フィルゴチニブ

潰瘍性大腸炎

第 2 部 CTD の概要

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.1 緒言

ギリアド・サイエンシズ株式会社

目次

頁
1　緒言 5

図目次

頁

図 1　フィルゴチニブマレイン酸塩の化学構造式.....5

略号一覧表

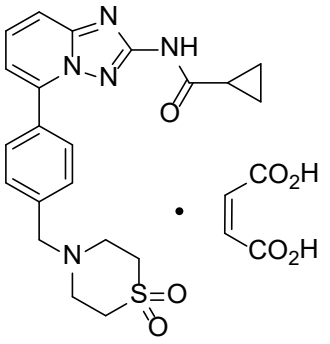
略号	英語	日本語
IC_{50}	inhibitory concentration that produces at 50% of maximal response	50%阻害濃度
JAK	Janus kinase	ヤヌスキナーゼ
RA	rheumatoid arthritis	関節リウマチ
UC	ulcerative colitis	潰瘍性大腸炎

1　緒言

フィルゴチニブは、ヤヌスキナーゼ（JAK）1 の触媒ドメインに結合するアデノシン-5'-三リン酸（ATP）に対する新規の競合的阻害剤であり、中等症から重症の活動性潰瘍性大腸炎（UC）の治療薬として開発されている。

フィルゴチニブマレイン酸塩は、化学名を *N*-(5-{4-[(1,1-Dioxo-λ^6-thiomorpholin-4-yl) methyl]phenyl}[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-2-yl) cyclopropanecarboxamide monomaleate と称する（図 1）。分子式は $C_{21}H_{23}N_5O_3S$•$C_4H_4O_4$、分子量は 541.58 ダルトン（1 μmol/L＝0.5416 μg/mL）である。

図 1　フィルゴチニブマレイン酸塩の化学構造式



フィルゴチニブの JAK1 に対する 50%阻害濃度（IC_{50}）は 10～52 nmol/L であった。また、種々の細胞株において、フィルゴチニブは、サイトカイン刺激後のシグナル伝達兼転写活性化因子（STAT）タンパク質の JAK1 を介したリン酸化を選択的に阻害し、IC_{50} は 179 nmol/L 以上であった。JAK1 は、自然免疫及び獲得免疫に関与する複数のサイトカイン、成長因子及びケモカイン受容体の下流にあるシグナル伝達の重要なメディエーターである。フィルゴチニブは、JAK1 依存性シグナル伝達の阻害を介してサイトカイン受容体シグナル伝達を阻害することにより、UC における炎症、細胞活性化及び免疫細胞の増殖に関与する多くのプロセスを阻害する。包括的なフィルゴチニブの非臨床試験が既に実施され、それらの試験報告書は関節リウマチ（RA）を適応症とした初回の承認申請資料として提出された。その後、RA の適応症で 2020 年 9 月に本邦において承認された。

本申請において、UC の治療薬としてのフィルゴチニブの使用を裏付けるために、新たな非臨床薬理試験が実施され、これらの試験の結果を本概要に記載した。完了した非臨床試験の報告書は CTD 第 4 部に収載した。

フィルゴチニブ

潰瘍性大腸炎

第 2 部 CTD の概要

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.2 薬理試験の概要文

ギリアド・サイエンシズ株式会社

目次

頁
略号一覧表 4
1　まとめ 5
2　効力を裏付ける試験 7
2.1　In vivo 試験 7
2.1.1　急性 DSS 腸管炎症モデルに対するフィルゴチニブの効果 7
2.1.2　慢性 DSS モデルに対するフィルゴチニブの効果 12
2.1.3　T 細胞養子移入モデルに対するフィルゴチニブと GS-829845 の併用投与による効果 14
3　考察及び結論 19
4　参考文献 20

図目次

頁

図 1　炎症性腸疾患における JAK 受容体の多面的な役割 5
図 2　フィルゴチニブによる体重、便の硬さ及び潜血陽性（腸出血）の改善 9
図 3　フィルゴチニブによる結腸の w/l 比の減少 10
図 4　フィルゴチニブによる病理組織学的検査における結腸炎症の軽減 11
図 5　フィルゴチニブによる急性 DSS モデルにおける血清中の炎症性タンパク質濃度の低下 . 12
図 6　フィルゴチニブによる DAI スコアの改善 13
図 7　フィルゴチニブによる結腸病変スコアの改善 14
図 8　フィルゴチニブによる結腸の pSTAT3 レベル 並びに好中球及びマクロファージ浸潤の減少 14
図 9　フィルゴチニブと GS-829845 の併用投与による DAI 並びに結腸 w/l 比及び炎症の病理組織像の改善 17
図 10　フィルゴチニブと GS-829845 の併用投与による結腸の pSTAT1+ 及び pSTAT3+細胞数の減少 17
図 11　フィルゴチニブと GS-829845 の併用投与による結腸の炎症性遺伝子発現の低下 18
図 12　フィルゴチニブによる結腸のリン酸化タンパク質量の変化 18

略号一覧表

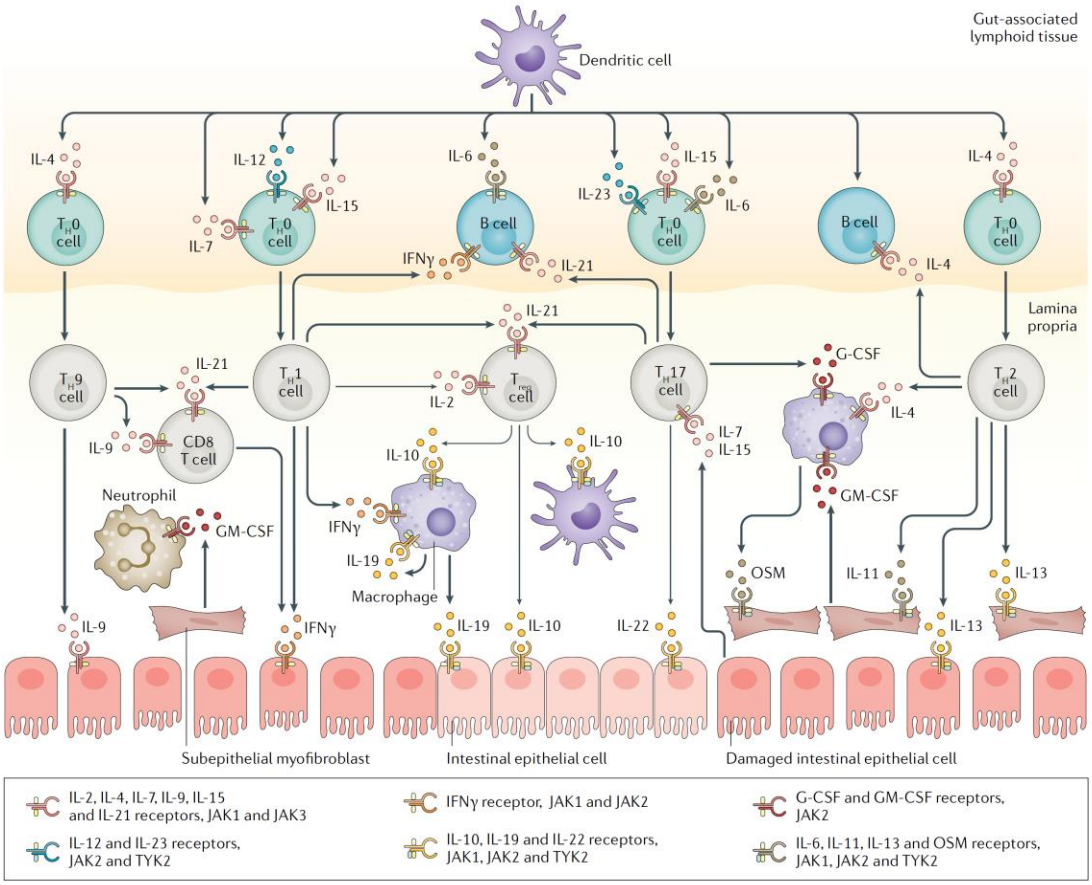
略号	英語	日本語
CRP	c-reactive protein	C反応性タンパク
DAI	disease activity index	疾患活動性指数
DSS	dextran sodium sulfate	デキストラン硫酸ナトリウム
EC_{50}	effective concentration that produces 50% of inhibitory response	50%有効濃度
ERK	extracellular regulated kinase	細胞外シグナル制御キナーゼ
GALT	gastrointestinal lymphoid tissues	腸管関連リンパ組織
IL	interleukin	インターロイキン
IRAK4	interleukin 1 receptor associated kinase 4	インターロイキン1受容体関連キナーゼ4
JAK	janus kinase	ヤヌスキナーゼ
MCP-1	monocyte chemoattractant protein 1	単球走化性タンパク質-1
MPO	myeloperoxidase	ミエロペルオキシダーゼ
pERK	phosphorylated ERK	リン酸化細胞外シグナル伝達キナーゼ
pIRAK	phosphorylated IRAK4	リン酸化インターロイキン 1 受容体関連キナーゼ4
PMN	polymorphonuclear leukocyte cell	多形核白血球
pSTAT	phosphorylated STAT	リン酸化シグナル伝達兼転写活性化因子
pTPL2	phosphorylated TPL2	リン酸化腫瘍進行遺伝子座 2
STAT	signal transducer and activator of transcription proteins	シグナル伝達兼転写活性化因子
TIMP-1	tissue inhibitor of metalloproteinase 1	組織メタロプロテアーゼ阻害物質-1
TNFα	tumor necrosis factor alpha	腫瘍壊死因子 α
TPL2	tumor progression locus 2	腫瘍進行遺伝子座 2
UC	ulcerative colitis	潰瘍性大腸炎
w/l	weight per length	重量対長さ

