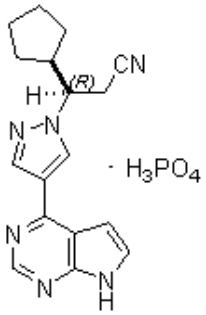
2.6.1 緒言

1 緒言

ルキソリチニブ（INC424）は Incyte Corporation で創製された Janus キナーゼ（JAK）1 及び JAK2 に選択性を示す JAK 阻害薬である。これまでに，骨髄線維症（MF）及び真性多血症（PV）の治療薬として国内外で承認されている。本書では，移植片対宿主病に対するルキソリチニブの有効性及び安全性の成績が得られたことから，ノバルティスファーマ株式会社はルキソリチニブの造血幹細胞移植後の移植片対宿主病（GVHD）に対する製造販売承認事項の一部変更承認申請を行うこととした。

ルキソリチニブは，JAK1 及び JAK2 を選択的に阻害することで，GVHD において炎症性サイトカインを制御し，ドナー由来エフェクターT 細胞の活性化，増殖，分化及び遊走を抑制する。その結果，GVHD の病態形成の抑制に寄与し，移植片対腫瘍（GVT）効果に影響を与えることなく GVHD に対して効果を発揮することが期待される。ルキソリチニブの化学構造をFigure 1-1に示す。

Figure 1-1 ルキソリチニブの化学構造



2.6.2 薬理試験の概要文

目　次

目　次 2
図 一 覧 2
略号一覧 3
1 薬理試験の概要文 4
1.1 まとめ 4
2 効力を裏付ける試験 6
2.1 急性 GVHD に対する効果 6
2.1.1 ステロイド未治療の急性 GVHD マウスモデルに対するルキソリチニブの効果 6
2.1.2 ステロイド抵抗性急性 GVHD マウスモデルにおけるルキソリチニブの有効性 7
2.2 慢性 GVHD に対する効果 8
2.2.1 慢性 GVHD マウスモデルにおけるルキソリチニブの有効性 8
3 副次的薬理試験 9
4 安全性薬理試験 10
5 薬力学的薬物相互作用試験 10
6 考察及び結論 10
7 参考文献 10

図 一 覧

Figure 1-1 JAK1/2 阻害剤による T 細胞への影響 5
Figure 2-1 ルキソリチニブの急性 GVHD に伴う体重減少の抑制作用 7
Figure 2-2 ルキソリチニブの急性 GVHD スコアの軽減作用 8
Figure 2-3 ルキソリチニブの慢性 GVHD に伴う体重減少の抑制作用 9
Figure 2-4 ルキソリチニブの慢性 GVHD スコアの軽減作用 9

略号一覧

略号	省略していない表現（英）	省略していない表現（日）
APC	antigen presenting cells	抗原提示細胞
CXCR	CXC Chemokine Receptor	CXC ケモカイン受容体
GVHD	graft versus host disease	移植片対宿主病
GVT	graft versus tumor	移植片対腫瘍
HSCT	hematopoietic stem cell transplantation	造血幹細胞移植
IFN	interferon	インターフェロン
IL	interleukin	インターロイキン
JAK	janus associated kinase	Janus キナーゼ
MHC	major histocompatibility complex	主要組織適合抗原複合体
NK	natural killer	ナチュラルキラー
scGVHD	sclerodermatous chronic graft-versus-host disease	強皮症様の皮膚病変を有する慢性移植片対宿主病
STAT	signal transducer and activator of transcription	シグナル伝達兼転写活性化因子
T_{eff}	effector T cell	エフェクターT 細胞
TNF	tumor necrosis factor	腫瘍壊死因子
T_{reg}	regulatory T cell	制御性 T 細胞

