目次

2.4 非臨床試験の概括評価 2
2.4.1 非臨床試験の概括評価 3
2.4.2 薬理試験 5
2.4.3 薬物動態試験 9
2.4.4 毒性試験 12
2.4.5 総括及び結論 15
2.4.6 参考文献一覧 17

2.4　非臨床試験の概括評価

本項で使用した略号及び用語の定義一覧を表 2.4-1 に示す。

表 2.4-1　略号及び用語の定義一覧

略号及び用語	定義
AUC	Area under the concentration-time curve：濃度－時間曲線下面積
BCRP	Breast cancer resistance protein
Caco-2	Human colon carcinoma cell line Caco-2：ヒト結腸がん細胞株 Caco-2（ヒト結腸上皮細胞 Caco-2）
CFTR	Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator：嚢胞性線維症膜貫通調節因子
cGMP	Cyclic guanosine monophosphate：サイクリック GMP
GC-C	Guanylate cyclase C：グアニル酸シクラーゼ C
GC-C KO	GC-C receptor knockout：GC-C 受容体ノックアウト
IBS	Irritable bowel syndrome：過敏性腸症候群
IBS-C	IBS with constipation：便秘型 IBS
Ki	Inhibition constant：阻害定数
LC-MS/MS	Liquid chromatography tandem mass spectrometry：液体クロマトグラフィーータンデム質量分析
MM-419447	Active metabolite of linaclotide (Des-Tyr^{14})：リナクロチドの活性代謝物
MRP2	Multidrug resistance associated protein 2
MRP3	Multidrug resistance associated protein 3
MRP4	Multidrug resistance associated protein 4
OATP1B1	Organic Anion Transporting Polypeptide 1B1
OATP1B3	Organic Anion Transporting Polypeptide 1B3
OATP2B1	Organic Anion Transporting Polypeptide 2B1
OCTN1	Organic Cation/Carnitine Transporter 1
PEPT1	Peptide transporter 1
P-gp	P-glycoprotein
PKG II	Protein kinase G II：蛋白質キナーゼ G II
PRS	Partial restraint stress：部分拘束ストレス
RIA	Radioimmunoassay：ラジオイムノアッセイ
ST	E. coli heat-stable bacterial enterotoxin：大腸菌耐熱性エンテロトキシン
T84	Human colon carcinoma cell line T84：ヒト結腸がん細胞株 T84（ヒト結腸上皮細胞 T84）
$t_{1/2}$	Half-life：半減期
TNBS	Trinitrobenzenesulfonic acid：トリニトロベンゼンスルホン酸
WAS	Water avoidance stress：水回避ストレス

2.4.1　非臨床試験の概括評価

過敏性腸症候群（IBS）は，その症状を説明し得る器質的疾患を伴わず，腹痛・腹部不快感と便通異常を主体とし，それら消化器症状が長期間持続若しくは再発・改善を繰り返す機能性疾患である[Longstreth, 2006]。また，IBS では，その症状により行動が制限されることで社会的活動に支障を来たし，QOL が著しく低下することが報告されている[Gralnek, 2000; Kaji, 2010]。IBS の背景に特異な病態生理学的異常は認められないが，その症状発現には消化管運動性の変調，内臓知覚過敏，脳腸相関の異常，遺伝的・環境的要因，感染の後遺症，心理社会的障害等の様々な要因が関与していると考えられている[Longstreth, 2006]。

IBS は，特定の時点の便形状に基づいて 4 つの IBS サブタイプ（便秘型 IBS［IBS-C］，下痢型 IBS，混合型 IBS 及び分類不能型 IBS）に分類される。このうち，IBS-C は，硬便又は兎糞状便が 25%以上あり，軟便（泥状便）又は水様便が 25%未満のものと定義されている[Longstreth, 2006]。

海外における調査では, 一般人口における IBS の有病率は約 11%と報告されている[Lovell, 2012]。国内においても，IBS の有病率は 13%程度と報告されており，海外と同程度と見做されている[Kubo, 2011; Miwa, 2008]。なお，Kubo らの調査報告から，成人日本人における IBS-C の有病率を算出すると 2.9%であった[Kubo, 2011]。

国内においては，ポリカルボフィルカルシウム及びトリメブチンマレイン酸塩が IBS に対する効能・効果を有している。IBS-C 患者の便秘症状に対しては，これらの薬剤に加えて，主に浸透圧性下剤や刺激性下剤による薬物療法が行われている。しかしながら，これらの薬剤では効果が不十分な場合や副作用に注意が必要な場合があり，特に刺激性下剤では長期使用による効果の減弱や腹痛の副作用が報告されている[Akiho, 2014; Cash, 2007; Fukudo, 2015; Khan, 2010]。以上のことから，有効性や安全性に優れ，かつ長期使用が可能な，IBS-C に対する効能・効果を有する薬剤の開発が医療現場から望まれている。

グアニル酸シクラーゼ C（GC-C）受容体は，ヒトやげっ歯類を含む哺乳類の腸管腔上皮細胞に高レベルで発現しており[Carrithers, 1996; Krause, 1994]，内因性ホルモンであるグアニリン（15 アミノ酸）やウログアニリン（16 アミノ酸），及び大腸菌耐熱性エンテロトキシンペプチド（ST ペプチド，19 アミノ酸）により活性化され，細胞内セカンドメッセンジャーであるサイクリック GMP（cGMP）の濃度を増加させる[Currie, 1992; Giannella, 1995; Hamra, 1993]。細胞内 cGMP は，主に蛋白質キナーゼ G II（PKG II）による cGMP 依存性リン酸化を介して，嚢胞性線維症膜貫通調節因子（CFTR）を活性化することにより，腸管腔内への塩化物イオンや重炭酸イオン分泌を増大させる[Pfeifer, 1996; Selvaraj, 2000; Vaandrager, 1998; Vaandrager, 2002]。その結果，腸管分泌が増加し腸管輸送能が亢進すると考えられる。また，cGMP は，腸管を起始部とする求心性神経の発火を抑制することにより，内臓痛を抑制する可能性が報告されている[Castro, 2011; Silos-Santiago, 2013]。

リナクロチド（以下，本薬）は，Ironwood 社によって見出され，国内においてアステラス製薬株式会社が開発中の GC-C 受容体作動薬である。本薬は，GC-C 受容体の内因性リガンドであるグアニリン及びウログアニリンと類似した 14 個のアミノ酸から成る合成ペプチド化合物である。

