第 2 部 CTD の概要

JAN あるいは販売名：	ニンテダニブエタンスルホン酸塩
剤形・含量：	オフェブカプセル 100 mg, 150 mg
文書名：	2.4 非臨床試験の概括評価
文書作成日：	15 October 2019

Proprietary confidential information
© 2019 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies. All rights reserved.
This document may not - in full or in part - be passed on, reproduced, published or otherwise used without prior written permission

Proprietary confidential information © 2019 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

目　次

目　次 2
略号一覧表 3
1. 非臨床試験計画概略 4
2. 薬理試験 6
2.1 効力を裏付ける試験 6
2.1.1 *In vitro* 薬理プロファイル 6
2.1.2 *In vivo* 薬理プロファイル 7
2.2 副次的薬理試験 8
3. 薬物動態試験 9
4. 毒性試験 10
5. 総括及び結論 11

Proprietary confidential information © 2019 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

略号一覧表

αSMA	Alpha smooth muscle actin	α 平滑筋アクチン
αCD3	Anti cluster of differentiation 3	抗 CD3 抗体
αCD28	Anti cluster of differentiation 28	抗 CD28 抗体
b.i.d.	Twice daily (Latin: *bis in die*)	1 日 2 回（ラテン語：*bis in die*）
$CD4^+$	Positive for cluster of differentiation 4	CD4 陽性
$CD8^+$	Positive for cluster of differentiation 8	CD8 陽性
ECM	Extracellular matrix	細胞外マトリックス
Fra-2	FOS related antigen-2	FOS 関連抗原-2
IC_{50}	Inhibitory concentration 50%	50%阻害濃度
IL-2, 4, 5, 10, 12p70, 13	Interleukin-2, 4, 5, 10, 12p70, 13	インターロイキン-2，4，5，10，12p70，13
ILD	Interstitial lung disease	間質性肺疾患
IPF	Idiopathic pulmonary fibrosis	特発性肺線維症
mg	Milligram	ミリグラム
mg/kg	Miligram per kilogram	ミリグラム/キログラム
mRNA	Messenger ribonucleic acid	メッセンジャーRNA
nmol/L	Nanomol per liter	ナノモル/リットル
PBMC	Peripheral blood mononuclear cells	末梢血単核球
PDGF	Platelet derived growth factor	血小板由来増殖因子
SSc	Systemic sclerosis	全身性強皮症
SSc-ILD	Systemic sclerosis associated interstitial lung disease	全身性強皮症に伴う間質性肺疾患
tg	Transgenic	トランスジェニック
μmol/L	Micromol per liter	マイクロモル/リットル

Proprietary confidential information © 2019 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

1. 非臨床試験計画概略

ニンテダニブエタンスルホン酸塩（BIBF 1120 ES，商品名：オフェブ）は，特発性肺線維症（IPF）患者の治療に用いる希少疾病用医薬品として日本，欧州，米国並びにその他の国で承認されており，さらに一次化学療法後に腺癌が進行した非小細胞肺癌患者の治療に用いる医薬品として，欧州（商品名：Vargatef）で承認されている。毒性，一般薬理，並びに薬物代謝及び薬物動態を含む包括的な非臨床開発プログラムは実施済みである［CTD 1.13.1-01_オフェブカプセル 100 mg, 150 mg 承認時申請資料］。この非臨床試験の概括評価には，全身性強皮症（SSc）に伴う間質性肺疾患（ILD）の治療薬としてニンテダニブ（BIBF 1120 ES）を開発する科学的根拠を示す非臨床試験を記載する。

SSc は，罹患率及び死亡率の高い病因不明の結合組織の希少疾患である［CTD 4.3-01_R16-0117, CTD 4.3-02_P17-04969］。SSc の発症は，全身性で，多臓器にわたる，免疫学的異常，血管異常及び線維化異常を特徴とする［CTD 4.3-03_R18-3249］。皮膚の肥厚，硬化及び指の潰瘍が高頻度にみられ，関連した身体障害が生じることがある［CTD 4.3-04_R17-0315，CTD 4.3-05_R17-0146］。一方で，肺，心臓，食道／消化管，腎臓及び筋肉にも病変が認められることがある［CTD 4.3-02_P17-04969］。SSc に関連する死亡の原因としては， ILD 及び肺高血圧症が最も多い［CTD 4.3-06_R16-0564］。全身性強皮症に伴う間質性肺疾患（SSc-ILD）の特徴は，進行性の肺線維化，肺機能低下，咳嗽及び呼吸困難である［CTD 4.3-07_R17-0088，CTD 4.3-08_R17-0420，CTD 4.3-09_R17-0419］。より高頻度にみられる原因不明の進行性線維化性 ILD である IPF と同様に，SSc-ILD の臨床経過は様々である。しかし，全体として，SSc-ILD は IPF より緩やかに進行する傾向がみられ，多くの場合，高分解能コンピューター断層撮影（HRCT）で非特異性間質性肺炎（NSIP）パターンが認められる［CTD 4.3-10_P14-07919］。

