TABLE OF CONTENTS

LIST OF FIGURES 1
1. 非臨床試験計画概略 3
2. 薬理試験 3
2.1. In vitro 試験 3
2.2. In vivo 試験 4
2.3. 副次的薬理試験 4
2.4. 安全性薬理試験 4
2.5. 薬力学的薬物相互作用試験 4
3. 薬物動態試験 4
3.1. 分析法 4
3.2. 吸収 4
3.3. 分布 5
3.4. 代謝 5
3.5. 排泄 5
3.6. 薬物動態学的薬物相互作用 5
3.6.1. UGT の阻害に関連した相互作用 5
3.6.2. チトクロム P450（CYP2B6）の誘導に関連した相互作用 5
3.6.3. 腎および肝トランスポーターに関連した薬物相互作用 5
3.7. その他の薬物動態試験 6
4. 毒性試験 6
5. 総括及び結論 6
6. 参考文献 7

LIST OF FIGURES

Figure 1. トファシチニブクエン酸塩の化学構造式 3

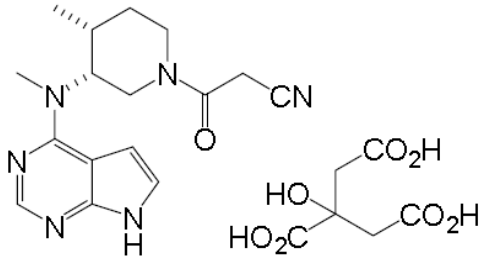
略号・用語の定義一覧

略号，用語	省略していない表現または定義
BCRP	Breast cancer resistance protein：乳癌耐性蛋白
BID	Twice daily：1 日 2 回（投与）
CD	Crohn's disease：クローン病
CYP	Cytochrome P450：チトクロム P450
DSS	Dextran sulfate sodium：デキストラン硫酸ナトリウム
IBD	Inflammatory bowel disease：炎症性腸疾患
IFN	Interferon：インターフェロン
IL	Interleukin：インターロイキン
JAK	Janus kinase：ヤヌスキナーゼ
OCT	Organic cation transporter：有機カチオントランスポーター
P-gp	P-glycoprotein：P 糖蛋白質
RA	Rheumatoid arthritis：関節リウマチ
STAT	Signal transducer and activator of transcription：シグナル伝達兼転写活性化因子
Th	Helper T：ヘルパーT
TNBS	2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid：トリニトロベンゼンスルホン酸
TNF	Tumor necrosis factor：腫瘍壊死因子
TyK	Tyrosine kinase：チロシンキナーゼ
UC	Ulcerative colitis：潰瘍性大腸炎
UGT	Uridine-diphosphate-glucuronosyltransferase ：ウリジン二リン酸グルクロン酸転移酵素

1. 非臨床試験計画概略

トファシチニブクエン酸塩（以後トファシチニブとする；研究コード：CP-690,550-10；商標名：ゼルヤンツ；化学名：(3*R*,4*R*)-4-methyl-3-(methyl-7*H*-pyrrolo [2,3-*d*]pyrimidin-4-ylamino)-*β*-oxo-1-piperidinepropanenitrile, 2-hydroxy-1,2,3-propanetricarboxylate；Figure 1；分子量：504.5；遊離塩基分子量：312.4）はヤヌスキナーゼ（JAK）の強力な阻害薬であり，ヒトのキナーゼ群の中で高い選択性を示す。

Figure 1.　トファシチニブクエン酸塩の化学構造式



トファシチニブは国内外において関節リウマチ（RA）および潰瘍性大腸炎（UC）の治療薬として開発されており，「既存治療で効果不十分な関節リウマチ」を効能・効果として5および10 mg錠が承認申請され，5 mg錠が2013年3月に承認を取得した。その際，薬理，薬物動態および毒性の各非臨床試験に関する資料を提出している（RA承認時CTD 2.6項参照）。今回，「潰瘍性大腸炎」を効能・効果とする承認申請にあたり，ウリジン二リン酸グルクロン酸転移酵素（UGT），チトクロムP450（CYP）2B6および有機カチオントランスポーター（OCT）に関連した薬物相互作用に関する試験を追加した。

