2.6.1 緒言

2.6.1.1 薬理学的特性及び化学構造

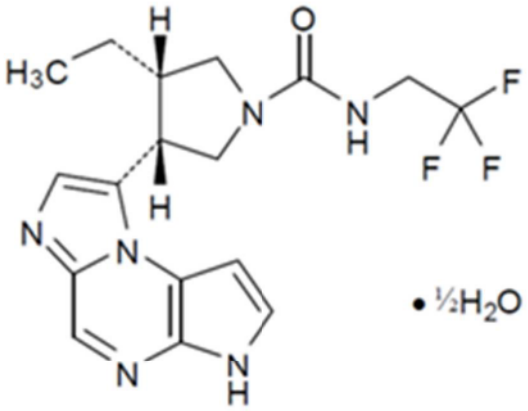
ウパダシチニブは新規ヤヌスキナーゼ（JAK）1 阻害剤である。JAK は炎症応答，造血，及び免疫監視を含む広範囲の細胞プロセスに関与するサイトカイン又は増殖因子シグナルを伝達する重要な細胞内酵素である。JAK ファミリーの酵素には，JAK1，JAK2，JAK3 及び Tyk2 があり，シグナル伝達及び転写活性化因子（STAT）のリン酸化及び活性化に関わる。JAK1 は炎症性サイトカインシグナルにおいて重要であるが，JAK2 は赤血球成熟にとって重要であり，JAK3 シグナルは免疫監視及びリンパ球機能において重要な役割を示す。[1]

ウパダシチニブは，JAK1 選択的で，その他のキナーゼに対して良好な選択性を示した。ウパダシチニブの JAK1 阻害作用は可逆的で，ATP 競合作用において迅速な結合及び解離作用を示した。また，ウパダシチニブは，JAK 依存的な細胞アッセイ系において強力な阻害作用を示した。

In vivo 試験において，ウパダシチニブは，コンカナバリン A（Con A）誘導急性炎症ラットモデルにおいて，IL-2 量に対する影響を最小限に IFN-γ 産生を用量依存的に阻害し，ウパダシチニブを経口投与したときの 50%有効用量（ED_{50}）及び 80%有効用量（ED_{80}）は，それぞれ，0.4 mg/kg 及び 5.8 mg/kg であった。また，ウパダシチニブは，アジュバント誘導ラット関節炎（AIA）モデルにおいて，後足浮腫を用量依存的に抑制した。

ウパダシチニブの構造式を図 2.6.1-1 に示す。

図 2.6.1-1. ウパダシチニブの構造



2.6.1.2 効能・効果及び用法・用量

[効能・効果]
既存治療で効果不十分な関節リウマチ（関節の構造的損傷の防止を含む）

[用法・用量]
通常，成人にはウパダシチニブとして 15 mg を 1 日 1 回経口投与する。なお，患者の状態に応じて 7.5 mg を 1 日 1 回投与することができる。

2.6.1.3 参考文献

1. Clark JD, Flanagan ME, Telliez JB. Discovery and Development of Janus Kinase (JAK) Inhibitors for Inflammatory Diseases. J. Med. Chem. 2014, 57, 5023−5038.

2.6.2 薬理試験の概要文

目次

2.6.2 薬理試験の概要文 1
2.6.2.1 まとめ 3
2.6.2.2 効力を裏付ける試験 3
2.6.2.2.1 JAK 酵素活性に対するウパダシチニブの阻害作用 3
2.6.2.2.2 細胞活性 4
2.6.2.2.3 *In vivo* 薬効薬理試験 5
2.6.2.2.4 *Ex vivo* 薬理試験 10
2.6.2.3 副次的薬理試験 10
2.6.2.3.1 ウパダシチニブの受容体結合性 10
2.6.2.4 安全性薬理試験 11
2.6.2.4.1 中枢神経系に及ぼす影響 11
2.6.2.4.2 心血管系に及ぼす影響 11
2.6.2.4.3 呼吸系に及ぼす影響 12
2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験 12
2.6.2.6 考察及び結論 12
2.6.2.7 図表 13
2.6.2.8 参考文献 13

略語一覧

略語	省略していない表現又は説明（英語）	省略していない表現又は説明（日本語）
AIA	Adjuvant Induced Arthritis	アジュバント誘導関節炎
ATP	Adenosine 5'-Triphosphate	アデノシン-5'-三リン酸
C_{max}	Maximum Concentration	最高血中濃度
Con A	Concanavalin A	コンカナバリン A
ED_{50}	50% Effective Dose	50%有効用量
ED_{80}	80% Effective Dose	80%有効用量
EPO	Erythropoietin	エリスロポエチン
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
HEK	Human Embryonic Kidney	ヒト胎児由来腎臓
hERG	Human *ether-a-go-go* Related Gene	ヒト *ether-a-go-go* 関連遺伝子
HRTF	Homogeneous Time Resolved Fluorescence	均一性時間分解蛍光法
IC_{50}	50% Inhibitory Concentration	50%阻害濃度
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
TR-FRET	Time-Resolved Fluorescence Resonance Energy Transfer	時間分解蛍光共鳴エネルギー移動
µCT	Micro-Computed Tomography	マイクロコンピュータ断層撮影

2.6.2.1 まとめ

ヤヌスキナーゼ（以下「JAK」）は炎症応答，造血，及び免疫監視を含む広範囲の細胞プロセスに関与するサイトカイン又は増殖因子シグナルを伝達する重要な細胞内酵素である。JAK ファミリーの酵素には，JAK1，JAK2，JAK3 及び Tyk2 があり，シグナル伝達及び転写活性化因子（以下「STAT」）のリン酸化及び活性化に関わる。JAK1 は炎症性サイトカインシグナルにおいて重要であるが，JAK2 は赤血球成熟にとって重要であり，JAK3 シグナルは免疫監視及びリンパ球機能において重要な役割を示す。[1]

ウパダシチニブは新規 JAK1 阻害剤であり，その他のキナーゼに対して良好な選択性を示した。ウパダシチニブの JAK1 阻害作用は可逆的で，ATP 競合作用において迅速な結合及び解離作用を示した。また，ウパダシチニブは，JAK 依存的な細胞アッセイ系において強力な阻害作用を示した。

