

モイゼルト軟膏 0.3%
モイゼルト軟膏 1%

第 2 部（モジュール 2）：CTD の概要（サマリー）

2.6.1 緒言

大塚製薬株式会社

2.6.1 緒言

2.6.1.1 名称及び化学構造式

ジファミラストの名称及び化学構造式は以下のとおりである。

一般名： INN difamilast

JAN ジファミラスト（日本名）

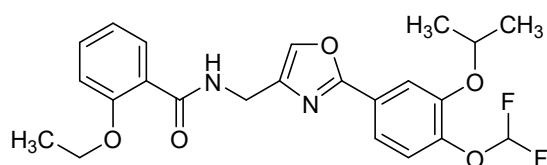
Difamilast（英名）

化学名： *N*-(*N*-(4-(difluoromethoxy)-3-(propan-2-yloxy)phenyl)-1,3-oxazol-4-yl)methyl)-2-ethoxybenzamide

CAS 登録番号：937782-05-3

コード番号：OPA-15406

構造式：



分子式：C₂₃H₂₄F₂N₂O₅

分子量：446.44

2.6.1.2 ジファミラストの薬理作用

ジファミラストはホスホジエステラーゼ 4B に選択的な阻害作用を示し、ヒト末梢血単核球からの腫瘍壊死因子 α 、インターフェロン γ 及びインターロイキン 4 などのサイトカインの産生を抑制する。マウス病態モデルを用いた検討では、ジファミラストは外用によりマウスの急性及び慢性接触過敏症モデル及びマウスの引っ掻きによる慢性皮膚炎モデルの皮膚炎症を改善する。これらの結果からジファミラストは外用によりアトピー性皮膚炎等の慢性炎症性皮膚疾患を改善する効果が期待される。

2.6.1.3 ジファミラストの予定する効能・効果及び用法・用量

ジファミラストの予定する効能・効果及び用法・用量を表 2.6.1-1 に示した。

表 2.6.1-1 ジファミラストの予定する効能・効果及び用法・用量

効能・効果	アトピー性皮膚炎
用法・用量	通常、成人には 1% 製剤を 1 日 2 回、適量を患部に塗布する。 通常、小児には 0.3% 製剤を 1 日 2 回、適量を患部に塗布する。症状に応じて、1% 製剤を 1 日 2 回、適量を患部に塗布することができる。

モイゼルト軟膏 0.3%
モイゼルト軟膏 1%

第 2 部（モジュール 2）：CTD の概要（サマリー）

2.6.2 薬理試験の概要文

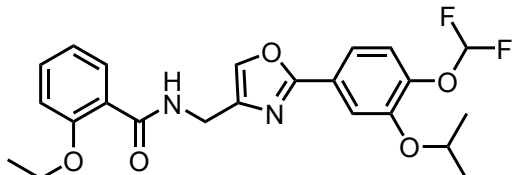
大塚製薬株式会社

目次

目次.....	2
略号一覧.....	3
2.6.2 薬理試験の概要文.....	5
2.6.2.1 まとめ.....	5
2.6.2.1.1 効力を裏付ける試験.....	5
2.6.2.1.2 副次的薬理試験.....	6
2.6.2.1.3 安全性薬理試験.....	7
2.6.2.2 効力を裏付ける試験.....	8
2.6.2.2.1 PDE4B 選択的阻害作用.....	8
2.6.2.2.2 細胞内 cAMP 増加作用.....	10
2.6.2.2.3 サイトカイン産生に及ぼす作用.....	11
2.6.2.2.4 マウス慢性接触過敏症モデルにおける皮膚炎改善作用.....	15
2.6.2.2.5 マウスの引っ掻きによる慢性皮膚炎モデルにおける皮膚炎改善作用.....	24
2.6.2.2.6 マウス接触過敏症モデルにおける皮膚炎改善作用.....	29
2.6.2.3 副次的薬理試験.....	31
2.6.2.3.1 各種受容体に対する結合親和性.....	31
2.6.2.3.2 皮膚萎縮作用に関する試験.....	33
2.6.2.4 安全性薬理試験.....	35
2.6.2.4.1 ラットを用いた中枢神経系に及ぼす影響.....	35
2.6.2.4.2 覚醒下のイヌにおける呼吸系及び心血管系.....	35
2.6.2.4.3 hERG チャネル電流に及ぼす影響.....	35
2.6.2.4.4 モルモット摘出乳頭筋の活動電位に及ぼす影響.....	35
2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験.....	36
2.6.2.6 考察及び結論.....	37
2.6.2.6.1 効力を裏付ける試験の考察及び結論.....	37
2.6.2.6.2 副次的薬理試験の考察及び結論.....	38
2.6.2.6.3 安全性薬理試験の考察及び結論.....	38
2.6.2.7 図表.....	39
2.6.2.8 参考文献.....	40

略号一覧

略号	省略していない表現
APD ₃₀	30%再分極時の活動電位持続時間
APD ₆₀	60%再分極時の活動電位持続時間
APD ₉₀	90%再分極時の活動電位持続時間
cAMP	サイクリックアデノシン 3',5'-リン酸
C _{max}	最高（ピーク）血漿中濃度
CD _{max}	最大使用条件で実施した臨床用量（臨床試験 MEDI-MM36-206）
DMSO	ジメチルスルホキシド
EC ₂₀₀	対照の 200%に等しい反応を示す有効濃度
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
GM-CSF	顆粒球マクロファージコロニー刺激因子
HE 染色	ヘマトキシリン・エオジン染色
hERG	ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子
IgE	免疫グロブリン E
IC ₂₅	25%抑制濃度
IC ₅₀	50%抑制濃度
IFN- γ	インターフェロン γ
IL	インターロイキン
LPS	リポポリサッカライド
MET _{Day 32-38}	32, 34, 36 及び 38 日目の右耳介厚の平均値
MET _{Day 46-52}	46, 48, 50 及び 52 日目の右耳介厚の平均値
MIP	マクロファージ炎症性蛋白質
PBMC	末梢血単核球
PDE	ホスホジエステラーゼ
PGE1	プロスタグランジン E1
PKA	プロテインキナーゼ A
RANTES	Regulated on activation, normal T cell expressed and secreted
TNCB	2,4,6-トリニトロ-1-クロロベンゼン
TNF- α	腫瘍壊死因子 α

名称（由来）	構造式
ジファミラスト（JAN） Difamilast（INN） OPA-15406（OPC-271）	

2.6.2 薬理試験の概要文

2.6.2.1 まとめ

ジファミラストの薬理作用を評価するために、一連の *in vitro* 及び *in vivo* の試験系を用いて、効力を裏付ける試験、副次的薬理試験及び安全性薬理試験を実施した。

2.6.2.1.1 効力を裏付ける試験

ジファミラストの効力を裏付ける試験として、*in vitro* 試験によりホスホジエステラーゼ (PDE) 阻害作用、細胞内サイクリックアデノシン 3', 5'-リン酸 (cAMP) 濃度増加作用及び種々サイトカイン産生に及ぼす作用について、また *in vivo* 試験により種々の皮膚炎改善作用について検討した。

2.6.2.1.1.1 PDE4B 選択的阻害作用

4つの PDE4 アイソフォームを含む 11 種の PDE アイソザイムのヒトリコンビナントタンパク質を用いた *in vitro* 酵素阻害活性試験において、ジファミラストは PDE4、特に PDE4B に対する高い選択性を示し、その 50%抑制濃度 (IC_{50}) 値は $0.0112 \mu\text{mol/L}$ であり、PDE4 以外の PDE アイソザイムに対する IC_{50} 値と比較して 128 倍以上低いものであった。

2.6.2.1.1.2 細胞内 cAMP 増加作用

培養 U937 細胞を用いた検討において、ジファミラストは $0.01 \mu\text{mol/L}$ 以上の濃度でプロスタグランジン E1 (PGE1) により誘導される細胞内 cAMP の蓄積を増強した。ジファミラストの対照の 200%に等しい反応を示す有効濃度 (EC_{200}) 値は $0.009 \mu\text{mol/L}$ であった。

2.6.2.1.1.3 サイトカイン産生に及ぼす作用

培養ヒト末梢血単核球 (PBMC) を用いた検討において、ジファミラストはリポポリサッカライド (LPS) 刺激による PBMC からの腫瘍壊死因子 α (TNF- α)、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子 (GM-CSF)、マクロファージ炎症性蛋白質 (MIP) -1 α 及び MIP-1 β の産生を抑制し、インターロイキン (IL) -6 及び IL-10 の産生を促進した。また、ジファミラストは抗 CD3 抗体と抗 CD28 抗体の共刺激による PBMC からの IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, IL-13, IL-22, インターフェロン γ (IFN- γ)、GM-CSF, regulated on activation, normal T cell expressed and secreted (RANTES) 及び TNF- α の産生を抑制した。

培養ヒト及びマウス PBMC を用いて、LPS 刺激による TNF- α 産生を指標にジファミラストの効果を他の PDE4 阻害剤と比較したところ、ジファミラストは atizoram, cipamfylline, crisaborole 及びロリプラムと比べて強い抑制作用を示した (無血清条件)。

2.6.2.1.1.4 マウス慢性接触過敏症モデルにおける皮膚炎改善作用

マウス慢性接触過敏症モデル^{1,2,3}を用いて、ジファミラスト軟膏の皮膚炎改善作用の用量反応性を検討した。ジファミラスト軟膏は 1 日 1 回、4 週間の局所塗布により 0.03%から 3%濃度において、ハプテン反復塗布により誘導される耳介肥厚を用量依存的に抑制した。ジファミラスト軟

膏 3%の平均耳介厚を指標とした有効性はリンデロン®-V 軟膏 0.12%よりも劣っていたが、プロトピック®軟膏 0.1%よりも優れていた。

マウス慢性接触過敏症モデルを用いて病変部皮膚のサイトカイン含有量に及ぼすジファミラスト軟膏の影響について検討した。ジファミラスト軟膏は 1 日 1 回、4 週間の局所塗布により、基剤対照と比較して MIP-1 α （最終抗原誘発前は 0.1%以上、最終抗原誘発 6 時間後は 0.3%以上の濃度で）及び MIP-2（最終抗原誘発前、最終抗原誘発 6 時間後とも 0.1%以上の濃度で）の含量を有意に低減させた。

マウス慢性接触過敏症モデルを用いて病変部の炎症性細胞の浸潤と血清免疫グロブリン E（IgE）濃度に及ぼす影響について検討した。ジファミラスト軟膏は 1 日 1 回、4 週間の局所塗布により基剤対照と比較して 1%及び 3%濃度で CD3 陽性細胞と好中球を、3%濃度で好酸球の浸潤を有意に抑制した。また 1%及び 3%濃度で血清中の総 IgE 濃度及び抗原特異的 IgE 濃度を有意に単調減少させた。

マウス慢性接触過敏症モデルを用いて、ジファミラストの皮膚炎改善効果に基づく有効性について他の PDE4 阻害剤（atizoram, cipamfylline 及び crisaborole）と比較した。各化合物は 1 日 1 回、2 週間局所塗布した。その結果、評価したいずれの化合物も溶媒対照と比較して平均耳介厚を有意に減少させた。ジファミラスト 1%の有効性は cipamfylline 1%及び crisaborole 1%及び 2%と比較して有意に高いものであった。

2.6.2.1.1.5 マウスの引っ掻きによる慢性皮膚炎モデルにおける皮膚炎改善作用

マウスの引っ掻きによる慢性皮膚炎モデル⁴を用いて、ジファミラストの皮膚炎改善効果について検討した。マウス耳介にハプテンを反復（3 回/週、16 週間）塗布し、最終のハプテン塗布後に集団飼育から個別飼育に変更することにより、高頻度の自発的な引っ掻きに起因する慢性皮膚炎を誘導した。ジファミラスト（1%及び 3%）は 1 日 1 回、6 週間の局所塗布により、溶媒対照と比較して臨床的皮膚スコア（潰瘍、擦創、びらん、小出血、痂皮などの引っ掻きによる損傷を呈する病変部皮膚の面積に基づく、両耳介の皮膚炎の重症度）及び病変部皮膚の MIP-1 α 及び MIP-2 含有量を有意に低減させた。ジファミラスト（1%及び 3%）は単回塗布及び反復塗布のいずれにおいても引っ掻き回数に影響を及ぼさなかった。タクロリムス 0.1%は溶媒対照と比較して本モデルの臨床的皮膚スコアを有意に低減させたが、ベタメタゾン吉草酸エステル 0.1%は有意に増加させた。

2.6.2.1.1.6 マウス接触過敏症モデルにおける皮膚炎改善作用

皮膚接触過敏症に対するジファミラスト軟膏 3%の効果について、マウス接触過敏症モデルを用いて検討した。マウスの左耳介にハプテンを塗布して感作し、その 7 日後に右耳介にハプテンを塗布して接触過敏症を誘導した。ハプテン誘発 30 分後に右耳介に薬物を局所塗布した。ジファミラスト軟膏 3%、プロトピック®軟膏 0.1%及びリンデロン®-V 軟膏 0.12%は耳介の浮腫と耳介組織中の IFN- γ 含有量を有意に低減させた。

2.6.2.1.2 副次的薬理試験

90 種類の受容体、イオンチャンネル及びトランスポーターに対するジファミラストの作用を

検討した。ジファミラストが各リガンドの結合に対して 80%を超える阻害を示したのは、アデノシントランスポーター（ヒト）及びモノアミントランスポーター（ウサギ）に対してであり、10 $\mu\text{mol/L}$ の濃度での阻害率はそれぞれ 87.59%及び 85.50%であった。

ジファミラストの皮膚萎縮作用について、マウスを用いて検討した。ジファミラスト（1%及び 3%）及びベタメタゾン吉草酸エステル 0.1%をマウスの右耳介に 1 日 1 回、1 週間局所塗布した。その結果ベタメタゾン吉草酸エステル 0.1%では耳介厚の有意な減少が認められ、連投後の病理学的解析では顕著な表皮菲薄化と軽微な真皮菲薄化が認められた。一方ジファミラスト（1%及び 3%）では投与期間中に耳介厚に変化はなく、病理学的に顕著な変化は認められなかった。

2.6.2.1.3 安全性薬理試験

ジファミラストの中樞神経系に及ぼす影響を、ラットに皮下投与して一般状態及び行動に対する影響を検討した試験では、100 mg/kg 以上で軟便が、最高用量の 200 mg/kg で流涎がみられた。呼吸系及び心血管系に対する影響を、覚醒下のビーグル犬に皮下投与して検討した試験では、最高用量の 30 mg/kg まで、呼吸器及び心血管系に影響がみられなかった。QT 延長リスクを評価した *in vitro* 試験では、ヒト *ether-à-go-go* 関連遺伝子（hERG）チャネル発現細胞において hERG チャネル電流を抑制したものの、モルモット摘出乳頭筋を用いた活動電位に及ぼす影響を検討する試験では活動電位持続時間の延長はみられなかった。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

2.6.2.2.1 PDE4B 選択的阻害作用

(概要表 2.6.3.2, 報告書番号 024268, 024459, 024705, 025551, 024265)

ジファミラストの PDE 阻害作用を明らかにする目的で, リコンビナントヒト酵素を用いて 4 つの PDE4 アイソフォーム (PDE4A, PDE4B, PDE4C 及び PDE4D) を含む 11 種の PDE アイソザイム (PDE1A, PDE2A, PDE3A, PDE5A, PDE6AB, PDE7B, PDE8A, PDE9A, PDE10A 及び PDE11A) に対するジファミラストの阻害活性について検討した。

ジファミラストは全ての PDE4 アイソフォームに対して阻害作用を示した。PDE4A, PDE4B, PDE4C 及び PDE4D に対するジファミラストの IC₅₀ 値は, それぞれ 0.0832 µmol/L, 0.0112 µmol/L, 0.2493 µmol/L 及び 0.0738 µmol/L であり, PDE4B に対する阻害作用が最も強力であった。比較対照として用いたロリプラムは全ての PDE4 サブタイプに対して同程度の阻害作用を示した (表 2.6.2-1)。PDE4B に対するジファミラストの IC₅₀ 値はロリプラム (0.1839 µmol/L) よりも低かった。

PDE4 アイソザイムに対するジファミラストの IC₅₀ 値は 1 µmol/L 未満であるのに対し, その他の PDE アイソザイムに対する IC₅₀ 値は, PDE5 (4.7930 µmol/L) 及び PDE10 (1.4346 µmol/L) を除き, 10 µmol/L を超えていた (表 2.6.2-1, 表 2.6.2-2)。

PDE4 以外のアイソザイムに対するジファミラストの IC₅₀ 値は, PDE4B に対する IC₅₀ 値より 128 倍以上高い値であった。このようにジファミラストは PDE4, 特に PDE4B に対して高い選択性を示した。

