2.4 非臨床試験の概括評価

目次

2.4 非臨床試験の概括評価 1
2.4.1 非臨床試験計画概略 4
2.4.1.1 試験計画 6
2.4.1.2 GLP 適合性 8
2.4.1.3 ウパダシチニブの品質特性 8
2.4.1.4 科学論文 8
2.4.2 薬理試験 9
2.4.2.1 効力を裏付ける試験 9
2.4.2.2 副次的薬理試験 10
2.4.2.3 安全性薬理試験 11
2.4.3 薬物動態試験 12
2.4.3.1 吸収 12
2.4.3.2 分布 12
2.4.3.3 代謝 13
2.4.3.4 排泄 13
2.4.3.5 薬物動態学的薬物相互作用 14
2.4.3.6 用いた分析法の妥当性 15
2.4.3.7 用いた動物モデルの妥当性 16
2.4.4 毒性試験 17
2.4.4.1 単回投与毒性試験 17
2.4.4.2 反復投与毒性試験 17
2.4.4.3 遺伝毒性試験 19
2.4.4.4 がん原性試験 19
2.4.4.5 生殖発生毒性試験 20
2.4.4.6 幼若動物を用いた試験 21
2.4.4.7 局所刺激性試験 22
2.4.4.8 免疫毒性試験 22
2.4.4.9 その他の毒性試験 22
2.4.4.10 ウパダシチニブの毒性試験プログラム 23
2.4.4.11 動物からヒトへのデータの外挿 24
2.4.5 総括及び結論 26
2.4.5.1 ウパダシチニブの特徴 26

2.4.5.2 ウパダシチニブの安全性プロファイル 26
2.4.5.3 全体的な結論 27
2.4.5.4 重要な問題点及び解決法 27
2.4.5.5 添付文書案 27
2.4.6 参考文献一覧 27

表一覧

表 2.4.2-1. ウパダシチニブの効力を裏付ける試験の一覧 10
表 2.4.2-2. ウパダシチニブの副次的薬理試験の一覧 10
表 2.4.2-3. ウパダシチニブの安全性薬理試験の一覧 11
表 2.4.3-1. ウパダシチニブの薬物動態試験の一覧 15
表 2.4.3-2. 血漿中ウパダシチニブの定量法 16
表 2.4.3-3. ウパダシチニブの血漿中代謝物プロファイル 16
表 2.4.4-1. ウパダシチニブの毒性試験プログラム 23
表 2.4.4-1. ウパダシチニブの毒性試験プログラム（続き） 24
表 2.4.6-1. ウパダシチニブ：マウス，ラット，ウサギ及びイヌを用いた重要な毒性試験の要約 30
表 2.4.6-1. ウパダシチニブ：マウス，ラット，ウサギ及びイヌを用いた重要な毒性試験の要約（続き） 31

略語表

略語	省略しない表現（英語）	省略しない表現（日本語）
ADME	absorption, distribution, metabolism, and excretion	吸収，分布，代謝，排泄
AUC	area under the concentration-time curve	濃度–時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}inf}$	area under the concentration-time curve from time 0 to infinity	投与後 0 時間から無限時間までの濃度-時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}9hr}$	area under the concentration-time curve from time 0 to 9 hours postdose	投与後 0 時間から 9 時間までの濃度-時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}24hr}$	area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours postdose	投与後 0 時間から 24 時間までの濃度-時間曲線下面積
BCRP	brest cancer resistance protein	乳癌耐性タンパク質
BSEP	bile salt export pump	胆汁酸塩排出ポンプ
C_{max}	maximum concentration	最高濃度
CNS	central nervous system	中枢神経系
CYP	cytochrome P450	チトクロム P450
EMA	European Medicines Agency	欧州医薬品庁
FDA	Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
f_e	fraction of unchanged drug excreted in urine	未変化体の尿中排泄率
f_u	fraction unbound	非結合型分率
HPLC-MS/MS	high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry	高速液体クロマトグラフィータンデム質量分析
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use	医薬品規制調和国際会議
ISR	incurred sample reanalysis	定量値の再現性確認のため，異なる日に別の分析単位で投与後試料を再分析すること
JAK	Janus kinase	ヤヌスキナーゼ
MATE	multidrug and toxin extrusion	-
MRM	multiple reaction monitoring	多重反応モニタリング
mRNA	messenger ribonucleic acid	伝令リボ核酸
OAT	organic anion transporter	有機アニオントランスポーター
OATP	organic anion transporting polypeptide	有機アニオン輸送ポリペプチド
OCT	organic cation transporter	有機カチオントランスポーター
P-gp	P-glycoprotein	P 糖タンパク質
PO	per os	経口の
QD	once a day (Latin, quaque die)	1 日 1 回
QWBA	quantitative whole-body autoradiography	定量的全身オートラジオグラフィー
RA	rheumatoid arthritis	関節リウマチ