In vivo 試験において，ウパダシチニブは，コンカナバリン A（以下「Con A」）誘導急性炎症ラットモデルにおいて，インターロイキン（以下「IL」）-2 量に対する影響を最小限にインターフェロン（以下「IFN」）-γ 産生を用量依存的に阻害し，ウパダシチニブを経口投与したときの 50%有効用量（以下「ED_{50}」）及び 80%有効用量（以下「ED_{80}」）は，それぞれ，0.4 mg/kg 及び 5.8 mg/kg であった。また，ウパダシチニブは，アジュバント誘導ラット関節炎（以下「AIA」）モデルにおいて，後足浮腫を用量依存的に抑制した。

一連の安全性薬理試験においてウパダシチニブの及ぼす影響を検討した。中枢神経系において，ラットに最高用量の 100 mg/kg（C_{max} = 13.5 µg/mL）を経口投与したとき，自発運動量の減少がみられた。心血管系において，覚醒イヌに経口投与したとき，1.5 mg/kg（C_{max} = 0.42 µg/mL）で中等度の平均動脈圧の低下，5 mg/kg（C_{max} = 1.3 µg/mL）で心拍数の上昇がみられた。いずれの作用も臨床試験より高い血漿中濃度でみられた作用であった。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

2.6.2.2.1 JAK 酵素活性に対するウパダシチニブの阻害作用

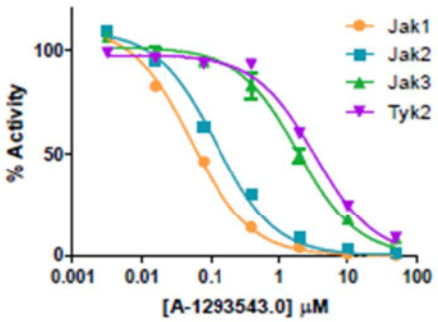
（R&D/12/424 [4.2.1.1-1 項]，概要表 2.6.3.2）

ウパダシチニブの JAK ファミリー（JAK1，JAK2，JAK3 及び Tyk2）に対する酵素阻害活性を検討するため，遺伝子組換えヒト JAK ファミリーに対するウパダシチニブの酵素阻害活性についてアデノシン-5'-三リン酸（以下「ATP」）を競合的拮抗薬として用いた Homogeneous Time Resolved Fluorescence（以下「HTRF」）アッセイにより検討した。その結果，ウパダシチニブは最も強力に JAK1 を阻害し，ATP 濃度 0.1 mmol/L 又は 0.001 mmol/L を適用したときの 50%阻害濃度（以下「IC_{50}」）はそれぞれ，0.043 µmol/L 又は 0.0032 µmol/L 未満であった（図 2.6.1-1，表 2.6.2-1）。また，ウパダシチニブは JAK2，JAK3 及び Tyk2 に対する酵素阻害活性を示し，ATP 濃度 0.1 mmol/L のときの IC_{50} はそれぞれ，0.12 µmol/L，2.3 µmol/L 及び 4.69 µmol/L であった。ATP 濃度 0.1 mmol/L 又は 0.001 mmol/L 適用時の JAK 酵素阻害活性を表 2.6.2-1 に示した。

表 2.6.2-1. 遺伝子組換えヒト JAK ファミリーに対するウパダシチニブの酵素阻害活性

JAK family	IC_{50} Mean ± SEM (µmol/L) at ATP 0.1 mmol/L	N	IC_{50} Mean ± SEM (µmol/L) at ATP 0.001 mmol/L	N
Recombinant human JAK1	0.043 ± 0.006	8	< 0.0032	2
Recombinant human JAK2	0.12 ± 0.03	4	< 0.0032	2
Recombinant human JAK3	2.3 ± 0.38	5	0.05	2
Recombinant human Tyk2	4.69	1	0.055	2

図 2.6.1-1. 遺伝子組換えヒト JAK ファミリーに対するウパダシチニブの酵素阻害活性
（ATP： 0.1 mmol/L）



その他のヒトキナーゼに対するウパダシチニブの阻害活性について，TR-FRET（以下「時間分解蛍光共鳴エネルギー移動」）アッセイにより検討した。評価した 70 種以上のキナーゼパネルに対して，ウパダシチニブは良好な選択性を示し，14 種のキナーゼに対して 10 µmol/L 未満の IC_{50} を示し，また，1 µmol/L 以下の IC_{50} を示した酵素は，Rock1（1 µmol/L）及び Rock2（0.42 µmol/L）のみであった

2.6.2.2.2 細胞活性

（R&D/12/445 [4.2.1.1-2 項]，概要表 2.6.3.2）

ヒト T リンパ芽球細胞における IL-2 誘導 STAT5 リン酸化阻害

受容体との結合を介した IL-2 のシグナル伝達には，JAK1 及び JAK3 キナーゼ活性が必要である。[1] 細胞におけるウパダシチニブの JAK1/JAK3 阻害作用を検討するため，ヒト T リンパ芽球細胞におけるウパダシチニブの IL-2 誘導 STAT5 リン酸化阻害活性を AlphaScreen SureFire

phosho-STAT5 (Tyr694/699)キットを用いて評価した。ウパダシチニブは，STAT5 リン酸化を完全に阻害し，EC_{50} は，13 ± 1 nmol/L（平均値 ± 標準偏差，n = 5）であった。

TF-1 細胞における IL-6 誘導 STAT3 リン酸化阻害

受容体との結合を介した IL-6 のシグナル伝達には，JAK1 キナーゼ活性が必要である。[3] 細胞におけるウパダシチニブの JAK1 阻害作用を検討するため，ヒト赤白血病 TF-1 細胞におけるウパダシチニブの IL-6 誘導 STAT3 リン酸化阻害活性を AlphaScreen SureFire phosho-STAT3 (Tyr705)キットを用いて評価した。ウパダシチニブは，STAT3 リン酸化を完全に阻害し，EC_{50} は，9 ± 5 nmol/L（平均値 ± 標準偏差，n = 16）であった。