表 2.6.2-1 PDE アイソザイム（PDE1～PDE11）に対するジファミラスト及び基準化合物の IC₅₀ 値

PDE		ジファミラスト		N	基準化合物		N
		IC ₅₀ (μmol/L)	比 (/PDE4B)		化合物	IC ₅₀ (μmol/L)	
PDE1	PDE1A	> 10	> 893	1	-	-	-
PDE2	PDE2A	> 10	> 893	3	BAY 60-7550	0.0008 (0.0006～0.0010)	3
PDE3	PDE3A	40.3 (32.7～50.4)	3598	4	シロスタゾール	0.25 (0.21～0.31)	4
PDE4	PDE4A	0.0832 (0.0609～0.1138)	7	5	ロリプラム	0.1182 (0.0674～0.2085)	5
	PDE4B	0.0112 (0.0099～0.0127)	1	5		0.1839 (0.1309～0.2574)	5
	PDE4C	0.2493 (0.2026～0.3068)	22	5		0.2103 (0.1417～0.3117)	5
	PDE4D	0.0738 (0.0639～0.0853)	7	5		0.0809 (0.0681～0.0959)	5
PDE5	PDE5A	4.7930 (2.5067～8.5826)	428	3	T0156	0.0018 (0.0013～0.0024)	3
PDE6	PDE6AB	> 10	> 893	1	-	-	-
PDE7	PDE7B	> 10	> 893	1	-	-	-
PDE8	PDE8A	> 10	> 893	1	-	-	-
PDE9	PDE9A	> 10	> 893	1	-	-	-
PDE10	PDE10A	1.4346 (1.1591～1.8124)	128	3	パパベリン	0.0846 (0.0749～0.0956)	3
PDE11	PDE11A	> 10	> 893	3	ジピリダモール	3.4087 (3.0771～3.7824)	3

N = 実験数

各値は平均値又は 1 回の試験の値を示す。

() 内の値 : IC₅₀ 値の 95%信頼区間 (μmol/L)

<資料番号 4.2.1.1-01, 4.2.1.1-02, 4.2.1.1-05 より引用, 資料番号 4.2.1.1-03 : Table 1 より抜粋, 資料番号 4.2.1.1-04 : Table 5 より作成>

表 2.6.2-2 PDE1, PDE6, PDE7, PDE8 及び PDE9 に対するジファミラスト及び基準化合物 10 μmol/L の阻害率

PDE		ジファミラスト	基準化合物		実験数
		阻害率 (%)	化合物	阻害率 (%)	
PDE1	PDE1A	34.74	8-MM-IBMX	90.98	1
PDE6	PDE6AB	46.76	ザプリナスト	100.00	1
PDE7	PDE7B	45.67	ジピリダモール	95.58	1
PDE8	PDE8A	48.19	ジピリダモール	95.36	1
PDE9	PDE9A	12.43	BAY 73-6691	98.53	1

<資料番号 4.2.1.1-03 : Table 1 より抜粋>

2.6.2.2.2 細胞内 cAMP 増加作用

(概要表 2.6.3.2, 報告書番号 024836)

細胞内 cAMP 濃度に対するジファミラストの影響について検討した。培養 U937 細胞に 1 nmol/L から 10 $\mu\text{mol/L}$ のジファミラスト又は比較対照のロリプラムを添加し 15 分後に PGE1 (0.1 $\mu\text{mol/L}$) を加え 10 分間培養した。その後, 細胞内 cAMP 濃度を enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 法にて定量した。

ジファミラストは 0.01 $\mu\text{mol/L}$ 以上の濃度で, ロリプラムは 0.1 $\mu\text{mol/L}$ 以上の濃度でいずれも PGE1 で刺激された U937 細胞の cAMP 濃度を有意に増加させた (図 2.6.2-1)。ジファミラスト及びロリプラムの EC_{200} 値はそれぞれ 0.009 $\mu\text{mol/L}$ 及び 0.477 $\mu\text{mol/L}$ であった (表 2.6.2-3)。

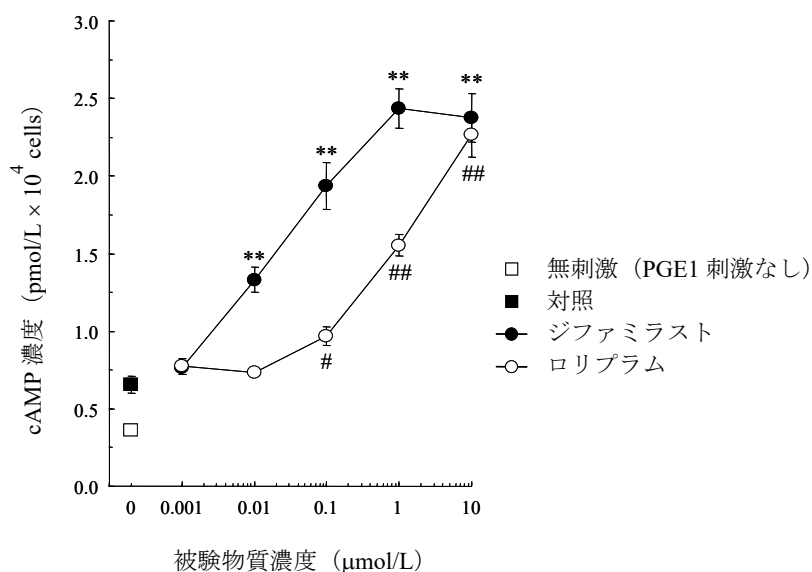


図 2.6.2-1 PGE1 で刺激された U937 細胞の細胞内 cAMP 濃度に対するジファミラスト及びロリプラムの作用

各値は平均値 $\pm$ 標準誤差を示す (N=6)。

** : $p < 0.01$ 。ジファミラストと対照の検定結果 (両側 Dunnett 検定)。

#, ## : それぞれ $p < 0.05$ 及び $p < 0.01$ 。ロリプラムと対照の検定結果 (両側 Dunnett 検定)。

<資料番号 4.2.1.1-06 : Figure 4-1 より作成>

表 2.6.2-3 細胞内 cAMP 増加作用におけるジファミラスト及びロリプラムの EC_{200} 値

群	ジファミラスト	ロリプラム
EC_{200} ($\mu\text{mol/L}$)	0.009 (0.005~0.015)	0.477 (0.282~0.751)
実験数	6	6

各値は平均値を示す。

() 内の値 : EC_{200} 値の 95%信頼区間 ($\mu\text{mol/L}$)

<資料番号 4.2.1.1-06 より引用>

2.6.2.2.3 サイトカイン産生に及ぼす作用

ジファミラストの抗炎症作用を明らかにする目的で、培養ヒト PBMC を用いて LPS 刺激又は抗 CD3 抗体と抗 CD28 抗体の共刺激による各種サイトカイン産生に対する影響について検討した。また培養マウス PBMC 及び培養ヒト PBMC を用いて LPS 刺激による TNF- α 産生を指標に、ジファミラストの効果を他の PDE4 阻害剤と比較検討した。

2.6.2.2.3.1 LPS 刺激による PBMC からの各種サイトカイン産生に対する作用

(概要表 2.6.3.2, 報告書番号 034950)

ヒト PBMC に最終濃度 0.1 nmol/L から 10 μ mol/L のジファミラストを添加し 30 分間培養後に、LPS (最終濃度 : 1 ng/mL) を加えて 18 時間培養した。その培養上清中の各種サイトカイン濃度を bead-based suspension array system にて定量した。

ジファミラストはヒト PBMC による TNF- α (IC_{50} = 0.520 μ mol/L) , GM-CSF (IC_{50} = 7.779 μ mol/L) , MIP-1 α [25%抑制濃度 (IC_{25}) = 2.187 μ mol/L] 及び MIP-1 β (IC_{50} = 9.151 μ mol/L) の産生を抑制し、IL-6 (EC_{200} = 5.807 μ mol/L) 及び IL-10 (EC_{200} = 0.176 μ mol/L) の産生を促進した (表 2.6.2-4)。

表 2.6.2-4 LPS 刺激によるヒト PBMC からの各種サイトカイン産生に対するジファミラストの作用

サイトカイン又はケモカイン	IC_{25} (μ mol/L)	IC_{50} (μ mol/L)	EC_{200} (μ mol/L)	PBMC のロット数
IL-1 β	-	-	-	4
IL-6	-	-	5.807 (3.363~8.251)	4
IL-8	-	-	-	4
IL-10	-	-	0.176 (0.032~0.433)	4
GM-CSF	2.435 (0~6.368)	7.779 (3.845~11.712)	-	4
MIP-1 α	2.187 (0~9.327)	>10	-	4
MIP-1 β	0.983 (0~7.958)	9.151 (2.176~16.125)	-	4
TNF- α	0.080 (0~0.264)	0.520 (0.335~0.705)	-	4

各値は平均値を示す。

() 内の値 : IC_{25} 値, IC_{50} 値又は EC_{200} 値の 95%信頼区間 (μ mol/L)

- : 実験結果より, IC_{25} 値, IC_{50} 値又は EC_{200} 値が 10 μ mol/L を超えることが明らかであったことから, 統計解析は実施していない。

<資料番号 4.2.1.1-07 : Table 7-2>

2.6.2.2.3.2 抗 CD3 抗体と抗 CD28 抗体の共刺激による PBMC からの各種サイトカイン産生に対する作用

(概要表 2.6.3.2, 報告書番号 029554, 034978)

ヒト PBMC に最終濃度 3 nmol/L から 3 μ mol/L のジファミラストを添加し 30 分間培養後に, 抗 CD3 抗体 (最終濃度 : 1 μ g/mL) と抗 CD28 抗体 (最終濃度 : 0.5 μ g/mL) を加えて 48 時間培養した。その培養上清中の各種サイトカイン濃度を bead-based suspension array system にて定量した。

ジファミラストはヒト PBMC による IL-2 (IC_{50} = 0.354 μ mol/L) , IL-4 (IC_{50} = 0.214 μ mol/L) , IL-5 (IC_{50} = 0.163 μ mol/L) , IL-10 (IC_{50} = 0.576 μ mol/L) , IL-13 (IC_{50} = 0.537 μ mol/L) , IL-22 (IC_{50} = 0.476 μ mol/L) , IFN- γ (IC_{50} = 0.068 μ mol/L) , GM-CSF (IC_{50} = 1.182 μ mol/L) , RANTES (IC_{50} = 0.424 μ mol/L) 及び TNF- α (IC_{50} = 0.659 μ mol/L) の産生を抑制した (表 2.6.2-5)。

表 2.6.2-5 抗 CD3 抗体と抗 CD28 抗体の共刺激によるヒト PBMC からの各種サイトカイン産生に対するジファミラストの作用

サイトカイン又はケモカイン	IC_{50} (μ mol/L)	PBMC のロット数
IL-2	0.354 (0.027~0.682)	3
IL-4	0.214 (0.180~0.255)	6
IL-5	0.163 (0.058~0.267)	3
IL-10	0.576 (0.309~0.842)	3
IL-13	0.537 (0.166~0.908)	3
IL-22	0.476 (0~0.990)	3
IFN- γ	0.068 (0.043~0.109)	6
GM-CSF	1.182 (0~2.857)	3
RANTES	0.424 (0.273~0.576)	3
TNF- α	0.659 (0~1.415)	3

各値は平均値を示す。

() 内の値 : IC_{50} 値の 95%信頼区間 (μ mol/L)

<資料番号 4.2.1.1-08 : Table 7-2 及び資料番号 4.2.1.1-09 : Table 7-2 より作成>

2.6.2.2.3.3 他の PDE4 阻害剤との TNF- α 産生抑制効果の比較

(概要表 2.6.3.2, 報告書番号 025260, 033390, 033391)

マウス PBMC を用いた検討では, PBMC に最終濃度 0.01 nmol/L から 1 μ mol/L のジファミラスト, atizoram, cipamfylline, ロリプラムを添加, 又は最終濃度 0.1 nmol/L から 10 μ mol/L の crisaborole を添加し 30 分間培養後に, LPS (最終濃度: 1 μ g/mL) を加えて 4 時間培養した。その培養上清中の TNF- α 濃度を ELISA 法にて定量した。ヒト PBMC を用いた検討では, PBMC に最終濃度 0.1 nmol/L から 10 μ mol/L のジファミラスト, atizoram, cipamfylline, crisaborole 又はロリプラムを添加し 30 分間培養後に, LPS (最終濃度: 1 μ g/mL) を加えて 24 時間培養した。その培養上清中の TNF- α 濃度を ELISA 法にて定量した。TNF- α 濃度はいずれもコントロール (0.2% ジメチルスルホキシド [DMSO]) に対する比率 (%) で示した。

ジファミラストとその他の全ての PDE4 阻害剤は, マウス及びヒト PBMC による TNF- α 産生を阻害した (図 2.6.2-2)。マウス PBMC 試験 (無血清条件) における IC₅₀ 値はジファミラストで 0.0035 μ mol/L であり, atizoram (0.0215 μ mol/L), cipamfylline (0.0856 μ mol/L), crisaborole (0.2477 μ mol/L) 及びロリプラム (0.0133 μ mol/L) と比べて低値であった (表 2.6.2-6)。ヒト PBMC 試験における無血清条件での IC₅₀ 値はジファミラストで 0.0109 μ mol/L であり, atizoram (0.0977 μ mol/L), cipamfylline (0.9692 μ mol/L), crisaborole (0.1811 μ mol/L) 及びロリプラム (0.1090 μ mol/L) と比べて低値であった。ヒト PBMC 試験における血清 (10%ウシ胎仔血清) 含有条件でのジファミラスト及びロリプラムの IC₅₀ 値はそれぞれ 0.279 μ mol/L 及び 0.183 μ mol/L であった。

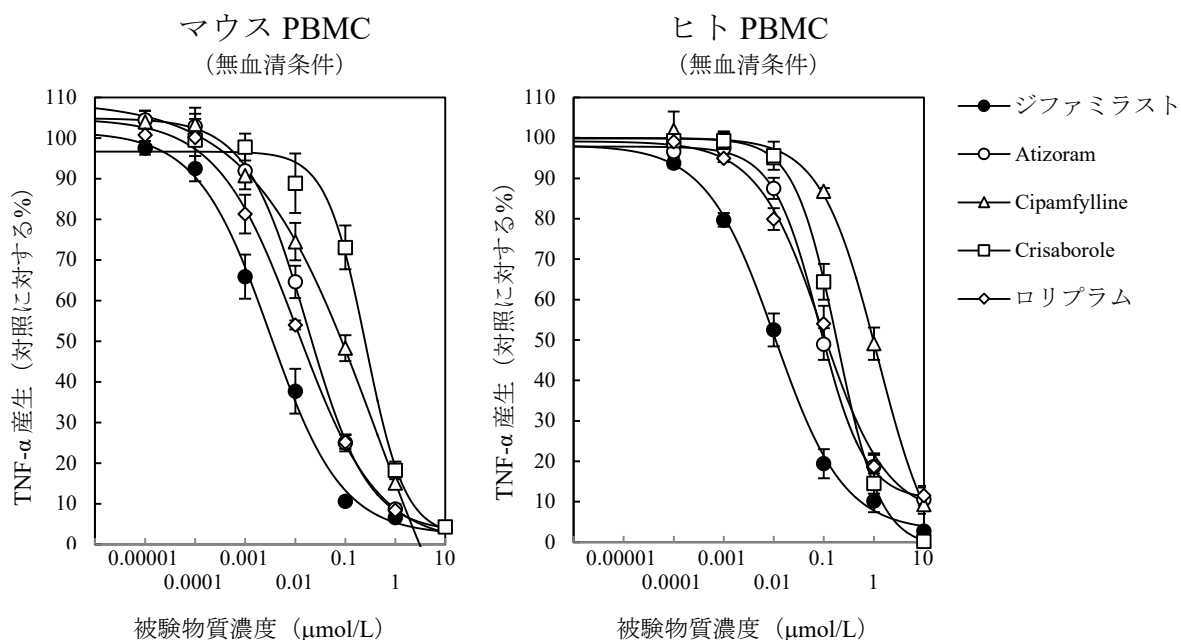


図 2.6.2-2 マウス及びヒト末梢血単核球における LPS 誘発 TNF- α 産生に対するジファミラスト及び他の PDE4 阻害剤の作用

各値は平均値 $\pm$ 標準誤差を示す (PBMC のロット数 = 3)。

いずれの試験においても自社化合物 2 化合物を同時に評価したが、開発計画に含まれないことからそれらのデータは示さない。

<資料番号 4.2.1.1-10 : Figure 8-1 及び資料番号 4.2.1.1-11 : Figure 7-1 より抜粋して作成>

表 2.6.2-6 マウス及びヒト末梢血単核球における LPS 誘発 TNF- α 産生に対するジファミラスト及び他の PDE4 阻害剤の IC₅₀ 値

化合物	マウス PBMC		ヒト PBMC			
	無血清条件		無血清条件		血清含有条件	
	IC ₅₀ ($\mu\text{mol/L}$)	N	IC ₅₀ ($\mu\text{mol/L}$)	N	IC ₅₀ ($\mu\text{mol/L}$)	N
ジファミラスト	0.0035 (0.0024~0.0053)	3	0.0109 (0.0080~0.0148)	3	0.279 (0.211~0.372)	5
Atizoram	0.0215 (0.0154~0.0302)	3	0.0977 (0.0759~0.1267)	3	-	-
Cipamfylline	0.0856 (0.0576~0.1254)	3	0.9692 (0.7254~1.2882)	3	-	-
Crisaborole	0.2477 (0.1581~0.3871)	3	0.1811 (0.1457~0.2249)	3	-	-
ロリプラム	0.0133 (0.0099~0.0180)	3	0.1090 (0.0782~0.1524)	3	0.183 (0.127~0.264)	5