2.4.1 非臨床試験計画概略

ウパダシチニブは，本申請の標的適応症である，中等症から重症の活動性関節リウマチ（以下「RA」）を有する成人の治療薬として開発中の，新規経口ヤヌスキナーゼ（以下「JAK」）1選択的阻害剤である。また，ウパダシチニブは，クローン病，潰瘍性大腸炎，アトピー性皮膚炎，軸性脊椎関節炎，関節症性乾癬及び巨細胞性動脈炎といったその他の炎症性疾患を有する患者の治療薬としても開発中である。JAK シグナル伝達が活性化されると，生存因子，サイトカイン，ケモカイン及びその他の分子の発現が開始されることによって，白血球の細胞トラフィッキング，活性化及び細胞増殖が促進され，これらが炎症性疾患及び自己免疫疾患に寄与する。JAK の阻害により炎症性サイトカインの放出が減少し，その結果，リンパ球の活性化及び増殖が抑制される。

JAK1 及び JAK3 は，共通 γ 鎖（以下「CGC」）サイトカイン受容体複合体の成分であり，それらを阻害すると，インターロイキン（以下「IL」）-2，4，7，9，15 及び 21 などの炎症性サイトカインによるシグナル伝達が阻害される [1,2]。IL-6 など，炎症性疾患の発症に関与する一部のサイトカインは，JAK1 のみに依存している。したがって，JAK1 を阻害すると，多くの催炎症性サイトカインのシグナル伝達が阻害され，その結果，リンパ球の活性化及び増殖が抑制される [3]。JAK1 及び JAK2 は多くの種類の細胞に普遍的に発現しているが，JAK3 は，分布がより限定的で，主に造血細胞に発現しており，リンパ球の成熟及び分化に重要な役割を果たしている。JAK3 の阻害により，T 細胞及びナチュラルキラー（以下「NK」）細胞の成熟障害，並びに B 細胞の機能障害が生じ，JAK3 の機能欠失型変異によりヒト及びマウスの両方で免疫不全が生じる [4]。JAK2 は共通 β 鎖受容体と結合するが，エリスロポエチン，トロンボポエチン，顆粒球マクロファージコロニー刺激因子（以下「GM-CSF」）及び成長ホルモンといった造血成長因子によっても活性化される。したがって，JAK2 の阻害は，赤血球造血などの重要な機能に影響を及ぼす可能性がある [1,5]。

ヒト及び非臨床動物種における JAK 阻害剤の薬理作用は，サイトカインシグナル伝達物質としての JAK の生物学的機能に基づく作用機序と直接関連することが多い [4]。JAK1 の阻害は，リンパ球の分化及び炎症の急性期反応に重要な IL-6 シグナル伝達に影響を及ぼす。JAK2 阻害による影響として，エリスロポエチンのような造血系サイトカインのシグナル伝達が遮断され，その結果，臨床において赤血球量（以下「RBC 量」）減少又は貧血が生じる可能性がある。最後に，JAK3 活性の阻害は，リンパ球の成熟及び分化に影響を及ぼし，その結果，循環血中及び組織内のリンパ球が減少し，免疫系全体への影響が生じる。文献的に，JAK1 キナーゼと JAK2 キナーゼの間には高度の構造的類似性があることから，多くの JAK1 阻害剤は JAK2 阻害作用も有している [6,7]。したがって，JAK1 選択的阻害剤は，特に高用量において，JAK2 及び JAK3 の活性にも影響を及ぼす可能性が示唆された。

ウパダシチニブは，経口投与可能な可逆的 JAK1 選択的阻害剤であり，JAK1 依存的な過程である IL-6 シグナル伝達を阻害する。ヒト赤白血病 TF-1 細胞を用いた IL-6 誘導 STAT3 リン酸化アッセイにおける本剤の IC_{50} は 9 ± 5 nmol/L であった。ウパダシチニブは，広範な一連の *in vitro* 酵素及び細胞アッセイにおいて，他の JAK ファミリーメンバー（JAK2，JAK3 及びチロシ

ンキナーゼ 2［以下「TYK2」］）と比較して JAK1 に選択性を示した。また，70 種類を超えるキナーゼからなるパネルにおいて，結合親和性は低かったことから，本剤が選択性を有することが更に明らかになった。十分に確立されている *in vivo* 炎症性関節炎モデルであるアジュバント関節炎（以下「AIA」）ラットモデルを用いてウパダシチニブを評価した。ウパダシチニブの経口投与により，AIA モデルにおける関節炎の表現型が抑制された。このモデルで足浮腫及び骨侵食の両方が抑制されたことから，ウパダシチニブの JAK 阻害プロファイルで十分に炎症性疾患過程が抑制されることが示唆された。

関節炎モデルでの有効性と赤血球造血モデルでの作用を比較した *in vitro* アッセイ及び *in vivo* 実験に基づくと，ウパダシチニブは，有効性を示す薬物濃度において，JAK2 にほとんど影響を及ぼさない。関節炎モデルでの有効性と NK 細胞阻害作用を比較した *in vitro* アッセイ及び *in vivo* 実験に基づくと，本剤は，JAK3 と比較しても JAK1 に選択的である。

日本人 RA 患者を対象として，徐放性製剤を用いてウパダシチニブ 7.5，15 及び 30 mg を 1 日 1 回（以下「QD」）経口投与した。定常状態における平均血漿中曝露量（投与後 0 時間から 24 時間までの濃度-時間曲線下面積［以下「$AUC_{0\text{-}24hr}$」］）は，15 mg QD 投与時で 0.520 µg•hr/mL と算出された（M14-663）。実施した試験の概要は，関連する報告書への電子的なリンクとともに，各セクションの表に記載した。

