



サノフィ株式会社

プラケニル錠 200 mg

CTD 第二部 – 非臨床概要

2.6.1 緒言

---

---

Total number of pages: 4

## 目 次

1	緒言.....	3
---	---------	---

## 1 緒言

本剤は米国において Winthrop-Stearns 社（現 Sanofi 社）が承認申請し、1955 年 4 月に承認され、現在、欧州諸国をはじめ 70 カ国以上で承認されている。

適応症の詳細は各国で異なるが、主なものはマラリア、全身性エリテマトーデス（systemic lupus erythematosus : SLE）、円板状エリテマトーデス（discoid lupus erythematosus : DLE）、光線過敏症、関節リウマチ（rheumatoid arthritis : RA）及び若年性慢性関節炎である。

【日本名】 ヒドロキシクロロキン硫酸塩

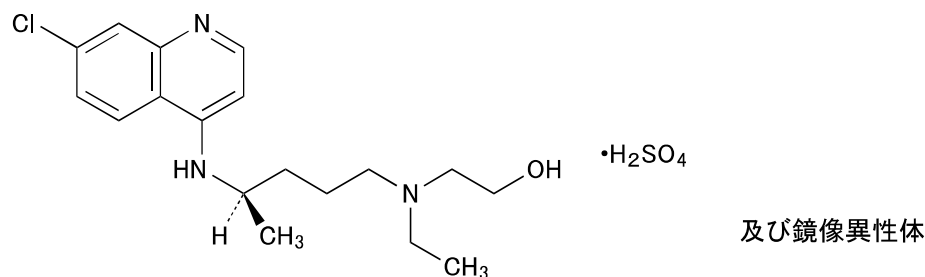
【英名】 Hydroxychloroquine Sulfate

【化学名】

英名：2-[(4*RS*)-4-[(7-Chloroquinolin-4-yl)amino]pentyl](ethyl)amino]ethanol monosulfate

日本名：2-[(4*RS*)-4-[(7-クロロキノリン-4-イル)アミノ]ペンチル](エチル)アミノ]エタノール一硫酸塩

【構造式】



【分子式及び分子量】

$C_{18}H_{26}ClN_3O \cdot H_2SO_4$  433.95

【CAS 登録番号】 747-36-4

本申請において予定している「効能又は効果」及び「用法及び用量」を以下に示す。

### 効能又は効果

皮膚エリテマトーデス、全身性エリテマトーデス

### 用法及び用量

通常、ヒドロキシクロロキン硫酸塩として 200～400 mg を 1 日 1 回食後に経口投与する。

## 2.6.1 緒言

### Z0188 - ヒドロキシクロロキン硫酸塩

ただし、1日の投与量はブローカ式桂変法により求められる理想体重に基づき下記の用量を経口投与する。

#### 1. 理想体重が 46kg 未満の場合

ヒドロキシクロロキン硫酸塩として、1日1回1錠（200mg）を経口投与する。

#### 2. 理想体重が 46kg 以上 62kg 未満の場合

ヒドロキシクロロキン硫酸塩として、1日1回1錠（200mg）と1日1回2錠（400mg）を1日おきに経口投与する。

#### 3. 理想体重が 62kg 未満の場合

ヒドロキシクロロキン硫酸塩として、1日1回2錠（400mg）を経口投与する。

[ブローカ式桂変法による理想体重の算出方法]

男性患者の理想体重 (kg) = (身長 (cm) - 100) × 0.9

女性患者の理想体重 (kg) = (身長 (cm) - 100) × 0.85



サノフィ株式会社

プラケニル錠 200mg

CTD 第二部 – 非臨床概要

2.6.2 薬理試験の概要文

---

---

Total number of pages: 48

## 目 次

略号と用語の定義 .....	7
1 まとめ .....	8
2 効力を裏付ける試験 .....	15
2.1 In vitro .....	15
2.1.1 リソソームへの蓄積 .....	15
2.1.1.1 リソソームの pH の変化 (クロロキン) .....	15
2.1.1.2 リソソームへの蓄積メカニズム (クロロキン) .....	16
2.1.1.3 培養ウシ網膜色素上皮細胞リソソームへの作用比較 (ヒドロキシクロロキン、クロロキン) .....	16
2.1.2 抗原提示への影響 .....	17
2.1.2.1 マウスマクロファージにおける抗原提示への影響 (クロロキン) .....	18
2.1.3 サイトカインへの影響 .....	19
2.1.3.1 ヒト末梢血単核細胞 (PBMC) での作用 (ヒドロキシクロロキン、クロロキン) .....	19
2.1.3.2 SLE 及び RA 患者の PBMC での Th17 関連サイトカインに及ぼす作用 (ヒドロキシクロロ キン) .....	20
2.1.4 サイトカイン受容体への影響 .....	21
2.1.4.1 ヒト U-937 細胞における TNF 受容体発現、細胞外放出への影響 (クロロキン) .....	21
2.1.5 トール様受容体 (TLR) への影響 .....	22
2.1.5.1 ヒト形質細胞様樹状細胞への TLR7 及び TLR9 刺激に対する影響 (ヒドロキシクロロキン) .....	22
2.1.6 アポトーシス誘導 .....	23
2.1.6.1 ヒト皮膚線維芽細胞のオートファジー阻害によるアポトーシス誘導 (ヒドロキシクロロキ ン) .....	23
2.1.7 アラキドン酸放出阻害 .....	23

## 2.6.2 薬理試験の概要文

### Z0188 - ヒドロキシクロロキン硫酸塩

2.1.7.1	ヒト単核細胞におけるアラキドン酸放出への影響（ヒドロキシクロロキン、クロロキン）	23
2.1.8	その他	24
2.2	In vivo	24
2.2.1	ループスエリテマトーデスに対する作用	24
2.2.1.1	MRL/lpr マウスにおける作用（ヒドロキシクロロキン）	24
2.2.1.2	NZBW F1 マウスにおける血管内皮保護作用（ヒドロキシクロロキン）	25
2.2.1.3	NZBW F1 マウスにおける血管内皮機能改善及び腎保護作用（ヒドロキシクロロキン）	25
2.2.1.4	NZBW F1 マウスにおけるマイクロ RNA に対する作用（ヒドロキシクロロキン）	27
2.2.1.5	イヌのエリテマトーデスに対する作用（ヒドロキシクロロキン）	28
2.2.2	抗血栓作用	29
2.2.2.1	マウス血栓形成誘導モデルでの抗血栓作用（ヒドロキシクロロキン）	29
<b>3</b>	<b>副次的薬理試験</b>	<b>31</b>
3.1	抗マラリア作用	31
3.1.1	抗マラリア作用機序	31
3.1.2	光学異性体の抗マラリア原虫作用（ヒドロキシクロロキン）	31
3.1.3	代謝物デスエチルクロロキンの抗マラリア原虫作用	32
3.2	抗腫瘍作用	32
3.2.1	ヒト乳がん細胞 MCF-7、MDA-MB-231 の増殖抑制（ヒドロキシクロロキン、クロロキン）	32
3.3	血糖低下作用	33
3.3.1	糖尿病ラットにおける血清中グルコース及びインスリンへの影響（ヒドロキシクロロキン）	33
3.3.2	正常及び糖尿病ラットの肝臓細胞質フラクシオンにおけるインスリン分解阻害作用（ヒドロキシクロロキン）	34
<b>4</b>	<b>安全性薬理試験</b>	<b>36</b>
4.1	心血管系	36
4.1.1	<i>In vitro</i> : アフリカツメガエル卵母細胞 hERG チャネルへの影響（クロロキン）	36

## 2.6.2 薬理試験の概要文

### Z0188 - ヒドロキシクロロキン硫酸塩

4.1.2	<i>In vitro</i> : HEK293 細胞 hERG チャネルへの影響 (クロロキン) .....	36
4.1.3	<i>In vitro</i> : ネコのプルキンエ線維、心室筋細胞の活動電位への影響 (クロロキン) .....	37
4.1.4	<i>In vitro</i> : ラット心筋細胞 $I_{to}$ への影響 (クロロキン) .....	37
4.1.5	<i>In vivo</i> : 麻酔イヌ心血管系への作用 (ヒドロキシクロロキン、クロロキン) .....	38
4.2	呼吸系 .....	40
4.2.1	ウサギ呼吸数への影響 (クロロキン) .....	40
4.3	中枢神経系 .....	40
4.3.1	ラットの行動への影響 (クロロキン) .....	40
4.3.2	ラット及びマウス葛藤モデルでの葛藤抑制作用 (クロロキン) .....	41
4.3.3	マウス痙攣モデルでの作用 (クロロキン) .....	42
5	薬力学的薬物相互作用試験 .....	43
6	考察及び結論 .....	44
7	図表 .....	45
	参考文献 .....	46



## 表 目 次

表 1 - 試験一覧 .....	13
表 2 - ヒドロキシクロロキン及びクロロキンの濃度単位換算式 .....	14
表 3 - ヒドロキシクロロキン、クロロキンの pKa1、pKa2、LogP、LogD .....	15
表 4 - マウスマクロファージに対するクロロキンの作用 .....	19
表 5 - ヒト単核細胞でのヒドロキシクロロキン、クロロキン曝露後細胞内蓄積 .....	24
表 6 - ヒト単核細胞でのヒドロキシクロロキン、クロロキンによるアラキドン酸放出抑制 .....	24
表 7 - SLE 好発 NZB/W F1 雌マウスにおける血管内皮保護作用 .....	25
表 8 - 抗血栓作用 .....	30
表 9 - <i>P. falciparum</i> に対するヒドロキシクロロキン光学異性体の薬効比較 .....	31
表 10 - ヒドロキシクロロキン及びクロロキンのヒト乳がん細胞増殖抑制 .....	33
表 11 - 正常及び糖尿病ラットの肝臓細胞質フラクシオンにおけるヒドロキシクロロキンのインスリン分解 阻害作用 .....	35
表 12 - ラット行動へのクロロキンの影響 .....	41
表 13 - マウス痙攣モデルでの作用 .....	42

## 図 目 次

図 1 - ヒドロキシクロロキン及びクロロキンの構造 .....	8
図 2 - クロロキン曝露後のマクロファージリソソーム内 pH 変化 .....	16
図 3 - 培養ウシ網膜色素上皮細胞リソソームへの作用比較 .....	17
図 4 - 抗原提示細胞における抗原処理と提示 .....	18

## 2.6.2 薬理試験の概要文

### Z0188 - ヒドロキシクロロキン硫酸塩

図 5 - ヒト末梢血単核細胞免疫刺激後サイトカイン放出に対するヒドロキシクロロキンの作用.....	20
図 6 - SLE 患者の PBMC での Th17 関連サイトカインに及ぼすヒドロキシクロロキンの作用.....	21
図 7 - RA 患者の PBMC での Th17 関連サイトカインに及ぼすヒドロキシクロロキンの作用.....	21
図 8 - SLE 患者 pDC への TLR 刺激後の IFN- $\alpha$ と TNF- $\alpha$ 産生に対するヒドロキシクロロキンの影響 .....	22
図 9 - ヒドロキシクロロキンによる培養ヒト皮膚線維芽細胞のアポトーシス誘導.....	23
図 10 - SLE 好発 NZB/W F1 雌マウスにおける血圧及び血管内皮機能への影響 .....	26
図 11 - SLE 好発 NZB/W F1 雌マウスにおける腎保護作用.....	26
図 12 - miR-let-7a の発現 (尿中) .....	27
図 13 - miR-21 (メサングウム細胞、T 細胞、pDC、PBMC、尿中) 及び MiR-146a (pDC 細胞) の発現.....	28
図 14 - イヌの DLE に対するヒドロキシクロロキンの治療効果.....	29
図 15 - 代謝物デスエチルクロロキンの <i>P. falciparum</i> 増殖抑制作用 .....	32
図 16 - 糖尿病ラットにおける血清中グルコース及びインスリンへの影響 .....	34
図 17 - アフリカツメガエル卵母細胞 hERG チャンネルへの影響.....	36
図 18 - HEK293 細胞に発現させた hERG チャンネルへのクロロキンの阻害作用 .....	37
図 19 - ネコのプルキンエ線維、心室筋細胞の活動電位へのクロロキンの影響.....	37
図 20 - ラット心筋細胞の $I_{to}$ 振幅、電荷へのクロロキンの影響.....	38
図 21 - 麻酔イヌにおける血圧、心拍出量へのヒドロキシクロロキンの影響.....	39
図 22 - 麻酔イヌにおけるヒドロキシクロロキン及びクロロキンの PQ 及び QRS への影響.....	39
図 23 - 麻酔ウサギにおける呼吸数へのクロロキンの影響.....	40
図 24 - ラット葛藤モデル試験におけるクロロキンの抗葛藤作用.....	41

## 略号と用語の定義

---

APD	活動電位持続時間 (Action potential duration)
CQ	クロロキン (Chloroquine)
DLE	円板状エリテマトーデス (Discoid lupus erythematoses)
ds-DNA	二本鎖 DNA (Double strand DNA)
hERG	ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子 (Human ether-a-go-go related gene)
HCQ	ヒドロキシクロロキン (Hydroxychloroquine)
IC <sub>50</sub>	50%阻害濃度 (50% Inhibitory concentration)
LPS	リポ多糖 (Lipopolysaccharide)
MHC	主要組織適合遺伝子複合体 (Major histocompatibility complex)
ODN	オリゴデオキシヌクレオチド (Oligodeoxynucleotides)
PBMC	末梢血単核細胞 (Peripheral blood mononuclear cells)
PMA	ホルボールミリスタートアセタート (Phorbol myristate acetate)
pDC	形質細胞様樹状細胞 (Plasmacytoid dendritic cells)
PHA	フィトヘマグルチニン (Phytohemagglutinin)
RPE	網膜色素上皮細胞 (Retinal pigment epithelium)
SLE	全身性エリテマトーデス (Systemic lupus erythematosus)
TLR	トール様受容体 (Toll like receptor)

---

## 1 まとめ

本剤は 1955 年に米国でも承認され、現在、日本を除くアジア諸国をはじめ全世界 70 カ国以上で承認されている。適応症の詳細は各国で異なるが、主なものはマラリア、全身性エリテマトーデス (SLE)、円板状エリテマトーデス (DLE)、光線過敏症、関節リウマチ及び若年性慢性関節炎であり、本申請では「皮膚エリテマトーデス、全身性エリテマトーデス」を効能又は効果としている。