UT-7 細胞における EPO 誘導 STAT5 リン酸化阻害

受容体との結合を介したエリスロポエチン（以下「EPO」）のシグナル伝達には，JAK2 キナーゼ活性が必要である。[4] 細胞におけるウパダシチニブの JAK2 阻害作用を検討するため，ヒト巨核芽球性白血病 UT-7 細胞におけるウパダシチニブの EPO 誘導 STAT5 リン酸化阻害活性を AlphaScreen SureFire phosho-STAT5 (Tyr694/699)キットを用いて評価した。ウパダシチニブは，STAT5 リン酸化を完全に阻害し，EC_{50} は，628 ± 161 nmol/L（平均値 ± 標準偏差，n=17）であった。

以上の結果から，ウパダシチニブは評価した細胞アッセイにおいて JAK1 選択的な阻害活性を示した（表 2.6.2-2）。

表 2.6.2-2. 各種細胞を用いた STAT リン酸化に対するウパダシチニブの阻害活性

Assay	Jak	EC_{50} (nmol/L, mean ± S.D.M)	N
IL-6 induced pSTAT3 phosphorylation in TF-1 cells	Jak1	9 ± 5	16
EPO induced pSTAT5 phosphorylation in UT-7 cells	Jak2	628 ± 161	17
IL-2 induced pSTAT5 phosphorylation in T-blasts cells	Jak1, Jak3	13 ± 1	5

2.6.2.2.3 *In vivo* 薬効薬理試験

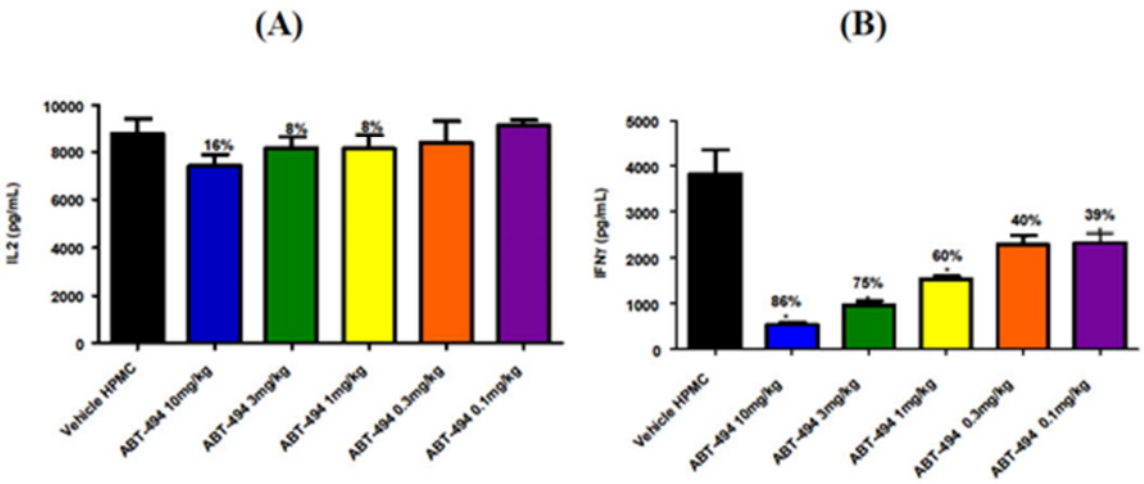
（R&D/12/444 [4.2.1.1-3 項]，概要表 2.6.3.3）

ウパダシチニブの JAK1 キナーゼ阻害を介した *in vivo* 薬理作用について，急性モデルである Con A 誘導急性炎症ラットモデル及び慢性モデルであるアジュバント誘導関節炎（AIA）ラットモデルにより評価した。

Con A 誘導急性炎症ラットモデル

経口投与による有効性及び JAK1 を介した有効性を迅速に評価するため，急性モデルとして Con A 誘導急性炎症ラットモデルを用いて検討した。本モデルは，雄性 Lewis ラットに Con A を静脈内投与することにより T 細胞受容体が重合し活性化され，オートクライン作用により IL-2 の遊離と IFN–γ 産生が誘導される。IL-2 遊離は JAK 非依存的であることから，JAK1 阻害剤投与により IFN-γ 産生が抑制される。[5] 経口投与時の T_{max} を考慮し，Con A 静脈内投与の 30 分前にウパダシチニブを経口投与し，4 時間後に血漿中 IFN-γ 及び IL-2 濃度を評価した。ウパダシチニブを 0.1，0.3，1.0，3 及び 10 mg/kg 経口投与したとき，IFN-γ 産生の用量依存的な抑制作用がみられ，ED_{50} 及び ED_{80} はそれぞれ，0.4 mg/kg 及び 5.8 mg/kg であった（図 2.6.2-2-B）。一方，IL-2 遊離に対してほとんど抑制作用は示さなかった（図 2.6.2-2-A）。