今回の申請にあたり，本薬の薬理学的，薬物動態学的及び毒性学的特性を明らかにする目的で以下の各種試験を実施した。

効力を裏付ける試験として，本薬の GC-C 受容体に対する結合親和性，活性化作用及び選択性，腸管分泌促進作用，小腸輸送能促進作用並びにストレスや大腸炎によって引き起こされる大腸痛覚過敏に対する改善作用を検討した。また，GC-C 受容体ノックアウト（GC-C KO）マウスを用いて，これらの作用が GC-C 受容体を介して発現することを確認した。副次的薬理試験として，ヒトで検出された代謝物及び原薬中若しくは製剤中に含まれる不純物の薬理作用についても検討した。更に，安全性薬理試験としてコアバッテリー試験（心血管系及び呼吸系に及ぼす影響）を実施した。コアバッテリー試験は，医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）適合試験として，安全性薬理試験ガイドライン（ICH S7A）に準拠して実施した。非臨床薬物動態に関しては，一連の *in vitro* 及び *in vivo* 試験によりその吸収，分布，代謝及び排泄を評価した。マウス，ラット及びカニクイザルにおいて，本薬及び活性代謝物である MM-419447（Des-Tyr^{14}）の循環血中濃度を測定し，薬物動態学的評価を行った。また，ラットにおける胆汁及び尿中濃度を測定し，本薬の排泄について検討した。更に，動物及びヒトの試料を用いた *in vitro* 代謝試験並びに *in vitro* 代謝物検索を実施して動物とヒトの間での代謝プロファイルの類似点及び相違点を明らかにした。本薬の非臨床における安全性については，マウス，ラット及びカニクイザルを用いた単回投与毒性試験及び反復投与毒性試験（マウスは最長 26 週間投与，カニクイザルは最長 39 週間投与），細菌及び哺乳類細胞を用いた遺伝毒性試験，マウス及びラットを用いたがん原性試験，マウス，ラット及びウサギを用いた生殖発生毒性試験，マウス及びウサギを用いた幼若毒性試験並びにその他の毒性試験（不純物の遺伝毒性及び反復投与毒性試験）により評価した。すべての重要な毒性試験は，GLP 適合試験として医薬品毒性試験法ガイドラインあるいは ICH ガイドラインに準拠して実施した。

本資料中（2.4.2.1.5 の正常ラットの試験を除く）で表示されている本薬の濃度・用量は，本薬のペプチド含有量及び純度で補正されている。しかし，一部の薬理試験及び薬物動態試験，並びにすべての安全性薬理試験及び毒性試験において，実際に投与された本薬の濃度・用量は，表示より 3%程度少ない。これは当初，本薬の定量試験に用いられたリナクロチド標準品の純度が，関連ペプチドを含めた状態で算出されていたためである。ただし，毒性試験のうち 2.4.4.6 の幼若マウスを用いた試験のみ，本薬の実際の投与用量を記載した。

上記，原薬中リナクロチド含量の表示変更の詳細については，3.2.S.4.4 に記載されている。

2.4.2　薬理試験

2.4.2.1　効力を裏付ける試験

2.4.2.1.1　GC-C 受容体に対する結合親和性及び選択性

GC-C受容体を発現している各種細胞や膜標品及びGC-C受容体特異的な放射性リガンドを用いて，本薬及びその主要代謝物である MM-419447 の GC-C 受容体親和性を検討した（2.6.2.2.1）。ヒト結腸上皮細胞（T84 細胞），ラット小腸粘膜細胞及びラット小腸刷子縁膜において，本薬は GC-C 受容体に対して親和性を示し，その阻害定数（Ki）値はそれぞれ 1.69，4.3 及び 2.63 nmol/L であった。同様に，MM-419447 は T84 細胞及びラット小腸刷子縁膜において高い GC-C 受容体親和性を示し，その Ki 値はそれぞれ 2.82 及び 4.95 nmol/L であった。また，本薬及び MM-419447 の T84 細胞における GC-C 受容体親和性は，pH の影響を受けなかった（2.6.2.2.1.2）。更に，GC-C KO マウスの小腸粘膜細胞に対する ^{125}I-リナクロチドの結合量は，野生型マウスの 10%以下であった。このことから，GC-C 受容体が本薬の主たる標的分子であることが示された（2.6.2.2.1.5）。

本薬は，検討した 50 種類の各種受容体，イオンチャネル及びトランスポーターに対して，10 μmol/L の濃度で明らかな親和性を示さなかった（2.6.2.2.2）。

2.4.2.1.2　cGMP 濃度増加作用（*in vitro*）

T84 細胞を用いて，本薬及び MM-419447 の細胞内 cGMP 濃度増加作用を検討した。本薬及び MM-419447 は，それぞれ 100 及び 10 nmol/L 以上の濃度で，細胞内 cGMP 濃度を有意に増加させた（2.6.2.2.3.1）。また，本薬（0.01～1 μmol/L）はヒト結腸上皮細胞（Caco-2 細胞）において，細胞内並びに頂端膜側及び側底膜側細胞外液の cGMP 濃度を増加させた（2.6.2.2.3.2）。

2.4.2.1.3　腸管分泌促進作用

幼若マウスに本薬を単回経口投与し，1 時間後に摘出した腸管の重量と体重の比を腸管分泌の指標として，本薬の腸管分泌促進作用を検討した。本薬は 2.5 μg/kg 以上の用量群で，溶媒投与群と比較して腸管分泌を有意に促進した（2.6.2.2.4.1）。

ラットの小腸（近位，中位，遠位）及び大腸にループを作製し，ループ中に貯留した腸液量及び cGMP 量を測定することにより，本薬の腸管分泌促進作用及び cGMP 濃度増加作用を検討した。すべての部位において，本薬（ループ内に 5 μg を直接投与）は腸管分泌を増加させ，その変化は溶媒投与群と比較して近位及び中位小腸並びに大腸において有意であった。同様に，本薬は腸管ループ内に貯留した腸液中の cGMP 濃度を増加させ，その変化は溶媒投与群と比較してすべての部位において有意であった（2.6.2.2.4.2）。また，野生型マウスにおいて，本薬（ループ内に 5 μg を直接投与）は腸管分泌促進作用及び cGMP 濃度増加作用を示したが，GC-C KO マウスにおいては，いずれに対しても有意な作用を示さなかった。このことから，本薬の腸管分泌促進作用及び cGMP 濃度増加作用は，GC-C 受容体を介することが示唆された（2.6.2.2.4.3）。

2.4.2.1.4 小腸輸送能促進作用

マウス及びラットにおける本薬の小腸輸送能促進作用を，経口投与した活性炭末の小腸内移動距離を指標に検討した。

雌性及び雄性マウスにおける本薬（6～100 μg/kg po）の単回投与による作用を検討したところ，それぞれ 25 μg/kg 以上の用量群及び 100 μg/kg の用量群で，溶媒投与群と比較して有意な小腸輸送能促進作用を示した（2.6.2.2.5.1）。同様の方法を用いて，雌性マウスにおける本薬（60 及び 250 μg/kg po）の 1 日 1 回 5 日間反復投与による小腸輸送能促進作用を検討したところ，単回投与時と同程度の促進作用が認められた（2.6.2.2.5.1）。

雌性及び雄性ラットにおいて，本薬は 10 μg/kg po 以上の用量群において，溶媒投与群と比較して有意な小腸輸送能促進作用を示した（2.6.2.2.5.2）。

本薬（100 μg/kg po）は雌性及び雄性いずれの野生型マウスにおいても有意な小腸輸送能促進作用を示したが，GC-C KO マウスでは有意な作用を示さなかった。このことから，本薬の小腸輸送能促進作用は，GC-C 受容体を介することが示唆された（2.6.2.2.5.3）。