SSc の発症機序は複雑であり，完全には解明されていない。SSc の臨床症状は，異なってはいるが相互に大きく依存した以下の過程によって発現すると考えられている［CTD 4.3-11_R17-0414, CTD 4.3-12_P18-10060］：

1) 微小血管内皮細胞に影響する血管損傷により，線維性増殖性の血管障害及び毛細血管の希薄化，血管周囲の炎症，並びに自己免疫活性化が生じる。
2) 自然免疫系及び獲得免疫系の異常により，自己抗体の産生，細胞性の自己免疫及び線維化促進メディエーターの放出が誘発される。
3) 線維芽細胞から筋線維芽細胞への活性化により，細胞外マトリックス（ECM）が皮膚，肺，血管及び内臓に過剰に沈着する。

SSc-ILD は，原因となる線維化カスケードの病態生理が IPF と類似している。SSc-ILD と IPF で起因となる及び増幅する事象は異なることが示されている［CTD 4.3-10_P14-07919］が，いずれも最終的には線維芽細胞の活性化，遊走及び増殖，並びに過剰な ECM 沈着を伴う筋線維芽細胞の集積に至る。これが肺線維症に共通の自動継続的で最終的な経路である［CTD 4.3-13_R17-0089］。このことから，IPF の根本的な線維化経路を標的とするニンテダニブ（BIBF 1120 ES）は，SSc-ILD にも効果を示すと考えられる。

Proprietary confidential information © 2019 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

SSc-ILD の重要な発症過程に対するニンテダニブ（BIBF 1120 ES）の抑制作用を，ヒトの病態と類似した特性を示す *in vitro* のアッセイ及び *in vivo* の系で検討した。SSc-ILD 患者由来の肺線維芽細胞の細胞機能及び線維化マーカーに対するニンテダニブ（BIBF 1120 ES）の作用を評価した。また，免疫細胞からの炎症性及び線維化促進メディエーターの放出に対するニンテダニブ（BIBF 1120 ES）の作用を検討した。SSc-ILD の動物モデルにおけるニンテダニブ（BIBF 1120 ES）の有効性も検討した。

Proprietary confidential information © 2019 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

2. 薬理試験

2.1 効力を裏付ける試験

2.1.1 *In vitro* 薬理プロファイル

健康ドナーの血液から単離したヒト末梢血単核球（PBMC）及び T 細胞において，ニンテダニブ（BIBF 1120 ES）は，抗 CD3 抗体（αCD3）刺激及び αCD3/抗 CD28 抗体（αCD28）刺激による線維化促進メディエーター（インターフェロン γ，インターロイキン［IL］-2，IL-4，IL-5，IL-10，IL-12p70 及び IL-13）の放出を濃度依存的に抑制し，50%阻害濃度（IC_{50}）値は 4.9～77.0 nmol/L の範囲であった［CTD 4.2.1.1-01_n00264112，CTD 4.2.1.1-02_n00264111］。CD4 陽性（$CD4^+$）T 及び CD8 陽性（$CD8^+$）T 細胞において，ニンテダニブ（BIBF 1120 ES）は，αCD3 刺激及び αCD3/αCD28 刺激による $CD4^+$ T 細胞からの IL-2 放出（IC_{50} 値はそれぞれ 47.5 及び 26.0 nmol/L）及び $CD8^+$ T 細胞からの IL-2 放出（IC_{50} 値はそれぞれ 72.9 及び 83.3 nmol/L）を抑制した［CTD 4.2.1.1-02_n00264111］。

ニンテダニブ（BIBF 1120 ES）は，SSc-ILD 患者由来肺線維芽細胞の無刺激時及び血小板由来増殖因子（PDGF）刺激時の増殖を濃度依存的に抑制し，無刺激時には 1 μmol/L で，PDGF 刺激時には 100 nmol/L で統計学的に有意な効果が認められた。ニンテダニブ（BIBF 1120 ES）（100 nmol/L）とともにインキュベートし，PDGF 刺激を行った細胞の増殖速度は，PDGF 刺激のみを行った細胞と比較して有意に遅く，24 時間までが 1.9 倍，48 時間までが 2.1 倍，72 時間まで及び 96 時間までがいずれも 2.5 倍遅かった。