1　　まとめ

本概要は、潰瘍性大腸炎（UC）に対する経口治療薬であるフィルゴチニブ（GS-6034、旧称GLPG0634）の承認申請のために作成したものである。フィルゴチニブ及びそのヒト主要代謝物である GS-829845 の薬理学的特性を in vivo 大腸炎動物モデルを用いて評価した。効力を裏付ける試験及び副次的薬理試験の成績は、関節リウマチ（RA）を適応症とした初回の承認申請時に提出した CTD（RA の CTD）の 2.6.2 項に要約されている。

サイトカインシグナル伝達は、自然免疫応答及び獲得免疫応答の主要な構成要素であり、サイトカイン受容体の異常な活性化は、UC を含む多くの慢性炎症性疾患に関連している[2]。ヤヌスキナーゼ（JAK）－シグナル伝達兼転写活性化因子（STAT）経路の遮断を介したサイトカインシグナル伝達の阻害は、腸管炎症、細胞活性化、UC に関連する免疫細胞の増殖及び免疫恒常性の破綻に関与する複数のプロセスを標的とし得る（図 1）。フィルゴチニブは、JAK1 活性を選択的に標的とすることで、サイトカイン受容体活性化に伴う細胞内シグナル伝達経路を阻害するよう開発されている。

図 1　炎症性腸疾患における JAK 受容体の多面的な役割



Source:　参考文献 2

JAK1 阻害により、腸管の STAT1 及び STAT3 のリン酸化経路が著しく阻害され、in vivo の UC の動物モデルにおいて、疾患活動性が低下することが示されている。マウスの急性デキストラン

硫酸ナトリウム（DSS）誘発 UC モデルでは、フィルゴチニブによる JAK1 阻害により、体重、便の硬さ、潜血陽性（腸出血）及び結腸の病理組織学的炎症像が改善され、血清中の炎症マーカータンパク質である組織メタロプロテアーゼ阻害物質-1（TIMP-1）及び C 反応性タンパク（CRP）が用量依存的に有意に減少した（CTD 2.6.3.1.3.1 項、PC-296-2052）。マウスの慢性 DSS 誘発 UC モデルにおいて、フィルゴチニブは、体重、便の硬さ及び潜血陽性（腸出血）を改善し、結腸のリン酸化シグナル伝達兼活性化因子（pSTAT）3 レベル及び好中球・マクロファージ浸潤を減少させ、血清中の炎症マーカータンパク質及び化学誘引因子を減少させた（CTD 2.6.3.1.3.1 項、000546）。T 細胞養子移入による UC モデルでは、ヒト臨床試験で認められた pSTAT1/3 阻害の薬力学をモデルとし、フィルゴチニブと GS-829845 の併用投与を行った（CTD 2.6.3.1.3.2 項、PC-418-2002）。フィルゴチニブと GS-829845 を 1 日 1 回併用投与したところ、体重、便の硬さ、潜血陽性（腸出血）及び結腸の病理組織学的炎症像が改善され、結腸の pSTAT1+細胞と pSTAT3+細胞の減少が認められ、血液、結腸及び脾臓の免疫細胞サブセットのさらなる恒常性回復並びに結腸の炎症性遺伝子発現及びサイトカインレベルの改善が認められた。これらの in vivo 試験により、フィルゴチニブはマウスの UC モデルにおいて腸管炎症を顕著に抑制することが示された。

2　効力を裏付ける試験

2.1　In vivo 試験

フィルゴチニブ及びそのヒト主要代謝物である GS-829845 の評価には、マウスにおけるヒト UC モデルとして、3 種類の腸管炎症モデル（急性 DSS モデル、慢性 DSS モデル、T 細胞養子移入モデル）を使用した。各モデルでは、臨床的、病理組織学的及び薬力学的な様々なエンドポイントを測定することにより、病変の進行と重症度をモニターした。これらのモデルではヒト UC の全ての側面を再現することはできないが、自然免疫系に影響を与え、腸管上皮バリアの完全性を改善する薬剤の評価には DSS モデルが最も適しており、獲得免疫系に影響を及ぼす薬剤の評価には T 細胞養子移入モデルが最も適している[1]。

2.1.1　急性 DSS 腸管炎症モデルに対するフィルゴチニブの効果

雌の C57BL/6 マウスに、飲水に混じた 4%DSS を 7 日間自由摂取させ、その後、さらに 7 日間ろ過水を摂取させて大腸炎を誘発させた（CTD 2.6.3.1.3.1 項、PC-296-2052）。3、10、30 mg/kg/日のフィルゴチニブ又は 0.5 mg/kg/日のスルファサラジン（陽性対照）をマウス（15 匹／群）に DSS 処置開始 5 日から 1 日 1 回経口投与し、開始 14 日に剖検するまで投与を継続した。有効性は、体重、便の硬さ及び潜血陽性（腸出血）を指標とする疾患活動性指数（DAI）により評価した。その他の有効性の指標として、結腸の重量対長さ（w/l）比、結腸の病理組織学的指標（腺消失、びらん、粘膜肥厚、過形成、多形核白血球［PMN］の割合、好中球スコアリング、浮腫）並びに腸管関連リンパ組織（GALT）及びパイエル板におけるリンパ球集簇巣の数と大きさを調べた。血清中の炎症性タンパク質量及び全血中 CD4+ T 細胞におけるインターロイキン-6（IL-6）刺激性 pSTAT1 についても測定を行った。

フィルゴチニブ 30 mg/kg 投与群では、溶媒対照群と比較して体重、便の硬さ、潜血陽性（腸出血）及び結腸 w/l 比の有意な改善が認められ、DAI の改善傾向が認められた（図 2、図 3）。また、リンパ球集簇巣の数と大きさを除き、全ての病理組織学的指標の有意な改善が認められた（図 4）。活動性炎症性腸疾患に関連するマーカーである TIMP-1 及び CRP を含む 6 種類の血清中の炎症性タンパク質は、フィルゴチニブ 30 mg/kg の投与により、溶媒対照よりも低値となった（図 5）。いずれの指標についても、フィルゴチニブ 30 mg/kg の投与により、陽性対照としたスルファサラジンと同等かそれ以上の改善がみられた。

フィルゴチニブ 10 mg/kg 投与群では、溶媒対照群と比較して体重、潜血陽性（腸出血）及び結腸 w/l 比の有意な改善が認められ（図 2）、病理組織学的検査における炎症及び腺消失のスコアの改善並びに血清 TIMP-1 の減少がみられた（図 5）。

