験	33
2.4.4.3 遺伝毒性試験	34

2.4.4.4	がん原性試験	34
2.4.4.5	生殖発生毒性試験	35
2.4.4.6	その他の毒性試験	35
2.4.4.7	ヒトで認められた肝機能検査値異常に関する考察	36
2.4.5	総括及び結論	38
2.4.5.1	非臨床試験にみられる特徴	38
2.4.5.1.1	免疫グロブリン産生の抑制	38
2.4.5.1.2	炎症性サイトカイン産生の抑制	38
2.4.5.1.3	関節炎モデル及び細胞性免疫関与の炎症モデルに対する有効性	38
2.4.5.1.4	薬物動態学的特徴	38
2.4.5.2	ヒトでの安全使用について	38
2.4.5.2.1	消化性潰瘍のある患者及び既往歴のある患者への投与	38
2.4.5.2.2	妊婦又は妊娠している可能性のある婦人への投与	39
2.4.5.2.3	肝障害患者への投与	39
2.4.5.2.4	授乳婦への投与	39
2.4.5.2.5	薬物相互作用	39
2.4.5.2.6	その他の注意事項	40
2.4.6	参考文献一覧	41

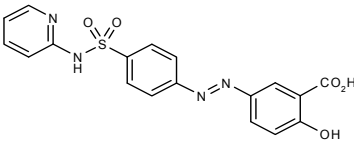
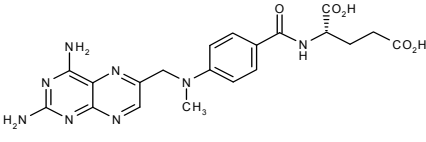
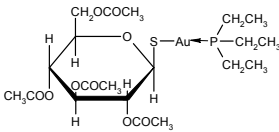
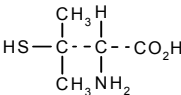
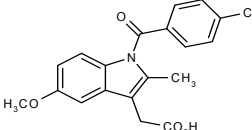
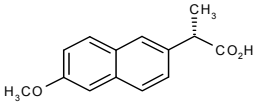
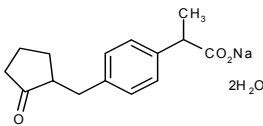
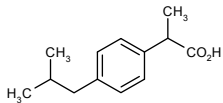
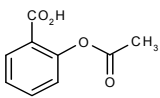
2.4 非臨床試験の概括評価に関する略号一覧表

略号	化学名 (INN / JAN一般名)	構造式	別名・由来
T-614	<i>N</i> -[3-(Formylamino)-4-oxo-6-phenoxy-4 <i>H</i> -chromen-7-yl]methanesulfonamide (Iguritimod: イグラチモド)		原薬
M1 / ■	<i>N</i> -(3-Amino-4-oxo-6-phenoxy-4 <i>H</i> -chromen-7-yl)methanesulfonamide		T-614M1・代謝物 T-614 ■
M2 / ■	<i>N</i> -{7-[(Methylsulfonyl)amino]-4-oxo-6-phenoxy-4 <i>H</i> -chromen-3-yl}acetamide		T-614M2・代謝物 T-614 ■
M3	<i>N</i> -{6-(4-Hydroxyphenoxy)-7-[(methylsulfonyl)amino]-4-oxo-4 <i>H</i> -chromen-3-yl}acetamide		T-614M3・代謝物
M4	<i>N</i> -[3-(Formylamino)-6-(4-hydroxyphenoxy)-4-oxo-4 <i>H</i> -chromen-7-yl]-methanesulfonamide		T-614M4・代謝物
M5	<i>N</i> -[3-Amino-6-(4-hydroxyphenoxy)-4-oxo-4 <i>H</i> -chromen-7-yl]methanesulfonamide		T-614M5・代謝物
M6	<i>N</i> -(3,3-Dihydroxy-4-oxo-6-phenoxy-3,4-dihydro-2 <i>H</i> -chromen-7-yl)methanesulfonamide		T-614M6・代謝物
M7 / ■	<i>N</i> -{4-[2-(Formylamino)acetyl]-5-hydroxy-2-phenoxyphenyl}methanesulfonamide		T-614M7・代謝物 T-614 ■ T-614 ■

2.4 非臨床概括評価

略号	化学名 (INN / JAN一般名)	構造式	別名・由来
M8	<i>N</i> -(2-{2-Hydroxy-4-[(methylsulfonyl)-amino]-5-phenoxyphenyl}-2-oxoethyl)-acetamide		T-614M8・代謝物 T-614 [REDACTED]
B1	[REDACTED]	[REDACTED]	Impurity I・副生成物
B2	[REDACTED]	[REDACTED]	T-614B2・副生成物
B4	[REDACTED]	[REDACTED]	Impurity II・副生成物
B5	[REDACTED]	[REDACTED]	T-614B5・副生成物
D2	[REDACTED]	[REDACTED] (推定構造)	T-614D2・強制分解生成物

【試験に使用した対照薬あるいは併用薬】

略号	化学名 (INN / JAN一般名)	構造式	対照薬・併用薬
SASP	2-Hydroxy-5-[4-(pyridin-2-yl-sulfamoyl)phenylazo]benzoic acid (Sulfasalazine / Salazosulfapyridine: サラゾスルファピリジン)		対照薬
MTX	N-[4-[[[(2,4-Diamino-6-pteridiny)-methyl]methylamino]benzoyl]-L-glutamic acid (Methotrexate: メトトレキサート)		対照薬 併用した抗リウマチ薬
AUF	(1-Thio-β-D-glucopyranosato) (triethylphosphine)gold 2,3,4,6-tetraacetate (Auranofin: オーラノフィン)		対照薬
D-Pc	3-Mercapto-D-valine (Penicillamine: ペニシラミン)		対照薬
IDM	1-(4-Chlorobenzoyl)-5-methoxy-2-methylindol-3-ylacetic acid (Indometacin: インドメタシン)		対照薬 併用した抗炎症薬
NPX	(S)-2-(6-Methoxy-2-naphthyl)-propionic acid (Naproxen: ナプロキセン)		対照薬 併用した抗炎症薬
LPF	Monosodium 2-[4-(2-oxocyclopentylmethyl)phenyl]propanoate dihydrate (Loxoprofen / Loxoprofen sodium: ロキソプロフェン)		併用した抗炎症薬
IPF	2-(4-Isobutylphenyl)propanoic acid (Ibuprofen: イブプロフェン)		対照薬
ASP	2-Acetoxybenzoic acid (Aspirin: アスピリン)		対照薬

2.4 非臨床概括評価

略号	正式名	略号	正式名
AIDS	後天性免疫不全症候群	J-ART	医薬品副作用用語集(1996年版)を参考に読み替えた用語
Al-P	アルカリホスファターゼ	JNK	JUN-N末端キナーゼ
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ	LC/MS/MS	液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析
AP-1	activator protein 1	LEF	レフルミド
ASA	能動的全身性アナフィラキシー	LMP	潜在性膜蛋白
ASP	アスピリン	LPF	ロキソプロフェン
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ	LPS	リポ多糖(エンドトキシン)
AUC	血漿中濃度-時間曲線下面積(0~∞)	LSC	液体シンチレーションカウンター
AUC _{0→t}	血漿中濃度-時間曲線下面積(0~t時間)	MAP	mitogen-activated protein
AUF	オーラノフィン	MC	メチルセルロース
BCRP	breast cancer resistance protein	MCP-1	単球走化因子性蛋白1
BSEP	bile salt export pump	MDR1	multidrug resistance 1
BUN	血中尿素窒素	MLR	混合リンパ球反応
BUC	ブシラミン	mRNA	メッセンジャー・リボ核酸
CCP	cyclic citrulinated peptide	MRP2	multidrug resistance associated protein 2
CD	白血球分類に用いられる細胞表面分子の総称	MTX	メトトレキサート
Cl	クリアランス	MZB	ミゾリビン
C _{max}	最高血漿中濃度	NADPH	ニコチンアミド・アデニンジヌクレオチドリン酸還元型
C _{min}	最低血漿中濃度	NAT	N-アセチル転移酵素
CMC	カルボキシメチルセルロース	NEC	他に分類されない
ConA	コンカナバリンA	NFAT	nuclear factor of activated T cells
COX	シクロオキシゲナーゼ	NFκB	nuclear factor kappa B
CRE	クレアチニン	NOAEL	無毒性量
CRP	C反応性蛋白	NOS	他に特定されない
C ^{ss} _(min)	定常状態における最低血漿中濃度	NPX	ナプロキセン
C ^{ss} _(max)	定常状態における最高血漿中濃度	NSAID	非ステロイド性抗炎症薬
CYP	シトクロームP-450	NTCP	Na ⁺ taurocholate cotransporting polypeptide
DHODH	ジヒドロオロト酸脱水素酵素	OAT2	有機アニオン輸送担体2
DMARD	疾患修飾性抗リウマチ薬	OATP	有機アニオン輸送担体ポリペプチド
D-Pc	D-ペニシラミン	PCA	同種受身皮膚アナフィラキシー
EA	ウイルス初期抗原	PG	プロスタグランジン
EBV	エプスタイン・バー・ウイルス	PK	ファルマコキネティクス
ED ₃₀ , ED ₄₀	30%有効用量, 40%有効用量	PWM	ポークワイド・マイトゲン
EMSA	ゲルシフト法	QOL	生活の質
ESR	赤血球沈降速度(血沈)	QOS	品質に関する概括資料
FK506	タクロリムス	RA	関節リウマチ
FKBP	FK506 binding protein	SAP	血清アミロイドP
GGTP	ガンマグルタミルトランスフェラーゼ	SASP	サラゾスルファピリジン
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準	SCID	重症複合免疫不全
GST	金チオリニコ酸ナトリウム	t _{1/2}	血漿中濃度消失半減期
HPLC	高速液体クロマトグラフィー	T-Bil	総ビリルビン
I-Bil	間接ビリルビン	TK	トキシコキネティクス
ICH	医薬品規制調和国際会議	t _{max}	最高血漿中濃度到達時間
IC ₅₀	50%阻害濃度	TNF	腫瘍壊死因子
IDM	インドメタシン	TPA	12-O-テトラデカノイルホルモール-13-アセテート
Ig	免疫グロブリン	UM	未知代謝物
IkB	inhibitor of nuclear factor kappa B	RT-PCR	逆転写ポリメラーゼ連鎖反応
IL	インターロイキン		
IPF	イブプロフェン		

2.4非臨床試験の概括評価

2.4.1 非臨床試験計画概略

富山化学工業株式会社では、既存の NSAID とは異なった作用機序を有し、慢性炎症モデルに有効であり、かつ安全性において優れていることを目標として、慢性炎症性疾患の治療薬の探索研究に着手した。目標とする治療薬の条件としては、血小板の COX 活性(COX-1)阻害試験で作用を示さないこと、慢性関節炎モデルであるアジュバント関節炎ラットに対し治療投与で有効性を示すこと、消化管障害作用が少ないこと、経口投与が可能なことの4項目があげられた。その結果、19■■年、これらの条件を満足し、かつ抗炎症作用スペクトルが既存の NSAID とは異なる新規化合物、イグラチモドを創出した(参考資料 4.2.1.1.34-4.2.1.1.36)。

当初、「鎮痛消炎剤の臨床評価方法に関するガイドライン(改訂)」¹⁾及び「委員会が基準としている慢性関節リウマチに対する抗炎症・鎮痛剤の臨床実施基準方法」²⁾を参考に、非臨床並びに臨床試験を進めたが、薬効薬理試験においてイグラチモドは既存の NSAID にはみられない炎症性サイトカインの産生抑制作用を有し(参考資料 4.2.1.1.37)、免疫系に対し抑制的に作用することが明らかとなった。更に、RA 患者を対象としたパイロット試験において臨床症状に加えて、ESR や CRP といった炎症性パラメータを早期に改善するという結果を受け、イグラチモドの作用は DMARD に類似していると考えた。したがって、初期第Ⅱ相試験以降は上記ガイドラインの中の「抗リウマチ薬の臨床試験のためのガイドライン」¹⁾を参考に DMARD としての臨床試験に変更した。国内における開発の経緯の概略を図 2.4.1-1に示す。なお、イグラチモドは化学構造上クロモン骨格にメタンスルホニルアミノ基とホルミルアミノ基の2種のアミド基を有し、化学的に既存の DMARD とは類似性をみない新しいタイプの化合物である。

	非臨床試験	臨床第Ⅰ相試験	パイロット試験	初期第Ⅱ相試験	後期第Ⅱ相試験 (用量設定・漸増法)	臨床第Ⅲ相試験 (長期投与・比較試験)	製造承認 申請時
	19■■年■月	19■■年■月	19■■年■月	19■■年■月	19■■年■月	19■■年■月	20■■年■月
開発目標							
原薬製造							
製剤用原薬							
製 剤							
非臨床試験							

図 2.4.1-1 国内開発の経緯概略図

- ア) T-614NP:イグラチモド■■■■■■■■■■, イ) T-614P:イグラチモド■■■■■■■■■■
 ウ) PhⅠ処方:臨床第Ⅰ相試験及びパイロット試験に使用した錠剤の処方
 エ) PhⅡ処方:初期第Ⅱ相試験以降に使用した錠剤の処方

2.4.1.1 非臨床試験に使用した被験物質について

2.4.1.1.1 イグラチモド原薬について

富山化学工業株式会社ではイグラチモド(Iguratimod, T-614)について、19 年 月より新規な NSAID としての開発研究を開始し、その後 20 年 月まで各種の非臨床試験を実施した。イグラチモドの開発段階では 2.3 品質に関する概括資料(QOS)に示したように、製造方法及び が異なるイグラチモド原薬(表 2.3.S.4.4-1 イグラチモドのロット分析、表 2.3.P.2.2-4 イグラチモド 及びイグラチモド 参照)が非臨床試験に使用され、原薬の については以下の経緯があり、問題点を解消しながら開発を進めた。

図 2.4.1-1に示すように、臨床試験開始前の非臨床試験では、 (以降、イグラチモド (T-614NP)とする)を用いて物理的・化学的性質、規格及び試験方法並びに安定性を検討し、毒性試験、薬効薬理試験及び一般薬理試験を実施した。その一方で、臨床効果の早期発現のため、吸収の立ち上がり向上を期待し、イグラチモド を (以降、イグラチモド (T-614P)とする)を用いて製剤検討を行い、イグラチモド で製造した治験薬にて臨床第 I 相試験を開始した。なお、薬物動態試験は、当初からイグラチモド で実施していた。

その後、原薬の が非臨床試験の結果に影響を与える可能性が示唆されたため、ラットにイグラチモド 及びイグラチモド をそれぞれ経口投与した時の血清中濃度を比較した。その結果、イグラチモドの方が、AUC で 1.3～1.4 倍高かった(参考資料 4.2.2.2.10)。更に、ラットにおいてイグラチモド 及びイグラチモド の同時比較反復投与毒性試験を行った結果、イグラチモド の 300 mg/kg とイグラチモド の 1000 mg/kg でほぼ同程度の毒性がみられた(2.6.6.3.1 ラット 3 ヶ月間反復経口投与毒性試験参照)。

以上、動物実験ではイグラチモド を使用した方が高い AUC を示し、毒性が低用量から発現することから、毒性試験はイグラチモド を用いる方が妥当であると判断した。また、イグラチモド で試験成績を統一した方が薬理、薬物動態及び毒性の各試験間の比較が容易なことから、臨床試験開始前にイグラチモド を用いて実施した毒性試験及び薬理試験は、イグラチモド を用いて再試験を行うこととした。なお、イグラチモド の溶解液を使用した試験(静脈内投与試験及び *in vitro* 試験)は の影響がないと考え、再試験を実施しなかった。本申請概要書の非臨床試験に関する資料はイグラチモド を用いた試験成績で作成し、臨床第 I 相試験開始の根拠となったイグラチモド の非臨床試験成績は参考資料として添付した(参考資料 4.2.3.7.7.7～4.2.3.7.7.19)。

2.4.1.1.2 代謝物及び類縁物質

イグラチモドを投与した動物及びヒトの尿の分析から、現在までに M1 から M8 の 8 代謝物とそれらの各種抱合体が同定又は構造推定されている。これらの代謝物のうち M1 から M5 の 5 代謝物については、臨床第 I 相試験においてヒトの血漿中に検出され、なかでも M2 は反復投与時に未変化体の 2～3 倍の濃度で推移することが示された。したがって、M1 から M5 の 5 代謝物については別途合成し、それぞれについて薬理試験及び毒性試験を実施した。更に、動物及びヒトにおいて高濃度で検出される M2 については、開発当初より主要な代謝物と位置付け、反復静脈内投与試験も実施した。また、代謝物(M1～M5)の薬理試験の結果、M1 及び M2 に IL-1 β 産生抑制作用を認めたため、これら 2 代謝物を薬効薬理的に活性な代謝物と位置付け、安全性薬理試験の対象物質とした。

原薬並びに製剤に含まれる類縁物質に関しては、臨床第 I 相試験までの原薬製造法である Ia 法及び Ib 法で製造した原薬に副生成物 B4 及び B3 が検出された。副生成物 B4 については、臨床第 I 相試験で使用された原薬に検出されたが、その含量は 0.1%未満であった。臨床でのパイロット試験以降、B4 が化学的に生成されない製造方法(IIa, IIb, IIc 及び IId 法)へ変更したことから、B4 単独での毒性試験は実施しなかった。副生成物 B3 については、臨床第 I 相試験で 0.21%含有する原薬が使用されたが、実

験動物及びヒトの代謝物である[]と同一であると推測していたことから、この時点において B3 単独での毒性試験を実施しなかった。B3 はその後の検討で代謝物[]と一致することを確認した。

原薬の製造方法を IIa, IIb, IIc 及び IId 法(申請製造方法)に変更してからは、原薬並びに製剤には B1, B2, B3 (= []) 及び B5 などの副生成物が検出されたが、その量はいずれも原薬及び製剤で 0.1%未満であり、「新有効成分含有医薬品のうち原薬の不純物に関するガイドラインについて」[平成 7(1995 年)年 9 月 25 日, 薬審第 877 号], 「新有効成分含有医薬品のうち製剤の不純物に関するガイドラインについて」[平成 9 年(1997 年)6 月 23 日, 薬審第 539 号]の安全性の確認が必要な閾値を下回ったことから安全性の確認を行わなかった。

なお、臨床試験に並行して原薬及び製剤(治験薬)の安定性試験を実施したが、分解物の増加は認められなかった。強制分解条件で認められた分解物 D1, D2 及び D3 を測定したが、いずれも原薬については 0.05%未満、製剤については 0.1%未満であったことから安全性の確認を行わなかった。なお、D1 はその後の検討で[]と同一であることが判明した。

2.4.1.2 薬理試験

2.4.1.2.1 効力を裏付ける試験

初期第Ⅱ相試験(19[]年[]月)を開始するまでに、イグラチモド[]を用いて実施した薬効薬理試験から、以下の薬理学的特性が明らかにされた。RA のモデルであるマウスのコラーゲン関節炎において、イグラチモドは関節炎症状を抑制するとともに、血清アミロイド P や抗体価の上昇を抑制すること、並びに NSAID が無効といわれる自己免疫疾患モデル MRL/lpr マウスにおいて、関節病変の進展及び全身の免疫異常所見を改善するなど、ステロイド薬に類似した効果を示した(参考資料 4.2.1.1.39)。単球系細胞を用いた培養実験では IL-1β 及び IL-6 に加え、RA の病態との関連が重要視されている TNF の産生を抑制した(参考資料 4.2.1.1.38)。また、免疫薬理学的検討を加えた結果、イグラチモドは液性免疫や細胞性免疫応答を抑制することが示唆された。以上、イグラチモドは免疫系に対して抑制的に作用し、NSAID とは異なる薬理作用を有すると考えた。

2.6.2 薬理試験の概要文に記載した試験はイグラチモド[]を用いて 19[]年[]月から 20[]年[]月にかけて実施し、2.4.1.1.1 に述べたように、一部の *in vivo* 試験については再試験を行った。本薬の NSAID とは異なる薬理作用の本質を明らかにすることを目的に、臨床試験においてイグラチモドが RA 患者の血漿中 Ig レベルを効果的に低下させたことから、B 細胞機能としての Ig 産生を抑制することが臨床効果に関連すると考え、Ig 産生に対する作用を検討した。更に、RA の病態との関連が注目されている炎症性サイトカイン産生に対する作用について種々検討を加えた。その結果、イグラチモドはマウス及びヒトの B 細胞による Ig 産生を抑制し(2.6.2.2.2 Ig 産生抑制作用-*in vitro*-参照)、細胞刺激時にみられる TNFα, IL-1β, IL-6, IL-8 及び単球走化性蛋白(MCP-1)の産生を抑制した(2.6.2.2.4 サイトカイン産生抑制作用-*in vitro*-参照)。IL-6 及び IL-8 産生に対する抑制作用は mRNA 発現の低下を伴っており、その機序に核内転写因子 NFκB の活性化の阻害が示唆された(2.6.2.2.4 サイトカイン産生抑制作用-*in vitro*-参照)。In vivo 試験においてもイグラチモドは関節炎モデルでみられる高ガンマグロブリン血症を改善し(2.6.2.2.6 関節炎モデル参照)、マウスの炎症モデルにおいてサイトカイン産生を抑制した(2.6.2.2.5 サイトカイン産生抑制作用-*in vivo*-参照)。この他、各種関節炎及び自己免疫疾患モデルに対して、イグラチモドは予防並びに治療投与で明確な有効性を示した(2.6.2.2.6 関節炎モデル及び 2.6.2.2.7 細胞性免疫関与の炎症モデル参照)。

2.4.1.2.2 副次的及び安全性薬理試験並びに薬力学的薬物相互作用試験

臨床第Ⅰ相試験(19[]年[]月)を開始するまでに、イグラチモド[]を用いて一般薬理試験を実施した結果、イグラチモドは中枢神経系に対して作用を示さなかった。呼吸・循環器系に対しては、静脈

内投与で大腿動脈血流量、呼吸数及び心拍数の増加並びに血圧下降がみられたが、経口投与及び十二指腸内投与では影響はみられなかった。その他の試験においても臨床使用上、危惧すべき作用はみられなかった(参考資料 4.2.1.2.2)。臨床試験開始後、イグラチモド[■]を用いて「新医薬品等の製造(輸入)承認申請に必要な一般薬理試験のガイドラインについて」[平成 3 年(1991 年)1 月 29 日、薬新薬第 4 号]に従い、一般薬理試験を実施し、更に、イグラチモド[■]及び薬理的活性代謝物(M1 及び M2)を用いて、2000 年 11 月に公表された ICH-S7A の内容又は「安全性薬理試験ガイドラインについて」[平成 13 年(2001 年)6 月 21 日、医薬審発第 902 号]に準拠し、20[■]年[■]月より20[■]年[■]月までに安全性薬理試験を実施した。その結果、中枢神経系、心血管系及び呼吸系に対して問題となる薬理作用はみられなかった(2.6.2.3 副次的薬理試験及び2.6.2.4 安全性薬理試験参照)。なお、2.6.2.3 副次的薬理試験にはイグラチモド[■]で実施した一般薬理試験のうち、安全性薬理試験に重複しない項目を記載した。

この他、臨床試験(パイロット試験)で AST 又は ALT の増加が約 30%の患者に認められ(表 2.7.4.2 安全性の結果参照)、ヒトに対する肝障害作用が疑われたため、肝に及ぼす影響を検討した。その結果、ラットの初代培養肝細胞に対する障害性を示唆する結果は得られず(参考資料 4.2.1.3.24)、ラットの肝障害モデル(参考資料 4.2.1.3.25)や肝細胞死を誘導する TNF との併用(マウス)においても影響はみられなかった(2.6.2.4.3.3 TNF α との併用投与参照)。また、ヒトでの変化が一過性である可能性があったため、ラット及びウサギの反復投与試験で投与期間中の血漿中肝酵素の変化を経時的に調べたが、投与期間中にトランスアミナーゼなどの上昇はみられなかった(2.6.2.4.3.4 反復経口投与による肝機能検査値の変動参照)。これらの結果と毒性試験の成績より、イグラチモド及び主要な代謝物は直接的な細胞障害性に基づく肝毒性を示す可能性は低いと考えた。以上の検討は安全性薬理試験ガイドライン通知前であったことから、GLP 非適合試験として実施した。