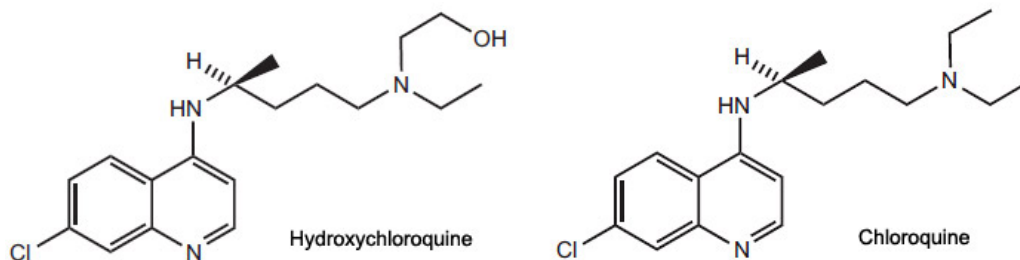
ヒドロキシクロロキンの非臨床試験成績は、単回投与毒性、反復投与毒性、生殖発生毒性の説明で用いた社内実施試験結果を除き、毒性、薬理、薬物動態について公表された論文の情報を用いて評価した。ヒドロキシクロロキンのヒトへの投与は本邦（個人輸入による）も含めて既に行われており、ヒトに関する情報が豊富に得られていることを踏まえると、新たに非臨床試験を追加実施する必要はないと考えた。また、薬理試験、非臨床薬物動態については資料概要をすべて公表論文を用いて作成したことから、CTD2.6.3 薬理試験概要表及び CTD2.6.5 非臨床薬物動態概要表は作成しなかった。毒性試験については社内試験を実施しているため CTD2.6.7 毒性試験概要表を作成したが、公表論文の情報に関しては表中に記載しなかった。

なお、本申請にあたりヒドロキシクロロキンの論文だけでは不足している情報に関しては、それを補完する目的でクロロキンの情報も利用して説明している。クロロキンの情報を利用する妥当性を以下に説明する。

### 薬理

- ヒドロキシクロロキンとクロロキンはいずれも同じく 4-アミノキノリン類に分類され、類似の構造を有し（図 1）、親脂質性の二酸塩基の弱塩基であり、pKa、LogP、LogD 値も類似している（2.1.1 「リソソームへの蓄積」の項参照）。

図 1 - ヒドロキシクロロキン及びクロロキンの構造



## 2.6.2 薬理試験の概要文

### Z0188 - ヒドロキシクロロキン硫酸塩

- いずれも類似の薬理作用（抗炎症作用、免疫調節作用、抗マalaria作用等）が認められ、リソソーム内へ蓄積することが薬理作用が生じる主たるメカニズムと考えられている。また、海外ではクロロキンもヒドロキシクロロキンと同様に SLE を含む自己免疫疾患の治療薬として使用されている。

#### 薬物動態 ([Module 2.6.4.9]参照)

- いずれも吸収が速く、絶対バイオアベイラビリティは良好である。
- いずれも組織移行性が高く、イオントラッピングによりリソソーム内に貯留するため、リソソームの豊富な組織（肝臓、肺、腎臓、脾臓、白血球及びマクロファージなど）に高濃度に分布する。
- いずれもメラニンに対する親和性がある。
- いずれもタンパク結合率は同程度である。
- ヒドロキシクロロキンは、デスエチルヒドロキシクロロキン又はデスエチルクロロキンに代謝される。一方クロロキンはデスエチルクロロキンに代謝される。これらに続く代謝経路はいずれも同様である。
- いずれも CYP2D6 の弱い阻害作用がみられる。
- いずれも尿中及び糞中排泄率は同程度である。

#### 毒性

- 海外ではヒドロキシクロロキン及びクロロキンの豊富な臨床使用経験があり、ヒトでの毒性プロファイルが質的に類似していることが既知である（眼毒性、心筋及び骨格筋毒性、皮膚色素沈着、QTc 延長など）。

試験で用いられている薬剤には遊離塩基と塩が混在しているため、原則、ヒドロキシクロロキン、クロロキン共に濃度、用量は遊離塩基として記載（塩を用いている場合は遊離塩基に換算）したが、塩の濃度、用量として記載したものはその旨、注記した。また、文献中に遊離塩基、塩の区別の記載がないものについては遊離塩基量として記載した。以下、ヒドロキシクロロキン及びクロロキンの薬理作用についてのまとめを記載する。

## 2.6.2 薬理試験の概要文

### Z0188 - ヒドロキシクロロキン硫酸塩

効力を裏付ける試験 - *in vitro*

#### リソソームへの蓄積

ヒドロキシクロロキン及びクロロキンはリソソームに蓄積するが、そのメカニズムはリソソームの酸性コンパートメントによるイオントラップによるものと推察されている(1)。マウス腹腔内マクロファージを単離してリソソーム内の pH を測定したところ 4.7~4.8 であったが、100 µmol/L 濃度のクロロキんに曝露したところ数分後にはリソソーム内の pH は約 6.3 まで上昇した(2)。視細胞外節懸濁物存在下で培養した子牛の眼の網膜色素上皮細胞 (RPE) に 20 µmol/L のヒドロキシクロロキン及びクロロキンを最長 2 週間曝露させ、リソソームの容量を画像解析した。ヒドロキシクロロキン、クロロキンはリソソーム内に入り、その機能が抑制されるとリソソーム内の視細胞外節の分解が抑制され、容量が増加するが、クロロキンと比べヒドロキシクロロキンはその作用が弱かった(3)。

#### 抗原提示への影響

ヒドロキシクロロキンはエンドゾーム内の pH を上昇させ、この自己抗原の処理及びそれに引き続く抗原提示細胞表面への抗原ペプチド発現を抑制していると考えられた(4)。クロロキンにより、マウスマクロファージのリステリア菌 (*Listeria monocytogenes*) の取り込み (uptake と ingestion) は抑制されなかったが、取り込み後の異化作用抑制及び T 細胞への抗原提示抑制が認められた (5)。

#### サイトカインへの影響

ヒト末梢血単核細胞 (PBMC) に LPS あるいは PHA を作用させた際の TNF-α、IL-6、IFN-γ 細胞外放出に対するヒドロキシクロロキン及びクロロキン (1~50 µmol/L) の影響を調べたところ、クロロキン、ヒドロキシクロロキン共、同程度に PHA 誘発 TNF-α、IFN-γ 放出、LPS 誘発 TNF-α、IL-6 放出を抑制した(6)。18 名の SLE 及び 13 名の関節リウマチ患者から PBMC を単離、培養し、ヒドロキシクロロキン (100 µmol/L) の存在又は非存在下でホルボールミリスターアセテート (PMA) 及びイオノマイシンで刺激したところ、培養液中の IL-6、IL-17、IL-22 量がヒドロキシクロロキン曝露により減少した(7)。

#### サイトカイン受容体への影響

クロロキンはヒト U-937 (ヒト組織球性リンパ腫) を免疫刺激した際の TNF 受容体タンパク mRNA 発現量に影響を与えず、細胞外の可溶性 TNF 受容体放出量を軽度減少させ、細胞表面の TNF 受容体量も減少させたが、細胞内の TNF 受容体量は増加していた。可溶性 TNF 受容体への変換及び細胞内輸送が阻害されている可能性があるかと推察された(8)。

#### トール様受容体 (TLR) への影響

## 2.6.2 薬理試験の概要文

### Z0188 - ヒドロキシクロロキン硫酸塩

ヒドロキシクロロキンは SLE 患者から採取したヒト形質細胞様樹状細胞 (TLR9、TLR7 を発現) を TLR9 アゴニストの CpG オリゴデオキシヌクレオチド (ODN)、TLR7 アゴニストのイミキモドで刺激した際の IFN- $\alpha$  と TNF- $\alpha$  産生量を低下させた (9)。

#### アポトーシス誘導

培養ヒト皮膚線維芽細胞にヒドロキシクロロキンを作用させたところ、代謝活性抑制、増殖抑制 (IC<sub>50</sub> = ~30  $\mu$ mol/L) 及びアポトーシスが生じた。光学顕微鏡では細胞質の空胞増加、電子顕微鏡観察では細胞内器官を内包した食胞が認められたが、その空胞は免疫組織学的染色においてオートファゴソームマーカーの LC3B に陽性であった。ウェスタンブロッティングでは LC3B-II の増加が認められた (10)。このアポトーシスは、ヒドロキシクロロキンがオートファゴソームのライソソームによる分解過程を障害することによるオートファジー阻害の結果生じると考えられている (11)。

#### アラキドン酸放出阻害

ヒドロキシクロロキン、クロロキンを健常人静脈血から採取した単核細胞に曝露したところ、両薬剤の用量相関的な細胞内への蓄積が認められ、ヒドロキシクロロキンはアラキドン酸の放出を抑制したが、クロロキンはしなかった (12)。

#### 効力を裏付ける試験 - *in vivo*

#### ループスエリテマトーデスに対する作用

SLE モデルマウスである MRL/lpr マウスに 3 ヶ月齢からヒドロキシクロロキンを 4 ヶ月間経口投与したところ、エリテマトーデス様皮膚症状抑制作用が認められた (13)。SLE 好発 NZB/W F1 マウス (雌、12 週齢) にヒドロキシクロロキンを 3 mg/kg/日の用量で経口投与したところ、同系統未投与マウス (対照群) では 18 週齢から認められたアセチルコリン誘導内皮依存性血管拡張の低下発生時期を遅らせた (14)。NZB/W F1 マウス (雌、30 週齢) にヒドロキシクロロキンを 10 mg/kg/日の用量で 5 週間反復経口投与したところ、収縮期血圧が低下、アセチルコリン誘導内皮依存性血管拡張の程度が溶媒対照群より増加した。さらに対照 (溶媒投与) 群と比べて尿中タンパク量が減少し、腎糸球体病変及び尿細管病変も軽減した (15)。NZB/W F1 マウス (雌、24 週齢) にヒドロキシクロロキンを 2.5 mg/kg の用量で 12 週間経口投与したところ、病気の進行が抑制 (タンパク尿発現及び抗 dsDNA 抗体発現抑制など) されると共に、miR-let-7a (尿中)、miR021 (メサンギウム細胞、T 細胞、pDC、PBMC、尿中) 及び MiR-146a (pDC 細胞) の発現減少が認められた (16)。DLE 発症イヌにヒドロキシクロロキンを 1 日 1 回 5 mg/kg/日の用量で経口投与 (タクロリムス併用 + 光曝露を避ける) したところ 2 週間目で症状がほぼ消失し、その後も 1 年間投与を継続したが良好な状態が維持された (17)。

#### 抗血栓作用

## 2.6.2 薬理試験の概要文

### Z0188 - ヒドロキシクロロキン硫酸塩

ループスエリテマトーデス患者では血栓症による合併症を防ぐことも重要である。正常な CD-1 マウスに抗リン脂質抗体症候群の患者から得られた IgG (IgG-APS) を 48 時間の間隔を開けて腹腔内投与して免疫し、それから約 22 時間後にヒドロキシクロロキンを 3 及び 6 mg/kg の用量で腹腔内投与した 2 時間後に血栓形成誘導 (単径部を切開した後、大腿静脈を pinch injury) したところ、IgG-APS 免疫群で増加した血栓の大きさ及び血栓存在時間が、ヒドロキシクロロキン投与で抑制された(18)。

#### 副次的薬理試験

抗マラリア作用、抗腫瘍作用、血糖低下作用が認められた。

#### 安全性薬理試験

##### 心血管系

クロロキンはアフリカツメガエル卵母細胞に発現させた野生型 hERG チャネルを阻害した (19)。クロロキンは HEK293 細胞に安定的に発現させた hERG チャネルを阻害した (20)。ネコのプルキンエ線維では最大立ち上がり速度が低下し、活動電位持続時間 (APD) が延長した。ネコの単離心筋細胞でも同様に APD が延長し、静止膜電位が低下した (21)。ラット心臓の左室自由壁から単離した心筋細胞を用いた測定では、クロロキンは Ito (一過性外向き K<sup>+</sup>電流) 振幅を減少及び Ito 電荷を減少させた (22)。麻酔イヌにヒドロキシクロロキン及びクロロキンを 30 分間隔で繰り返し静脈内投与したところ、心拍数、全身血圧、心拍出量を低下させたが、クロロキンはヒドロキシクロロキンよりも強い陰性変時作用を有していた (23)。

##### 呼吸系

麻酔したウサギにクロロキンを持続静脈内投与したところ、呼吸数が増加した (24)。

##### 中枢神経系

ラット行動試験においてクロロキンを腹腔内投与したところ、オープンフィールド内での運動量の増加が認められ、この運動量増加はハロペリドールで抑制された (25)。ラットを用いた Vogel conflict paradigm 試験において、クロロキンの皮下投与で電気ショックの許容数が増加し、マウスを用いた明暗箱試験でクロロキンの皮下投与で明暗所間移動頻度及び明所滞在時間が増加したことから、一定の用量域でのクロロキンの葛藤抑制作用が確認された (26)。Swiss マウスにクロロキンを PTZ 投与の 30 分前に腹腔内投与したところ、間代性痙攣発現潜時が用量に応じて延長あるいは短縮した (27)。

試験の一覧を表 1 に示した。



表 1 - 試験一覧

試験の種類	使用薬物	試験の内容	著者 (年)	
効力を裏付ける試験 ( <i>In vitro</i> )	HCQ, CQ	リソソームへの蓄積	リソソームへの蓄積	Warhurst DC (2003)
	CQ		リソソームの pH の変化	Ohkuma S (1978)
	CQ		リソソームへの蓄積メカニズム	Daniel WA (1995)
	HCQ, CQ		培養ウシ網膜色素上皮細胞リソソームへの作用比較	Sundelin SP (2002)
	CQ	抗原提示への影響	マウスマクロファージに対する作用	Ziegler HK (1982)
	HCQ, CQ	サイトカインへの影響	ヒト末梢血単核細胞 (PBMC) での作用	van den Borne BE (1997)
	HCQ		SLE 及び RA 患者の PBMC での Th17 関連サイトカインに及ぼす作用	Silva JC (2013)
	CQ	サイトカイン受容体への影響	ヒト U-937 細胞での作用	Jeong JY (2002)
	HCQ	トール様受容体 (TLR) への影響	ヒト形質細胞様樹状細胞への TLR7 及び TLR9 刺激に対する影響	Sacre K (2012)
	HCQ	アポトーシス誘導	ヒト皮膚線維芽細胞のアポトーシス誘導	Ramser B (2009)
HCQ, CQ	その他	ヒト単核細胞におけるアラキドン酸放出への影響	Hurst NP (1986)	
効力を裏付ける試験 ( <i>In vivo</i> )	HCQ	MRL/lpr マウスにおける作用 (4 ヶ月間 経口投与)	Shimomatsu T (2013)	
	HCQ	NZB/W F1 マウスにおける血管内皮保護作用	Mosca M (2013)	
	HCQ	NZB/W F1 マウスにおける血管内皮機能改善及び腎保護作用	Gomez-Guzman (2014)	
	HCQ	NZB/W F1 マウスにおけるマイクロ RNA に対する作用	Chafin CB (2013)	
	HCQ	イヌのエリテマトーデスに対する作用 (2 週間経口投与)	Oberkirchner U (2012)	
	HCQ	マウス血栓形成誘導モデルでの抗血栓作用	Edwards MH (1997)	