図 2.6.2-2. ラットにおける Con A 誘発 IFN-γ 産生に対するウパダシチニブ の効果

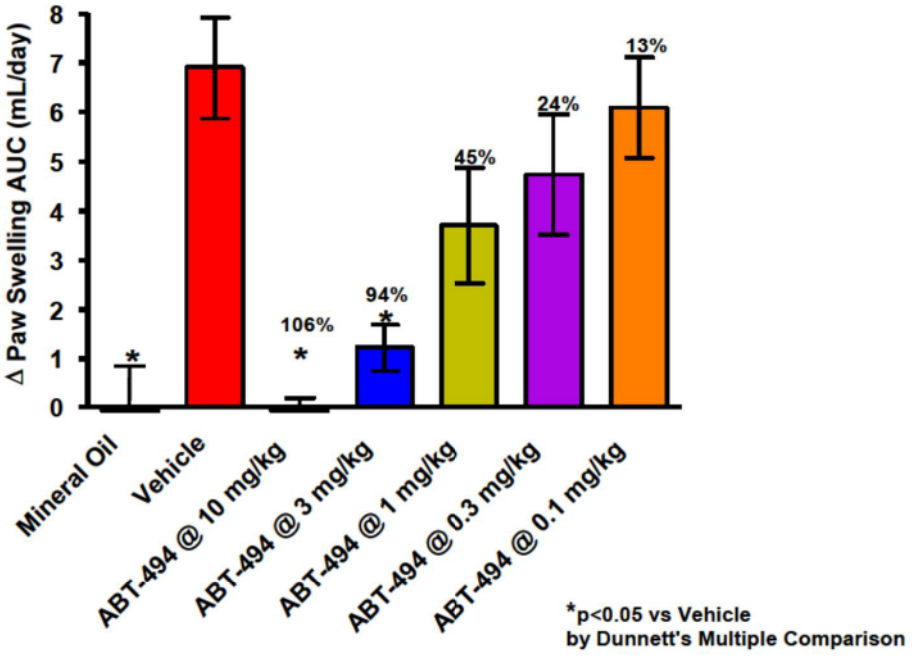


* p<0.05 vs vehicle by Dunnett"s Multiple Comparison Test

AIA ラットモデル

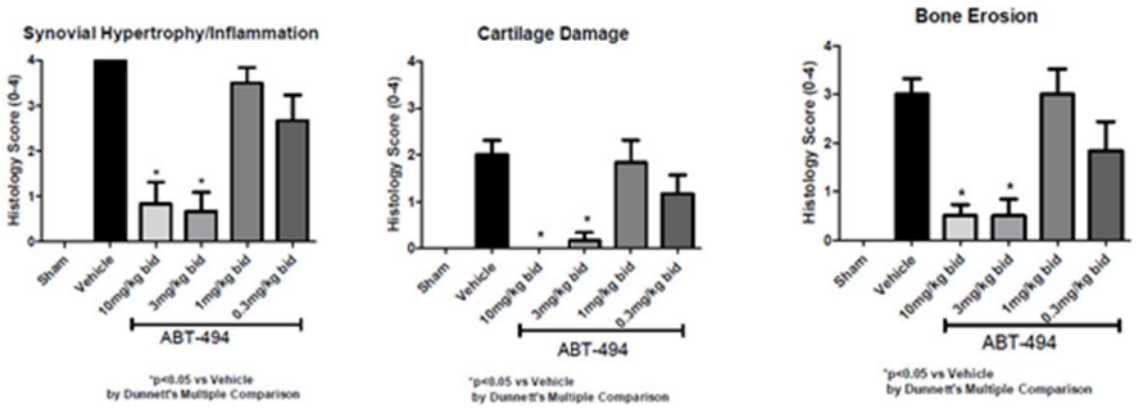
中等度の炎症症状を示す疾患状態に対するウパダシチニブの有効性を評価するため，確立された非臨床関節リウマチモデルのひとつである，AIA ラットモデルを用いて検討した。[6] 雌性 Lewis ラットにウパダシチニブを 0.1 から 10 mg/kg，1 日 2 回，10 日間経口投与したとき，用量及び曝露量依存的な足浮腫の抑制作用がみられた。有効用量の検討として，投与後 12 時間の血漿中濃度の累積値（AUC_{0-12}）の常用対数に足浮腫をプロットし，最大反応に対して 60%抑制する血漿中濃度を検討した。その結果，EC_{60} は，全 AUC_{0-12} で 85 ng•hr/mL，非結合型分画の AUC_{0-12} で 34 ng•hr/mL であった（図 2.6.2-3）。

図 2.6.2-3. ラット AIA モデルにおける足浮腫に対するウパダシチニブの効果



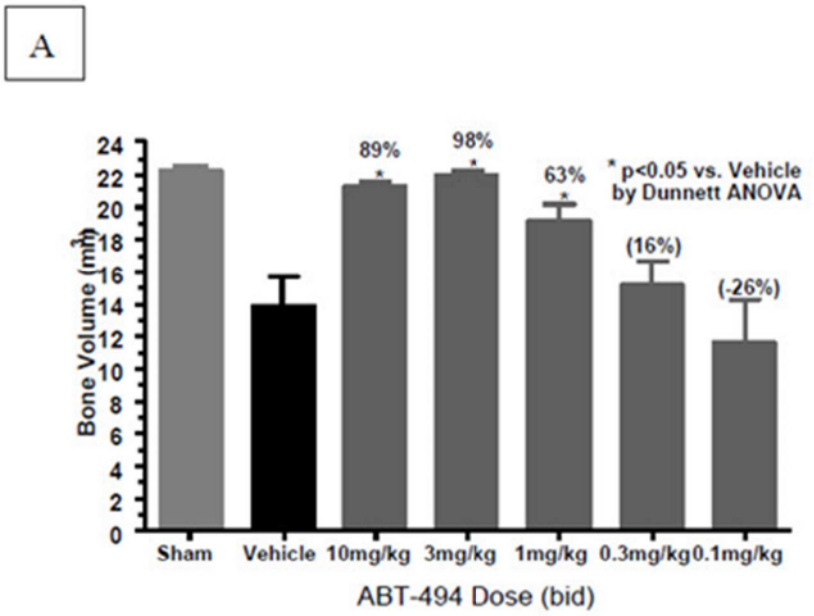
ウパダシチニブの疾患修飾作用を評価するため，ラットの左足及び足関節を組織学的検査により評価した。ヘマトキシリン-エオシン染色したスライドについて滑膜肥大/炎症，軟骨損傷及び骨侵食の重症度を 0–4 にスコア化して評価した。ウパダシチニブを 3，10 mg/kg，1 日 2 回，10 日間経口投与したとき，全ての項目について関節の形態変化が有意に改善された（図 2.6.2-4）。

