メサラジン
リアルダ錠 1200mg

第 2 部（モジュール 2）
CTD の概要（サマリー）

2.6 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

持田製薬株式会社

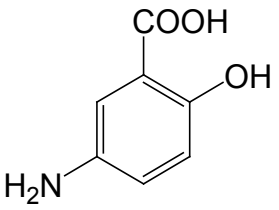
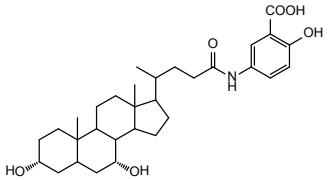
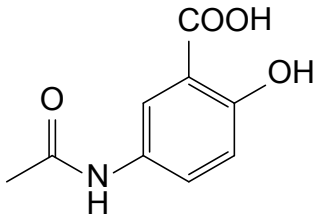
目次

2.6.2 薬理試験の概要文 5
2.6.2.1 まとめ 5
2.6.2.2 効力を裏付ける試験 5
2.6.2.2.1 有効性に関する試験 5
2.6.2.2.2 作用機序に関する試験 6
2.6.2.3 副次的薬理試験 10
2.6.2.4 安全性薬理試験 11
2.6.2.4.1 一般薬理試験 11
2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験 13
2.6.2.6 考察および結論 14
2.6.2.7 図表 14
2.6.2.8 参考文献一覧 14

薬理試験の項の略語一覧

略語	内容
5-ASA-CDCA	5-アミノサリチル酸-ケノデオキシコール酸
AAPH	2,2'-アゾビス（2-アミジノプロパン）ジヒドロクロリド
Ac-5-ASA	*N*-アセチル-5-アミノサリチル酸
ADP	アデノシン二リン酸
APTT	活性化部分トロンボプラスチン時間
$BaCl_2$	塩化バリウム
Caco-2BBe	ヒト大腸がん細胞系
Cl	クロライド
C_{max}	最高血漿中濃度
COX-1	シクロオキシゲナーゼ-1
COX-2	シクロオキシゲナーゼ-2
DLD-1	ヒト結腸がん細胞系
fMLP	ホルミルメチオニルロイシルフェニルアラニン
GAPDH	グリセルアルデヒド3リン酸脱水素酵素
HCT116	ヒト大腸上皮がん細胞系
His	ヒスチジン
HO-1	ヘムオキシゲナーゼ-1
HT29	ヒト結腸がん細胞系
IC_{50}	50%阻害濃度
IEC-6	ラット小腸上皮細胞系
IFN-γ	インターフェロンγ
IκB	κB阻害因子
IL-1β	インターロイキン1β
iNOS	誘導型一酸化窒素合成酵素
K	カリウム
K_i	結合親和性定数
LTB_4	ロイコトリエンB_4
MnSOD	マンガンスーパーオキシドジスムターゼ
MPO	ミエロペルオキシダーゼ
mRNA	伝令リボ核酸
Na	ナトリウム
NF-κB	核内因子κB
PPAR-γ	ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体γ
PT	プロトロンビン時間
Ser	セリン
T84	ヒト大腸上皮がん細胞系
TNBS	2,4,6-トリニトロベンゼンスルホン酸
TNF-α	腫瘍壊死因子-α
TPMT	チオプリンメチルトランスフェラーゼ
Tyr	チロシン
YAMC	マウス大腸上皮細胞系

薬理試験の項の化合物一覧表

一般名	化学名	構造式	由来
メサラジン	5-Aminosalicylic acid		原薬
5-アミノサリチル酸-ケノデオキシコール酸（5-ASA-CDCA）	5-Aminosalicylic acid-chenodeoxycholic acid		メサラジンとケノデオキシコール酸の複合体
N-アセチル-5-アミノサリチル酸（Ac-5-ASA）	*N*-Acetyl-5-aminosalicylic acid		メサラジンの主代謝物

2.6.2　薬理試験の概要文

2.6.2.1　まとめ

潰瘍性大腸炎は、大腸粘膜にびらんおよび潰瘍が形成される再燃と寛解を繰り返す慢性特発性の炎症性疾患であり、現在まで病因の詳細は不明である[1)-3)]。本邦においては、潰瘍性大腸炎の経口治療薬としてメサラジン製剤であるペンタサ®錠およびアサコール®錠が既に承認されている。

MD-0901 の申請では、Shire 社が欧米豪での申請に用いた公表論文およびメサラジンの作用機序を説明する上で有用と考えられる公表論文について、その成績の要約を記載した。これらの既存の成績を用いることで MD-0901 の薬理作用の評価が可能と考えられたことから、新たな試験は実施しなかった。