N = PBMC のロット数

各値は平均値を示す。

() 内の値 : IC₅₀ 値の 95%信頼区間 ($\mu\text{mol/L}$)

いずれの試験においても自社化合物 2 化合物を同時に評価したが、開発計画に含まれないことからそれらのデータは示さない。

<資料番号 4.2.1.1-10 : Table 8-2 及び資料番号 4.2.1.1-11 : Table 7-2 より抜粋, 資料番号 4.2.1.1-12 より引用>

2.6.2.2.4 マウス慢性接触過敏症モデルにおける皮膚炎改善作用

アトピー性皮膚炎などの慢性炎症性皮膚疾患の動物モデルとして使用されるマウス慢性接触過敏症モデルを用いてジファミラストの外用による皮膚炎改善効果について検討した。

ジファミラスト溶液及び軟膏製剤の外用による効力を明確にする目的で、用量範囲の探索、アトピー性皮膚炎治療薬との有効性の比較及び他の PDE4 阻害剤との効力比較を実施した。また皮膚炎改善機序を明らかにする目的で、病変部皮膚の各種サイトカイン含量及び炎症性細胞の浸潤に及ぼす影響並びに血清 IgE 濃度に及ぼす影響について検討した。

2.6.2.2.4.1 効果用量範囲の探索とアトピー性皮膚炎治療薬との有効性比較

(概要表 2.6.3.2, 報告書番号 025570)

ジファミラスト軟膏 (0%, 0.03%, 0.1%, 0.3%, 1%及び3%) の有効性の用量反応性について、マウス慢性接触過敏症モデルを用いて検討した。アトピー性皮膚炎の治療に広く用いられるプロトピック®軟膏 0.1%及びリンデロン®-V 軟膏 0.12%を同時に評価した。ハプテン (1% 2,4,6-トリニトロ-1-クロロベンゼン [TNCB] 溶液) をマウスの右耳介に2日に1回反復塗布して慢性皮膚炎を誘導した。初回抗原誘発の24日後 (24日目) から51日目までの4週間、ジファミラスト軟膏と市販薬剤を連日局所塗布した。皮膚炎症のパラメータとして耳介厚を用い、46, 48, 50及び52日目の右耳介厚の平均値 (MET_{Day 46-52}) を有効性の指標とした。

ジファミラスト軟膏 (0.03%~3%) の塗布開始以降、耳介厚は次第に減少し、42~46日目の間にほぼ横ばいとなった (図 2.6.2-3)。ジファミラスト軟膏は0.03%~3%の濃度で MET_{Day 46-52} を用量依存的に減少させ、その減少は基剤対照 (ジファミラスト軟膏 0%) と比較して有意であった。リンデロン®-V 軟膏 0.12%も、基剤対照と比較して MET_{Day 46-52} を有意に減少させ、リンデロン®-V 軟膏 0.12%による耳介厚の減少はジファミラスト軟膏 3%よりも大きかった。プロトピック®軟膏 0.1%は MET_{Day 46-52} に影響を及ぼさなかった (図 2.6.2-4)。

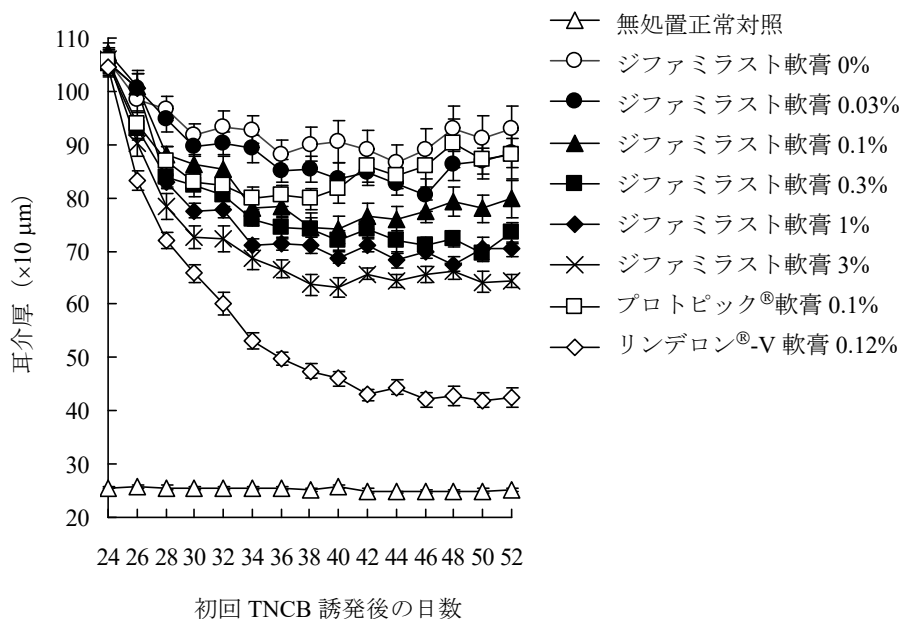


図 2.6.2-3 マウス慢性接触過敏症モデルの耳介厚に対するジファミラスト軟膏及び市販薬剤の影響

各値は平均値 ± 標準誤差を示す（無処置正常対照群 N = 8，その他の群 N = 14）。

<資料番号 4.2.1.1-13 : Figure 7-1 より作成>

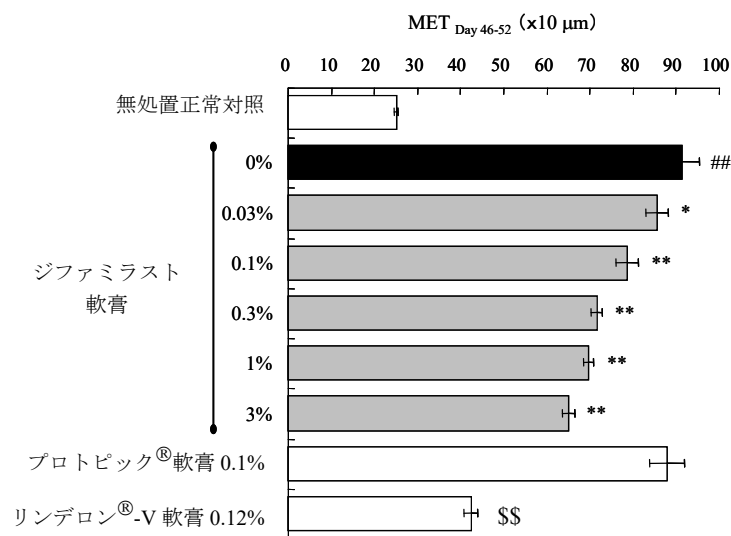


図 2.6.2-4 マウス慢性接触過敏症モデルの MET_{Day 46-52} に対するジファミラスト軟膏及び市販薬剤の影響

MET_{Day 46-52} = 46, 48, 50 及び 52 日目の右耳介厚の平均値

各値は平均値 ± 標準誤差を示す（無処置正常対照群 N = 8，その他の群 N = 14）。

: $p < 0.01$ 。無処置正常対照との検定結果（対応のない両側 t 検定）。

*, **: それぞれ $p < 0.05$, $p < 0.01$ 。ジファミラスト軟膏（0.03%～3%）と基剤対照（ジファミラスト軟膏 0%）の検定結果（直線回帰分析後，下側 Williams 検定）。

\$\$: $p < 0.01$ 。市販薬剤（プロトピック®軟膏 0.1%及びリンデロン®-V 軟膏 0.12%）と基剤対照の検定結果（両側 Dunnett 検定）。

<資料番号 4.2.1.1-13 : Figure 7-2 より作成>

2.6.2.2.4.2 病変部皮膚の各種サイトカイン含有量に及ぼす影響

(概要表 2.6.3.2, 報告書番号 025725)

病変部皮膚のサイトカイン含有量に及ぼすジファミラスト軟膏の影響について、マウス慢性接触過敏症モデルを用いて検討した。ハプテン（1% TNCB 溶液）をマウスの右耳介に 2 日に 1 回反復塗布して慢性皮膚炎を誘導した。初回抗原誘発の 24 日後（24 日目）から 51 日目までの 4 週間、ジファミラスト軟膏（0%, 0.03%, 0.1%, 0.3%, 1%及び 3%）を連日局所塗布した。52 日目に各群をそれぞれ 2 群に分け、最終抗原誘発前と最終抗原誘発 6 時間後（抗原誘発 30 分後にジファミラスト軟膏塗布を実施）の病変部耳介組織中の MIP-1 α , MIP-2, IL-4, IFN- γ 及び TNF- α の含有量を ELISA 法により測定した。

ジファミラストは、基剤対照（ジファミラスト軟膏 0%）と比較して、耳介の MIP-1 α （最終抗原誘発前は 0.1%以上、最終抗原誘発 6 時間後は 0.3%以上の濃度で）及び MIP-2（最終抗原誘発前、最終抗原誘発 6 時間後とも 0.1%以上の濃度で）の含有量を有意に低減させた。ジファミラストは IL-4 含有量に影響を及ぼさなかった（図 2.6.2-5）。この動物モデルでは IFN- γ 及び TNF- α の含有量は増加しなかった（表 2.6.2-7, 表 2.6.2-8）。

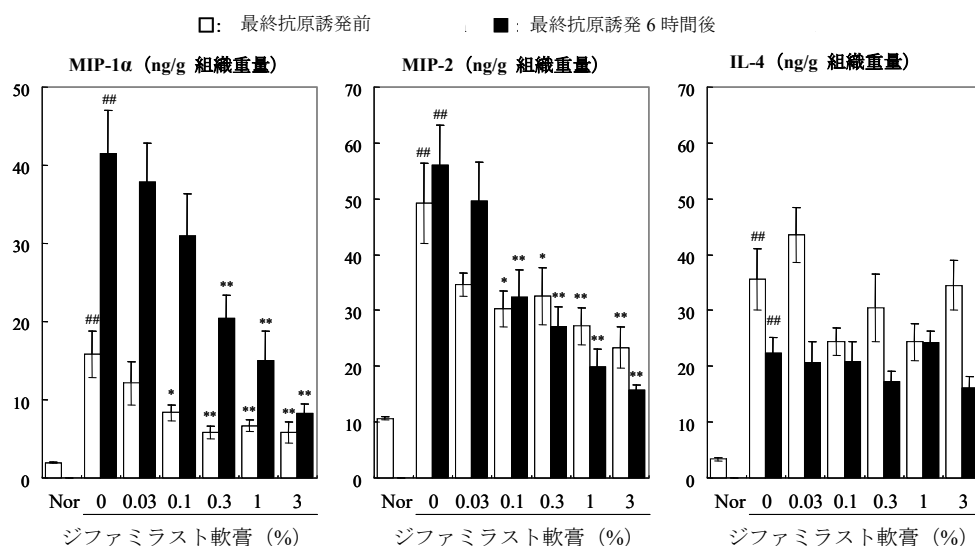


図 2.6.2-5 マウス慢性接触過敏症モデルの病変部皮膚における各種サイトカイン含有量に及ぼすジファミラスト軟膏の影響

Nor = 無処置正常対照

各値は平均値 $\pm$ 標準誤差を示す（無処置正常対照群 N = 8, 最終抗原誘発前の 0.03% ジファミラスト軟膏群 N = 6, その他の群 N = 7）。

: $p < 0.01$. 無処置正常対照との検定結果（対応のない両側 t 検定）。

*, ** : それぞれ $p < 0.05$, $p < 0.01$. ジファミラスト軟膏（0.03%~3%）と基剤対照（ジファミラスト軟膏 0%）の検定結果（両側 Dunnett 検定）。

<資料番号 4.2.1.1-14 : Figure 7-1, Figure 7-2, Figure 7-3 より作成>

表 2.6.2-7 マウス慢性接触過敏症モデルの病変部皮膚の IFN- γ 含有量に及ぼすジファミラスト軟膏の影響

群	用量 (%)	最終抗原誘発前		最終抗原誘発 6 時間後	
		IFN- γ 含有量 (ng/g 組織重量)	N	IFN- γ 含有量 (ng/g 組織重量)	N
無処置正常対照	-	0.6 $\pm$ 0.0	8	-	-
ジファミラスト 軟膏	0	0.6 $\pm$ 0.0	7	0.6 $\pm$ 0.0	7
	0.03	0.7 $\pm$ 0.1	6	0.6 $\pm$ 0.0	7
	0.1	0.6 $\pm$ 0.0	7	0.7 $\pm$ 0.0	7
	0.3	0.6 $\pm$ 0.0	7	0.6 $\pm$ 0.0	7
	1	0.6 $\pm$ 0.0	7	0.6 $\pm$ 0.0	7
	3	0.6 $\pm$ 0.0	7	0.6 $\pm$ 0.0	7

N = 動物数

各値は平均値 $\pm$ 標準誤差を示す。検出下限は 0.63 ng/g 組織重量であった。検出下限未満の個体の値は検出下限値を用いた。

ジファミラスト軟膏 0%群で一部の個体の値が検出下限未満であったため、統計解析は実施しなかった。

<資料番号 4.2.1.1-14 : Table 7-9, Table 7-10 より作成>

表 2.6.2-8 マウス慢性接触過敏症モデルの病変部皮膚の TNF- α 含有量に及ぼすジファミラスト軟膏の影響

群	用量 (%)	最終抗原誘発前		最終抗原誘発 6 時間後	
		TNF- α 含有量 (ng/g 組織重量)	N	TNF- α 含有量 (ng/g 組織重量)	N
無処置正常対照	-	1.8 $\pm$ 0.0	8	-	-
ジファミラスト 軟膏	0	1.7 $\pm$ 0.0	7	1.7 $\pm$ 0.0	7
	0.03	1.9 $\pm$ 0.2	6	1.8 $\pm$ 0.2	7
	0.1	1.9 $\pm$ 0.2	7	1.9 $\pm$ 0.2	7
	0.3	1.8 $\pm$ 0.1	7	1.7 $\pm$ 0.0	7
	1	1.7 $\pm$ 0.0	7	1.7 $\pm$ 0.0	7
	3	1.7 $\pm$ 0.0	7	1.8 $\pm$ 0.1	7

N = 動物数

各値は平均値 $\pm$ 標準誤差を示す。検出下限は 1.67 ng/g 組織重量であった。検出下限未満の個体の値は検出下限値を用いた。

ジファミラスト軟膏 0%群で一部の個体の値が検出下限未満であったため、統計解析は実施しなかった。

<資料番号 4.2.1.1-14 : Table 7-7, Table 7-8 より作成>

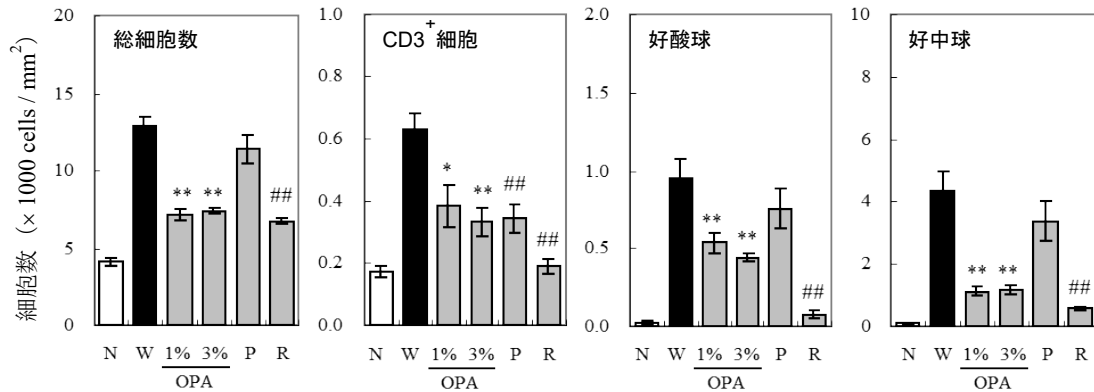
2.6.2.2.4.3 病変部皮膚の炎症性細胞の浸潤と血清 IgE 濃度に及ぼす影響