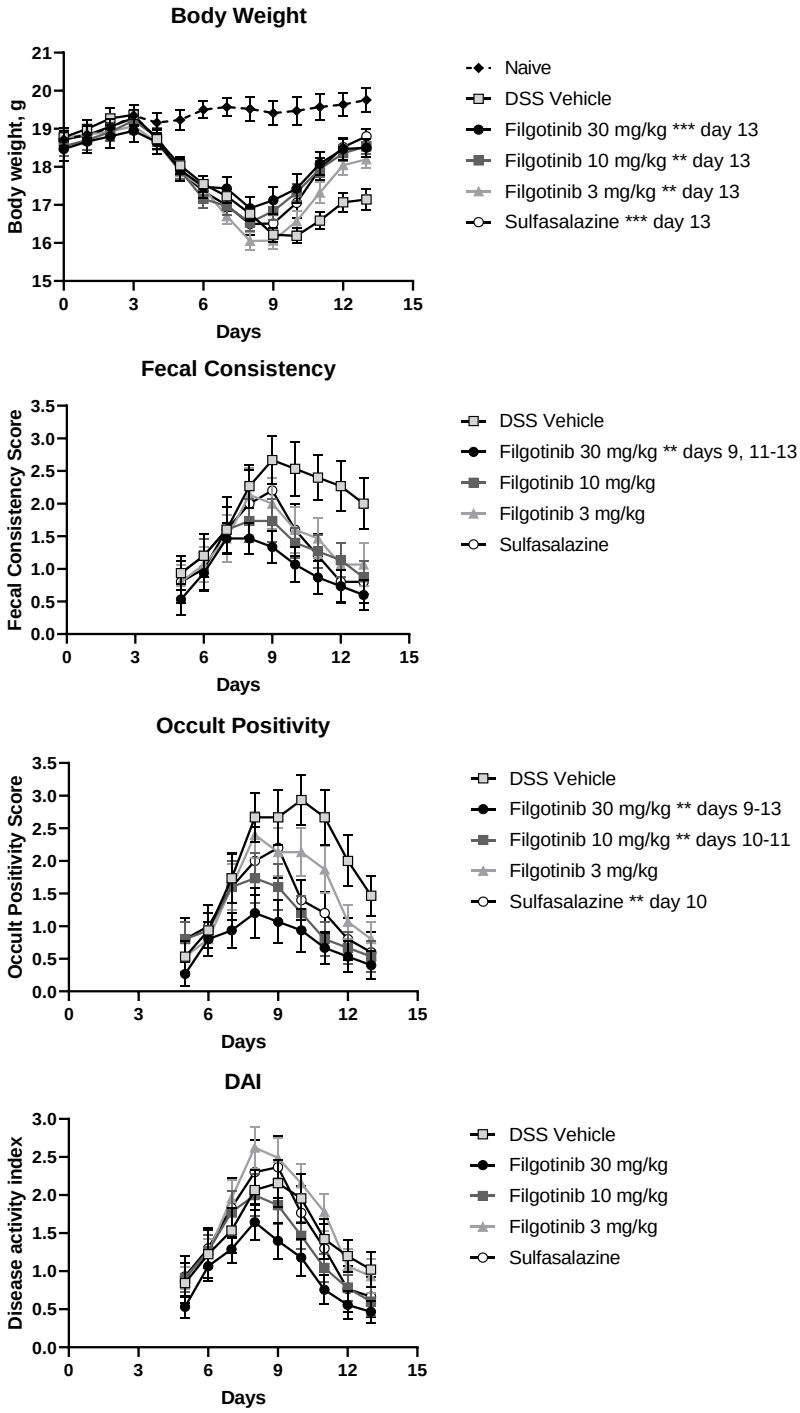
フィルゴチニブ 3 mg/kg 投与群では、溶媒対照群と比較して体重の軽度な改善、病理組織所見として炎症、腺消失及びびらんの軽微な改善、並びに血清 TIMP-1、IL-6、インスリン及び単球走化性タンパク質-1（MCP-1）の減少が認められた。

フィルゴチニブと GS-829845 の血漿中曝露量は、3 群間で用量に比例して増加した。フィルゴチニブの血漿中曝露量は、30 mg/kg 投与群の投与後約 2 時間に渡って、マウス全血での EC_{50} 値（3.1 µmol/L［CD4+ T 細胞における IL-6 刺激性 pSTAT1、RA の CTD 2.6.3.2.1.3 項、PC-417-2003］）を超えており、GS-829845 は投与期間を通してマウス全血での EC_{50} 値（19.9 µmol/L）を下回っていた。全血中 CD4+ T 細胞における IL-6 刺激性 pSTAT1 の最大阻害率は、30 mg/kg 投与群での最

終投与後 0.5 時間における 45%±10%であった。

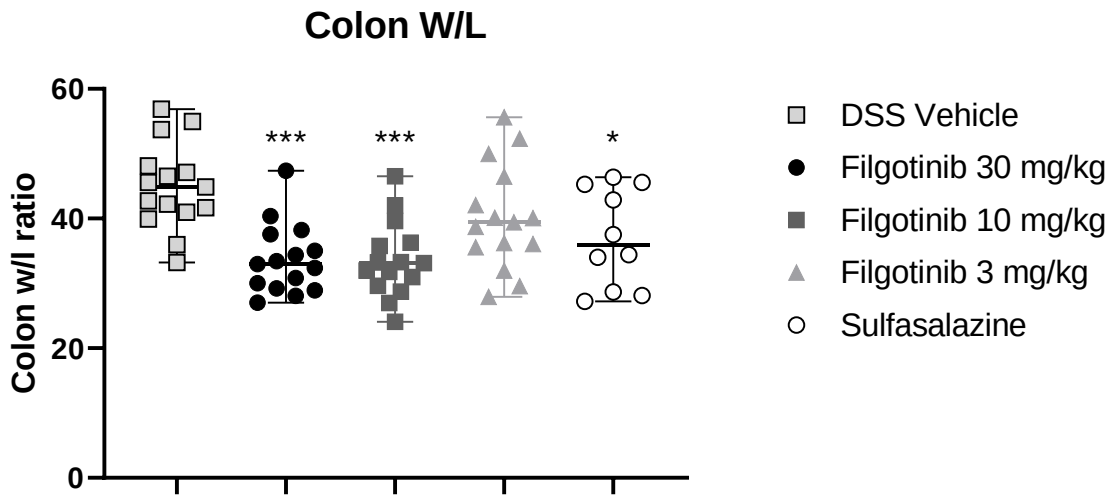
結論として、フィルゴチニブは用量依存的に DSS 誘発性の急性大腸炎に関連した疾患活動性を改善し、結腸炎症に伴う多くの組織学的所見を改善し、血清中の炎症性タンパク質を減少させた。最も顕著な改善が認められたのは、最高用量である 30 mg/kg 投与群であり、ほぼ投与期間を通して標的阻害濃度は EC_{50} 値よりも低かった。