2.4.2.1.5 ストレス誘発大腸痛覚過敏に対する改善作用

あらかじめ腹筋に筋電図電極を装着させたラットを用い，大腸内に挿入したバルーンの伸展時に認められる筋電図活動の変化を腹痛反応の指標として，正常時の大腸痛覚若しくはストレスによって引き起こされる大腸痛覚過敏に対する本薬の作用を検討した。

正常ラットの腹痛反応に対して，本薬（10，30 及び 100 μg/kg po）は有意な作用を示さなかった（2.6.2.2.6.1）。

ラットにおける水回避ストレス（WAS）誘発大腸痛覚過敏モデルにおいて，本薬の大腸痛覚過敏改善作用を検討した。本薬は 3 μg/kg po で，WAS 負荷後 24 時間に認められる腹痛反応の増強を抑制し，非ストレス負荷時と同程度のレベルにまで腹痛反応を低下させた。一方，本薬の 10 μg/kg po 投与群では，WAS 誘発大腸痛覚過敏に対する有意な抑制効果が認められなかった（2.6.2.2.6.2）。なお，本検討と並行して実施した非ストレス負荷時の腹痛反応評価において，本薬 3 μg/kg po では有意な作用を示さなかったが，30 μg/kg po で有意に腹痛反応を増加させた。

ラット部分拘束ストレス（PRS）負荷モデルにおいては，15 mmHg 負荷時に認められる腹痛反応を，本薬は 3 μg/kg po で有意に抑制した。なお，本薬の 0.3 及び 30 μg/kg 投与群では，有意な抑制作用は認められなかった（2.6.2.2.6.3）。

2.4.2.1.6 大腸炎誘発大腸痛覚過敏に対する改善作用

あらかじめ腹筋に筋電図電極を装着させたラット及びマウスを用い，大腸内に挿入したバルーンの伸展時に認められる筋電図活動の変化を腹痛反応の指標として，正常時の大腸痛覚若しくは大腸炎によって引き起こされる大腸痛覚過敏に対する本薬の作用を検討した。

トリニトロベンゼンスルホン酸（TNBS）誘発大腸炎モデルラットにおける腹痛反応（大腸痛覚過敏）に対する，本薬（0.01，0.03，0.3，3 及び 30 μg/kg po）の作用を検討した。その結果，本薬は 0.01，0.03 及び 0.3 μg/kg で有意な抑制作用を示したが，3 及び 30 μg/kg では有意な作用を示さなかった。なお，本薬はいずれの用量においても，大腸伸展時の腸管コンプライアンスに対して有意な影響を及ぼさなかった（2.6.2.2.6.3 及び 2.6.2.2.6.4）。

野生型及び GC-C KO マウスを用いて，TNBS 非処置時の大腸痛覚若しくは TNBS 大腸炎誘発大腸痛覚過敏に対する本薬の作用を検討した。TNBS 非処置野生型マウスにおいて，本薬の 0.3 μg/kg po 投与群で腹痛反応が小さくなる傾向が認められたが，いずれの大腸伸展容量においても溶媒投与群に対する有意差は認められなかった。TNBS 非処置 GC-C KO マウスにおいては，本薬は 0.3 μg/kg po で 0.12 mL 大腸伸展時の腹痛反応を有意に抑制した。一方，野生型及び GC-C KO マウスのいずれにおいても，TNBS 大腸炎に伴う大腸痛覚過敏が認められ，本薬（0.01 μg/kg po）は野生型マウスにおける大腸痛覚過敏に対してのみ有意な改善効果を示した。このことから，本薬の大腸痛覚過敏抑制作用は GC-C 受容体を介して発現することが示唆された（2.6.2.2.6.5）。

2.4.2.1.7 便性状に対する作用

マウス及びラットの便性状を指標に，本薬（50～200 mg/kg po）の下痢誘発作用を検討した。本薬は単回投与により，雌性マウス及び雌性ラットにおける軟便，無形状便若しくは水様便の発生頻度を 50 mg/kg 以上の用量で増加させた。また，雄性マウス及び雄性ラットにおいて，本薬は 200 mg/kg で軟便，無形状便若しくは水様便の発生頻度を増加させた。本薬の 5 日間反復投与は，雌性及び雄性マウスの軟便，無形状便若しくは水様便の発生頻度を 100 mg/kg（1 日 2 回）及び 200 mg/kg（1 日 1 回）の用量において増加させたが，体重に対して影響を及ぼさなかった（2.6.2.2.7）。

2.4.2.2 副次的薬理試験

2.4.2.2.1 代謝物の薬理作用

本薬の主要代謝物である MM-419447（13 個のアミノ酸から成るペプチド）は，ヒト，マウス及びラットの腸液を用いた *in vitro* 試験において検出されており，本薬が腸管腔内でカルボキシペプチダーゼ A により加水分解されることにより生成される。MM-419447 は，*in vitro* 試験（GC-C 受容体親和性及び細胞内 cGMP 濃度増加）において，本薬と同程度の活性を示した（2.6.2.2.1 及び 2.6.2.2.3.1）。

In vivo 試験として，MM-419447 の幼若マウス及びラット小腸における腸管分泌促進作用，並びにラットにおける小腸輸送能促進作用（活性炭末法）を検討した。MM-419447（2.5～10 μg/kg po）は幼若マウスにおける腸管分泌を有意に促進し，その作用は本薬による促進作用と同程度であった（2.6.2.3.1）。次に，ラットの小腸（近位，中位，遠位）にループを作製し，ループ中に貯留した腸液量を測定することにより，MM-419447 の腸管分泌促進作用を検討したところ，MM-419447 及び本薬（それぞれループ内に 5 μg を直接投与）はすべての部位において有意に腸管分泌を上昇させた（2.6.2.3.1）。

ラットにおいて，MM-419447 は 12.5 μg/kg po 以上の用量で有意な小腸輸送能促進作用を示し，その作用は同用量の本薬による作用と同程度であった（2.6.2.3.1）。

一方，本薬をラット腸液と反応させることにより生成される還元型リナクロチド及び 4 つの短鎖ペプチド断片は，いずれも T84 細胞における細胞内 cGMP 濃度に対して作用を示さなかった（2.6.2.3.1）。

2.4.2.2.2 原薬中若しくは製剤中に含まれる不純物の薬理作用

原薬中若しくは製剤中に含まれる主な不純物として，本薬の 類縁物質１＊, 類縁物質２＊, 類縁物質３＊, 類縁物質４＊及び 類縁物質５＊の薬理作用を，T84 細胞における細胞内 cGMP 濃度の増加を指標として検討した。その結果，本薬の 類縁物質1＊ は, 明らかな cGMP 濃度増加作用を示さなかった（2.6.2.3.2）。類縁物質2＊及び類縁物質3＊は GC-C 受容体活性化作用を示したが，10 μmol/L における細胞内 cGMP 濃度はそれぞれ本薬の 69.8%及び 26.0%であった（2.6.2.3.2）。類縁物質４＊は本薬と同程度の GC-C 受容体活性化作用を示した。類縁物質５＊も GC-C 受容体活性化作用を示したが，10 μmol/L で認められた細胞内 cGMP 濃度の増加は，本薬による増加に比べて小さかった（2.6.2.3.2）。