2.6.2 薬理試験の概要文  
Z0188 - ヒドロキシクロロキン硫酸塩

試験の種類	使用薬物	試験の内容	著者 (年)
副次的薬理試験	NA	抗マラリア作用	抗マラリア作用機序
	HCQ		光学異性体の抗マラリア原虫作用
	DECQ		代謝物デスエチルクロロキンの抗マラリア原虫作用
	HCQ, CQ	抗腫瘍作用	ヒト乳がん細胞 MCF-7、MDA-MB-231 の増殖抑制作用
	HCQ	血糖低下作用	糖尿病ラットにおける血糖低下作用
	正常及び糖尿病ラットの肝臓細胞質フラクションにおけるインスリン分解阻害作用		
安全性薬理試験	CQ	心血管系	<i>In vitro</i> 試験 - カエル卵細胞 hERG チャンネルへの影響
	CQ		<i>In vitro</i> 試験 - HEK293 細胞 hERG チャンネルへの影響
	CQ		<i>In vitro</i> 試験 - ネコプルキンエ線維、心筋細胞の活動電位への影響
	CQ	<i>In vitro</i> 試験 - ラット心筋細胞 Ito への影響	
	HCQ, CQ		<i>In vivo</i> 試験 - 麻酔イヌ心血管系への作用 (静脈内投与)
	CQ	呼吸系	ウサギ呼吸数への影響 (静脈内投与)
	CQ	中枢神経系	ラットの行動への影響 (腹腔内投与)
	CQ		ラット及びマウス葛藤モデルでの葛藤抑制作用 (皮下投与)
	CQ		マウス痙攣モデルでの作用 (腹腔内投与)

HCQ : ヒドロキシクロロキン、CQ: クロロキン、NA: 該当なし、DECQ: デスエチルクロロキン

本 CTD 作成の原資料である文献間で薬剤の濃度表記単位が統一されていないため、表 2 に換算式を示した。

表 2 - ヒドロキシクロロキン及びクロロキンの濃度単位換算式

薬剤名	換算式
ヒドロキシクロロキン (フリー体 : 分子量 335.87)	1 $\mu\text{mol/L}$ ( $\mu\text{M}$ ) = 0.336 $\mu\text{g/mL}$ 1 $\mu\text{g/mL}$ = 2.98 $\mu\text{mol/L}$ ( $\mu\text{M}$ )
クロロキン (フリー体 : 分子量 319.87)	1 $\mu\text{mol/L}$ ( $\mu\text{M}$ ) = 0.320 $\mu\text{g/mL}$ 1 $\mu\text{g/mL}$ = 3.12 $\mu\text{mol/L}$ ( $\mu\text{M}$ )

## 2 効力を裏付ける試験

### 2.1 In vitro

#### 2.1.1 リソソームへの蓄積

Warhurst DC ら (2003) (28)

ヒドロキシクロロキン及びクロロキンは親脂質性の二酸塩基の弱塩基であり (表 3)、原形質膜を通過しやすく、その作用機序の一つとして、細胞内のリソソーム中への蓄積 (pH の変化) によるリソソーム内の種々の機能の抑制が考えられている。

表 3 - ヒドロキシクロロキン、クロロキンの pKa1、pKa2、LogP、LogD

	pKa1	pKa2	LogP	LogD (pH 7.4)	LogD (pH 5.2)
ヒドロキシクロロキン	9.67	8.27	3.85	0.66	-3.67
(+)-ヒドロキシクロロキン	9.51	8.35	3.67	0.59	-3.15
(-)-ヒドロキシクロロキン	9.81	8.34	4.00	0.61	-3.65
クロロキン	10.18	8.38	4.72	0.96	-3.44

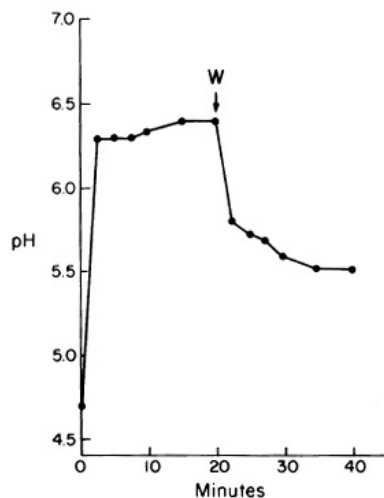
(文献 28 の Table 2 を改変引用)

##### 2.1.1.1 リソソームの pH の変化 (クロロキン)

Ohkuma S ら (1978) (2)

マウス腹腔内マクロファージを単離してリソソーム内の pH を測定したところ 4.7~4.8 であったが、100  $\mu\text{mol/L}$  濃度のクロロキンに曝露したところ数分後にはリソソーム内の pH は約 6.3 まで上昇した (図 2)。

図 2 - クロロキン曝露後のマクロファージリソソーム内 pH 変化



クロロキン濃度：100  $\mu\text{mol/L}$ 、20分曝露後にウォッシュアウト（文献2の Fig.11 を引用）

#### 2.1.1.2 リソソームへの蓄積メカニズム（クロロキン）

Daniel WA ら (1995) (1)

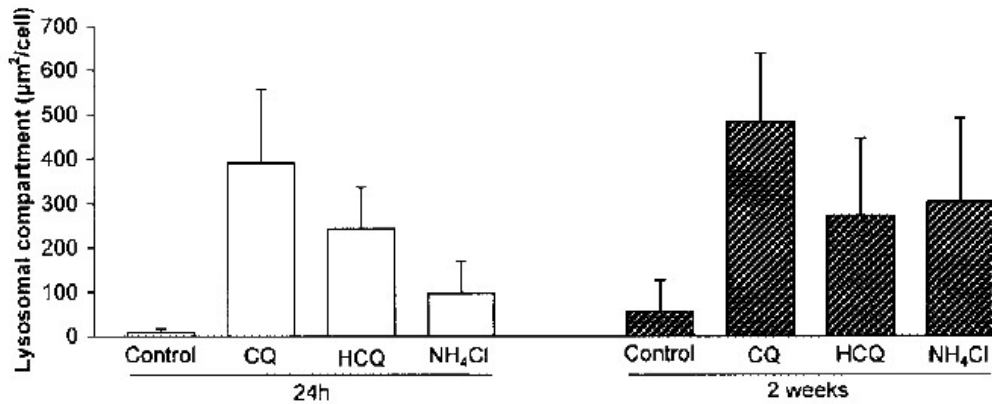
ラットの各種臓器スライスを用いたクロロキン取り込み試験では、臓器の種類によりクロロキンの取り込み量が異なっていたものの組織中のリソソームの占める割合とおおむね一致し、著者らはリソソームに蓄積するメカニズムはリソソームの酸性コンパートメントによるイオントラップによるものと推察している（メカニズムのより詳しい説明は [Module 2.6.4 の 10.4 「分布」 の項] を参照）。

#### 2.1.1.3 培養ウシ網膜色素上皮細胞リソソームへの作用比較（ヒドロキシクロロキン、クロロキン）

Sundelin SP ら (2002) (3)

視細胞外節懸濁物存在下で培養した子牛の眼の網膜色素上皮細胞（RPE）に 20  $\mu\text{mol/L}$  のヒドロキシクロロキン及びクロロキンを最長 2 週間曝露させ、リソソームの容量を画像解析した。ヒドロキシクロロキン、クロロキンがリソソーム内に入り、その機能が抑制されるとリソソーム内の視細胞外節の分解が抑制され、容量が増加するが、クロロキンと比べヒドロキシクロロキンはその作用が弱かった（図 3）。著者らはこの違いは構造上ヒドロキシクロロキンがクロロキンと比べて極性が強く、脂肪親和性が弱いことによるものであり、ヒドロキシクロロキンの眼毒性がクロロキンと比べて弱いこととも関連していると考察している。

図 3 - 培養ウシ網膜色素上皮細胞リソソームへの作用比較



HCQ : ヒドロキシクロロキン、CQ : クロロキン、2 時間及び 2 週間曝露 (HCQ、CQ 濃度 : 20 µmol/L) 、平均±標準偏差、Lysosomal compartment: 細胞あたりの LTR 標識されたリソソームの面積 (µm<sup>2</sup>/細胞) 、サンプルサイズ : 50 ~317 細胞/群 (文献 3 の Fig.2A を引用)

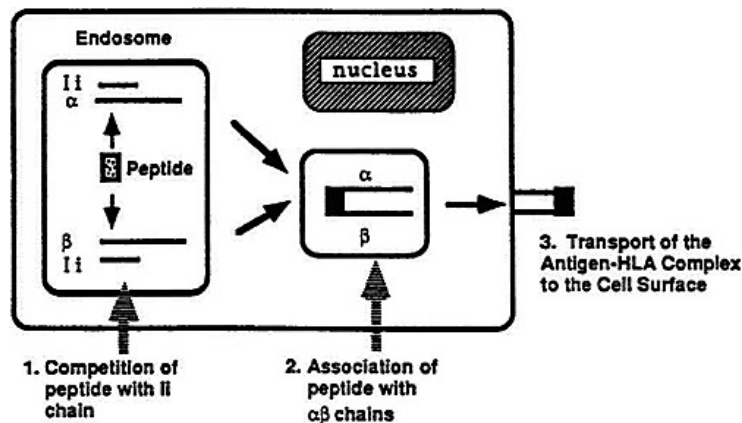
### 2.1.2 抗原提示への影響

Fox RI (1993) (4)

Ohkuma S ら (1978) (2)

抗原又は自己抗原は、マクロファージ、樹状細胞といった抗原提示細胞に取り込まれた後、酸性加水分解酵素のような酵素が存在するリソソーム中に内在化し、抗原ペプチドへと分解される。そのペプチドは主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) クラス II たん白分子の α、β 鎖と結合し、その α-β 鎖ペプチド複合体は細胞表面へと運ばれる (図 4) (4)。

図 4 - 抗原提示細胞における抗原処理と提示



(文献 4 の Fig 3 を引用)

その後、MHC クラス II 分子を介して種々のサイトカイン放出に関与している CD4 陽性 T 細胞（ヘルパー T 細胞）に提示されると推定されているが、ヒドロキシクロロキンは抗原提示細胞のエンドソーム内の pH を上昇させ、この自己抗原の処理及びそれに引き続く抗原提示細胞表面への発現を抑制していると考えられている(2)。

#### 2.1.2.1 マウスマクロファージにおける抗原提示への影響（クロロキン）

Ziegler HK ら (1982) (5)

クロロキン (0.1 mmol/L) により、マウスマクロファージのリステリア菌 (*Listeria monocytogenes*) の取り込み (uptake と ingestion) は抑制されなかったが、取り込み後の異化作用抑制 (52%) 及び T 細胞への抗原提示抑制 (57%) が認められた (表 4)。

表 4 - マウスマクロファージに対するクロロキンの作用

Assay	Control, %	10 mM NH <sub>4</sub> Cl		0.1 mM chloroquine	
		Observed, %	Δ,%	Observed, %	Δ,%
Antigen uptake*	15 ± 1	13 ± 2	13	15 ± 2	0
Antigen ingestion†	66 ± 2	63 ± 2	5	67 ± 6	-2
Antigen catabolism‡	29 ± 4	13 ± 3	55	14 ± 6	52
I-A expression§	54 ± 4	59 ± 2	-9	56 ± 4	-4
T cell-macrophage binding¶					
Before antigen handling	70 ± 7	26 ± 8	63	30 ± 8	57
After antigen handling	84 ± 8	70 ± 11	17	64 ± 10	24

\* The results represent mean (±SEM) percentage of added <sup>125</sup>I-labeled *Listeria* bound to macrophages in two separate experiments; uptake in the absence of macrophages was <0.5%.

† Results represent the mean (±SEM) percentage decrease in surface-bound bacteria in two experiments. The control values for the number of *Listeria* per macrophage immediately after a 5-min exposure to *Listeria* was 30.4 ± 2.3 for untreated macrophages, 27.9 ± 2.5 for ammonia-treated macrophages, and 31 ± 8 for chloroquine-treated macrophages.

‡ The results represent the mean (±SEM) percentage release of trichloroacetic acid-soluble cpm after 1 hr of culture (three experiments).

§ Percentage of I-A-bearing macrophages.

¶ The results represent the percentage specific binding of *Listeria*-immune T cells to macrophages (mean of six experiments for Before Antigen Handling Protocol and four experiments for After Antigen Handling Protocol). Control values (T cells not adherent to macrophages not treated with *Listeria*) for T-cell activity ranged from 2176 ± 424 to 12,363 ± 731 with a mean of 7498 Δcpm in the mitogenic protein assay and ranged from 19.7 ± 0.9% to 36.8 ± 5.7% with a mean of 28.6% specific cytolysis in the induction of macrophage-mediated cytolysis assay. These values represent individual determinations of the mean ± SEM of duplicate control binding reactions.