一方、実験動物では血中肝酵素の上昇がみられないことから、臨床試験でみられた AST 又は ALT の増加がヒト特異的な微量の未知代謝物に起因する可能性や、アセトアミノフェンなどで知られている肝細胞内高分子との共有結合物(アダクト)形成³⁾に起因する可能性が否定できなかったことから、ヒト肝ミクロソームを用いた *in vitro* 試験を GLP 適合で行った。¹⁴C 標識イグラチモドとヒト肝ミクロソームを用いて試験を実施した結果、ミクロソーム蛋白とのアダクトの形成は認められず、またヒト特異的代謝物の存在も確認できなかった(2.7.2.2.1.5 トランスアミナーゼ上昇の機序解明参照)。更に、20[■]年[■]月より、付着可能型ヒト凍結保存肝細胞(凍結ヒト肝細胞)を用いて肝細胞障害性を 2 週間曝露で調べるとともに、肝酵素上昇の機序としてフェノフィブラートで報告されているトランスアミナーゼ遺伝子の発現上昇⁴⁾の有無について検討した。ドナー 3 例の凍結ヒト肝細胞で試験した結果、イグラチモド並びに活性代謝物 M1 及び M2 に肝細胞障害性はみられず(2.6.2.4.3.1 イグラチモド;培養肝細胞に対する障害性及び 2.6.2.4.5.1 代謝物;培養肝細胞に対する障害性参照)、イグラチモド及び M2 の添加で 3 例中 1 例の細胞で AST の mRNA 発現量が、また、イグラチモドの添加により AST 活性が一過性に上昇した(2.6.2.4.3.2 イグラチモド;凍結ヒト肝細胞の AST 及び ALT mRNA 発現に及ぼす影響、2.6.2.4.5.2 代謝物;凍結ヒト肝細胞の AST 及び ALT mRNA 発現に及ぼす影響参照)。また、新鮮ヒト肝細胞を用いた 4 週間の曝露による同様の試験を米国にて実施した結果、イグラチモド及び活性代謝物 M1、M2 に AST 及び ALT の遊離増加は認められず(参考資料 4.2.1.3.26)、mRNA の発現上昇もみられなかった(参考資料 4.2.1.3.27)。なお、本試験は特殊な試験であることから GLP 適合試験としては実施できなかった。以上から、イグラチモド及び主要な代謝物は直接的な肝細胞障害性を示さず、AST 遺伝子の発現誘導作用を示す可能性が示唆されたが、臨床試験での肝酵素上昇の機序は十分に解明できなかった。

薬力学的薬物相互作用試験(2.6.2.5 参照)では、ワルファリンとの相互作用についてラットを用いて検討した結果、イグラチモドは 10 mg/kg 以上でワルファリンの抗血液凝固作用を増強した。

2.4.1.3 薬物動態試験

薬物動態試験は、開発当初よりイグラチモド[■]を用いており、臨床第Ⅰ相試験(19[■]年[■]月)を開始するまでに、マウス(2.6.2.2.7.1 マウス遅延型浮腫反応参照)、ラット(参考資料 4.2.2.2.6)、ウサギ(参考資料 4.2.2.2.7)、イヌ(参考資料 4.2.2.2.8)及びサル(参考資料 4.2.2.2.9)で薬物動態試験を実施した。その結果、イグラチモドの経口投与時のバイオアベイラビリティが良好であることを、ラットを用いて確認した。また、ラットに¹⁴C 標識イグラチモドを経口投与したところ(添付資料4.2.2.2.1)、放射能は各組織に広く分布し、その濃度は血漿中濃度と同程度かそれ以下で、投与量の約 69%が胆汁中に、約 18%が尿中に排泄された。イグラチモドは M1, M2, M3 及び M4 並びにそれらの各種抱合体に代謝されるものと推定され、ウサギへの反復投与後においてもイグラチモドの血清中濃度推移に大きな変動はみられなかった(参考資料 4.2.2.2.7)。なお、臨床試験開始後、代謝物 M5 の存在が確認された。イグラチモドの各種動物の血清蛋白との結合率は 89%以上であり、既存の NSAID と同程度であった。

2.6.4 薬物動態試験の概要文に記載した試験は 19[■]年[■]月より開始し、19[■]年[■]月以降「新医薬品等の製造(輸入)承認申請に必要な薬物動態試験のガイドラインについて」[平成 3(1991 年)年 1 月 29 日、薬新薬第 6 号]、「非臨床薬物動態試験ガイドラインについて」[平成 10 年(1998 年)6 月 26 日、医薬審第 496 号]及び「薬物相互作用の検討方法について」[平成 13 年(2001 年)6 月 4 日、医薬審発第 813 号]に準拠して実施した。臨床第Ⅰ相試験以降、薬物動態試験に用いた動物種はげっ歯類としてラットを選択し、非げっ歯類として、イヌでは M2 が生成されず代謝がヒトと異なることから、サルを選択した。イグラチモドはラット及びサルともに良好に吸収され(2.6.4.3.2 血漿中濃度参照)、反復投与ではラットの組織に顕著な蓄積性及び残留性はみられず(2.6.4.4.1.2 分布;反復投与参照)、代謝及び排泄はラットとサルの間で類似していた(2.6.4.5 代謝及び 2.6.4.6 排泄参照)。また、ラットを用いて肝 CYP 誘導作用に関する検討を実施した結果、イグラチモドの 10 mg/kg、7 日間反復投与では総 P-450 含量及び CYP 活性に有意な増加はみられなかった(2.6.4.5.4 酵素誘導参照)。ラットを用いて薬物動態学的薬物相互作用(2.6.4.7 参照)を検討した結果、イグラチモドとシメチジン及びフェノバルビタールとの間に、それぞれ薬物代謝酵素の阻害及び誘導に関連した薬物動態学的相互作用が認められた。

2.4.1.4 毒性試験

「医薬品の製造(輸入)承認申請に必要な毒性試験のガイドラインについて」[昭和 59 年(1984 年)2 月 15 日、薬審第 118 号]、「医薬品の製造(輸入)承認申請に必要な毒性試験のガイドラインについて」[平成元年(1989 年)9 月 11 日、薬審 1 第 24 号]及び「単回及び反復投与毒性試験ガイドラインの改正について」[平成 5 年(1993 年)8 月 10 日、薬新薬第 88 号]に準拠して実施した。

2.4.1.4.1 臨床試験開始前に実施した試験

臨床第Ⅰ相試験(19[■]年[■]月)を開始するまでに、イグラチモド[■]を用いて下記の試験を実施した。マウス及びラット単回投与毒性試験(経口、静脈内及び皮下)並びにイヌ単回投与毒性試験(経口)を実施したところ、臨床適用経路である経口投与では、マウス及びラットでは 5000 mg/kg まで、イヌでは 2000 mg/kg まで死亡例は認められなかった(ラット単回静脈内投与試験は 2.6.6.2.2 参照、その他は参考資料 4.2.3.7.7.7 及び 4.2.3.7.7.8)。また、3 ヶ月間反復経口投与毒性試験ではラット及びイヌにおける無毒性量はそれぞれ 30 及び 20 mg/kg であった(参考資料 4.2.3.7.7.10 及び 4.2.3.7.7.12)。その他、細菌を用いる復帰突然変異試験(2.6.6.4.1 参照)、哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験(2.6.6.4.2 参照)、マウス小核試験(添付資料 4.2.3.3.1.2)、ラット生殖発生毒性試験(受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験、参考資料 4.2.3.7.7.13)、抗原性試験(参考資料 4.2.3.7.7.15)、並びにラット身体依存性試験(参考資料 4.2.3.7.7.16)を実施した。反復経口投与毒性試験では消化管障害及び腎障害が、受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験では着床率の低下、早期胎児死亡率の増加などがみられたが、

いずれも NSAID に一般的にみられる変化であった。遺伝毒性、抗原性及び身体依存性はなかった。また、主要代謝物である M2 の単回静脈内投与毒性試験(ラット:概略の致死量 200 mg/kg, 2.6.6.8.3.1 参照)及び 1 ヶ月間反復静脈内投与毒性試験(ラット:無毒性量 10 mg/kg, 2.6.6.8.3.2 参照)を実施したところ、イグラチモドの単回及び反復毒性試験と同様な毒性がみられた以外に特記すべき所見はなかった。更に、M1 及び M2 の細菌を用いる復帰突然変異試験(2.6.6.8.3.3 参照)、M2 の哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験(2.6.6.8.3.4 参照)及びマウス小核試験(2.6.6.8.3.5 参照)を実施したが、いずれも陰性であった。上記結果から、臨床試験の実施にあたり問題となる毒性はないと判断した。

この他、臨床試験と並行して、イグラチモド[]を用いて、ラット 12 ヶ月間反復経口投与毒性試験(参考資料 4.2.3.7.7.11)、ラット胎児動脈管に及ぼす影響(参考資料 4.2.3.7.7.18)、ラット生殖発生毒性試験(受胎能及び着床までの初期胚発生に関する追加試験、参考資料 4.2.3.7.7.14)、モルモット光毒性及び光アレルギー性試験(参考資料 4.2.3.7.7.19)及び抗原性試験(試験管内直接抗グロブリン試験、参考資料 4.2.3.7.7.17)を実施したが、臨床試験を継続する上で問題となる結果は得られなかった。

2.4.1.4.2 申請までに実施した試験

2.4.1.1.1 に述べたように、イグラチモド[]で実施した毒性試験のうち、以下の試験についてはイグラチモド[]を用いて再試験を実施した。ラット単回経口(2.6.6.2.1 参照)及び皮下投与毒性試験(2.6.6.2.3 参照)、イヌ単回経口投与毒性試験(2.6.6.2.4 参照)、ラット 3 ヶ月間反復経口投与毒性試験(2.6.6.3.1 参照)、マウス小核試験(2.6.6.4.4 参照)、ラット生殖発生毒性試験(受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験、2.6.6.6.4 参照)、抗原性試験(2.6.6.8.1 参照)、ラット身体依存性試験(2.6.6.8.2.1 参照)、ラット胎児動脈管に及ぼす影響(2.6.6.8.4.2 参照)並びにモルモット光毒性及び光アレルギー性試験(2.6.6.8.4.3 参照)。なお、イグラチモド[]ではイグラチモド[]に比べて低用量から毒性が発現する傾向がみられたが、両原薬による毒性に質的な差異は認められなかった。

この他、イグラチモド[]を用いて、ラット 6 ヶ月間反復経口投与毒性試験(2.6.6.3.2 参照)、非げっ歯類としてイヌでは M2 が生成されず代謝がヒトと異なることから、サル単回(2.6.6.2.5 参照)、3 ヶ月間(2.6.6.3.4 参照)及び 12 ヶ月間反復経口投与毒性試験(2.6.6.3.5 参照)を実施した。更にマウスリンフォーマ試験(2.6.6.4.3 参照)、マウス及びラット混餌投与とがん原性試験(2.6.6.5 参照)、生殖発生毒性試験(ラット及びウサギ胚・胎児発生に関する試験、ラット出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験、2.6.6.6 参照)、ラットを用いた抗炎症薬(NSAID)との併用試験(2.6.6.8.4.1 参照)、ウサギ 3 週間反復経口投与毒性試験(2.6.6.8.4.4 参照)を実施した。また、CHL/IU 細胞を用いた追加の染色体異常試験(2.6.6.4.3 参照)及び MTX との併用によるラット 1 ヶ月間反復経口投与毒性試験(2.6.6.8.4.5 参照、GLP 非適合試験)を実施した。代謝物の M1、M3、M4 及び M5 については、ラット単回静脈内投与毒性試験(2.6.6.8.3.1 参照)、哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験及びマウス小核試験(2.6.6.8.3.4 及び 2.6.6.8.3.5 参照)を実施し、M3、M4 及び M5 については細菌を用いる復帰突然変異試験(2.6.6.8.3.3 参照)を、主要代謝物 M2 については試験管内直接抗グロブリン試験(2.6.6.8.3.6 参照)並びにモルモット光毒性(2.6.6.8.3.7 参照)及び光アレルギー性試験(2.6.6.8.3.8 参照)を追加した。MTX 併用試験を除き、以上の毒性試験はすべて GLP 適合試験として行った。また、イグラチモド[]のラット 6 ヶ月間試験、サル単回、3 ヶ月間及び 12 ヶ月間試験、イヌ単回試験並びにラット及びマウスがん原性試験については TK 測定を実施したが、「トキシコキネティクス(毒性試験における全身的暴露の評価)に関するガイダンスについて」[平成 8 年(1996 年)7 月 2 日、薬審第 443 号]の通知前の試験であったため、GLP 非適合で TK 測定を行った。なお、マウス小核試験のための TK 試験は GLP 適合で実施した。

以上の試験の結果、イグラチモドを開発する上で特に注意すべき毒性所見は、①催奇形性及び②発がん性(悪性リンパ腫)であると考えられた。生殖発生毒性試験では、胚・胎児発生に関する試験においてラットの 20 mg/kg 以上で胎児に催奇形性(心臓・大血管異常)が認められたが(2.6.6.6.5 ラット胚・胎児発生に関する試験参照)、ウサギではみられなかった(2.6.6.6.7 ウサギ胚・胎児発生に関する試験参照)。

初期第Ⅱ相試験までの治験では妊娠女性、妊娠を希望する女性を対象から除外していたが、以後の治験プロトコールには催奇形性を有することを記載することとした。また、マウスがん原性試験(2.6.6.5.2 参照)において 70 mg/kg 以上の投与群に悪性リンパ腫の発生率の増加が認められたが、イグラチモド及び代謝物は非遺伝毒性物質であること(2.6.6.4 遺伝毒性試験及び2.6.6.8.3 代謝物の毒性試験参照)、ラットがん原性試験(2.6.6.5.4 参照)ではイグラチモドに起因する腫瘍の発生は認められなかったことから、マウスでみられた悪性リンパ腫はマウス白血病ウイルスに起因した高齢期の B6C3F₁ マウスに好発する腫瘍であり、マウス特有の現象と考えられた。本事象については19■■年■■月■■日に厚生省に報告し、予定していた高齢者の薬物動態試験の開始を見合わせた。また、ラット胚・胎児発生に関する試験でみられた胎児の催奇形性及びマウスがん原性試験でみられた悪性リンパ腫発生率の増加については、19■■年■■月■■日に行った医薬品機構との第Ⅱ相試験終了時相談において、申請者の考えを報告した。

2.4.2 薬理試験

2.4.2.1 薬理作用に関する類薬との比較

イグラチモドの薬理作用を、既存の DMARD であるオーラノフィン、D-ペニシラミン、サラゾスルファピリジン及びメトトレキサート、並びに NSAID のインドメタシンと比較した。表 2.4.2-1に 2.6.2 薬理試験の概要文に記載の試験成績をまとめた上で、臨床での投与量とそれに到達する血漿中濃度範囲(血漿到達濃度)を勘案し、それぞれの薬理作用を生理的に妥当な作用とその他に区分けした。

in vitro 試験:イグラチモドはマウス及びヒトB細胞のIg産生(2.6.2.2.2 Ig産生抑制作用-*in vitro*-参照)と、単球系細胞(マクロファージ, THP-1 細胞)や RA 患者由来滑膜細胞の炎症性サイトカイン産生(2.6.2.2.4 サイトカイン産生抑制作用-*in vitro*-参照)を *in vitro* で抑制したことから、イグラチモドの RA に対する有効性の主な作用機序は、①B細胞のIg産生の抑制と、②マクロファージや滑膜細胞の炎症性サイトカイン産生の抑制であると考えている。これらの薬理作用は血清を添加した培養条件において 0.3～30 µg/mL の濃度で認められており(表 2.4.2-1参照)、その作用発現濃度はヒトの血漿到達濃度(1～2 µg/mL, 2.7.2.2.3 高齢者試験参照)にほぼ一致した。すなわち、イグラチモドはB細胞のIg産生の抑制とマクロファージや滑膜細胞のサイトカイン産生の抑制作用を介して、RA 患者でみられる過剰な免疫反応や炎症反応を鎮静化するものと推定される。一方、サラゾスルファピリジンはマウスB細胞のIg産生に対して 100 µg/mL まで影響しなかった。また、サラゾスルファピリジン及びメトトレキサートは臨床用量での血漿到達濃度でサイトカイン産生に対して作用を示さず、インドメタシンは TNFα 産生を増強した。

in vivo 試験:マウスの抗体産生応答である PFC 反応に対して、イグラチモドはオーラノフィン及び D-ペニシラミンと同様に抑制作用を示し、RA 患者滑膜組織を移植した SCID マウスのモデルにおいて、滑膜組織から産生されるヒトの IgG レベルを低下させた(2.6.2.2.3 Ig産生抑制作用-*in vivo*-参照)。更に、イグラチモドはラット及びマウスの関節炎モデルでみられる高ガンマグロブリン血症を改善した(2.6.2.2.6 関節炎モデル参照)。なお、MRL/lpr マウスの高ガンマグロブリン血症の改善はメトトレキサートにも認められたが、サラゾスルファピリジンはアジュバント関節炎ラットの血清 Ig レベルに影響しなかった。イグラチモドはコラーゲン関節炎モデルの血清中 IL-6 レベルを抑制したが、サラゾスルファピリジンにはそのような作用を認めなかった(2.6.2.2.6 関節炎モデル参照)。また、イグラチモドによる炎症性サイトカインの産生抑制は、マウスの空気嚢炎症及び肝炎モデルにおいても認められた(2.6.2.2.5 サイトカイン産生抑制作用-*in vivo*-参照)。イグラチモドは汎用される関節炎モデルであるラットのアジュバント関節炎及びマウスのコラーゲン関節炎において、予防投与で関節炎症状の進展を用量に応じて抑制し、アジュバント関節炎の治療試験においては、NSAIDに類似した腫脹抑制作用を示した(2.6.2.2.6 関節炎モデル参照)。サラゾスルファピリジンは、コラーゲン関節炎の予防試験及びアジュバント関節炎の治療試験において、無効かきわめて弱い作用しか示さなかった。また、NSAIDが無効であることが知られている^{5, 6)} MRL/lpr マウスにおいて、イグラチモドは 1 mg/kg から関節腫脹及び関節局所の病理学的変化を抑制した。更に、このモデルにおいては血清中炎症パラメータである血清アミロイド P レベルを低下させ、免疫異常所見であるリンパ節腫大に対する改善効果も観察され、メトトレキサートに類似した有効性が認められた。一方、細胞性免疫に関してはインドメタシンがその症状を増悪することが報告されている^{7, 8)}ラットの EAE モデルにおいてイグラチモドは有効性を示し、マウスにおける遅延型足蹠浮腫反応も抑制した(2.6.2.2.7 細胞性免疫関与の炎症モデル参照)。

以上のように、イグラチモドはマウスの液性免疫や細胞性免疫応答を抑制し、インドメタシンとは異なり、免疫抑制薬やステロイド薬に類似した免疫抑制作用を有すると考えられた。そこで免疫抑制作用を既存の DMARD と比較するため、ヒト末梢血リンパ球の増殖反応に対する影響を検討した結果、オーラノフィン及びメトトレキサートは血漿到達濃度にほぼ一致した濃度で明確な抑制作用を示したが、イグラチモドは 30 µg/mL まで影響しなかった(2.6.2.2.9 その他の薬理-免疫薬理-参照)。また、2.4.4 の毒性試験の項で後述するように、イグラチモドによる毒性発現部位は消化管と腎臓であり、免疫系器官には毒性的な変化はみら

表 2.4.2-1 イグマチモドと類薬との薬理作用比較

項目	投与経路	実験モデル (動物種)		測定項目	試験成績 注 2)							
					イグマチモド [*]	オーラノフィン	D-ペニシラミン	サラゾスルファピリジン	メトトレキサート	インドメタシン		
Ig 産生	in vitro	脾臓 B 細胞 (マウス)		IgG1, IgM	3 µg/mL から抑制			100 µg/mL で作用なし				
		末梢血 B 細胞 (ヒト)		IgG, IgM	0.3 µg/mL から抑制							
炎症性 サイトカイン産生	in vitro	zymosan 刺激 マクロファージ [*] (マウス)		TNFα	1 µg/mL から抑制					0.3 µg/mL で増強		
		LPS 刺激 THP-1 細胞 (ヒト単球由来)	IL-1β	3 µg/mL から抑制			200 µg/mL で抑制					
			TNFα	3 µg/mL から抑制			200 µg/mL で作用なし					
			IL-8	0.3 µg/mL から抑制			200 µg/mL で作用なし					
		TNFα刺激 滑膜細胞 (RA 患者由来)		IL-6, IL-8	3 µg/mL から抑制				1.5 µg/mL で作用なし			
リンパ球増殖 in vitro		末梢血単核球 (ヒト)		PWM刺激 細胞増殖	30 µg/mL で作用なし	1 µg/mL から抑制	100 µg/mL で作用なし	100 µg/mL で抑制	0.01 µg/mL から抑制			
PG産生 in vitro	ヒツジ胎盤由来 酵素		COX-2 活性	IC ₅₀ : 7.9 µg/mL						IC ₅₀ : 0.12 µg/mL		
	マウス線維芽細胞		ブラシキニン刺 激 PGE ₂ 産生	0.1 µg/mL から抑制						0.01 µg/mL から抑制		
関節炎モデル	p.o.	アジュバント 関節炎 (ラット)	治療 試験	後肢腫脹	ED ₄₀ : 2.0 mg/kg			600 mg/kg で作用なし		ED ₄₀ : 0.50 mg/kg		
				高 IgG 血症	3 mg/kg から低下			600 mg/kg で作用なし		3 mg/kg で低下		
				関節骨病変	3 mg/kg から改善			600 mg/kg で作用なし		0.5 mg/kg から改善		
		予防 試験	後肢・ 二次腫脹	0.3 mg/kg から抑制	10 mg/kg で作用なし	100 mg/kg で抑制		0.3 mg/kg で抑制				
			p.o.	コラーゲン関節炎 (マウス)		四肢腫脹	10 mg/kg から抑制			600 mg/kg から抑制		
						脾臓重量と SAP	30 mg/kg から改善			2000 mg/kg で作用なし		
	血清抗体価 と IL-6	100 mg/kg で低下						2000 mg/kg で作用なし				
	p.o.	MRL/lpr マウス 自然発症型 関節炎 (マウス)		四肢腫脹 と SAP	1 mg/kg から抑制				0.03 mg/kg で抑制			
				後肢関節 病理組織	1 mg/kg から改善				0.03 mg/kg で改善			
				高 Ig 血症	100 mg/kg で低下				0.03 mg/kg で改善			
臨床使用 注 1)		血漿到達濃度 (µg/mL)		1～2	0.1～0.7 (Au 換算)	約 0.3	8～12	0.1～0.2	0.5～1			
		投与量		0.5～1 mg/kg/日	0.1 mg/kg/日	2～6 mg/kg/日	20 mg/kg/日	0.1 mg/kg/週	0.5～1.5 mg/kg/日			

注1) 比較薬の臨床使用については各薬剤の添付文書のデータより換算した

注2) 抑制及び改善作用は、対照群に対し有意差を認めた場合もしくは30%以上の変化を認めた作用を採用した

:臨床での到達濃度の5倍以内、もしくは臨床用量の10倍以内で認められる作用

:上記以上の濃度及び投与量でみられる作用

記載なし:未実施

れていない。したがって、イグラチモドの免疫応答に対する抑制作用は、非特異的な細胞増殖抑制作用ではなく、Ig 及びサイトカインの産生抑制を介したものと推測された。一方、メトトレキサートは Ig 産生やリンパ球増殖に対し血漿到達濃度で抑制作用を示し^{9, 10)}、免疫抑制薬として位置付けられるが、その機序には葉酸代謝阻害による核酸生合成の抑制が関与する^{9, 11)}。また、メトトレキサートが *ex vivo* で炎症性サイトカインの産生を抑制することは報告されているが^{12, 13)}、*in vitro* では滑膜細胞のサイトカイン産生に影響しないとされている^{13, 14)}。金剤のオーラノフィンにもサイトカイン産生¹⁵⁾や Ig 産生^{16, 17)}の抑制作用が知られているが、作用発現濃度 (1 µg/mL) でリンパ球の増殖抑制作用を示した (2.6.2.2.9 その他の薬理-免疫薬理-参照)。

このような実験結果に加えて、イグラチモドの薬理学的特性を更に明らかにする目的で、先に挙げた類薬に金チオリンゴ酸ナトリウム、ブシラミン、ミゾリビン、レフルノミド及びタクロリムスを加え、① 炎症性サイトカイン産生、② Ig 産生、③ 初期応答遺伝子発現及び④ リンパ球増殖に対する作用の 4 項目について文献調査した¹⁸⁾。その結果、イグラチモドに特徴的な薬理特性の 1 つとして、Ig 産生の抑制作用とリンパ球増殖の抑制作用の乖離、すなわち、イグラチモドのリンパ球増殖反応に対する作用は B 細胞の Ig 産生抑制作用に比べて極めて弱いことが示された。既存の DMARD ではリンパ球増殖抑制を介した Ig 産生の抑制が示唆されるのに対し、イグラチモドはリンパ球増殖抑制のみられない濃度で Ig 産生抑制作用を示すと考えられた。