ニンテダニブ（BIBF 1120 ES）は，SSc-ILD 患者由来肺線維芽細胞の無刺激時及び PDGF 刺激時の遊走を濃度依存的に抑制した。SSc-ILD 患者由来の肺線維芽細胞の遊走速度は，100 nmol/L のニンテダニブ（BIBF 1120 ES）とのインキュベーションにより，PDGF 存在下で 39.1%，無血清培地で 26.6%に低下した。

ニンテダニブ（BIBF 1120 ES）は，SSc-ILD 患者由来肺線維芽細胞の無刺激時，PDGF 刺激時のコラーゲン 1 及びフィブロネクチンのメッセンジャーRNA（mRNA）発現増加を濃度依存的に抑制し，ニンテダニブ（BIBF 1120 ES）300 nmol/L で統計学的に有意な抑制が認められた。また，SSc-ILD 患者由来肺線維芽細胞のトランスフォーミング増殖因子 β（TGFβ）刺激時にもコラーゲン 1 及びフィブロネクチンの mRNA 発現増加を抑制した。

PDGF は，肺線維症を有しないドナー由来の肺線維芽細胞及び SSc-ILD 患者由来肺線維芽細胞で α 平滑筋アクチン（αSMA）プロモーターの転写活性を増加させる。肺線維症を有しないドナー由来及び SSc-ILD 患者由来肺線維芽細胞において，ニンテダニブ（BIBF 1120 ES）は 100 nmol/L の濃度では無刺激時の αSMA プロモーター活性を変化させなかったが，PDGF により誘導した αSMA の転写活性を有意に抑制した。ニンテダニブ（BIBF 1120 ES）は，肺線維症を有しないドナー由来肺線維芽細胞において，PDGF により誘導される αSMA の mRNA レベルを 100 nmol/L の濃度で有意に低下させた。同様に，ニンテダニブ（BIBF 1120 ES）は，肺線維症を有しないドナー由来肺線維芽細胞において，PDGF により誘導される αSMA 蛋白質の発現を約 5 分の 1 に減少させた。

Proprietary confidential information © 2019 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

3 名の SSc-ILD 患者から採取した肺線維芽細胞において，ニンテダニブ（BIBF 1120 ES）は，αSMA の発現及び αSMA 線維の形成を 100 nmol/L の濃度で有意に抑制した。

SSc-ILD 患者由来の肺線維芽細胞を浮遊コラーゲンゲルで培養したとき，ニンテダニブ（BIBF 1120 ES）30 nmol/L 以上でゲルの収縮が濃度依存的かつ有意に抑制された。肺線維症を有しないドナー由来細胞を浮遊コラーゲンゲルで培養し，PDGF で刺激したとき，100 nmol/L で有意な抑制が認められた。ニンテダニブ（BIBF 1120 ES）の濃度 100 nmol/L 以上では，固定コラーゲンゲルでも SSc-ILD 患者由来肺線維芽細胞の収縮が有意に抑制された［CTD 4.2.1.1-05_n00265037］。

2.1.2 *In vivo* 薬理プロファイル

SSc-ILD の特性を示すトランスジェニック（tg）マウスモデルにおいて，ニンテダニブ（BIBF 1120 ES）の有効性を検討した。

アクチベーター蛋白質-1（AP-1）ファミリーの転写因子である FOS 関連抗原-2（Fra-2）を tg によって過剰発現させると，典型的病変を有する微小血管障害及び肺高血圧症が自然発症する。Fra-2 tg マウスは，進行性の劇症型肺及び皮膚線維症を発症し，非 tg の同腹児と比較して，皮膚厚，筋線維芽細胞数及びヒドロキシプロリン量の増加が認められる。Fra-2 tg マウスでは，線維化が皮膚だけでなく，肺を含むその他の内臓にも認められる。9 週齢にニンテダニブ（BIBF 1120 ES）の治療的投与を 60 mg/kg 1 日 1 回（q.d.）又は 50 mg/kg 1 日 2 回（b.i.d.）の経口投与で開始し，16 週齢まで継続した。ニンテダニブ（BIBF 1120 ES）は，シリウスレッド染色で測定される肺のコラーゲン量及びヒドロキシプロリン測定値を有意に減少させた。ニンテダニブ（BIBF 1120 ES）は検討したいずれの用量においても肺筋線維芽細胞数を有意に減少させた［CTD 4.2.1.1-03_n00239669］。