ウパダシチニブの薬物動態は，CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic 野生型マウス（野生型 Tg.rasH2），ラット（Sprague-Dawley，Long Evans），ウサギ（New Zealand White），イヌ（ビーグル），カニクイザル及びヒトで評価した。血漿中代謝物及び代謝経路の検討により，薬理学的に不活性なヒト主代謝物（M4）を同定した。M4 は，反応性アシルグルクロニドではない，グルクロン酸抱合体である。一般的に，第 II 相反応で生成する抱合体は水溶性が増し，薬理学的に不活性となることから，代謝物の安全性の検討を実施する必要はないと考えられた（米国食品医薬品局［以下「FDA」］2016 MIST ガイダンス [8,9]）。放射性標識体を用いた試験により，毒性試験の主要な動物種（ラット，イヌ）及びヒトにおける排泄パターン，並びに雌雄ラットにおける組織分布を明らかにした。タンパク結合は，濃度依存性及び種差について検討した。非臨床試験及び特定の臨床試験において，ウパダシチニブの薬物相互作用の可能性を評価するため，チトクロム P450（以下「CYP」）（基質，阻害剤又は誘導剤）及びトランスポーター（基質又は阻害剤）について検討した。

医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（以下「GLP」）適用のラット及びイヌを用いた反復経口投与毒性試験を含む非臨床毒性試験において，ウパダシチニブの毒性プロファイルを評価した。GLP 適用試験として，ラット及びイヌを用いた 4 週間試験（いずれも 4 週間の休薬期間を設定），並びにその後のラット及びイヌを用いた長期毒性試験（投与期間はそれぞれ 26 及び 39 週間）を実施した。CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic ヘミ接合マウスを用いた 26 週間がん原性試験の用量設定を行うため，CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic 野生型マウスを用いた GLP 適用 4 週間反復経口投与毒性試験を実施した。また，標準的な一連の GLP 適用 *in vitro* 遺伝毒性試験，GLP 適用 *in vivo* ラット骨髄小核試験及び GLP 適用 *in vitro* 光毒性試験でもウパダシチニブの評価を行った。CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic ヘミ接合マウスを用いた 26 週間がん原性試験及び

Sprague-Dawley ラットを用いた 2 年間がん原性試験を，いずれも GLP 適用で実施した。雌雄ラットを用いた GLP 適用の受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験，ラット及びウサギを用いた GLP 適用の胚・胎児発生に関する（以下「EFD」）試験，並びにラットを用いた GLP 適用の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が終了している。1 歳以上の小児患者への投与をサポートするため，幼若動物を用いた重要な GLP 適用試験を実施した。幼若ラットを用いたこの試験では，免疫表現型検査及び T 細胞依存的抗体応答（以下「TDAR」）アッセイも実施した。成獣 Sprague-Dawley ラットでも，ウパダシチニブが外来抗原に対する抗体応答を抑制するか否かを検討するため，休薬期間を設けた GLP 適用の TDAR アッセイを実施し，終了している。ラット及びイヌにおける主要な所見は，循環血中リンパ球減少及びリンパ系組織細胞充実性低下，並びに赤血球造血抑制及びその結果としての RBC 量及び / 又は網状赤血球の減少であり，長期投与したイヌでは免疫抑制を示すエビデンスが，ラット及びウサギではいずれも催奇形性が認められた。これらの所見は，ウパダシチニブの JAK 酵素活性阻害作用による直接的又は二次的な変化と考えられた。

2.4.1.1 試験計画

試験範囲

薬理試験，薬物動態試験及び毒性試験は，標的適応症におけるウパダシチニブの使用を目的とした臨床開発及び承認が可能となる十分なデータが得られるように計画した。薬理試験として，効力を裏付ける試験（*in vitro*，*in vivo*），副次的薬理試験及び安全性薬理試験を実施した。薬物動態試験では，単回及び反復投与後の薬物動態，血漿及び排泄物中の代謝物同定とプロファイリング，組織及び血漿中への分布，並びに薬物相互作用の可能性について評価した。

ウパダシチニブの毒性試験計画は，RA に加えて，その他の炎症性疾患における使用も目的とした臨床開発及び承認をサポートするように策定した。試験計画は，医薬品規制調和国際会議（以下「ICH」）ガイドラインに従っており，4 週間及び長期反復投与毒性試験，*in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験，生殖発生毒性試験，並びに *in vitro* 光毒性試験を実施した。生殖発生毒性試験として，雌雄ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験，ラット及びウサギを用いた EFD 試験，ラットを用いた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を実施した。幼若 Sprague-Dawley ラットを用いた GLP 適用試験も実施した。

がん原性試験は，Sprague-Dawley ラット及び CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic ヘミ接合マウスの両方を用いて実施した。最終的ながん原性試験におけるウパダシチニブの用量を設定するため，CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic マウスの野生型同腹児を用いた反復経口投与毒性試験を実施した。