今回予定している効能・効果および用法・用量は添付文書（案）（CTD 1.8.1 項）に記載した。

2. 薬理試験

2.1. In vitro 試験

トファシチニブは JAK ファミリーの強力な阻害薬であり，ヒトのキナーゼ群の中で高い選択性を示す。（RA 承認時 CTD 2.6.2.2 項）また，キナーゼアッセイで JAK1，JAK2，JAK3 を阻害し，TyK2 も軽度に阻害する。細胞内では 2 分子の JAK が介在してシグナル伝達が行われるが，トファシチニブは JAK3 または JAK1 に会合するヘテロ二量体受容体によるシグナル伝達を強力に阻害し，その機能的選択性は JAK2 に会合するホモ二量体受容体によるシグナル伝達に対する阻害よりも高い。JAK1 および JAK3 の阻害により，免疫反応に関わる IL-2，IL-4，IL-7，IL-9，IL-15 および IL-21 を含む数種類の共通の γ 鎖を有するサイトカイン受容体を介したシグナル伝達が遮断される。また，より高用量では，JAK2 ホモ二量体シグナル伝達の抑制を介したエリスロポエチンのシグナル伝達の抑制が生じる可能性がある。トファシチニブは JAK2 と TyK2 が会合する受容体を介した IL-12 および IL-23 のシグナル伝達を軽度に阻害し，JAK1 または JAK2 および TyK2 を介した IL-13 のシグナル伝達も阻

害すると考えられ，事実，トファシチニブは IL-12 刺激後の血液における IFNγ蛋白の産生を軽度に抑制した（RA 承認時 CTD 2.6.2.2 項）。

2.2. In vivo 試験

炎症性腸疾患（IBD）の動物モデルにはデキストラン硫酸ナトリウム（dextran sulfate sodium，DSS）またはトリニトロベンゼンスルホン酸（2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid，TNBS）投与による腸炎，IL-10 欠損（IL-10 knock out）マウス，$CD4^{+}CD45RB^{high}$T 細胞移入による腸炎などがある[1]。多糖類の一種である DSS は大腸粘膜の免疫細胞に貪食され，粘膜局所の免疫系の活性化により，ラットやマウスの大腸粘膜に傷害を惹起する[2,3,4]。DSS 誘発大腸炎は体重減少，軟便，血便，大腸粘膜のびらん形成などを生じることから，ヒトにおける UC と相似する病態モデルとして知られている[2]が，DSS モデルにトファシチニブを経口投与した予備検討試験では，トファシチニブ投与群の体重低下が溶媒投与群を上回り，トファシチニブの効果はみられなかった。このことは，トファシチニブがマウスの DSS 誘発大腸炎に効果を示さないという報告[5]と一致する。一方，TNBS 誘発腸炎は直腸内投与したエタノールが粘膜バリアを破壊し，TNBS がハプテンとしてタンパク質と結合してマクロファージや T 細胞が活性化されて IFNγの産生が亢進し，クローン病（Crohn's disease，CD）に類似した症状および病理組織学的変化を発現することから CD のモデルとして用いられている[6,7]。また，IL-10 knock out マウスでは結腸に $CD4^{+}$ヘルパーT（Th）細胞が出現し IFNγの産生が亢進することから，CD のモデルと考えられている[8]。T 細胞および B 細胞を欠損したマウスに $CD4^{+}CD45RB^{high}$T 細胞を養子移入して腸炎を発症させたモデルでも，炎症組織での IFNγおよび TNFαの産生が亢進し，$CD4^{+}$ヘルパーT 細胞が結腸粘膜固有層などにみられることから Th1/Th17 が優勢な病態を示す大腸炎であると考えられることから，このモデルは CD の病態モデルであると考えられる[9]。