Proprietary confidential information © 2019 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

2.2 副次的薬理試験

新たな副次的薬理試験のデータは得られていない。

Proprietary confidential information © 2019 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

3. 薬物動態試験

新たな薬物動態試験のデータは得られていない。

Proprietary confidential information © 2019 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

4. 毒性試験

新たな毒性試験のデータは得られていない。

Proprietary confidential information © 2019 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

5. 総括及び結論

ニンテダニブ（BIBF 1120 ES）は，SSc-ILD 患者由来の肺線維芽細胞の遊走及び増殖，筋線維芽細胞への形質転換，並びに線維化マーカーの発現を抑制した［CTD 4.2.1.1-05_n00265037］。SSc-ILD 患者由来の肺線維芽細胞に対するニンテダニブ（BIBF 1120 ES）の作用は，IPF 患者由来肺線維芽細胞を用いた同様の試験で得られた結果［CTD 4.3-16_P14-17410, CTD 4.3-17_P15-02392, CTD 4.3-18_P14-02860］と同程度であった。SSc-ILD の動物モデルにおいて，ニンテダニブ（BIBF 1120 ES）は抗線維化作用を示した。SSc-ILD のマウスモデルにおいて，ニンテダニブ（BIBF 1120 ES）は肺線維化を抑制し，これは肺組織の ECM 沈着及び筋線維芽細胞数の減少によって検出された［CTD 4.2.1.1-03_n00239669］。また，ニンテダニブ（BIBF 1120 ES）は，心筋線維化の進展を抑制し，血管周囲炎症を改善し，心臓の血管内皮細胞のアポトーシスを抑制したこと［CTD 4.3-21_P17-10564］, さらに, 肝線維症［CTD 4.3-22_P18-05681］及び腎線維症［CTD 4.3-23_P17-07465］の動物モデルにおいても，抗線維化作用を示したことも報告されている。また，ニンテダニブ（BIBF 1120 ES）は，PBMC 及び T 細胞からの炎症性及び線維化促進メディエーターの放出を抑制することにより抗炎症作用を示し［CTD 4.2.1.1-01_n00264112，CTD 4.2.1.1-02_n00264111］，単球の M2 極性化を抑制し，M2 マクロファージ数を減少させた［CTD 4.3-21_P17-10564］。

要約すると，*in vitro* 及び *in vivo* の結果から，ニンテダニブ（BIBF 1120 ES）は SSc-ILD の病態発生において複合的に治療効果を発揮する可能性が示唆された。

ニンテダニブ（BIBF 1120 ES）を経口投与したときの抑制効果は，検討した SSc-ILD のマウスモデル［CTD 4.2.1.1-03_n00239669］と肺線維症の 2 種類のマウスモデル（ブレオマイシン誘発性肺線維症及びシリカ誘発性肺線維症）［CTD 1.13.1-01_オフェブカプセル 100 mg，150 mg 承認時申請資料，CTD 4.3-19_P17-03310］で同程度であった。

肺線維症の動物モデルと SSc-ILD の動物モデルでニンテダニブ（BIBF 1120 ES）の有効性は同程度であったことから，SSc-ILD 患者と IPF 患者で同程度の投与量で有効性が得られるであろうことが示唆された。また, ニンテダニブ（BIBF 1120 ES）は, 肺の線維化の重要な過程である SSc-ILD 患者由来肺線維芽細胞の増殖及び遊走を 100 nmol/L の濃度で，SSc-ILD 患者由来肺線維芽細胞の収縮を 30 nmol/L の濃度で，免疫細胞からの線維化促進メディエーターの放出をヒト曝露量範囲の IC_{50} 値で効果的かつ有意に抑制した。臨床試験でニンテダニブ（BIBF 1120 ES）150 mg b.i.d.を経口投与したときの定常状態における最高血漿中濃度は 59～74 nmol/L であった［CTD 1.13.1-01_オフェブカプセル 100 mg，150 mg 承認時申請資料］。SSc-ILD 患者にも同じ用量の 150 mg b.i.d. を使用する予定である。したがって，ニンテダニブ（BIBF 1120 ES）は SSc-ILD の病理生物学に関与する上記の重要な細胞過程を少なくとも部分的に抑制すると考えられ，SSc-ILD の患者に使用する治療薬としてニンテダニブ（BIBF 1120 ES）を開発する根拠が得られた。