図 2　フィルゴチニブによる体重、便の硬さ及び潜血陽性（腸出血）の改善



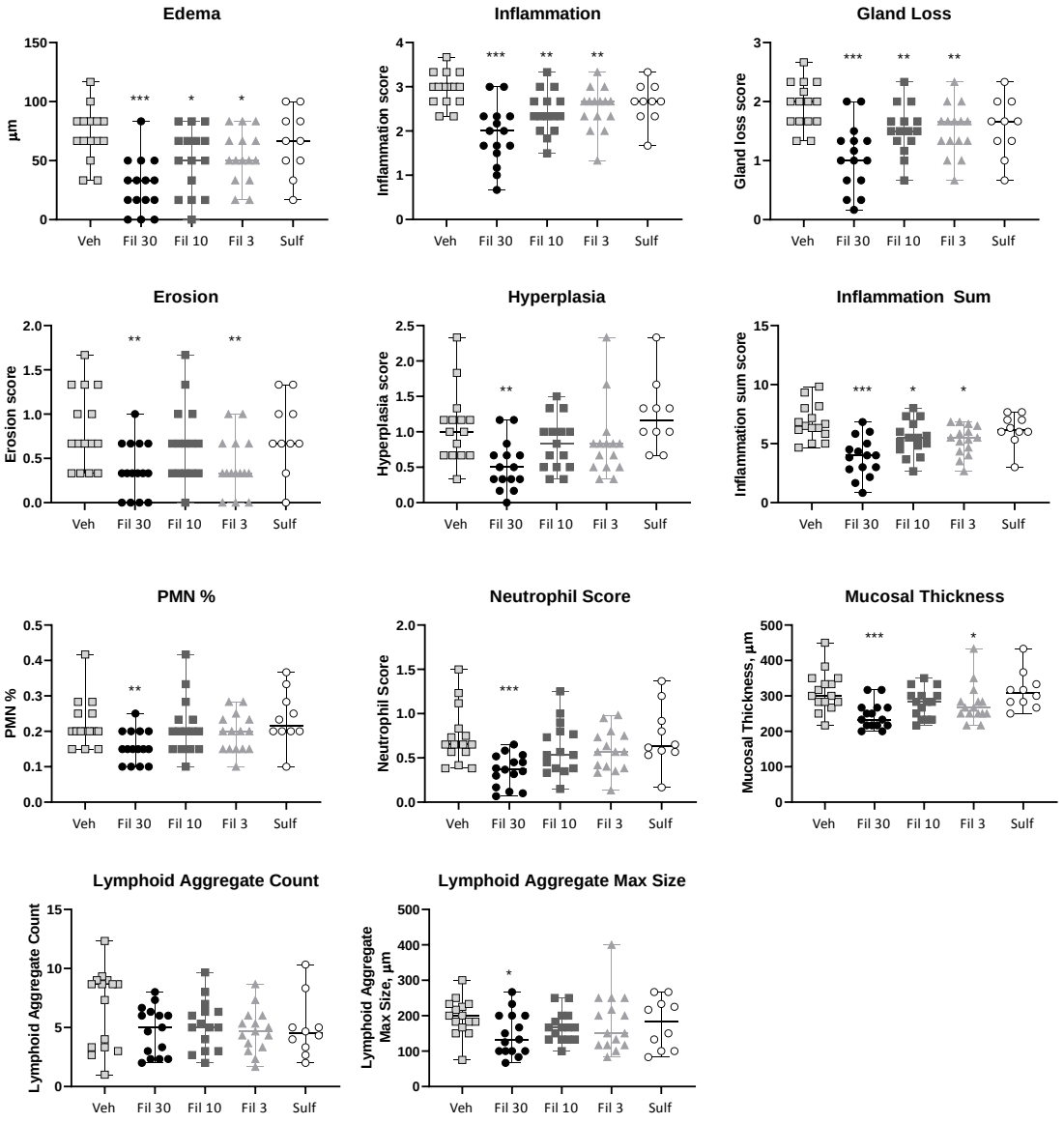
Asterisks indicate that the treatment is significantly different from the vehicle control. Significance levels: ***< 0.001, **< 0.01, * < 0.05 (Wilcoxon rank sum test).
Source: PC-296-2052

図 3　フィルゴチニブによる結腸の w/l 比の減少



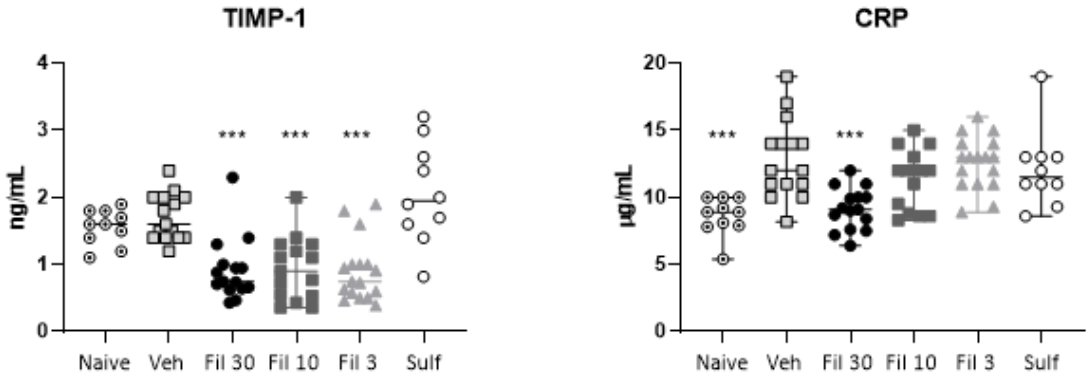
Asterisks indicate that the treatment is significantly different from the vehicle control. W/L indicates weight per length. Significance levels: ***< 0.001, **< 0.01, *< 0.05 (Wilcoxon rank sum test).
Source: PC-296-2052

図 4　フィルゴチニブによる病理組織学的検査における結腸炎症の軽減



Asterisks indicate that the treatment is significantly different from the vehicle control. Fil 30, Fil 10, and Fil 3 indicate filgotinib doses in mg/kg. Significance level: ***< 0.001, **< 0.01, *< 0.05
Source: PC-296-2052

図 5　フィルゴチニブによる急性 DSS モデルにおける血清中の炎症性タンパク質濃度の低下



Asterisks indicate that the treatment is significantly different from the vehicle control. Fil 30, Fil 10, and Fil 3 indicate filgotinib doses in mg/kg. Significance level: ***<0.001
Source: PC-296-2052

2.1.2　　慢性 DSS モデルに対するフィルゴチニブの効果

雌の BALB/c マウスに、4% DSS を飲水に混じて 4 日間投与し、その後 3 日間は通常の飲水を与え、試験 18 日に剖検するまでこの DSS 投与サイクルを繰り返した（CTD 2.6.3.1.3.1 項、000546）。マウス（10 匹／群）への薬物の投与は、DSS 投与を開始した試験 1 日から行った。フィルゴチニブ（G146034）を 10 及び 30 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回経口投与し、JAK 阻害剤の比較対照薬としてトファシチニブ（G077959）を 10 及び 30 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回経口投与し、対照薬としてスルファサラジン（G333998）を 20 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回経口投与した。有効性は、体重、便の硬さ及び潜血陽性（腸出血）を指標とする DAI により評価した。その他の有効性の指標として、炎症の重症度、炎症部位の厚さ、上皮の損傷及び病変の範囲を含む結腸病変の病理組織学的スコアリングを行った。結腸における pSTAT1、3 及び 5 レベル並びに好中球、T 細胞及びマクロファージの結腸への浸潤を免疫組織化学的に定量し、血清中の炎症性タンパク質量の測定も行った。