これらの考察を踏まえ、添付資料 4.2.1.1.4; S4 と同じ実験系でヒト末梢血 B 細胞の IgG 産生に対するイグラチモドの作用を、既存の DMARD と同時に比較検討した¹⁹⁾。得られた結果を表 2.4.2-2 の IgG 産生抑制作用のカラムに示した。これらの作用濃度をリンパ球増殖抑制作用の発現濃度 (2.6.2.2.9.1 リンパ球増殖に対する作用 参照) と対比すると、イグラチモドは増殖抑制のみられない濃度で Ig 産生を抑制していた。その他の DMARD を含め、臨床における血漿到達濃度範囲で Ig 産生の抑制がみられたのはサラゾスルファピリジン、メトトレキサート、レフルノミド、オーラノフィンであり、これらの薬剤ではリンパ球増殖抑制に基づくと思われる Ig 産生の抑制が示唆された。

表 2.4.2-2 Ig 産生とリンパ球増殖の抑制作用－類薬との比較

DMARD	イグラチモド ^{a)}	サラゾスルファピリジン	メトトレキサート	レフルノミド ^{b)}	オーラノフィン	D-ペニシラミン
IgG産生抑制作用 ¹⁹⁾ IC ₅₀ (µg/mL)	0.19	25	0.010	4.2	0.11	>100
リンパ球増殖 ^{b)} IC ₅₀ (µg/mL)	>30	約100*	0.038	3.4 ²⁰⁾	0.75	>100
作用発現濃度比 IgG産生抑制:リンパ球増殖抑制	1:>150	1:約4	1:約4	1:0.81	1:6.8	—
臨床での血漿到達濃度 ^{c)} (µg/mL)	1～2	8～12	0.1～0.2	43 ²¹⁾	0.1～0.7	約0.3

¹⁹⁾: 追加データ, b: 添付資料 S28, c: CTD表2.4.2-1

*: 100 µg/mL (最大濃度) での抑制率が40.3%であった

これらの作用特性の違いから、イグラチモドの免疫抑制的な作用は、核酸生合成阻害や *cytostatic* な影響を介して薬効を発揮する代謝拮抗剤や金剤とは明確に区別され、本薬は免疫調節薬に分類されると考えられた。一方、D-ペニシラミンなどの SH 剤やサラゾスルファピリジンなどの免疫調節薬は関節炎や自己免疫疾患モデルに対して明確な改善効果を認め難く^{22-23, 24, 25)}、この点でイグラチモドの作用とは異なる。B 細胞に直接作用してその主要な機能である Ig 産生を抑制することがイグラチモドの特長であり、RA における B 細胞依存性の病変を改善すると考えられる。このような薬理特性の違いに加え、イグラチモドは化学構造的にも既存の DMARD とは異なることから、既存薬のタイプには属さない新しい DMARD として RA 患者に有用であると考えられ、DMARD 効果不十分例に対して有効性を示す理由の 1 つと推察している。

2.4.2.2 作用機序に関して

2.4.2.2.1 細胞学的機序について

イグラチモドは主に、B細胞のIg産生の抑制とマクロファージや滑膜細胞の炎症性サイトカイン産生の抑制を介して、免疫抑制作用と抗炎症作用を示すものと考えられる。

近年、モノクローナル抗体などの生物学的製剤によりRAの病態への理解が深まってきた。B細胞に関しては、抗CD20(B細胞抗原)抗体のRA患者に対する顕著な有効性の報告^{26,27)}から、その重要性が示唆されている。また最近、自己抗体に関しても、関節炎誘発自己抗体の存在が非臨床²⁸⁾及び臨床試験²⁹⁾において報告されており、B細胞や自己抗体が再び注目されている³⁰⁾。一方、TNF α に関しては、種々の阻害薬の臨床有効性^{31,32)}から、RAの病態への関与についてはコンセンサスが得られている。更に、IL-1やIL-6なども、レセプターアンタゴニスト³³⁾や抗体³⁴⁾によりその重要性が臨床において証明された。

イグラチモドは*in vitro*及び*in vivo*において、これらIgとサイトカインの産生を明確に抑制することから、図2.4.2-1に示すような作用機構により、RAの滑膜病変を鎮静化し、全身症状を改善する結果、RA患者のQOLを向上させるものと考えられる。

① B細胞のIg産生を抑制する。

RAは自己免疫疾患の1つであり、RA患者の約7割が自己のIgGに反応する抗体、リウマチ因子陽性であり、更にRA患者では免疫機能検査で疾患活動性に相応したIgG、IgM及びIgAの高値がみられる。RA患者の滑膜組織にはB細胞、T細胞、マクロファージの浸潤像が認められており、血管周囲でリンパ球が濾胞様に凝集化している。濾胞細胞の多くはB細胞抗原のCD20が陽性であり、濾胞の中心に活性化B細胞が、周囲を取り巻くように形質細胞が存在し、B細胞がRAの滑膜炎の病態に関与すると考えられている³⁵⁾。近年、このCD20に対する抗体製剤リツキシマブのRA患者に対する有効性が報告され、リツキシマブはRA患者のB細胞を枯渇させ、血清中の全Igレベルを有意に低下させることが示された。ACR20以上の改善を示したレスポnderでは、全Igレベルは低下するものの正常値範囲を維持する一方、リウマチ因子やanti-CCP(cyclic citrullinated peptides)など自己抗体が有意に低下し、CRPの低下との間に明らかな相関が認められている。更に、治療の中止によるB細胞の回復と共に、徐々に自己抗体が増加した患者ではRAが再燃し、B細胞枯渇による自己抗体の低下がRAの病態を改善することが報告されている³⁶⁾。なお、Cambridge³⁶⁾はリツキシマブによる血清中全Igレベル、特にIgMレベルの有意な低下がRA患者の循環血中に占めるIgM型自己抗体の存在比の大きさを反映した結果であると考察している。

イグラチモドの臨床試験では、RA患者の疾患活動性に相応した血清IgG、IgM及びIgAの高値及びリウマチ因子に対する改善効果が観察されている。プラセボ及びサラゾスルファピリジンを対照とした比較試験において、イグラチモドはIgG、IgM及びIgA並びにリウマチ因子に対してプラセボより有意な改善を示し、更にIgMについてはサラゾスルファピリジンに対しても有意差が認められた。このことは、イグラチモドがB細胞に直接作用してIg産生の抑制をもたらすという薬理学的特徴を裏付けている。また、リツキシマブの報告から、イグラチモドでみられたIgの低下はRA患者では自己抗体の低下に関連すると考えられ、病態の改善に結びついたものと推測される。したがって、イグラチモドはRAにおけるB細胞依存的な病変を改善することが示唆される。

②マクロファージや滑膜細胞などの炎症性サイトカイン産生を抑制する。

RA患者の滑膜組織ではTNF α 、IL-1 β 、IL-6などの炎症性サイトカインが多種の細胞で産生分泌されており、これらは炎症性細胞の活性化、骨吸収の促進、過剰な免疫応答の誘導及び血中急性期相蛋白の上昇などを引き起こす。病変部位では多種のサイトカインが複雑なネットワークを形成していることから、ある種のサイトカインの産生低下が一連の反応の抑制につながり、大きな効果を形成すると

考えられる。したがって、イグラチモドによるサイトカイン産生抑制作用は、臨床試験で認められている関節腫脹及び疼痛の改善や CRP などの低下及び全身症状の改善として現れているものと考えている。

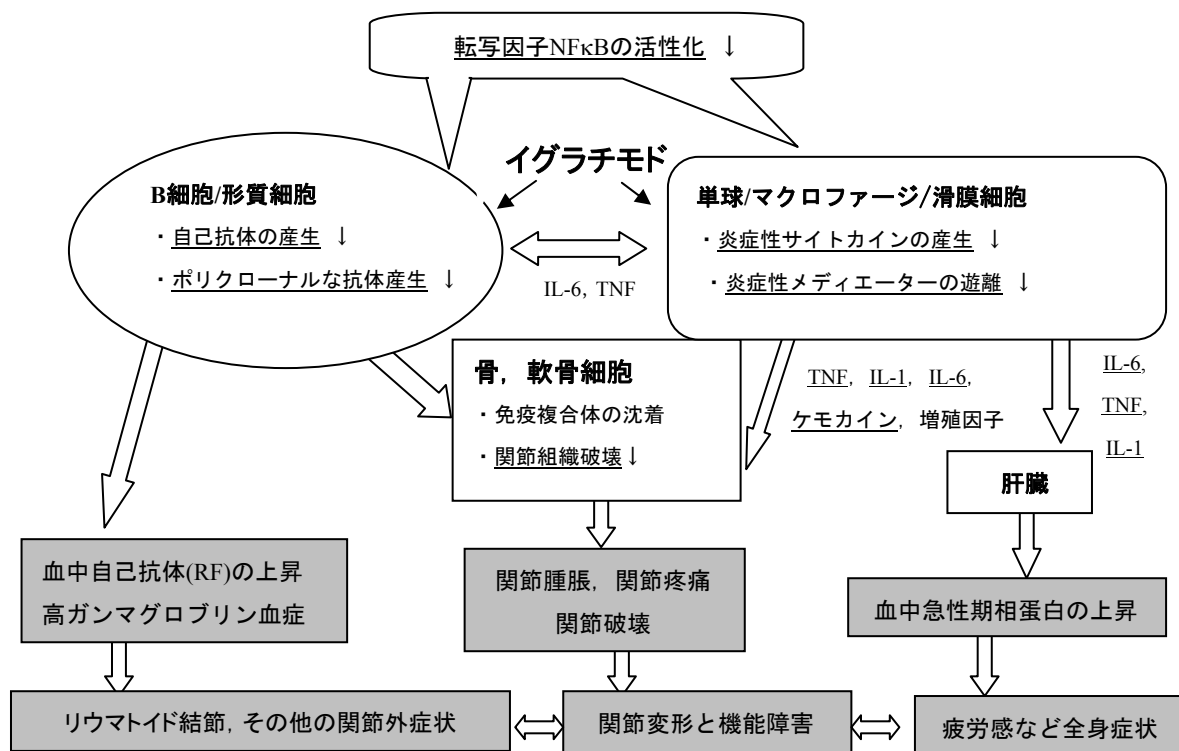


図 2.4.2-1 イグラチモドの抗リウマチ作用の機序概念図

図中下線部はイグラチモドの作用が認められた現象を示す

イグラチモドによる Ig と炎症性サイトカインの産生抑制作用は、mRNA の発現低下を伴っており(2.6.2.2.2 Ig 産生抑制作用–*in vitro*–及び 2.6.2.2.4 サイトカイン産生抑制作用–*in vitro*–参照), 初期応答遺伝子の発現に対する作用が示唆された。転写因子 NFκB は、Igκ 鎖遺伝子や TNFα や IL-6 などのサイトカイン遺伝子の転写発現に中心的な役割を果たし³⁷⁾, RA をはじめとするヒトの炎症性疾患においても重要な位置付けが論じられている³⁸⁾。そこで、イグラチモドの詳細な作用機序を検討するため、サイトカイン産生の抑制を調べた THP-1 細胞を用いて、LPS 刺激時の NFκB の活性化を EMSA にて調べた。その結果、イグラチモドはサイトカイン産生の抑制を示した濃度(3 μg/mL)で、LPS 刺激による NFκB の活性化を阻害することが示唆された(2.6.2.2.4 サイトカイン産生抑制作用–*in vitro*–参照)。なお、既存の DMARD の中ではオーラノフィン³⁹⁾及びサラゾスルファピリジン⁴⁰⁾について NFκB の活性化を阻害することが報告されているが、サラゾスルファピリジンの作用は 400 μg/mL での観察結果であり、臨床における血漿到達濃度からは大きく乖離している。

NFκB の活性化阻害作用は、Ig やサイトカイン遺伝子の発現のみならず、細胞浸潤などに関与する接着分子や血清アミロイド A のような急性期相蛋白など、多くの炎症関連遺伝子の発現制御につながると考えられる。事実、イグラチモドは誘導型 COX である COX-2 遺伝子の発現も抑制する(2.6.2.2.10 その他の薬理–PG 産生に対する作用–参照)。イグラチモドによる Ig 及びサイトカイン産生の抑制は正常な細胞に何らかの刺激がかかった場合に認められ、Ig の低下は非刺激時を下回ることにはなかった。このことは関節炎モデル動物や RA 患者においてイグラチモドが正常レベル以下にまで Ig を低下させないことに関連し、NFκB は細胞が外界刺激を受けた際の一次応答のスイッチとして機能すること³⁷⁾に一致する。なお、Ig 及び炎症性サイトカイン産生の抑制作用に、イグラチモドによる NFκB の活性化阻害の関与が示唆されたが、

NFκB の阻害作用だけではイグラチモドの薬理作用を完全に説明することは困難であり、他の機序を考慮する必要がある。

2.4.2.2.2 分子標的について

サイトカインやIg産生の抑制作用にイグラチモドによるNFκBの活性化阻害が関与し、その作用点はIκB分解以降の核内移行にあると推察しているが⁴¹⁾ (図 2.4.2-2 参照)、具体的な標的蛋白分子の同定までには至っていない。また、NFκBの活性化阻害作用はサイトカイン産生の抑制を認めたヒト単球系細胞のTHP-1細胞の試験系で観察したが(2.6.2.2.4 THP-1細胞刺激時の核内転写因子NFκB活性化に対する作用 参照)、明確な阻害が認められるには3 μg/mL以上の濃度を必要とした。このことは、サイトカイン蛋白及びmRNA発現に対する作用濃度とほぼ一致するが、Ig産生の抑制濃度とは乖離がある。更に、骨芽細胞の分化誘導作用⁴²⁾のように、NFκBの活性化阻害では説明がつかない作用も見出しており、複数の作用機序の存在やNFκBの活性化阻害が副次的な場合も考慮に入れ、現在も検討中である。

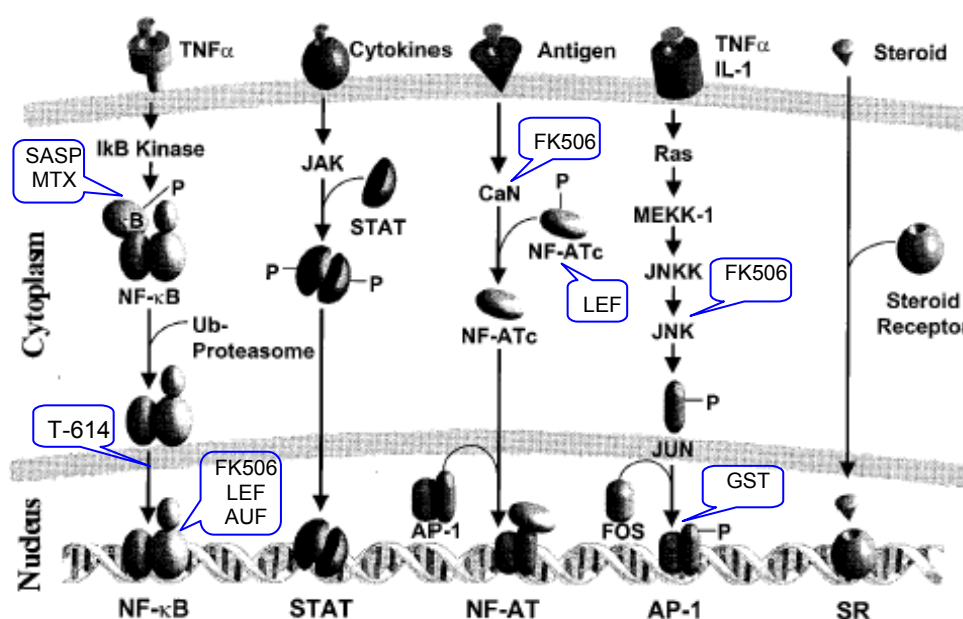


図 2.4.2-2 炎症反応に関連した主要なシグナル伝達経路⁴³⁾ と抗リウマチ薬の作用点

図中の略号: T-614: イグラチモド, SASP: サラゾスルファピリジン, MTX: メトトレキサート, LEF: レフルノミド, AUF: オーラノフィン, GST: 金チオリノ酸ナトリウム, FK506: タクロリムス

IκB = inhibitor of nuclear factor κB, Ub = ubiquitin, JAK = janus-activated kinase, STAT = signal transducer and activator of transcription, CaN = calcineurin, NF-ATc = nuclear factor of activated T cells, AP-1 = activator protein 1, JNK = Jun N-terminal kinase, SR = steroid receptor.

以上のようにイグラチモドの標的蛋白分子は明確になっていないが、NFκB 阻害作用以外の機序を考察するために、炎症反応に関連した主要なシグナル伝達経路⁴³⁾ を図 2.4.2-2に示し、報告されている類薬の作用点を挿入した。これらの経路のなかにはタクロリムスの標的分子・カルシニューリンが制御するNFAT 経路もあり、NFAT の活性化阻害につながる。また、レフルノミドの標的分子はピリミジン合成経路の酵素であるジヒドロオロテート脱水素酵素 (DHODH)とされているが、NFκB の活性化を阻害したり、最近では破骨細胞前駆細胞においてNFATc1の誘導を抑制したりすることが報告されている⁴⁴⁾。メトトレキサートも葉酸代謝系酵素の拮抗作用を示し、核酸合成の阻害が分子機序の一つであるが、NFκB の活性化阻害作用も報告されており⁴⁵⁾、イグラチモドとは異なり、IκBα のリン酸化と分解抑制を伴うことが示されている。この他、NFκB の活性化阻害が知られているものには、前述のようにサラゾスルファピリジン、タクロリム

ス及びオーラノフィンなどがあるが、サラゾスルファピリジンについては IkB α の分解抑制を介した作用であることが報告されている⁴⁶⁾。

転写因子 AP-1 経路に関しては、最近タクロリムスが MAP キナーゼファミリーの一員である JNK・p38 経路を阻害することが明らかにされ⁴⁷⁾、AP-1 の転写活性阻害の寄与が示唆されている。また、金剤の金チオリンゴ酸ナトリウムが AP-1 の活性化阻害を示すことも知られている。このように、特にレフルノミドやタクロリムスのような新しい抗リウマチ薬ではシグナル伝達経路に複数の分子機序が明らかにされており、そのような機序が標的分子を介した二次的な作用である可能性はあるが、イグラチモドにおいても複数の機序の存在は十分に推定される。

2.4.2.2.3 PG 産生抑制作用について

既存の NSAID の作用機序である PG 産生抑制作用に関して、イグラチモドは COX-2 活性の選択的な阻害作用を示し (IC₅₀:7.9 μ g/mL)，線維芽細胞の培養実験において、細胞刺激時にみられる PGE₂ 産生と COX-2 遺伝子発現の抑制作用を示した (2.6.2.2.10 その他の薬理-PG 産生に対する作用-参照)。更に、ラットのカラゲニン・スポンジ炎症モデルでは、炎症部位選択的な PGE₂ 低下作用を示し (2.6.2.2.10 その他の薬理-PG 産生に対する作用-参照)，COX-2 選択的阻害薬⁴⁸⁾としての薬理特性を有することが示唆された。PG 産生に対する抑制作用は *in vitro* 培養実験では 0.1 μ g/mL から、*in vivo* 炎症モデルでは 1 mg/kg から認められ、インドメタシンと比較すると 1/10 の効力であった。このような PG 産生抑制作用と抗炎症作用におけるインドメタシンとの実験的な効力比較と、NSAID の初期臨床用量設定に関する文献⁴⁹⁾を参考にした抗炎症作用におけるインドメタシン及びイブプロフェンとの効力比較 (表 2.4.2-3) から、臨床第 I 相試験は臨床推定用量を 100～200 mg/日として臨床試験を開始した。しかし、RA 患者を対象としたパイロット試験において 200 mg/日は過剰投与と判断され、申請用量はインドメタシンの 1 日用量より低い 50 mg/日となった。この用量ではイグラチモドの PG 産生抑制作用は既存の NSAID と同程度には発現していないと考えられる。すなわち、イグラチモドの PG 産生抑制作用は抗リウマチ作用としての主薬効ではないと考えられ、疼痛の改善などの有効性への影響は小さいものと推測している。

表 2.4.2-3 NSAID としての臨床有効用量の推定

薬物	薬理試験成績			臨床 (推定) 用量
	カラゲニン足浮腫 ^{a)} ED ₃₀ (mg/kg)	アジュバント関節炎 ^{a)} ED ₄₀ (mg/kg)	線維芽細胞の PGE ₂ 産生 ^{b)} IC ₅₀ (μ g/mL)	
イグラチモド	3.6	5.2	0.47	200 mg/日
インドメタシン	1.9	0.80	0.019	75 mg/日
イブプロフェン	25	75	0.038	600 mg/日

a: 添付資料4.2.1.1.35;S35参照, b: 添付資料4.2.1.1.36;S36参照

また、臨床試験において疼痛の改善がみられていることから、本薬の PG 産生抑制作用が疼痛に及ぼす影響については、2.6.2.6.1.6「その他の薬理試験」に薬理的に考察した。なお、イグラチモドの臨床効果は NSAID でみられる効果とは明確に異なっており、NSAID に認められない炎症性サイトカインと Ig に対する抑制作用が臨床での改善効果の本質と考えた。しかし、イグラチモドの PG 産生抑制作用は本薬の有する NSAID に類似した抗炎症作用や消化管障害作用などの毒性を部分的に説明し、臨床試験で認められた関節腫脹や疼痛の改善作用にも一部関与するものと考えられた。

2.4.2.3 薬理試験と薬物動態試験成績との関連

2.4.2.3.1 *In vitro* 試験

イグラチモドの *in vitro* 試験において炎症性サイトカイン産生の抑制作用の IC_{50} 値は $1.4 \sim 17 \mu\text{g/mL}$ であり、イグラチモドの血漿中濃度 (C_{max} 約 $2 \mu\text{g/mL}$ 及び蛋白結合率 約 90%) を考慮すると、幾分高いと思われる。そこで、イグラチモドのサイトカイン産生抑制の最小有効濃度 (便宜的に 30%以上の抑制が観察される最小濃度) を表 2.4.2-4 にまとめた。RA 患者滑膜細胞の IL-6 産生の有効濃度は $30 \mu\text{g/mL}$ となったが、その他の評価項目ではイグラチモドの $3 \mu\text{g/mL}$ でいずれのサイトカインも 30%以上の抑制がみられた。なお、RA 患者滑膜細胞の IL-6 産生の抑制については、 $3 \mu\text{g/mL}$ での抑制率は 21%であったが、対照群に対して有意差を認めている。また、細胞への刺激条件も明確なサイトカイン産生を誘導するため生体内で予想されるより強い条件を適用していると考えられ、このことが薬物の作用の現われ方に影響している可能性も考えられる。したがって、サイトカイン産生に対する作用は、Ig 産生の抑制濃度と比較すると高濃度を必要とするが、臨床においても十分発揮される薬理作用であると考えている。

表 2.4.2-4 イグラチモドのサイトカイン産生抑制の最小有効濃度と 50%抑制濃度 (IC_{50})

資料 番号	炎症性 サイトカイン	細胞	刺激種	最小有効濃度 ^{a)} μg/mL	IC ₅₀ μg/mL
S7	TNFα	マウス腹腔マクロファージ	zymosan	0.3	2.8
S8	IL-1β	THP-1細胞	LPS	3	4.3
S9	TNFα			3	17
S10	IL-6			3	2.4
S8	IL-8			0.3	5.1
S11	MCP-1			0.3	1.4
S12	IL-6	RA患者滑膜細胞	TNFα	30	NC
			IL-1β	0.3	NC
	IL-8		TNFα	3	NC
			IL-1β	0.3	NC