2.6.2.2　効力を裏付ける試験

2.6.2.2.1　有効性に関する試験[4)-7)]（表 2.6.2.2.1- 1）

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

表 2.6.2.2.1- 1　メサラジンの有効性に関する試験成績

試験項目	試験材料	投与経路および投与回数	用量	試験結果
1. 潰瘍性大腸炎モデルにおける有効性				
1) モルモットカラゲニン誘発潰瘍性大腸炎モデルにおける潰瘍数に及ぼす影響[4)]	モルモット（雄）	経口 1 日 1 回 4 週間	5-ASA-CDCA: 50, 150 mg/kg/day[a]	溶媒対照群と比較して、5-ASA-CDCA 50 および 150 mg/kg 投与により、盲腸の潰瘍数の減少および結腸の潰瘍の消失が認められた。
2) ラット酢酸誘発潰瘍性大腸炎モデルにおける潰瘍発生率に及ぼす影響[5)]	ラット（雄）	直腸内 1 日 1 回 60 日間	メサラジン: 120 mg/body/day	溶媒対照群と比較して、メサラジン 120 mg/body 投与により、大腸の潰瘍発生率の低下が認められた。
3) ラット TNBS 誘発潰瘍性大腸炎モデルにおける潰瘍の程度に及ぼす影響[6)]	ラット（雄）	経口 1 日 2 回 4 日間	メサラジン: 22.5 mg/kg×2 回/day[b]	生理食塩水投与群と比較して、メサラジン 22.5 mg/kg 投与により、結腸 MPO 活性の低下および損傷スコアの減少が認められた。
4) ラット AAPH 誘発潰瘍性大腸炎モデルにおける潰瘍の程度に及ぼす影響[7)]	ラット（雄）	直腸内 単回	メサラジン: 300 mg/kg	メサラジン 300 mg/kg 投与により、結腸 MPO 活性の低下が認められた。

a：メサラジン相当量
b：カプセル投与のため、体重を 200 g として換算したときのメサラジン量を示す。

2.6.2.2.2 作用機序に関する試験[8) -27)]（表 2.6.2.2.2- 1）

各種 *in vitro* および *in vivo* 試験の結果、メサラジンは、活性酸素種産生の抑制、活性酸素種による組織／細胞傷害の抑制、PPAR-γ 活性化、NF-κB 活性化の抑制、アラキドン酸代謝物産生の抑制およびホスホリパーゼ D 活性化を示した。*In vitro* 試験における活性酸素種産生抑制、活性酸素種による組織／細胞傷害の抑制およびアラキドン酸代謝物産生抑制の最小有効濃度はそれぞれ 1、10 および 61 µmol/L であり、MD-0901 の臨床用量投与時に達しうる大腸粘膜中薬物濃度範囲（海外の潰瘍性大腸炎患者の大腸粘膜中薬物濃度：約 12.8～88.7 ng/mg（2.7.2.2.1.2.5 項）、約 83.6～579.3 µmol/L）より低濃度であった。したがって、これらの薬理作用がメサラジンの潰瘍性大腸炎に対する有効性に寄与すると考えられた。一方、PPAR-γ 活性化および NF-κB 活性化の抑制については、*in vitro* 試験におけるメサラジンの最小有効濃度はそれぞれ 28.7 および 20 mmol/L であり、前述の MD-0901 投与時の大腸粘膜中濃度より高濃度であった。しかしながら、PPAR-γ ヘテロノックアウトマウスを用いた試験でメサラジンが潰瘍性大腸炎に有効性を示さなかったこと、および潰瘍性大腸炎患者へのメサラジン投与が大腸粘膜組織における活性化 NF-κB 陽性細胞数を減少させたことから、PPAR-γ 活性化および NF-κB 活性化の抑制も、メサラジンの有効性に寄与すると考えられた。以上の結果より、メサラジンは、これらの作用機序により、潰瘍性大腸炎に対して有効性を示すと考えられた。