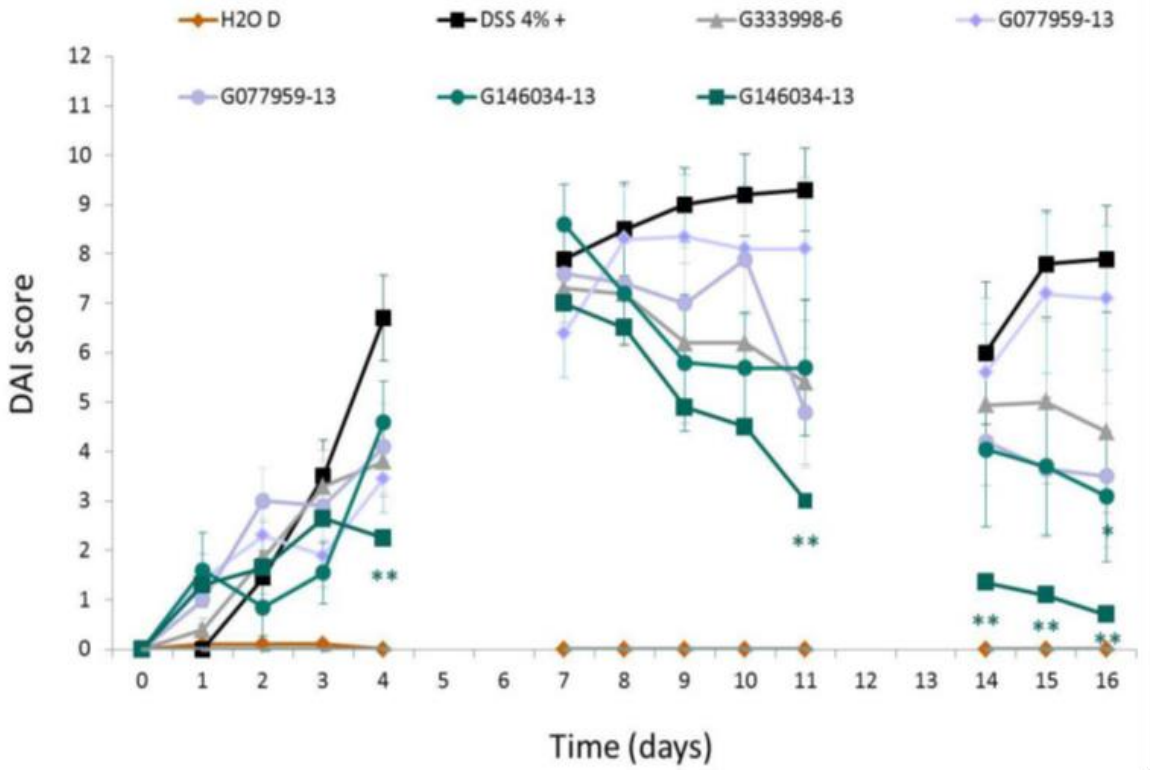
DAI スコアは、フィルゴチニブ 30 mg/kg 投与群では試験 4 日、11 日、14 日、15 日及び 16 日に有意に低下した（図 6）。トファシチニブ及びスルファサラジンは DAI スコアに有意な影響を及ぼさなかった。フィルゴチニブ 30 mg/kg 投与群では結腸病変スコアは 43%の減少傾向を示した（図 7）。結腸における pSTAT3 レベルは、フィルゴチニブ 30 mg/kg 投与群では溶媒対照群と比較して約 70%減少したが、トファシチニブ及びスルファサラジンでは変化はみられなかった。好中球及びマクロファージの結腸浸潤は、フィルゴチニブ 30 mg/kg 投与群で、溶媒対照群と比較して、それぞれ 63%及び 21%減少した。好中球の結腸浸潤はスルファサラジンで 81%、トファシチニブで 39%減少した。マクロファージの結腸浸潤はスルファサラジン及びトファシチニブでは減少しなかった（図 8）。いずれの薬物も結腸の T 細胞浸潤には影響を及ぼさなかった。血清中の炎症マーカーである CRP 及びミエロペルオキシダーゼ（MPO）並びに化学誘引因子（KC/GROα、MIP-1β、MIP-2 及び CD40L）は、スルファサラジンと同様に、フィルゴチニブ 30 mg/kg 投与群で

減少した。

フィルゴチニブ及び GS-829845 の血漿中曝露量は用量に比例して増加したが、フィルゴチニブ及び GS-829845 の定常状態における濃度は、マウス全血でのそれぞれの EC_{50} 値（CD4+ T 細胞における IL-6 刺激性 pSTAT1、RA の CTD 2.6.3.2.1.3 項、PC-417-2003）である 1600 ng/mL 及び 7100 ng/mL を超えることはなかった。

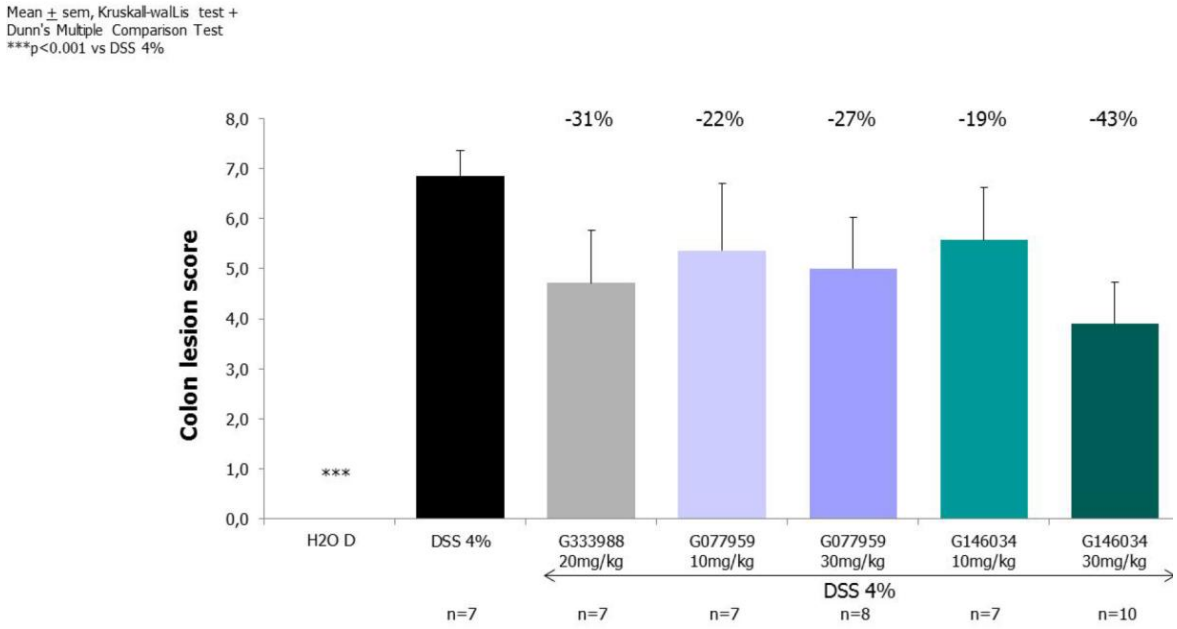
結論として、フィルゴチニブは用量依存的に DSS 誘発性慢性大腸炎に関連した疾患活動性及び結腸炎症の多くの病理組織像を改善し、結腸の pSTAT3 レベル並びに好中球及びマクロファージ浸潤を減少させ、血清中の炎症性タンパク質及び化学誘引因子を減少させた。最も顕著な改善が認められたのは、最高用量である 30 mg/kg 投与群であり、投与期間を通して標的阻害濃度は EC_{50} よりも低いと推定された。

図 6　フィルゴチニブによる DAI スコアの改善



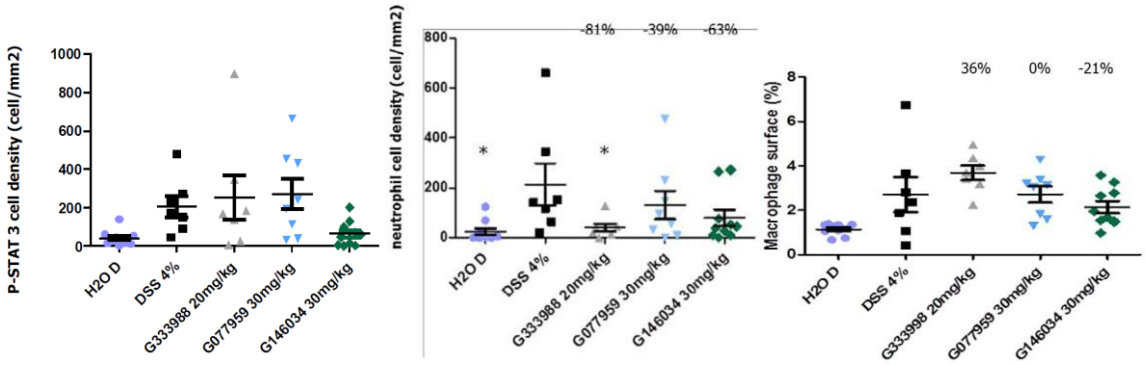
Orange diamonds and H2O D indicate non-diseased animals, black squares and DSS 4% indicate vehicle treated animals, gray triangles and G333998-6 indicate animals dosed with sulfasalazine at 20 mg/kg, purple diamonds and G077959-13 indicate animals dosed with tofacitinib at 10 mg/kg, purple circles and G077959-13 indicate animals dosed with tofacitinib at 30 mg/kg, green circles and G146034-13 indicate animals dosed with filgotinib at 10 mg/kg, green squares and G146034 indicate animals dosed with filgotinib at 30 mg/kg. Asterisks indicate that the treatment is significantly different from the vehicle control. Significance levels: *< 0.05, **< 0.01
Source: 000546

