ボセンタン（ACT-050088）

CTD 第 2 部（モジュール 2）：CTD の概要（サマリー）

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.2 薬理試験の概要文

アクテリオンファーマシューティカルズジャパン株式会社

目次

目次 2
表一覧 2
略語の一覧 3
1. まとめ 4
2. 効力を裏付ける試験 4
2.1 *In vitro* 薬理試験 4
2.1.1 ET_A 及び ET_B 受容体への ET-1 結合の阻害 5
2.1.2 摘出組織における ET-1 誘発血管収縮の阻害 5
2.1.3 血管平滑筋細胞増殖の阻害 5
2.1.4 血管内皮機能の改善 5
2.1.5 コラーゲン産生の抑制 5
3. 副次的薬理試験 5
4. 安全性薬理試験 6
5. 薬力学的薬物相互作用試験 6
6. 考察及び結論 6

表一覧

表 1 効力を裏付ける試験結果の概略 4

略語の一覧

略号	略さない用語	日本語訳
CHO	Chinese hamster ovary	チャイニーズハムスター卵巣
ET-1	Endothelin-1	エンドセリン-1
Ki	Inhibition constant	阻害定数
pA2	Negative logarithm of the molar concentration of antagonist that causes a 2-fold shift to the right of an agonist concentration-response curve	アゴニスト濃度－反応曲線を 2 倍高濃度側に平行移動させるのに必要なアンタゴニストのモル濃度の負の対数値
PAH	Pulmonary Arterial Hypertension	肺動脈性肺高血圧症
SSc	Systemic Sclerosis	全身性強皮症

1. まとめ

ボセンタン（トラクリア®）は、エンドセリン（ET）受容体（ET_A及びET_B）に対するデュアルアンタゴニストであり、肺動脈性肺高血圧症（PAH）の治療薬として、国内においては2005年から製造販売されている薬剤である。

ボセンタンの主な薬理作用である血管拡張作用及び抗炎症作用は、この間のPAH患者に対する治療において確認、裏付けされている。ボセンタンの有する既知の薬理作用に加え、血管内皮機能に対する有益な作用が数多く報告されていることから、全身性強皮症（SSc）に伴う皮膚潰瘍に対する効果が期待されている。このような背景のもと、SScに伴う皮膚潰瘍に対する効能追加を計画した。

ボセンタンの非臨床プロファイルについては既に公知の事実であることから、本剤の申請のために新たな非臨床試験は実施していない。したがって、皮膚潰瘍の抑制機序として想定される既知の薬理作用及び血管内皮機能に関する公表論文からの情報について、CTD2.6.2及び2.6.3に記載した。