添付資料 4.2.1.1.7 の付表 1, 添付資料 4.2.1.1.8 の付表 1, 2, 添付資料 4.2.1.1.9 の付表 1, 添付資料 4.2.1.1.10 の付表 1-3, 添付資料 4.2.1.1.11 の付表及び添付資料 4.2.1.1.12 の表 2 より抜粋

a) 30%以上の抑制が観察される最小濃度, NC: 未算出

2.4.2.3.2 *In vivo* 試験

動物実験モデルにおいて、イグラチモドはマウスでは $1 \sim 100 \text{ mg/kg}$ 、ラットでは $0.3 \sim 30 \text{ mg/kg}$ の用量で有効性を示した。また、遅延型足蹠浮腫反応に対する試験では、ヒトと比較してイグラチモドの血漿中濃度消失半減期が短いマウスにおいては、1 日投与回数を 1 回から 2 回にすることによって有効用量の低減化がはかれることが示唆された (2.6.2.2.7.1 マウス遅延型浮腫反応参照)。マウス及びラットにおいて、イグラチモドは経口投与後速やかに吸収され、血漿中濃度推移には用量相関性が認められている。更に、同一投与量換算でイグラチモドの曝露量 (AUC) は、ヒトに比べマウスでは約 1/20、ラットでは約 1/2 と推定される。すなわち、ヒトに 25 mg を 1 日 2 回 (約 1 mg/kg に相当)、14 日間反復経口投与した時の AUC $24.4 \mu\text{g} \cdot \text{hr/mL}$ (2.7.2.2.3 高齢者試験参照, 非高齢者での値, $AUC_{(0 \rightarrow 12)}$ を 2 倍して算出) は、マウスでは 10 mg/kg (AUC $11.8 \mu\text{g} \cdot \text{hr/mL}$) と 30 mg/kg (AUC $28.0 \mu\text{g} \cdot \text{hr/mL}$) の間に、ラットでは 1 mg/kg (AUC $11.6 \mu\text{g} \cdot \text{hr/mL}$) と 3 mg/kg (AUC $36.0 \mu\text{g} \cdot \text{hr/mL}$) の中間に相当する。この差を考慮すると、マウス及びラットで有効性を示す曝露量はいずれもヒト臨床推奨用量での血中濃度よりもやや高いものの大きく乖離していないと考えられた。

なお、一般的に薬効評価のための動物モデルはヒトの病態と比較して明確な評価を行うため、過剰な病変を形成することが多く、そのため有効用量が臨床用量より高くなる場合がいろいろな薬物で知られて

いる。例えば、レフルノミドやメトトレキサートでは動物モデルでの有効用量は臨床用量の 10 倍以上であり⁵⁰⁾、いずれも良好な吸収の薬物であるので、曝露量において乖離はみられる。更に、サラゾスルファピリジン²³⁾、ブシラミン⁵¹⁾及びオーラノフィン⁵²⁾のような免疫調節薬では、臨床用量より極端に高い用量で試験されている。以上から、イグラチモドの動物モデルで得られた薬理試験結果は用量反応性がやや高投与量にシフトしているものの臨床での有効性を裏付けるものと考えられる。

イグラチモドの組織移行性はラットを用いた標識体投与後の組織分布で調べられており、肝臓及び腎臓以外の組織への移行性は高くないと考えられている(2.6.4.4.1 組織内濃度参照)。しかしながら、関節炎などの炎症局所では一般的に血管透過性の亢進や新生血管の増生がみられることから、血漿中濃度に近似した濃度のイグラチモドが存在するものと考えられ、実際にラットのカラゲニン炎症モデルにおいて¹⁴C-イグラチモドの投与後の放射能分布を観察した結果、放射能の炎症部位への移行は良好であった(2.6.4.4.1.3 炎症組織への移行性参照)。

2.4.2.3.3 代謝物の関与

イグラチモドの 5 代謝物(M1～M5)のうち(図 2.4.3-2 参照)、M1 及び M2 はイグラチモドと同様にヒト B 細胞の Ig 産生(2.6.2.2.8.1 参照)並びに THP-1 細胞の IL-1 β 産生(2.6.2.2.8.2 参照)を抑制し、これら 2 つの代謝物は薬理活性を維持した活性代謝物であると考えられた。このような *in vitro* 試験では、イグラチモドの *in vivo* での薬効における活性代謝物の寄与を推定することが困難であったため、アジュバント関節炎ラットを用い、静脈内投与による関節腫脹抑制作用をイグラチモドと比較した。その結果、これら 2 つの代謝物の効力はイグラチモドの約 1/6 であり(2.6.2.2.8.3 ラットアジュバント関節炎参照)、*in vivo* における薬理作用の主体は未変化体であると推定された。したがって、イグラチモドの薬理活性の主体は未変化体であるが、ヒトにおいて M2 は未変化体より持続的に推移していることから、M2 の薬理活性がイグラチモドの抗リウマチ作用に寄与する可能性も考えられた。

2.4.2.4 副次的及び安全性薬理試験並びに薬力学的薬物相互作用試験

副次的薬理試験では、自発運動に対する作用、抗痙攣作用、痙攣協力作用、睡眠増強作用、鎮痛作用及び正常体温に対する作用について検討したが、イグラチモドに明確な薬理作用はみられなかった(2.6.2.3 副次的薬理試験参照)。

安全性薬理試験では、イグラチモドについてコアバッテリー試験(2.6.2.4.1 参照)を実施したが、中枢神経系、心血管系及び呼吸系に影響はみられなかった。薬理的活性代謝物である M1 及び M2 は、いずれも心血管系に影響を及ぼさず、M2 は呼吸系にも影響を及ぼさなかった(2.6.2.4.4 代謝物の安全性薬理試験-心血管系及び呼吸系-参照)。また、本薬が有する PG 産生抑制作用並びに臨床でみられた副作用(下痢、軟便などの消化器症状)を考慮し、補足的安全性薬理試験として腎/泌尿器系、自律神経系、胃腸管系、生殖器及び血液に対する作用(2.6.2.4.2 参照)を検討した。その結果、イグラチモドは 100 mg/kg 以上の経口投与でラットの尿 pH を上昇、尿中電解質排泄を増加させ、300 mg/kg でラット胃粘膜障害作用及び胃液分泌抑制作用を示したが、ラットの薬効発現用量(0.3～30 mg/kg)及び臨床推奨用量(50 mg/日、約 1 mg/kg/日)と比較して高い用量で発現した作用であった。また、イグラチモドの 0.3 μ g/mL 以上でラット摘出子宮運動の抑制が認められたが、この作用は前述したように COX-2 阻害作用による PG 産生の抑制に関連するものと考えられた。

更に、イグラチモドの臨床試験で一過性の肝酵素(ALT, AST)の増加がみられ、ヒトに対する肝障害作用が疑われたため、イグラチモドの肝障害性に関して薬力学的な検討を加えた。これらの肝障害性に関する検討の成績については、2.4.4.7「ヒトで認められた副作用との関連」で後述するが、現在までの検討で、イグラチモド及び主要な代謝物に直接的な肝細胞障害性はないと考えられ、イグラチモド及び M2 が AST 遺伝子の発現誘導作用を示す可能性が示唆された(2.6.2.4.3 イグラチモド;肝臓に対する作用及び

2.6.2.4.5 代謝物;肝臓に対する作用参照)。しかし、臨床試験でみられた一過性の肝酵素上昇については、その発現機序を十分に解明することはできなかった。

薬力学的薬物相互作用試験(2.6.2.5 参照)では、イグラチモドの血清蛋白結合率が高いことからワルファリンとの相互作用についてラットを用いて検討した。その結果、イグラチモドは 10 mg/kg 以上でワルファリンの抗血液凝固作用を増強したことから、ワルファリン併用の際には注意が必要と考えられた。

2.4.3 薬物動態試験

2.4.3.1 分析法, 薬物動態モデル及び薬物動態パラメータ

薬物動態試験の分析法には、標識体では液体シンチレーションカウンター (LSC) 法を、非標識体では高速液体クロマトグラフ (HPLC) 法及び高速液体クロマトグラフー質量分析 (LC/MS/MS) 法を用いた。HPLC 法はラット血漿中濃度測定に用い、LC/MS/MS 法はサル血漿中濃度測定に用いた。いずれの分析法も分析法バリデーションを実施し、定量性及び安定性を確認して薬物動態試験に用いた (2.6.4.2 分析法参照)。

薬物動態試験に使用したラットは Wistar/ST 系及び Donryu 系 (炎症モデル実験のみ) であり、薬理試験では Lewis 系、Wistar/ST 系及び SD 系、毒性試験では SD 系であった。また、薬物動態試験に使用したサルはカニクイであり、毒性試験にも使用した。薬物動態試験 (2.6.4.3.2) の血漿中濃度測定において、ラット及びサルではともに各個体から経時的に採血 (ヘパリン加) を行った。1 回の採血量は、ラットでは約 0.1 mL 以下、サルでは約 1 又は 2.5 mL とした。薬物動態パラメータは個体毎にモデル非依存的に算出した。

2.4.3.2 ラット及びサルにおける薬物動態並びにヒトとの比較ー吸収と分布ー

イグラチモドのラット、サル及びヒトにおける生体内動態の概略を図 2.4.3-1 に示した。

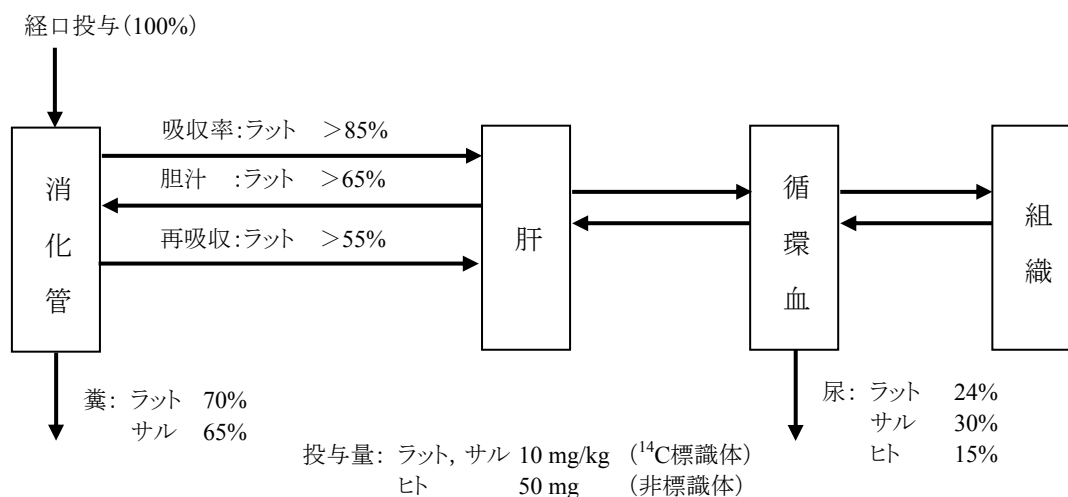


図 2.4.3-1 イグラチモドの生体内動態

イグラチモドは、ラット消化管ループを用いた *in situ* 試験で消化管の広い部位で吸収され (2.6.4.3.1 吸収部位参照)、ラット及びサルに 10 mg/kg を絶食下に経口投与した時のバイオアベイラビリティ (2.6.4.3.2.5 参照) はそれぞれ 95.0 及び 111% であり、経口吸収性に優れていた。ラット及びサルにおいて 1~10 mg/kg までの用量範囲で未変化体の C_{\max} 及び AUC に用量相関性が認められた (2.6.4.3.2.1 参照)。なお、臨床第 I 相試験 (2.7.2.2.2.1 参照) において健康成人にイグラチモドの 50 mg (体重 50 kg とした場合に 1 mg/kg に相当) を単回経口投与した時の未変化体の C_{\max} (1.81 $\mu\text{g/mL}$) 及び AUC (19.8 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/mL}$) は、ラット及びサルに 1 mg/kg の投与量で経口投与した時に得られる C_{\max} (ラット: 2.41 $\mu\text{g/mL}$, サル: 1.26 $\mu\text{g/mL}$) 及び AUC (ラット: 11.6 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/mL}$, サル: 8.55 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/mL}$) の約 1~2 倍に相当し、ラット、サル及びヒトにおいて未変化体の曝露量に著しい差異はないものと考えられた。非絶食下のラットに 10 mg/kg を経口投与した時の C_{\max} 及び AUC を絶食下のそれらと比較した結果、差異はわずかであり、摂食の影響 (2.6.4.3.2.2 参照) はほとんどみられなかった。また、雌性ラットに 10 mg/kg を絶食下に経口投与した時の C_{\max} 及び AUC を雄性ラットのそれらと比較した結果、雌雄差はわずかであった (2.6.4.3.2.3 性差参照)。ヒトを含めた動物種間での薬物動態パラメータを表 2.4.3-1 にまとめた。

表 2.4.3-1 ラット、サル及びヒトにおける薬物動態パラメータの比較

動物種	ラット	サル	ヒト
動物数/性 (雄/雌)	5/M	4/M	6/M
給餌	絶食	絶食	食後
投与形態/溶媒	懸濁液 0.5%CMC	懸濁液 0.5%CMC	錠剤
投与方法	強制経口	強制経口	経口
投与量	1 mg/kg	1 mg/kg	50 mg
試料 (全血, 血漿, 血清, その他)	血漿	血漿	血漿
定量 (対象) 物質	イグラチモド	イグラチモド	イグラチモド
定量法	HPLC	LC/MS/MS	HPLC
パラメータ	t_{\max} (hr)	1.10	2.25
	C_{\max} ($\mu\text{g/mL}$)	2.41	1.26
	AUC ($\mu\text{g}\cdot\text{hr/mL}$)	11.6	8.55
	$t_{1/2}$ (hr)	2.98	4.70

一方、イグラチモドは pKa ■■■ の弱酸性物質であり、酸性～中性の溶解度が低く pH ■ を超えたあたりから溶解度が上昇する。すなわち、 pH ■～■ の溶解度は ■■■～■■■ $\mu\text{g/mL}$ と pH ■ の溶解度 ■■■ $\mu\text{g/mL}$ に比べて ■■■■■ と低い (2.3.S.3.1 構造及びその他の特性の解明参照)。無胃酸又は低胃酸の患者の胃内 pH は 5～7 と推定され⁵³⁾、イグラチモドの溶解性が pH 1 に比べてわずかではあるが増加するため、その結果吸収が増大する可能性は否定できない。しかし、正常な試験動物の胃内 pH は通常、酸性であり、そのようなラット及びサルにおいてもイグラチモドのバイオアベイラビリティが 100% 付近であること、胃における吸収は他の消化管に比べて低いこと (2.6.4.3.1 吸収部位参照) などから、無胃酸又は低胃酸の患者の場合であっても、イグラチモドの吸収の増大はわずかであると思われ、安全性に影響を及ぼす可能性は低いと考えられる。

ラットを用いた組織分布試験において、 ^{14}C -イグラチモドの単回投与 (2.6.4.4.1.1 参照) では血漿よりも高濃度に放射能が分布したのは消化管組織以外では肝臓及び腎臓であり、他の組織及び臓器内放射能濃度は血漿中放射能濃度に比べて低かった。しかし、ラットのカラゲニン炎症モデルにおいて ^{14}C -イグラチモドの投与後の放射能分布を観察した結果、放射能の炎症組織への移行 (2.6.4.4.1.3 参照) は良好であった。また、組織内放射能濃度の $t_{1/2}$ は 2.6～3.9 時間と血漿中放射能濃度の $t_{1/2}$ 3.4 時間とほぼ同じであった (2.6.5.5.1 分布; 単回投与参照)。更に、 ^{14}C -イグラチモドの 21 日間反復投与における投与後 24 時間の組織内放射能濃度はほとんどの組織が 14 回投与後で定常状態に達し、血漿よりも高濃度に分布した組織は消化管組織以外で肝臓、腎臓及び血液であり、単回投与後の組織分布と同様であった。21 回投与後の血液からの放射能の消失は単回投与後に比べて緩やかであり (2.6.4.4.1.2 分布; 反復投与参照)、 $t_{1/2}$ は 12.7 日であった (2.6.4.3.2.4 吸収; 反復投与参照)。 ^{14}C -イグラチモドの *in vitro* 血清蛋白結合はラット、サル及びヒトでそれぞれ 93.7～94.5、84.9～87.1 及び 93.0～93.2% であり、ラットとヒトの蛋白結合率は類似しており、サルの蛋白結合率はやや低かった (2.6.4.4.2 血清蛋白結合参照)。なお、ヒト血清蛋白を用いた結合蛋白種の検討では、イグラチモドの結合蛋白は主にアルブミンであった (2.7.2.2.1.1 ヒト血清蛋白結合参照)。イグラチモドのヒト血清アルブミンに対する結合定数はインドメタシン、ナプロキセン、イブプロフェンなどイグラチモドの臨床試験において併用された NSAID の結合定数^{54,55)} に比べて小さく、またイグラチモドを含む各薬物の臨床用量における血中薬物濃度 (mol/L) は血中アルブミン濃度 (mol/L) に比べて低かった。したがって、イグラチモド投与による併用薬物の蛋白結合率の変動は小さいものと考えられたが、薬力学的にはラットにおいてイグラチモドの有効用量である 10 mg/kg をワルファリンと併用した際に相互作用が認められており (2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用参照)、ワルファリンとの併用には注意が必要である。 ^{14}C -イグラチモドの血球移行性 (2.6.4.4.3 参照) は、ラット及びヒトの洗浄赤血球液中において約 59～63% の移行率を示したが、血液中では約 12% 以下の移行率であり、差異がみられた。血液中で

移行率が低下した要因として、イグラチモドの血清蛋白への結合により非結合型の存在量の減少が考えられた。妊娠ラットを用いて ^{14}C -イグラチモドの胎児移行性(2.6.4.4.4 参照)を検討した結果、妊娠 12 及び 18~19 日目では胎児の放射能は母体の血液よりも低く、イグラチモドの胎児移行性は低いものと考えられた。

2.4.3.3 ラット及びサルにおける薬物動態並びにヒトとの比較—代謝と排泄—

イグラチモドの推定代謝経路を図 2.4.3-2 に示し、ヒトを含めた動物種間での未変化体並びに代謝物の AUC 及び尿・糞中排泄率を表 2.4.3-2 にまとめた。代謝物として、イグラチモドのホルミルアミノ基の脱ホルミル体である M1、その M1 のアミノ基がアセチル化された M2 が存在し、またイグラチモド、M1 及び M2 の 6 位フェノキシ基が水酸化された M4、M5 及び M3 が存在した。イグラチモドから M1 への代謝反応には種差がなく、ラット、サル及びヒトにおいて、更にマウス(添付資料 4.2.1.1.24)、ウサギ(参考資料 4.2.2.2.7) 及びイヌ(参考資料 4.2.2.2.8) においても認められた。M1 から M2 への代謝反応には *N*-アセチルトランスフェラーゼが関与し、*N*-アセチルトランスフェラーゼが欠損しているイヌ⁵⁶⁾では M2 及び M3 は認められなかった(参考資料 4.2.2.2.8)。

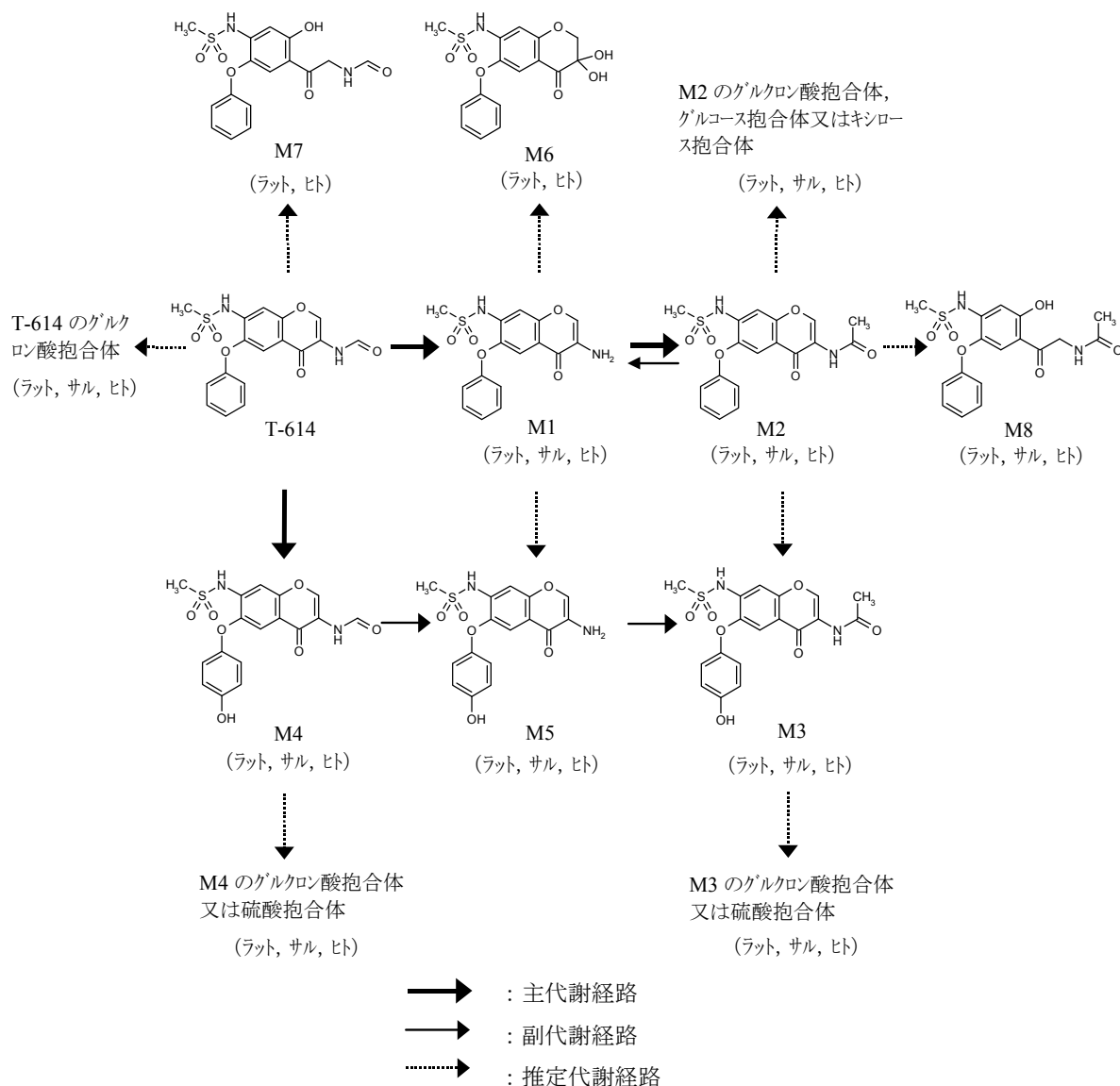


図 2.4.3-2 イグラチモド(T-614)の代謝経路

表 2.4.3-2 ラット、サル及びヒトにおけるイグラチモド単回経口投与後の未変化体
並びに代謝物の AUC 及び尿・糞中排泄率の比較

動物種	投与量		未変化体	M1	M2	M3	M4	M5
ラット	10 mg/kg	AUC (µg·hr/mL)	151	2.38	60.7	0.227	1.60	N.C.
		尿中排泄率 (%) ^a	0.5	0.0	0.1	1.2	7.7	0.0
		糞中排泄率 (%) ^b	2.1	0.0	2.8	2.2	2.9	0.0
サル	10 mg/kg	AUC (µg·hr/mL)	124	5.73	38.3	N.C.	N.C.	N.C.
		尿中排泄率 (%) ^c	0.7	0.1	1.0	5.8	5.1	0.0
		糞中排泄率 (%) ^c	0.9	0.3	3.4	3.0	1.0	0.1
ヒト	50 mg	AUC (µg·hr/mL)	19.8	5.89	42.3	N.C.	1.73	N.C.
		尿中排泄率 (%) ^a	0.1	0.2	0.1	2.1	11.1	N.C.