2.4.2.2.3 ラット術後小腸輸送能低下に対する作用

ラットにおける術後小腸輸送能低下モデルを用いて，経口投与した活性炭末の小腸内移動距離を指標に，本薬の小腸輸送能改善作用を検討した。開腹及び腸管の物理的な刺激により引き起こされる小腸輸送能低下に対して，本薬は 10 μg/kg po で有意な改善効果を示した（2.6.2.3.3）。

2.4.2.2.4 ラットオピオイド誘発小腸輸送能低下に対する作用

ラットにおけるモルヒネ誘発小腸輸送能低下モデルを用いて，経口投与した活性炭末の小腸内移動距離を指標に，本薬の小腸輸送能改善作用を検討した。モルヒネ（2.5 mg/kg ip）を投与することにより引き起こされる小腸輸送能低下に対して，本薬は 25 μg/kg po 以上の用量群で有意な改善効果を示した（2.6.2.3.4）。

＊：新薬承認情報提供時に置き換えた。

2.4.2.2.5　ラット結腸粘膜透過性に対する作用

正常及び PRS 誘発結腸粘膜透過性亢進モデルラットを用いて，本薬の粘膜透過性に対する作用を検討した。本薬（0.3，1，3 及び 10 μg/kg po）は非ストレス負荷時の結腸粘膜透過性及び PRS 負荷により増大した結腸粘膜透過性のいずれに対しても有意な影響を及ぼさなかった（2.6.2.3.5）。

2.4.2.3　安全性薬理試験

コアバッテリー試験として，心血管系及び呼吸系に対する作用を検討した。*In vitro* 電気生理学的試験において，本薬（10，100 μmol/L）は HEK293 細胞における hERG チャネルを介するカリウム電流に明らかな作用を示さなかった（2.6.2.4.1.2.1）。麻酔イヌに本薬（0.2～5 mg/kg）を単回静脈内持続投与した際の心血管系及び呼吸系に及ぼす影響を検討したが，血圧，心拍数，心電図及び呼吸系パラメータに薬物投与の影響は認められなかった（2.6.2.4.1.2.2）。

2.4.2.4　薬力学的薬物相互作用試験

薬力学的薬物相互作用試験は実施しなかった。

2.4.3　薬物動態試験

2.4.3.1　生物学的分析法

In vitro 及び *in vivo* 試験における本薬及び薬理活性を有する一次代謝物 MM-419447 の濃度測定には，ラジオイムノアッセイ（RIA）法又は液体クロマトグラフィー - タンデム質量分析（LC-MS/MS）法を用いた。LC-MS/MS 法は感度が高く，多くの試験で使用した。RIA 法は開発初期に実施した試験で使用したが，LC-MS/MS 法を同様の試験に適用して得られた試験結果との間に大きな違いは認められなかった（2.6.4.2）。

2.4.3.2　吸収

本薬は Caco-2 細胞での膜透過係数が小さく，かつ溶解性が高いことから Biopharmaceutics Classification System クラス 3 に分類される（2.7.2.2.1.1）。本薬を経口投与したときの本薬及び MM-419447 の全身曝露量は，検討したすべての動物種（マウス，ラット及びカニクイザル）において極めて少なく，本薬の経口バイオアベイラビリティは低かった（2.6.4.3.1.1，2.6.4.3.1.2.1 及び 2.6.4.3.1.3）。本薬をラットに経口投与したときの本薬及び MM-419447 の門脈血中濃度は低く，消化管における吸収率が低いことが本薬の経口アベイラビリティが低い一因と考えられた（2.6.4.3.1.2.2）。マウス，ラット及びカニクイザルに本薬を静脈内投与したとき，本薬の半減期（$t_{1/2}$）はそれぞれ 0.605 時間，0.328～0.565 時間及び 1.50～1.69 時間であり，本薬は循環血から速

やかに消失した。したがって，経口投与時にわずかに吸収された本薬もまた速やかに消失すると考えられた（2.6.4.3.1.1，2.6.4.3.1.2.1 及び 2.6.4.3.1.3）。

MM-419447 をラットに静脈内及び経口投与したときの薬物動態プロファイルは本薬と類似しており，経口吸収性は低く，全身からの消失も速かった（2.6.4.3.1.2.3）。ヒトにおいても動物と同様に経口投与後の本薬及び MM-419447 の血漿中濃度は極めて低かった（2.7.2.2.2）。

Caco-2 細胞等を用いた検討では，本薬は P-gp の基質ではないと考えられた。また，本薬は OATP2B1 に対して評価した最高濃度（15.3 μg/mL）で 55%阻害を示したが，その他の取り込みトランスポーター（OATP1B1，OATP1B3，PEPT1 及び OCTN1）及び排出トランスポーター（P-gp，BCRP，MRP2，MRP3 及び MRP4）に対して阻害作用を示さなかった（2.7.2.2.1.4 及び 2.7.2.2.1.5）。

2.4.3.3　分布

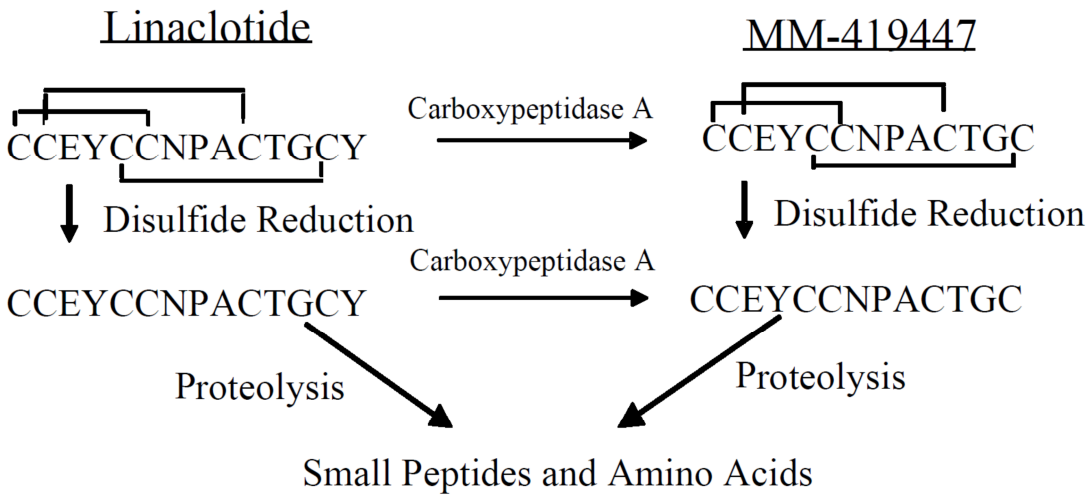
本薬及び MM-419447 は，いずれも消化管で低分子ペプチド及び天然型アミノ酸に代謝される。天然型アミノ酸等は再利用されて内因性ペプチドに取り込まれるため，放射能標識体を用いたマスバランス試験等の解釈は困難であると考えられる。そこで，放射能標識体を用いた組織分布及び排泄試験は実施しなかった。本薬をマウスに 1 日 1 回 26 週間経口投与した毒性試験で採取した脳及び脂肪組織試料の測定結果から，本薬及び MM-419447 の組織移行性は低く，蓄積性もないと考えられた（2.6.4.4.1）。