図 7　フィルゴチニブによる結腸病変スコアの改善



H2O D indicates non-diseased animals, black and DSS 4% indicate vehicle treated animals, gray and G333998-6 indicate animals dosed with sulfasalazine at 20 mg/kg, light purple and G077959-13 indicate animals dosed with tofacitinib at 10 mg/kg, darker purple and G077959-13 indicate animals dosed with tofacitinib at 30 mg/kg, green and G146034-13 indicate animals dosed with filgotinib at 10 mg/kg, darker green and G146034 indicate animals dosed with filgotinib at 30 mg/kg. Asterisks indicate that the treatment is significantly different from the vehicle control. Significance level: ***< 0.001
Source: 000546

図 8　フィルゴチニブによる結腸の pSTAT3 レベル
並びに好中球及びマクロファージ浸潤の減少



pSTAT3 left; Neutrophil infiltrates center; Macrophage infiltrates right. Asterisks indicate that the treatment is significantly different from the vehicle control. Significance level: *< 0.05
Source: 000546

2.1.3　T細胞養子移入モデルに対するフィルゴチニブと GS-829845 の併用投与による効果

無処置 BALB/c マウスから脾臓を摘出して CD4+CD45RB^{hi} 細胞を単離し、雌の重症複合免疫不全症（SCID）マウスに腹腔内注射して大腸炎を誘発した（CTD 2.6.3.1.3.2 項、PC-418-2002）。大

腸炎の発症が明らかとなった誘発 22 日後に、マウス（30 匹／群）に薬物の投与を開始した。フィルゴチニブと GS-829845 を 50/50 mg/kg/日又は 75/75 mg/kg/日（フィルゴチニブ／GS-829845）の用量で 1 日 1 回、併用経口投与した。溶媒を陰性対照として 1 日 1 回経口投与し、抗 p40（抗 IL-12/23）を陽性対照として週 1 回腹腔内投与した。有効性は、体重、便の硬さ及び潜血陽性（腸出血）を指標とした DAI スコアにより評価した。その他の有効性の指標として、結腸の w/l 比、結腸の病理組織学的指標（腺消失、びらん、粘膜肥厚、過形成、PMN の割合、好中球スコアリング及び浮腫）並びに GALT 及びパイエル板におけるリンパ球集簇巣の数と大きさを調べた。大腸の近位、中位及び遠位の pSTAT1+、pSTAT3+及び CD4+細胞の割合を免疫組織化学的に定量化した。各群の半数の動物から血液、脾臓、腸間膜リンパ節及び結腸を採取し、フローサイトメトリー法により 12 種類の免疫細胞サブセットを測定した。残りの動物の結腸については、主要な炎症性サイトカイン、Th17 サイトカイン、関連性のあるシグナル伝達ノード及び接着／輸送分子を含む 27 種類の遺伝子の発現解析用に処理し、16 組織の炎症性サイトカインのタンパク質量並びに STAT1、STAT3、腫瘍進行遺伝子座 2（TPL2）、インターロイキン 1 受容体関連キナーゼ 4（IRAK4）及び細胞外シグナル制御キナーゼ（ERK）のリン酸化タンパク質量を測定した。

フィルゴチニブ／GS-829845 併用投与群の両用量とも、溶媒対照群と比較して、全ての疾患活動性の指標（体重減少、便の硬さ、潜血陽性［腸出血］）及び結腸の w/l 比の有意な改善が認められ、また、病理組織所見の合計スコア、PMN の割合、好中球スコア、リンパ球集簇巣の数及び浮腫の有意な改善が認められた（図 9）。

フィルゴチニブ／GS-829845 併用投与では溶媒対照群と比較して腸管炎症の薬力学的マーカーの改善がみられた。結腸における CD4+細胞及び pSTAT1+細胞の割合は、フィルゴチニブ／GS-829845 の 75/75 mg/kg 投与群のみで軽度に減少した（図 10）。結腸における pSTAT3+細胞の割合は、フィルゴチニブ／GS-829845 の 50/50 及び 75/75 mg/kg 投与群とも、溶媒対照群では 50%であったのに対し、それぞれ 30%及び 27%であり、約 1/2 に減少した。

フィルゴチニブ／GS-829845 併用投与群の血液、結腸及び脾臓で免疫細胞集団の構成に変化がみられた。血液中では、α4β7+単球及び総マクロファージ（F4/80+）がフィルゴチニブ／GS-829845 の 75/75 mg/kg 投与群で溶媒対照群と比較して増加した。結腸では、総単球（CD11b+）がフィルゴチニブ／GS-829845 の 75/75 mg/kg 投与群で溶媒対照群と比較して増加した。脾臓では、フィルゴチニブ／GS-829845 の 50/50 及び 75/75 mg/kg 投与群のいずれにおいても、溶媒対照群と比較して、CD4+ T 細胞及び α4β7+単球が増加し、総単球が減少した。免疫細胞サブセットにおけるこれらの変化の大部分は、陽性対照とした抗 p40 と同様であり、これらは疾患指標の改善と相関しており、非炎症性の恒常的状態への回復が示唆された。

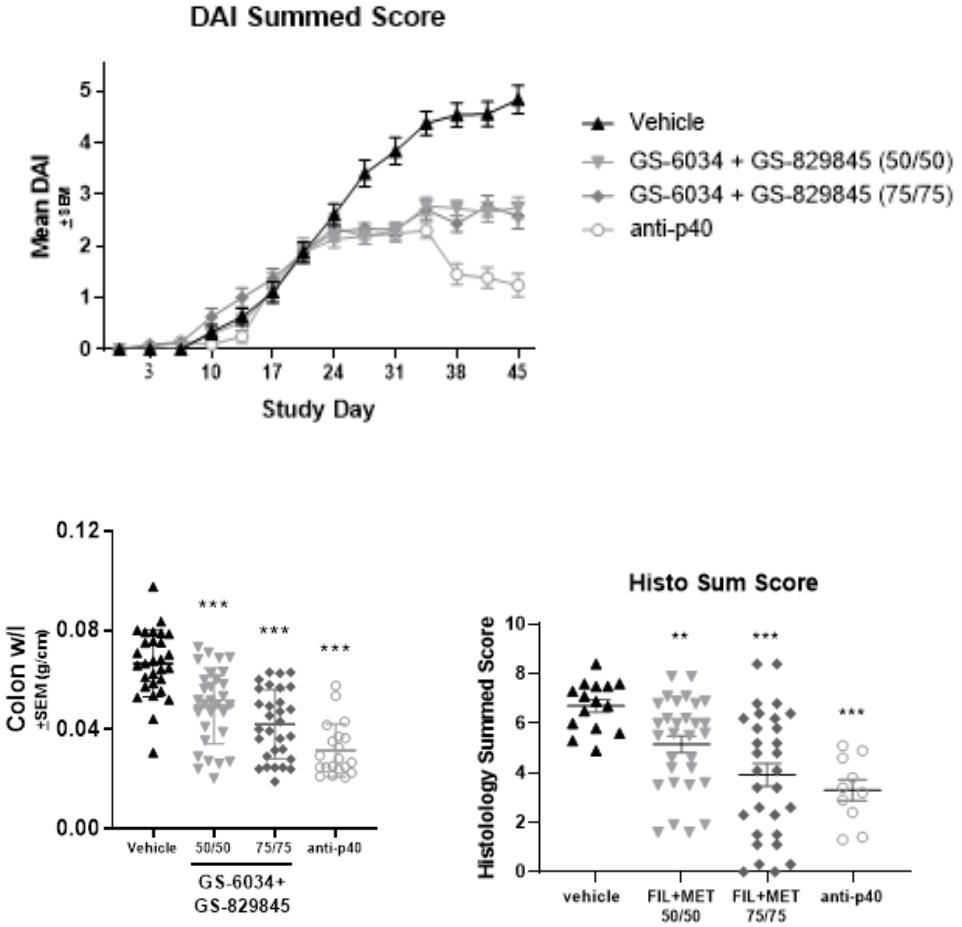
結腸の 9 種類の腸管炎症性遺伝子（ITGA4、SOCS3、OSM、TPL2、MAdCAM-1、ITGB7、IL-12、IL-1α 及び IL-6）の発現は、フィルゴチニブ／GS-829845 の 75/75 mg/kg 投与群において、溶媒対照群と比較して有意に減少し、結腸の ITGA4 の発現は、フィルゴチニブ／GS-829845 の 50/50 mg/kg 投与群において、溶媒対照群と比較して減少し、陽性対照とした抗 p40 投与群と同様であった（図 11）。結腸における 3 種類のサイトカイン（TNFα、IL-4 及び IL-10）のタンパク質量は、フィルゴチニブ／GS-829845 の 75/75 mg/kg 投与群で溶媒対照群と比較して有意に減少した。フィルゴチニブ／GS-829845 の 50/50 mg/kg 投与群では、いずれの組織サイトカインについても溶媒対照群と比較して有意な減少は認められなかった。pIRAK4 は、フィルゴチニブ／GS-829845 の 50/50 及び 75/75 mg/kg 投与群で増加し、陽性対照とした抗 p40 投与群と同様であった。pSTAT1