^a:投与後 0～24 時間, ^b:投与後 0～48 時間, ^c:投与後 0～120 時間

N.C.:定量限界未満のため算出せず

ラット、サル及びヒトの血漿中には主に未変化体と M2 が存在し、次いで M1 が存在した。M4 及び M3 はラット、サル及びヒトにおいて血漿中にはわずかに検出され、尿中には比較的多く認められた (表 2.4.3-2)。イグラチモド、M1 及び M2 から M4、M5 及び M3 への水酸化反応は主に肝ミクロソームにより生じると考えられ、¹⁴C-イグラチモド、¹⁴C-T-614M1 及び ¹⁴C-T-614M2 を NADPH 生成系のヒト肝ミクロソーム中でインキュベートしたが、それぞれの水酸化体である M4、M5 及び M3 はほとんど認められなかった。他に、M2 から M1 の生成が NADPH の生成系及び非生成系いずれにおいてもみられ、M1 と M2 は平衡状態にあるものと考えられた (2.7.2.2.1.5.1 ヒト肝ミクロソームを用いたイグラチモドの代謝参照)。このように、イグラチモド、M1 及び M2 から M4、M5 及び M3 への代謝は *in vivo* で認められ、肝ミクロソームではあまり進まなかったが、ヒト CYP 発現系ミクロソームにおけるイグラチモドの代謝 (2.7.2.2.1.4 ヒト CYP 発現系ミクロソームによる代謝参照) において少量の M1、M4 及び M5 の生成が確認された。ラット腎臓内の M4 存在比は肝臓内に比べて比較的大きく、イグラチモド及び M2 は腎臓内ではそれぞれ M4 及び M3 に代謝されてそのまま尿中に排泄され、肝臓内では代謝された M4 及び M3 が更にグルクロン酸抱合又は硫酸抱合を受けて胆汁中に排泄されるものと考えられた (2.6.4.5.2.2 組織内代謝物参照)。イグラチモドの代謝物として M6 がラット及びヒトの尿に少量認められ、ラットの胆汁及び糞においても存在が確認されたが、その代謝経路は明らかとなっていない。また、イグラチモドの開環体である M7 がラット及びヒトの尿に、M2 の開環体である M8 がラット、サル及びヒトの尿にそれぞれ少量認められ、M7 (=) はアルカリ下でイグラチモドから化学的に生成することが確認されている (2.3.S.3.2 不純物参照)。他に、M1 をヒト肝ミクロソーム中でインキュベートした時、NADPH の生成系及び非生成系いずれにおいても微量の未知代謝物がみられたが、ラット、イヌ及びサルにおいても同様の未知代謝物が確認され、この未知代謝物はヒト特異的な代謝物ではなかった (2.7.2.2.1.5.1 ヒト肝ミクロソームを用いたイグラチモドの代謝参照)。以上、イグラチモドは体内で多くは M1～M5 に代謝され、更に各種抱合体に代謝され、このようなイグラチモドの代謝はラット及びサルにおいてほぼ共通しており、ヒトの血漿及び尿中代謝物もラット及びサルの代謝物組成に類似していることから、ラット、サル及びヒトにおけるイグラチモドの代謝には種差がほとんどないものと考えられた。

イグラチモドをラットに 7 日間反復経口投与し、肝 CYP 誘導作用について検討した結果、イグラチモドの 30 mg/kg 以上で総 P-450 含量に、100 mg/kg で CYP2C6 及び 2E1 の活性に有意な増加がみられたが、10 mg/kg では総 P-450 含量及び CYP 活性に有意な増加はみられなかった (2.6.4.5.4 酵素誘導参照)。また、イグラチモド、M1、M2、M3、M4 及び M5 の CYP 活性に対する阻害作用を、ヒト肝ミクロソームを用いて分子種別 (CYP1A2、2B6、2C9、2C19、2D6、2E1 及び 3A4) に検討した結果、イグラチモド及び各代謝物は 10 µmol/L (約 4 µg/mL) まで各代謝活性に対して阻害作用を示さなかった (2.7.2.2.1.3 ヒト肝ミクロソーム活性に対する作用参照)。臨床推奨用量である 25 mg を高齢者及び非高齢者に 1 日 2 回 14 日間反復経口投与した時のイグラチモド及び各代謝物の最高血漿中濃度は、イグラチモドでは 1.72 (高齢者)

及び 1.60(非高齢者) $\mu\text{g/mL}$, M2 では 3.43(高齢者)及び 2.97(非高齢者) $\mu\text{g/mL}$, M1 ではともに 1 $\mu\text{g/mL}$ 以下, M3, M4, M5 ではともに 0.1 $\mu\text{g/mL}$ 以下であり(2.7.2.2.3 高齢者試験参照), イグランチモドの臨床使用において CYP 阻害作用に基づく薬物相互作用発現の可能性は低いと考えられた。また, ヒト CYP 発現系ミクロソーム(CYP1A2, 2B6, 2C9, 2C19, 2D6, 2E1 及び 3A4)を用いてイグランチモドの代謝を検討した結果, すべての分子種で M1 の生成が認められ, CYP1A2, 2B6, 2C9, 2C19, 2D6 及び 3A4 を介して M4 に, CYP2B6, 2C19, 2D6 及び 3A4 を介して M5 に代謝された(2.7.2.2.1.4 ヒト CYP 発現系ミクロソームによる代謝参照)。イグランチモドの代謝には複数の CYP 分子種が関与し, イグランチモド代謝における薬物相互作用発現の可能性及び CYP の遺伝子多型による薬物動態への影響は少ないと考えられた。

^{14}C -イグランチモドをラットに経口投与した時, 胆汁中には投与放射エネルギーの約 65%が排泄され, イグランチモドの主排泄経路は胆汁であった(2.6.4.6.2 胆汁中排泄参照)。 ^{14}C -イグランチモドをラット及びサルに経口投与した時の尿中にはそれぞれ投与放射エネルギーの約 24 及び 30%が排泄され(2.6.4.6.1 尿及び糞中排泄参照), ヒトの尿中に M4 及び M3 並びにそれらの抱合体として 18.6%の排泄がみられ(添付資料 5.3.3.3.2 参照), またラット, サル及びヒトにイグランチモドを経口投与した時の曝露量が類似していたこと(表 2.4.3-1 参照)から, イグランチモドはラット, サル及びヒトにおいて同様の生体内動態を示すものと考えられた。また, ラットの腸肝循環(2.6.4.6.3 参照)の検討において投与した胆汁中放射エネルギーの約 56%が再吸収されたこと, ラットの胆汁には抱合代謝物が多いこと(2.6.4.5.2.4 胆汁中代謝物参照)から, 胆汁中に排泄されたイグランチモドの抱合代謝物の多くは腸内細菌により脱抱合されて腸肝循環するものと考えられた。哺育中ラットに ^{14}C -イグランチモドを経口投与した時の乳汁中放射能濃度は血液中濃度と類似した推移を示したこと(2.6.4.6.4 乳汁中排泄参照)より, 乳汁を介した乳児への薬物移行が示唆された。

2.4.3.3.1 ラット反復投与試験における代謝物濃度及びヒト代謝物濃度との比較

^{14}C -イグランチモドのラット 21 日間反復経口投与試験では, 単回投与と 21 日間反復経口投与時で血漿中放射能濃度に差異は認められなかった。また, 21 日間反復経口投与後の血液中放射能濃度は 168 時間以降半減期 12.7 日で緩徐に消失した。緩徐な消失相は主に消失の遅い代謝物によるもので, 21 回投与では定常状態に達していると仮定すると, 最終投与後 t 時間における血液中放射能濃度(C)は次式で与えられる。

$$C = B \times \{ \exp(-\beta \times t) / [1 - \exp(-\beta \times \tau)] \}$$

ここで, B は初濃度, 消失速度定数 β は 0.00227 ($\beta = 0.693/12.7/24$), 投与間隔 τ は 24 時間である。21 回投与後 168 時間における血液中放射能濃度は 0.93 $\mu\text{g eq.}/\text{mL}$ であることから(2.6.4.3.2.4 反復投与参照), 上記式に当てはめ, B は 0.072 となる。

したがって, 単回投与時の血液中濃度推移は,

$$C = 0.072 \times \exp(-0.00227 \times t) \text{ (ng eq.}/\text{mL)}$$

となり, 単回投与では検出限界以下となる。以上のことから, 21 回投与後に血液中放射能濃度推移で認められた消失の遅い相は反復投与による体内動態の変化ではなく, 反復投与による累積と判断した。

^{14}C -イグランチモドをラット及びサルに単回投与後の血漿中には, イグランチモドが主に存在し, 次いで M2 が存在し, 他に M1, M3, M4, M5 などが少量存在していた(2.6.4.5.2.1 血漿中代謝物参照)。また, 単回投与後の血漿中には, イグランチモドが主に存在し, 次いで M2 が存在し, 他に M1, M3 及び M4 がわずかに認められた(2.6.4.3.2.1.1 ラット及び 2.6.4.3.2.1.2 サル 参照)。このような血漿中代謝物の組成及び濃度から, 安全性試験の TK 測定では代謝物として M2 を, また M2 の前駆体である M1 濃度を確認した。

ラットの6ヵ月間反復投与試験及びサル52週間反復投与試験のTK(AUC)は、表2.4.3-3及び表2.4.3-4のとおりである。ラット及びサルともにAUCには反復投与の影響が認められず、反復投与によるイグマチモドの代謝に変化が起きていないと考えられた。

表 2.4.3-3 イグマチモドのラット6ヵ月間反復経口投与毒性試験におけるAUC(μg・hr/mL)

投与量(mg/kg/日)		1		3		10		30		100	
雌雄		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
イグマチモド	初回	9.0	13.5	43.2	43.4	145.7	169.5	435.5	416.3	758.6	819.1
	3ヵ月	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.	222.1	231.3	N.T.	N.T.	552.2	449.4
	6ヵ月	20.1	21.1	53.3	58.8	143.1	207.2	326.4	418.3	431.4	647.0
M1	初回	未算出	0.1	0.3	0.5	0.9	1.2	6.0	10.0	12.6	20.2
	3ヵ月	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.	1.4	3.5	N.T.	N.T.	10.6	30.6
	6ヵ月	未算出	未算出	0.3	0.5	1.1	3.5	5.8	13.8	9.0	33.9
M2	初回	1.3	2.5	9.5	11.4	43.4	56.1	201.5	236.3	433.7	648.0
	3ヵ月	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.	59.7	78.9	N.T.	N.T.	333.7	653.0
	6ヵ月	4.2	4.9	10.1	15.6	36.8	70.2	147.1	360.2	263.8	868.6

N.T.:検査未実施

2.6.7.7B, 添付資料4.2.3.2.2 (S105)より抜粋・改変

表 2.4.3-4 イグマチモドのサル52週間反復経口投与毒性試験におけるAUC(μg・hr/mL)

投与量(mg/kg/日)		2		10		50	
雌雄		雄	雌	雄	雌	雄	雌
イグマチモド	初回	24.5	31.1	141.6	102.9	354.3	328.6
	6ヵ月	43.2	40.4	137.5	123.2	280.4	196.9
	12ヵ月	39.7	37.5	129.3	99.7	257.7	196.8
M1	初回	1.1	1.3	7.9	5.8	29.4	28.4
	6ヵ月	3.8	1.9	5.4	19.2	54.2	41.2
	12ヵ月	3.4	2.3	13.6	13.9	35.2	32.2
M2	初回	4.5	5.1	48.6	32.6	260.8	254.1
	6ヵ月	13.5	14.7	77.8	216.1	946.5	555.4
	12ヵ月	13.4	12.8	100.8	147.7	563.0	432.7

2.6.7.7D, 添付資料4.2.3.2.4 (S107)より抜粋・改変

ヒトについては高齢者試験で得られた非高齢者群の薬物動態パラメータを表2.4.3-5に記載した(2.7.2.2.3 高齢者試験参照)。単回(1日目)投与では血漿中にはイグマチモドが最も多く、次いでM2及びM1の順であり、M3、M4及びM5は定量限界(0.0300 μg/mL)未満が多くみられた。M1及びM2の t_{max} はそれぞれ約14時間及び18時間であり、反復投与とともに濃度が上昇する傾向がみられた。最終(14日目)投与では血漿中にはM2が最も多く、次いでイグマチモド及びM1の順にみられた。M3、M4及びM5は検出されたものの濃度が低く、平均血漿中濃度として0.1 μg/mLを超える時点はみられず、単回投与時の代謝物生成と同程度と考えられた。

以上のように、ラット、サル及びヒトにおいて単回投与時の血漿中には主にイグマチモド及びM2が存在し、種差がみられなかった。また、反復投与時においても主にイグマチモド及びM2が存在し、反復投与によりイグマチモドの主要な代謝に変化がないものと考えられた。

表 2.4.3-5 イグラチモの高齢者試験 (25 mg 1 日 2 回反復投与) における
非高齢者群の薬物動態パラメータ

パラメータ		C_{min} (μg/mL)	C_{max} (μg/mL)	t_{max} (hr)	$AUC^{1)}$ (μg·hr/mL)	$t_{1/2}$ (hr)
イグラチモ [*]	1 日目		1.17	3.9	11.3	17.7
	14 日目	0.590	1.60	3.3	12.2	73.3
M1	1 日目		0.0786	14.3	4.06	24.9
	14 日目	0.489	0.537	3.3	5.58	43.5
M2	1 日目		0.461	18.0	30.7	32.8
	14 日目	2.81	2.97	3.3	33.0	52.8

2.7.2.2.3, 添付資料5.3.3.3.1 (E23)より抜粋・改変

1)1 日目 (25 mg 1 日 1 回投与) については $AUC_{(0 \rightarrow \infty)}$, 14 日目については $AUC_{(0 \rightarrow 12)}$

2.4.3.3.2 ヒトにおける腸肝循環の可能性

ラットに ^{14}C -イグラチモを経口投与した時、投与放射エネルギーの約 65%が胆汁中に排泄された (2.6.4.6.2 胆汁中排泄参照)。更に、ラットに ^{14}C -イグラチモを経口投与した後に排泄された胆汁を、他のラットの十二指腸内に投与した場合、十二指腸内投与されたラットの胆汁及び尿中に投与放射エネルギーの 47.29 及び 8.36%が排泄され、約 56%が再吸収された (2.6.4.6.3 腸肝循環参照)。また、ラットに ^{14}C -イグラチモを投与した後、胆汁中には主にイグラチモ及び代謝物のグルクロン酸抱合体並びに代謝物の硫酸抱合体が存在し (2.6.4.5.2.4 胆汁中代謝物参照)、血漿中には主にイグラチモ及び M2 が存在した (2.6.4.5.2.1 血漿中代謝物参照)。これらのことから、胆汁中に排泄されたイグラチモ及び代謝物 (主に M2) の各種抱合体が腸管内の腸内細菌により脱抱合された後に再吸収される腸肝循環が考えられた。

ヒトにイグラチモを経口投与した後のイグラチモ及び代謝物の累積尿中排泄率は約 11~14%と低く、イグラチモは胆汁排泄型薬剤であると考えられた (2.7.2.2.2.1 単回経口投与試験参照)。また血漿中にはラットと同様に主にイグラチモ及び M2 が存在した。ヒトにおける胆汁中代謝物組成は不明であるが、ラットと同様に各種抱合体が存在すると考えられ、ラットでみられた腸肝循環がヒトにおいても起きる可能性が考えられた。

2.4.3.4 薬物動態学的薬物相互作用

ラットにイグラチモ (経口投与) とシメチジン (腹腔内投与) を併用投与した時のイグラチモの血漿中濃度はイグラチモの単独投与時に比べて高く推移し、シメチジンによる代謝酵素活性の障害がみられた (2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用参照)。また、フェノバルビタールを 3 日間反復腹腔内投与したラットにイグラチモを経口投与した時のイグラチモの血漿中濃度はイグラチモの単独投与時に比べて低く推移し、フェノバルビタールによる代謝酵素活性の誘導がみられた (2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用参照)。このように、イグラチモの臨床使用において、シメチジン及びフェノバルビタールのように薬物代謝酵素の障害や誘導を引き起こす薬物との併用は、薬物動態学的相互作用の発現が示唆され、注意が必要と考えられた。

2.4.3.4.1 代謝物組成及び薬物相互作用について

ラットを用いた薬物動態学的薬物相互作用試験において、シメチジン又はフェノバルビタール併用時に血漿中イグラチモ濃度 (AUC) がそれぞれ約 2 倍又は 1/2 に変動し、M1 及び M2 もそれぞれわずかに増加傾向又は減少傾向を示した。本試験におけるシメチジン及びフェノバルビタールの投与量は各々が薬物代謝酵素の障害作用又は誘導作用を有意に発現し得る投与量を設定した。シメチジンは 150 mg/kg の腹腔内投与であり、概略の AUC は $71 \mu\text{g} \cdot \text{hr/mL} (= 2854 \text{ mg} \cdot \text{min/L} / 100 \text{ mg}^{57}) \times 150 \text{ mg}$ と算出される。一方、ヒトにおけるシメチジンの 1 日用量は 800 mg であり、800 mg 投与の概略の AUC は $16.7 \mu\text{g} \cdot \text{hr/mL} (= 4.17 \mu\text{g} \cdot \text{hr/mL} / 200 \text{ mg}^{58}) \times 800 \text{ mg}$ と算出される。ラットのシメチジン曝露量は臨床曝露量の約

4 倍に相当する。また、フェノバルビタールは 80 mg/kg の腹腔内投与 (ip) であり、概略の AUC は $1500 \mu\text{g}\cdot\text{hr}/\text{mL}$ ($=184.2 \mu\text{g}\cdot\text{hr}/\text{mL} / 10 \text{ mg (iv)}^{59}) \times 80 \text{ mg (ip)}$) と算出される。一方、ヒトにおけるフェノバルビタールの 1 日最大用量は 200 mg であり、200 mg 投与の概略の AUC は $300 \mu\text{g}\cdot\text{hr}/\text{mL}$ ($=\text{約 } 180 \mu\text{g}\cdot\text{hr}/\text{mL} / 120 \text{ mg}^{60}) \times 200 \text{ mg}$) と算出される。ラットのフェノバルビタール曝露量は臨床曝露量の約 5 倍に相当する。以上のように、ラット試験におけるシメチジン及びフェノバルビタールの投与量は、各々、臨床用量を大幅に上回る用量であり、臨床曝露量に相当する投与量でラットにおける薬物動態学的薬物相互作用試験を実施した場合、血漿中イグラチモド、M1 及び M2 濃度に及ぼすシメチジン及びフェノバルビタールの影響は本試験よりも小さくなる可能性が考えられる。

ヒトにおけるイグラチモドの全身クリアランスに対する CYP の寄与率は、ヒト CYP 発現系マイクロソームを用いた *in vitro* 代謝試験より 5% 程度と推定された。同様に、M2 の全身クリアランスに対する CYP の寄与率も 5% 程度と推定され、M1 では CYP による代謝が確認されず、CYP の寄与はほとんどないものと推察された。更には、イグラチモドは CYP 分子種のうち主に CYP1A2 及び 3A4、他に CYP2B6、2C9、2C19 及び 2D6 で代謝され、ヒトにおいてはシメチジン (ヒトでは CYP2D6 と CYP3A4 の阻害剤) やフェノバルビタール (ヒトでは CYP3A4 の誘導剤) の併用によるイグラチモド並びに M1 及び M2 の血漿中濃度が変化する可能性は少ないものと考えられる。

2.4.3.4.2 トランスポーターの関与について

2.4.3.4.2.1 胆汁中排泄に関わるトランスポーターの関与

薬物の肝臓における消失は大きく分けて 3 つの過程 (sinusoidal 膜を介した血管側から肝実質細胞内への取り込み、肝細胞内における CYP や各種抱合酵素による代謝、及び canalicular 膜を介した肝細胞から胆汁中への排泄) より構成されている。肝実質細胞には各種トランスポーターが発現し、内因性物質及び種々の薬物の胆汁中排泄に関与していることが示唆されている。

イグラチモドは pKa ■■■ の弱酸性化合物であり (2.3.S.1.3 一般特性参照)、血漿中ではアニオンとしての存在形態を取りえることから、以下、有機アニオン性化合物の肝取り込み／胆汁排泄に関与するトランスポーターについて考察する。

ヒトの肝実質細胞にはアニオン性化合物の輸送に関与するトランスポーターとして、図 2.4.3-3 に示すようなトランスポーターが発現している⁶¹⁾。血管側に局在するトランスポーターとして、主に胆汁酸を基質とする Na^+ -taurocholate cotransporting polypeptide (NTCP)、有機アニオン性化合物を基質とする有機アニオン輸送担体 2 (OAT2) 及び有機アニオン輸送担体ポリペプチド (OATP) ファミリーが知られている。また、管腔側では、主に胆汁酸を輸送する bile salt export pump (BSEP)、各種グルクロン酸抱合体やグルタチオン抱合体を含む多くの有機アニオン系化合物を輸送する multidrug resistance associated protein 2 (MRP2)、脂溶性の高いカチオン性又は中性化合物を輸送する multidrug resistance 1 (MDR1)、各種薬物や内因性物質の硫酸抱合体を基質とする breast cancer resistance protein (BCRP) が知られている。

以下にイグラチモド及び代謝物の胆汁中排泄に関与するトランスポーターについて考察する (図 2.4.3-3)。ヒトを含む各種動物において、イグラチモド投与後の血漿中には主にイグラチモド及び M2 が存在する。先に述べたようにイグラチモドの pKa は ■■■ であることから、血漿中では解離型 (アニオン) 及び非解離型で存在する。したがって、受動拡散による肝実質細胞内への取り込みに加え、有機アニオン性化合物を輸送する OATP 及び OAT2 の基質となる可能性が考えられる。また、NSAID であるインドメタシンがラットで NTCP を阻害するとの報告があり⁶²⁾、イグラチモドが胆汁酸等の内因性物質の肝細胞内への取り込みを阻害する可能性についても否定できない。M2 についても、イグラチモドと同様にこれらトランスポーターを介した輸送が否定できない。

ラットにイグラチモドを投与した後の肝臓中にはイグラチモド及び M2 が主に存在し、胆汁中には種々の抱合体が存在することから、肝臓内で生成した各種抱合体は速やかに胆汁中に排泄されているものと

考えられる。ヒトにおいてもイグラチモド、M2、M3 及び M4 のグルクロン酸抱合体の MRP2 を介した胆汁中排泄、並びに BCRP を介した M4 の硫酸抱合体の胆汁中排泄の可能性が考えられる。また、トログリタゾンの硫酸抱合体がラットで BSEP を阻害することが報告されており⁶³⁾、M4 の硫酸抱合体による BSEP の阻害及び M4 の硫酸抱合体の胆汁中排泄についても否定できない。また、イグラチモド及び M2 等の非抱合型代謝物については、ラットで胆汁中の存在割合が低く、基質として認識されたとしても、その寄与率は低いと考えられるが、これらトランスポーターを介した胆汁中排泄の可能性は否定できない。イグラチモド及びその代謝物の胆汁中排泄に関わるトランスポーターの種類は不明であるが、本剤は胆汁排泄型であり、他の胆汁排泄型薬剤との間で薬物相互作用が起きる可能性は否定できない。

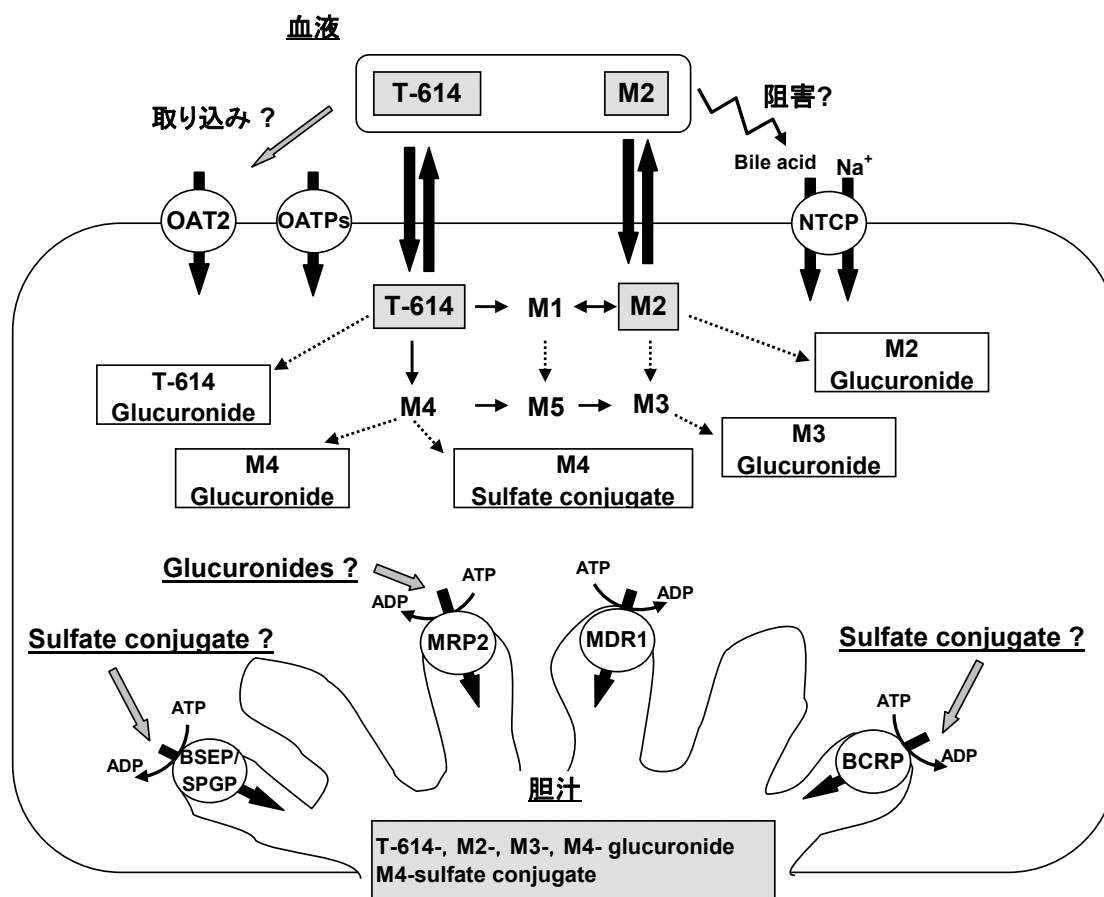


図 2.4.3-3 ヒト肝臓中におけるイグラチモド(T-614)の代謝経路及び胆汁中排泄の模式図(推定)