(概要表 2.6.3.2, 報告書番号 029605)

ジファミラスト軟膏 (1%及び3%) が病変部皮膚の炎症性細胞の浸潤と血清 IgE 濃度に及ぼす影響について、マウス慢性接触過敏症モデルを用いて検討した。プロトピック®軟膏 0.1%とリンデロン®-V 軟膏 0.12%を同時に評価した。ハプテン (1% TNCB 溶液) をマウスの右耳介に 2 日に 1 回反復塗布して慢性皮膚炎を誘導した。初回抗原誘発の 24 日後 (24 日目) から 52 日目までの 4 週間、薬物を連日 (抗原誘発日は抗原誘発の 30 分後に) 局所塗布した。52 日目の最終抗原誘発前と 6 時間後に、右耳介における細胞数を組織学的評価により測定した (総細胞数, 好酸球数及び好中球数: ヘマトキシリン・エオジン染色 [HE 染色]; CD3 陽性細胞数: 免疫染色)。初回薬物塗布前 (24 日目) と薬物塗布開始 2 週間後及び 4 週間後に、総 IgE 及び抗原特異的 (TNP 特異的) IgE の血清中濃度を ELISA 法により測定した。

ジファミラスト軟膏 3%及びリンデロン®-V 軟膏 0.12%は、病変部皮膚において CD3 陽性細胞, 好酸球, 好中球などの炎症性細胞の浸潤を有意に抑制した。ジファミラスト軟膏 1%は、CD3 陽性細胞及び好中球の浸潤を有意に抑制した (図 2.6.2-6)。ジファミラスト軟膏 (1%及び3%) は、総 IgE 濃度及び抗原特異的 IgE 濃度の双方を有意に単調減少させた (図 2.6.2-7)。

最終抗原誘発前



最終抗原誘発 6 時間後

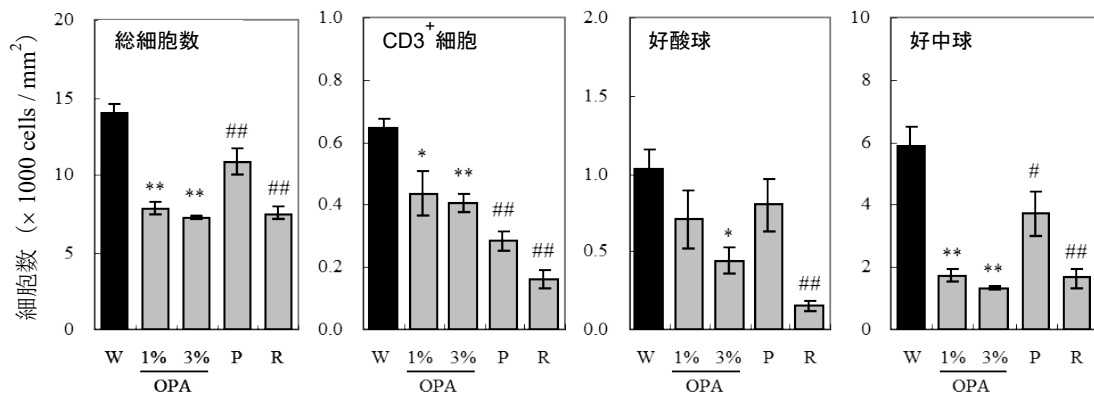


図 2.6.2-6 マウス慢性接触過敏症モデルにおける病変部皮膚の炎症性細胞の浸潤に及ぼすジファミラスト軟膏及び市販薬剤の影響

N = 無処置正常対照；OPA = ジファミラスト軟膏；P = プロトピック[®]軟膏 0.1%；R = リンデロン[®]-V 軟膏 0.12%；W = 白色ワセリン

各値は平均値 ± 標準誤差を示す (N = 6)。

*, **: それぞれ $p < 0.05$, $p < 0.01$ 。ジファミラスト軟膏 (1% 及び 3%) と白色ワセリンの検定結果 (両側 Dunnett 検定)。

#, ##: それぞれ $p < 0.05$, $p < 0.01$ 。市販薬剤 (プロトピック[®]軟膏 0.1% 及び リンデロン[®]-V 軟膏 0.12%) と白色ワセリンの検定結果 (両側 Dunnett 検定)。

<資料番号 4.2.1.1-15 : Figure 8-1 より作成>

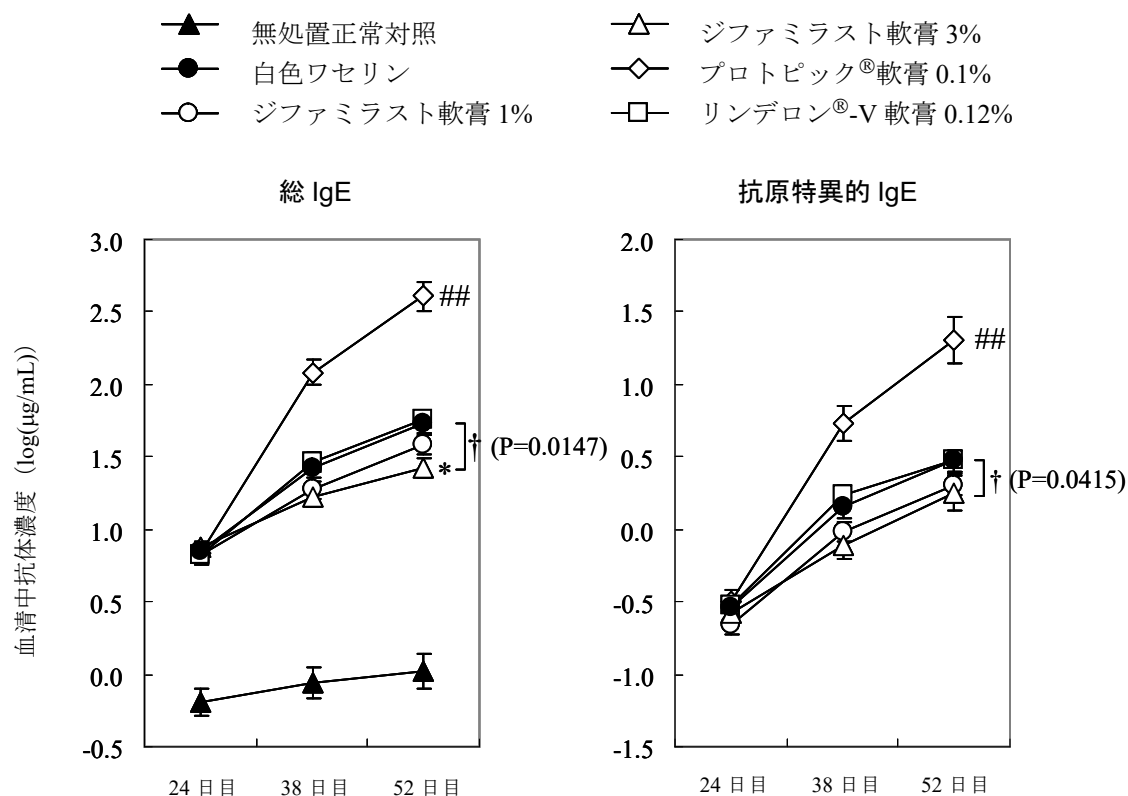


図 2.6.2-7 マウス慢性接触過敏症モデルの血清 IgE 濃度に及ぼすジファミラスト軟膏及び市販薬剤の影響

各値は平均値 ± 標準誤差を示す（無処置正常対照群 N = 6，その他の群 N = 12）。

抗原特異的 IgE 濃度の検出下限は $[-2.4 \log(\mu\text{g/mL})]$ であった。無処置正常対照群では，抗原特異的 IgE 濃度データはすべて検出下限未満であり，検出下限値を用いた。

*: $p < 0.05$ 。ジファミラスト軟膏（1%及び3%）と白色ワセリンの検定結果（経時測定データに対する混合モデルを用いた両側 Dunnett 検定）。

†: 単調減少。ジファミラスト軟膏（1%及び3%）と白色ワセリンの統計解析は，経時測定データに対する混合モデルを用いた最大対比法により実施した。

##: $p < 0.01$ 。市販薬剤（プロトピック®軟膏 0.1%及びリンデロン®-V 軟膏 0.12%）と白色ワセリンの検定結果（経時測定データに対する混合モデルを用いた両側 Dunnett 検定）。

<資料番号 4.2.1.1-15 : Figure 8-4 より作成>

2.6.2.2.4.4 他の PDE4 阻害剤との有効性の比較

(概要表 2.6.3.2, 報告書番号 034010)

ジファミラストの皮膚炎改善効果に基づく有効性について、マウス慢性接触過敏症モデルを用いて他の PDE4 阻害剤 (atizoram, cipamfylline 及び crisaborole) と比較した。

ハプテン (1% TNCB 溶液) をマウスの右耳介に 2 日に 1 回反復塗布して慢性皮膚炎を誘導した。初回抗原誘発の 24 日後 (24 日目) から 37 日目までの 2 週間、溶媒 (アセトン及びメタノールの 1:1 混合物) に溶解したジファミラスト (0.03%, 0.3%, 1% 及び 3%) 及び他の PDE4 阻害剤 (1% 又は 2%) を連日局所塗布した。

いずれの化合物も 2 週間の反復塗布により、耳介肥厚を抑制した (図 2.6.2-8)。0.03%~3% の濃度のジファミラストは、溶媒対照と比較して 32 日目, 34 日目, 36 日目及び 38 日目の右耳介厚の平均値 ($MET_{Day\ 32-38}$) を用量依存的に減少させ、全ての濃度で統計学的に有意であった。ジファミラスト 1% の $MET_{Day\ 32-38}$ に基づく有効性は, cipamfylline 1%, crisaborole (1% 及び 2%) よりも有意に高かった (図 2.6.2-9)。

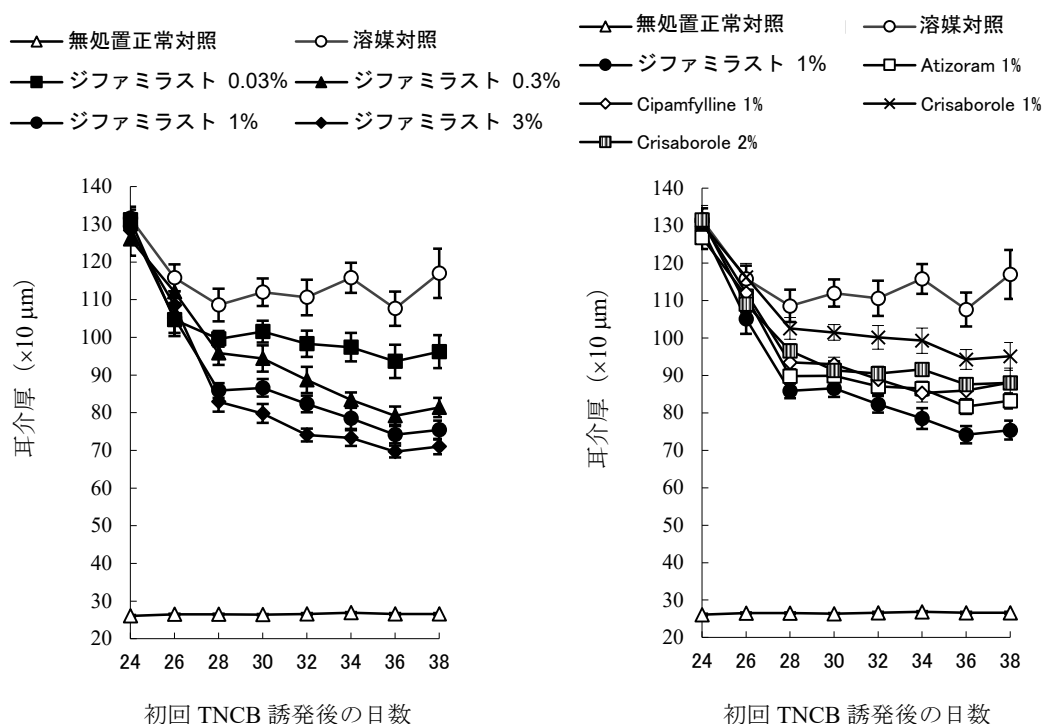


図 2.6.2-8 マウス慢性接触過敏症モデルの耳介厚に対するジファミラスト及び他の PDE4 阻害剤の影響

各値は平均値 ± 標準誤差を示す (N = 10)。

本試験において自社化合物 2 化合物を同時に評価したが、開発計画に含まれないことからそれらのデータは示さない。

<資料番号 4.2.1.1-16 : Figure 8-2 より作成>

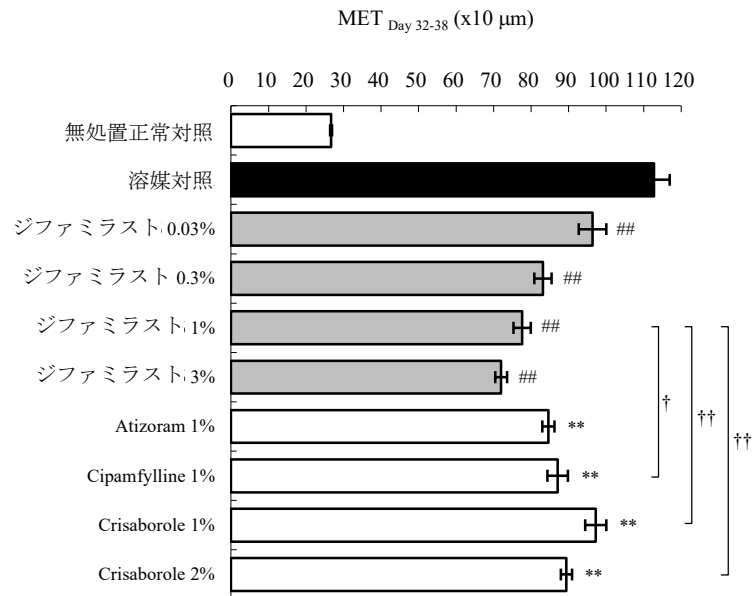


図 2.6.2-9 マウス慢性接触過敏症モデルの MET_{Day 32-38} に対するジファミラスト及び他の PDE4 阻害剤の影響

MET_{Day 32-38} = 32, 34, 36 及び 38 日目の右耳介厚の平均値

各値は平均値 ± 標準誤差を示す (N = 10)。

: p < 0.01。ジファミラスト群 (0.03%~3%) と溶媒対照群の検定結果 (下側 2.5% Williams 検定)。

** : p < 0.01。Atizoram 1%群, cipamfylline 1%群, crisaborole 1%群及び 2%群と溶媒対照群との検定結果 (両側 Dunnett 検定)。

†, †† : それぞれ p < 0.05 及び p < 0.01。Atizoram 1%群, cipamfylline 1%群, crisaborole 1%群及び 2%群とジファミラスト 1% 群との検定結果 (両側 Dunnett 検定)。

本試験において自社化合物 2 化合物を同時に評価したが, 開発計画に含まれないことからそれらのデータは示さない。

<資料番号 4.2.1.1-16 : Figure 8-3 より作成>

2.6.2.2.5 マウスの引っ掻きによる慢性皮膚炎モデルにおける皮膚炎改善作用

(概要表 2.6.3.2, 報告書番号 028752)

引っ掻きによる慢性皮膚炎⁴に対するジファミラスト (1%及び3%) の効果について、マウスの病態モデルを用いて検討した。タクロリムス (0.1%) 及びベタメタゾン吉草酸エステル (0.1%) を同時に評価した。慢性皮膚炎は次の様に誘導した。まず、ハプテン (1% TNCB 溶液) をマウスの右耳介に1週間に3回の頻度で16週間塗布した。最終塗布後、集団飼育から個別飼育に変更し、慢性皮膚炎が両耳介に誘導されるまで継続して個別飼育した。溶媒 (アセトン及びメタノールの1:1混合物) に溶解した被験化合物をマウスの両耳介に6週間、連日局所塗布した。投与期間中の臨床的皮膚スコア (潰瘍, 擦創, びらん, 小出血, 痂皮などの引っ掻きによる損傷を呈する病変部皮膚の面積に基づく両耳介の皮膚炎の重症度) を判定するとともに、単回及び反復塗布後の引っ掻き回数を MicroAct[®] (株式会社ニューロサイエンス) を用いて測定した。反復塗布後の病変部皮膚の MIP-1 α 及び MIP-2 含有量は ELISA 法により測定した。