表 2.6.2.2.2- 1　メサラジンの作用機序に関する試験成績（1/3）

試験項目	試験材料	投与経路および投与回数	用量または濃度	試験結果
1. 活性酸素種産生の抑制作用				
1）キサンチンオキシダーゼによる活性酸素種産生に及ぼす影響 [8]	キサンチンオキシダーゼ	*in vitro*	メサラジン: 0.001～0.1 mmol/L	メサラジン 0.001～0.1 mmol/L の添加により、キサンチンオキシダーゼによるスーパーオキシド産生の抑制が認められ、その IC_{50} 値は 2 μmol/L であった。
2）潰瘍性大腸炎患者の生検直腸粘膜における活性酸素種産生に及ぼす影響 [8]	潰瘍性大腸炎患者の生検直腸粘膜	*in vitro*	メサラジン: 0.005, 20 mmol/L	メサラジン 20 mmol/L 添加により、直腸粘膜組織からの活性酸素種産生の抑制が認められた。
3）fMLP 刺激による活性酸素種産生に及ぼす影響 [9]	健康被験者の多形核白血球	*in vitro*	メサラジン: 0.001, 0.003, 0.01, 0.03, 0.1, 0.3, 1, 3, 10 mmol/L[a]	メサラジン 0.03 mmol/L 以上の添加により、fMLP 刺激によるスーパーオキシド産生の抑制が認められ、その IC_{50} 値は 70 μmol/L であった。
4）*t*-ブチルヒドロペルオキシド刺激による過酸化脂質産生に及ぼす影響 [10]	健康被験者の赤血球	*in vitro*	メサラジン: 0.1, 1, 10, 100, 1000 μmol/L	メサラジン 10 μmol/L 以上の添加により、*t*-ブチルヒドロペルオキシド刺激によるマロンジアルデヒド産生の抑制が認められた。
5）MnSOD mRNA 発現およびタンパク産生に及ぼす影響 [11]	ラット小腸上皮由来 IEC-6 細胞	*in vitro*	メサラジン: 0.01306, 0.1306, 1.306, 6.53, 13.06 mmol/L	メサラジン 0.1306 mmol/L 以上の添加により、MnSOD mRNA 発現の増加が認められた。
			メサラジン: 6.53 mmol/L	メサラジン 6.53 mmol/L の添加により、MnSOD タンパク産生の増加が認められた。
6）MnSOD タンパク産生に及ぼす影響 [11]	ラット	直腸内 1 日 1 回 4 日間	メサラジン: 133.3 mg/body/day	無処置群と比較して、メサラジン 133.3 mg/body 投与により、大腸粘膜における MnSOD タンパク産生の増加が認められた。
7）IL-1β および IFN-γ 刺激による iNOS mRNA 発現およびタンパク産生に及ぼす影響 [12]	ヒト大腸がん由来 Caco-2BBe 細胞	*in vitro*	メサラジン: 10 mmol/L	メサラジン 10 mmol/L 添加により、iNOS mRNA 発現増加の抑制が認められた。
			メサラジン: 0.5, 1, 3, 5, 10 mmol/L	メサラジン 3 mmol/L 以上の添加により、iNOS タンパク産生増加の抑制が認められた。
8）HO-1 mRNA 発現に及ぼす影響 [13]	ヒト結腸がん由来 DLD-1 細胞	*in vitro*	メサラジン: 0.01, 0.1, 1 mmol/L	メサラジン 0.01 mmol/L 以上の添加により、HO-1 mRNA 発現の増加が認められた。
9）ラット TNBS 誘発潰瘍性大腸炎モデルにおける HO-1 タンパク産生に及ぼす影響 [14]	ラット（雄）	結腸内 1 日 1 回 3 日間	メサラジン: 75 mg/kg/day	溶媒対照群と比較して、メサラジン 75 mg/kg 投与により、結腸の HO-1 タンパク産生の増加が認められた。