その他の毒性評価として，イヌを用いた GLP 非適用の 4 週間反復経口投与毒性試験（5 mg/kg/日の単一用量），幼若ラットを用いた GLP 非適用の 2 週間用量設定試験，並びに警告構造を有する原薬不純物及び製剤分解物の GLP 適用 *in vitro* 変異原性試験を実施した[10]。

ウパダシチニブはリンパ球及び免疫系に影響を及ぼすことが予想されるため，成獣 Sprague-Dawley ラットを用いた GLP 適用 TDAR アッセイを実施するとともに，幼若ラットを用いた

GLP 適用試験の一部としても TDAR アッセイを実施した。これらの試験において，ウパダシチニブは，成獣ラット及び幼若ラットの両方で外来抗原に対する抗体応答を抑制した。4 週間反復投与毒性試験においてラット及びイヌの両方でみられたウパダシチニブ関連の変化は，循環血中リンパ球減少及びリンパ系組織の細胞充実性低下，並びに赤血球造血抑制による RBC 量及び / 又は網状赤血球の減少であったが，免疫抑制を示す臨床的エビデンスは長期投与（最長 39 週間）したイヌでしか認められなかった。非臨床開発パッケージのこの点については，2.4.4.11 項「動物からヒトへのデータの外挿」でより詳細に考察する。

動物種

ウパダシチニブの毒性試験プロファイルの評価には，ウパダシチニブの曝露量がマウス及びサルよりも大きくなることから，Sprague-Dawley ラット及びビーグル犬を選択した。ウパダシチニブのヒトにおける代謝プロファイルは，ラット及びイヌによって十分に示された。生殖発生毒性試験にはラット及びウサギを使用した。がん原性試験には，CByB6F1-Tg (HRAS) 2Jic（ヘミ接合）マウス及び Sprague-Dawley ラットを選択した。

ウパダシチニブの用量

毒性試験におけるウパダシチニブの投与経路は，ヒトで予定されている治療時の投与経路であることから，経口投与（ラットには強制経口投与，イヌにはカプセル投与）とした。いずれの種類の試験においても最高用量は毒性によって制限されており，最も重要な試験の用量は，用量設定試験に基づいて設定した。IND を可能にする GLP 適用の最初の 4 週間試験において，ラット及びイヌにウパダシチニブを用量制限毒性がみられる用量まで投与した。ラットに 200 mg/kg/日の用量で単回投与したとき，忍容性がみられず，死亡が認められた。ラットに 100 mg/kg/日の用量で投与したときも死亡（単回投与後に雄 1 匹）が認められたほか，途中死亡例における肝壊死，腎尿細管変性 / 再生及び軽度かつ非毒性的な RBC 量減少が認められた。この 4 週間試験において 100 mg/kg/日で腎尿細管変性 / 再生がみられたことに基づき，ラット 26 週間長期試験の高用量として 50 mg/kg/日を設定した。イヌ 4 週間試験では，3 及び 5 mg/kg/日の用量で毒性変化として RBC 量減少が認められた。イヌ 4 週間試験の最高用量及びその下の用量でみられた RBC 量減少は，程度が大きいことから毒性変化と判断されたため，長期毒性試験の最高用量を投与期間全体を通して生存がみられる用量に減量したが，依然として同様の一連の変化が認められた。受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験並びに EFD 試験の高用量は母体毒性がみられる用量を設定した。

マウス及びラットを用いたがん原性試験は，それぞれ CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic 野生型マウスを用いた 4 週間試験及びラットを用いた 26 週間試験での所見に基づいて設定した。これらの試験の用量は，特殊試験計画書評価申請後に，FDA がん原性評価委員会（以下「CAC」）により承認された。CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic 野生型マウスにウパダシチニブを 40 mg/kg/日までの用量で 4 週間投与したとき，いかなる毒性所見も認められなかった。この 4 週間試験におけるウパダシ

チニブ関連の所見は，対照群と比較した 30 mg/kg/日以上の群の雄における軽微な循環血中リンパ球減少及び 10 mg/kg/日以上の群の雌における軽度のリンパ球減少のみであった。マウスを用いた GLP 適用がん原性試験の用量として，0，5，10 又は 20 mg/kg/日を設定した。ラットを用いた GLP 適用がん原性試験の用量は，ラット 26 週間試験でウパダシチニブを 0，5，20 又は 50 mg/kg/日の用量で投与したときの結果に基づいて設定した。20 及び 50 mg/kg/日群の雄における体重増加量減少，並びに 50 mg/kg/日群の雌雄における腎臓及び前胃の所見に基づき，雄では 0，4，7.5 及び 15 mg/kg/日，雌では 0，3，7.5 及び 20 mg/kg/日の用量を設定した。

2.4.1.2 GLP 適合性

重要な毒性試験及び安全性薬理試験は，GLP 規制及び ICH ガイドラインに従って実施した。重要な試験は，ヒトでの安全性を裏付けるのに必須の，ICH M3 (R2) [9] に規定されている試験である。マウス，ラット，ウサギ及びイヌを用いた GLP 非適用の試験は，GLP 規制で定められた原則に従って実施したが，GLP の要件をすべて満たすことを意図したものではなく，信頼性保証部門による監査を受けなかった。