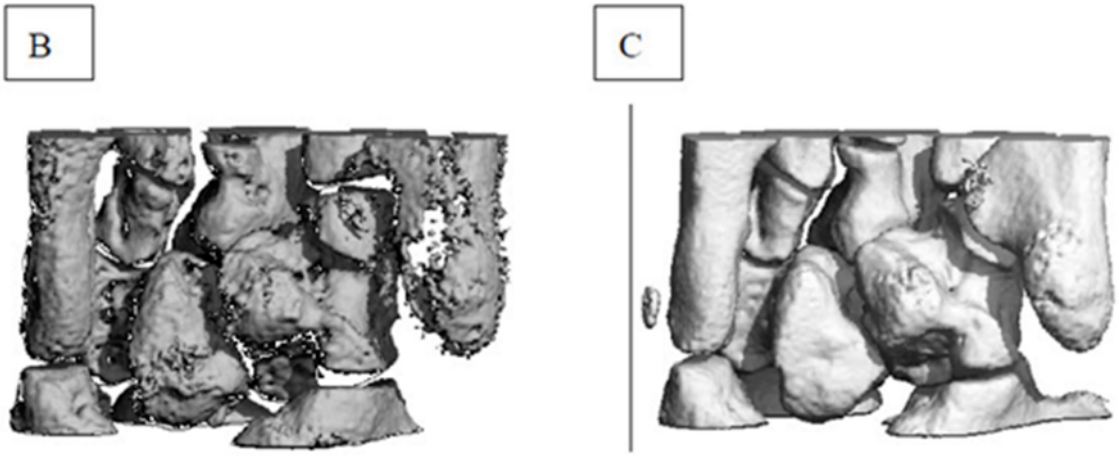
図 2.6.2-4. ラット AIA モデルにおける関節の組織学的検査項目に対するウパダシチニブの効果



ウパダシチニブの骨の疾患修飾作用を評価するため，試験終了時にラットの足関節をマイクロコンピュータ断層撮影（micro-computed tomography 以下「μCT」）により評価した。不完全フロイントアジュバント（IFA）処置群（非関節炎対照）では，陰性対照と同様の骨容積が維持され，骨侵食の徴候はみられなかった。ウパダシチニブを 3，10 mg/kg，1 日 2 回，10 日間経口投与したとき，関節炎対照と比較して骨侵食がそれぞれ 98%及び 89%改善された。また，μCT スキャンで測定した足根骨容積の変化により評価した骨侵食は，ウパダシチニブの 3 mg/kg，1 日 2 回経口投与により完全な抑制がみられた（図 2.6.2-5）。

図 2.6.2-5. ラットを用いたアジュバント誘導関節炎に対するウパダシチニブの作用：μCT 画像を用いた骨侵食に対する治療効果





Effect of treatment on bone erosion using micro CT scanning is illustrated by: measured change in tarsal bone volume (A above); and representative tarsal bone from rats treated with vehicle (B above) or Upadacitinib (C above) at 3 mg/kg BID, respectively.

2.6.2.2.4 *Ex vivo* 薬理試験

In vivo でのウパダシチニブの曝露量に対する JAK1 及び JAK1/3 阻害作用とその有効性との相関性を検討するため，*in vivo* 及び *ex vivo* 血液検体における JAK 阻害効果を検討した。

他の共通 γ 鎖受容体と異なり，IL-7 受容体は末梢血中の T 細胞上に比較的豊富に発現されるため，*ex vivo* 刺激試験のアゴニストとして IL-7 が利用可能である。ウパダシチニブを経口投与した雌性 Sprague-Dawley ラットより得た全血を IL-7（20 nmol/L）により刺激し，誘導される STAT5 リン酸化をフローサイトメトリーにより測定した。STAT タンパク質は JAK キナーゼの基質であることから，本試験でのリン酸化の阻害は，JAK 阻害による結果と考えられる。ウパダシチニブは，IL-7 で誘導される STAT5 リン酸化を阻害し，IC_{50} は約 20 nmol/L であった。

薬力学的作用を検討するため，正常ラットにウパダシチニブを 1 日 2 回，2 週間経口投与し，末梢血の NK 細胞数を評価した。2 週間投与後に曝露量（AUC）は 520 ng•h/mL となり，NK 細胞数は 50%減少した。

NK 細胞数の変化と非臨床試験における有効性の相関性を明らかにするため，NK 細胞数の変化を AIA ラット疾患モデルにおける有効性及びそのときの曝露量と比較した。この試験の結果から，ウパダシチニブは，関節リウマチに対する高い臨床効果が期待される曝露量で，NK 細胞数を約 40–50%減少させた。

これらの結果から，直接的な JAK キナーゼ阻害活性と機序的に下位の評価項目である NK 細胞数との定量的な相関性が明らかになった。NK 細胞数の評価の利点として，アゴニストに依存しないより簡便な測定法である点が挙げられる。末梢血における NK 細胞数の測定は，非侵襲的に末梢血を用いて測定することができ，更に血中薬物濃度測定等の他の臨床検体採取時に行うことが可能であることから，作用機序に基づく簡便な薬効バイオマーカーとなると考えられた。

2.6.2.3 副次的薬理試験

ウパダシチニブの結合性と臨床試験における曝露量比の算出には，日本人関節リウマチ患者を対象にウパダシチニブ徐放製剤を反復投与した臨床試験（M14-663 試験）より得られた C_{max} 値（61 ng/mL）を用いた（2.7.2 項）。

2.6.2.3.1 ウパダシチニブの受容体結合性

（R&D/12/336 [4.2.1.2-1 項]，概要表 2.6.3.4）

一連の典型的な G たん白質共役受容体，リガンド及び電位開口型イオンチャネルに対するウパダシチニブの受容体結合に及ぼす影響を検討した。80 種の受容体，リガンド及び電位開口型イオンチャネルに 10 µmol/L（ヒト C_{max} の 62.4 倍）のウパダシチニブを添加したとき，いずれも対照リガンドの結合に対し 50%を超える置換がみられなかった。

2.6.2.4 安全性薬理試験

安全性薬理試験において，各試験におけるウパダシチニブの添加濃度又は血漿中濃度と臨床試験における曝露量比の算出には，日本人関節リウマチ患者を対象にウパダシチニブ徐放製剤を反復投与した臨床試験（M14-663 試験）より得られた C_{max} 値（61 ng/mL）を用いた（2.7.2 項）。

2.6.2.4.1 中枢神経系に及ぼす影響

（R&D/11/1263 [4.2.1.3-1 項]，R&D/12/017 [4.2.1.3-2 項]，R&D/11/1044 [4.2.3.2-3 項]，概要表 2.6.3.5）