a：参考文献 9）のグラフから読み取った概算値

表 2.6.2.2.2- 1　メサラジンの作用機序に関する試験成績（2/3）

試験項目	試験材料	投与経路および投与回数	用量または濃度	試験結果
2. 活性酸素種による組織／細胞傷害の抑制作用				
1）ペルオキシニトリルによるアポトーシスに及ぼす影響[15]	ヒト大腸上皮がん由来 T84 細胞	*in vitro*	メサラジン: 10, 25, 50, 100, 200 µmol/L	メサラジン 10 µmol/L 以上の添加により、ペルオキシニトリル誘導アポトーシスの抑制が認められた。
2）次亜塩素酸による細胞傷害に及ぼす影響[16]	ヒト大腸上皮がん由来 HCT116 細胞	*in vitro*	メサラジン: 250 µmol/L	メサラジン 250 µmol/L の添加により、次亜塩素酸誘導 GAPDH 活性低下の抑制が認められた。
3）ラット虚血再灌流傷害モデルにおける胃粘膜病変面積に及ぼす影響[17]	ラット（雄）	胃内灌流	メサラジン: 30 mmol/L	無処置群と比較して、メサラジン 30 mmol/L の胃内灌流により、胃粘膜病変面積の減少が認められた。
4）ラット虚血再灌流傷害モデルにおけるチオバルビツール酸反応性物質量に及ぼす影響[18]	ラット（雄）	経口、静脈内単回	メサラジン: 1 g/kg	無処置群と比較して、メサラジン 1 g/kg の静脈内および経口投与により、虚血再灌流によるチオバルビツール酸反応性物質量増加の抑制が認められた。
5）イヌ虚血再灌流傷害モデルにおける心筋毛細血管透過性に及ぼす影響[19]	イヌ（雌雄）	急速および持続静脈内	メサラジン: 12 mg/kg（急速静脈内）に続いて、105 µg/kg/min×60 min（持続静脈内）	溶媒対照群と比較して、メサラジンの静脈内投与により、心筋毛細血管透過性亢進の抑制が認められた。
3. PPAR-γ 活性化				
1）PPAR-γ ヘテロノックアウトマウス TNBS 誘発潰瘍性大腸炎モデルにおける潰瘍の程度に及ぼす影響[20]	マウス（雄）	経口 1 日 1 回 7 日間	メサラジン: 100 mg/kg/day	野生型マウスへのメサラジン投与により、結腸病理組織学的検査スコア、MPO 産生および TNF-α mRNA 発現の低下が認められるのに対して、PPAR-γ ヘテロノックアウトマウスへのメサラジン投与はこれらのパラメータに影響を及ぼさなかった。
2）PPAR-γ mRNA 発現およびタンパク産生に及ぼす影響[20]	ヒト結腸がん由来 HT29 細胞	*in vitro*	メサラジン: 30 mmol/L	メサラジン 30 mmol/L の添加により、PPAR-γ mRNA 発現の増加および PPAR-γ タンパク産生の増加が認められた。
3）PPAR-γ に対する結合能[20]	PPAR-γ リガンド結合ドメイン	*in vitro*	メサラジン: 0～100 mmol/L	メサラジンは PPAR-γ に対する結合能を示し、その K_i 値は 28.7 mmol/L であった。また、その結合部位は、His-323、His-449、Tyr-473 および Ser-289 と考えられた。

表 2.6.2.2.2- 1　メサラジンの作用機序に関する試験成績（3/3）

試験項目	試験材料	投与経路および投与回数	用量または濃度	試験結果
4. NF-κB 活性化の抑制作用				
1）TNF-α 刺激による IκB の分解および NF-κB の核内移行に及ぼす影響 [21]	マウス大腸上皮由来 YAMC 細胞	*in vitro*	メサラジン: 2.5, 5, 20, 50, 100, 200 mmol/L	メサラジン 20 mmol/L 以上の添加により、TNF-α 刺激による IκB の分解の抑制が認められた。
			メサラジン: 20 mmol/L	メサラジン 20 mmol/L の添加により、TNF-α 刺激による NF-κB の核内移行の抑制が認められた。
2）TNF-α 刺激による IκB リン酸化に及ぼす影響 [22]	マウス大腸上皮由来 YAMC 細胞	*in vitro*	メサラジン: 50 mmol/L	メサラジン 50 mmol/L の添加により、TNF-α 刺激により誘導された IκB キナーゼ α による IκB リン酸化の抑制が認められた。
3）潰瘍性大腸炎患者における大腸粘膜組織活性化 NF-κB 陽性細胞数に及ぼす影響 [23]	潰瘍性大腸炎患者の生検結腸粘膜	経口 8 週間	メサラジン: 1.5～4.5 g/day	投与前に比較して、メサラジン 1.5～4.5 g/日投与により大腸粘膜組織における活性化 NF-κB 陽性細胞数の減少が認められた。
5. アラキドン酸代謝物産生の抑制作用				
1）大腸粘膜細胞における LTB_4 産生に及ぼす影響 [24]	健康被験者の生検結腸粘膜細胞	*in vitro*	メサラジン: 1, 100 μmol/L	メサラジン 100 μmol/L 添加により、カルシウムイオノフォア刺激による LTB_4 産生の抑制が認められた。
2）潰瘍性大腸炎患者におけるアラキドン酸代謝物産生に及ぼす影響 [25]	潰瘍性大腸炎患者の生検結腸粘膜細胞	直腸内 4 週間	メサラジン: 4 g/day	メサラジン 4 g/日投与により、大腸粘膜細胞におけるアラキドン酸代謝物の産生量の減少が認められた。
3）COX-1 活性および COX-2 活性に及ぼす影響 [26]	ヒト全血	*in vitro*	メサラジン: 不明	メサラジン添加により、ヒト全血の COX-1 および COX-2 活性の阻害が認められ、その IC_{50} 値はそれぞれ 410 μmol/L および 61 μmol/L であった。
6. ホスホリパーゼ D 活性化				
1）ホスホリパーゼ D 活性に及ぼす影響 [27]	マウス腹腔マクロファージ	*in vitro*	メサラジン: 5, 10, 15, 20, 25 mmol/L	メサラジン 20 mmol/L 以上の添加により、ホスホリパーゼ D 活性の上昇が認められた。