2.4.3.4　代謝

マウス及びラットから採取した腸液並びに人工胃液を用いて *in vitro* での代謝安定性を評価したところ，本薬は人工胃液中で安定であったが，マウス及びラット腸液中では薬理活性を有する一次代謝物である MM-419447 が生成し，その後速やかに低分子ペプチドに代謝された（2.6.4.5.1.4 及び 2.6.4.5.1.5）。したがって，本薬を経口投与したときの主消失経路は消化管内における代謝と考えられた。同様に，本薬はヒトの腸液においても速やかに代謝された（2.7.2.2.1.2）。哺乳類の消化管に広く存在するカルボキシペプチダーゼ A 等の酵素を用いた評価から，本薬はカルボキシペプチダーゼ A によって C 末端チロシン残基が脱離した MM-419447 に代謝されることが示された（2.6.4.5.1.1）。また，本薬は消化管内に存在するグルタチオン及びグルタレドキシン系の酵素群により分子内に存在するジスルフィド結合が切断された後，蛋白質分解酵素等によって低分子ペプチドに代謝され，更に天然型アミノ酸まで分解されると考えられた（図 2.4-1，2.6.4.5.1.3 及び 2.6.4.5.1.7）。

なお，ヒト腸ミクロソームを用いた代謝試験で本薬は代謝されなかったことから，CYP 分子種によっては代謝されないと考えられた（2.7.2.2.1.3）。また，本薬及び MM-419447 の各ヒト CYP 分子種（CYP1A2, 2B6, 2C8, 2C9, 2C19, 2D6, 2E1 及び 3A4/5）に対する阻害作用は弱く，CYP1A2, 2B6 及び 3A4/5 に対する誘導作用も示さなかった（2.6.4.5.2.1，2.6.4.5.2.2 及び 2.6.4.5.2.3）。

図 2.4-1　本薬の代謝経路



2.4.3.5　排泄

本薬をラットに経口投与したとき，活性ペプチド（本薬及び MM-419447）としては糞中にほとんど排泄されなかった（1%未満）（2.6.4.6.1.1）。本薬の経口投与後の全身曝露は低いが，体内にわずかに吸収された本薬の消失経路を明らかにする目的で，本薬を腎結紮ラット及び正常ラットに静脈内投与したときの薬物動態プロファイルを評価した。腎結紮ラットの全身クリアランスは正常ラットの約 20 分の 1 と極めて小さく，本薬の全身からの消失は主として腎臓からの排泄と考えられた。また，胆汁中にも活性ペプチドが検出されたことから胆汁排泄も一部関与すると考えられた（2.6.4.6.1.2）。

2.4.3.6　活性代謝物の全身曝露

本薬及び活性を有する代謝物である MM-419447 は消化管内でジスルフィド結合が開裂すると速やかに低分子ペプチド及び天然型アミノ酸に分解される（図 2.4-1）。そこで，代謝物の全身曝露については，MM-419447 のみを評価した。ヒトに本薬を経口投与したときの MM-419447 の血漿中濃度は，すべての試料で定量下限（2～3 ng/mL）未満であった（表 2.6.4-22）。一方，毒性試験では，検討したすべての動物種（マウス，ラット，ウサギ及びカニクイザル）で血漿中に MM-419447 が検出された（2.6.7.3）。

2.4.4　毒性試験

2.4.4.1　単回投与毒性

ラット（投与量：0，0.5，2.5 及び 5 mg/kg）及びカニクイザル［投与量（雄のみ）：0.5，1.5，3 及び 5 mg/kg］に本薬を単回経口投与した際の毒性を検討したところ，ともに概略の致死量は 5 mg/kg 超であった。ラットでは特記すべき所見は認められなかったが，カニクイザルでは 1.5 mg/kg 以上の用量で過度の薬理学的作用と考えられる便性状の変化（無形状便，水様便），腹部膨満，摂餌量の低下が認められた（2.6.6.2.1.1 及び 2.6.6.2.2.1）。

ラット（投与量：0，0.5，2.5 及び 5 mg/kg）及びカニクイザル（投与量：0.5，2.5，5 及び 15 mg/kg）に本薬を単回静脈内投与した際の毒性を検討したところ，概略の致死量はそれぞれ 5 mg/kg 超，15 mg/kg 超であった。ラットではいずれの用量においても特記すべき所見は認められなかったが，カニクイザルでは 5 mg/kg 以上の用量で過度の薬理学的作用と考えられる便性状の変化（無形状便）が認められた（2.6.6.2.1.2 及び 2.6.6.2.2.2）。

2.4.4.2　反復投与毒性

マウスにおける 13 週間経口投与毒性試験（投与量：0，20，100 及び 200 mg/kg/日）では，100 mg/kg/日以上の投与群で死亡が認められた。主な標的臓器は消化管（胃及び盲腸），腎臓，心臓及びリンパ系組織（脾臓及び胸腺）と考えられた。2 週間の休薬による回復性が確認された。無毒性量は 20 mg/kg/日と推定された（2.6.6.3.1）。

マウスにおける 26 週間経口投与毒性試験（投与量：0，5，20 及び 100/80 mg/kg/日）では，100 mg/kg/日群の投与初期に死亡が頻発したため，投与 6 日から投与量を 80 mg/kg/日に減量した。生存例を含め，症状，体重，摂餌量，眼科学的検査，血液学的検査，血液化学的検査，尿検査，剖検及び病理組織学的検査に特記すべき所見は認められなかった。無毒性量は 20 mg/kg/日と推定された（2.6.6.3.2）。

ラットにおける2週間経口投与毒性試験（投与量：0，1，5及び20 mg/kg/日）及び13週間経口投与毒性試験（投与量：0，10，50及び100 mg/kg/日）では，いずれの用量においても薬物投与の影響は認められず，無毒性量はそれぞれ20及び100 mg/kg/日以上と推定された（2.6.6.3.3及び2.6.6.3.4）。

カニクイザルにおける 2 週間経口投与毒性試験（投与量：0，0.5，2.5 及び 5 mg/kg/日）及び 13 週間経口投与毒性試験（投与量：0，5，10 及び 50 mg/kg/日）では，すべての投与群で本薬の過度の薬理学的作用と考えられる便性状の変化（無形状便又は水様便）が投与期間を通じて観察されたが，最高用量群まで特記すべき毒性所見は認められなかった。したがって，無毒性量はそれぞれ 5 及び 50 mg/kg/日以上と推定された（2.6.6.3.5 及び 2.6.6.3.6）。