雄性 Wistar ラット（n = 10）にウパダシチニブを 2 から 200 mg/kg 経口投与したとき，自発運動量に一貫性のある変化はみられなかった。更に，GLP に準拠したラットの機能観察総合評価により，ウパダシチニブの中枢神経系に及ぼす影響を検討した。雌性 Crl:CD（SD）ラット（n = 8）にウパダシチニブを 10，50，100 mg/kg の用量で経口投与したとき，10 mg/kg（C_{max} = 0.47 µg/mL，ヒト C_{max} の 7.7 倍）及び 50 mg/kg（C_{max} = 5.2 µg/mL，ヒト C_{max} の 85.2 倍）まで中枢神経系に及ぼす影響はみられず，100 mg/kg（C_{max} = 13.5 µg/mL，ヒト C_{max} の 221 倍）で有意な自発運動量の減少が認められた。

2.6.2.4.2 心血管系に及ぼす影響

hERG 電流に及ぼす影響

（R&D/12/304 [4.2.1.3-3 項]，R&D/15/1287 [4.2.1.3-4 項]，概要表 2.6.3.5）

ウパダシチニブの再分極の遅延や QT 間隔延長作用を検討するため，ヒト胎児由来腎臓細胞（以下「HEK-293 細胞」）に発現させたヒト *ether-a-go-go* 関連遺伝子（以下「hERG」）チャネルに及ぼす影響について検討した。

GLP 非準拠で実施した hERG アッセイにおいて，ウパダシチニブを終濃度 3.8，10.1，34.1 µg/mL（n = 4）で評価したとき，hERG テール電流がそれぞれ，24%，37%，65%減少し，IC_{50} は 20.4 µg/mL（ヒト C_{max} の 334 倍）であった。また，GLP 準拠で実施した hERG アッセイにおいて，ウパダシチニブを 6.7，20，60 µg/mL（n = 4）を適用したとき，hERG テール電流が濃度依存的に 15%から 59%減少し，IC_{50} は，39.5 µg/mL（ヒト C_{max} の 648 倍）であった。

麻酔イヌにおける心血管系に及ぼす影響

（R&D/12/332 [4.2.1.3-5 項]，概要表 2.6.3.5）

麻酔イヌにおけるウパダシチニブの心血管系に及ぼす影響を検討した。麻酔した雄性 Beagle 犬（n = 6）にウパダシチニブを 3 用量，30 分間ずつ漸増静脈内持続投与したとき，血漿中濃度 0.25 µg/mL（ヒト C_{max} の 4.1 倍）まで心血管系に影響はみられなかった。高用量（0.64 µg/mL，

ヒト C_{max} の 10.5 倍）において，全身血管抵抗の低下（13%）及び心拍数の上昇（14 bpm）が認められた。

覚醒イヌにおける心血管系に及ぼす影響

（R&D/12/019 [4.2.1.3-6 項]，R&D/11/1001 [4.2.3.2-6 項]，概要表 2.6.3.5）

覚醒イヌにおけるウパダシチニブの心血管系に及ぼす影響を GLP 下で検討した。雄性 Beagle 犬（n＝6）にウパダシチニブを 0.5，1.5 及び 5 mg/kg の用量で経口投与したとき，0.5 mg/kg（C_{max} = 0.09 µg/mL，ヒト C_{max} の 1.5 倍）で，電気生理学的パラメータ（心拍数，PR 間隔，QRS 間隔，QTc 間隔）及び平均動脈圧に影響はみられず，1.5 mg/kg（C_{max} = 0.42 µg/mL，ヒト C_{max} の 6.9 倍）及び 5 mg/kg（C_{max} = 1.3 µg/mL，ヒト C_{max} の 21.3 倍）で，用量依存的な平均動脈圧の低下（それぞれ，約 15%及び 19%）が認められ，高用量の 5 mg/kg（C_{max} = 1.3 µg/mL，ヒト C_{max} の 21.3 倍）では心拍数の低下（約 30%）が認められた。

2.6.2.4.3 呼吸系に及ぼす影響

（R&D/12/018 [4.2.1.3-7 項]，R&D/11/1044 [4.2.3.2-3 項]，概要表 2.6.3.5）

ウパダシチニブの呼吸系に及ぼす影響について，ラットの全身プレチスモグラフにより GLP 下で検討した。雄性 Crl:CD（SD）ラット（n=8）にウパダシチニブを 10，50，100 mg/kg の用量で経口投与したとき，100 mg/kg（C_{max} = 3.9 µg/mL，ヒト C_{max} の 63.9 倍）まで，呼吸機能に影響はみられなかった。

2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験

該当する資料なし。

2.6.2.6 考察及び結論

JAK は炎症応答，造血，及び免疫監視を含む広範囲の細胞プロセスに関与するサイトカイン又は増殖因子シグナルを伝達する重要な細胞内酵素である。JAK ファミリーの酵素には，JAK1，JAK2，JAK3 及び Tyk2 があり，STAT のリン酸化及び活性化に関わる。JAK1 は炎症性サイトカインシグナルにおいて重要であるが，JAK2 は赤血球成熟にとって重要であり，JAK3 シグナルは免疫監視及びリンパ球機能において重要な役割を示す。[1]

ウパダシチニブは新規 JAK1 阻害剤で，その他のキナーゼに対して良好な選択性を示し，JAK1 阻害作用は可逆的で，ATP 競合作用において迅速な結合及び解離作用を示した。また，ウパダシチニブは，JAK 依存的な細胞アッセイ系において強力な阻害作用を示した。

In vivo 試験において，ウパダシチニブは，Con A 誘導急性炎症ラットモデルにおいて，IL-2 量に対する影響を最小限に IFN-γ 産生を阻害し，ウパダシチニブを経口投与したときの ED_{50} 及び

ED_{80} は，それぞれ，0.4 mg/kg 及び 5.8 mg/kg であった。また，ウパダシチニブは，AIA ラットモデルにおいて，後足浮腫を用量依存的に抑制した。