(文献 5 の Table 1 を引用)

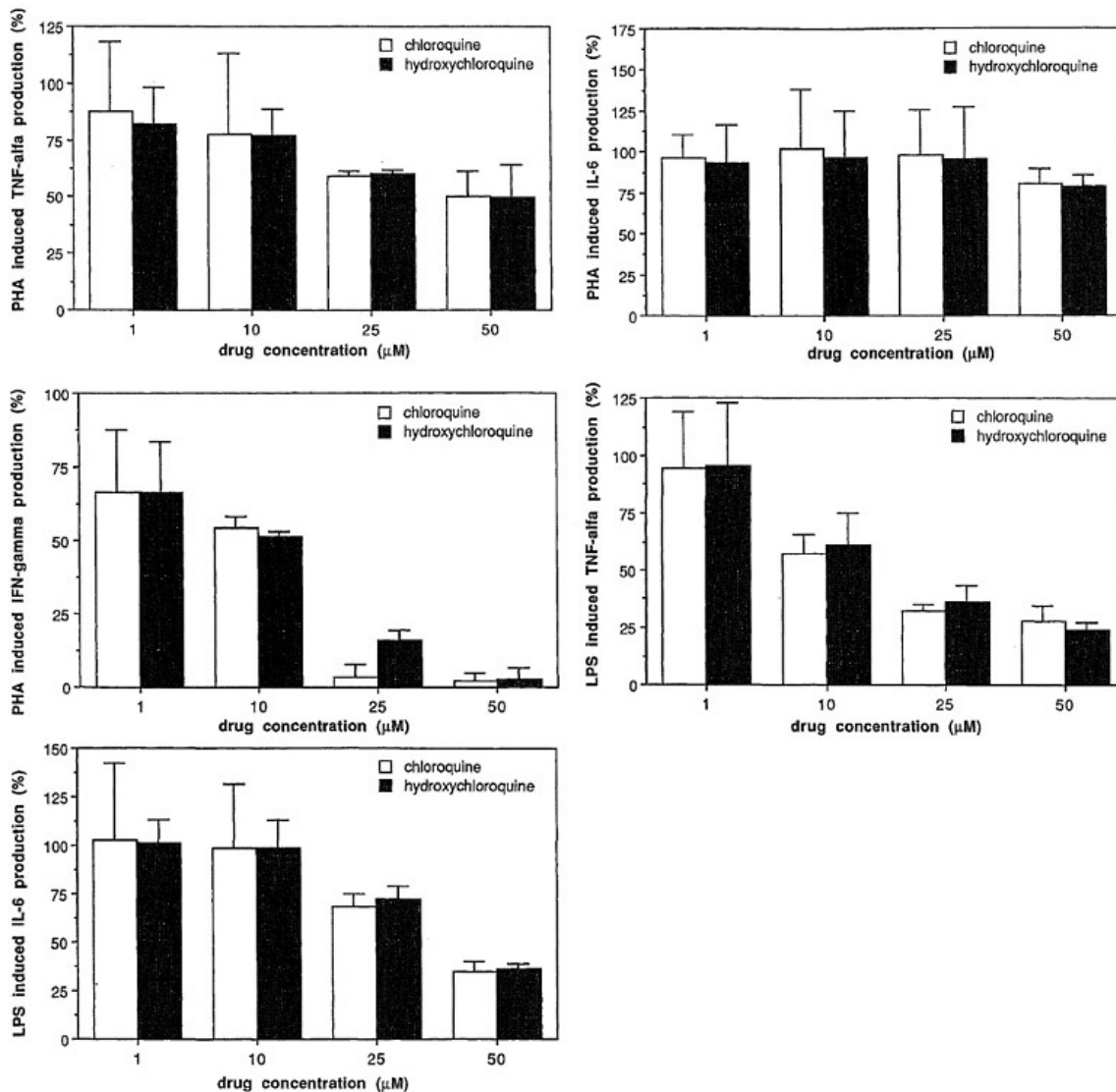
### 2.1.3 サイトカインへの影響

#### 2.1.3.1 ヒト末梢血単核細胞 (PBMC) での作用 (ヒドロキシクロロキン、クロロキン)

van den Borne BE ら (1997) (6)

ヒト末梢血単核細胞 (PBMC) に LPS あるいは PHA を作用させた際の TNF-α、IL-6、IFN-γ 細胞外放出に対するヒドロキシクロロキン及びクロロキン (1~50 μmol/L) の影響を調べた。クロロキン、ヒドロキシクロロキン共、同程度に PHA 誘発 TNF-α、IFN-γ 放出、LPS 誘発 TNF-α、IL-6 放出を抑制した。一方、PHA 誘発 IL-6 放出は抑制しなかった (図 5)。

図 5 - ヒト末梢血単核細胞免疫刺激後サイトカイン放出に対するヒドロキシクロロキンの作用



全て 3 回測定した平均±標準偏差 (文献 6 の Figure 1、2、3、4、5 を引用)

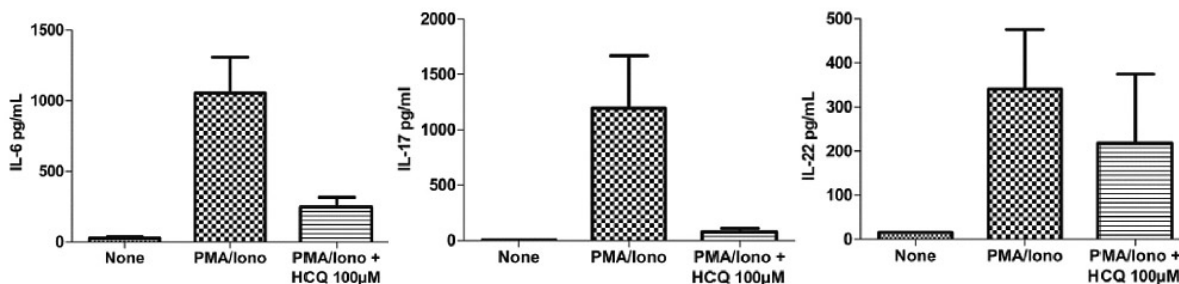
### 2.1.3.2 SLE 及び RA 患者の PBMC での Th17 関連サイトカインに及ぼす作用 (ヒドロキシクロロキン)

Silva JC ら (2013) (7)

18 名の全身性エリテマトーデス (SLE) 及び 13 名の関節リウマチ患者から PBMC を単離、培養し、ヒドロキシクロロキン (100 μmol/L) の存在又は非存在下で PMA 及びイオノマイシンで刺激したところ、培養液中の IL-6、IL-17、IL-22 量がヒドロキシクロロキン曝露により減少した (図 6、図 7)。

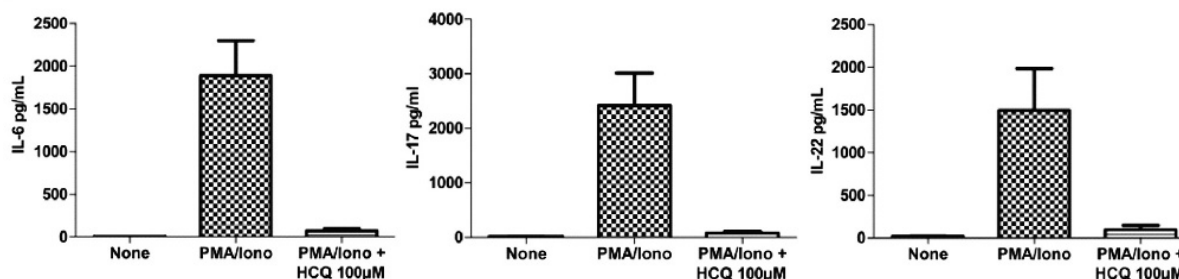


図 6 - SLE 患者の PBMC での Th17 関連サイトカインに及ぼすヒドロキシクロロキンの作用



PMA/lono : PMA 及びイオノマイシン (文献 7 の Figure 2A、2B、2C を引用)

図 7 - RA 患者の PBMC での Th17 関連サイトカインに及ぼすヒドロキシクロロキンの作用



PMA/lono : PMA 及びイオノマイシン (文献 7 の Figure 3A、3B、3C を引用)

## 2.1.4 サイトカイン受容体への影響

### 2.1.4.1 ヒト U-937 細胞における TNF 受容体発現、細胞外放出への影響 (クロロキン)

Jeong JY ら (2002) (8)

ヒト U-937 (ヒト組織球性リンパ腫) を免疫刺激した後にクロロキン (100 µmol/L) を作用させた際の TNF 受容体タンパク mRNA 発現を調べたところ、クロロキンは TNF 受容体の mRNA 発現量に影響を与えなかった。同じくクロロキン (10~100 µmol/L) を作用させた際の TNF 受容体発現への影響を調べたところ、クロロキンは細胞外の可溶性 TNF 受容体放出量を軽度減少させ、細胞表面の TNF 受容体量も減少させたが、細胞内の TNF 受容体量は増加していた。著者らは、受容体の産生は阻害されておらず、可溶性 TNF 受容体への変換及び細胞内輸送が阻害されている可能性があるかと推察している。

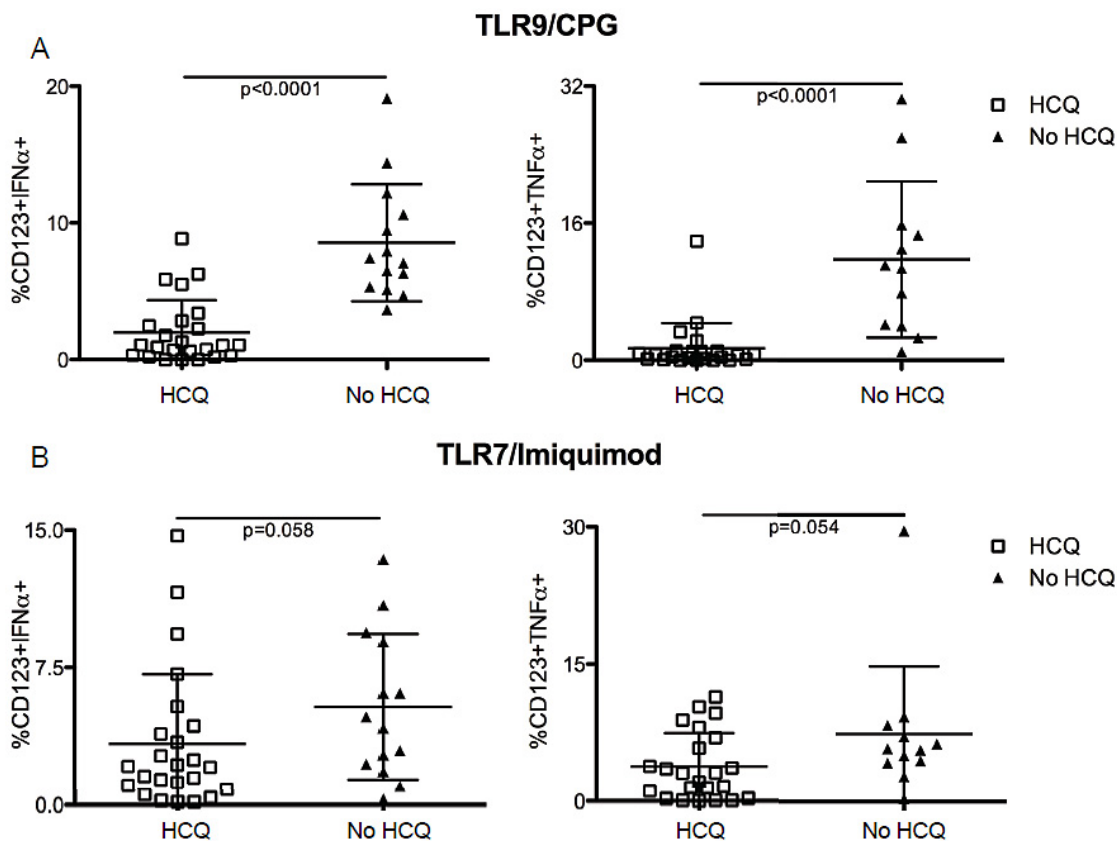
2.1.5 トール様受容体 (TLR) への影響

2.1.5.1 ヒト形質細胞様樹状細胞への TLR7 及び TLR9 刺激に対する影響 (ヒドロキシクロロキン)

Sacre K ら (2012) (9)

SLE 患者 (ヒドロキシクロロキン 200~400mg/kg 日投与有り、無し) から採取したヒト形質細胞様樹状細胞 (pDC、CD123<sup>+</sup>; TLR9、TLR7 を発現している) を TLR9 アゴニストの CpG オリゴデオキシヌクレオチド (ODN)、TLR7 アゴニストのイミキモドで刺激した際の IFN- $\alpha$  と TNF- $\alpha$  産生量を測定したところ、ヒドロキシクロロキンを投与している患者群のほうが投与していない群よりも少なかった (図 8)。

図 8 - SLE 患者 pDC への TLR 刺激後の IFN- $\alpha$  と TNF- $\alpha$  産生に対するヒドロキシクロロキンの影響



pDC production of IFN- $\alpha$ /TNF- $\alpha$  upon TLR-9/7 stimulation in SLE subjects treated with HCQ. Comparison of the frequency of pDCs (CD123<sup>+</sup> cells) producing IFN- $\alpha$  (left) and TNF- $\alpha$  (right) after TLR-9 (A) or TLR-7 (B) stimulation between SLE subjects that were treated ( $n = 25$ , white squares) or not ( $n = 14$ , black triangles) with HCQ. In each case, the lines represent the mean value and the error bars show the standard deviation.

(文献 9 の Figure 4 を引用)

### 2.1.6 アポトーシス誘導

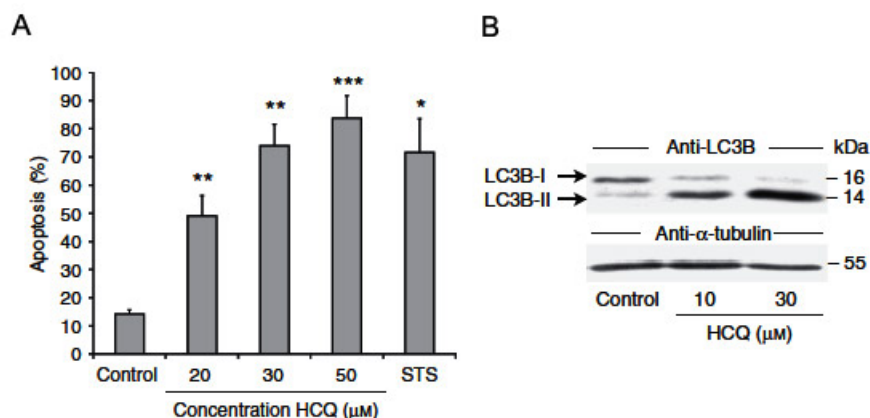
#### 2.1.6.1 ヒト皮膚線維芽細胞のオートファジー阻害によるアポトーシス誘導（ヒドロキシクロロキン）

Ramser B ら (2009) (10)

Peppard JV ら (2014) (11)

培養ヒト皮膚線維芽細胞にヒドロキシクロロキンを作用させたところ、代謝活性抑制、増殖抑制 ( $IC_{50} \sim 30 \mu\text{mol/L}$ ) 及びアポトーシス (図 9 A) が生じた。光学顕微鏡では細胞質の空胞増加、電子顕微鏡観察では細胞内器官を内包した食胞が認められたが、その空胞は免疫組織学的染色においてオートファゴソームマーカーの LC3B に陽性であった。ウェスタンブロッティングでは LC3B-II の増加が認められた (図 9 B) (10)。

図 9 - ヒドロキシクロロキンによる培養ヒト皮膚線維芽細胞のアポトーシス誘導



A: アネキシン V 染色 - FACS 解析、ヒドロキシクロロキン (HCQ) 処理時間は 24 時間、STS: Staurosporine (0.5 μmol/L) 陽性対照、\* $p < 0.01$ , \*\* $p < 0.002$ , \*\*\* $p < 0.0001$  (Student's t-test)

B: ウェスタンブロッティング。HCQ 処理時間は 16 時間。  
(文献 10 の Figure 2b, 3f を引用)

このアポトーシスは、ヒドロキシクロロキンがオートファゴソームのライソソームによる分解過程を障害することによるオートファジー阻害の結果生じると考えられている(11)。

### 2.1.7 アラキドン酸放出阻害

#### 2.1.7.1 ヒト単核細胞におけるアラキドン酸放出への影響（ヒドロキシクロロキン、クロロキン）

Hurst NP ら (1986) (12)