2.6.2.3　副次的薬理試験 [8) -10)]（表 2.6.2.3- 1）

メサラジンのヒトでの主代謝物 Ac-5-ASA はキサンチンオキシダーゼ活性を阻害したが、その IC_{50} 値（1000 µmol/L）はメサラジンの IC_{50} 値（2 µmol/L）に比較して、500 倍高濃度であった。また、Ac-5-ASA は、高濃度においても fMLP で刺激したヒト多形核白血球における活性酸素種産生（10 mmol/L）およびヒト赤血球における *t*-ブチルヒドロペルオキシド刺激による過酸化脂質産生（1 mmol/L）に影響を及ぼさなかった。これらの試験成績から、メサラジンの臨床での有効性にヒトでの主代謝物 Ac-5-ASA が寄与する可能性は低いと考えられた。

表 2.6.2.3- 1　副次的薬理試験成績

試験項目	試験材料	投与経路および投与回数	濃度	試験結果
1. 代謝物の薬理作用				
1）キサンチンオキシダーゼによる活性酸素種産生に及ぼす影響 [8)]	キサンチンオキシダーゼ	*in vitro*	メサラジン: 0.001～0.1 mmol/L Ac-5-ASA: 0.1～2 mmol/L[a]	Ac-5-ASA 0.1～2 mmol/L の添加により、キサンチンオキシダーゼによるスーパーオキシド産生の抑制が認められたが、その IC_{50} 値（1000 µmol/L）はメサラジンの IC_{50} 値（2 µmol/L）に比較して 500 倍高濃度であった。
2）fMLP 刺激による活性酸素種産生に及ぼす影響 [9)]	健康被験者の多形核白血球	*in vitro*	メサラジン: 0.001, 0.003, 0.01, 0.03, 0.1, 0.3, 1, 3, 10 mmol/L[b] Ac-5-ASA: 0.001, 0.003, 0.01, 0.03, 0.1, 0.3, 1, 3, 10 mmol/L[b]	Ac-5-ASA は高濃度（10 mmol/L）においても、ヒト多形核白血球における fMLP 刺激によるスーパーオキシド産生に影響を及ぼさなかった（メサラジンの IC_{50} 値は 70 µmol/L）。
3）*t*-ブチルヒドロペルオキシド刺激による過酸化脂質産生に及ぼす影響 [10)]	健康被験者の赤血球	*in vitro*	メサラジン: 0.1, 1, 10, 100, 1000 µmol/L Ac-5-ASA: 0.1, 1, 10, 100, 1000 µmol/L	Ac-5-ASA は高濃度（1000 µmol/L）においても、ヒト赤血球における *t*-ブチルヒドロペルオキシド刺激によるマロンジアルデヒド産生に影響を及ぼさなかった（メサラジンは 10 µmol/L 以上で抑制）。