1 薬理試験の概要文

1.1 まとめ

移植片対宿主病（GVHD）は，同種造血幹細胞移植（HSCT）での移植片中に含まれるドナー由来の T 細胞がレシピエント由来の非自己抗原を認識することによって発症し，同種 HSCT の最も重要かつ多く認められる合併症である。GVHD は病理組織学的徴候又は臨床的徴候によって急性 GVHD と慢性 GVHD に分類され，発症時期や症状によって古典的な群と非典型的な群にそれぞれ亜分類される（日本造血細胞移植学会 2018）。急性 GVHD は，同種 HSCT 後 14～21 日ごろの生着時期から発現し，早期に認められる皮疹，黄疸，下痢を特徴とする症候群で，移植片の宿主に対する免疫学的反応によるものと定義される。一方，慢性 GVHD は，自己免疫疾患に類似した病態を含むさまざまな臨床症状を呈し，多くは移植後 3 ヵ月から 1 年半の間に発症する。

急性 GVHD の発症機序は，主に 3 つの段階に分類され，最終的に組織障害に至る。第一段階として，患者自身の基礎疾患，HSCT 前処置，感染等に起因する組織損傷が起こり，腫瘍壊死因子（TNF）α 及びインターロイキン（IL）1β 等の炎症性サイトカインが産生され，宿主の抗原提示細胞（APC）が活性化される。第二段階として，宿主 APC 及びドナーT 細胞の相互作用によりドナーT 細胞が活性化並びに増殖し，エフェクターT 細胞（T_{eff}）へと分化する。第三段階として，T_{eff}及び他のエフェクター細胞（ナチュラルキラー（NK）細胞，NKT 細胞，マクロファージ，好中球）が皮膚，肝臓，及び消化管等の標的臓器へと遊走し，インターフェロン（IFN）γ 等の炎症性サイトカインの放出や細胞自身の傷害活性により，宿主の組織及び臓器に対して障害をきたす。慢性 GVHD の免疫学的病態生理は急性 GVHD に比べて複雑であり，詳細な発生機序は明らかにはされていない。第一段階として臓器障害による炎症反応，第二段階として胸腺の障害による慢性的な炎症を経て，第三段階では慢性的な炎症反応により臓器の線維化へと段階的に進展すると考えられている。急性及び慢性 GVHD の発症機序の各過程において，JAK-STAT 経路の活性化が認められている（Ali et al. 2020）。

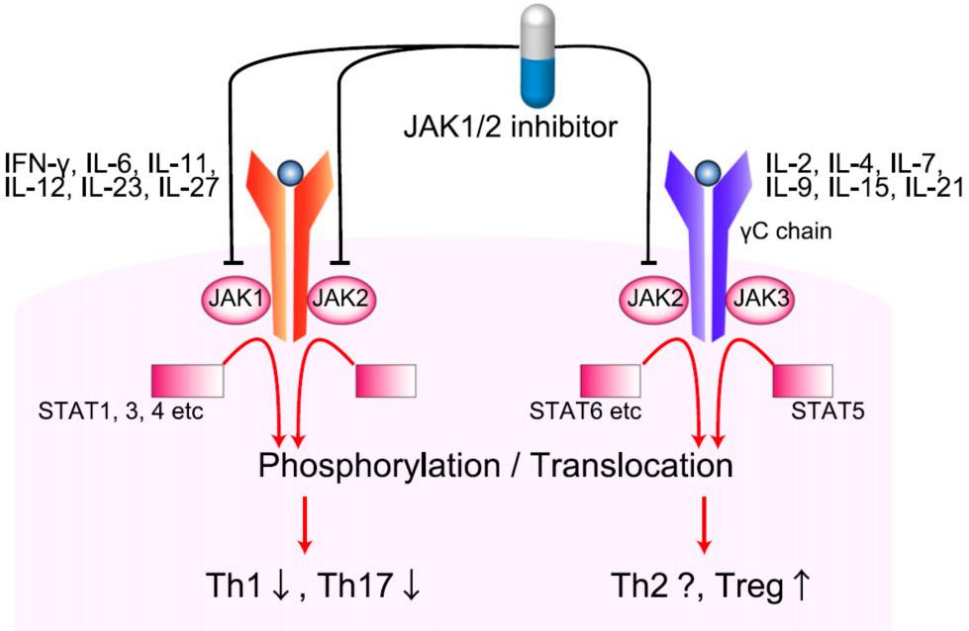
ルキソリチニブは，強力かつ選択的な JAK1 及び JAK2 の阻害剤である（Figure 1-1）。ルキソリチニブは，JAK1/JAK2 下流のサイトカインシグナル伝達を阻害することで，GVHD における急性期の過剰な炎症性サイトカイン産生を抑制する（Spoerl et al. 2014）。また，ドナー由来 T_{eff}の増殖を抑制し，$CD4^+$ T 細胞から IFN-γ/IL-17A 産生細胞への分化を抑制する（Spoerl et al. 2014, Heine et al. 2013）。さらに，IFN シグナル伝達の阻害により，GVHD 標的臓器への T 細胞移動において重要な役割を担う CXC ケモカイン受容体（CXCR）3 の発現を減少させ，移植片対腫瘍（GVT）効果に影響を及ぼすことなく GVHD を抑制する（Choi et al. 2014）。なお，ルキソリチニブは制御性 T 細胞（T_{reg}）の生存及び増殖に必要な JAK3 経路には影響を与えないため相対的な T_{reg}の増加による免疫制御にも寄与していると考えられる（Spoerl et al. 2014）。これまでの非