2.3. 副次的薬理試験

記載事項なし

2.4. 安全性薬理試験

記載事項なし

2.5. 薬力学的薬物相互作用試験

記載事項なし

3. 薬物動態試験

3.1. 分析法

トファシチニブがヒト生体内でトランス立体異性体（3R,4S または 3S,4R）またはシス立体異性体（3S,4S）に異性化する可能性について検討するために高速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 2 つの分析法を確立した。

3.2. 吸収

記載事項なし

3.3. 分布

記載事項なし

3.4. 代謝

患者の体内でトファシチニブが異性化する可能性を，臨床試験（A3921024）の定常状態（5 mg 1 日 2 回 [BID]投与，投与後 2 時間，血漿中薬物濃度 92.7～139 ng/mL）の血漿を用いて LC-MS/MS 法により検討したところ，いずれの立体異性体も検出されなかったことから，トファシチニブの異性化は患者体内では生じないことが確認された。

3.5. 排泄

記載事項なし

3.6. 薬物動態学的薬物相互作用

3.6.1. UGT の阻害に関連した相互作用

トファシチニブがヒト UGT1A1，UGT1A4，UGT1A6，UGT1A9 および UGT2B7 の活性を阻害する可能性を，ヒト肝ミクロソームを用い，2%ウシ血清アルブミンの存在下または非存在下で最高 100 µmol/L（31200 ng/mL）までの濃度で評価したところ，トファシチニブはこれらの UGT 活性を阻害しなかった（IC_{50} はいずれも>100 µmol/L）。これらの値は臨床で UC 患者に最大推奨用量 10 mg BID を投与したときの定常状態での非結合型 Cmax（約 178 nmol/L）[a]の 560 倍以上であるため，臨床で予想されるトファシチニブの濃度では，これらの分子種によって代謝される薬物が相互作用を受ける可能性は低いと考えられた。

3.6.2. チトクロム P450（CYP2B6）の誘導に関連した相互作用

トファシチニブが CYP2B6 を誘導する可能性を，3 ロットの凍結保存したヒト肝細胞を用いて 1.56～100 µmol/L のトファシチニブ濃度で検討したところ，トファシチニブは肝細胞の 1 ロットでは 12.5 µmol/L 以上の濃度で CYP2B6 の酵素活性および mRNA レベルを 2 倍以上上昇させた。一方，他の 2 ロットでは 25 µmol/L 以上の濃度で CYP2B6 の mRNA レベルを上昇させた。しかし，これらの濃度は臨床で UC 患者に最大推奨用量 10 mg BID を投与したときの定常状態での非結合型 Cmax（約 178 nmol/L）の 70 倍以上であるため，臨床で予想されるトファシチニブの濃度では CYP2B6 を誘導する可能性は低いと考えられた。

3.6.3. 腎および肝トランスポーターに関連した薬物相互作用

トファシチニブがヒト OCT1 および OCT2 の基質として作用する可能性について，トランスポーターを発現させた細胞株を用い検討した。その結果，トファシチニブは検討した 300 µmol/L までの濃度で OCT1 および OCT2 の基質とならないことが示された。さらに，トファシチニブがヒト肝臓に発現する取り込みトランスポーターである hOATP1B1 および 1B3 の基質となるか否かを，トランスポーターを発現させた細胞株を用いて評価した。取り込みは 900 µmol/L までの濃度で線形性を示し，こ

[a]日本人を含む UC 患者に本剤 10 mg を投与したときの血漿中薬物濃度 Cmax=90.8 ng/mL（291 nmol/L）に非結合型分率（fu）0.61 を乗じて算出（CTD 2.7.2.3.2.2 項）

れは野生型細胞株による取り込みと類似していたことから，hOATP1B1 および 1B3 はトファシチニブの輸送に重要ではないことが示された。この結果と一致して，サンドイッチ培養ヒト肝細胞では，陽性対照であるロスバスタチンの取り込みは rifamycin SV により 93%阻害されたのに対し，トファシチニブ（1 μmol/L および 20 μmol/L）の取り込み阻害は 12%～34%であった。