2.4.1.3 ウパダシチニブの品質特性

ウパダシチニブについて，不純物の安全性確認試験は実施していない。市販品の規格に関しては，製造工程における 3 種類の個別規格設定不純物（ AM* ， AN* 及び B* ）について，ICH Q3A[11] に記載の安全性確認の必要な閾値 [redacted]%で規格を設定する予定である（3.2.S.4.1 項）。 D* 及び E* は，許容 1 日曝露量（以下「PDE」）に関する資料 [12,13] から得られた根拠に基づき，限度値をそれぞれ [redacted]%及び [redacted]%以下として規格を設定する予定である。

実際の又は潜在的な原薬不純物，並びにウパダシチニブで同定された製剤分解物を，2 種類の *in silico* 法（[redacted]及び [redacted]）で評価した。潜在的な変異原性不純物は，原薬上流で管理されるか，製造工程の理解を介して工程条件により適切な濃度まで減少することが示されているか（3.2.S.3.2 項），又は原薬で規格が設定されている（3.2.S.4.1 項）。警告構造を有する数種類の不純物及び分解物については，GLP 適用の *in vitro* での細菌を用いる復帰突然変異（Ames）試験を特別に実施した。遺伝毒性を有する不純物は，それぞれ毒性学的懸念の閾値（以下「TTC」）である [redacted] µg/日未満のレベルにコントロールされ，がん原性を有する不純物は，ICH M7 ガイドライン [10] に基づき，PDE 未満のレベルにコントロールされる。

2.4.1.4 科学論文

JAK は，4 つのファミリーメンバー（JAK1，2，3 及び TYK2）で構成される。これらの細胞質チロシンキナーゼは，CGC 受容体などの膜サイトカイン受容体及び膜貫通型タンパク質であ

*新薬承認情報提供時に置換

る糖タンパク質 130（以下「gp130」）と結合する[1,2]。約 40 種類のサイトカイン受容体が，これら 4 種類の JAK 及びその 7 種類の下流基質（シグナル伝達兼転写活性化因子［以下「STAT」］ファミリーメンバー）の組合せによってシグナルを伝達する[14]。サイトカインがその受容体に結合すると，トランスリン酸化及び自己リン酸化を介して JAK の活性化が開始される。その後，JAK キナーゼによってサイトカイン受容体残基がリン酸化され，STAT 因子及び JAK リン酸化によって後に活性化されるその他の制御因子といった肉腫（以下「Src」）ホモロジー2 含有タンパク質の結合部位が形成される。活性化 STAT は核内に入り，生存因子，サイトカイン，ケモカイン及び白血球細胞トラフィッキングを促進する分子の発現を開始させる[15]。

JAK1 及び JAK3 は，CGC ケモカイン受容体複合体の成分であり，それらを阻害すると，炎症性サイトカイン（IL-2，4，7，9，15 及び 21）によるシグナル伝達が阻害される[1,2]。一方，その他の薬理学的に重要なサイトカイン（IL-6 など）は，JAK1 のみに依存している。したがって，JAK1 を阻害すると，多くの催炎症性サイトカインのシグナル伝達が阻害される[3]。JAK3 の発現は造血細胞に限定され，リンパ球の成熟及び分化に重要な役割を果たしている。JAK3 の阻害により，T 細胞及び NK 細胞の成熟障害，並びに B 細胞の機能障害が生じる。JAK3 の機能欠失型変異によりヒト及びマウスの両方で免疫不全が生じる[4]。JAK2 は広く発現しており，共通 β 鎖受容体と結合するが，エリスロポエチン，トロンボポエチン，GM-CSF 及び成長ホルモンといった他のサイトカインによっても活性化される。したがって，JAK2 の阻害は，赤血球造血などの重要な機能に影響を及ぼす可能性がある[1,5]。

JAK1 欠損マウスは周産期に死亡する[15,16]。マウスにおける JAK2 の欠損も致死的であり，赤血球造血が不十分なため，妊娠 12–13 日目に胚死亡が生じる[5,17,18]。JAK3 欠損マウスの特徴は，T 及び B リンパ球の成熟障害によって生じる重症複合免疫不全である[19-21]。ヒトで JAK1 及び JAK2 の欠損は報告されていない。JAK3 の欠損はヒトで報告されており，生後数ヵ月で重症複合免疫不全を発症し，循環血中に T 細胞及び NK 細胞が存在せず，B 細胞機能に異常が認められている[22]。TYK2 欠損もヒトで報告されており，抗菌反応障害，血清中免疫グロブリン（以下「Ig」）E の上昇及びアトピー性皮膚炎が認められている[23]。

ウパダシチニブは，経口投与による可逆的 JAK1 選択的阻害剤であり，催炎症性サイトカインシグナル伝達を阻害する一方，有効濃度での JAK2 及び JAK3 に対する作用は最小となるようにデザインされている。

2.4.2 薬理試験

2.4.2.1 効力を裏付ける試験

ウパダシチニブは JAK1 選択的阻害剤である。ウパダシチニブの効力を一連の酵素及び細胞アッセイで測定した。生化学アッセイでの JAK1 に対する効力は 0.043 µmol/L である一方，JAK2，JAK3 及び TYK2 酵素に対する効力はそれぞれ 0.120，2.3 及び 4.7 µmol/L であった。ウパダシチニブは，TF-1 細胞において，JAK1 依存的な過程である IL-6 誘導 STAT3 リン酸化を阻害し，その効力は 9 nmol/L であった。