## 2.6.2 薬理試験の概要文

### Z0188 - ヒドロキシクロロキン硫酸塩

健康人静脈血から採取した単核細胞へヒドロキシクロロキン、クロロキン (0.001~0.1 mmol/L) を曝露した際の細胞内蓄積量及びアラキドン酸の放出量を測定した。ヒドロキシクロロキン、クロロキンの曝露によって両薬剤の用量相関的な細胞内への蓄積が認められた (表 5)。アラキドン酸の放出に関してはヒドロキシクロロキンでは抑制が認められたが、クロロキンでは認められなかった (表 6)。

表 5 - ヒト単核細胞でのヒドロキシクロロキン、クロロキン曝露後細胞内蓄積

Concentration of drug (mM)	Mean ( $\pm$ SD) nmoles/ $10^6$ MNC	
	CQ	HCQ
0.001	0.09 (0.02)	0.05 (0.02)
0.01	0.34 (0.4)	0.65 (0.1)
0.1	1.39 (0.09)	1.89 (0.2)

HCQ : ヒドロキシクロロキン、CQ : クロロキン、MNC : 単核細胞 (文献 12 の Table 4 を引用)

表 6 - ヒト単核細胞でのヒドロキシクロロキン、クロロキンによるアラキドン酸放出抑制

Inhibitor	N	Inhibition of $^3\text{H-AA}$ release, CQ, HCQ or MP		
		% ( $\pm$ SEM) of STZ-stimulated control)		
		0.001	0.01	0.1 mM CQ or MP
CQ	4	96 (3)	95 (8)	100 (9)
MP	4	85 (3)	82 (8)	48 (6)
HCQ	4	111 (9)	93 (4)	54 (7)

HCQ : ヒドロキシクロロキン、CQ : クロロキン、AA : アラキドン酸、MP : 9-aminoacridine mepacrine (quinacrine) (文献 12 の Table 3 を引用)

## 2.1.8 その他

ヒドロキシクロロキンの光学異性体間及び代謝物デスエチルクロロキンの薬理作用については、SLE に関連する薬理作用での比較試験データがないため、3. 副次的薬理試験の 3.1 抗マラリア作用の項に記載した。

## 2.2 In vivo

### 2.2.1 ループスエリテマトーデスに対する作用

#### 2.2.1.1 MRL/lpr マウスにおける作用 (ヒドロキシクロロキン)

Shimomatsu T ら (2013) (13)

SLE モデルである MRL/lpr マウスに 3 ヶ月齢からヒドロキシクロロキンを 4 ヶ月間経口投与したところ、エリテマトーデス様皮膚症状が発生した例数、死亡率、体重増加量はそれぞれ対照群で 6/13 例、24%、4.6 g、4 mg/kg/day 投与群で 3/11 例、8%、8 g、40 mg/kg/day 群で 2/11 例、8%、5.1 g であり、ヒドロキシクロロキンによるエリテマトーデス様皮膚症状抑制作用が認められた。

### 2.2.1.2 NZB/W F1 マウスにおける血管内皮保護作用（ヒドロキシクロロキン）

Mosca M ら (2013) (14)

12 週齢の SLE 好発 NZB/W F1 雌マウス（20 匹/群）にヒドロキシクロロキンを 3 mg/kg/日の用量で経口反復投与したところ、同系統未投与マウス（対照群）では 18 週齢から認められたアセチルコリン誘導内皮依存性血管拡張の低下発生時期を遅らせた（表 7）のと共に、抗 dsDNA 抗体及びたんぱく尿の発現時期も遅らせた。

表 7 - SLE 好発 NZB/W F1 雌マウスにおける血管内皮保護作用

Age	18 weeks			24 weeks			30 weeks			42 weeks		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
Maximal vasodilation to Ach (%)	90 ± 2	98 ± 2	98 ± 2	81 ± 2	95 ± 1	98 ± 1	69 ± 2	87 ± 1	93 ± 1	63 ± 2	71 ± 1	83 ± 1
Inhibitory effect of L-NMMA on Ach (%)	42 ± 1	ND	52 ± 3	30 ± 2	ND	54 ± 3	10 ± 1	ND	44 ± 1	7 ± 4	ND	35 ± 2
Maximal vasodilation to SNP (%)	99 ± 2	ND	97 ± 3	97 ± 2	ND	98 ± 2	85 ± 3	ND	94 ± 2	76 ± 1	ND	83 ± 2

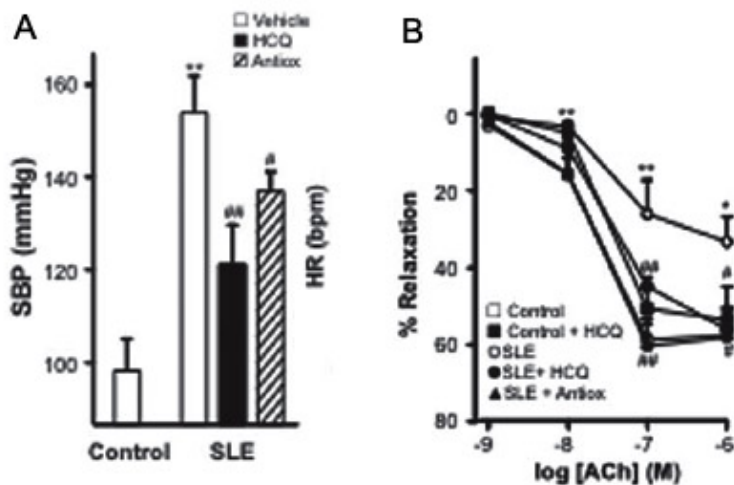
A: NZB/W F1 マウス (mSLE) 未投与、B: NZB/W F1 マウス (mSLE) ヒドロキシクロロキン 3 mg/kg/日投与、C: C56BL/6J (mC) マウス未投与、ND: 測定せず、Ach: アセチルコリン、L-NMMA: NG-モノメチル-L-アルギニン（一酸化窒素合成阻害薬）、SNP: ニトロプルシドナトリウム（文献 14 の Table 1 を改変引用）

### 2.2.1.3 NZB/W F1 マウスにおける血管内皮機能改善及び腎保護作用（ヒドロキシクロロキン）

Gomez-Guzman M ら (2014) (15)

30 週齢の SLE 好発 NZB/W F1 雌マウスにヒドロキシクロロキンを 10 mg/kg/日の用量で 5 週間反復経口投与したところ、収縮期血圧が低下（図 10 A）、アセチルコリン誘導内皮依存性血管拡張の程度が溶媒投与対照群より増加（図 10 B）した。

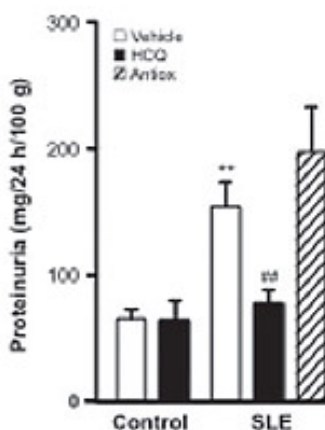
図 10 - SLE 好発 NZB/W F1 雌マウスにおける血圧及び血管内皮機能への影響



A : SBP : 収縮期血圧、Antioxi : 抗酸化剤 (陽性対照、tempol+apocynin)、例数は対照 (溶媒投与) n=17、SLE 溶媒投与 n=11、SLE ヒドロキシクロロキン投与 n=13、SLE Antiox 投与 n=7 (文献 15 の Figure 1B を引用)  
B : アセチルコリン誘導内皮依存性血管拡張 (文献 15 の Figure 3A を引用)  
平均±標準誤差、\*\*P<0.01 及び \*P<0.05 は対照 (溶媒投与) 群との比較、##P<0.01 及び #P<0.05 は SLE 溶媒投与群との比較

さらに対照 (溶媒投与) 群と比べて腎糸球体病変及び尿細管病変も軽減し、尿中タンパク量も減少した (図 11)。

図 11 - SLE 好発 NZB/W F1 雌マウスにおける腎保護作用



A : 尿中タンパク量、例数は対照 (溶媒投与) n=17、SLE 溶媒投与 n=11、SLE ヒドロキシクロロキン投与 n=13、SLE Antiox 投与 n=7、\*\*P<0.01 は対照群との比較、##P<0.01 は SLE 溶媒投与群との比較 (文献 15 の Figure 2A を引用)

2.6.2 薬理試験の概要文  
Z0188 - ヒドロキシクロロキン硫酸塩

なお、この試験においてはヒドロキシクロロキン投与による抗 ds-DNA（二本鎖 DNA）抗体量低下は認められなかった。

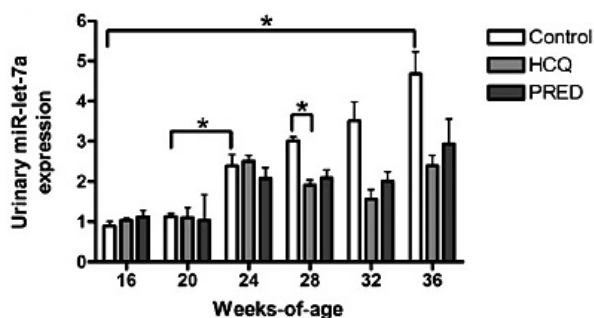
2.2.1.4 NZB/W F1 マウスにおけるマイクロ RNA に対する作用（ヒドロキシクロロキン）

Shen ら (2012) (29)

Chafin CB ら (2013) (16)

近年ヒトでの SLE 発症とマイクロ RNA との関係が注目されているが(29)、NZB/W F1 マウス（雌、24 週齢）にヒドロキシクロロキンを 2.5 mg/kg の用量で 12 週間経口投与したところ、病気の進行が抑制（タンパク尿発現及び抗 dsDNA 抗体発現抑制など）されると共に、miR-let-7a（尿中）（図 12）、miR-21（メサングウム細胞、T 細胞、pDC、PBMC、尿中）及び MiR-146a（pDC 細胞）（図 13）の発現減少が認められた(16)。

図 12 - miR-let-7a の発現（尿中）

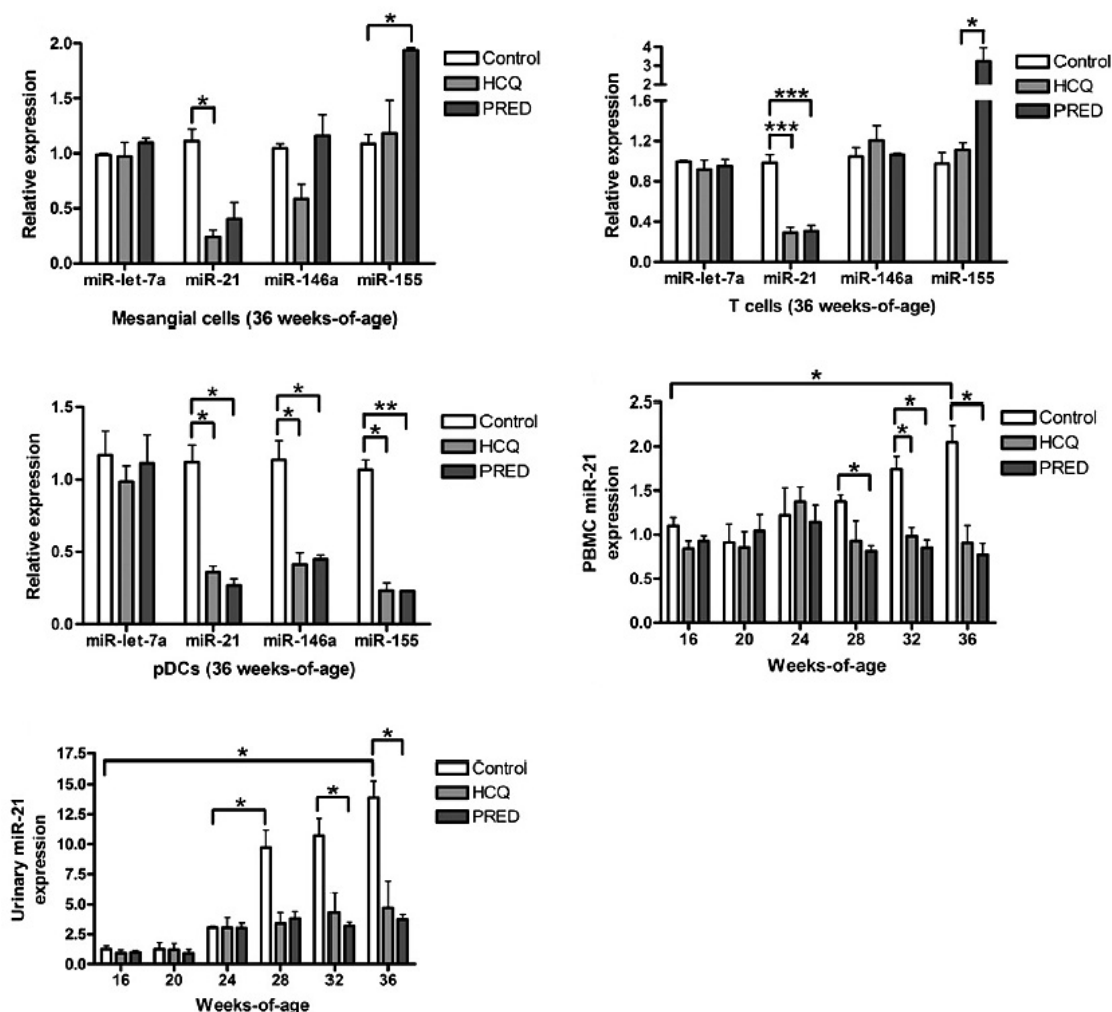


平均±標準誤差、PRED：プレドニゾン、\*p<0.05 Student's unpaired t-test (two-tailed)（文献 16 の Fig. 3a を引用）

2.6.2 薬理試験の概要文

Z0188 - ヒドロキシクロロキン硫酸塩

図 13 - miR-21 (メサンギウム細胞、T 細胞、pDC、PBMC、尿中) 及び MiR-146a (pDC 細胞) の発現



平均±標準誤差、PRED : プレドニゾン、\*p<0.05 Student's unpaired t-test (two-tailed) (文献 16 の Fig. 2、3、4 を引用)

2.2.1.5 イヌのエリテマトーデスに対する作用 (ヒドロキシクロロキン)

Oberkirchner U ら (2012) (17)