カニクイザルにおける 39 週間経口投与毒性試験（投与量：0，5，10 及び 50 mg/kg/日）では，すべての投与群で過度の薬理学的作用と考えられる便性状の変化（水様便）が投与期間を通じて観察されたが，5 mg/kg/日群ではそれ以外に特記すべき所見は認められなかった。投与期間中にみ

られた便性状の変化は休薬により正常に復した。10 mg/kg/日群の雄 1 例及び 50 mg/kg/日群の雌 1 例は水様便（下痢等）の長期持続並びに進行性の脱水により瀕死状態となり，それぞれ投与 76 日及び 106 日に途中剖検された。途中剖検例の病理組織学的検査では，盲腸，結腸及び直腸の大腸腺及び表層上皮の変性・壊死あるいは粘膜の出血・炎症性変化が認められ，消化管が毒性の標的器官と考えられた。したがって，無毒性量は 5 mg/kg/日と推定された（2.6.6.3.7）。

2.4.4.3　遺伝毒性

ネズミチフス菌及び大腸菌を用いた復帰突然変異試験（33.3～5000 μg/プレート）において，代謝活性化系の存在下及び非存在下のいずれの条件においても遺伝子突然変異誘発性は認められなかった（2.6.6.4.1）。

ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験（343～1000 μg/mL）では，代謝活性化系の存在下及び非存在下のいずれの条件においても，染色体異常誘発性は認められなかった（2.6.6.4.2）。

以上のことから，本薬は遺伝毒性を示さないと考えられた。

2.4.4.4　がん原性

マウスにおける 104 週間経口投与がん原性試験（投与量：0，0.6，2 及び 6 mg/kg/日）及びラットにおける 104 週間経口投与がん原性試験（投与量：0，0.3，1 及び 3.5 mg/kg/日）のいずれにおいても，がん原性は認められなかった[Constella(Linaclotide):EMA CHMP assessment report, 2012; Linzess(Linaclotide):FDA Pharmacology/Toxicology NDA Review and Evaluation, 2012]（2.6.6.5.1 及び 2.6.6.5.2）。

2.4.4.5　生殖発生毒性

ラットにおける受胎能及び着床までの初期胚発生に対する影響に関する経口投与試験（投与量：0，10，50 及び 100 mg/kg/日）では，雌雄の親動物，交配，受胎能及び初期胚発生に影響は認められず，一般毒性及び雌雄の生殖機能及び初期胚発生に対する無毒性量はいずれも 100 mg/kg/日と推定された（2.6.6.6.1）。

マウスにおける胚・胎児発生に対する影響に関する経口投与試験（投与量：0，5，40 及び 100/40 mg/kg/日）では，40 mg/kg/日以上で母動物の死亡が発生したため，40 mg/kg 群には動物を追加し，100 mg/kg 群の用量は 40 mg/kg に減量した。胚・胎児への影響は，母動物に対する致死用量である 40 mg/kg/日以上の用量で認められ，胎児体重の低値，椎骨異常の発現率の増加，加えて 40 mg/kg/日群では眼瞼開存発現率の増加が認められた。椎骨異常の発現率は，主に低体重の胎児において認められた。以上の結果より，マウスにおける母動物及び胚・胎児発生に対する無毒性量はともに 5 mg/kg/日と推定された（2.6.6.6.2）。

ラットにおける胚・胎児発生に対する影響に関する経口投与試験（投与量：0，10，50 及び 100 mg/kg/日）では，母動物並びに胚･胎児発生に対する影響は認められず，母動物及び胚・胎児発生に対する無毒性量は 100 mg/kg/日と推定された（2.6.6.6.3）。

ウサギにおける胚･胎児発生に対する影響に関する経口投与試験（投与量:0, 5, 10 及び 40 mg/kg/日）では，母動物への影響として，すべての投与群で過度の薬理学的作用と考えられる便性状の変化（水様便又は軟便）が観察されたが，体重あるいは摂餌量に影響は認められなかった。胚・胎児発生に関しては，いずれの用量においても影響は認められなかった。母動物及び胚･胎児発生に対する無毒性量は 40 mg/kg/日と推定された（2.6.6.6.4）。

ラットにおける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（投与量：0，10，50 及び 100 mg/kg/日）では，いずれの用量においても，母動物における一般毒性及び生殖機能並びに出生児の身体的発達，感覚，反射，行動及び生殖機能について薬物投与に関連した変化は認められなかった。母動物における一般毒性及び生殖機能，出生児に対する無毒性量は 100 mg/kg/日と推定された（2.6.6.6.5）。

2.4.4.6　幼若毒性

7，14 又は 21 日齢のマウスを用いて 5 日間経口投与用量設定試験（投与量：0.1，10，50，100 及び 600 μg/kg/日）を実施した。7 日齢のマウスは 50 μg/kg/日以上で, 14 日齢のマウスは 100 μg/kg/日で，21 日齢のマウスは 600 μg/kg/日の用量で，初回投与後 24 時間以内に死亡した。生後 7，14 及び 21 日齢の幼若マウスに対する本薬の 5 日間経口投与の最大耐量はそれぞれ 10，50 及び 100 μg/kg/日と推定された（2.6.6.6.6.1）。

7 日齢のマウスにおける 9 週間経口投与毒性試験（投与量:0, 1, 3 及び 10 μg/kg/日）では, 10 μg/kg/日投与群で初回（8 日齢）又は 2 回投与後（9 日齢）に死亡が認められた。3 回投与以降には薬物投与の影響は認められなかった。したがって，本薬を 7 日齢マウスに 1 日 1 回 9 週間経口投与した際の無毒性量は 3 μg/kg/日と推定された（2.6.6.6.6.2）。

幼若マウスの死因検討のため, 7 日齢マウスに本薬を単回経口投与（投与量:0, 10 及び 20 μg/kg）して経時変化を検討したところ，投与後 2.5 時間から下痢が認められ，20 μg/kg 投与群では投与後 4～8 時間に 40%の動物が死亡した。また，単回経口投与（投与量：0 及び 20 μg/kg/日）後の腸液分泌及び脱水マーカーへの影響を検討したところ，投与後 1 時間から下痢，腸液量及び腸管重量/体重の比の増加，腸液 pH 及び浸透圧の上昇，ヘマトクリット及び血漿蛋白濃度の上昇が認められた。更に本薬を単回経口投与（投与量：0 及び 20 μg/kg）した後に，0.45%塩化ナトリウム水溶液の皮下投与による水分補給を行ったところ，非水分補給群では投与後 3 時間から水様便，脱水兆候，衰弱等がみられ，投与後 5～24 時間に約半数例の動物が死亡あるいは瀕死剖検されたが，水分補給群では，水様便は観察されたものの，全例が生存した。したがって，幼若マウスの死亡は過度の薬理学的作用による重度の脱水によって生じたと考えられた（2.6.6.6.6.3 及び 2.6.6.6.6.4）。