及び pTPL2 は、フィルゴチニブ／GS-829845 の 50/50 及び 75/75 mg/kg 投与群で減少し、陽性対照とした抗 p40 投与群と同様であった。pERK は、フィルゴチニブ／GS-829845 の 75/75 mg/kg 投与群のみで減少しており、陽性対照とした抗 p40 投与群とは逆の結果であった。pSTAT3 は、抗 p40 投与群のみで有意な減少が認められた（図 12）。

フィルゴチニブ及び GS-829845 の血漿中曝露量は、両投与量群間で類似しており、それぞれ約 4 時間及び 6 時間に渡って、マウス全血での EC_{50}（CD4+ T 細胞における IL-6 刺激性 pSTAT1、RA の CTD 2.6.3.2.1.3 項、PC-417-2003）を超えていた。

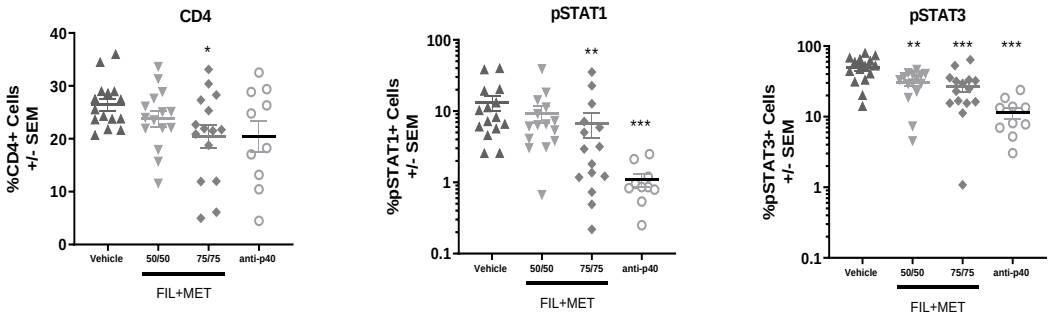
結論として、フィルゴチニブと代謝物 GS-829845 の併用投与により、T 細胞誘発性大腸炎の疾患活動性が改善され、結腸炎症の病理組織像が改善され、結腸の pSTAT1 及び pSTAT3 レベルが減少し、免疫細胞サブセットがより恒常的な状態に変化し、結腸の炎症性遺伝子発現、結腸の組織サイトカイン及び炎症性シグナル分子のリン酸化が減少した。最高用量のフィルゴチニブ／GS-829845 の 75/75 mg/kg 投与群で最も顕著な改善が認められ、全投与期間の約 1/4 の期間において、標的阻害濃度は EC_{50} を超えていた。

図 9　フィルゴチニブと GS-829845 の併用投与による DAI
並びに結腸 w/l 比及び炎症の病理組織像の改善



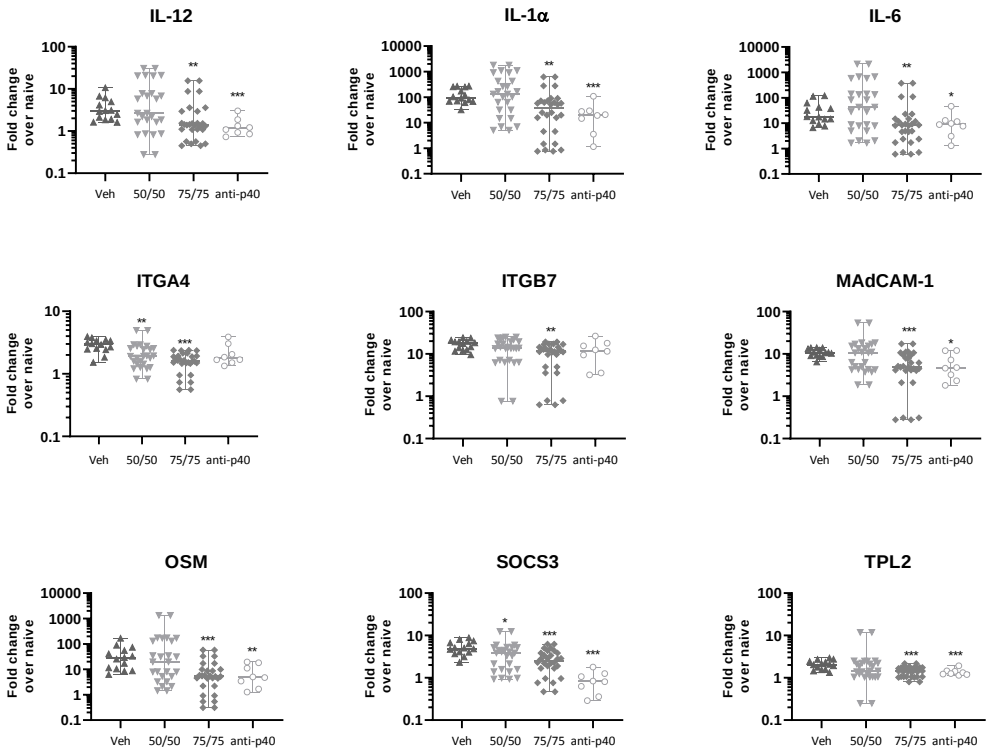
DAI summed score top; Colon w/l ratio left; Histopathology summed score right.　50/50 and 75/75 indicate doses of filgotinib and GS-829845 in mg/kg.　Significance levels: *** p< 0.005, ** p< 0.01
Source: PC-418-2002

図 10　フィルゴチニブと GS-829845 の併用投与による結腸の pSTAT1+
及び pSTAT3+細胞数の減少



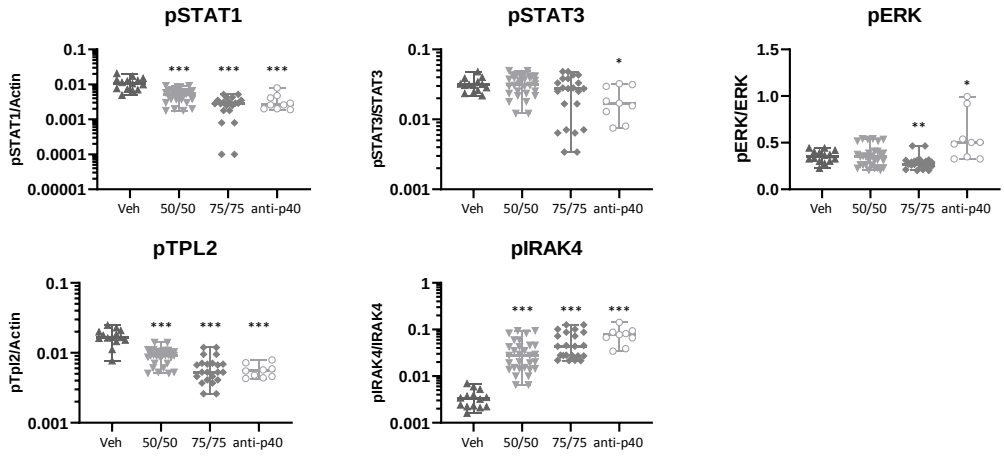
50/50 and 75/75 indicate doses of filgotinib and GS-829845 in mg/kg.　Significance levels: ** p< 0.01, *** p< 0.005 Source: PC-418-2002