a：参考文献 8）のグラフから読み取った概算値
b：参考文献 9）のグラフから読み取った概算値

2.6.2.4 安全性薬理試験

2.6.2.4.1 一般薬理試験[28)]（表 2.6.2.4.1- 1）

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

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

表 2.6.2.4.1- 1　一般薬理試験成績

試験項目	動物[a]	性	例数	投与経路	用量または濃度	試験結果
1. 一般症状および行動に及ぼす影響						
1）行動観察	マウス	雄	6	経口	100, 300, 1000 mg/kg	100, 300 mg/kg：影響なし。1000 mg/kg: 反応性増大、触覚反応、痛覚反応および耳介反射の亢進。
2. 中枢神経系に及ぼす影響						
1）自発運動量	マウス	雄	10	経口	100, 300, 1000 mg/kg	100, 300 mg/kg：影響なし。1000 mg/kg：自発運動量の減少傾向。
2）麻酔増強作用（hexobarbital 誘発）	マウス	雄	10	経口	100, 300, 1000 mg/kg	100, 300, 1000 mg/kg：影響なし。
3）痙攣誘発作用 a）pentetrazol 誘発	マウス	雄	10	経口	100, 300, 1000 mg/kg	100, 300, 1000 mg/kg：影響なし。
b）電撃誘発	マウス	雄	10	経口	100, 300, 1000 mg/kg	100, 300, 1000 mg/kg：影響なし。
4）抗痙攣作用 a）pentetrazol 誘発痙攣	マウス	雄	10	経口	100, 300, 1000 mg/kg	100, 300, 1000 mg/kg：影響なし。
b）最大電撃痙攣	マウス	雄	10	経口	100, 300, 1000 mg/kg	100, 300, 1000 mg/kg：影響なし。
5）鎮痛作用（酢酸 writhing）	マウス	雄	10	経口	100, 300, 1000 mg/kg	100, 300, 1000 mg/kg：影響なし。
6）正常体温	ラット	雄	6	経口	100, 300, 1000 mg/kg	100, 300, 1000 mg/kg：影響なし。
3. 呼吸・循環器系に及ぼす影響						
1）呼吸、血圧、血流量、心拍数および心電図	麻酔イヌ	雄	3	十二指腸内	100, 300, 1000 mg/kg	100, 300, 1000 mg/kg：影響なし。
4. 自律神経系および平滑筋に及ぼす影響						
1）摘出回腸 a）自動運動	ウサギ	雄	3	*in vitro*	0.001, 0.01, 0.1 mmol/L	0.001, 0.01, 0.1 mmol/L：影響なし。
b）agonist 収縮（acetylcholine、histamine および $BaCl_2$ 収縮）	モルモット	雄	3	*in vitro*	0.001, 0.01, 0.1 mmol/L	0.001, 0.01, 0.1 mmol/L：影響なし。
5. 消化器系に及ぼす影響						
1）炭末輸送能	マウス	雄	10	経口	100, 300, 1000 mg/kg	100, 300, 1000 mg/kg：影響なし。
2）胃内容物排泄能	ラット	雄	6	経口	100, 300, 1000 mg/kg	100, 300, 1000 mg/kg：影響なし。
3）胃液分泌	ラット	雄	6	十二指腸内	100, 300, 1000 mg/kg	100, 300, 1000 mg/kg：影響なし。
6. 水および電解質代謝に及ぼす影響						
1）尿量および尿中電解質	ラット	雄	6	経口	100, 300, 1000 mg/kg	100 mg/kg：影響なし。 300 mg/kg：尿中 Na および Cl 排泄量の増加、尿量および尿中 K 排泄量の増加傾向。1000 mg/kg：尿量および尿中 Na、K および Cl 排泄量の増加。
7. 血液系に及ぼす影響						
1）血液凝固（PT および APTT）	ラット	雄	6	経口	100, 300, 1000 mg/kg	100, 300, 1000 mg/kg：影響なし。
2）血小板凝集（アラキドン酸、コラーゲンおよび ADP 凝集）	ウサギ	雄	3-5	*in vitro*	0.001, 0.01, 0.1 mmol/L	0.001, 0.01, 0.1 mmol/L：影響なし。
3）溶血試験	ウサギ	雄	3	*in vitro*	0.001, 0.01, 0.1 mmol/L	0.001, 0.01, 0.1 mmol/L：影響なし。

a：マウス; ICR 系、ラット; Sprague-Dawley 系、モルモット; Hartley 系、ウサギ;日本白色種、イヌ;ビーグル犬を用いた。

2.6.2.5　薬力学的薬物相互作用試験[29),30)]（表 2.6.2.5- 1）

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

表 2.6.2.5- 1　薬力学的薬物相互作用試験成績

試験項目	試験材料	投与経路および投与回数	用量または濃度	試験結果
1. アザチオプリンおよび6-メルカプトプリンとの相互作用				
1) TPMT活性に及ぼす影響[29)]	遺伝子組換えヒトTPMT	*in vitro*	メサラジン: 0.15～5 mmol/L[a]	メサラジンはアザチオプリンおよび6-メルカプトプリンの代謝酵素の1つであるTPMT活性を高濃度で阻害し、そのIC_{50}値は1.24 mmol/Lであった。
2) クローン病患者の血中アザチオプリンおよび6-メルカプトプリン活性代謝物、および白血球数に及ぼす影響[30)]	クローン病患者	経口 8週間	メサラジン: 4 g/day（1 g×4回）およびアザチオプリン: 平均2.0 mg/kg/dayまたは6-メルカプトプリン: 平均1.2 mg/kg/day	メサラジンの投与開始前と比較して、アザチオプリンおよび6-メルカプトプリンの活性代謝物である6-チオグアニンヌクレオチドの血中濃度の上昇が、投与後2、4および8週で認められた。また、メサラジンの併用投与により、白血球数が3.5×10^9/L以下の白血球減少症例が10例中5例で認められ、白血球数が3.0×10^9/L未満の白血球減少症例が10例中1例で認められた。

a：参考文献29）のグラフから読み取った概算値

2.6.2.6 考察および結論

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

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

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

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

2.6.2.7 図表

本文中に記載した。

2.6.2.8 参考文献一覧

1）Sartor RB. Mechanisms of disease: pathogenesis of Crohn’s disease and ulcerative colitis. Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol. 2006; 3: 390-407. ＜資料番号 4.3.3-1＞