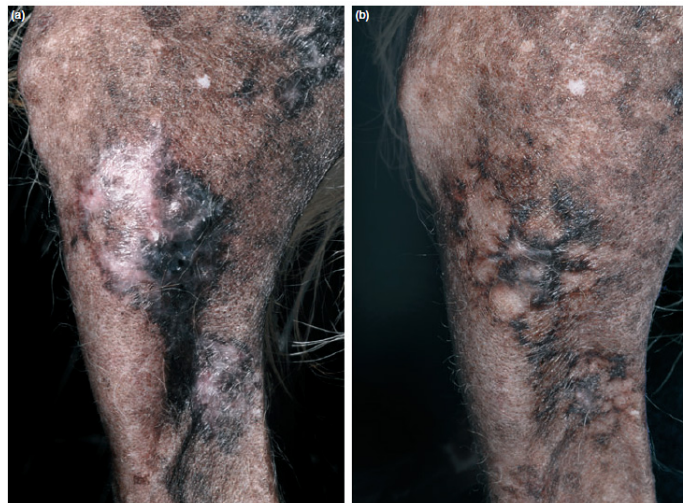
DLE 発症イヌ (チャイニーズ・クレストド、雌、9 歳) にヒドロキシクロロキンを 1 日 1 回 5 mg/kg/日の用量で経口投与 (タクロリムス併用 + 光曝露を避ける) したところ 2 週間目で症状がほぼ消失し、その後も 1 年間投与を継続したが良好な状態が維持された (図 14)。



## 2.6.2 薬理試験の概要文

### Z0188 - ヒドロキシクロロキン硫酸塩

図 14 - イヌの DLE に対するヒドロキシクロロキンの治療効果



イヌ後肢足部の皮膚の DLE、a) ヒドロキシクロロキン投与開始前、b) ヒドロキシクロロキン投与 1 年継続後（文献 17 の Figure 4 を引用）

## 2.2.2 抗血栓作用

### 2.2.2.1 マウス血栓形成誘導モデルでの抗血栓作用（ヒドロキシクロロキン）

Edwards MH ら (1997) (18)

ループスエリテマトーデス患者では血栓症による合併症を防ぐことも重要である。正常な CD-1 マウスに抗リン脂質抗体症候群の患者から得られた IgG (IgG-APS) を 48 時間の間隔を開けて腹腔内投与して免疫し、それから約 22 時間後にヒドロキシクロロキンを 3 及び 6 mg/kg の用量で腹腔内投与、その 2 時間後に血栓形成誘導（単径部を切開した後、大腿静脈を pinch injury）したところ、IgG-APS 免疫群で増加した血栓の大きさ及び血栓存在時間が、ヒドロキシクロロキン投与で抑制された(表 8)。

表 8 - 抗血栓作用

Group	No. of Animals	Dynamics of Thrombus Formation	
		Thrombus Size, $\mu\text{m}^2$	Thrombus Duration, min
E. IgG-APS-hydroxychloroquine, 6 mg/kg	7	470.3 $\pm$ 167.2	4.1 $\pm$ 1.2
F. IgG-APS-hydroxychloroquine, 3 mg/kg	8	1230.25 $\pm$ 180.3	4.1 $\pm$ 1.7
B. IgG-APS placebo	9	2121.8 $\pm$ 1240.5	9.8 $\pm$ 7.0
Group E vs group B		<i>P</i> = .0025	<i>P</i> = .0326
Group F vs group B		<i>P</i> = .0076	<i>P</i> = .034
Group E vs group F		<i>P</i> = .035	<i>P</i> = .9878

Ig-APS indicates purified immunoglobulin G from a patient with antiphospholipid syndrome.  
 One-Way ANOVA (文献 18 の TABLE 2 を引用)

### 3 副次的薬理試験

#### 3.1 抗マラリア作用

##### 3.1.1 抗マラリア作用機序

Foley M ら (1998) (30)

クロロキンは赤血球期マラリア原虫の食胞内に蓄積し、原虫が栄養分として取り込んだ宿主赤血球のヘムの重合（ヘモゾイン形成）を阻害する。その結果、ヘムの毒性により原虫が死ぬが、ヒドロキシクロロキンも同様の作用を有すると考えられる。

##### 3.1.2 光学異性体の抗マラリア原虫作用（ヒドロキシクロロキン）

Warhurst DC ら (2003) (28)

培養したヒト赤血球中の *P. falciparum* クロロキン感受性 T996 株と、耐性 K1 株に対するクロロキン、(+)-ヒドロキシクロロキン、(-)-ヒドロキシクロロキンの増殖抑制作用（IC<sub>50</sub>）を調べたところ、クロロキンとの差は認められたが、(+)-ヒドロキシクロロキンと(-)-ヒドロキシクロロキン間では同等であった（表 9）。

表 9 - *P. falciparum* に対するヒドロキシクロロキン光学異性体の薬効比較

Strain	IC <sub>50</sub> (nM)	CQ index	Mean HCQ
T996 (chloroquine sensitive)			
HCQ	21.5±2.3	0.86	29.4
(+)HCQ	34.1±0.4	0.54	
(-)HCQ	32.6±2.1	0.57	
CQ	18.5±1.8	1.0	
K1 (chloroquine resistant)			
HCQ	2217±940	0.119	2326.0
(+)HCQ	2362±82	0.112	
(-)HCQ	2399±159	0.110	
CQ	264±19	1.0	

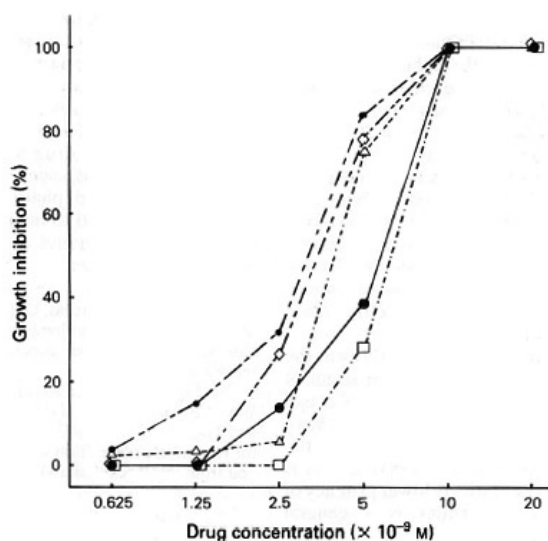
(文献 28 の Table 1 を引用)

### 3.1.3 代謝物デスエチルクロロキンの抗マラリア原虫作用

Fu S ら (1986) (31)

ヒドロキシクロロキン及びクロロキンの共通の代謝物であるデスエチルクロロキンを用い、赤血球と共に培養した *P. falciparum* クロロキン感受性 F32 株に対する増殖抑制作用を調べたところ、クロロキンと比べて弱いながらも増殖抑制作用が認められた (図 15)。

図 15 - 代謝物デスエチルクロロキンの *P. falciparum* 増殖抑制作用



◇: クロロキンラセミ体、●破線: (+)-クロロキン、△: (-)-クロロキン、□: デスエチルクロロキン、●実線: pyronaridine (文献 31 の Figure 1 を引用)

## 3.2 抗腫瘍作用

### 3.2.1 ヒト乳がん細胞 MCF-7、MDA-MB-231 の増殖抑制 (ヒドロキシクロロキン、クロロキン)

Rahim R ら (2009) (32)

Janku F ら (2011) (33)

ヒドロキシクロロキン及びクロロキンがヒト乳がん細胞 MCF-7、MDA-MB-231 の増殖を抑制することが *in vitro* 試験で確認されている (ヒドロキシクロロキンの 48 時間曝露での  $IC_{50}$  はそれぞれ  $57 \mu\text{mol/L}$ 、 $28 \mu\text{mol/L}$ ) (表 10)。

表 10 - ヒドロキシクロロキン及びクロロキンのヒト乳がん細胞増殖抑制

	MCF-7	MDA-MB-231	MCF-10A
	IC <sub>50</sub> /IC <sub>25</sub> (μmol/l)	IC <sub>50</sub> /IC <sub>25</sub> (μmol/l)	IC <sub>50</sub> /IC <sub>25</sub> (μmol/l)
CQ	33 ± 1.5*/14	11 ± 1.8*/7	365 ± 5.9/195
HCO	57 ± 1.3*/30	28 ± 1.4*/12	218 ± 3.1/90

Cells were plated in quadruplicate, and then incubated in the presence of a range of CQ or HCO concentrations for 48 h. MTS assays were performed. IC<sub>50</sub> data represent the mean ± SE of three independent experiments. Reported IC<sub>25</sub> values were estimated from concentration-response curve fits of all data obtained in all three experiments.

CQ, chloroquine; HCO, hydroxychloroquine; IC<sub>50</sub>, the drug concentration at which the response is reduced by 50%; IC<sub>25</sub>, the drug concentration at which the response is reduced by 25%.

\*Statistically significant differences ( $P < 0.05$ ) in the IC<sub>50</sub> values between MCF-7 or MDA-MB-231 cells and MCF-10A cells are indicated.

(文献 32 の Table 1 を引用)

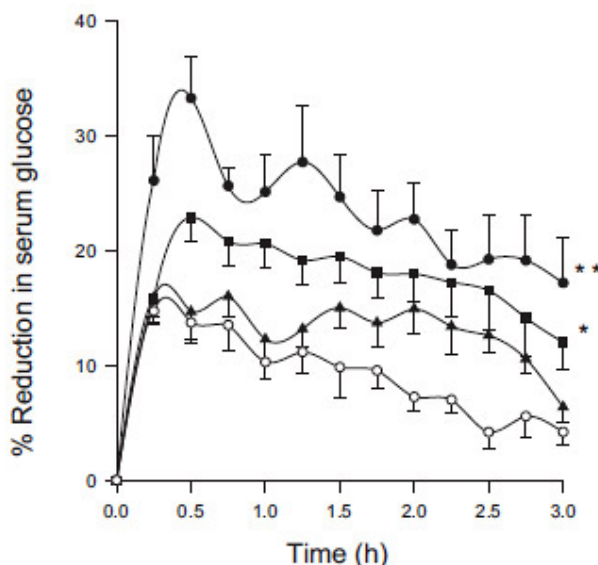
また、ヒドロキシクロロキン及びクロロキンは all-trans retinoic acid (ATRA) の MCF-7 細胞に対する増殖抑制作用を増強した(32)。このような抗腫瘍作用はヒドロキシクロロキン及びクロロキンがオートファジーを阻害することによるものと考えられている (33)。

### 3.3 血糖低下作用

#### 3.3.1 糖尿病ラットにおける血清中グルコース及びインスリンへの影響(ヒドロキシクロロキン) Emami J ら (Can J Physiol Pharmacol, 1999) (34)

ストレプトゾトシン誘導糖尿病ラット (SD、雄) にヒドロキシクロロキンを 80、120、160 mg/kg/日の用量で 10 日間経口投与した後に 0.1 IU/kg のインスリンを静脈内投与した。ヒドロキシクロロキン 120、160 mg/kg 投与群では生理食塩液投与対照群と比べ、血清中グルコースのベースラインからの低下量が有意に増加した (図 16)。

図 16 - 糖尿病ラットにおける血清中グルコース及びインスリンへの影響



糖尿病ラット (○ 生理食塩液、▲ ヒドロキシクロロキン 80 mg/kg/日、■ ヒドロキシクロロキン 120 mg/kg/日、● ヒドロキシクロロキン 160 mg/kg/日を 10 日間反復経口投与) に 0.1 IU/kg のインスリンを静脈内投与した際の血清中グルコースのベースライン値からの減少量 (%) の推移、平均±標準誤差 (n=7)、\*p<0.05 (対照群との比較)、\*\*p<0.05 (対照群及び 80 mg/kg/日群との比較) (文献 34 の Fig.2 を引用)

### 3.3.2 正常及び糖尿病ラットの肝臓細胞質フラクシオンにおけるインスリン分解阻害作用 (ヒドロキシクロロキン)

Emami J ら (Life Sci, 1999) (35)

ヒドロキシクロロキン (5 mg/mL) の存在、非存在下で、<sup>125</sup>I-インスリン及び天然インスリンを正常あるいはストレプトゾトシン誘導糖尿病ラット (SD、雄) の肝臓細胞質フラクシオンと共に 7 分間インキュベートし、インスリン分解量を測定した。ヒドロキシクロロキンの存在により Vmax が有意に低下し、Km に差はなかったことから、インスリン分解の非競合阻害が生じていると推察された (表 11)。

## 2.6.2 薬理試験の概要文

Z0188 - ヒドロキシクロロキン硫酸塩

表 11 - 正常及び糖尿病ラットの肝臓細胞質フラクシオンにおけるヒドロキシクロロキンのインスリン分解  
阻害作用

Parameters	Healthy		Diabetic	
	Control	HCQ	Control	HCQ
$V_{max}$ (ng/min/mg protein)	3.63 ± 0.46	1.97 ± 0.13 <sup>a</sup>	0.718 ± 0.06 <sup>b</sup>	0.360 ± 0.024 <sup>a,b</sup>
$K_m$ (μg/ml)	13.81 ± 2.56	17.50 ± 1.73	14.03 ± 1.46	15.75 ± 1.71
$V_{max} / K_m$ (ml/min/g)	0.265 ± 0.015	0.112 ± 0.004 <sup>a</sup>	0.05 ± 0.002 <sup>b</sup>	0.023 ± 0.001 <sup>a,b</sup>

平均±標準偏差、 $V_{max}$  : 最大反応速度、 $K_m$  :  $V_{max}$  の半分の反応速度を示す時の基質濃度、a : 対照群と比べて有意 ( $p < 0.001$ )、b : 正常動物群と比べて有意 ( $p < 0.001$ ) (Student's t-test for unpaired data) (文献 35 の TABLE 1 を引用)

## 4 安全性薬理試験

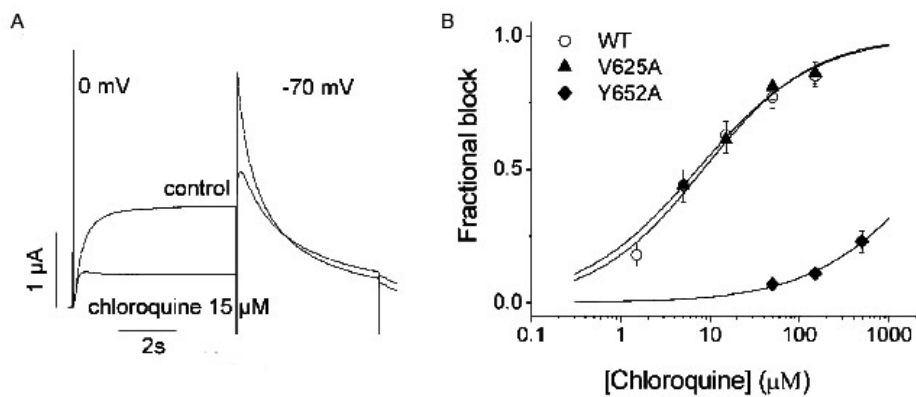
### 4.1 心血管系

#### 4.1.1 *In vitro* : アフリカツメガエル卵母細胞 hERG チャンネルへの影響 (クロロキン)

Sanchez-Chapula JA ら (2002) (19)

クロロキンはアフリカツメガエル卵母細胞に発現させた野生型 hERG チャンネルを阻害した ( $IC_{50}=8.4 \mu\text{mol/L}$ ) (図 17)。