ジファミラスト (1%及び3%) 及びタクロリムス 0.1%は、溶媒対照と比較して、臨床的皮膚スコアを有意に減少させたが、ベタメタゾン吉草酸エステル 0.1%は有意に増加させた (図 2.6.2-10, 図 2.6.2-11)。ジファミラスト (1%及び3%) とベタメタゾン吉草酸エステル 0.1%は、単回塗布後と反復塗布後のいずれにおいても引っ掻き回数に影響を及ぼさなかった。タクロリムス 0.1%では、溶媒対照と比較して、単回塗布後に引っ掻き回数が有意に増加したが、反復塗布後には増加しなかった (図 2.6.2-12)。ジファミラスト (1%及び3%) は、溶媒対照と比較して、病変部皮膚の MIP-1 α 含有量と MIP-2 含有量を共に有意に低減させたが、ベタメタゾン吉草酸エステル 0.1%は有意に増加させた。タクロリムス 0.1%は MIP-1 α 及び MIP-2 含有量に影響を及ぼさなかった (図 2.6.2-13)。

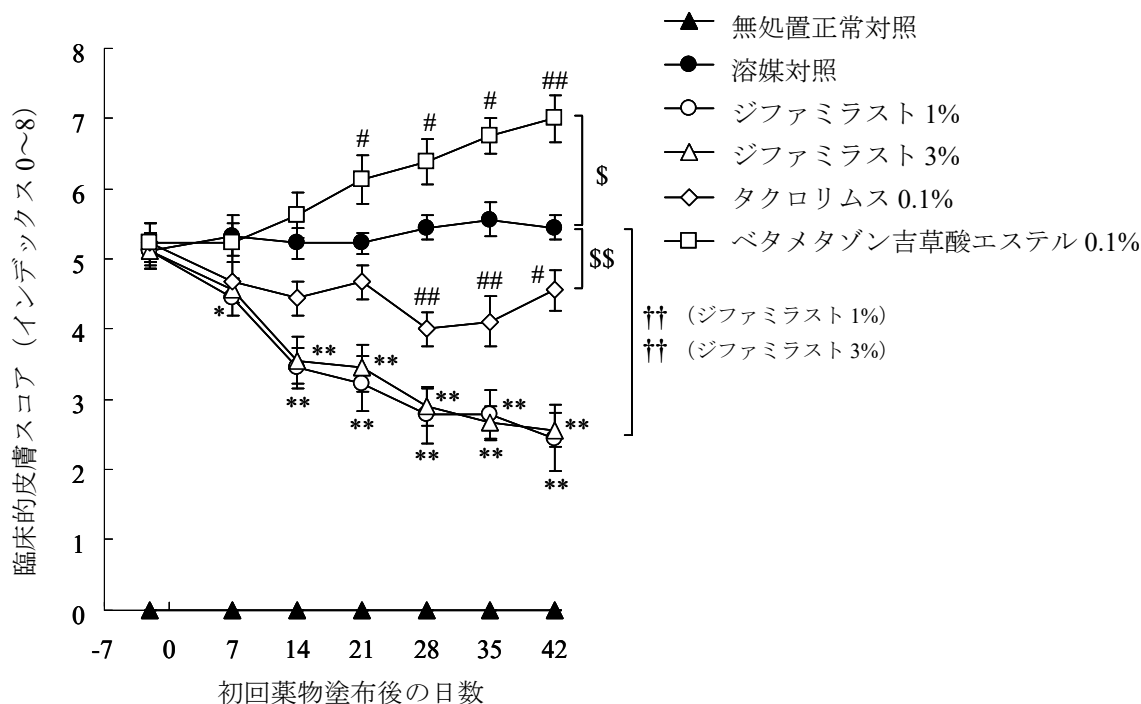


図 2.6.2-10 マウスの引っ掻きによる慢性皮膚炎モデルの臨床的皮膚スコアに対する各種化合物の影響

各値は平均値 ± 標準誤差を示す（ベタメタゾン吉草酸エステル 0.1% N = 9 [-2～7 日目] 又は N = 8 [14 日目以降]，その他の群 N = 9）。

†† : p < 0.01。ジファミラスト（1%及び3%）と溶媒対照の検定結果（投与前値を共変量とした経時測定データに対する混合モデルを用いた両側 Dunnett 検定）。

\$, \$\$: それぞれ p < 0.05, p < 0.01。タクロリムス 0.1%及びベタメタゾン吉草酸エステル 0.1%と溶媒対照の検定結果（投与前値を共変量とした経時測定データに対する混合モデルを用いた両側 Dunnett 検定）。

*, ** : それぞれ p < 0.05, p < 0.01。各実験日のジファミラスト（1%及び3%）と溶媒対照の検定結果（両側 Dunnett 検定）。

#, ## : それぞれ p < 0.05, p < 0.01。各実験日のタクロリムス 0.1%及びベタメタゾン吉草酸エステル 0.1%と溶媒対照の検定結果（両側 Dunnett 検定）。

<資料番号 4.2.1.1-17 : Figure 8-1 より作成>



図 2.6.2-11 各種化合物の反復塗布前後の皮膚症状

各群の典型例を示す。

<資料番号 4.2.1.1-17 : Figure 8-2 より作成>

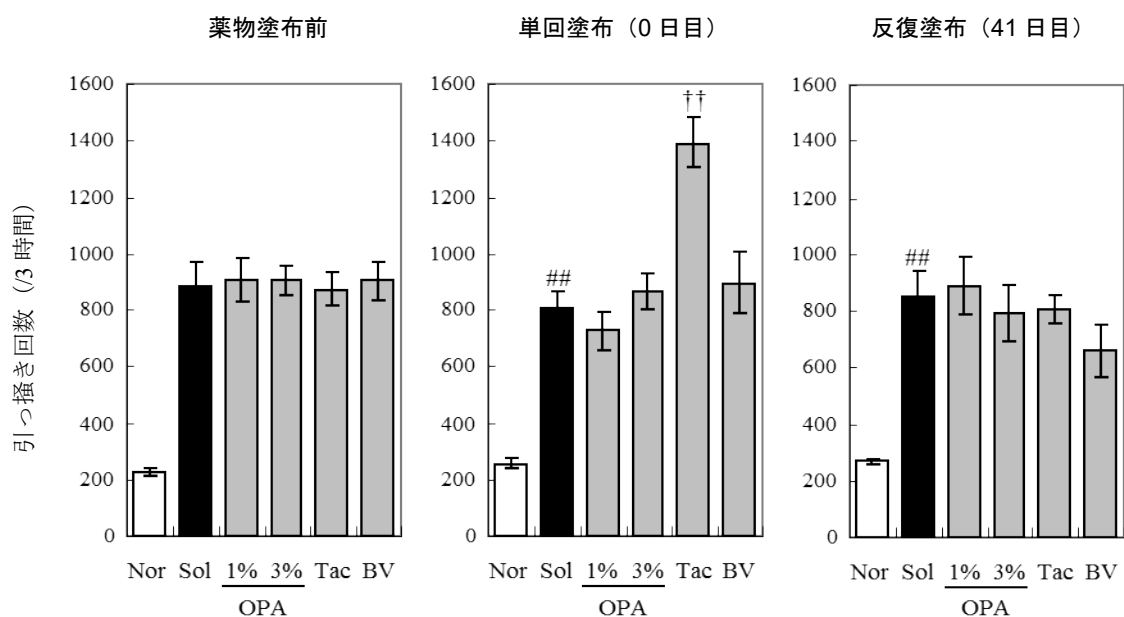


図 2.6.2-12 マウスの引っ掻きによる慢性皮膚炎モデルの引っ掻き回数に対する各種化合物の効果

BV = ベタメタゾン吉草酸エステル 0.1% ; Nor = 無処置正常対照 ; OPA = ジファミラスト ; Sol = 溶媒対照 ; Tac = タクロリムス 0.1%

各値は平均値 ± 標準誤差を示す (41 日目のベタメタゾン吉草酸エステル 0.1% 群 N = 8, その他の群 N = 9)。
単回及び反復塗布後の結果について統計解析を実施した。

: $p < 0.01$ 。無処置正常対照との検定結果 (対応のない両側 t 検定)。

†† : $p < 0.01$ 。タクロリムス 0.1% 及びベタメタゾン吉草酸エステル 0.1% と溶媒対照の検定結果 (両側 Dunnett 検定)。

有意差なし : ジファミラスト (1% 及び 3%) と溶媒対照の検定結果 (両側 Dunnett 検定)。

<資料番号 4.2.1.1-17 : Figure 8-3 より作成>

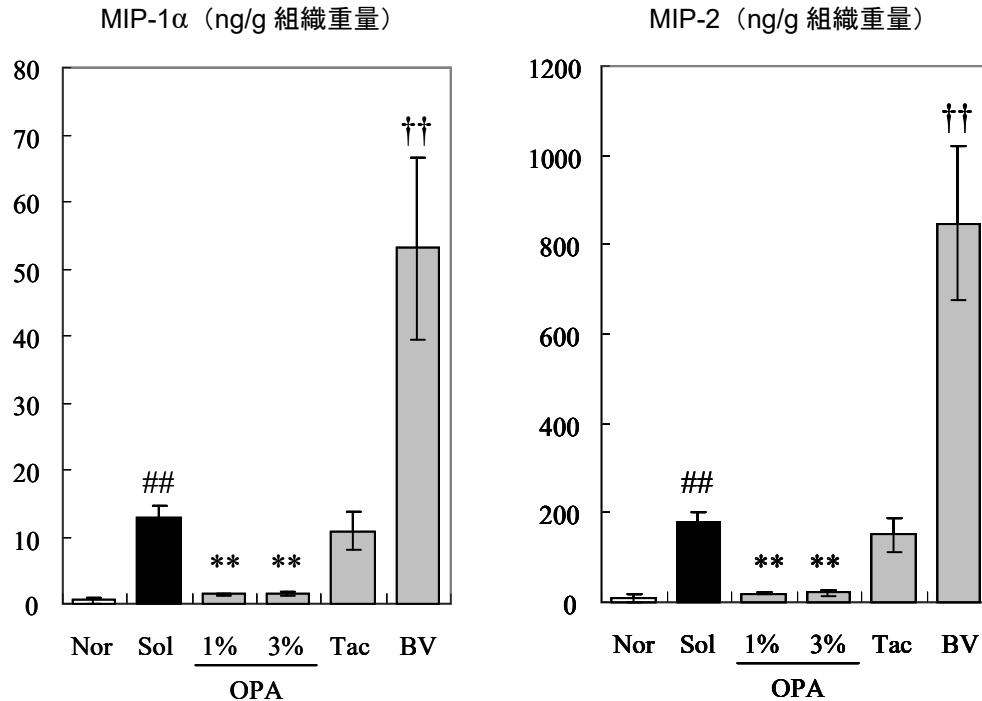


図 2.6.2-13 マウスの引っ掻きによる慢性皮膚炎モデルの病変部皮膚の MIP-1α 及び MIP-2 含有量に及ぼす各種化合物の影響

BV = ベタメタゾン吉草酸エステル 0.1% ; Nor = 無処置正常対照 ; OPA = ジファミラスト ; Sol = 溶媒対照 ; Tac = タクロリムス 0.1%

各値は平均値 ± 標準誤差を示す (ベタメタゾン吉草酸エステル 0.1% 群 N = 8, その他の群 N = 9)。

: $p < 0.01$ 。無処置正常対照との検定結果 (対応のない両側 t 検定)。

** : $p < 0.01$ 。ジファミラスト (1% 及び 3%) と溶媒対照の検定結果 (両側 Dunnett 検定)。

†† : $p < 0.01$ 。タクロリムス 0.1% 及びベタメタゾン吉草酸エステル 0.1% と溶媒対照の検定結果 (両側 Dunnett 検定)。

検出下限は 0.094 ng/g 組織重量 (MIP-1α) 及び 0.156 ng/g 組織重量 (MIP-2) であった。検出下限未満の個体の値は検出下限値を用いた。

<資料番号 4.2.1.1-17 : Figure 8-4 より作成>

2.6.2.2.6 マウス接触過敏症モデルにおける皮膚炎改善作用

(概要表 [2.6.3.2](#), 報告書番号 029335)

皮膚接触過敏症に対するジファミラスト軟膏 3%の効果について、マウスの病態モデルを用いて検討した。プロトピック®軟膏 0.1%とリンデロン®-V 軟膏 0.12%を同時に評価した。左耳介に TNCB (1%溶液) を経皮投与しマウスを感作した。感作 7 日後に、右耳介に TNCB を塗布して接触過敏症を誘導した。TNCB 誘発 30 分後に右耳介に薬物を局所塗布した。TNCB 誘発前と TNCB 誘発 24 時間後の耳介厚の差に基づいて浮腫の程度を評価するとともに ELISA 法により耳介組織中の IFN- γ 含有量を測定した。

ジファミラスト軟膏 3%, プロトピック®軟膏 0.1%及びリンデロン®-V 軟膏 0.12%は耳介の浮腫と IFN- γ 含有量を有意に低減させた (図 [2.6.2-14](#), 図 [2.6.2-15](#))。

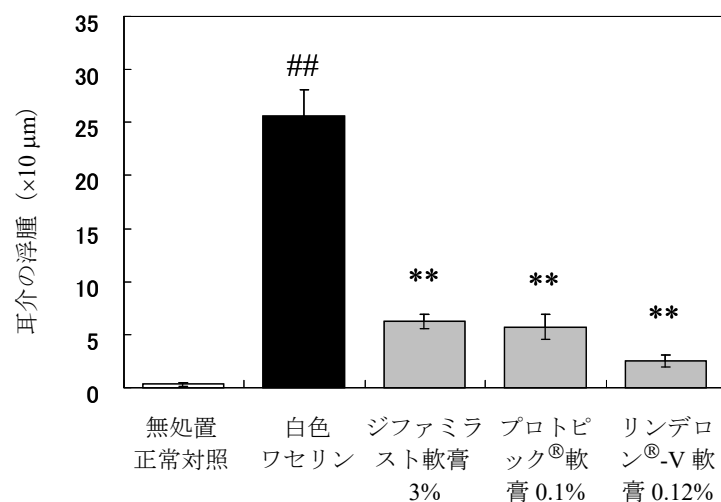


図 2.6.2-14 マウス接触過敏症モデルの耳介の浮腫に対するジファミラスト軟膏及び市販薬剤の影響

各値は平均値 ± 標準誤差を示す (N = 10)。

: $p < 0.01$ 。無処置正常対照との検定結果 (対応のない両側 t 検定)。

** : $p < 0.01$ 。薬物と白色ワセリンの検定結果 (両側 Dunnett 検定)。

<資料番号 4.2.1.1-18 : Figure 7-1 より作成>

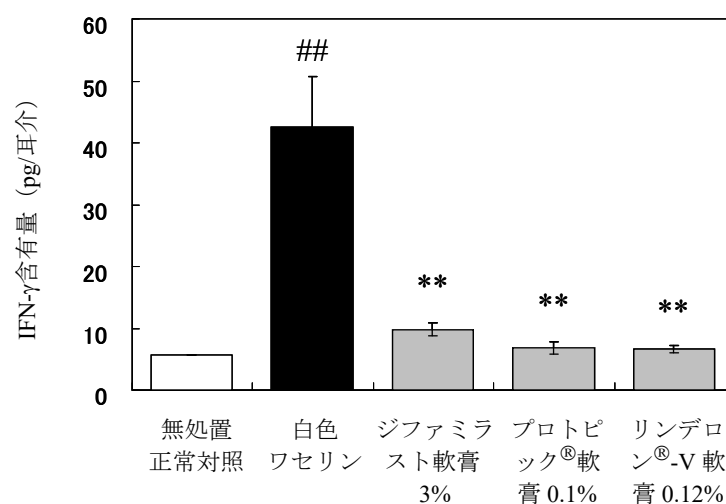


図 2.6.2-15 マウス接触過敏症モデルの IFN- γ 含有量に及ぼすジファミラスト軟膏及び市販薬剤の影響

各値は平均値 ± 標準誤差を示す (N = 10)。

: $p < 0.01$ 。無処置正常対照との検定結果 (対応のない両側 t 検定)。

** : $p < 0.01$ 。薬物と白色ワセリンの検定結果 (両側 Dunnett 検定)。

検出下限は 5.6 pg/耳介であった。検出下限未満の個体の値は検出下限値を用いた。

<資料番号 4.2.1.1-18 : Figure 7-2 より作成>

2.6.2.3 副次的薬理試験

2.6.2.3.1 各種受容体に対する結合親和性

(概要表 2.6.3.3, 報告書番号 024898)

90 種類の受容体, イオンチャネル及びトランスポーターを用い, 各リガンドの結合に対するジファミラスト (10 $\mu\text{mol/L}$) の阻害作用を検討した。