3.7. その他の薬物動態試験

記載事項なし

4. 毒性試験

記載事項なし

5. 総括及び結論

IBD の病態メカニズムについては充分に解明されてはいないが，マウスおよびラットでの腸炎モデルはいくつか知られており，薬剤誘発性びらん性大腸炎モデル，遺伝子欠損による自然発生性の腸炎モデル，T 細胞の恒常性を破綻させることで腸炎を誘発させるモデルなどがある[9]。しかしながら，2.4.2.2 項に示したモデルの多くは CD のモデルと考えられ，UC のモデルと考えられるマウス DSS 誘発大腸炎ではトファシチニブの効果を示すことができなかった。一方，トファシチニブは JAK ファミリーの強力な阻害薬であり，ヒトのキナーゼ群の中で高い選択性を示す。また，キナーゼアッセイで JAK1，JAK2，JAK3 を阻害し，TyK2 も軽度に阻害する。IBD での免疫反応に関わる細胞の機能は複数のサイトカインが制御しているといわれており，B 細胞の成熟や Th2 細胞への分化等の調整に関与している IL-2，IL-4，IL-7，IL-9，IL-15 および IL-21（JAK1/JAK3），自然免疫，Th1 細胞および Th17 細胞への分化ならびに炎症性サイトカインの産生を制御する IL-12 および IL-23（JAK2/TyK2）ならびに IBD で傷害されたバリア機能に関係する IL-13 のシグナル伝達をトファシチニブは阻害すると考えられる。また，UC 患者の粘膜では STAT1（シグナル伝達兼転写活性化因子 1）の発現や活性化およびリン酸化 STAT3 の上昇がみられ[10]，トファシチニブはこれら JAK/STAT 経路を介するシグナル伝達を阻害することでその効果を発揮するものと考えられる。このように，JAK が関わるシグナル伝達は IBD の病態における自然免疫および獲得免疫において重要であり，T 細胞の分化，B 細胞の成熟ならびに粘膜表面でのウイルスおよび細菌防御に必要な粘膜や抗体の産生に重要な働きをする。このことから，トファシチニブは IBD でみられる自然免疫および獲得免疫を調節し，結果として，消化管炎症の慢性化防御に効果的に働くものと考えられる[11]。

薬物動態に関する追加試験の成績から，トファシチニブは in vitro では UGT 分子種（UGT1A1, UGT1A4, UGT1A6，UGT1A9 および UGT2B7）に対し明らかな阻害作用を示さず，CYP2B6 を誘導しないことが示された。また，トファシチニブは主な薬物代謝酵素である CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19，CYP2D6 および CYP3A を有意に阻害せず，また， ヒトで CYP1A2 および CYP3A4 の酵素誘導が生じるリスクも低いことも確認されている（RA 承認時 CTD 2.6.4.7 項）。今回の試験成績を併せて考えると，臨床で UC 患者に最大推奨用量 10 mg BID を投与した時にトファシチニブが酵素誘導あるいは阻害を生じる可能性は低いと考えられる。これらの in vitro 試験の成績は，臨床試験においてトファシチニブが併用薬（ミダゾラムあるいは経口避妊薬など）の薬物動態に影響を及ぼさな

いという結果（RA 承認時 CTD 2.7.2.3.3.9 項）と一致していた。薬物排出トランスポーターに関連した薬物相互作用の検討では，トファシチニブは P 糖蛋白質（P-gp）の基質となるが， 乳癌耐性蛋白（BCRP）の基質とはならず，また，トファシチニブの P-gp 阻害活性は低いことが示された（RA 承認時 CTD 2.6.4 項）。腎および肝トランスポーターに関連した薬物相互作用の検討では，トファシチニブはヒトの OATP1B1， OATP1B3 および OCT2 を阻害する可能性は極めて低く，また，OCT1 および OCT2 の基質とはならないことが示された。また，トファシチニブが立体異性化する可能性を検討したところ，患者体内ではトファシチニブの立体異性化は生じないものと考えられた。