図 17 - アフリカツメガエル卵母細胞 hERG チャンネルへの影響



A: コマンド電位 0 mV での野生型 hERG チャンネル電流トレース (クロロキン濃度は 15 μmol/L)、B: クロロキンによる hERG 電流阻害の濃度と作用の強さ (WT: 野生型、V625A: V625A 変異型、Y652A: Y652A 変異型) (文献 19 の Fig. 4A、4C を引用)

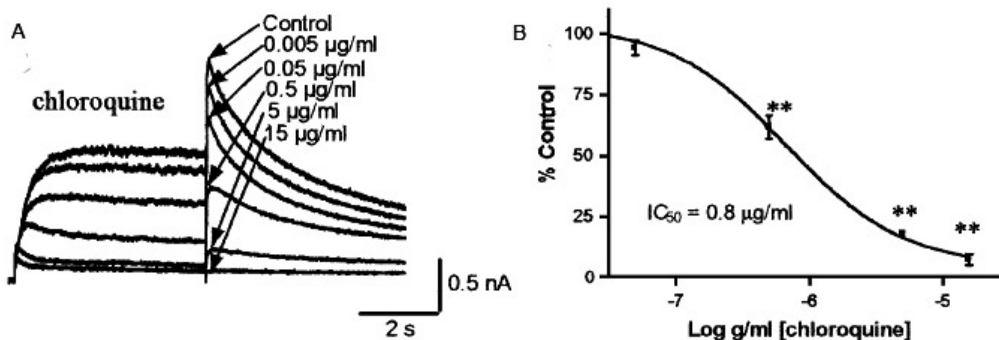
#### 4.1.2 *In vitro* : HEK293 細胞 hERG チャンネルへの影響 (クロロキン)

Traebert M ら (2004) (20)

クロロキンは HEK293 細胞に安定的に発現させた hERG チャンネルを阻害した ( $IC_{50}=2.5 \mu\text{mol/L}$ ) (図 18)。



図 18 - HEK293 細胞に発現させた hERG チャネルへのクロロキンの阻害作用



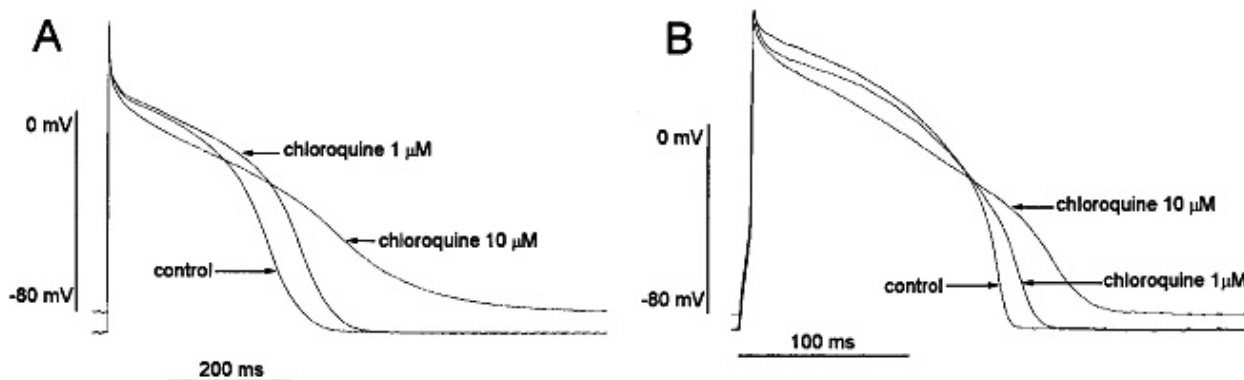
A: hERG チャネル電流トレース、B: クロロキンによる hERG 末尾電流阻害の強さと濃度の関係 (\*\* P<0.01) (文献 20 の Fig. 3D、3F を引用)

#### 4.1.3 *In vitro* : ネコのプルキンエ線維、心室筋細胞の活動電位への影響 (クロロキン)

Sanchez-Chapula JA ら (2001) (21)

ネコのプルキンエ線維では 0.3~10 µmol/L の濃度のクロロキンで最大立ち上がり速度が低下し、活動電位持続時間 (APD) が延長した。ネコの単離心室筋細胞でも同様に APD が延長し、3~10 µmol/L の濃度で静止膜電位が低下した (図 19)。

図 19 - ネコのプルキンエ線維、心室筋細胞の活動電位へのクロロキンの影響



A : プルキンエ線維、B : 心室筋細胞、1Hz 刺激 (文献 21 の Fig. 1 を引用)

#### 4.1.4 *In vitro* : ラット心筋細胞 I<sub>to</sub> への影響 (クロロキン)

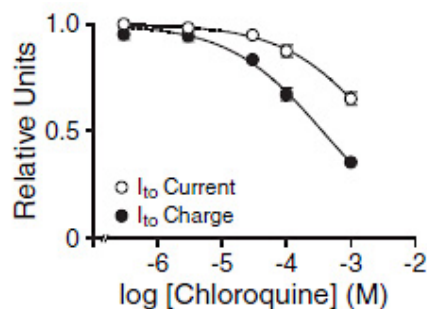
Wagner M ら (2010) (22)

## 2.6.2 薬理試験の概要文

### Z0188 - ヒドロキシクロロキン硫酸塩

ラット心臓の左室自由壁から単離した心筋細胞を用いた測定では、クロロキンは  $I_{to}$ （一過性外向き  $K^+$ 電流）振幅を減少（ $IC_{50}=4.6$  mmol/L）及び  $I_{to}$  電荷を減少（ $IC_{50}=439$   $\mu$ mol/L）させた（図 20）。

図 20 - ラット心筋細胞の  $I_{to}$  振幅、電荷へのクロロキンの影響



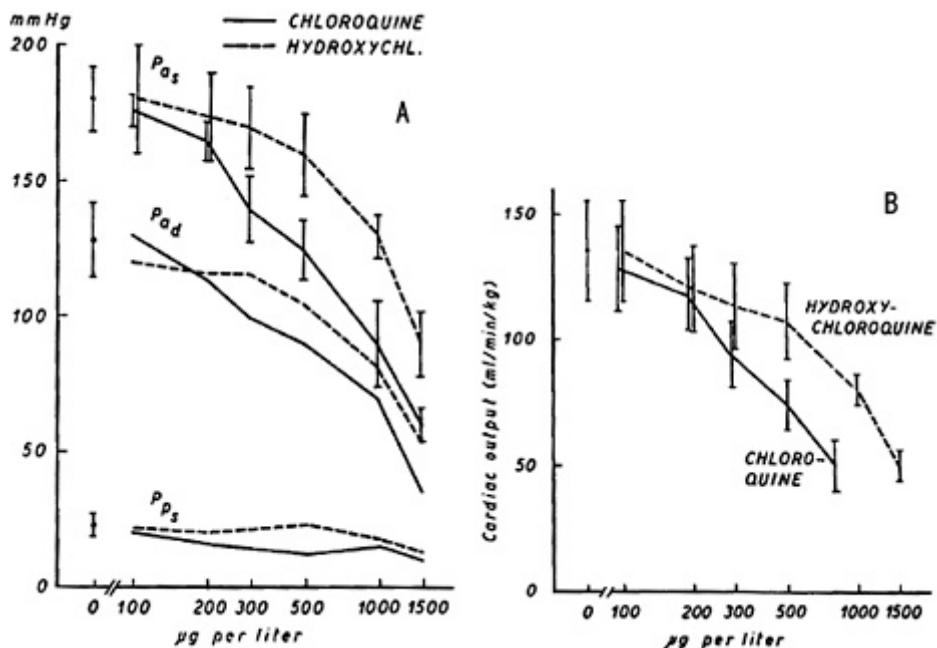
n=25~36、平均±標準誤差（文献 22 の Fig. 1B を引用）

### 4.1.5 *In vivo* : 麻酔イヌ心血管系への作用（ヒドロキシクロロキン、クロロキン）

Lansimies E ら (1971) (23)

心血管系への作用が麻酔イヌに静脈内投与して調べられている。6匹のイヌに5~10 mg/kgの用量のヒドロキシクロロキン（5%水溶液）を30分間隔で繰り返し静脈内投与（総投与量は30~45 mg/kg：硫酸塩として）し、血圧を持続的に、心拍出量及び一回拍出量の測定及び血液サンプル採取（血漿中薬物濃度測定）をそれぞれの投与15~20分後に実施した。別の群にはクロロキンを投与し（総投与量は25~50 mg/kg：リン酸塩）、2つの化合物の作用を比較した。両薬剤共に心拍数、全身血圧、心拍出量を低下させたが、クロロキンはより強い陰性変時作用を有していた（図 21）。

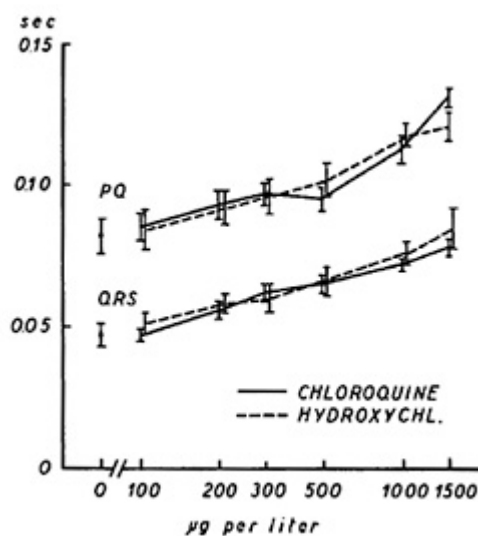
図 21 - 麻酔イヌにおける血圧、心拍出量へのヒドロキシクロロキンの影響



A : Pas: systolic pressure, Pad: diastolic pressure, PPs: systolic pulmonary arterial pressure  
 B : Cardiac output, 血漿中濃度はフリー体、n=6、平均±標準誤差（文献 23 の Fig. 1、2 を引用）

PQ 間隔及び QRS 間隔は両薬剤によって同程度延長した（200 µg/L ~ [0.6 µmol/L ~]）（図 22）。

図 22 - 麻酔イヌにおけるヒドロキシクロロキン及びクロロキンの PQ 及び QRS への影響



血漿中濃度はフリー体、n=6、平均±標準誤差（文献 23 の Fig. 4 を引用）

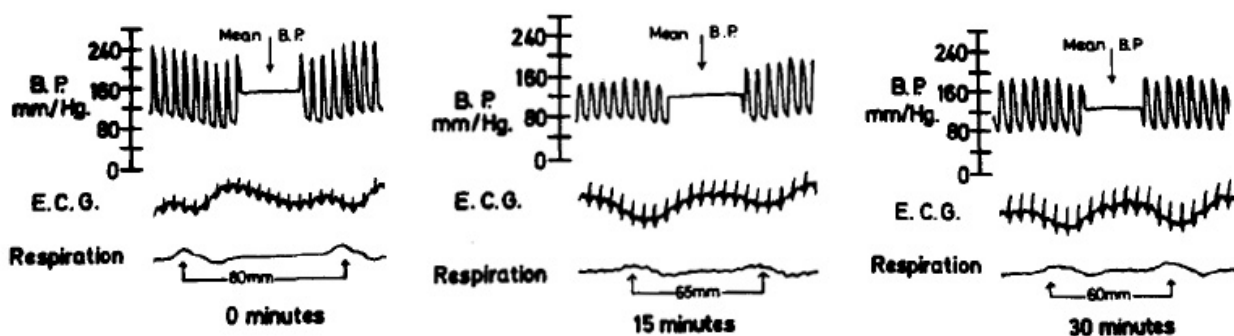
## 4.2 呼吸系

### 4.2.1 ウサギ呼吸数への影響（クロロキン）

Ayitey-Smith E ら (1974) (24)

3%クロラコース/3%ペントバルビタール水溶液の腹腔内投与（1 mg/kg）で麻酔したウサギにクロロキンを 0.63 mg/kg/min の用量で持続静脈内投与したところ、呼吸数が増加した（図 23）。

図 23 - 麻酔ウサギにおける呼吸数へのクロロキンの影響



B.P.: 血圧、E.C.G.: 第2誘導心電図、Respiration: 呼吸 (bellows pneumograph、25mm=1秒に相当)、minutes: クロロキン投与開始からの経過時間 (文献 24 の Fig. 3E を引用)

## 4.3 中枢神経系

### 4.3.1 ラットの行動への影響（クロロキン）

Amabeoku GJ (1994) (25)

ラット行動試験においてクロロキンを 2.5~10 mg/kg の用量で腹腔内投与したところ、オープンフィールド内での運動量の増加が認められ、この運動量増加はハロペリドールで抑制された（表 12）。

表 12 - ラット行動へのクロロキンの影響

クロロキン (mg/kg)	Haloperidol (mg/kg)	Motility count (Mean±SE)
0 (Vehicle)	-	46.0 ± 5.10
2.5	-	67.25 ± 7.35*
5.0	-	73.38 ± 5.80*
10.0	-	82.0 ± 5.98
5.0	0.25	16.75 ± 1.78**

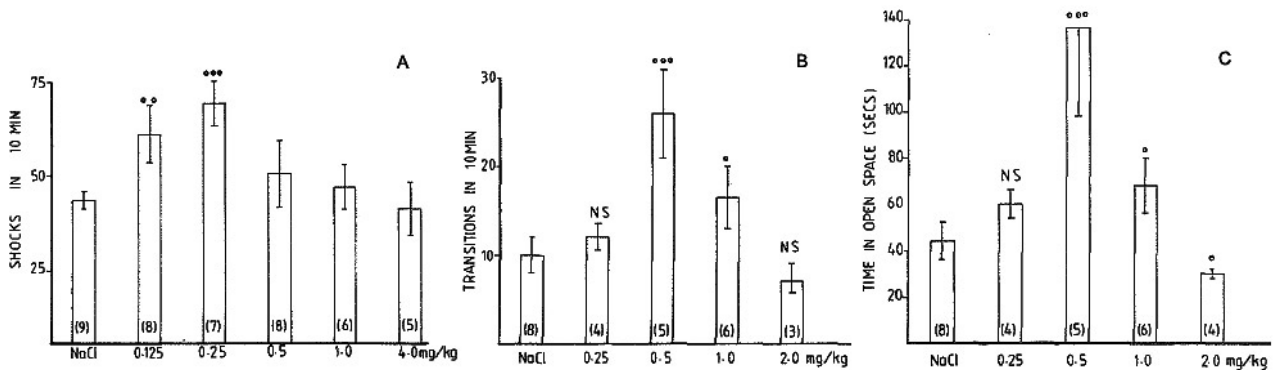
∴ 投与していない、\*：P<0.05 対照群との比較、\*\*：P<0.05 クロロキン 5.0 mg/kg 投与群との比較（文献 25 の Table II を改変）

#### 4.3.2 ラット及びマウス葛藤モデルでの葛藤抑制作用（クロロキン）

Egbe PC (1990) (26)