4 週齢の幼若マウスにおける 1 週間経口投与毒性試験（投与量：0，100，500 及び 1000 μg/kg/日）ではいずれの用量においても薬物投与の影響は認められず，1000 μg/kg までの忍容性が確認

された。以上のことから，本薬に対する幼若マウスの忍容性は週齢とともに著しく増加することが示された（2.6.6.6.6.5）。

幼若ウサギにおける忍容性を検討するために，生後 14 日齢のウサギを用いて単回経口投与用量設定試験（投与量：2, 10 及び 40 mg/kg）及び 5 日間経口投与予備試験（投与量：0.6，2，10 及び 40 mg/kg/日）を実施したが, 40 mg/kg まで忍容性は良好（2.6.6.6.6.6）で, 成獣の最大耐量（2.6.6.6.4）も同じく 40 mg/kg 超であったことから，マウスと異なりウサギでは幼若毒性の懸念はないと考えられた。

2.4.4.7　その他の毒性

本剤（リナクロチド錠）において 1.0%を超えて個別に規格が設定されている不純物（分解生成物）類縁物質５＊（MM-448623）の安全性の評価のために，細菌を用いた復帰突然変異試験及びマウスを用いた 4 週間経口投与毒性試験を実施した。ネズミチフス菌及び大腸菌を用いた復帰突然変異試験（最大濃度 5000 μg/プレート）では，代謝活性化の有無に関わらず，遺伝子突然変異誘発性は認められなかった（2.6.6.8.1.1）。マウスを用いた 4 週間経口投与毒性試験では，本薬 20 mg/kg/日に 類縁物質５＊ 0.08 mg/kg/日（規格値 1.5%の約 500 倍量）及び 類縁物質4＊ 0.04 mg/kg/日（0.04 mg/kg/日：臨床用量 500 μg/日の規格値 0.5%の約 800 倍量，欧米上市カプセル剤では 1.0%を超えて個別に規格が設定された不純物）を添加して 4 週間経口投与したが，不純物による特記すべき毒性は認められなかった。以上のことから，類縁物質５＊（MM-448623）の安全性が確認されたと判断された（2.6.6.8.1.2）。

2.4.5　総括及び結論

効力を裏付ける試験において，本薬は GC-C 受容体に対して高い結合親和性を示し，細胞内 cGMP 濃度を増加させたことから，GC-C 受容体作動薬であることが示された。また，本薬は，GC-C 受容体以外の受容体, イオンチャネル及びトランスポーターに対しては明らかな親和性を示さなかった。

ラット及びマウスにおいて，本薬は腸管腔内に分泌された腸液中の cGMP 濃度を増加させ，腸管分泌を促進するとともに，小腸輸送能を促進させた。一方，GC-C KO マウスにおいて，本薬は cGMP 濃度増加作用，腸管分泌促進作用及び小腸輸送能促進作用を示さなかったことから，本薬の薬理作用は GC-C 受容体を介していると考えられる。更に，ラット及びマウスを用いたストレス若しくは大腸炎誘発大腸痛覚過敏モデルにおいて，本薬は痛覚過敏改善作用を示した。一方，GC-C KO マウスにおいて，本薬は大腸炎誘発大腸痛覚過敏に対して改善作用を示さなかった。したがって, 本薬の大腸痛覚過敏改善作用についても GC-C 受容体を介して発現すると考えられる。また，本薬及び cGMP により，腸管を起始部とする求心性神経の発火が抑制されることが報告されており[Castro, 2011; Castro, 2013; Silos-Santiago, 2013]，この作用が本薬による大腸痛覚過敏改善作用の発現に寄与する可能性が示唆されている。

＊：新薬承認情報提供時に置き換えた。

経口投与された本薬は，腸管腔内で MM-419447 に速やかに代謝される。MM-419447 はヒト，マウス及びラットの腸液を用いた *in vitro* 試験において検出されている（2.6.4.5.1.4，2.6.4.5.1.5 及び 2.7.2.2.1.2）。MM-419447 は本薬と同程度の薬理活性を示すことから，本薬を経口投与した際の薬理作用発現に寄与していると考えられる。また，本薬のバイオアベイラビリティは検討したすべての非臨床動物種（マウス，ラット及びカニクイザル）において低く（0.2%未満），ヒトにおいても経口投与後の血漿中濃度はほとんどの試料で定量下限（0.2～3 ng/mL）未満であった（表 2.6.4-22）。更に，MM-419447 のラットにおけるバイオアベイラビリティも本薬と同程度であり，ヒトに本薬を経口投与した際の血漿中 MM-419447 濃度はすべての試料で定量下限（2～3 ng/mL）未満であった（表 2.6.4-22）。このことに加えて，GC-C 受容体が腸管上皮の管腔側に発現していることから，本薬及び MM-419447 は，循環血中からではなく腸管局所において GC-C 受容体に作用することにより，薬理作用を発揮していると考えられる。

以上の効力を裏付ける試験から，本薬は GC-C 受容体活性化作用に基づく腸管分泌促進作用，小腸輸送能促進作用及び大腸痛覚過敏改善作用を有することが明らかとなり，IBS-C 患者において便秘を改善するとともに，腹痛を緩和し，その症状を寛解することが期待される。

本薬の経口吸収性は，検討したすべての動物種（マウス，ラット及びカニクイザル）において極めて低かった。本薬は膜透過性が低く，腸内で速やかに代謝されることから，これらが低吸収性の原因と考えられた。本薬は腸内で C 末端チロシンの酵素切断によって活性代謝物である MM-419447 へと代謝されるとともにジスルフィド結合が還元されて三次構造を失い，腸内に分布する蛋白質分解酵素によって，低分子ペプチドや天然型アミノ酸へと分解されると考えられた。これらの低分子ペプチドや天然型アミノ酸は再利用され，内因性ペプチドに取り込まれると考えられる。ラットに経口投与された本薬の大部分は腸内で代謝されたが，少量（1%未満）の活性ペプチドが糞中に排泄された。また，わずかに吸収された本薬及び MM-419447 は，ラットに静脈内投与した試験結果から，循環血中から速やかに消失し，尿中及び胆汁中に排泄されると考えられた。

本薬の非臨床における安全性を評価するために，単回投与毒性試験，反復投与毒性試験，遺伝毒性試験，がん原性試験，生殖発生毒性試験，幼若毒性試験及びその他の毒性試験（不純物の毒性試験）を実施した。本薬を 1 日 1 回反復経口及び静脈内投与したときの忍容性はいずれの動物種においても良好で，カニクイザルでは過度の薬理学的作用と考えられる可逆的な便性状の変化（無形状便又は水様便）が低用量から認められた。カニクイザル及びマウスの死亡発現用量では消化管が，マウスの死亡発現用量では更に腎臓，心臓及びリンパ系組織（脾及び胸腺）が本薬の毒性学的標的器官と考えられたが，ラットでは主要な標的器官は特定されなかった。細菌及び哺乳類細胞を用いた遺伝毒性試験並びにマウス及びラットのがん原性試験の結果からは，本薬は変異原性や染色体異常誘発性，催腫瘍性を持たないことが示された。生殖発生毒性試験では，ラットを用いた受胎能及び初期胚発生に関する試験又は出生前及び出生後の発生に関する試験において影響は認められなかった。胚・胎児発生毒性試験では，ラット及びウサギにおいて発生への影響は認められず，マウスでは母動物に対する致死発現用量においてのみ，胚・胎児発生への影響