2）岡本晋，杉野吉則，日比紀文. 8. 潰瘍性大腸炎. 綜合臨牀. 2008; 57: 2385-92. ＜資料番号 4.3.3-2＞

3）吉岡篤史，岡本隆一，渡辺守. 潰瘍性大腸炎・クローン病の病因・病態. 綜合臨牀. 2007; 56: 2435-40. ＜資料番号 4.3.3-3＞

4）Goto M, Okamoto Y, Yamamoto M, Aki H. Anti-inflammatory effects of 5-aminosalicylic acid conjugates with chenodeoxycholic acid and ursodeoxycholic acid on carrageenan-induced colitis in guinea-pigs. J Pharm Pharmacol. 2001; 53: 1711-20. ＜資料番号 4.3.3-4＞

5）Rodrigues LV, Ferreira FV, Regadas FS, Matos D, Viana GS. Morphologic and morphometric analyses of acetic acid-induced colitis in rats after treatment with enemas from *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Aroeira do Sertão). Phytother Res. 2002; 16: 267-72. ＜資料番号 4.3.3-5＞

6）Tozaki H, Fujita T, Odoriba T, Terabe A, Okabe S, Muranishi S, et al. Validation of a pharmacokinetic model of colon-specific drug delivery and the therapeutic effects of chitosan capsules containing 5-aminosalicylic acid on 2,4,6-trinitrobenzenesulphonic acid-induced colitis in rats. J Pharm Pharmacol. 1999; 51: 1107-12. ＜資料番号 4.3.3-6＞

7）Tamai H, Levin S, Gaginella TS. Induction of colitis in rats by 2-2’-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride. Inflammation. 1992; 16: 69-81. ＜資料番号 4.3.3-7＞

8）Simmonds NJ, Millar AD, Blake DR, Rampton DS. Antioxidant effects of aminosalicylates and potential new drugs for inflammatory bowel disease: assessment in cell-free systems and inflamed human colorectal biopsies. Aliment Pharmacol Ther. 1999; 13: 363-72. ＜資料番号 4.3.3-8＞