図 11　フィルゴチニブと GS-829845 の併用投与による結腸の炎症性遺伝子発現の低下



50/50 and 75/75 indicate doses of filgotinib and GS-829845 in mg/kg. Medians with ranges are shown. Significance levels: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.005$.
Source: PC-418-2002

図 12　フィルゴチニブによる結腸のリン酸化タンパク質量の変化



50/50 and 75/75 indicate doses of filgotinib and GS-829845 in mg/kg. Medians with ranges are shown. Significance levels: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.005$. Source: PC-418-2002

3　考察及び結論

フィルゴチニブは、経口投与による UC の治療を目的として開発が進められている低分子化合物である。腸管炎症についての自然免疫細胞及び適応免疫細胞誘発性の UC モデルにおいて、フィルゴチニブの単独投与又は GS-829845 との併用投与により、結腸の病理組織学的炎症像の改善、結腸の pSTAT1 及び pSTAT3 レベルの低下、結腸の炎症性遺伝子発現の低下及び組織サイトカインの減少、免疫細胞サブセットの恒常性回復、血清中の炎症性タンパク質の減少が認められ、これらに伴い、体重、便の硬さ及び潜血陽性（腸出血）の改善が認められた。

急性及び慢性 DSS モデルにおいて、フィルゴチニブの 30 mg/kg 投与群での標的 JAK 阻害濃度は、投与期間を通して EC_{50} 以下と算出された。T 細胞養子移入モデルでは、フィルゴチニブを GS-829845 と併用投与した場合、全投与期間の約 1/4 の期間において、標的阻害濃度は EC_{50} を超えていた。T 細胞養子移入モデルにおける標的阻害は、UC 患者において予測されるヒトでの薬理学的 pSTAT1/3 阻害を最もよく反映している（CTD 2.7.2 項及び RA の CTD 2.7.2 項）。阻害持続時間が長いことと相まって、疾患活動性及び薬力学的効果の改善は、T 細胞養子移入モデルでより顕著であった。例えば、結腸では pSTAT1 及び pSTAT3 が共に減少し、ほぼ全ての病理組織学的炎症像が有意に改善され、炎症性遺伝子発現及び組織サイトカインの広範な阻害が認められた。総合すると、これらの薬理試験の結果は、UC 患者の腸管炎症を軽減させる治療薬としてのフィルゴチニブの可能性を裏付けるものである。

4　参考文献

1　Koboziev I, Karlsson F, Zhang S, Grisham MB. Pharmacological intervention studies using mouse models of the inflammatory bowel diseases: translating preclinical data into new drug therapies. Inflammatory bowel diseases 2011;17 (5):1229-45.

2　Salas A, Hernandez-Rocha C, Duijvestein M, Faubion W, McGovern D, Vermeire S, et al. JAK-STAT pathway targeting for the treatment of inflammatory bowel disease. Nature reviews. Gastroenterology & hepatology 2020;17:323-37.

フィルゴチニブ

潰瘍性大腸炎

第 2 部 CTD の概要

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.3 薬理試験概要表

ギリアド・サイエンシズ株式会社

目次

頁
1　薬理試験：一覧表 3
1.1　フィルゴチニブ 3
1.2　フィルゴチニブと GS-829845 の併用投与 4
1.3　In vivo 試験 5
1.3.1　フィルゴチニブの効力を裏付ける試験 5
1.3.2　フィルゴチニブと GS-829845 の併用投与による効力を裏付ける試験 6

1　薬理試験：一覧表

1.1　フィルゴチニブ

Test Article: Filgotinib

Type of Study/Description	GLP[a]	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Gilead Study No. (CRO No.)
Primary Pharmacodynamics					
Evaluation of filgotinib in the acute DSS model of intestinal inflammation	No	Female C57BL/6 mouse 4% DSS	In Vivo	[redacted], USA	PC-296-2052 ([redacted])
Evaluation of filgotinib activity in the chronic DSS-induced colitis mouse model	No	Female BALB/c mouse 4% DSS	In Vivo	Galapagos, Belgium	000546 (GLPG0634-1431)

DSS, Dextran Sodium Sulfate.
a　An entry of "Yes" indicates that the study includes a GLP compliance statement.

1.2　フィルゴチニブと GS-829845 の併用投与

Test Article: Filgotinib and GS-829845

Type of Study/Description	GLP[a]	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number
Primary Pharmacodynamics					
Evaluation of filgotinib co-dosed with its metabolite in a T cell transfer model of colitis	No	Female C.B-17 SCID mouse CD4+CD45RB^{hi} adoptive transfer	In Vivo	[redacted], USA	PC-418-2002 ([redacted])

SCID, Severe Combined Immunodeficiency.
a　An entry of "Yes" indicates that the study includes a GLP compliance statement.

1.3 In vivo 試験

1.3.1 フィルゴチニブの効力を裏付ける試験

Test Article: Filgotinib

Study	Species / Strain	Method of Administration	Dose (mg/kg)	Gender and n per Group	Noteworthy Findings	GLP[a]	Study No. (CRO Study No.)
Evaluation of filgotinib in the acute DSS model of intestinal inflammation	Mouse/C57BL/6	Oral gavage	30, 10, 3, 0 once daily	F15	Body weights and TIMP-1 serum protein levels improved in all filgotinib-dosed groups; fecal consistency and most histology measures improved, 6 inflammatory serum proteins decreased and IL-6-stimulated pSTAT1 decreased in blood in 30 mg/kg group; occult positivity and colon w/l improved in 30 and 10 mg/kg groups; inflammation and gland loss scores improved in 10 and 3 mg/kg groups; erosion scores improved and three inflammatory serum proteins decreased in the 3 mg/kg group.	No	PC-296-2052 ([redacted])
Evaluation of filgotinib activity in the chronic DSS-induced colitis model	Mouse/BALB/c	Oral gavage	30, 10, 0 once daily	F10	DAI scores, pSTAT3 colon levels, neutrophil and macrophage infiltrations in colons, and 6 serum protein markers of inflammation were all decreased significantly in the 30 mg/kg group; 4 serum protein markers were decreased in the 10 mg/kg group.	No	000546 (GLPG0634-1431)

DAI, Disease Activity Index; DSS, Dextran Sodium Sulfate; F, Female; pSTAT, phosphorylated signal transducer and activator of transcription proteins; w/l, weight per length of colon.
a An entry of "Yes" indicates that the study includes a GLP compliance statement.

1.3.2　フィルゴチニブと GS-829845 の併用投与による効力を裏付ける試験

Test Articles: Filgotinib and GS-829845

Study	Species / Strain	Method of Administration	Dose (mg/kg)	Gender and n per Group	Noteworthy Findings	GLP[a]	Study No. (CRO Study No.)
Evaluation of filgotinib co-dosed with its metabolite in a T cell transfer model of colitis	Mouse/ C.B-17 SCID	Oral gavage	FIL/GS-829845 50/50, 75/75, once daily	F30	DAI summed score, body weight loss, stool consistency, colon w/l ratios, full colon histopathology summed scores, colonic peripheral mononuclear percentages, colonic neutrophil scores, colonic edema, and colonic lymphoid aggregate counts, all significantly improved in both groups. pSTAT3+ cell numbers and levels of pSTAT1 and pTPL2 in colons were reduced in both groups. Decreased numbers of CD4+ and pSTAT1+ cells, decreased expression of 9 genes, decreased levels of three inflammatory cytokines and decreased pERK colon levels were observed in the 75/75 group.	No	PC-418-2002 ([redacted])

F, Female; DAI, Disease Activity Index; pSTAT, phosphorylated signal transducer and activator of transcription proteins; pTPL2, phosphorylated Tumor Progression Locus 2; pERK, phosphorylated Extracellular Signaling-Related Kinase; w/l, weight per length of colon.
a An entry of "Yes" indicates that the study includes a GLP compliance statement