ジファミラストが 80%を超える阻害を示したのは, アデノシントランスポーター (ヒト) 及びモノアミントランスポーター (ウサギ) であり, その阻害率はそれぞれ 87.59%及び 85.50%であった。本試験で検討したその他の受容体, イオンチャネル及びトランスポーターに対するジファミラストの阻害率は 80%未満であった (表 2.6.2-9)。

表 2.6.2-9 各種受容体, イオンチャネル及びトランスポーターへの放射性リガンド結合に対するジファミラストの阻害作用 (1)

試験名	阻害率 (%)	試験名	阻害率 (%)
アデノシン A1 (ヒト)	8.81	グルタミン酸 (NMDA ポリアミン部位, ラット)	19.95
アデノシン A2a (ヒト)	32.39	グリシン (ストリキニーネ感受性, ラット)	18.54
アデノシン A3 (ヒト)	27.04	ヒスタミン H1 (ヒト)	18.78
アデノシントランスポーター (ヒト)	87.59	ヒスタミン H2 (ヒト)	1.00
アドレナリン $\alpha 1A$ (ラット)	33.99	ヒスタミン H3 (ヒト)	9.77
アドレナリン $\alpha 1B$ (ラット)	7.25	イミダゾリン (中枢性, ラット)	35.47
アドレナリン $\alpha 2A$ (ヒト)	48.06	IP3 (ラット)	16.66
アドレナリン $\alpha 2B$ (ヒト)	46.50	K ⁺ チャネル KA (ラット)	0.00
アドレナリン $\alpha 2C$ (ヒト)	68.09	K ⁺ チャネル KATP (ラット)	0.47
アドレナリン $\beta 1$ (ヒト)	41.04	K ⁺ チャネル SkCa (ラット)	0.00
アドレナリン $\beta 2$ (ヒト)	28.90	ロイコトリエン B4 (モルモット)	20.75
アンジオテンシン AT1 (ヒト)	28.27	ロイコトリエン D4 (モルモット)	0.00
アンジオテンシン AT2 (ヒト)	0.00	メラトニン MT1 (ヒト)	39.70
ブラジキニン B1 (ヒト)	15.12	モノアミントランスポーター (ウサギ)	85.50
ブラジキニン B2 (ヒト)	10.39	ムスカリン M1 (ヒト)	9.20
ボンベシン (非選択的, ラット)	26.67	ムスカリン M2 (ヒト)	6.63
Ca ²⁺ チャネル (L 型, ベンゾチアゼピン, ラット)	48.29	ムスカリン M3 (ヒト)	11.90
Ca ²⁺ チャネル (L 型, ジヒドロピリジン, ラット)	53.59	ムスカリン M4 (ヒト)	18.79
Ca ²⁺ チャネル (L 型, フェニルアルキルアミン, ラット)	64.84	ムスカリン M5 (ヒト)	37.50
Ca ²⁺ チャネル (N 型, ラット)	0.00	Na ⁺ チャネル (ラット)	78.14

Ca²⁺チャネル = カルシウムチャネル; IP3 = D-ミオイノシトール 1,4,5-三リン酸; K⁺チャネル KA = 電位依存性一過性カリウムチャネル; K⁺チャネル KATP = ATP 感受性カリウムチャネル; K⁺チャネル SkCa = 小コンダクタンスカルシウム活性化カリウムチャネル; Na⁺チャネル = ナトリウムチャネル

各値は 1 回の実験の値を示す。

<資料番号 4.2.1.2-01 : Table 1, Table 2, Table 3 より作成>

(続く)

2.6.2 薬理試験の概要文

表 2.6.2-9 各種受容体、イオンチャネル及びトランスポーターへの放射性リガンド結合に対するジファミラストの阻害作用 (2)

(続き)

試験名	阻害率 (%)	試験名	阻害率 (%)
カンナビノイド CB1 (ヒト)	27.32	ニューロキニン NK1 (ヒト)	13.97
カンナビノイド CB2 (ヒト)	72.88	ニューロキニン NK2 (ヒト)	23.71
CCK A (ヒト)	40.19	ニューロキニン NK3 (ヒト)	2.66
CCK B (ヒト)	15.14	ニューロペプチド Y1 (ヒト)	0.00
CRF1 (ヒト)	12.75	ニューロペプチド Y2 (ヒト)	0.00
ドパミン D1 (ヒト)	17.23	ニューロテンシン NT1 (ヒト)	0.00
ドパミン D2 ショート (ヒト)	0.00	ノルエピネフリントランスポーター (ヒト)	33.85
ドパミン D3 (ヒト)	4.23	ニコチン (ヒト)	0.00
ドパミン D4.2 (ヒト)	8.67	オピエート δ (ヒト)	11.40
ドパミン D5 (ヒト)	29.01	オピエート κ (ヒト)	15.57
ドパミントランスポーター (ヒト)	53.99	オピエート μ (ヒト)	27.80
エストロゲン (ラット)	1.85	オピエート ORL1 (ヒト)	0.00
エンドセリン ETA (ヒト)	0.83	PAF (ウサギ)	10.69
エンドセリン ETB (ヒト)	6.34	プロスタノイド EP2 (ヒト)	4.05
GABA A (アゴニスト部位, ラット)	7.29	セロトニン 5HT1A (ヒト)	68.07
GABA A (BZ 中枢性, ラット)	2.05	セロトニン 5HT2A (ヒト)	43.50
GABA A (塩素イオンチャネル, ラット)	61.90	セロトニン 5HT3 (ヒト)	0.00
GABA B (ラット)	0.00	セロトニントランスポーター (ヒト)	21.52
GABA トランスポーター (ラット)	0.00	シグマ σ 1 (モルモット)	24.05
グルココルチコイド (ヒト)	3.58	シグマ σ 2 (モルモット)	38.86
グルタミン酸 (AMPA, ラット)	6.30	テストステロン (ヒト)	1.15
グルタミン酸 (カイニン酸, ラット)	8.07	バソプレシン V1 (ラット)	13.49
グルタミン酸 (NMDA アゴニスト部位, ラット)	8.86	バソプレシン V1B (ヒト)	4.37
グルタミン酸 (NMDA グリシン部位, ラット)	1.01	バソプレシン V2 (ヒト)	15.50
グルタミン酸 (NMDA フェンシクリジン部位, ラット)	7.03	VIP (ヒト)	12.58

AMPA = α -アミノ-3-ヒドロキシ-5-メチルイソキサゾール-4-プロピオン酸 ; BZ = ベンゾジアゼピン ; CCK = コレシストキニン ; CRF1 = 副腎皮質刺激ホルモン放出因子受容体 1 ; GABA = γ アミノ酪酸 ; 5HT = 5-ヒドロキシトリプタミン ; NMDA = N-メチル-D-アスパラギン酸 ; ORL1 = オピオイド受容体様 1 ; PAF = 血小板活性化因子 ; VIP = 血管作動性腸管ペプチド

各値は 1 回の実験の値を示す。

<資料番号 4.2.1.2-01 : Table 1, Table 2, Table 3 より作成>

2.6.2.3.2 皮膚萎縮作用に関する試験

(概要表 2.6.3.3, 報告書番号 027905)

ジファミラストの皮膚萎縮作用について、マウスを用いて検討した。溶媒（アセトン及びメタノールの 1:1 混合物）に溶解したジファミラスト（1%及び 3%）及びベタメタゾン吉草酸エステル 0.1%をマウスの右耳介に 1 週間、連日局所塗布した。耳介厚を連日測定し、反復塗布後に組織学的評価（HE 染色）を行った。

ジファミラスト 1%及び 3%群では耳介厚に変化は認められなかった。一方、ベタメタゾン吉草酸エステル 0.1%群では 7 日間の投与期間中に耳介厚が次第に減少し、溶媒対照群と比較して、その減少は統計学的に有意であった（図 2.6.2-16）。溶媒対照群とジファミラスト（1%及び 3%）群では、無処置正常対照群と比較して、顕著な組織学的変化はみられなかった。ベタメタゾン吉草酸エステル 0.1%群では、顕著な表皮菲薄化と軽微な真皮菲薄化が認められた（図 2.6.2-17）。

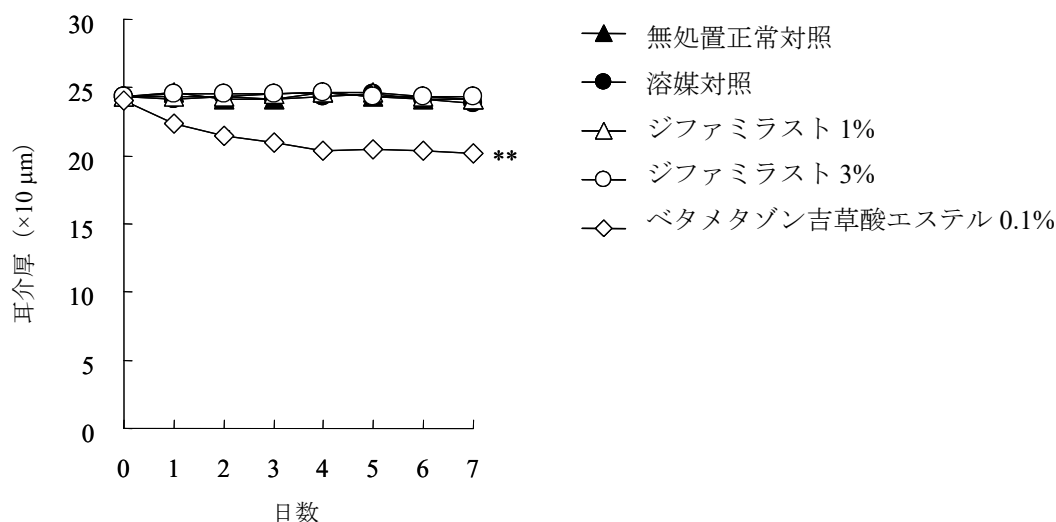


図 2.6.2-16 マウスの耳介厚に及ぼすジファミラスト及びベタメタゾン吉草酸エステルの影響

各値は平均値 ± 標準誤差を示す (N=6)。

** : $p < 0.01$ 。ジファミラスト（1%, 3%）及びベタメタゾン吉草酸エステル 0.1%と溶媒対照との検定結果（経時測定データに対する混合モデルを用いた両側 Dunnett 検定）。

有意差なし：無処置正常対照と溶媒対照の検定結果（経時測定データに対する混合モデルを用いた検定）。

<資料番号 4.2.1.2-02 : Figure 7-1 より作成>

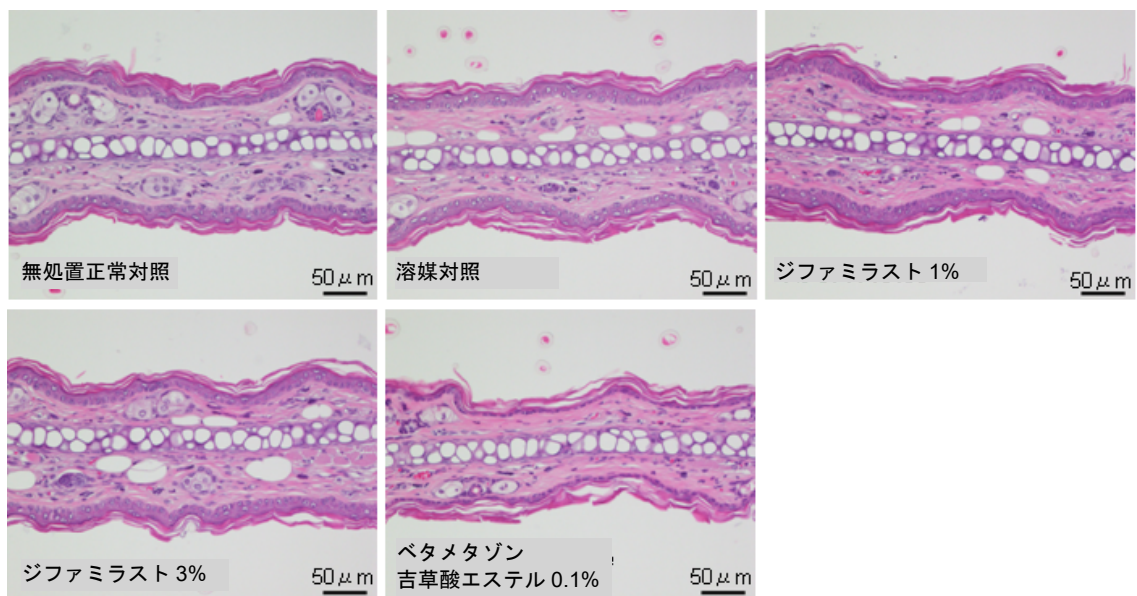


図 2.6.2-17 ジファミラスト及びベタメタゾン吉草酸エステル反復塗布後の耳介の組織

HE 染色。各群の典型的な組織像を提示した。

<資料番号 4.2.1.2-02 : Figure 7-2 より作成>

2.6.2.4 安全性薬理試験

ジファミラストの安全性薬理試験として、被験物質の溶液性検討試験を除く全ての試験を GLP 試験として実施した。試験項目として、ラットの中枢神経系と覚醒下のイヌの呼吸系及び心血管系に及ぼす影響を検討した。また、QT 延長リスクを評価した *in vitro* 試験では、hERG チャネル電流及びモルモット摘出乳頭筋の活動電位に及ぼす影響を検討した。なお、臨床適用経路は経皮であるが、全身曝露評価のために *in vivo* 試験においては皮下投与を投与経路として選択した。

2.6.2.4.1 ラットを用いた中枢神経系に及ぼす影響

(概要表 2.6.3.4, 報告書番号 022852)

ジファミラストを 0 (溶媒対照：コーン油)，30，100 及び 200 mg/kg の用量で、雄ラット各群 6 匹に単回皮下投与 (投与容量：2 mL/kg) し、投与前並びに投与 0.5，1，2，4，6，8 及び 24 時間後の中枢神経系 (一般症状及び行動) に対する影響を Irwin 変法にて検討した。30 mg/kg では、ラットの一般症状及び行動に影響は認められなかったが、100 及び 200 mg/kg で軟便、200 mg/kg で流涎がみられた。

2.6.2.4.2 覚醒下のイヌにおける呼吸系及び心血管系

(概要表 2.6.3.4, 報告書番号 023319)

ジファミラストを 0 (溶媒対照：コーン油)，3，10 及び 30 mg/kg の用量で、覚醒下の雄ビーグル犬 4 頭に単回皮下投与 (投与容量：1 mL/kg，1 週間間隔で用量漸増) し、呼吸系及び心血管系に対する影響を検討した。投与前並びに投与 0.5，1，2，4 及び 5 時間後の呼吸数，血液ガス，血圧，心拍数及び各心電図パラメータについて評価した。いずれの用量においても、呼吸系及び心血管系に影響は認められなかった。

なお、一般症状観察において、30 mg/kg 群の 1 例で嘔吐がみられた。

2.6.2.4.3 hERG チャネル電流に及ぼす影響

(概要表 2.6.3.4, 報告書番号 022275)

生理溶液への溶液性検討試験 (報告書番号 022173) の成績を参考に、ジファミラストを 0 (溶媒対照：0.1% DMSO)，0.1，1 及び 10 $\mu\text{mol/L}$ の濃度で、hERG チャネルを安定発現するチャイニーズハムスター卵巣細胞に適用し、hERG チャネル電流に及ぼす影響を検討した。ジファミラストは 0.1 $\mu\text{mol/L}$ では影響を及ぼさなかったが、1 及び 10 $\mu\text{mol/L}$ では hERG チャネル電流をそれぞれ 23% 及び 78% 抑制し、その IC_{50} 値は 2.54 $\mu\text{mol/L}$ であった。

2.6.2.4.4 モルモット摘出乳頭筋の活動電位に及ぼす影響

(概要表 2.6.3.4, 報告書番号 025857)

ジファミラストを 0 (溶媒対照：0.2% DMSO)，0.2，1 及び 5 $\mu\text{mol/L}$ の濃度で、モルモット摘出乳頭筋に適用し、活動電位に及ぼす影響を検討した。ジファミラストは 0.2 $\mu\text{mol/L}$ で活動電位パラメータに影響を及ぼさなかったが、1 及び 5 $\mu\text{mol/L}$ では、30%，60% 及び 90% 再分極時の活動電位持続時間 (それぞれ APD_{30} ， APD_{60} 及び APD_{90}) を統計学的に有意に短縮した。それらの短縮率は適用前値に対して 1 $\mu\text{mol/L}$ では 95.5%～97.6%，5 $\mu\text{mol/L}$ では 89.4%～93.5% であった。