本申請に際し，記載する毒性試験はないが，トファシチニブの添付文書の「妊婦、産婦、授乳婦等への投与」の項には，催奇形性および雌ラットの受胎能および初期胚発生に関する血中薬物濃度のリウマチ患者の血中薬物濃度に対する安全域が記載されていることから，本申請に際しては添付文書に以下の記載を追加する。

ラットおよびウサギの胚・胎児発生に関する試験（RA 承認時 CTD 2.6.6.6 (2) 2) 項および CTD 2.6.6.6 (2) 3) 項）では催奇形性が報告されており，日本人を含む UC 患者に本剤 10 mg を BID 投与したときの血漿中薬物濃度（非結合型の $AUC_{0\text{-}24}$ 493 ng·h/mL ならびに結合型＋非結合型の $AUC_{0\text{-}24}$ 808 ng·h/mL）[a]と比較したとき，催奇形性に関する安全域はラットおよびウサギでそれぞれ 51 倍および 1.8 倍であった。また，ラットで受胎能，出産，胎児の発達への影響が報告されており，雌ラットの受胎能および初期胚発生に関する安全域は日本人を含む UC 患者に本剤 10 mg を BID 投与したときの血漿中薬物濃度（非結合型の Cmax 55 ng/mL）[a] と比較したとき 4.0 倍であった。

本薬と同一の効能・効果の承認を有する類薬には抗体医薬品であるインフリキシマブ，アダリムマブ，ゴリムマブがあるが，本薬と類似の作用機序を有する薬物はないことから，新しい作用機序を有し，経口投与可能な本薬は UC に対する新たな治療の選択肢となると考えられる。

6. 参考文献

1 Elson CO, Sartor RB, Tennyson GS, et al. Experimental models of inflammatory bowel disease. Gastroenterology 1995;109(4):1344-67.

2 Okayasu I, Hatakeyama S, Yamada M, et al. A novel method in the induction of reliable experimental acute and chronic ulcerative colitis in mice. Gastroenterology 1990;98(3):694-702.

3 Singh VP, Patil CS, Jain NK, et al. Aggravation of inflammatory bowel disease by cyclooxygenase-2 inhibitors in rats. Pharmacology 2004;72(2):77-84.

4 Hayashi Y, Tsuji S, Tsujii M, et al. The transdifferentiation of bone-marrow-derived cells in colonic mucosal regeneration after dextran-sulfate-sodium-induced colitis in mice. Pharmacology 2007;80(4):193-199.

[a]日本人を含む UC 患者に本剤 10 mg を投与したときの血漿中薬物濃度 $AUC_{0\text{-}24}$ 808 ng·h/mL（2586 nmol·h /L）または Cmax=90.8 ng/mL（291 nmol/L）に非結合型分率（fu）0.61 を乗じて算出（CTD 2.7.2.3.2.2 項）

[5] De Vries L, van Leeuwen-Hilbers F, van Hamersveld P, et al. The efficacy of tofacitinib and a selective Janus kinase 1 inhibitor in dextran sulphate sodium colitis models. European Crohn's and Colitis Organisation, Poster presentations: Basic science 2016 P020.

[6] Morris GP, Beck PL, Herridge MS, et al. Hapten-induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon. Gastroenterology 1989;96(3):795-803.

[7] Neurath M, Fuss I, Strober W. TNBS-colitis. Int Rev Immunol 2000;19(1):51-62.

[8] Rennick DM, Fort MM. Lessons from genetically engineered animal models. XII. IL-10-deficient (IL-10(-/-) mice and intestinal inflammation. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2000;278(6):G829-33.

[9] Ostanin DV, Bao J, Koboziev I, et al. T cell transfer model of chronic colitis: concepts, considerations, and tricks of the trade. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2009;296(2):G135-46.

[10] Izzo R, Bevivino G, Monteleone G. Tofacitinib for the treatment of ulcerative colitis. Expert Opinion on Investigational Drugs 2016; 25(8):991-7.

[11] Sandborn WJ, Ghosh S, Panes J, et al. Tofacitinib, an oral janus kinase inhibitor, in active ulcerative colitis. N Engl J Med 2012;367(7):616-24.