最初に，広範なキノームとの選択性を評価するため，70 種類を超えるキナーゼからなるパネルにおいて，ウパダシチニブの結合を測定した。このキナーゼパネルに対するウパダシチニブの結合親和性は低く，ウパダシチニブは可逆的な ATP 競合的阻害剤であることが示された。

in vivo において，ウパダシチニブの IL-2 シグナル伝達に対する作用を，コンカナバリン A（以下「ConA」）誘導 IFNγ モデルを用いて評価した。ウパダシチニブは IFNγ 誘導を阻害し，その ED_{50} は 0.4 mg/kg，ED_{80} は 5.8 mg/kg であった。十分に確立されている炎症性関節炎モデルである AIA ラットモデルにウパダシチニブを経口投与すると，関節炎の表現型が抑制され，その有効濃度は 0.034 µg•hr/mL（$AUC_{0\text{-}12hr}$）であった。このモデルで足浮腫及び骨侵食の両方が抑制されたことから，ウパダシチニブの JAK 阻害プロファイルで十分に炎症性疾患過程が抑制されることが示唆された。*in vivo* での選択性を裏付けるものとして，ウパダシチニブが循環血中 NK 細胞数に対して阻害作用を示す（JAK3 活性の阻害による）のに必要な $AUC_{0\text{-}12hr}$ は 0.520 µg•hr/mL であった。ウパダシチニブの効力を裏付ける試験の一覧を表 2.4.2-1 に示し，更なる詳細を 2.6.2 項に記載する。

表 2.4.2-1. ウパダシチニブの効力を裏付ける試験の一覧

	Test System	Method of Administration	Study Report
Biochemical and Cellular Characterization	In vitro	In vitro	R&D/12/424 R&D/12/445
Pharmacodynamics and efficacy studies	Rat	Oral	R&D/12/446 R&D/12/444

2.4.2.2 副次的薬理試験

大半の G タンパク質共役受容体の代表的な受容体及びいくつかのイオンチャネル結合部位を含む一連の放射性リガンド結合スクリーニングアッセイにおいて，ウパダシチニブを評価した。ウパダシチニブは，これらのアッセイのいずれにおいても，対照特異的な結合に対して，50%を超える置換を引き起こさなかった。ウパダシチニブの副次的薬理試験の一覧を表 2.4.2-2.に示し，更なる詳細を 2.6.2 項に記載する。

表 2.4.2-2. ウパダシチニブの副次的薬理試験の一覧

Organ Systems Evaluated	Species	Method of Administration	Concentrations or Doses	Study Report
Binding Assays	Receptors, ion channels, transporters	*In vitro*	10 µmol/L	R&D/12/336

2.4.2.3 安全性薬理試験

一連の安全性薬理試験でウパダシチニブを評価した。中枢神経系試験において，ラットにウパダシチニブを最高用量の 100 mg/kg で経口投与したとき（C_{max} = 13.5 µg/mL），自発運動の低下が認められた。覚醒イヌを用いた心血管系試験では，ウパダシチニブの経口投与により，1.5 mg/kg 以上の用量（C_{max} = 0.42 µg/mL）で平均動脈圧の中等度の低下が，5 mg/kg の用量（C_{max} = 1.3 µg/mL）で心拍数の増加が認められた。これらの変化は，関連する臨床試験で得られた濃度を上回る血漿中濃度で認められた。ラットを用いた呼吸系試験では，変化は認められなかった。ウパダシチニブの安全性薬理試験の一覧を表 2.4.2-3 に示し，更なる詳細を 2.6.2 項に記載する。

表 2.4.2-3. ウパダシチニブの安全性薬理試験の一覧

Organ Systems Evaluated	Species	Method of Administration	Concentrations or Doses	Study Report
CNS/Neurobehavioral				
Locomotor Activity	Rat	Oral	2, 6, 20, 60 and 200 mg/kg	R&D/11/1263
Functional Observational Battery (FOB)	Rat	Oral	10, 50 and 100 mg/kg	R&D/12/017
Cardiovascular				
hERG Current	HEK 293 Cells	*In vitro*	6.7, 20 and 60 µg/mL	R&D/15/1287
Cardiovascular Profile	Dog	Intravenous	0.06, 0.19 and 0.58 mg/kg/30 min	R&D/12/332
Cardiovascular Profile	Dog	Oral	0.5, 1.5 and 5 mg/kg	R&D/12/019
Respiratory	Rat	Oral	10, 50 and 100 mg/kg	R&D/12/018

2.4.3 薬物動態試験

薬物動態試験では，非臨床動物種における単回及び反復投与後の薬物動態，血漿及び排泄物中の代謝物同定とプロファイリング，組織及び血漿中への分布，並びに薬物相互作用の可能性について評価した（表 2.4.3-1）。