現在のトランスポーター研究の実情として、薬剤があるトランスポーターの基質又は阻害剤となることが判明した場合においても、その結果からヒトでの相互作用の程度について正確に見積もることは困難であると考え、先に記載した薬剤を例として考察する。

スタチン系化合物であるピタバスタチン及びロスバスタチン(OATP, MRP2, BCRP 等の基質)の添付文書には、ゲムフィブロジルと併用した場合の AUC が、それぞれ約 1.4 倍及び約 1.9 倍に増加することが記載されている。このことからイグラチモドとスタチン系化合物を併用した場合に、本薬及び併用薬の血漿中濃度が同様に増加する可能性は否定できない。また、その他トランスポーターの基質又は阻害剤となりうる他の薬剤との併用に関しても同様である。

更に、臨床試験におけるイグラチモドと胆汁排泄型薬剤との併用の有無による有害事象発現率を検討したところ、有害事象が明らかに増加するということとはなかった(2.5.5.3 非臨床薬物相互作用試験からの

情報参照)。

以上より、イグラチモドと胆汁排泄型薬剤との併用で明らかに有害事象が増加する可能性は少ないと考えられ、イグラチモドと胆汁排泄型薬剤との併用には特段の注意喚起は必要ないものと判断した。

2.4.3.4.2.2 P-糖蛋白質の関与

P-糖蛋白質は、消化管、肝臓、腎臓及び血液脳関門等の組織に存在し、薬物の吸収、分布及び排泄に関与することが知られている。イグラチモドの薬物動態に対するP-糖蛋白質の関与については以下のように考察する。

1. 吸収について

ラット及びサルにイグラチモド又は¹⁴C-イグラチモド (10 mg/kg) を単回投与した場合のバイオアベイラビリティは、それぞれ95.0及び111%であり、経口吸収性は良好であった(2.6.4.3.2.5 バイオアベイラビリティ参照)。ヒトにおける吸収性の予測に汎用されているCaco-2の透過係数は化合物の脂溶性の増加により大きくなる傾向があり、Caco-2の透過係数とヒトにおける吸収率に相関が報告されている⁶⁴⁾。イグラチモドの分配係数はpH⁷において⁷であること(2.3.S.3.1 構造及びその他の特性参照)から、Caco-2の透過係数は高いことが推測され、ラット及びサルと同様にヒトでも経口吸収性は良好であると考えられる。また、ラット、サル及びヒトにおいて、投与量とC_{max}及びAUCの間に線形性が認められている(2.6.4.3.2.1及び2.7.2.2.2.1参照)。したがって、ラット、サル及びヒトのいずれにおいても吸収性は良好であり、イグラチモドの吸収にP-糖蛋白質が関与しているとしても、吸収に対する影響は少ないものと考えられる。

2. 分布について

ラットに¹⁴C-イグラチモド(10 mg/kg)を単回経口投与した後の組織内放射能濃度は、一部の臓器を除き血漿より低い値を示し、特に脳においてはT/P値(Tissue/Plasma ratio)が0.02～0.09であり(添付資料4.2.2.2.1;S76の表5参照)、低い組織移行であった。また、安全性薬理試験ではイグラチモドの中枢神経系に対する作用は極めて弱く、ラット及びサルを用いた反復投与毒性試験では懸念されるような神経毒性の発現は認められていない(2.6.6.9.3 神経毒性参照)。一方、臨床試験では治験薬との因果関係が否定できない神経系の有害事象として、浮動性めまい、味覚障害、頭痛、NOS、不眠症、NEC、緊張性頭痛、傾眠及び体位性めまいが報告されているものの(2.5.5.2 非臨床試験の毒性学的情報参照)精神障害及び神経系障害等の中枢性の有害事象発現が多くない薬剤に分類されることが考えられる。

イグラチモドの脳内移行性が血液脳関門におけるP-糖蛋白質により制限されている可能性が考えられ、P-糖蛋白質の基質となる薬剤を併用した場合、イグラチモドの脳内移行が増加する可能性が考えられる。しかしながら、毒性試験における曝露量は、ヒトにおける曝露量と比較して十分高く、ヒトにおいてP-糖蛋白質の基質となる薬剤との併用により、イグラチモドの脳内移行が増加したとしても、イグラチモドによる中枢性の作用に対する影響は少ないものと考えられる。

3. 排泄について

ラットに¹⁴C-イグラチモドを単回経口投与した後の放射能の糞中(0～168時間)、胆汁中(0～48時間)及び尿中排泄率(0～168時間)は、それぞれ69.65、65.31及び24.12%であった(2.6.4.6.1尿及び糞中排泄及び2.6.4.6.2胆汁中排泄参照)。放射能の糞中排泄率と胆汁中排泄率が同様の数値であったことから、イグラチモド及び代謝物の主排泄経路は胆汁であることが考えられ、消化管分泌の寄与は少ないものと推測される。また、イグラチモドの胆汁中(0～48時間)及び尿中排泄率(0～24時間)は、それぞれ0.4%(胆汁中総排泄率の0.6%)及び0.5%(尿中総排泄率の2.1%)であり(2.6.4.5.2.3尿中及び2.6.4.5.2.4胆汁中代謝物参照)、イグラチモドの全身クリアランスに占める胆汁中及び尿中排泄クリアランスの割合は低いと考えられる。

サルに¹⁴C-イグラチモドを単回経口投与した後の放射能の糞中(0～168時間)及び尿中排泄率(0～168時間)は、それぞれ64.6及び29.5%であり(2.6.4.6.1尿及び糞中排泄参照)、ラットと同様に、サルに

における主排泄経路は胆汁であると考えられる。また、尿中の代謝物の組成はラットと類似しており(2.6.4.5.2.3 尿中代謝物参照)、同様の排泄を示すものと考えられる。

ヒトにイグラチモドを反復経口投与した後の最終投与後 24 時間までに、イグラチモドは表 2.4.3-6に示すように尿中にほとんど排泄されず、M3 及び M4 並びにそれらの抱合体として約 20%排泄された(2.7.2.2.3 高齢者試験参照)。ラット及びサルにおいても、尿中の M3 及び M4 の代謝物組成が他の代謝物と比較して高く、ヒトにおいてイグラチモドはラット及びサルと同様の排泄を示し、イグラチモドの全身クリアランスに占めるイグラチモドの胆汁中及び尿中排泄クリアランスの割合は低いものと考えられる。したがって、仮にイグラチモドが P-糖蛋白質の基質であり、P-糖蛋白質の基質となる薬剤の併用より胆汁中及び尿中排泄が阻害されるとしても、全身クリアランスに及ぼす影響は少ないものと考えられる。また、イグラチモド投与後の血漿中においてイグラチモドと同様に曝露量の高い M2 及び M1 についても、ラット及びサルで糞中及び尿中排泄率が低く、イグラチモドと同様に、全身クリアランスに及ぼす影響は少ないものと考えられる。

表 2.4.3-6 ヒトにイグラチモドを反復経口投与した際の最終投与後 24 時間までの累積尿中排泄率

イグラチモド及び代謝物	累積尿中排泄率 (%)	
	非高齢者	高齢者
イグラチモド	0.0±0.0	0.0±0.0
M1	0.2±0.3	0.1±0.3
M2	0.1±0.1	0.0±0.1
M3	5.0±1.5	5.1±1.8
M4	15.6±4.6	14.4±5.1
M5	0.0±0.0	0.0±0.0
計	20.9±5.6	19.6±6.7

添付資料 5.3.3.3.1 (E23)の表 11.4.1.e.2 より抜粋・改変

平均値±標準偏差 (7 例)

2.4.3.5 代謝物と薬効・毒性及びヒト安全性との関係

イグラチモドの代謝物は、現在までにM1からM8までが同定されており、その他、未変化体及び代謝物の各種抱合体の存在が推定されている。イグラチモドの代謝経路はラット、サル及びヒトで類似しており、これまでにヒト特異的な代謝物の存在は確認されていない。イグラチモドの代謝物のうち、ラット、サル及びヒトの血漿中には主にM2が存在し、次いでM1が存在した(2.4.3.3ラット及びサルの薬物動態とヒトの比較参照)。M4及びM3はラット、サル及びヒトにおいて血漿中にはわずかに検出され、尿中には比較的多く認められたが、その他の代謝物は血漿中には検出されていない。したがって、代謝物の薬効及び毒性に関しては主な代謝物であるM1とM2について検討し、M3、M4及びM5についても一部実施した(2.6.2.2.8代謝物の薬理作用、2.6.2.4.4及び2.6.2.4.5 代謝物の安全性薬理試験及び2.6.6.8.3 代謝物の毒性試験参照)。検討した代謝物の薬理試験、安全性薬理試験及び毒性試験における*in vitro*での作用濃度の成績と高齢者試験における14日間反復経口投与時の血漿中濃度(C_{max} , C_{min}) (2.7.2.2.3 高齢者試験参照)との関係を表 2.4.3-7に、ヒト及び反復投与毒性試験でのイグラチモド、M1及びM2の曝露の比較を示した。

2.4.3.5.1 代謝物とヒトでの血漿中濃度との関係

代謝物に関連した非臨床試験成績とヒトでの血漿中濃度との関連について考察するため、ヒトの血漿中濃度(C_{max} , C_{min})と非臨床試験における *in vitro* での作用濃度を表 2.4.3-7にまとめた。薬理試験の最小有効濃度は 30%以上の抑制がみられる濃度($\mu\text{g/mL}$)とし、安全性薬理試験及び毒性試験については影響のみられない最大濃度($\mu\text{g/mL}$)を示した。表 2.4.3-7から明らかなように、M2 の薬理作用(Ig 産生抑制及び IL-1 β 産生抑制)以外では、M1 の IL-1 β 産生抑制が有効性に関与する可能性が考えられた。M3、

M4 及び M5 については、ヒトでの血漿中濃度が低く、薬理作用及び毒性に関与することは考えにくい。また、これらより更に生成量が少ない M6, M7, M8 及び未同定の代謝物や抱合体の有効性及び安全性への寄与については、イグマチモドを投与した動物試験で評価されていると考えられた。

表 2.4.3-7 ヒトにおける血漿中濃度 (C_{\max} , C_{\min}) と薬理試験における有効濃度の比較

			濃度(μg/mL)	イグマチモド ¹⁾	M1	M2	M3	M4	M5
ヒト 14日間 25 mg×2/日	非高齢者		C _{max}	1.60	0.537	2.97	<0.1	<0.1	<0.1
			C _{min}	0.590	0.489	2.81	<0.03	<0.03	<0.03
	高齢者		C _{max}	1.72	0.637	3.43	<0.1	<0.1	<0.1
			C _{min}	0.906	0.634	3.39	<0.03	<0.03	<0.03
薬理試験	Ig産生		最小有効濃度	0.3 ◎	10	1.0 ◎	N.T.	N.T.	N.T.
	IL-1β産生		最小有効濃度	3 ○	3 ○	10 ○	30	30	30
	TNFα産生		最小有効濃度	3 ○	>30	>30	N.T.	N.T.	N.T.
安全性薬理	摘出心筋 活動電位		無影響濃度	10	3	10	N.T.	N.T.	N.T.
	細胞 障害	HepG2 細胞	無影響濃度	100	100	100	100	100	100
		ヒ凍結 肝細胞	無影響濃度	約10 (30 μM)	約3 (10 μM)	約10 (30 μM)	N.T.	N.T.	N.T.
毒性試験	染色体異常		無影響濃度	600	600	600	200	200	160
	直接抗グロブリン		無影響濃度	1000	N.T.	1000	N.T.	N.T.	N.T.

ヒトで到達する血漿中濃度以下で作用が認められるものを◎で、その5倍以内で作用がみられるものを○で示した
N.T.:未実施

ヒトにおいてラットやサルに比べて高い血漿中濃度が認められたM1及びM2に基づく有害事象の発現について考察するために、臨床試験並びにラット及びサル反復経口投与毒性試験での未変化体、M1及びM2の曝露(AUC)を比較した(表 2.4.3-8)。ラット6ヵ月間(2.6.6.3.2参照)及びサル12ヵ月間反復経口投与毒性試験(2.6.6.3.5参照)の無毒性量におけるM1及びM2の曝露量はヒトでの曝露量を下回るが、サル3ヵ月間反復経口投与毒性試験(2.6.6.3.4参照)の無毒性量(5 mg/kg)におけるM1及びM2の曝露量(9.5～14.3及び91.6～183.3 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/mL}$)はいずれもヒトでの曝露量(11.16及び66.0 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/mL}$) (2.7.2.2.3高齢者試験における非高齢者のAUC₀₋₁₂を2倍, 25 mg \times 2回/日, 14日間反復最終投与時)を上回っているか、ほぼ同等であった。なお、ラット及びサル反復投与毒性試験でみられた主な毒性は消化管及び腎臓に対する影響であったが、最小毒性量でのM1及びM2の曝露(AUC)は、M1がラット6ヵ月間試験で1.1～3.5 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/mL}$, サル3ヵ月間試験で29.8～43.8 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/mL}$, サル12ヵ月間試験で13.6～13.9 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/mL}$, M2がラット6ヵ月間試験で36.8～70.2 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/mL}$, サル3ヵ月間試験で530.1～550.6 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/mL}$, サル12ヵ月間試験で100.8～147.7 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/mL}$ と、試験間で大きく異なっていた。一方、最小毒性量での未変化体のAUCは、ラット6ヵ月間試験で143.1～207.2 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/mL}$, サル3ヵ月間試験で168.1～233.5 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/mL}$, サル12ヵ月間試験で99.7～129.3 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/mL}$ と類似した値を示したことから、反復投与毒性試験でみられた毒性発現には、その一部にM1及びM2が関与している可能性は否定できないが、未変化体の関与が大きいと考えられた。

なお、臨床試験における有害事象と代謝物濃度の関係についての考察は、2.5.5.9に記載した。

表 2.4.3-8 ヒト及び反復経口投与毒性試験でのイグラチモド, M1 及び M2 の曝露の比較

	投与量 mg/kg	イグラチモド ^a	M1	M2	主な毒性変化
		AUC ₀₋₂₄ (µg·hr/mL)	AUC ₀₋₂₄ (µg·hr/mL)	AUC ₀₋₂₄ (µg·hr/mL)	
ヒト 14日間	25 mg×2回	24.4	11.16	66.0	
ラット 6ヵ月	1	20.1～21.1	NC	4.2～4.9	特記すべき所見なし
	3	53.3～58.8	0.3～0.5	10.1～15.6	特記すべき所見なし
	10	143.1～207.2	1.1～3.5	36.8～70.2	消化管障害
	30	326.4～418.3	5.8～13.8	147.1～360.2	消化管障害
	100	431.4～647.0	9.0～33.9	263.8～868.6	体重増加抑制, 摂餌量減少, 消化管障害, 腎障害, TBilの増加傾向
サル 3ヵ月	5	117.7～121.0	9.5～14.3	91.6～183.3	特記すべき所見なし
	25	168.1～233.5	29.8～43.8	530.1～550.6	消化管障害, T-Bilの増加
	125	384.1～739.4	68.4～94.4	1160.9～1823.7	体重減少, 食欲低下, 消化管障害, TBilの増加
サル 12ヵ月	2	37.5～39.7	2.3～3.4	12.8～13.4	特記すべき所見なし
	10	99.7～129.3	13.6～13.9	100.8～147.7	消化管障害, T-Bilの増加
	50	196.8～257.7	32.2～35.2	432.7～563.0	体重減少, 食欲低下, 消化管障害, TBilの増加

AUC:ヒト(高齢者試験の非高齢者)は25 mg×2回/日を14日間反復投与した際の最終投与時のAUC₀₋₁₂を2倍。

ラット6ヵ月間反復経口投与及びサル12ヵ月間反復経口投与は, それぞれの投与期間終了時のAUC₀₋₂₄。

NC:未算出

2.4.3.5.2 代謝物の蓄積性に関して

¹⁴C-イグラチモドをラットに 21 日間反復経口投与した時の血漿, 血液, 肝臓及び腎臓内放射能濃度を表 2.4.3-9に示す。反復投与により各組織内放射能濃度は増加し, 21 回投与時では 1 回投与時に比べ 1.7～2.9 倍に増加し, 血中及び組織への蓄積がみられた。また, 21 回投与時の血液, 肝臓及び腎臓内放射能濃度は血漿中放射能濃度の 1.4 倍以下であり, 血漿と同程度であった。以下に, 血中, 肝臓及び腎臓に蓄積する放射能の組成について考察した。

表 2.4.3-9 ラットに ¹⁴C-イグラチモドを 21 日間反復経口投与した時の組織内放射能濃度

組織	各回投与後24時間の放射能濃度 (µg eq. of T-614/g or mL)				C _{21st} /C _{1st}
	1回投与	7回投与	14回投与	21回投与	
血漿	0.95	1.29	1.94	1.66	1.7
血液	0.67	1.19	1.89	1.96	2.9
肝臓	1.21	1.50	2.17	2.21	1.8
腎臓	0.97	1.42	1.79	2.22	2.3

2.6.4.4.1.2, 添付資料4.2.2.3.1 (S86)より抜粋・改変

¹⁴C-イグラチモドをラットに単回経口投与した時の投与後 24 時間までの血漿, 肝臓及び腎臓中には主にイグラチモドと M2 が認められた(2.6.4.5.2 生体試料中の代謝物組成参照)。このように単回投与後 24 時間に認められた各組織中のイグラチモド及び M2 は, 反復投与を継続することにより, そのまま各組織内に蓄積する可能性が考えられた。

ヒトに関しては, 単回投与時の血漿中にはラットと同様に主にイグラチモドと M2 が認められた。反復投与時も血漿中に M2, 次いでイグラチモドが認められ, ラットと同様に反復投与によりイグラチモド及び M2

が組織に蓄積する可能性が考えられた。イグラチモド及び M2 の蓄積に起因する副作用発現の可能性を非臨床試験成績から考察した。

イグラチモドのラット3ヵ月間反復経口投与毒性試験(2.6.6.3.1 参照)及び6ヵ月間反復経口投与毒性試験(2.6.6.3.2 参照)並びにサル3ヵ月間反復経口投与毒性試験(2.6.6.3.4 参照)及び12ヵ月間反復経口投与毒性試験(2.6.6.3.5 参照)では、肝臓及び血液に関連した変化として T-Bil の増加が、サル3ヵ月間及び12ヵ月間反復経口投与毒性試験では貧血傾向がみられた。これらはビリルビンのグルクロン酸抱合に対するイグラチモド、M1 及び M2 による阻害、並びに消化管障害に関連する変化と考えられた(2.6.6.9.2.4 反復投与毒性試験でみられた赤血球系計数値の変動について及び 2.6.6.9.2.5 肝臓に対する影響参照)。また、M2 のラット1ヵ月間反復静脈内投与毒性試験(2.6.6.8.3.2 参照)においては肝毒性及び血液毒性がみられなかった。したがって、肝臓及び血液へのイグラチモド及び M2 の蓄積に関連した有害事象、副作用が発現する可能性は低いと考えられた。

腎臓に対する影響としては、イグラチモドのラット3ヵ月間反復経口投与毒性試験では 100 mg/kg 以上で腎尿路上皮の過形成が、300 mg/kg 以上で腎乳頭壊死がみられ、ラット6ヵ月間反復経口投与毒性試験では 100 mg/kg で腎盂炎がみられた。また、M2 のラット1ヵ月間反復静脈内投与毒性試験では 30 mg/kg で腎尿路上皮の過形成及び腎盂粘膜下の細胞浸潤がみられた。ヒトにおいてもイグラチモド又は M2 が腎臓に蓄積することにより腎障害が発現する可能性は否定できない。ラット反復投与時の腎臓組織中の放射能濃度は血漿中とほぼ同程度であったことから、ラットとヒトにおけるイグラチモド及び M2 の血漿中の曝露量(AUC)を比較し、腎障害のリスクを評価した。

ラット6ヵ月間反復経口投与毒性試験の腎臓に対する無毒性量(30 mg/kg)での血漿中のイグラチモド及び M2 の AUC_{0-24} はそれぞれ 326.4~418.3 $\mu\text{g}\cdot\text{hr}/\text{mL}$ 及び 147.1~360.2 $\mu\text{g}\cdot\text{hr}/\text{mL}$ であり、ヒトにおける AUC_{0-24} (イグラチモド, 24.4 $\mu\text{g}\cdot\text{hr}/\text{mL}$; M2, 66.0 $\mu\text{g}\cdot\text{hr}/\text{mL}$; 2.7.2.2.3, 高齢者試験の非高齢者での AUC_{0-12} を2倍)と比較すると、イグラチモドが 13.4~17.1 倍、M2 が 2.2~5.5 倍であった。したがって、申請した用法・用量において腎障害が高頻度が発現する可能性は低いと考えられた。

2.4.3.5.3 動物とヒトにおける代謝物の量的比較に関して

ラット、サル及びヒトにおけるイグラチモドの代謝は質的には種差がほとんどないと考えられる(2.6.4.5.1 代謝経路及び 2.6.4.9 考察及び結論参照)。代謝物の量的比較に関しては、イグラチモド投与後のラット、サル及びヒトの血漿中にはイグラチモド、M2 及び M1 が主に存在することから、ラット及びサルは 1 mg/kg 投与について、またヒトについては 50 mg 投与(体重 50 kg の場合 1 mg/kg に相当)について C_{\max} 及び AUC を比較し、表 2.4.3-10に示した。イグラチモドの C_{\max} 及び AUC はラット、サル及びヒトで大きな差異がみられなかった。一方、M1 及び M2 の C_{\max} 及び AUC はラット、サル及びヒトで大きな差異がみられ、ヒトの M2 の AUC はラット及びサルに比べそれぞれ約 19 及び 44 倍であった。このようなことから、M2 と M1 の薬物動態にはラットやサルとヒトの間で種差があると考えられる。

表 2.4.3-10 ラット、サル及びヒトにイグラチモドを単回経口投与した時の薬物動態パラメータ

測定対象	ラット ¹⁾		サル ¹⁾		ヒト ²⁾	
	C_{\max} ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	AUC ($\mu\text{g}\cdot\text{hr}/\text{mL}$)	C_{\max} ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	AUC ($\mu\text{g}\cdot\text{hr}/\text{mL}$)	C_{\max} ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	AUC ($\mu\text{g}\cdot\text{hr}/\text{mL}$)
イグラチモド	2.41	11.6	1.26	8.55	1.81	19.8
M1	0.0323	N.C. ³⁾	0.0954	0.239	0.11	5.89
M2	0.279	2.19	0.108	0.971	0.85	42.3

添付資料4.2.2.2.2 (S77)の表3, 添付資料4.2.2.2.3 (S78)の表1及び2.7.2.2.2.1 表2.7.2-6より抜粋・改変

1): 1 mg/kg単回経口投与

2): 臨床第 I 相試験 50 mg単回経口投与

3): 算出できず

ヒトに 50 mg を投与した際の M2 及び M1 の AUC は, ラットではおおよそ 10 又は 30 mg/kg/日 投与群の AUC (表 2.4.3-3), またサルでは 10 mg/kg/日 投与群の AUC (表 2.4.3-4) に相当するが, ラット及びサルにおいては 10 又は 30 mg/kg/日 投与群又はそれ以上の投与群で肝障害や血液障害に関して重篤な毒性がみられていないことから, ヒトでみられる肝障害や血液障害が M2 及び M1 に関連した変化であるとは考えにくかった。

2.4.4 毒性試験

2.4.4.1 単回投与毒性試験

単回投与毒性試験(2.6.6.2 参照)では、臨床適用経路である経口投与での概略の致死量は、ラットでは雄で 5000 mg/kg を上回る量、雌で 5000 mg/kg、イヌ及びサルでは 2000 mg/kg を上回る量であった。