2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験

ジファミラストの薬理学的相互作用試験は実施していない。

2.6.2.6 考察及び結論

2.6.2.6.1 効力を裏付ける試験の考察及び結論

ヒトリコンビナント PDE を用いた試験において、ジファミラストは PDE4、特に PDE4B に対して選択的な阻害作用を示すことが明らかとなった。また U937 細胞を用いた検討では、ジファミラストは PGE1 刺激による細胞内 cAMP 濃度の増加を増強させた。cAMP は外部からの刺激により細胞内で産生されるセカンドメッセンジャーの 1 つであり、protein kinase A (PKA) を活性化する。活性化した PKA は種々の転写因子の働きを抑制し、炎症に関連するサイトカインやケモカインの産生を調節する。PDE4 はこの cAMP を特異的に分解する酵素であり、多くの免疫細胞に存在することから細胞の免疫応答を調節する役割を持つ⁵。また細胞の炎症応答においては 4 つの PDE4 アイソフォーム (PDE4A, PDE4B, PDE4C 及び PDE4D) のうち、PDE4B が最も重要な働きを持つことが報告されている⁶。我々の検討においても、ジファミラストは PBMC からの LPS 刺激による TNF- α などの産生及び抗 CD3 抗体と抗 CD28 抗体の共刺激による IFN- γ 及び IL-4 などの産生を抑制した。このジファミラストの抗炎症効果について、ヒト及びマウス PBMC を用いて LPS 刺激による TNF- α 産生の抑制を指標に他の PDE4 阻害剤と比較したところ、ジファミラストは atizoram, cipamfylline 及び crisaborole に比べて強い作用を示した。

マウスの耳介にハプテンを反復塗布することにより免疫応答の Th1 型から Th2 型への偏移が起り、T 細胞、好酸球及び好中球などの炎症性細胞の浸潤に基づく慢性的な耳介肥厚といった慢性アレルギー性皮膚炎症状を示すようになる。このマウス慢性接触過敏症モデルを用いて、外用によるジファミラストの効果を検討した。その結果ジファミラスト軟膏は 4 週間の反復塗布により 0.03% から 3% 濃度において用量依存的な耳介肥厚改善効果を示した。このジファミラスト軟膏 3% の効果はリンデロン®-V 軟膏 0.12% よりも劣っていたが、プロトピック®軟膏 0.1% よりも優れていた。本モデルにおけるジファミラストの皮膚炎改善のメカニズムを検討したところ、4 週間の反復塗布により 1% 及び 3% 濃度で病変部への CD3 陽性細胞と好中球を、3% 濃度で好酸球の浸潤の有意な抑制が認められた。また病変部の MIP-1 α 及び MIP-2 含量の有意な低減が認められた。これらの結果から本モデルにおけるジファミラストの皮膚炎改善は炎症性細胞浸潤の抑制やケモカインの産生抑制といった炎症反応の抑制に起因すると考えられる。

マウス慢性接触過敏症モデルを用いてジファミラストの外用による皮膚炎改善効果について耳介肥厚を指標に他の PDE4 阻害剤と比較検討した。比較薬としては過去にアトピー性皮膚炎患者を対象とした治験において外用により有意な皮膚症状改善作用を示した atizoram⁷ 及び cipamfylline⁸、米国にてアトピー性皮膚炎の外用治療薬として販売されている crisaborole (商品名: Eucrisa®)⁹ を用いた。その結果、ジファミラスト 1% は cipamfylline 1% 及び crisaborole (1% 及び 2%) と比較して有意に強い耳介肥厚抑制効果を示した。

マウスの引っ掻きによる慢性皮膚炎モデルを用いてジファミラストの皮膚炎改善作用について検討した。本モデルは、マウス耳介へのハプテン反復塗布による慢性皮膚炎に加えて心理的ストレス (個別で飼育) を負荷することより、高頻度で自発的、持続的な搔破行動が発現し、この搔破により慢性的な皮膚炎を呈することを特徴としている。ジファミラスト (1% 及び 3%) は 6 週間の局所塗布により、臨床的皮膚スコア (引っ掻きによる病変部皮膚の重症度) を有意に改善し

た。このジファミラストの皮膚症状改善効果はタクロリムス 0.1%に勝ることが示唆された。ベタメタゾン吉草酸エステル 0.1%では皮膚症状が有意に増悪した。いずれの化合物においても搔破回数の抑制作用は認められなかったこと及び病変部の MIP-1 α 及び MIP-2 含量が臨床的皮膚スコアに対する影響と同様の結果（いずれのサイトカインにおいてもジファミラスト 1%及び 3%では有意な抑制、タクロリムス 0.1%では影響なし及びベタメタゾン吉草酸エステル 0.1%では有意な増加）であったことから、本モデルにおけるジファミラストの皮膚症状改善効果は抗炎症作用に基づくものと推察される。また本モデルにおいてベタメタゾン吉草酸エステル 0.1%で皮膚症状の増悪が認められた原因として、ベタメタゾン吉草酸エステル 0.1%の連投により皮膚の脆弱化（皮膚萎縮）が引き起こされ、これに引っ掻きが加わることで皮膚の障害が大きくなったことが可能性の一つとして考えられる。

マウス皮膚接触過敏症に対し、ジファミラスト軟膏 3%はプロトピック[®]軟膏 0.1%及びリンデロン[®]-V 軟膏 0.12%と同様に外用により耳介の浮腫と耳介組織中の IFN- γ 含有量を有意に低減させた。本モデルは IV 型アレルギー反応に起因することから、ジファミラストは急性アレルギー性皮膚炎に対しても有効性を示すと考えられる。

以上、PDE4B 選択的阻害作用を示すジファミラストは *in vitro* において PBMC の炎症応答を抑制すると同時に、*in vivo* において外用によりマウスの急性及び慢性アレルギー性皮膚炎及び引っ掻きによる慢性皮膚炎を改善することから、アトピー性皮膚炎等の慢性炎症性皮膚疾患に対して治療効果を示す可能性が示唆された。

2.6.2.6.2 副次的薬理試験の考察及び結論

90 種類の受容体、イオンチャンネル及びトランスポーターに対するジファミラストの作用を検討した結果、ジファミラストが 10 μ mol/L の濃度でリガンドの結合に対して 80%を超える阻害を示したのは、アデノシントランスポーター（ヒト）及びモノアミントランスポーター（ウサギ）であった。

ジファミラストはマウス耳介への 1 週間の反復塗布（ベタメタゾン吉草酸エステル 0.1%が皮膚萎縮作用を示す条件）で皮膚萎縮作用を示さなかった。

2.6.2.6.3 安全性薬理試験の考察及び結論

中枢神経系に及ぼす影響については、ラットに単回皮下投与し、一般症状や行動を観察することで評価した。30 mg/kg では影響は認められなかったが、100 mg/kg 以上で軟便、最高用量の 200 mg/kg で流涎がみられた。100 mg/kg 投与時の雄ラットにおけるジファミラストの最高血漿中濃度（C_{max}）は 4420 ng/mL（4 週間反復皮下投与毒性試験の投与初日データ、2.6.7.8.4 項参照）であり、最大使用条件で実施した臨床用量（CD_{max}）での定常状態の C_{max}（Day15 平均値=16.9 ng/mL, 37.9 nmol/L、資料番号 5.3.3.2-01）の 262 倍であった。

呼吸及び心血管系に及ぼす影響については、覚醒下のイヌに皮下投与し検討した。最高用量の 30 mg/kg まで、呼吸器及び心血管系に影響を及ぼさなかった。30 mg/kg 投与時のイヌにおける未変化体の C_{max} は 1409 ng/mL（4 週間反復皮下投与毒性試験の投与初日データ、2.6.7.8.6 項参照）であり、CD_{max} での定常状態の C_{max}（Day15 平均値=16.9 ng/mL）の 83 倍であった。

QT 延長リスク評価として、hERG チャンネル発現細胞を用いた *in vitro* 試験を実施した。ジファ

ミラストは hERG チャンネル電流に対する抑制作用を示し、その IC₅₀ 値は 2.54 µmol/L であった。そのフォローアップ試験として、モルモット摘出乳頭筋における活動電位に及ぼす影響を検討したところ、0.2 µmol/L では活動電位パラメータに影響はみられず、1 及び 5 µmol/L では APD₃₀, APD₆₀ 及び APD₉₀ の短縮がみられたものの、延長はみられなかった。

以上の安全性薬理試験成績から、ジファミラストは通常の治療効果が期待される曝露量の範囲において、重大な安全性の問題は誘発しないものと推察された。

2.6.2.7 図表

本文中に記載した。

2.6.2.8 参考文献

- 1 Kitagaki H, Fujisawa S, Watanabe K, Hayakawa K, Shiohara T. Immediate-type hypersensitivity response followed by a late reaction is induced by repeated epicutaneous application of contact sensitizing agents in mice. *J Invest Dermatol* 1995;105:749-55.
- 2 Kitagaki H, Ono N, Hayakawa K, Kitazawa T, Watanabe K, Shiohara T. Repeated elicitation of contact hypersensitivity induces a shift in cutaneous cytokine milieu from a T helper cell type 1 to a T helper cell type 2 profile. *J Immunol* 1997;159:2484-91.
- 3 Kitagaki H, Kimishima M, Teraki Y, Hayakawa J, Hayakawa K, Fujisawa S, et al. Distinct in vivo and in vitro cytokine profiles of draining lymph node cells in acute and chronic phases of contact hypersensitivity: importance of a type 2 cytokine-rich cutaneous milieu for the development of an early-type response in the chronic phase. *J Immunol* 1999;163:1265-73.
- 4 Kitagaki H, Hiyama H, Kitazawa T, Shiohara T. Psychological stress with long-standing allergic dermatitis causes psychodermatological conditions in mice. *J Invest Dermatol* 2014;134:1561-9.
- 5 Ahluwalia J, Udkoff J, Waldman A, Borok J, Eichenfield LF. Phosphodiesterase 4 inhibitor therapies for atopic dermatitis: Progress and outlook. *Drugs* 2017;77:1389-97.
- 6 Jin SL, Conti M. Induction of the cyclic nucleotide phosphodiesterase PDE4B is essential for LPS-activated TNF- α responses. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99:7628-33.
- 7 Hanifin JM, Chan SC, Cheng JB, Tofte SJ, Henderson WR Jr, Kirby DS, et al. Type 4 phosphodiesterase inhibitors have clinical and in vitro anti-inflammatory effects in atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* 1996;107:51-6.
- 8 Griffiths CEM, Van Leent EJM, Gilbert M, Traulsen J. Randomized comparison of the type 4 phosphodiesterase inhibitor cipamfylline cream, cream vehicle and hydrocortisone 17-butyrate cream for the treatment of atopic dermatitis. *Br J Dermatol* 2002;147:299-307.
- 9 Paller AS, Tom WL, Lebwohl MG, Blumenthal RL, Boguniewicz M, Call RS, et al. Efficacy and safety of crisaborole ointment, a novel, nonsteroidal phosphodiesterase 4 (PDE4) inhibitor for the topical treatment of atopic dermatitis (AD) in children and adults. *J Am Acad Dermatol* 2016;75:494-503.

モイゼルト軟膏 0.3%
モイゼルト軟膏 1%

第 2 部（モジュール 2）：CTD の概要（サマリー）

2.6.3 薬理試験概要表

大塚製薬株式会社

目次

目次	2
2.6.3.1 薬理試験：一覧表	3
2.6.3.2 効力を裏付ける試験	5
2.6.3.3 副次的薬理試験	11
2.6.3.4 安全性薬理試験	12
2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験	14

2.6.3.1 薬理試験：一覧表

2.6.3.1 薬理試験

一覧表 (1)

被験物質：ジファミラスト (JAN)

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	報告書番号	CTD の記載箇所 (資料番号)
(1) ジファミラストの効力を裏付ける試験					
①PDE4B 選択的阻害作用 (ヒトリコンビナント酵素)					
PDE4 アイソフォーム	PDE4B	<i>in vitro</i>	大塚製薬(株)	024268	4.2.1.1-01
	PDE4A, 4C 及び 4D	<i>in vitro</i>	大塚製薬(株)	024459	4.2.1.1-02
PDE アイソザイム (PDE1~11)	PDE1A, 6AB, 7B, 8A 及び 9A	<i>in vitro</i>	■■■■■ ■■■	024705	4.2.1.1-03
	PDE2A, 5A, 10A 及び 11A	<i>in vitro</i>	■■■■■ ■■■	025551	4.2.1.1-04
	PDE3A	<i>in vitro</i>	大塚製薬(株)	024265	4.2.1.1-05
②細胞内 cAMP 増加作用					
細胞内 cAMP 濃度に対する影響	U937 細胞 プロスタグランジン E1 刺激	<i>in vitro</i>	大塚製薬(株)	024836	4.2.1.1-06
③サイトカイン産生に及ぼす作用					
ヒト PBMC からの各種サイトカイン産生 に及ぼす影響	ヒト PBMC LPS 刺激	<i>in vitro</i>	大塚製薬(株)	034950	4.2.1.1-07
	ヒト PBMC 抗 CD3 抗体と抗 CD28 抗体の共刺激	<i>in vitro</i>	大塚製薬(株)	029554	4.2.1.1-08
		<i>in vitro</i>	大塚製薬(株)	034978	4.2.1.1-09
他の PDE4 阻害剤との効力比較	マウス PBMC LPS 刺激	<i>in vitro</i>	大塚製薬(株)	033390	4.2.1.1-10
	ヒト PBMC LPS 刺激	無血清条件 <i>in vitro</i>	大塚製薬(株)	033391	4.2.1.1-11
		血清含有条件 <i>in vitro</i>	大塚製薬(株)	025260	4.2.1.1-12

cAMP = サイクリックアデノシン 3', 5'-リン酸, LPS = リポポリサッカライド, PBMC = 末梢血単核球, PDE = ホスホジエステラーゼ

(続く)

2.6.3 薬理試験概要表

2.6.3.1

薬理試験

一覧表 (2)

被験物質：ジファミラスト（JAN）

(続き)

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	報告書番号	CTD の記載箇所 (資料番号)
④マウス慢性接触過敏症モデルにおける皮膚炎改善作用					
効果用量範囲の探索とアトピー性皮膚炎治療薬との有効性比較	マウス 慢性接触過敏症モデル	外用	大塚製薬(株)	025570	4.2.1.1-13
病変部皮膚の各種サイトカイン含有量に及ぼす影響	マウス 慢性接触過敏症モデル	外用	大塚製薬(株)	025725	4.2.1.1-14
病変部皮膚の炎症性細胞の浸潤と血清 IgE 濃度に及ぼす影響	マウス 慢性接触過敏症モデル	外用	大塚製薬(株)	029605	4.2.1.1-15
他の PDE4 阻害剤との有効性の比較	マウス 慢性接触過敏症モデル	外用	大塚製薬(株)	034010	4.2.1.1-16
⑤マウスの引っ掻きによる慢性皮膚炎モデルにおける皮膚炎改善作用					
引っ掻きによる慢性皮膚炎に対する作用	マウス 引っ掻きによる慢性皮膚炎モデル	外用	大塚製薬(株)	028752	4.2.1.1-17
⑥マウス接触過敏症モデルにおける皮膚炎改善作用					
接触過敏症に対する作用	マウス 接触過敏症モデル	外用	大塚製薬(株)	029335	4.2.1.1-18
(2) ジファミラストの副次的薬理試験					
各種受容体に対する作用	90 種類の受容体, イオンチャンネル及びトランスポーター	<i>in vitro</i>	■■■■■ ■■■■■	024898	4.2.1.2-01
皮膚萎縮作用に関する試験	マウス 正常皮膚	外用	大塚製薬(株)	027905	4.2.1.2-02

IgE = 免疫グロブリン E

2.6.3 薬理試験概要表

2.6.3.2 効力を裏付ける試験

2.6.3.2 効力を裏付ける試験（1）

被験物質：ジファミラスト（JAN）

試験の種類	試験系	投与方法	投与濃度	性別及び動物数／群	特記すべき所見	報告書番号	資料番号
①PDE4B 選択的阻害作用（リコンビナントヒト酵素）							
PDE4 アイソフォーム	PDE4B	<i>in vitro</i>	0.01 nmol/L～ 10 μmol/L	5	ジファミラストの IC ₅₀ 値（μmol/L） PDE4B：0.0112（0.0099～0.0127）	024268	4.2.1.1-01
	PDE4A, 4C 及び 4D	<i>in vitro</i>	0.01 nmol/L～ 10 μmol/L	5	ジファミラストの IC ₅₀ 値（μmol/L） PDE4A：0.0832（0.0609～0.1138） PDE4C：0.2493（0.2026～0.3068） PDE4D：0.0738（0.0639～0.0853）	024459	4.2.1.1-02
PDE アイソザイム（PDE1～11）	PDE1A, 6AB, 7B, 8A 及び 9A	<i>in vitro</i>	10 μmol/L	1	ジファミラストの IC ₅₀ 値（μmol/L） PDE1A：> 10 PDE6AB：> 10 PDE7B：> 10 PDE8A：> 10 PDE9A：> 10	024705	4.2.1.1-03
	PDE2A, 5A, 10A 及び 11A	<i>in vitro</i>	1 nmol/L～ 10 μmol/L	3	ジファミラストの IC ₅₀ 値（μmol/L） PDE2A：> 10 PDE5A：4.7930（2.5067～8.5826） PDE10A：1.4346（1.1591～1.8124） PDE11A：> 10	025551	4.2.1.1-04
	PDE3A	<i>in vitro</i>	1 nmol/L～ 100 μmol/L	4	ジファミラストの IC ₅₀ 値（μmol/L） PDE3A：40.3（32.7～50.4）	024265	4.2.1.1-05
②細胞内 cAMP 増加作用							
細胞内 cAMP 濃度に対する影響	U937 細胞 PGE1 刺激	<i>in vitro</i>	1 nmol/L～ 10 μmol/L	6	ジファミラストは 0.01 μmol/L 以上の濃度で細胞内 cAMP 濃度を有意に増加させた。	024836	4.2.1.1-06