2.4.3.1 吸収

ラット，イヌ及びサルにおける静脈内投与後のウパダシチニブの薬物動態プロファイルの特徴として，大きな分布容積，短い消失半減期（1.3–3.1 時間）及び中等度から高度の血漿クリアランスが示された。ウパダシチニブを溶液として経口投与したとき，その吸収は穏やかであり，血漿中濃度は投与後約 1–2 時間でピークに達した。バイオアベイラビリティは，ラット（30.5%）では中等度であり，イヌ（76.8%）とサル（59.3%）ではラットよりも高かった。ラットにウパダシチニブの酒石酸塩（5–50 mg/kg）を懸濁液として経口投与したときの曝露量は，遊離塩基（50 及び 60 mg/kg）を溶液として投与したときと同程度であった。また，イヌにおいても，溶液として経口投与後の血漿中ウパダシチニブの最高濃度（以下「C_{max}」）及び濃度–時間曲線下面積（以下「AUC」）は，酒石酸塩の場合と遊離塩基の場合で同程度であった。イヌに絶食下又は非絶食下で各溶液を経口投与したとき，非絶食動物では絶食動物と比べて C_{max} は約 1/3 であり，AUC は約 40%低かった。マウス，ラット，ウサギ及びイヌにおける反復経口投与後の AUC には，投与 1 日目の値と比較して大きな差はなかった。マウス及びイヌでは，ウパダシチニブの曝露量に明らかな性差は認められなかったが，ラットでは，雌の AUC が雄よりも高かった。検討したすべての動物種において，経口投与量の増加に伴うウパダシチニブの C_{max} 及び AUC の増加は，用量比を上回った（2.6.4.3 項）。

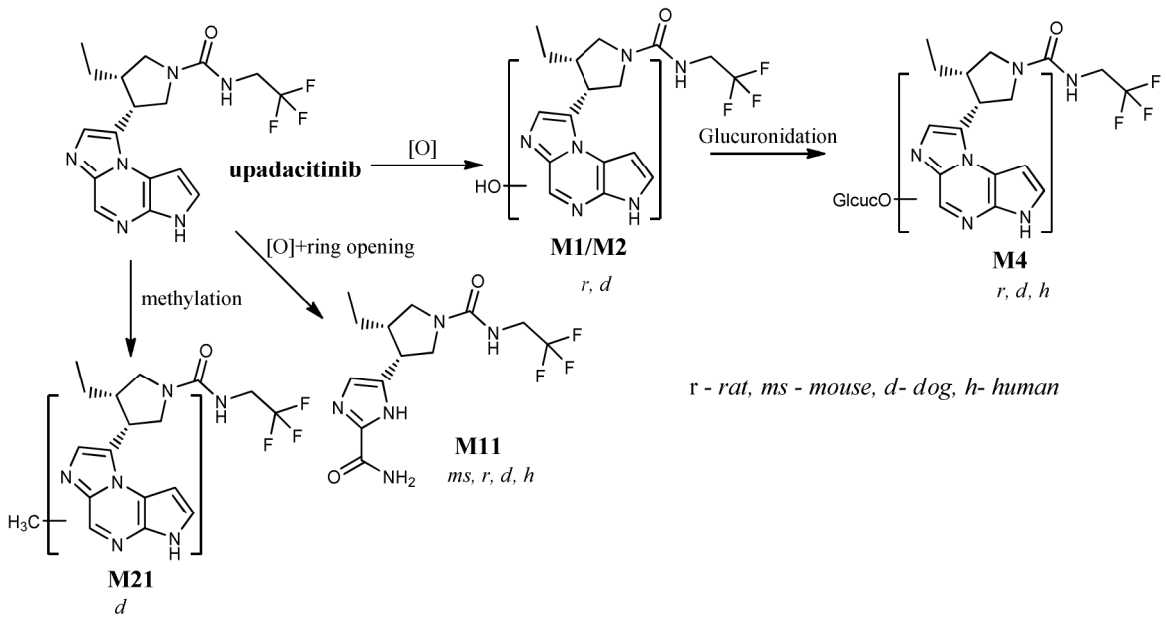
2.4.3.2 分布

ウパダシチニブの血漿タンパク結合率は低く，検討した濃度範囲（0.1–100 µmol/L）で濃度依存性は認められなかった。1 µmol/L における非結合型分率（以下「f_u」）の平均値は，ヒトでは 0.48 であり，検討した動物種間（マウス，ラット，イヌ，サル及びヒト）で明らかな差は認められなかった。ヒトにおいて，ウパダシチニブの赤血球への選択的な移行は認められなかった。ラットにおける組織分布について，定量的全身オートラジオグラフィー（以下「QWBA」）を用いて評価したところ，中枢神経系（以下「CNS」）及び眼の水晶体で定量限界（51.9 ng•eq/g）未満であった以外は，大部分の組織に放射能が検出された。妊娠ラットでは，胎盤，子宮，羊膜嚢，卵巣及び乳腺に放射能の分布が認められ，胎児組織では経口投与後 4 時間まで放射能が検出された（2.6.4.4 項）。