2.4.4.2 反復投与毒性試験

反復経口投与毒性試験でみられた主要な毒性変化は、消化管障害及び腎障害であった。ラットでは胃、小腸及び盲腸のびらん又は潰瘍並びに腎乳頭壊死、腎尿路上皮の過形成(fornix 部、乳頭部)及び腎盂炎がみられた(2.6.6.3.1 ラット 3 ヶ月間反復経口投与毒性試験及び 2.6.6.3.2 ラット 6 ヶ月間反復経口投与毒性試験参照)。一方、サルではこのような病理組織学的変化はみられず、消化管については嘔吐、軟便、下痢及び便潜血とそれに関連した貧血が、腎臓については BUN 及び CRE の軽度増加がみられる程度であった(2.6.6.3.4 サル 3 ヶ月間反復経口投与毒性試験及び 2.6.6.3.5 サル 12 ヶ月間反復経口投与毒性試験参照)。このような消化管障害及び腎障害は非選択的 COX 阻害作用を有する NSAID^{65, 66)}や、選択的 COX-2 阻害薬^{67, 68)}でもみられる変化であり、PG 産生抑制に起因する変化と考えられている。イグラチモドは COX-2 阻害作用を有していることから、イグラチモド投与でみられた消化管障害及び腎障害は COX-2 阻害による PG 産生抑制に基づくものと考えられ、いずれも休薬により回復あるいは回復傾向を示す可逆的な変化であった。反復投与毒性試験での消化管障害に関する無毒性量はラット 6 ヶ月間試験で 3 mg/kg、サル 12 ヶ月間試験で 2 mg/kg であり、それぞれの定常状態でのイグラチモドの $AUC_{0 \rightarrow 24}$ とヒト(臨床推奨用量:1 回 25 mg の 1 日 2 回投与)での $AUC_{0 \rightarrow 24}$ ($AUC_{0 \rightarrow 24}$ $\mu\text{g} \cdot \text{hr/mL}$: 2.7.2.2.3 高齢者試験参照, 非高齢者での値, $AUC_{(0 \rightarrow 12)}$ を 2 倍して算出)を比べると、ラットで 2.2~2.4 倍、サルで 1.5~1.6 倍であった。また、臨床第Ⅲ相比較試験では約 20%の患者にイグラチモドとの因果関係が否定できない胃腸障害がみられていることから、臨床使用に際しては消化器症状の発現に注意する必要があると考えられた。

腎障害に関するラット 6 ヶ月間試験の無毒性量は 30 mg/kg であった。一方、サルでは 3 ヶ月間及び 12 ヶ月間投与試験において BUN 及び CRE の増加がみられたが、いずれも軽度な変動であり、休薬により回復したこと、また、病理組織学的検査では腎臓に異常がみられなかったことから、12 ヶ月間試験の腎障害に関する無毒性量は 50 mg/kg と考えられた。ラット 6 ヶ月間試験の 30 mg/kg、サル 12 ヶ月間試験の 50 mg/kg の定常状態でのイグラチモドの $AUC_{0 \rightarrow 24}$ とヒト(臨床推奨用量:1 回 25 mg の 1 日 2 回投与)での $AUC_{0 \rightarrow 24}$ ($AUC_{0 \rightarrow 24}$ $\mu\text{g} \cdot \text{hr/mL}$: 2.7.2.2.3 高齢者試験参照, 非高齢者での値, $AUC_{(0 \rightarrow 12)}$ を 2 倍して算出)を比べると、ラットで 13.4~17.1 倍、サルで 8.1~10.6 倍であることから、ヒトに重篤な腎障害が発現する可能性は低いと考えられた。

消化管障害及び腎障害に関連しない変化として、ラットで T-Bil の軽度の増加がみられ、サルでは T-Bil の増加とともに、高用量群では黄疸もみられた。しかし、いずれの試験においても肝酵素(AST, ALT, Al-P)の増加はみられず、病理組織学的検査でも肝臓に異常はみられなかった。また、一般的に、肝炎のような細胞壊死を伴う肝細胞障害時及び胆道障害による胆汁うっ滞時には D-Bil の増加がみられるが⁶⁹⁾、イグラチモドを投与したラット及びサルでみられた T-Bil の増加は、主として I-Bil であった。これらのことから、イグラチモドの毒性試験でみられた T-Bil の増加は肝胆道障害を反映したものではないと考えられた。そこで、ビリルビンのグルクロン酸抱合に対するイグラチモド及び代謝物(M1 及び M2)の影響についてサル肝ミクロソームを用いて検討したところ、イグラチモド、M1 及び M2 とともにサル毒性試験の C_{max} に近い濃度で約 20~70%の阻害が認められた。これらのことから、ビリルビンのグルクロン酸抱合に対するイグラチモド、M1 及び M2 の阻害が、サルでみられた T-Bil 増加(主として非抱合型である I-Bil の増加)の原因である可能性が示唆された(2.6.6.9.2.5 肝臓に対する影響参照)。

一方、ヒト肝ミクロソームを用いて同様の検討を行ったところ、臨床血中濃度に近いイグラチモド及び M2 の 3 $\mu\text{g/mL}$ 、M1 の 1 $\mu\text{g/mL}$ ではいずれも阻害はみられず、10 倍濃度の 30 及び 10 $\mu\text{g/mL}$ でも阻害

率は 5.9～28.7%であったことより、イグラチモドの臨床使用においてグルクロン酸抱合阻害による T-Bil の増加が生じる可能性は低いものと考えられた(2.6.6.9.2.5 肝臓に対する影響参照)。

2.4.4.3 遺伝毒性試験

遺伝毒性試験(2.6.6.4 参照)では、イグラチモドの細菌を用いる復帰突然変異試験、哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験、マウスリンフォーマ試験及びマウス小核試験並びに代謝物(M1, M2, M3, M4 及び M5)の細菌を用いる復帰突然変異試験(2.6.6.8.3.3 参照)、哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験(2.6.6.8.3.4 参照)及びマウス小核試験(2.6.6.8.3.5 参照)を実施した。いずれの試験結果も陰性であり、イグラチモド及び代謝物に遺伝毒性はみられなかった。

2.4.4.4 がん原性試験

F344 ラットがん原性試験(2.6.6.5.4 参照)では、イグラチモドに起因する腫瘍の発生は認められなかった。一方、B6C3F₁ マウスがん原性試験(投与量:70, 200 及び 700 mg/kg, 2.6.6.5.2 参照)では、70 mg/kg 以上に悪性リンパ腫の増加が、700 mg/kg の雄に腎細胞腺腫がみられた。悪性リンパ腫による死亡例は、イグラチモド投与群及び対照群ともに、投与 79 週以降に高率に発現しており、B6C3F₁ マウスで自然発生する悪性リンパ腫と同様の発生経過であった。また、観察された悪性リンパ腫は、病理組織学的には、対照群と同様に主として follicular center cell 型であった。更に、イグラチモド投与群の悪性リンパ腫発生例の脾臓から、無処置の高齢 B6C3F₁ マウスにもみられる内在性 ecotropic, N-tropic マウス白血病ウイルスが検出された。イグラチモド及びその代謝物(M1, M2, M3, M4 及び M5)はいずれも非遺伝毒性物質であり、また、ラットがん原性試験では、イグラチモドに起因する腫瘍の発生は認められなかったこと、更に、悪性リンパ腫以外の B6C3F₁ マウス及び F344 ラットの自然発生性好発腫瘍の増加は認められなかったことから、これらの悪性リンパ腫はマウス白血病ウイルスに起因した高齢期の B6C3F₁ マウスに好発する腫瘍と考えられ、マウス特有の現象と考えられた(2.6.6.9.5.1 マウスリンパ腫について参照)。

また、イグラチモドの免疫機能に対する作用としては B 細胞の Ig 産生抑制に対する作用は比較的強いものの、T 細胞に対する作用については、ヒト T 細胞株である Jurkat 細胞の抗 CD3 抗体とホルボーリエステル(TPA)刺激による IL-2 産生や、マウス脾臓リンパ球を用いた混合培養反応(MLR)で調べた結果では、その強さはシクロスポリン A に比べて 1/1000 以下であったこと、臨床試験の免疫学的検査として実施した各免疫グロブリン濃度(IgG, IgM 及び IgA)の測定では正常範囲以下の低下はみられず、リンパ球サブセットの存在比に影響はみられなかったことから、イグラチモドは臨床用量においては T 細胞への影響は少なく、また、液性免疫に関しても過度の抑制状態を引き起こす危険性は低く、ヒトにおいて免疫抑制に起因する腫瘍発生の可能性は低いものと考えられた。更に、後天性免疫不全症候群や臓器移植などの重篤な免疫不全におけるヒト悪性リンパ腫発症との関連が明らかとなっている Epstein-Barr virus (EBV)については、その発症には細胞傷害性 T 細胞機能や CD4+T 細胞機能の抑制が関与していると考えられているが、イグラチモドは臨床用量においては T 細胞への影響は少なく、液性免疫に関しても過度の抑制状態を引き起こす危険性は低いと考えられること、また、EBV の持続発現細胞 B95-8(マーモセット・リンパ球由来 EBV 感染細胞株)を用いてイグラチモド、M1 及び M2 をいずれも 1～100 µg/mL の濃度で処理したところ、これらはウイルス初期抗原(EA)及び潜在性膜蛋白(LMP)の発現量を増加させず、EBV の直接的な誘導作用はないと考えられたことから、臨床用量のイグラチモド投与で、EBV の再活性化による悪性リンパ腫発症の危険性は低いと考えられた(2.6.6.9.5.1 マウスリンパ腫について参照)。

700 mg/kg の雄で腎細胞腺腫がみられたが、特定の組織において慢性的に繰り返される壊死と再生は腫瘍発生の要因となることが知られており、腎臓においても組織障害と再生が腫瘍発生に関与していることが報告されている^{70,71)}。700 mg/kg の雄では、腎臓に非腫瘍性病変として慢性間質性腎炎及び腎乳頭壊死といった障害像と、それに対する二次的変化と考えられる再生尿管及び乳頭上皮の過形成の

増加並びに高度化がみられていることから、腎細胞腺腫の発生はイグラチモドの PG 産生抑制作用に関連する慢性的な腎組織の障害と再生に起因するものと考えられた。腎細胞腺腫のみられなかった 200 mg/kg の定常状態でのイグラチモドの $AUC_{0 \rightarrow 24}$ と、ヒト(臨床推奨用量:1 回 25 mg の 1 日 2 回投与)での $AUC_{0 \rightarrow 24}$ ($AUC_{24.4 \mu g \cdot hr/mL}:2.7.2.2.3$ 高齢者試験参照, 非高齢者での値, $AUC_{(0 \rightarrow 12)}$ を 2 倍して算出)を比較すると、約 13 倍の乖離があることから、ヒトにおいて腎臓に同様な腫瘍が発生する可能性はないものと考えられた(2.6.6.9.5.2 マウス腎細胞腺腫について参照)。

2.4.4.5 生殖発生毒性試験

生殖発生毒性試験でみられた主要な毒性変化は、胎児における死亡率の増加、発育抑制及び心臓・大血管異常、出生児における生存率の減少及び発育抑制、並びに母体における排卵障害、着床障害及び分娩障害であった。

イグラチモドのラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験(2.6.6.6.4 参照)では、雌親動物の生殖に及ぼす影響として 10 mg/kg 以上で黄体数及び着床数の減少がみられた。また、次世代の発生に関しては 10 mg/kg 以上で生存胎児数の減少が、30 mg/kg では早期胎児死亡率の増加、生存胎児体重の減少及び骨化遅延がみられた。ラット胚・胎児発生に関する試験(2.6.6.6.5 及び 2.6.6.6.6 追加試験参照)では、4 mg/kg 以上で早期胎児死亡率の増加及び骨化遅延がみられた。更に、母体に体重増加抑制が認められた 20 mg/kg 以上では、生存胎児体重の減少並びに内臓異常(心臓・大血管異常)及び骨格変異の増加が認められた。自然分娩母体では、100 mg/kg で妊娠期間の延長及び哺育行動不良がみられた。出生児については 4 mg/kg 以上で発育遅延が、100 mg/kg で生存出生児数及び生存率の減少がみられた。ウサギ胚・胎児発生に関する試験(2.6.6.6.7 参照)では、3 mg/kg 以上で母体の体重増加抑制又は減少、10 mg/kg で流産数の増加傾向がみられた。胎児については、10 mg/kg で早期及び後期胎児死亡率の増加、生存胎児体重の減少傾向並びに骨化遅延がみられたが、イグラチモドに起因する奇形の発生はなかった。ラット出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験(2.6.6.6.8 参照)では、2 mg/kg で妊娠期間の延長がみられた。更に、14 mg/kg 以上で分娩障害が原因と考えられる母体死亡がみられ、出生児については 100 mg/kg で生存出生児数及び生存率の減少と発育遅延がみられた。

イグラチモドの催奇形性については、その機序は明らかでないが、PG 産生抑制作用を有する薬剤では、アスピリン及びインドメタシンでマウス又はラット胎児に骨格及び内臓異常出現率の増加が^{72, 73, 74, 7576)}、また、選択的 COX-2 阻害薬の Celecoxib ではラット胎児に横隔膜ヘルニアの出現率の増加⁶⁷⁾が報告されていることから、イグラチモドについても PG 産生抑制作用が催奇形性に関与している可能性が考えられた。一方で、トランスジェニックマウスを用いた実験では器官形成期の初期から NFκB の活性化がみられると報告⁷⁷⁾されていることから、イグラチモドの有する NFκB 阻害作用(2.6.2.2.4.4 THP-1 細胞刺激時の NFκB 活性化に対する作用参照)が催奇形性に関与している可能性も否定できなかった。

また、PG は排卵、着床、分娩などの雌の繁殖機能に重要な役割を果たしていることから、イグラチモドでみられた黄体数、着床数及び生存胎児数の減少、妊娠期間の延長並びに分娩障害による母体死亡は、イグラチモドの有する PG 産生抑制作用に基づく影響と考えられた。同様な影響は非選択的 COX 阻害作用を有する NSAID^{65, 66)}や選択的 COX-2 阻害薬^{67, 68)}にもみられている。

2.4.4.6 その他の毒性試験

抗原性試験では、試験管内直接抗グロブリン試験、反復投与試験で得られた血清の抗体価測定並びにモルモットの ASA 試験及び PCA 試験を実施したが、イグラチモドに抗原性は認められなかった(2.6.6.8.1 抗原性試験参照)。また、代謝物の M2 について、試験管内直接抗グロブリン試験(2.6.6.8.3.6 参照)を実施したが、結果は陰性であった。

ラット身体依存性試験(2.6.6.8.2.1 参照)では、イグラチモドに身体依存性形成能及び中枢神経抑制

型(バルビタール型)及びオピオイド型(モルヒネ型)薬物に対する交差依存性は認められなかった。

抗炎症薬(NSAID)との併用によるラットの2週間反復経口投与毒性試験(2.6.6.8.4.1 参照)で、臨床用量のナプロキセン、ロキソプロフェン及びインドメタシンとの併用毒性を調べたところ、イグラチモドの 30 mg/kg 以上で消化管障害に起因すると考えられる変化(貧血等)の増強がみられたが、臨床推奨用量の3倍に相当するイグラチモドの 3 mg/kg の併用では毒性の増強はみられなかった。この結果から、臨床では NSAID との併用により、著しい毒性の増強が生じる可能性は低いと考えられた。MTX との併用によるラット1ヵ月間反復経口投与毒性試験(2.6.6.8.4.5 参照)において、イグラチモドの 10 mg/kg(臨床推奨用量の10倍に相当)と MTX の 7.5 mg/kg/週(臨床最大用量 16 mg/週の 23 倍に相当)の併用群では、併用による影響はみられなかった。イグラチモドの 10 mg/kg と MTX の 25 mg/kg/週の併用群、並びにイグラチモドの 30 mg/kg と MTX の 7.5 及び 25 mg/kg/週の併用群において、MTX に起因する骨髄抑制の軽度増強又は回復の遅延がみられたものの、併用による新規な毒性の発現はみられなかった。この結果から、臨床では MTX との併用により、著しい毒性の増強が生じる可能性は低いと考えられた。

ラット胎児動脈管に及ぼす影響(2.6.6.8.4.2 参照)を調べた試験では、臨床推奨用量の3倍に相当する 3 mg/kg で胎児動脈管に対する収縮作用が認められた。なお、比較対照薬のインドメタシン及びイブプロフェンは 1 mg/kg(インドメタシンはほぼ臨床用量に相当、イブプロフェンは臨床用量の約 1/12 に相当)で、アスピリンは 100 mg/kg(臨床用量の約 1~5 倍)で、胎児動脈管の収縮作用が認められた。

モルモットにおける経口投与光毒性試験(2.6.6.8.4.3.1 参照)では、イグラチモドの 3.75 mg/kg 以上で皮膚の紅斑がみられた。比較対照薬のナプロキセン及び陽性対照薬のクロルプロマジンにも皮膚の紅斑がみられ、臨床用量比で比較するとイグラチモドの光毒性はナプロキセンとほぼ同程度であり、クロルプロマジンより弱いと考えられた。モルモットにおける経口投与光アレルギー性試験(2.6.6.8.4.3.2 参照)の結果は陰性であった。また、代謝物の M2 についても静脈内投与により光毒性(2.6.6.8.3.7 参照)及び光アレルギー性(2.6.6.8.3.8 参照)を検討したところ、1.5 mg/kg 以上で皮膚の紅斑がみられ、光毒性が認められたが、光アレルギー性はみられなかった。臨床試験で光線過敏性反応が報告されていることから、臨床使用に際しては注意が必要と考えられた。

代謝物の毒性に関しては、既に記載した遺伝毒性試験(M1, M2, M3, M4 及び M5)、モルモット光毒性及び光アレルギー性試験(M2)並びに試験管内直接抗グロブリン試験(M2)以外に、M1, M2, M3, M4 及び M5 のラット単回静脈内投与毒性試験(2.6.6.8.3.1 参照)並びに M2 のラット1ヵ月間反復静脈内投与試験(2.6.6.8.3.2 参照)を実施した。単回静脈内投与による概略の致死量は M1 が雄では 250 mg/kg を上回り 300 mg/kg 以下の量、雌では 200 mg/kg を上回り 250 mg/kg 以下の量、M2 では雌雄ともに 200 mg/kg、M3, M4 及び M5 はいずれも雌雄ともに 100 mg/kg を上回る量であり、イグラチモド未変化体(概略の致死量:雌雄ともに 139 mg/kg)に比べて強い急性毒性を示す代謝物はなかった。また、M2 のラット1ヵ月間反復静脈内投与試験でみられた主な毒性は、体重増加抑制及び腎臓の組織学的変化であり、イグラチモドのラット3ヵ月間及び6ヵ月間反復経口投与試験でみられた変化と質的には変わらなかった。

2.4.4.7 ヒトで認められた肝機能検査値異常に関する考察

臨床試験でみられた AST 又は ALT の増加は、大部分がイグラチモド投与開始後 4~8 週に認められ、休薬によって速やかに回復するか、あるいは投与継続例においても投与中に正常値に回復する変化であった(2.7.4.3 臨床検査値の評価参照)。一方、ラット及びサルを用いた反復投与毒性試験では、T-Bil に関してサルで増加が、ラットで軽度の増加がみられたが、AST 及び ALT の増加はみられず、肝臓の組織にも異常はみられなかった。更に、ヒトにおける AST 又は ALT の増加が投与を継続しても回復する現象であることから、投与期間中の肝酵素の変化を経時的に調べる目的でラット及びウサギの反復投与試験を実施したが(2.6.2.4.3.4 反復経口投与による肝機能検査値の変動参照)、投与期間中に AST 及び ALT の増加はみられず、ヒトでの現象と類似の反応をみることはできなかった。

また、マウスの2種の肝障害モデル(2.6.2.2.5.2 マウス肝障害モデル及び 2.6.2.4.3.3 TNF α との併用投与参照)にてイグラチモドの影響を検討したが、肝障害の増強は観察されなかった。このように動物を用いた試験からは、イグラチモドの肝細胞障害性を示唆する結果は得られなかったため、更にイグラチモドによる肝酵素上昇の原因究明に関する *in vitro* 試験を実施した。

ヒト肝癌細胞株の HepG2 細胞を用い、培養肝細胞に対するイグラチモド及び代謝物(M1, M2, M3, M4 及び M5)の障害性(2.6.2.4.3.1 及び 2.6.2.4.5.1 参照)について検討した結果、障害性を示唆する成績は得られなかった。更に、臨床試験でみられた肝酵素上昇が、アセトアミノフェンなどで知られている肝細胞内高分子との共有結合物(アダクト)形成³⁾による可能性が否定できなかったことから、¹⁴C-イグラチモドとヒト肝ミクロソームを用いて *in vitro* 試験を行った結果、イグラチモドとミクロソーム蛋白とのアダクトの形成は認められなかった(2.7.2.2.1.5 トランスアミナーゼ上昇の機序解明参照)。また、¹⁴C-イグラチモド、¹⁴C-T-614M1 及び ¹⁴C-T-614M2 を基質としてヒト、ラット、イヌ及びサル肝ミクロソームを用いてヒト特異的な代謝物の産生の有無について検討したが、ヒト特異的な代謝物の存在も確認できなかった(2.7.2.2.1.5 トランスアミナーゼ上昇の機序解明参照)。更に、凍結ヒト肝細胞の培養試験において、イグラチモド、M1 及び M2 を2週間曝露し、肝細胞障害性を評価するとともに、肝酵素上昇の機序としてフェノフィブラートで報告されているトランスアミナーゼ遺伝子の発現上昇⁴⁾の有無について検討した。ドナー3例の肝細胞で試験した結果、イグラチモド並びに活性代謝物 M1 及び M2 に肝細胞障害性はみられなかったが(2.6.2.4.3.1 T-614; 培養肝細胞に対する障害性及び 2.6.2.4.5.1 代謝物; 培養肝細胞に対する障害性参照)、イグラチモド及び M2 の添加により3例中1例の細胞で AST の mRNA 発現が、また、イグラチモド添加により AST 活性が一過性に上昇した(2.6.2.4.3.2 イグラチモド; 凍結ヒト肝細胞の AST 及び ALT mRNA 発現に及ぼす影響及び 2.6.2.4.5.2 代謝物; 凍結ヒト肝細胞の AST 及び ALT mRNA 発現に及ぼす影響参照)。以上の結果から、イグラチモド及び主要な代謝物は直接的な肝細胞障害性を示さず、イグラチモド及び M2 が AST 遺伝子の発現誘導作用を示す可能性が示唆された。しかし、臨床試験でみられた一過性の肝酵素上昇については、その発現機序を十分に解明できなかったことから、臨床使用にあたっては定期的に肝機能検査を行い異常の発現には十分注意する必要があると考えられた。

2.4.5 総括及び結論

2.4.5.1 非臨床試験にみられる特徴

2.4.5.1.1 免疫グロブリン産生の抑制

マウス及びヒトの B 細胞を用いた培養実験において、イグラチモドはリンパ球増殖に影響を与えることなく IgG 及び IgM 産生を抑制した。イグラチモドによるヒト B 細胞での Ig 産生の抑制は臨床用量での最高血漿中濃度以下で認められ、B 細胞に対する直接的な作用と考えられた。また、RA 患者滑膜組織を移植し、その病巣を SCID マウスに再現したモデルである SCID-huRAg マウスの血中にはヒトの IgG が検出されるが、イグラチモドはこの IgG を低下させた。更に、ラットのアジュバント関節炎及び MRL/lpr マウスの自然発症型関節炎モデルでは、高ガンマグロブリン血症が認められ、イグラチモドはこれらの高ガンマグロブリン血症を改善した。

2.4.5.1.2 炎症性サイトカイン産生の抑制

単球系細胞や RA 患者由来の滑膜細胞を用いた培養実験において、イグラチモドは臨床用量での血漿中濃度付近で、細胞刺激時にみられる炎症性サイトカイン (TNF α , IL-1 β , IL-6, IL-8 及び MCP-1) の産生を抑制した。イグラチモドによる IL-6 及び IL-8 産生の抑制は mRNA の低下を伴っており、遺伝子の発現抑制を介していると考えられ、その機序に転写因子 NF κ B の活性化阻害の関与が示唆された。イグラチモドのサイトカイン産生に対する抑制作用はマウスの *in vivo* 試験においても認められ、イグラチモドは ConA 誘発肝障害モデルで TNF α を、空気嚢型炎症モデルで MCP-1 を、コラーゲン関節炎モデルで IL-6 を用量に応じて抑制した。

2.4.5.1.3 関節炎モデル及び細胞性免疫関与の炎症モデルに対する有効性

慢性関節炎モデルであるラットのアジュバント関節炎において、イグラチモドは治療投与で関節腫脹を軽減し、骨病変の進展を抑制した。また、マウスのコラーゲン関節炎モデル及び NSAID が無効であるといわれている自己免疫疾患モデル MRL/lpr マウスにおいて、イグラチモドは用量に応じて関節炎腫脹の進展を抑制し、免疫組織重量の変化や急性期相蛋白である血清アミロイド P の上昇を改善した。更に、MRL/lpr の後肢の組織学的観察では滑膜や骨・軟骨病変に改善が認められた。ラットの EAE モデルにおいて、イグラチモドは麻痺症状の発現を抑制し、イグラチモドの抑制効果はこのモデルにおける発症の時期での投与でも認められた。また、イグラチモドはマウスの遅延型足蹠浮腫反応を抑制した。