IC₅₀ = 50%阻害濃度，PGE1 = プロスタグランジン E1

（ ）内の値：IC₅₀ 値の 95%信頼区間（μmol/L）

（続く）

2.6.3 薬理試験概要表

2.6.3.2

効力を裏付ける試験 (2)

被験物質：ジファミラスト (JAN)

(続き)

試験の種類	試験系	投与方法	投与濃度	性別及び 動物数／群	特記すべき所見	報告書番号	資料番号
③サイトカイン産生に及ぼす作用							
ヒト PBMC からの各種サイトカイン産生に及ぼす影響	LPS 刺激	<i>in vitro</i>	0.1 nmol/L～ 10 μmol/L	4	ジファミラスト作用：IC ₂₅ 値, IC ₅₀ 値又は EC ₂₀₀ 値 (μmol/L) TNF-α (IC ₅₀) : 0.520 (0.335～0.705) GM-CSF (IC ₅₀) : 7.779 (3.845～11.712) MIP-1α (IC ₂₅) : 2.187 (0～9.327) MIP-1β (IC ₅₀) : 9.151 (2.176～16.125) IL-6 (EC ₂₀₀) : 5.807 (3.363～8.251) IL-10 (EC ₂₀₀) : 0.176 (0.032～0.433)	034950	4.2.1.1-07
	抗 CD3 抗体 と抗 CD28 抗体の共刺激	<i>in vitro</i>	3 nmol/L～ 3 μmol/L	6	ジファミラストの IC ₅₀ 値 (μmol/L) IFN-γ : 0.068 (0.043～0.109) IL-4 : 0.214 (0.180～0.255)	029554	4.2.1.1-08
				3	ジファミラストの IC ₅₀ 値 (μmol/L) IL-2 : 0.354 (0.027～0.682) IL-5 : 0.163 (0.058～0.267) IL-10 : 0.576 (0.309～0.842) IL-13 : 0.537 (0.166～0.908) IL-22 : 0.476 (0～0.990) GM-CSF : 1.182 (0～2.857) RANTES : 0.424 (0.273～0.576) TNF-α : 0.659 (0～1.415)	034978	4.2.1.1-09

EC₂₀₀ = 対照の 200%に等しい反応を示す有効濃度, IC₂₅ = 25%阻害濃度, GM-CSF = 顆粒球マクロファージコロニー刺激因子, IFN-γ = インターフェロン γ, IL- = インターロイキン, MIP-1α = マクロファージ炎症性蛋白質 1α, MIP-1β = マクロファージ炎症性蛋白質 1β, RANTES = regulated on activation, normal T cell expressed and secreted, TNF-α = 腫瘍壊死因子 α

() 内の値 : IC₂₅ 値, IC₅₀ 値又は EC₂₀₀ 値の 95%信頼区間 (μmol/L)

(続く)

2.6.3 薬理試験概要表

2.6.3.2

効力を裏付ける試験 (3)

被験物質：ジファミラスト (JAN)

(続き)

試験の種類	試験系	投与方法	投与濃度	性別及び 動物数/群	特記すべき所見	報告書番号	資料番号
他の PDE4 阻害剤との効力比較	マウス PBMC LPS 刺激	<i>in vitro</i>	0.01 nmol/L～ 1 μmol/L	3	各化合物の TNF-α 産生抑制作用 (IC ₅₀ 値, μmol/L) ジファミラスト : 0.0035 (0.0024～0.0053) Atizoram : 0.0215 (0.0154～0.0302) Cipamfylline : 0.0856 (0.0576～0.1254) Crisaborole : 0.2477 (0.1581～0.3871) ロリプラム : 0.0133 (0.0099～0.0180)	033390	4.2.1.1-10
	ヒト PBMC LPS 刺激, 無 血清条件	<i>in vitro</i>	0.1 nmol/L～ 10 μmol/L	3	各化合物の TNF-α 産生抑制作用 (IC ₅₀ 値, μmol/L) [無血清条件] ジファミラスト : 0.0109 (0.0080～0.0148) Atizoram : 0.0977 (0.0759～0.1267) Cipamfylline : 0.9692 (0.7254～1.2882) Crisaborole : 0.1811 (0.1457～0.2249) ロリプラム : 0.1090 (0.0782～0.1524)	033391	4.2.1.1-11
	ヒト PBMC LPS 刺激, 血 清含有条件	<i>in vitro</i>	0.1 nmol/L～ 10 μmol/L	5	各化合物の TNF-α 産生抑制作用 (IC ₅₀ 値, μmol/L) [血清含有条件] ジファミラスト : 0.279 (0.211～0.372) ロリプラム : 0.183 (0.127～0.264)	025260	4.2.1.1-12

() 内の値 : IC₅₀ 値の 95%信頼区間 (μmol/L)

(続く)

2.6.3 薬理試験概要表

2.6.3.2

効力を裏付ける試験（4）

被験物質：ジファミラスト（JAN）

（続き）

試験の種類	試験系	投与方法	投与濃度	性別及び 動物数／群	特記すべき所見	報告書番号	資料番号
④マウス慢性接触過敏症モデルにおける皮膚炎改善作用							
効果用量範囲の探索とアトピー性皮膚炎治療薬との有効性比較	マウス慢性接触過敏症モデル	外用	4週間 ジファミラスト軟膏： 0.03%， 0.1%，0.3%， 1%及び3% プロトピック®軟膏：0.1% リンデロン®-V軟膏： 0.12%	雄 8又は14	ジファミラスト軟膏の有効性は0.03%～3%で用量依存性があり，基剤対照と比較して統計学的に有意であった。 ジファミラスト軟膏3%の有効性はリンデロン®-V軟膏0.12%よりも劣っていたが，プロトピック®軟膏0.1%よりも優れていた。	025570	4.2.1.1-11
病変部皮膚の各種サイトカイン含有量に及ぼす影響	マウス慢性接触過敏症モデル	外用	4週間 ジファミラスト軟膏： 0.03%， 0.1%，0.3%， 1%及び3%	雄 6～8	ジファミラスト軟膏は，基剤対照と比較して病変部皮膚のMIP-1 α （最終抗原誘発前は0.1%以上，最終抗原誘発6時間後は0.3%以上の濃度）及びMIP-2（0.1%以上の濃度）の含有量を有意に低減させた。 ジファミラスト軟膏はIL-4含有量に影響を及ぼさなかった。 この動物モデルでは，IFN- γ 及びTNF- α の含有量は増加しなかった。	025725	4.2.1.1-12

MIP-2 = マクロファージ炎症性蛋白質2

（続く）

2.6.3 薬理試験概要表

2.6.3.2

効力を裏付ける試験 (5)

被験物質：ジファミラスト (JAN)

(続き)

試験の種類	試験系	投与方法	投与濃度	性別及び 動物数／群	特記すべき所見	報告書番号	資料番号
病変部皮膚の炎症性細胞の浸潤と血清 IgE 濃度に及ぼす影響	マウス 慢性接触過敏症モデル	外用	4 週間 ジファミラスト軟膏：1% 及び 3% プロトピック®軟膏：0.1% リンデロン®-V 軟膏：0.12%	雄 6 又は 12	ジファミラスト軟膏 3%及びリンデロン®-V 軟膏 0.12%は、病変部皮膚において CD3 陽性細胞、好酸球、好中球などの炎症性細胞の浸潤を有意に抑制した。ジファミラスト軟膏 1%は CD3 陽性細胞及び好中球の浸潤を有意に抑制した。ジファミラスト軟膏 (1%及び 3%) は総 IgE 濃度及び抗原特異的 IgE 濃度の双方を有意に単調減少させた。	029605	4.2.1.1-13
他の PDE4 阻害剤との有効性の比較	マウス 慢性接触過敏症モデル	外用	2 週間 ジファミラスト：0.03%, 0.3%, 1%及び 3% Atizoram：1% Cipamfylline：1% Crisaborole：1%及び 2%	雄 10	ジファミラストの有効性は 0.03%～3%で用量依存性があり、溶媒と比較して統計学的に有意であった。ジファミラスト 1%の有効性は cipamfylline 1%及び、crisaborole 1%及び 2%よりも有意に高かった。	034010	4.2.1.1-14

(続く)

2.6.3 薬理試験概要表

2.6.3.2

効力を裏付ける試験 (6)

被験物質：ジファミラスト (JAN)

(続き)

試験の種類	試験系	投与方法	投与濃度	性別及び 動物数/群	特記すべき所見	報告書番号	資料番号
⑤マウスの引っ掻きによる慢性皮膚炎モデルにおける皮膚炎改善作用							
引っ掻きによる慢性皮膚炎に対する作用	マウス 引っ掻きによる慢性皮膚炎モデル	外用	6週間 ジファミラスト：1%及び3% タクロリムス：0.1% ベタメタゾン吉草酸エステル：0.1%	雄 8又は9	ジファミラスト (1%及び3%) とタクロリムス 0.1%は臨床的皮膚スコアを有意に改善した。ジファミラスト (1%及び3%) の臨床的皮膚スコアはタクロリムス 0.1%よりも低値であった。ベタメタゾン吉草酸エステル 0.1%は臨床的皮膚スコアを有意に増悪させた。 溶媒対照と比較して、ジファミラスト (1%及び3%) は病変部皮膚の MIP-1 α 及び MIP-2 の含有量を有意に低減させたが、ベタメタゾン吉草酸エステル 0.1%は有意に増加させた。タクロリムス 0.1% は MIP-1 α 及び MIP-2 の含有量に影響を及ぼさなかった。	028752	4.2.1.1-15
⑥マウス接触過敏症モデルにおける皮膚炎改善作用							
接触過敏症に対する作用	マウス 接触過敏症モデル	外用	単回 ジファミラスト軟膏：3% プロトピック [®] 軟膏：0.1% リンデロン [®] -V 軟膏：0.12%	雄 10	ジファミラスト軟膏 3%、プロトピック [®] 軟膏 0.1% 及びリンデロン [®] -V 軟膏 0.12%は病変部皮膚の浮腫及び IFN- γ 含有量を有意に低減させた。	029335	4.2.1.1-16

2.6.3.3 副次的薬理試験

2.6.3.3

副次的薬理試験

被験物質：ジファミラスト（JAN）

試験の種類	試験系	投与方法	投与濃度	性別及び 動物数／群	特記すべき所見	報告書番号	資料番号
各種受容体に対する作用	90 種類の受容体，イオンチャンネル及びトランスポーター	<i>in vitro</i>	10 µmol/L	1	ジファミラストはアデノシントランスポーター及びモノアミントランスポーターの各リガンド結合に対して 80%を超える阻害を示した。	024898	4.2.1.2-01
皮膚萎縮作用に関する試験	マウス 正常皮膚	外用	1 週間 ジファミラスト：1%及び 3% ベタメタゾン 吉草酸エステル：0.1%	雄 6	ベタメタゾン吉草酸エステル 0.1%は皮膚萎縮に関連する耳介厚の減少と顕著な表皮菲薄化を示したが，ジファミラスト（1%及び 3%）は皮膚萎縮作用を示さなかった。	027905	4.2.1.2-02

2.6.3 薬理試験概要表

2.6.3.4 安全性薬理試験

2.6.3.4 安全性薬理試験 (1)

被験物質：ジファミラスト (JAN)

評価対象 となる組織 (評価項目)	動物種/系統	投与方法	投与 (適用) 量	性別及び 動物 (細 胞) 数/群	特記すべき所見	GLP 適用	報告書 番号	資料番号 (資料番 号)
中枢神経系 (一般症状及び 行動)	ラット/SD	皮下 単回	0 (媒体：コ ーン油) , 30, 100, 200 mg/kg 投与容量：2 mL/kg	雄 6	30 mg/kg では、一般症状及び行動に影響は認められなかったが、100 及び 200 mg/kg で軟便、200 mg/kg で流涎がみられた。	適	022852	4.2.1.3-01
呼吸系及び心 血管系 (呼吸数、血液 ガス、血圧、心 拍数、心電図)	ビーグル犬 覚醒	皮下 単回 1 週間間 隔で用量 漸増	0 (媒体：コ ーン油) , 3, 10, 30 mg/kg 投与容量：1 mL/kg	雄 4	30 mg/kg までの用量で、呼吸数、血液ガス、血圧、心拍数及び各心電図パラメータに影響を及ぼさなかった。 一般状態観察で、30 mg/kg 群 1 例で嘔吐がみられた。	適	023319	4.2.1.3-02
心血管系 (急速活性化遅 延整流カリウム 電流)	hERG チャネ ル発現 CHO-K1 細胞	<i>in vitro</i> 灌流	媒体対照 0, 0.1, 1, 10 $\mu\text{mol/L}$ ^a E-4031: 1 $\mu\text{mol/L}$	5 細胞/濃 度 3 細胞/濃 度 (E- 4031)	0.1 $\mu\text{mol/L}$ では有意な影響は認められなかったが、1 及び 10 $\mu\text{mol/L}$ で hERG 電流をそれぞれ 23% 及び 78% 抑制した。IC ₅₀ 値は 2.54 $\mu\text{mol/L}$ であった。 陽性対照薬である E-4031 は 1 $\mu\text{mol/L}$ で、hERG 電流を有意に阻害した。	適	022275	4.2.1.3-03

(続く)

2.6.3 薬理試験概要表

2.6.3.4

安全性薬理試験 (2)

被験物質：ジファミラスト (JAN)

(続き)

評価対象 となる組織 (評価項目)	動物種/系統	投与方法	投与 (適用) 量	性別及び 動物 (細胞) 数/群	特記すべき所見	GLP 適用	報告書 番号	資料番号 (資料番号)
心血管系 (摘出右心室乳 頭筋活動電位)	モルモット /Hartley	<i>in vitro</i> 灌流	媒体対照 0, 0.2, 1, 5 $\mu\text{mol/L}$ ^b ソタロール は 30 $\mu\text{mol/L}$	5 試料/濃 度	0.2 $\mu\text{mol/L}$ で活動電位パラメータに影響を及 ぼさなかったが, 1 及び 5 $\mu\text{mol/L}$ では, APD ₃₀ , APD ₆₀ 及び APD ₉₀ を短縮した。短縮 率は以下の通りであった。 1 $\mu\text{mol/L}$: APD ₃₀ ; 95.5%, APD ₆₀ ; 97.2%, APD ₉₀ ; 97.6% 5 $\mu\text{mol/L}$: APD ₃₀ ; 89.4%, APD ₆₀ ; 92.6%, APD ₉₀ ; 93.5% 陽性対照薬であるソタロールは 30 $\mu\text{mol/L}$ で APD ₃₀ , APD ₆₀ 及び APD ₉₀ を有意に延長し た。	適	025857	4.2.1.3-04
hERG 阻害試験の ための生理溶液 中での溶解性	該当せず	該当せず	0.1% DMSO/HBS : 0.1, 0.3, 1, 3, 10, 30, 100 $\mu\text{mol/L}$	該当せず	最大可溶濃度は 0.1% DMSO/HBS で 10 $\mu\text{mol/L}$ であった。	不適	022173	4.2.1.3-05 (参考資 料)

APD_{xx}=xx%再分極時の活動電位持続時間, CHO-K1=チャイニーズハムスター卵巣, DMSO=ジメチルスルホキシド, HBS=HEPES 緩衝液, hERG=human ether-à-go-go 関連
遺伝子, IC₅₀=50%阻害濃度

a: 灌流液中に 0.1%ジメチルスルホキシドを含有

b: 灌流液中に 0.2%ジメチルスルホキシドを含有

2.6.3 薬理試験概要表

2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験

ジファミラストの薬力学的薬物相互作用試験は実施していない。