2.4.3.3 代謝

肝細胞及び市販ヒト組換え薬物代謝酵素（[redacted]）を用いた *in vitro* 代謝試験並びに *in vivo* 代謝試験により，マウス，ラット，イヌ及びヒトにおけるウパダシチニブの生体内変換について検討した。これらの動物種における代謝物を同定した結果，ウパダシチニブの主な代謝経路は，1）イミダゾピロロピラジン部分又はエチルピロリジン部分における酸化 / ヒドロキシル化（M1，M2，M10），2）酸化に続くグルクロン酸抱合（M3，M4），3）二次酸化（M6，M8），4）ピラジン部分の酸化に続く開環（M11）であった。マウス，ラット，イヌ及びヒトにおけるウパダシチニブの代謝プロファイルは，*in vivo* と *in vitro* でほぼ同様であったが（図 2.4.3-1），トリフルオロエチル基の脱離を伴う *N*-脱アルキル化（M7）は *in vitro* でのみ観察された。すべての動物種において，未変化体が循環血漿中の主要成分（ヒトでは血漿中総放射能の 79% 超）であった。ヒト血漿中の主代謝物は，グルクロン酸抱合体の代謝物 M4 であった。FDA 2016 MIST ガイダンス[8] と ICH M3（R2）ガイドライン[9] に従い，この代謝物 M4（第 II 相代謝の抱合体）に関するこれ以上の評価は実施していない。M11 はヒト血漿中における微量代謝物であり，検討したすべての非臨床動物種の血漿中でも認められた（表 2.4.3-3；2.6.4.5 項）。

図 2.4.3-1. マウス，ラット，イヌ及びヒトの血漿中で検出された代謝物に基づくウパダシチニブの推定代謝経路



2.4.3.4 排泄

ラット，イヌ及びヒトにおけるウパダシチニブの消失過程は，主に胆汁 / 糞又は腎排泄によるものであり，肝代謝の寄与は副次的であった。［^{14}C］ウパダシチニブを胆汁カニューレを挿

入したラットに静脈内投与したとき，胆汁中に投与量の 49.7%，尿中に 23.7%が回収された。イヌへの経口投与では，薬物由来放射能は糞中に 54.6%，尿中に 46.9%が排泄された。ヒトにおける即放性溶液製剤を用いた放射能のマスバランス試験では，平均して，糞中に投与量の 53.4%，尿中に 42.6%が回収された（投与後 216 時間まで採取；2.6.4.6 項）。授乳中のラットに経口投与したとき，乳汁中放射能の投与後 0 時間から無限時間までの濃度–時間曲線下面積（以下「$AUC_{0\text{-}inf}$」）は血漿中放射能の $AUC_{0\text{-}inf}$ よりも 31 倍高かった。

2.4.3.5 薬物動態学的薬物相互作用

ウパダシチニブの潜在的な薬物相互作用の予測は，FDA ドラフトガイダンス（2017 年）[24] 及び EMA 薬物相互作用ガイドライン（2013 年）[25] に基づいて行った。

ウパダシチニブは主として CYP3A4 により代謝され，寄与の程度は小さいものの CYP2D6 及び CYP3A5 によっても代謝される。*in vitro* において，ウパダシチニブは CYP2C9 及び CYP3A4 を阻害したが，基本モデルに従って可逆的阻害の可能性を予測したところ，この阻害は臨床的に重要ではないと考えられた。ヒト肝細胞における CYP1A2 の伝令リボ核酸誘導では，用量依存的な増加はわずかであり（陽性対照の 20%未満），また，静的薬物速度論モデルに基づく検討では，臨床的には CYP2B6 誘導の可能性はないと推測された。徐放性製剤を用いたウパダシチニブ 30 mg の反復経口投与との併用で，CYP3A の感受性の高い基質であるミダゾラムの C_{max} 及び AUC に，わずかな減少（26%）が認められた。

ウパダシチニブは，有機アニオン輸送ポリペプチド（以下「OATP」）1B1，1B3 又は有機カチオントランスポーター（以下「OCT」）1 の基質ではないが，排出トランスポーターである P 糖タンパク質（以下「P-gp」）及び乳癌耐性タンパク質（以下「BCRP」）の基質である。*in vitro* で，ウパダシチニブは OATP1B3 又は OCT1 を阻害しないが，OATP1B1 を阻害する。ヒトにウパダシチニブ 30 mg を徐放性製剤として QD 投与したときの曝露量から，臨床用量においてウパダシニチブは OATP1B1 を阻害しないと予測された。この予測と一致して，ウパダシチニブの定常状態において，併用投与されたロスバスタチン又はアトルバスタチン（いずれも OATP の基質）の曝露量に変化は認められなかった。*in vitro* で，ウパダシチニブは P-gp，BCRP 及び胆汁酸塩排出ポンプ（以下「BSEP」）を阻害するが，予定臨床用量 / 曝露量では，腸管腔内又は他の組織部位の排出トランスポーター（P-gp 及び BCRP）を阻害しないと予測された。第 I 相試験では，未変化体の尿中排泄率（以下「f_e」）は，広範囲の用量（1–48 mg）にわたって 25%未満であり，腎排泄は主要な消失経路ではないことが示されている（総クリアランスの 25%未満）。徐放性製剤を用いたウパダシニチブ 30 mg QD 投与時の臨床曝露量から，ウパダシチニブは腎トランスポーターである OCT2，有機アニオントランスポーター（以下「OAT」）1，OAT3，multidrug and toxin extrusion（以下「MATE」）1 及び MATE2K を阻害しないと予測された（2.6.4.7 項）。