2. 効力を裏付ける試験

2.1 *In vitro* 薬理試験

効力を裏付ける試験として引用した文献及びその概略を一覧表として表 1にまとめ、次項以降に要約を示した。

表 1 効力を裏付ける試験結果の概略

文献	対象	例数	濃度	試験方法	評価項目	結果	モジュール
Clozel 1994	遺伝子組換えET_A及びET_B受容体発現CHO細胞	n=11 (ET_A) n=3 (ET_B)	-	$[^{125}I]$ET-1及びボセンタンを細胞に同時添加、2時間後に細胞に結合した放射活性を測定	$[^{125}I]$ET-1とボセンタンのの競合拮抗作用	Ki値：ET_A=6.5 ± 0.4nM ET_B=343 ± 35nM	4.2.1.1.2
	ラット内皮剥離大動脈（ET_A介在）及び上皮剥離気管（ET_B介在）	n=11 (ET_A) n=28 (ET_B)	ボセンタン ET_A：$3x10^{-7}$～$3x10^{-4}$M ET_B：$1x10^{-6}$～$1x10^{-2}$M	ET_A：ラット大動脈のリングを作製、内皮細胞を剥離後、各濃度のボセンタンを添加、10分後にET-1による収縮反応を測定 ET_B：ラット気管のリングを作製、上皮細胞を剥離後、各濃度のボセンタンを添加、10分後にsarafotoxin S6Cによる収縮反応を測定	特異的リガンドによるET_A及びET_B介在性収縮に対するボセンタンの作用	pA2値：ET_A=7.28 ± 0.04nM ET_B=5.94 ± 0.04nM	
B-00.005 （社内レポート）	ラット血管平滑筋細胞 ラット気管平滑筋細胞	n=>3	ボセンタン 血管平滑筋：$3x10^{-6}$～$1x10^{-4}$M 気管平滑筋：$1x10^{-8}$～$1x10^{-5}$M	高血圧ラットより採取した血管平滑筋細胞及び気管平滑筋細胞にPDGF及びET-1を添加、7日後までの細胞数の変化を経時的に測定	PDGF及びET-1による細胞増殖に対するボセンタンの作用	ボセンタンは血管平滑筋細胞増殖を濃度依存的に阻害、気管平滑筋細胞増殖を$1x10^{-5}$Mで阻害	4.2.1.1.1
Porter 1998	ヒト伏在静脈	n=14	ボセンタン 10 μM	ヒト伏在静脈のorgan培養系にボセンタンを添加、14日間培養後、病理染色により血管内膜の厚さを測定	血管内膜過形成に対するボセンタンの作用	ボセンタンは血管内膜過形成を10 μMで阻害	4.2.1.1.3
Verma 2001	ヒト乳腺動脈	n=18	ボセンタン 3 μM	ヒト乳腺動脈のリングを作製、アセチルコリンの存在下、ボセンタンを添加、20分後に弛緩反応を測定	アセチルコリンによる血管拡張反応に対するボセンタンの作用	ボセンタンはアセチルコリンによる血管拡張反応を3 μMで増強	4.2.1.1.4
Dumont 2001	ヒト伏在静脈	n=12	ボセンタン 3 μM	ヒト伏在静脈のリングを作製、アセチルコリンの存在下、ボセンタンを添加、20分後に弛緩反応を測定	アセチルコリンによる血管拡張反応に対するボセンタンの作用	ボセンタンはアセチルコリンによる血管拡張反応を3 μMで増強	4.2.1.1.5
Akamata 2014	強皮症患者由来皮膚線維芽細胞	-	ボセンタン：10, 20, 40 μM	強皮症患者由来皮膚線維芽細胞にボセンタンを添加、48時間後のI型コラーゲン産生量をイムノブロット法により定量	コラーゲン産生に対するボセンタンの作用	ボセンタンはI型コラーゲン産生を濃度依存的に抑制	4.2.1.1.6
	ブレオマイシン誘発 マウス線維化モデル	-	-	ブレオマイシン誘発マウス線維化モデルにボセンタンを4週間腹腔内投与し、背部皮膚の厚さを病理染色により測定	皮膚線維化に対するボセンタンの作用	ボセンタンはマウス皮膚の線維化を抑制	

CHO：Chinese hamstar ovary, ET-1：endothelin-1, PDGF：platelet derived growth factor, -：文献に記載なし

2.1.1 ET_A 及び ET_B 受容体への ET-1 結合の阻害

チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞を用いて、ヒト ET_A 及び ET_B 受容体の安定発現細胞を作製した。これらの発現細胞のミクロソーム膜画分を用いて、放射性ヨウ素標識ヒト ET-1（^{125}I-ET-1）による結合試験を実施した。ボセンタンは、ET_A 及び ET_B 受容体への ^{125}I-ET-1 の結合を阻害し、その Ki 値（平均値±標準誤差）はそれぞれ 6.5±0.4 nM 及び 343±35 nM であった。Scatchard プロットの結果から、ボセンタンは ET_A 及び ET_B 受容体に対して競合的拮抗作用を示した[モジュール 4.2.1.1.2]。

2.1.2 摘出組織における ET-1 誘発血管収縮の阻害

ボセンタンは、ラットから摘出した内皮剥離大動脈の ET-1 刺激誘発収縮（ET_A 受容体媒介性）及び上皮剥離気管のサラフォトキシン S6c 刺激誘発収縮（ET_B 受容体媒介性）を阻害し、その pA2 値はそれぞれ 7.28±0.04（ET_A 受容体）及び 5.94±0.04（ET_B 受容体）であった。