ラットを用いた Vogel conflict paradigm 試験において、クロロキンの 0.125 及び 0.25 mg/kg 皮下投与で電気ショックの許容数が増加した。また、マウスを用いた明暗箱試験でクロロキンの 0.5 及び 1 mg/kg 皮下投与で明暗所間移動回数及び明所滞在時間が増加した（図 24）。これらの結果から、一定の用量域でのクロロキンの葛藤抑制作用が確認された。

図 24 - ラット葛藤モデル試験におけるクロロキンの抗葛藤作用



A：ラット試験での電気ショック許容数

B：マウス試験での明暗所間移動回数（10 分間測定）

C：マウス試験での明所滞在時間（秒）

平均±標準誤差、\*：p<0.05、\*\*：p<0.01、\*\*\*：p<0.001（対照群との比較）

（文献 26 の Fig. 1、4、5 を引用）

4.3.3 マウス痙攣モデルでの作用 (クロロキン)

N'Gouemo P ら (1994) (27)

Swiss マウスにペンチレンテトラゾール (PTZ) を 85 mg/kg 皮下投与すると間代性強直性痙攣が生じるが、クロロキン (1.0、2.5、5.0、10.0、25.0、50.0 mg/kg) を PTZ 投与の 30 分前に腹腔内投与したところ、間代性痙攣発現潜時が 1.0~5.0 mg/kg では対照群と比べて延長、10~50 mg/kg では 1.0~5.0 mg/kg と比べて短縮した (表 13)。

表 13 - マウス痙攣モデルでの作用

Treatment	n	Dose (mg kg <sup>-1</sup> i.p.)	Latency to clonic seizures (min)	Convulsions		Mortality (%)
				clonic (%)	tonic (%)	
PTZ+vehicle	12	—	3.69±0.26	100	9.167	91.67
PTZ+chloroquine	12	1.0	7.71±0.31*	100	50	50
PTZ+chloroquine	12	2.5	5.37±0.21*	100	50	50
PTZ+chloroquine	12	5.0	4.81±0.21*	100	50	50
PTZ+chloroquine	12	10	3.83±0.21†	100	75	75
PTZ+chloroquine	12	25	3.67±0.19†	100	91.67	91.67
PTZ+chloroquine	12	50	3.35±0.17†	100	100	100

平均±標準誤差、\*p<0.05 (対照群との比較、ANOVA followed by Student-Newman-Keuls test)、†p<0.05 (クロロキン 1.0 及び 2.5 mg/kg 投与群との比較、ANOVA followed by Student-Newman-Keuls test) (文献 27 の Table I を引用)

## 5 薬力学的薬物相互作用試験

SLE 治療の際に併用される可能性のある薬剤との薬力学的薬物相互作用に該当する試験は実施されていない。

## 6 考察及び結論

### 薬理試験

ヒドロキシクロロキンは、抗炎症作用、免疫調節作用、抗マalaria作用、抗腫瘍作用等、幅広い薬理作用を有する。本概要に引用したヒドロキシクロロキン及びクロロキンの種々の *in vitro* 試験結果から、リソソーム内へのヒドロキシクロロキンの蓄積による pH の変化とそれに伴うリソソーム内の種々の機能の抑制、抗原提示の阻害、サイトカイン産生と放出の抑制、TLR 受容体を介する免疫反応抑制、アポトーシス誘導、アラキドン酸放出抑制等が CLE、SLE の症状改善に寄与するものと推察された。また、また *in vivo* 試験では DLE 発症イヌでの症状改善、ループスエリテマトーデスマウスでのエリテマトーデス様皮膚症状抑制、血管保護作用、腎保護作用、マウス血栓形成誘導モデルで抗血栓作用といった、本剤の CLE、SLE 治療における有用性が期待される結果が得られている。

### 安全性薬理試験

*In vivo* でクロロキンによる hERG チャネルの阻害 (HEK293 細胞の場合  $IC_{50}=2.5 \mu\text{mol/L}$ )、*in vivo* の麻酔イヌでヒドロキシクロロキン及びクロロキンによる PQ 間隔及び QRS 間隔の延長 ( $0.6 \mu\text{mol/L}$  ~) が認められた。ヒトでもヒドロキシクロロキンの過量投与による QT 間隔及び QRS 間隔の延長(36)(37) が報告されている。また、呼吸系、中枢神経系への影響を調べた試験ではクロロキンによる呼吸数の増加、間代性痙攣潜時の延長あるいは短縮等の影響が認められているので、ヒドロキシクロロキンにおいても同様の変化が生じる可能性があると思われる。この変化と薬剤の血中濃度との関連性の詳細については、まだ明らかではないが、一度に大量のヒドロキシクロロキンを服用した場合は死に至る可能性があるため(36)(37)、早急な応急手当が必要と考えられる ([Module 2.7.4 の 5.6 「過量投与」の項]参照)。また、肝臓及び腎疾患などの要因による薬剤のクリアランス低下も、血中の薬物濃度の上昇につながり、心機能異常のリスクとなりうるので注意が必要である。添付文書 (案) では 8. 過量投与の項において「過量投与時に報告された症状は頭痛、視覚障害、心血管虚脱、痙攣、低カリウム血症ならびに心肺停止により突然死に至る可能性のある QT 間隔延長、トルサード・ド・ポアント、心室頻拍、心室細動などのリズム伝導異常などであった。これらの症状は過量投与後すぐにあらわれることがあるので、異常が認められた場合は、直ちに適切な処置を行うこと。なお、乳幼児では 4-アミノキノリン化合物の過量投与は特に危険であり、1~2g でも致死的であることが報告されている。」と記載している。



## 7 図表

本文中に記載した。

## 参考文献

1. Daniel WA, Bickel MH, Honegger UE. The contribution of lysosomal trapping in the uptake of desipramine and chloroquine by different tissues. *Pharmacol Toxicol.* 1995;77(6):402-6.
2. Ohkuma S, Poole B. Fluorescence probe measurement of the intralysosomal pH in living cells and the perturbation of pH by various agents. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1978;75(7):3327-31.
3. Sundelin SP, Terman A. Different effects of chloroquine and hydroxychloroquine on lysosomal function in cultured retinal pigment epithelial cells. *APMIS.* 2002;110(6):481-9.
4. Fox RI. Mechanism of action of hydroxychloroquine as an antirheumatic drug. *Semin Arthritis Rheum.* 1993;23(2 Suppl 1):82-91.
5. Ziegler HK, Unanue ER. Decrease in macrophage antigen catabolism caused by ammonia and chloroquine is associated with inhibition of antigen presentation to T cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1982;79(1):175-8.
6. van den Borne BE, Dijkmans BA, de Rooij HH, le Cessie S, Verweij CL. Chloroquine and hydroxychloroquine equally affect tumor necrosis factor- $\alpha$ , interleukin 6, and interferon- $\gamma$  production by peripheral blood mononuclear cells. *J Rheumatol.* 1997;24(1):55-60.
7. Silva JC, Mariz HA, Rocha LF Jr, Oliveira PS, Dantas AT, Duarte AL, Pitta Ida R, Galdino SL, Pitta MG. Hydroxychloroquine decreases Th17-related cytokines in systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis patients. *Clinics (Sao Paulo).* 2013 Jun;68(6):766-71.
8. Jeong JY, Choi JW, Jeon KI, Jue DM. Chloroquine decreases cell-surface expression of tumour necrosis factor receptors in human histiocytic U-937 cells. *Immunology.* 2002;105(1):83-91.
9. Sacre K, Criswell LA, McCune JM. Hydroxychloroquine is associated with impaired interferon-alpha and tumor necrosis factor-alpha production by plasmacytoid dendritic cells in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther.* 2012;14(3):R155.
10. Ramser B, Kokot A, Metze D, Weiss N, Luger TA, Bohm M. Hydroxychloroquine modulates metabolic activity and proliferation and induces autophagic cell death of human dermal fibroblasts. *J Invest Dermatol.* 2009;129(10):2419-26.
11. Peppard JV, Rugg C, Smicker M, Dureuil C, Ronan B, Flamand O, Durand L, Pasquier B. Identifying small molecules which inhibit autophagy: a phenotypic screen using image-based high-content cell analysis. *Curr Chem Genomics Transl Med.* 2014;8(Suppl 1):3-15.
12. Hurst NP, French JK, Bell AL, Nuki G, O'Donnell ML, Betts WH, Cleland LG. Differential effects of mepacrine, chloroquine and hydroxychloroquine on superoxide anion generation, phospholipid methylation and arachidonic acid release by human blood monocytes. *Biochem Pharmacol.* 1986;35(18):3083-9.
13. Shimomatsu T, Li H, Ikeda T, Kanazawa N, Furukawa F. The effect of hydroxychloroquine on the lupus erythematosus-like skin lesions in MRL/lpr mice. *J Invest Dermatol.* 2013;133:S34.

## 2.6.2 薬理試験の概要文

Z0188 - ヒドロキシクロロキン硫酸塩

14. Mosca M, Tani C, Vagnani S, Carli L, Talarico R, Baldini C, Bombardieri S, Virdis A. Effects of in vivo treatment with hydroxychloroquine on endothelial function in a murine model of systemic lupus erythematosus. *Arthritis and Rheumatism*.2013;65(10):Suppl.S242-3.
15. Gomez-Guzman M, Jimenez R, Romero M, Sanchez M, Zarzuelo MJ, Gomez-Morales M, O'Valle F, Lopez-Farre AJ, Algieri F, Gálvez J, Perez-Vizcaino F, Sabio JM, Duarte J. Chronic hydroxychloroquine improves endothelial dysfunction and protects kidney in a mouse model of systemic lupus erythematosus. *Hypertension*. 2014;64(2):330-7.
16. Chafin CB, Regna NL, Hammond SE, Reilly CM. Cellular and urinary microRNA alterations in NZB/W mice with hydroxychloroquine or prednisone treatment. *Int Immunopharmacol*. 2013;17(3):894-906.
17. Oberkirchner U, Linder KE, Olivry T. Successful treatment of a novel generalized variant of canine discoid lupus erythematosus with oral hydroxychloroquine. *Vet Dermatol*. 2012;23(1):65-70.
18. Edwards MH, Pierangeli S, Liu X, Barker JH, Anderson G, Harris EN. Hydroxychloroquine reverses thrombogenic properties of antiphospholipid antibodies in mice. *Circulation*. 1997;96(12):4380-4.
19. Sanchez-Chapula JA, Navarro-Polanco RA, Culberson C, Chen J, Sanguinetti MC. Molecular determinants of voltage-dependent human ether-a-go-go related gene (HERG) K<sup>+</sup> channel block. *J Biol Chem*. 2002;277(26):23587-95.
20. Traebert M, Dumotier B, Meister L, Hoffmann P, Dominguez-Estevéz M, Suter W. Inhibition of hERG K<sup>+</sup> currents by antimalarial drugs in stably transfected HEK293 cells. *Eur J Pharmacol*. 2004;484(1):41-8.
21. Sanchez-Chapula JA, Salinas-Stefanon E, Torres-Jacome J, Benavides-Haro DE, Navarro-Polanco RA. Blockade of currents by the antimalarial drug chloroquine in feline ventricular myocytes. *J Pharmacol Exp Ther*. 2001;297(1):437-45.
22. Wagner M, Riepe KG, Eberhardt E, Volk T. Open channel block of the fast transient outward K<sup>+</sup> current by primaquine and chloroquine in rat left ventricular cardiomyocytes. *Eur J Pharmacol*. 2010;647:13-20.
23. Lansimies E, Laaksonen AL, Juva K, Hirvonen L. Acute cardiotoxicity of chloroquine and hydroxychloroquine in dogs. *Annales Medicinæ Experimentalis et Biologiæ Fenniae*. 1971;49:45-8.
24. Ayitey-Smith E, Boye GL, Nichani N, Lewis RA. Effect of hyperthermia on acute chloroquine toxicity in rabbits. *Eur J Pharmacol*. 1974;25:210-5.
25. Amabeoku GJ. Some behavioural effects of chloroquine in rats suggesting dopaminergic activation. *Indian J Med Res*. 1994;99:87-94.
26. Egbe PC. Anticonflict Effects of Low Doses of Chloroquine. *Arzneim.-Forsch./Drug Res*. 1990;40:847-50.
27. N'Gouemo P, Ben Attia M, Belaidi M. Effects of chloroquine on pentylenetetrazol-induced convulsions in mice. *Pharmacol Res*. 1994;30(2):99-103.
28. Warhurst DC, Steele JC, Adagu IS, Craig JC, Cullander C. Hydroxychloroquine is much less active than chloroquine against chloroquine-resistant *Plasmodium falciparum*, in agreement with its physicochemical properties. *J Antimicrob Chemother*. 2003;52(2):188-93.

## 2.6.2 薬理試験の概要文

Z0188 - ヒドロキシクロロキン硫酸塩

29. Shen N, Liang D, Tang Y, de Vries N, Tak PP. MicroRNAs-novel regulators of systemic lupus erythematosus pathogenesis. *Nat Rev Rheumatol*. 2012;8(12):701-9.
30. Foley M, Tilley L. Quinoline antimalarials: mechanisms of action and resistance and prospects for new agents. *Pharmacol Ther*. 1998;79(1):55-87.
31. Fu S, Bjorkman A, Wahlin B, Ofori-Adjei D, Ericsson O, Sjoqvist F. In vitro activity of chloroquine, the two enantiomers of chloroquine, desethylchloroquine and pyronaridine against *Plasmodium falciparum*. *Br J Clin Pharmacol*. 1986;22(1):93-6.
32. Rahim R, Strobl JS. Hydroxychloroquine, chloroquine, and all-trans retinoic acid regulate growth, survival, and histone acetylation in breast cancer cells. *Anticancer Drugs*. 2009;20(8):736-45.
33. Janku F, McConkey DJ, Hong DS, Kurzrock R. Autophagy as a target for anticancer therapy. *Nat Rev Clin Oncol*. 2011;8(9):528-39.
34. Emami J, Gerstein HC, Pasutto FM, Jamali F. Insulin-sparing effect of hydroxychloroquine in diabetic rats is concentration dependent. *Can J Physiol Pharmacol*. 1999;77(2):118-23.
35. Emami J, Pasutto FM, Mercer JR, Jamali F. Inhibition of insulin metabolism by hydroxychloroquine and its enantiomers in cytosolic fraction of liver homogenates from healthy and diabetic rats. *Life Sci*. 1999;64(5):325-35.
36. Jordan P, Brookes JG, Nikolic G, Le Couteur DG. Hydroxychloroquine overdose: Toxicokinetics and management. *Clinical Toxicology*. 1999;37(7):861-4.
37. Fung HT, Lam KK, Wong OF, Lau B, Kam CW. A case of fatal hydroxychloroquine overdose. *Hong Kong Journal of Emergency Medicine*. 2007;14(1):53-7.