9）Nielsen OH, Bouchelouche PN, Berild D, Ahnfelt-Rønne I. Effect of 5-aminosalicylic acid and analogous substances on superoxide generation and intracellular free calcium in human neutrophilic granulocytes. Scand J Gastroenterol. 1993; 28: 527-32. ＜資料番号 4.3.3-9＞
10）Greenfield SM, Boswell DJ, Punchard NA, Thompson RP. The effects of 5-aminosalicylic acid and acetyl-5-aminosalicylic acid on lipid peroxidation in erythrocytes and prostaglandin production by mononuclear cells. Aliment Pharmacol Ther. 1992; 6: 671-83. ＜資料番号 4.3.3-10＞
11）Valentine JF. Mesalamine induces manganese superoxide dismutase in rat intestinal epithelial cell lines and in vivo. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2001; 281: G1044-50. ＜資料番号 4.3.3-11＞
12）Kennedy M, Wilson L, Szabó C, Salzman AL. 5-Aminosalicylic acid inhibits iNOS transcription in human intestinal epithelial cells. Int J Mol Med. 1999; 4: 437-43. ＜資料番号 4.3.3-12＞
13）Cavicchi M, Gibbs L, Whittle BJ. Heme oxygenase-1 (HO-1) induction in human intestinal epithelial cells by sulphasalazine and 5-aminosalicylic acid: A potential therapeutic mechanism. Gastroenterology. 2000; 118: A804. ＜資料番号 4.3.3-13＞
14）Horváth K, Varga C, Berkó A, Pósa A, László F, Whittle BJ. The involvement of heme oxygenase-1 activity in the therapeutic actions of 5-aminosalicylic acid in rat colitis. Eur J Pharmacol. 2008; 581: 315-23. ＜資料番号 4.3.3-14＞
15）Sandoval M, Liu X, Mannick EE, Clark DA, Miller MJ. Peroxynitrite-induced apoptosis in human intestinal epithelial cells is attenuated by mesalamine. Gastroenterology. 1997; 113: 1480-8. ＜資料番号 4.3.3-15＞
16）McKenzie SM, Doe WF, Buffinton GD. 5-Aminosalicylic acid prevents oxidant mediated damage of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase in colon epithelial cells. Gut. 1999; 44: 180-5. ＜資料番号 4.3.3-16＞
17）Kvietys PR, Smith SM, Grisham MB, Manci EA. 5-Aminosalicylic acid protects against ischemia/reperfusion-induced gastric bleeding in the rat. Gastroenterology. 1988; 94: 733-8. ＜資料番号 4.3.3-17＞
18）Lutz J, Augustin AJ. Ischemia reperfusion damage in the gut and its treatment with drugs of the aminosalicylic acid group. Adv Exp Med Biol. 1994; 361: 327-32. ＜資料番号 4.3.3-18＞
19）Hansen PR, Svendsen JH, Høst NB, Hansen SH, Haunsø S. Effect of 5-aminosalicylic acid on myocardial capillary permeability following ischaemia and reperfusion. Cardiovasc Res. 1992; 26: 798-803. ＜資料番号 4.3.3-19＞
20）Rousseaux C, Lefebvre B, Dubuquoy L, Lefebvre P, Romano O, Auwerx J, et al. Intestinal antiinflammatory effect of 5-aminosalicylic acid is dependent on peroxisome proliferator-activated receptor-γ. J Exp Med. 2005; 201: 1205-15. ＜資料番号 4.3.3-20＞
21）Kaiser GC, Yan F, Polk DB. Mesalamine blocks tumor necrosis factor growth inhibition and nuclear factor κB activation in mouse colonocytes. Gastroenterology. 1999; 116: 602-9. ＜資料番号 4.3.3-21＞
22）Yan F, Polk DB. Aminosalicylic acid inhibits IκB kinase α phosphorylation of IκBα in mouse intestinal epithelial cells. J Biol Chem. 1999; 274: 36631-6. ＜資料番号 4.3.3-22＞
23）Bantel H, Berg C, Vieth M, Stolte M, Kruis W, Schulze-Osthoff K. Mesalazine inhibits activation of transcription factor NF-κB in inflamed mucosa of patients with ulcerative colitis. Am J Gastroenterol. 2000; 95: 3452-7. ＜資料番号 4.3.3-23＞
24）Schmidt C, Fels T, Baumeister B, Vetter H. The effect of 5-aminosalicylate and para-aminosalicylate on the synthesis of prostaglandin E_2 and leukotriene B_4 in isolated colonic mucosal cells. Curr Med Res Opin. 1996; 13: 417-25. ＜資料番号 4.3.3-24＞
25）Zijlstra FJ, van Dijk AP, Ouwendijk RJ, van Riemsdijk-Overbeeke IC, Wilson JH. Eicosanoid

production by the mucosa in inflammatory bowel disease after 5-ASA treatment. Agents Actions. 1993; 38 Spec No: C122-4. ＜資料番号 4.3.3-25＞

26） Warner TD, Giuliano F, Vojnovic I, Bukasa A, Mitchell JA, Vane JR. Nonsteroid drug selectivities for cyclo-oxygenase-1 rather than cyclo-oxygenase-2 are associated with human gastrointestinal toxicity: A full *in vitro* analysis. Proc Natl Acad Sci U S A. 1999; 96: 7563-8. ＜資料番号 4.3.3-26＞

27） Gómez-Muñoz A, O'Brien L, Salh B, Steinbrecher UP. 5-Aminosalicylate stimulates phospholipase D activity in macrophages. Biochim Biophys Acta. 2001; 1533: 110-8. ＜資料番号 4.3.3-27＞

28） 田中和彦, 岩崎栄, 宇土研二, 長瀬孝彦, 狩野真由美, 山口和政, 他. Mesalazine（5-Aminosalicylic acid）の一般薬理作用. 応用薬理. 1994; 48: 225-38. ＜資料番号 4.3.3-28＞

29） Szumlanski CL, Weinshilboum RM. Sulphasalazine inhibition of thiopurine methyltransferase: possible mechanism for interaction with 6-mercaptopurine and azathioprine. Br J Clin Pharmacol. 1995; 39: 456-9. ＜資料番号 4.3.3-29＞

30） Lowry PW, Franklin CL, Weaver AL, Szumlanski CL, Mays DC, Loftus EV, et al. Leucopenia resulting from a drug interaction between azathioprine or 6-mercaptopurine and mesalamine, sulphasalazine, or balsalazide. Gut. 2001; 49: 656-64. ＜資料番号 4.3.3-30＞