また、摘出組織において、ボセンタンはアゴニスト活性を示さなかった[モジュール 4.2.1.1.2]。

2.1.3 血管平滑筋細胞増殖の阻害

ボセンタンは、高血圧ラットより採取した血管平滑筋細胞及び気管平滑筋細胞の ET-1 刺激による細胞増殖に対し、濃度依存的な抑制作用を示した[モジュール 4.2.1.1.1]。

2.1.4 血管内皮機能の改善

ボセンタンは、ヒト伏在静脈の組織培養系において血管内膜過形成を抑制した[モジュール 4.2.1.1.3]。また、ヒト血管においてアセチルコリンによる血管拡張作用を増強した[モジュール 4.2.1.1.4、4.2.1.1.5]。

以上、ボセンタンは血管内皮機能の改善効果を示した。

2.1.5 コラーゲン産生の抑制

ボセンタンは、SSc 患者由来皮膚線維芽細胞からのコラーゲン産生を抑制した[モジュール 4.2.1.1.6]。また、ブレオマイシン誘発マウス線維化モデルにおいて皮膚線維化を抑制した[モジュール 4.2.1.1.6]。

3. 副次的薬理試験

本剤の申請のために実施した新たな試験はない。

4. 安全性薬理試験

本剤の申請のために実施した新たな試験はない。

5. 薬力学的薬物相互作用試験

本剤の申請のために実施した新たな試験はない。

6. 考察及び結論

ボセンタンは血管拡張作用及び抗炎症作用に加え、血管内皮機能の改善作用並びに SSc 患者由来細胞からのコラーゲン産生抑制作用及び線維化モデルにおける皮膚線維化抑制作用などを有することから、SSc に伴う皮膚潰瘍に対して有効性が期待される薬剤であると考えられた。

ボセンタン（ACT-050088）

CTD 第 2 部（モジュール 2）：CTD の概要（サマリー）

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.3 薬理試験概要表

アクテリオンファーマシューティカルズジャパン株式会社

目次

目次 2
略語の一覧 3
1. 薬理試験：一覧表 4
2. 効力を裏付ける試験 5

略語の一覧

略号	略さない用語	日本語訳
CHO	Chinese hamster ovary	チャイニーズハムスター卵巣
N/A	Not applicable	該当しない

1. 薬理試験：一覧表

被験物質：ボセンタン

試験の種類	試験動物/細胞	投与方法	実施施設	報告書番号/文献	CTD（モジュール）
効力を裏付ける試験					
受容体親和性試験 ET-1 結合阻害	遺伝子組換え ET_A 及び ET_B 受容体発現 CHO 細胞	*In vitro*	Actelion Pharmaceuticals Ltd., CH	Clozel 1994	4.2.1.1.2
受容体阻害試験 血管収縮阻害	ラット内皮剥離大動脈（ET_A 介在性）及び上皮剥離気管（ET_B 介在性）	*In vitro*	Actelion Pharmaceuticals Ltd., CH	Clozel 1994	4.2.1.1.2
血管平滑筋細胞増殖阻害	ラット血管平滑筋細胞	*In vitro*	Actelion Pharmaceuticals Ltd., CH	B-00.005	4.2.1.1.1
血管内皮機能改善	ヒト伏在静脈 ヒト乳腺動脈	*In vitro*		Porter 1998 Verma 2001 Dumont 2001	4.2.1.1.3 4.2.1.1.4 4.2.1.1.5
コラーゲン産生抑制	強皮症患者由来皮膚線維芽細胞 ブレオマイシン誘発マウス線維化モデル	*In vitro* *In vivo*		Akamata 2014	4.2.1.1.6
副次的薬理試験					
N/A					
安全性薬理試験					
N/A					
薬力学的薬物相互作用試験					
N/A					

CHO：Chinese hamstar ovary、N/A：該当しない。

2. 効力を裏付ける試験

モジュール 2.6.2 薬理試験の概要文を参照。