一連の安全性薬理試験におけるウパダシチニブの及ぼす影響を検討した。中枢神経系において，ラットに最高用量の 100 mg/kg（C_{max} = 13.5 µg/mL）を経口投与したとき，自発運動量の減少がみられた。心血管系において，覚醒イヌに経口投与したとき，1.5 mg/kg（C_{max} = 0.42 µg/mL）で中等度の平均動脈圧の低下，5 mg/kg（C_{max} = 1.3 µg/mL）で心拍数の上昇がみられた。いずれの作用も推定臨床用量より高い用量でみられた作用であった。

以上の結果から，ウパダシチニブは JAK1 選択的阻害を介して関節リウマチに対する有効性を示した。副次的薬理試験において，ウパダシチニブはオフターゲットの薬理作用を示さなかった。また，安全性薬理試験において，ウパダシチニブは，臨床用量で中枢神経系，心血管系及び呼吸系に対して影響を及ぼさず，良好な安全性プロファイルを示した。これらの結果は，ウパダシチニブの関節リウマチに対する臨床有効性及び安全性を支持するものであった。

2.6.2.7 図表

本文中に記載した。

2.6.2.8 参考文献

1. Clark JD, Flanagan ME, Telliez JB. Discovery and Development of Janus Kinase (JAK) Inhibitors for Inflammatory Diseases. J. Med. Chem. 2014, 57, 5023−5038.
2. Suzuki K, Nakajima H, Saito Y, et al. Janus kinase 3 (JAK3) is essential for common cytokine receptor gamma chain (gamma(c))-dependent signaling: comparative analysis of gamma(c), JAK3, and gamma(c) and JAK3 double-deficient mice. Int Immunol 2000;12(2):123-32.
3. Guschin D, Rogers N, Briscoe J, et al. A major role for the protein tyrosine kinase JAK1 in the JAK/STAT signal transduction pathway in response to interleukin-6. EMBO J 1995;14:1421-9.
4. Neubauer H, Cumano A, Muller M, et al. JAK2 deficiency defines an essential developmental checkpoint in definitive hematopoiesis. Cell 1998;93:397-409.
5. Weiss A, Shields R, Newton M, et al (Apr 1987). "Ligand-receptor interactions required for commitment to the activation of the interleukin 2 gene". Journal of Immunology. 138 (7): 2169–76.
6. Whiteley PE1, Dalrymple SA. Models of inflammation: adjuvant-induced arthritis in the rat. Curr Protoc Pharmacol. 2001 Aug;Chapter 5:Unit5.5. doi: 10.1002/0471141755.ph0505s13.

2.6.3 薬理試験概要表

目次

2.6.3 薬理試験概要表 1
2.6.3.1 薬理試験：一覧表 2
2.6.3.2 効力を裏付ける試験 3
2.6.3.3 副次的薬理試験 5
2.6.3.4 安全性薬理試験 6
2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験 8

2.6.3.1 薬理試験：一覧表

Test article: Upadacitinib

Type of study	Test system	Route of administration	Test facilities	Report No.	Module 4 vol.	Module 4 Section
Primary Pharmacodynamics						
Enzymology	HTRF assay or TR-FRET assay	*in vitro*	AbbVie Inc.	R&D/12/424	4	4.2.1.1-1
In vitro cellar assay	STAT phosphorylation in TF-1, T cell blasts or UT-7 cells	*in vitro*	AbbVie Inc.	R&D/12/445	4	4.2.1.1-2
Efficacy in Inflammatory and RA model	Con A and AIA model in Lewis Rats	Oral	AbbVie Inc.	R&D/12/444	4	4.2.1.1-3
Ex vivo assay	Peripheral bloods obtained from rats orally dosed upadacitinib	Ex vivo	AbbVie Inc.	R&D/12/446	4	4.2.1.1-4
Secondary Pharmacodynamics						
Receptor Binding	Receptors, ion channels. Transporters	*in vitro*	[redacted]	R&D/12/336	4	4.2.1.2-1
Safety Pharmacology						
CNS/Neurobehavior	Rat / Rj:Wistar (Han) Rat / Crl:CD (SD)	Oral	[redacted]	R&D/11/1263 R&D/12/017	4 4	4.2.1.3-1 4.2.1.3-2
hERG current	hERG expressed HEK293 cells	*in vitro*	AbbVie [redacted]	R&D/12/304 R&D/15/1287	4 4	4.2.1.3-3 4.2.1.3-4
Cardiovascular profile	Dog/Beagle	IV infusion Oral	AbbVie [redacted]	R&D/12/332 R&D/12/019	4 4	4.2.1.3-5 4.2.1.3-6
Respiratory functions	Rat / Crl:CD (SD)	Oral	[redacted]	R&D/12/018	4	4.2.1.3-7

HTRF = homogenous time resolved fluorescence; TR-FRET = time-resolved fluorescence resonance energy transfer; STAT = signal transduction and activator of transcription; RA = rheumatoid arthritis; Con A = Concanavalin A; AIA = adjuvant induced arthritis; CNS = Central nervous system; hERG = human ether-a-go-go-related gene

2.6.3.2 効力を裏付ける試験

Test article: Upadacitinib

Type of Study	Test System	Test method	Result	Report No.
Enzyme Potency	HTRF assay	Enzyme potency (IC_{50}) against recombinant JAK family (JAK1, JAK2, JAK3, Tyk2) was evaluated using HTRF assay.	Enzyme inhibition (IC_{50}) at 0.01 µmol/L ATP JAK1 enzyme: 0.043 ± 0.006 µmol/L (n = 8) JAK2 enzyme: 0.012 ± 0.03 µmol/L (n = 4) JAK3 enzyme: 2.3 ± 0.38 µmol/L (n = 5) Tyk2 enzyme: 4.69 µmol/L (n = 1)	R&D/12/424
Enzyme selectivity	TR-FRET	Enzyme selectivity against panel of protein kinases was evaluated using TR-FRET assay.	Displays good selectivity in a panel of protein kinases.	R&D/12/424
Cellular Potency (JAK1)	TF-1 cells	Inhibition of IL-6 induced STAT3 phosphorylation in TF-1 cells was evaluated using pSTAT3 alpha screen system.	Cellular Potency (EC_{50}) JAK1 (IL-6 induced): 9 ± 5nmol/L (n = 16)	R&D/12/445
Cellular Potency (JAK1/3)	Human T cell blasts	Inhibition of IL-2 induced STAT5 phosphorylation in Human T cell blasts was evaluated using pSTAT5 alpha screen system.	Cellular Potency (EC_{50}) JAK1/3 (IL-2 induced): 13 ± 1 nmol/L (n = 5)	R&D/12/445
Cellular Potency (JAK2)	UT-7 cells	Inhibition of EPO induced STAT5 phosphorylation in UT-7 cells was evaluated using pSTAT5 alpha screen system.	Cellular Potency (EC_{50}) JAK2 (EPO induced): 628 ± 161 nmol/L (n = 17)	R&D/12/445