2.4.5.1.4 薬物動態学的特徴

イグラチモドはラット及びサルにおいて経口投与後、良好に吸収され、バイオアベイラビリティはともに約 100% であった。また、ラット及びサルにおいて、1~10 mg/kg の用量範囲でイグラチモドの血漿中濃度推移に用量相関がみられ、代謝プロファイル及び排泄パターンは類似しており、薬物動態における種差はヒトを含め小さいと考えられた。更に、ヒト CYP 発現系マイクロソームによる代謝ではイグラチモドから M4 への代謝 (フェノキシ基の水酸化反応) に複数の CYP 分子種が関与しており、併用薬剤との相互作用発現の可能性及び CYP の遺伝子多型による薬物動態への影響は少ないと推定された。

2.4.5.2 ヒトでの安全使用について

添付文書 (案) に記載した内容について非臨床成績をもとに考察を行った。

2.4.5.2.1 消化性潰瘍のある患者及び既往歴のある患者への投与

イグラチモドの反復経口投与毒性試験では、ラット 6 ヶ月試験 (2.6.6.3.2 参照) で消化管のびらんが 10 mg/kg 以上でみられ、サル 12 ヶ月試験 (2.6.6.3.5 参照) でも消化管からの出血に起因すると考えられる貧

血が同じく 10 mg/kg 以上でみられた。消化管のびらん又は消化管出血に起因すると考えられる貧血に対する安全域をイグラチモドの AUC を基に算出すると、ラットで 2.2～2.4 倍(ラット 6 ヶ月試験の 3 mg/kg の AUC_{0-24} は 53.3～58.8 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/mL}$ 、ヒト臨床推奨用量(1 回 25 mg の 1 日 2 回投与)での AUC_{0-24} は 24.4 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/mL}$)、サルで 1.5～1.6 倍(サル 12 ヶ月試験の 2 mg/kg の AUC_{0-24} は 37.5～39.7 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/mL}$)であった。

一方、臨床試験では、胃腸障害として消化性潰瘍がみられており、既往歴のない症例に比べて、既往歴のある患者での発現率が高かったことから(2.5.5.5.3 胃腸障害について参照)、消化性潰瘍のある患者は禁忌、消化性潰瘍の既往歴のある患者は慎重投与が必要であり、重大な副作用として消化性潰瘍が発現することがあるので、添付文書に記載して注意喚起することとした。

2.4.5.2.2 妊婦又は妊娠している可能性のある婦人への投与

生殖発生毒性試験(ラット胚・胎児発生に関する試験)において、イグラチモドの 20 mg/kg 以上で胎児に催奇形性(心臓・大血管異常)が、4 mg/kg 以上で早期胎児死亡率の増加が認められた(無毒性量は 2 mg/kg)。また、妊娠末期のラット胎児動脈管に及ぼす影響を調べた試験で、3 mg/kg 以上で胎児の動脈管収縮が認められたことから、妊婦又は妊娠している可能性のある婦人には禁忌と考えた。

2.4.5.2.3 肝障害患者への投与

種々の毒性試験及びヒト肝細胞を含む *in vitro* 試験からは、イグラチモドに肝胆道系に対する障害性は認められず、イグラチモド及び M2 が AST 遺伝子の発現誘導作用を示す可能性が示唆された。しかしながら、臨床試験でみられた AST 又は ALT の増加は一過性で投与を中止又は継続しても回復するものの、その発現機序の詳細は不明であり、発現頻度も高いことから、重篤な肝障害のある患者への投与は肝障害を増悪させるおそれがあり、禁忌と考えた。また、肝障害又はその既往歴のある患者についても肝障害を悪化又は再発させるおそれがあり、慎重投与と考えた。

2.4.5.2.4 授乳婦への投与

薬物動態試験においてイグラチモドを投与した哺育中ラットで本薬の乳汁移行が確認されていることから、投与する際は授乳を避けさせる必要があり、慎重投与と考えた。

2.4.5.2.5 薬物相互作用

ラットにおける NSAID との併用投与毒性試験(2.6.6.8.4.1 参照)において、臨床用量のナプロキセン(10 mg/kg)、ロキソプロフェン(4 mg/kg)及びインドメタシン(2 mg/kg)とイグラチモドの 30 mg/kg 以上の併用で、消化管に対する影響に起因すると考えられる血液学的検査、血液化学的検査値等の変動の増強がみられた。しかしながら、イグラチモドの 3 mg/kg では NSAID の併用により毒性の増強がみられなかったこと、また、イグラチモドの 100 mg/kg と併用しても消化管に潰瘍形成はみられなかったことから、臨床では NSAID との併用によりこれらの障害が著しく増強される可能性は低いと考えられた。

一方、臨床第 III 相長期投与試験において NSAID との併用期間の延長に伴う胃腸障害リスクの明らかな増加はなかったが、NSAID 併用あり群は NSAID 併用なし群に比べて胃腸障害発現率が高値を示した。症例数が少なく NSAID との併用が原因であるかどうかは不明であるものの、NSAID との併用には注意が必要と考えられた。

また、ラットを用いたワルファリンとの薬力学的薬物相互作用試験で、イグラチモドは 10 mg/kg 以上でワルファリンの抗血液凝固作用を増強したことから、ワルファリン併用の際には注意が必要と考えた。ラットを用いた薬物動態学的相互作用試験では、シメチジン及びフェノバルビタールとの併用により、本薬の血漿中濃度推移が影響を受けたことから、特にシメチジンのように薬物代謝酵素を阻害し、薬物濃度を上昇

させる薬物との併用には注意が必要と考えた。

ラットを用いた MTX との併用投与毒性試験において、イグラチモドの 10 mg/kg (臨床推奨用量 50 mg/日の 10 倍に相当) と MTX の 7.5 mg/kg/週 (臨床最大用量 16 mg/週の 23 倍に相当) の併用群では、併用による影響はみられなかった。イグラチモドの 10 mg/kg と MTX の 25 mg/kg/週の併用群、並びにイグラチモドの 30 mg/kg と MTX の 7.5 及び 25 mg/kg/週の併用群において、MTX に起因する骨髄抑制の軽度増強又は回復の遅延がみられたものの、併用による新規な毒性の発現はみられなかった。この結果から、臨床では MTX との併用により著しい毒性の増強が生じる可能性は低いと考えられた。更に、MTX 併用臨床試験 (24 週) においても、MTX との併用により有害事象が著しく増加することはなかった (2.5.5.5 参照)。

2.4.5.2.6 その他の注意事項

モルモット光毒性試験において、3.75 mg/kg 以上で光毒性が認められたことから、臨床使用に際しては注意が必要と考えた (臨床試験で光線過敏性反応が報告されている)。

この他、ヒトでの発がん性を示唆するものではないと考えられるが、マウスがん原性試験において、70 mg/kg 以上の投与で悪性リンパ腫の増加が、更に 700 mg/kg の雄で腎細胞腺腫が認められたことから、「その他の注意」に記載した。更に、ラットの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験において、10 mg/kg 以上で黄体数、着床数及び生存胎児数の減少が認められたことから、「その他の注意」に記載した。

2.4.6 参考文献一覧

- 1) 堀内淑彦, 本間光夫, 景山孝正, 守屋 寛, 水島 裕, 柏崎禎夫, ほか. 鎮痛消炎剤の臨床評価方法に関するガイドライン(改訂). 医薬品研究 1985; 16: 544-53.
- 2) 七川欽次, 菅原幸子, 東 威, 有富 寛, 五十嵐三都男, 市川陽一, ほか. 委員会が基準としている慢性関節リウマチに対する抗炎症・鎮痛剤の臨床実施基準方法. リウマチ1983; 23: 254-67.
- 3) Hinson JA. Reactive metabolites of phenacetin and acetaminophen: a review. Environ Health Perspect 1983; 49: 71-9.
- 4) Edgar AD, Tomkiewicz C, Costet P, Legendre C, Aggerbeck M, Bouguet J, et al. Fenofibrate modifies transaminase gene expression via a peroxisome proliferator activated receptor alpha-dependent pathway. Toxicol Lett 1998; 98: 13-23.
- 5) Carlson RP, Gilman SC, Hodge TG, O'Neill-Davis L, Blazek EM, Lewis AJ. Effects of oral aspirin and oxaprozin on the development of lupus-like disease in MRL/l mice. J Immunopharmacol 1984; 6: 69-78.
- 6) Horizoe T, Nagakura N, Chiba K, Shiota H, Shinoda M, Numata H, et al Effects of ER-34122, a novel dual 5-lipoxygenase/cyclooxygenase inhibitor, on indices of early articular lesion in MRL/MpJ-lpr/lpr mice. Inflamm Res 1999; 48: 432-6.
- 7) Ovadia H, Paterson PY. Effect of indomethacin treatment upon actively-induced and transferred experimental allergic encephalomyelitis (EAE) in Lewis rats. Clin Exp Immunol 1982; 49: 386-92.
- 8) Mannie MD, Pope L, Paterson PY. Indomethacin augments in vitro proliferative responses of Lewis rat lymphocytes to myelin basic protein. Implications for experimental autoimmune encephalomyelitis. Cell Immunol 1989; 121: 196-212.
- 9) Rosenthal GJ, Weigand GW, Germolec DR, Blank JA, Luster MI. Suppression of B cell function by methotrexate and trimetrexate. Evidence for inhibition of purine biosynthesis as a major mechanism of action. J Immunol 1988; 141: 410-6.
- 10) O'Meara AM, Brazil J, Reen DJ. The effect of methotrexate on in vitro immunoglobulin production. J Immunopharmacol 1985; 7: 235-45.
- 11) Cowan KH, Goldsmith ME, Levine RM, Aitken SC, Douglass E, Clendeninn N, et al.: Dihydrofolate reductase gene amplification and possible rearrangement in estrogen-responsive methotrexate-resistant human breast cancer cells. J Biol Chem 1982; 257: 15079-86.
- 12) Johnson WJ, DiMartino MJ, Meunier PC, Muirhead KA, Hanna N. Methotrexate inhibits macrophage activation as well as vascular and cellular inflammatory events in rat adjuvant induced arthritis. J Rheumatol 1988; 15: 745-9.
- 13) Hu SK, Mitcho YL, Oronsky AL, Kerwar SS. Studies on the effect of methotrexate on macrophage function. J Rheumatol 1988; 15: 206-9.
- 14) Seitz M, Loetscher P, Dewald B, Towbin H, Baggiolini M. In vitro modulation of cytokine, cytokine inhibitor, and prostaglandin E release from blood mononuclear cells and synovial fibroblasts by antirheumatic drugs. J Rheumatol 1997; 24(8):1471-6.
- 15) Bondeson J. The mechanisms of action of disease-modifying antirheumatic drugs: a review with emphasis on macrophage signal transduction and the induction of proinflammatory cytokines. Gen Pharmacol 1997; 29: 127-50.
- 16) Hirohata S, Nakanishi K, Yanagida T, Kawai M, Kikuchi H, Isshi K. Synergistic inhibition of human B cell activation by gold sodium thiomalate and auranofin. Clin Immunol 1999; 91: 226-33.
- 17) Inoue T, Takeshita K, Fukushima K. Effects of KE-758; an active metabolite of the new anti-rheumatic drug KE-298, D-penicillamine, bucillamine and auranofin on the proliferation of murine lymphocytes, and the production of nitric oxide by murine macrophages. Int Immunopharmacol 2001; 1: 833-42.
- 18) [redacted]. [redacted]. 富山化学工業株式会社 総合研究所 調査報告書([redacted])20[redacted]
- 19) [redacted]. [redacted]. エーザイ株式会社筑波研究所 研究報告書([redacted])20[redacted]
- 20) Cherwinski HM, Cohn RG, Cheung P, Webster DJ, Xu YZ, Caulfield JP, et al. The immunosuppressant leflunomide inhibits lymphocyte proliferation by inhibiting pyrimidine biosynthesis. J Pharmacol Exp Ther. 1995; 275: 1043-9.
- 21) アベンティスファーマ(株). アラバ錠添付文書. 2004年5月改訂(第3版)
- 22) Sloboda AE, Birnbaum JE, Oronsky AL, Kerwar SS. Studies on type II collagen-induced polyarthritis in rats. Effect of antiinflammatory and antirheumatic agents. Arthritis Rheum 1981; 24: 616-24.
- 23) 山崎 寿子, 宮井 恵里子, 柴田 博, 山本 格. Salazosulfapyridine (SASP) の薬理学的研究, 抗リウ

- マチ作用に関する研究. 応用薬理 1991; 41: 563-74.
- 24) 小友 進, 中池 司郎, 辻 郁子, 森 千鶴子, 大関 正弘. D-penicillamineの研究(第3報)免疫調節作用の検討. 日薬理誌 1981; 77: 313-20.
 - 25) Phadke K, Fouts RL, Parrish JE, Butler LD. Evaluation of the effects of various anti-arthritic drugs on type II collagen-induced mouse arthritis model. Immunopharmacology 1985; 10: 51-60.
 - 26) Edwards JC, Cambridge G. Sustained improvement in rheumatoid arthritis following a protocol designed to deplete B lymphocytes. Rheumatology (Oxford) 2001; 40: 205-11.
 - 27) De Vita S, Zaja F, Sacco S, De Candia A, Fanin R, Ferraccioli G. Efficacy of selective B cell blockade in the treatment of rheumatoid arthritis: evidence for a pathogenetic role of B cells. Arthritis Rheum 2002; 46: 2029-33.
 - 28) Matsumoto I, Staub A, Benoist C, Mathis D. Arthritis provoked by linked T and B cell recognition of a glycolytic enzyme. Science 1999; 286: 1732-5.
 - 29) Schaller M, Burton DR, Ditzel HJ. Autoantibodies to GPI in rheumatoid arthritis: linkage between an animal model and human disease. Nat Immunol 2001; 2: 746-53.
 - 30) Benoist C, Mathis D. A revival of the B cell paradigm for rheumatoid arthritis pathogenesis? Arthritis Res 2000; 2: 90-4.
 - 31) Maini R, St Clair EW, Breedveld F, Furst D, Kalden J, Weisman M, et al. Infliximab (chimeric anti-tumour necrosis factor alpha monoclonal antibody) versus placebo in rheumatoid arthritis patients receiving concomitant methotrexate: a randomised phase III trial. ATTRACT Study Group. Lancet 1999; 354: 1932-9.
 - 32) Choi HK, Seeger JD, Kuntz KM. A cost-effectiveness analysis of treatment options for patients with methotrexate-resistant rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 2000; 43: 2316-27.
 - 33) 石井 泰子, 佐伯 行彦. 慢性関節リウマチにおけるモノクローナル抗体療法. 日本臨床 2002; 60: 551-5.
 - 34) Yoshizaki K, Nishimoto N, Mihara M, Kishimoto T. Therapy of rheumatoid arthritis by blocking IL-6 signal transduction with a humanized anti-IL-6 receptor antibody. Springer Semin Immunopathol 1998; 20: 247-59.
 - 35) Kim HJ, Berek C. B cells in rheumatoid arthritis. Arthritis Res 2000; 2: 126-31.
 - 36) Cambridge G, Leandro MJ, Edwards JC, Ehrenstein MR, Salden M, Bodman-Smith M, et al. Serologic changes following B lymphocyte depletion therapy for rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 2003; 48: 2146-54.
 - 37) 渡辺 伸昌, 藤田 尚志. NF- κ Bシステム. 蛋白質・核酸・酵素 1996; 41: 1198-209.
 - 38) Tak PP, Firestein GS. NF- κ B: a key role in inflammatory diseases. J Clin Invest 2001; 107: 7-11.
 - 39) Jeon KI, Jeong JY, Jue DM. Thiol-reactive metal compounds inhibit NF- κ B activation by blocking I κ B kinase. J Immunol 2000; 164: 5981-9.
 - 40) Wahl C, Liptay S, Adler G, Schmid RM. Sulfasalazine: a potent and specific inhibitor of nuclear factor κ B. J Clin Invest 1998; 101: 1163-74.
 - 41) Aikawa Y, Yamamoto M, Yamamoto T, Morimoto K, Tanaka K. An anti-rheumatic agent T-614 inhibits NF- κ B activation in LPS- and TNF- α -stimulated THP-1 cells without interfering with I κ B α degradation. Inflamm Res 2002; 51: 188-94.
 - 42) Kuriyama K, Higuchi C, Tanaka K, Yoshikawa H, Itoh K. A novel anti-rheumatic drug, T-614, stimulates osteoblastic differentiation in vitro and bone morphogenetic protein-2-induced bone formation in vivo. Biochem Biophys Res Com 2002; 299: 903-9.
 - 43) Firestein GS, Anthony M, Manning AM. Signal transduction and transcription factors in rheumatic disease. Arthritis Rheum. 1999; 42: 609-21.
 - 44) Urushibara M, Takayanagi H, Koga T, Kim S, Isobe M, Morishita Y, et al. The antirheumatic drug leflunomide inhibits osteoclastogenesis by interfering with receptor activator of NF- κ B ligand-stimulated induction of nuclear factor of activated T cells c1. Arthritis Rheum. 2004; 50: 794-804.
 - 45) Majumdar S, Aggarwal BB. Methotrexate suppresses NF- κ B activation through inhibition of I κ B α phosphorylation and degradation. J Immunol. 2001; 167: 2911-20.
 - 46) Egan LJ, Mays DC, Huntoon CJ, Bell MP, Pike MG, Sandborn WJ, et al. Inhibition of interleukin-1-stimulated NF- κ B RelA/p65 phosphorylation by mesalamine is accompanied by decreased transcriptional activity. J Biol Chem. 1999; 274: 26448-53.
 - 47) 松田 達志, 小安 重夫. サイクロスポリンとFK506の第2の標的. 蛋白質・核酸・酵素. 2000; 45: 1823-31.

- 48) Griswold DE, Adams JL. Constitutive cyclooxygenase (COX-1) and inducible cyclooxygenase (COX-2): Rationale for selective inhibition and progress to date. *Med Res Rev* 1996; 16: 181–206.
- 49) 日本製薬工業協会安全性委員会臨床評価部会 非ステロイド剤検討グループ. 非ステロイド性抗炎症剤の初期臨床用量の設定について. *薬理と治療*, 1981; 9: 3493-9.
- 50) アラバ錠10 mg, 20 mg, 100 mgに関する資料. アベンティスファーマ(株). 図ホ-3, 表ホ-7
- 51) Hayashi M, Matsunaga K, Okahara A, Mita S. Effect of bucillamine (SA96) on type II collagen induced arthritis in rats. *J Rheumatol*. 1991; 18: 691-5.
- 52) 広井 純, 小原 要, 藤津 隆, 平井 収, 佐藤 幸夫, 越智 武洋, ほか. オーラノフィンの抗炎症作用. *日薬理誌* 1985; 86: 441-55.
- 53) Morihara M, Aoyagi N, Kaniwa N, Kojima S, Ogata H. Assessment of gastric acidity of Japanese subjects over the last 15 years. *Biol Pharm Bull* 2001;24:313-5.
- 54) Diana FJ, Veronich K, Kapoor AL. Binding of nonsteroidal anti-inflammatory agents and their effect on binding of racemic warfarin and its enantiomers to human serum albumin. *J Pharm Sci* 1989; 78: 195–9.
- 55) Montero MT, Pouplana R, Valls O, Garcia S. On the binding of cinmetacin and indomethacin to human serum albumin. *J Pharm Pharmacol* 1986; 38: 925–7.
- 56) 鎌滝 哲也. チトクロームP450の分子毒性学的研究:動物種間相同性を中心に. *薬学雑誌* 1995;115:370–7.
- 57) Adedoyin A, Aarons L, Houston JB. Dose-dependent pharmacokinetics of cimetidine in the rat. *Xenobiotica* 1987; 17: 595-604.
- 58) 野口 英世, 多田 慶太郎, 牛嶋 晶子, 古座谷 醇, 大木 俊光, 沢田 たき子, ほか. ヒトおよびイヌにおけるCimetidineのBioavailabilityに関する研究. *基礎と臨床* 1980; 14: 2841-9.
- 59) Arimori K, Nakano M. Accelerated clearance of intravenously administered theophylline and phenobarbital by oral doses of activated charcoal in rats. A possibility of the intestinal dialysis. *J Pharmacobiodyn* 1986; 9: 437-41.
- 60) 三共(株). フェノバル末, フェノバル散10%, フェノバル錠30 mg, フェノバルエリキシル添付文書. 2003年3月改訂(第8版)
- 61) Mizuno N., Niwa T., Yotsumoto Y., Sugiyama Y. Impact of drug transporter studies on drug discovery and development. *Pharmacol Rev* 2003; 55(3): 425-61.
- 62) Kouzuki H., Suzuki H., Stieger B., Meier PJ., Sugiyama Y. Characterization of the transport properties of organic anion polypeptide 1 (oatp1) and Na+/taurocholate cotransporting polypeptide (Ntcp): comparative studies on the inhibitory effect of their possible substrates in hepatocytes and cDNA- transfected COS-7 cells. *J Pharmacol Exp Ther* 2000; 292: 505-11.
- 63) Funk C., Ponelle C., Scheuermann G., Pantze M., Cholestic potential of troglitazone as a possible factor contributing to troglitazone- induced hepatotoxicity: in vivo and in vitro interaction at the canalicular bile salt export pump (Bsep) in he rat. *Mol Pharmacol* 2001; 59: 627-35.
- 64) Yazdani M, Glynn SL, Wright JL, Hawi A. Correlating partitioning and Caco-2 cell permeability of structurally diverse small molecular weight compounds. *Pharm Res* 1998; 15: 1490-4.
- 65) 増沢 國泰, 阿部 泰夫. 8 解熱／鎮痛／鎮痙剤. 毒性試験講座15 医薬品. 福田 英臣, 秋元 健, 坂口 孝 編集. 地人書館;東京:1990. p. 99–124.
- 66) 中根 貞雄, 山田 久陽. 9 抗炎症／抗リウマチ／抗痛風剤. 毒性試験講座15 医薬品. 福田 英臣, 秋元 健, 坂口 孝 編集. 地人書館;東京:1990. p. 125–37.
- 67) U.S. Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research. Celebrex (celecoxib). NDA No.: 20-998, Pharmacology and Toxicology Review p.9–88.
- 68) U.S. Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research. Vioxx (rofecoxib). NDA No.: 21-042, Review and Evaluation of Pharmacology and Toxicology Data p.65–174.
- 69) 松田 春甫, 神坂 和明. 42. 黄疸. 肝臓病学(Basic Science). 戸田 剛太郎, 織田 正也, 清澤 研道, 坪内 博仁, 中沼 安二 編集. 医学書院;東京:1998. p. 737–44.
- 70) 菅野 純, 林 裕造, 青木繁伸. 4 化学物質の発がん性評価. 毒性試験講座13 発がん性. 伊東 信行, 高橋 道人 編集. 地人書館;東京:1991. p. 179–210.
- 71) Hard GC. Mechanisms of chemically induced renal carcinogenesis in the laboratory rodent. *Toxicol Pathol* 1998; 26: 104–12.
- 72) 谷川 広行, 大堀 良一, 田中 兵太郎, 吉田 順一, 小佐妻 恒夫. 4-Ethoxy-2-methyl-5-morpholino-3(2H)-pyridazinone (M73101) のラットにおける生殖試験(第2報) 器官形成期投与試験. *J Toxicol Sci* 1979;4:175–200.
- 73) Kimmel CA, Wilson JG, Schumacher HJ. Studies on metabolism and identification of the causative

- agent in aspirin teratogenesis in rats. *Teratology* 1971; 4:15–24.
- 74) DePass LR, Weaver EV. Comparison of teratogenic effects of aspirin and hydroxyurea in the Fischer 344 and Wistar strains. *J Toxicol Environ Health* 1982; 10:297–305.
- 75) Klein KL, Scott WJ, Wilson JG. Aspirin-induced teratogenesis: a unique pattern of cell death and subsequent polydactyly in the rat. *J Exp Zool* 1981; 216: 107–12.
- 76) 草薙隆夫, 伊原敏夫, 水谷正寛. 抗炎症剤, 6-Chloro-5-cyclohexyl-1-indancarboxylic acid (TAI-284) のCF#1マウス胎児の発生・分化に及ぼす影響について. *先天異常* 1977; 17: 177-85.
- 77) Schmidt-Ullrich R, Memet S, Lilienbaum A, Feuillard J, Raphaël M, Israël A. NF-κB activity in transgenic mice: developmental regulation and tissue specificity. *Development* 1996; 122: 2117–28.