が認められた。非臨床試験における NOAEL と最大臨床用量（500 μg/日）との間には広い乖離が示された（表 2.6.6-8）。長期投与毒性試験（マウス 26 週間試験及びカニクイザル 39 週間試験）及び生殖発生毒性試験の NOAEL は最大臨床用量の 500 倍超，がん原性試験の非発がん量は最大臨床用量の 300 倍超であった。幼若マウス（生後 7 日齢）を用いた 9 週間経口投与毒性試験では，低用量（10 μg/kg/日）から過剰な薬理学的作用に起因する脱水による死亡が認められたが，補水により幼若マウスの死亡は完全に抑制された。また，本薬に関連する製剤不純物のうち 1.0%を超えて個別に規格が設定される 類縁物質５＊(MM-448623）については，細菌を用いた復帰突然変異試験及びマウス 4 週間経口投与毒性試験で，変異原性は認められず，規格値上限の約 500 倍量までマウスへの毒性はみられないことから，安全性上の懸念はないことが示された。

以上のことから，本薬は臨床の場において大きな問題となる副作用を引き起こす可能性は低いと考えられた。

2.4.6　参考文献一覧

Akiho H, Nakamura K. Pharmacological therapy for irritable bowel syndrome. Nippon Shokakibyo Gakkai Zasshi. 2014; 111:1353-8.

Carrithers SL, Parkinson SJ, Goldstein SD, Park PK, Urbanski RW, Waldman SA. Escherichia Coli heat-stable enterotoxin receptors: a novel marker for colorectal tumors. Dis Colon Rectum. 1996;39:171-81.

Cash BD, Chang E, Talley NJ, Wald A. Fresh perspectives in chronic constipation and other functional bowel disorders. Rev Gastroenterol Disord. 2007;7:116-33.

Castro J, Harrington AM, Hughes PA, Martin CM, Ge P, Shea CM, et al. Linaclotide inhibits colonic nociceptors and relieves abdominal pain via guanylate cyclase-C and extracellular cyclic guanosine 3’,5’-monophosphate. Gastroenterol. 2013;145:1334-46.

Castro J, Martin C, Hughes PA, Silos-Santiago A, Kurtz CB, Blackshaw LA, et al. A novel role of cyclic GMP in colonic sensory neurotransmission in healthy and TNBS-treated mice. Gasteroenterol. 2011;140:S-538.

Constella (linaclotide): EMA CHMP assessment report EMA/CHMP/60979/2012) http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Public_assessment_report/human/002490/WC500135624.pdf#search='Constella+%28linaclotide%29+EPAR'

Currie MG, Fok KF, Kato J, Moore RJ, Hamra FK, Duffin KL, et al. Guanylin: an endogenous activator of intestinal guanylate cyclase. Proc Natl Acad Sci USA. 1992;89:947-51.

Fukudo S, Kaneko H, Akiho H, Inamori M, Endo Y, Okumura T et al. Evidence-based clinical practice guidelines for irritable bowel syndrome. J Gastroenterol. 2015;50:11-30.

Giannella RA. Echerichia coli heat-stable enterotoxins, guanylins, and their receptors: What are they and what do they do? J Lab Clin Med. 1995;125:173-81.

＊：新薬承認情報提供時に置き換えた。

Gralnek IM, Hays RD, Kilbourne A, Naliboff B, Mayer EA. The impact of irritable bowel syndrome on health-related quality of life. Gastroenterol. 2000;119:654-60.

Hamra FK, Forte LR, Ebe SL, Pidhorodeckyj NV, Krause WJ, Freeman RH, et al. Uroguanylin: structure and activity of a second endogenous peptide that stimulates intestinal guanylate cyclase. Proc Natl Acad Sci USA. 1993;90:10464-8.

Kaji M, Fujiwara Y, Shiba M, Kohata Y, Yamagami H, Tanigawa T, et al. Prevalence of overlaps between GERD, FD and IBS and impact on health-related quality of life. J Gastroenterol Hepatol. 2010;25:1151-6.

Khan S, Chang L. Diagnosis and management of IBS. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2010;7:565-81.

Krause WJ, Cullingford GL, Freeman RH, Eber SL, Richardson KC, Fok KF, et al. Distribution of heat-stable enterotoxin/guanylin receptors in the intestinal tract of man and other mammals. J Anat. 1994;184:407-17.

Kubo M, Fujiwara Y, Shiba M, Kohata Y, Yamagami H, Tanigawa T et al. Differences between risk factors among irritable bowel syndrome subtypes in Japanese adults. Neurogastroenterol Motil. 2011;23:249-54.

Linzess (linaclotide): FDA PHARMACOLOGY/TOXICOLOGY NDA REVIEW AND EVALUATION http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2012/202811Orig1s000PharmR.pdf#search='Linaclotide+FDA+pharmacology

Longstreth GF, Thompson WG, Chey WD, Houghton LA, Mearin F, Spiller RC. Functional bowel disorders. In: Drossman DA, Corazziari E, Delvaux M, Spiller RC, Talley NJ, Thompson WG, et al. editors. Rome III: The functional gastrointestinal disorders. 3rd ed. McLean: Degnon Associates; 2006:487-555.

Lovell RM, Ford AC. Global prevalence of and risk factors for irritable bowel syndrome: a meta-analysis. Clin Gastroenterol Hepatol. 2012;10:712-21.

Miwa H. Prevalence of irritable bowel syndrome in Japan: Internet survey using Rome III criteria. Patient Prefer Adherence. 2008;2:143-7.

Pfeifer A, Aszódi A, Seidler U, Ruth P, Hofmann F, Fässler R. Intestinal secretory defects and dwarfism in mice lacking cGMP-dependent protein kinase II. Science. 1996;274:2082-6.

Selvaraj NG, Prasad R, Goldstein JL, Rao MC. Evidence for the presence of cGMP-dependent protein kinase-II in human distal colon and in T84, the colonic cell line. Biochim Biophys Acta. 2000;1498:32-43.

Silos-Santiago I, Hannig G, Eutamene H, Ustinova EE, Bernier SG, Ge P, et al. Gastrointestinal pain: Unraveling a novel endogenous pathway through uroguanylin/guanylate cyclase-C/cGMP activation. Pain. 2013;154:1820-30.

Vaandrager AB, Smolenski A, Tilly BC, Houtsmuller AB, Ehlert EME, Bot AGM, et al. Membrane targeting of cGMP-dependent protein kinase is required for cystic fibrosis transmembrane conductance regulator Cl^- channel activation. Proc Natl Acad Sci USA. 1998;95:1466-71.

Vaandrager AB. Structure and function of the heat-stable enterotoxin receptor/guanylyl cyclase C. Mol Cell Biochem. 2002;230:73-83.