HTRF = homogenous time resolved fluorescence; TR-FRET = time-resolved fluorescence resonance energy transfer; IL = interleukin; EPO = erythropoietin; STAT = phosphorylated signal transduction and activator of transcription; pSTAT = phosphorylated signal transduction and activator of transcription

2.6.3.2 効力を裏付ける試験（続き）

Test article: Upadacitinib

Type of Study	Test System	Test method	Result	Report No.
Concanavalin A (Con A) inflammatory model	Rat / Lewis	Upadacitinib (0.1-10 mg/kg) was orally dosed 30 minutes prior to Con A challenge. After 4 hrs Con A challenge, serum IFN-γ and IL-2 levels were measured by ELISA.	ED_{50} value of 0.4 and ED_{80} value of 5.8 mg/kg.	R&D/12/444
Adjuvant Induced Arthritis model	Rat / Lewis	After an intradermal administration of adjuvant, Upadacitinib (0.1-10 mg/kg, bid) was orally administered for 10 days, and left hind paw volume, histopathological score and bone erosion were evaluated.	An AUC_{0-12} of 34 ng•hr/mL ± 8 ng•hr/mL (unbound fraction) achieved 60% inhibition of disease activity. Bone erosion was completely inhibited at doses of 3 mg/kg bid.	R&D/12/444
In vivo and *ex vivo* pharmacodynamic analysis in healthy rats	Rat / Sprague-Dawley	Upadacitinib was orally dosed for 2 weeks and then peripheral NK cell counts and inhibition of IL-7 induced pSTAT5 formation were assessed *ex vivo*.	An AUC of 520 ng•hr/mL produced a 50% reduction in NK cell counts after two weeks exposure. Upadacitinib inhibited IL-7 induced pSTAT5 *ex vivo* and EC_{50} was about 20 nmol/L.	R&D/12/446

IFN = interferon; ELISA = enzyme-linked immunosorbent assay; IL = interleukin; pSTAT = phosphorylated signal transduction and transcription; bid = twice daily

2.6.3.3 副次的薬理試験

Test article: Upadacitinib

Organ Systems Evaluated	Species/Strain	Method of Administration	Doses or Concentrations	Gender and No. per group	Noteworthy Findings	GLP	Report Number
Receptor Binding	Receptors, ion channels, and transporters	In vitro	10 µmol/L	n = 2	No displacement of control-specific binding > 50% at any receptors, ion channels or transporters.	No	R&D/12/336

GLP = good laboratory practice

2.6.3.4 安全性薬理試験

Test article: Upadacitinib

Organ Systems Evaluated	Species/ Strain	Method of Administration	Doses or Concentrations	Gender and No. per group	Noteworthy Findings	GLP	Report No.
CNS							
Locomotor Activity	Rat / Rj:Wistar (Han)	Oral	2, 6, 20, 60 and 200 mg/kg	Male n = 10	Dose-independent increase in motor activity at 2 - 60 mg/kg.	No	R&D/11/1263
Functional Observational Battery (FOB)	Rat Crl:CD (SD)	Oral	10, 50 and 100 mg/kg	Female n = 8	No neurobehavioral effects through 50 mg/kg (C_{max} = 5.2 µg/mL). A dose of 100 mg/kg (C_{max} = 13.5 µg/mL) produced a significant decrease in motor activity.	Yes	R&D/12/017 R&D/11/1044
Cardiovascular							
hERG Current	Stably transfected HEK 293 cells	*In vitro*	3.8, 10.1 and 34.1 µg/mL	n = 4	IC_{50} = 20.4 µg/mL.	No	R&D/12/304
hERG Current	Stably transfected HEK 293 cells	*In vitro*	6.7, 20 and 60 µg/mL	n = 4	IC_{50} = 39.5 µg/mL.	Yes	R&D/15/1287

GLP = good laboratory practice; hERG = human ether-a-go-go-related gene; C_{max} = maximum observed concentration

2.6.3.4 安全性薬理試験（続き）

Test article: Upadacitinib

Organ Systems Evaluated	Species/ Strain	Method of Administration	Doses or Concentrations	Gender and No. per group	Noteworthy Findings	GLP	Report No.
Cardiovascular							
Cardiovascular in anesthetized dogs	Dog / Beagle	Intravenous	0.06, 0.19 and 0.58 mg/kg/30 min	Male n = 6	No cardiovascular effects through a plasma concentration of 0.25 µg/mL. At a plasma concentration of 0.64 µg/mL, systemic vascular resistance decreased (13%), and heart rate (14 bpm) and cardiac contractility increased.	No	R&D/12/332
Cardiovascular in conscious dogs	Dog / Beagle	Oral	0.5, 1.5 and 5 mg/kg	Male n = 6	No effects at 0.5 mg/kg (C_{max} = 0.09 µg/mL). Doses of 1.5 mg/kg (C_{max} = 0.42 µg/mL) and 5 mg/kg decreased mean arterial blood pressure (~15% and ~19%). A dose of 5 mg/kg (C_{max} = 1.3 µg/mL) increased HR (~30%).	Yes	R&D/12/019 R&D/11/1001
Respiratory							
Respiratory	Rat / Crl:CD (SD)	Oral	10, 50 and 100 mg/kg	Male n = 8	No effect on respiratory rate, tidal volume or minute volume through 100 mg/kg (C_{max} = 3.9 µg/mL).	Yes	R&D/12/018 R&D/11/1044

GLP = good laboratory practice; bpm = beats per minutes; C_{max} = maximum observed concentration; HR = heart rate

2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験

該当資料なし。