臨床試験からの知見により，急性及び慢性 GVHD モデルを用いた非臨床試験では，GVHD の病態改善及び死亡率の低下が確認されている（Choi et al. 2014, Zeiser et al. 2015）。

さらに，急性 GVHD モデルであるマウス主要組織適合抗原複合体（MHC）不適合同種 HSCT モデルを用いて，ステロイド未治療条件下では予防期及び治療期に，ステロイド抵抗性の条件下では治療期に，ルキソリチニブを 1 日 2 回 60 mg/kg の用量でそれぞれ経口投与した結果，いずれの試験系においても溶媒投与群と比較して，GVHD スコア及び GVHD に伴う体重減少の改善が認められた。また，ステロイド未治療条件下での試験においては，炎症性サイトカイン発現の減少，JAK のシグナル下流である STAT3/STAT5 リン酸化の阻害及び病変結腸組織への免疫細胞浸潤の減少を確認した[2.6.3.1-PRECLIN-18.02.1]。さらに，強皮症様の皮膚病変を有する慢性 GVHD（scGVHD）モデルとして，MHC 適合かつマイナー組織適合性抗原不適合のマウスモデルを用いて，治療期にルキソリチニブを 1 日 2 回 60 mg/kg の用量で経口投与した結果，ルキソリチニブ投与群では溶媒投与群と比較して，GVHD スコア及び GVHD に伴う体重減少の改善，皮膚病変の改善並びに死亡率の低下が認められた [2.6.3.1-PRECLIN-20]。

以上，ルキソリチニブは，JAK1 及び JAK2 を選択的に阻害することで，急性及び慢性 GVHD において炎症性サイトカインを制御し，ドナー由来 T_{eff} の活性化，増殖，分化及び遊走を抑制する。その結果，GVHD の病態形成の抑制に寄与し，GVT 効果に影響を与えることなく急性及び慢性 GVHD に対して効果を発揮すると期待できる。

Figure 1-1　　JAK1/2 阻害剤による T 細胞への影響



Teshima et al. 2014

2 効力を裏付ける試験

効力を裏付ける試験では，急性及び慢性 GVHD に対するルキソリチニブの作用を記載する。

2.1 急性 GVHD に対する効果

急性 GVHD モデルである MHC 不適合同種 HSCT マウスモデルを用いて，ルキソリチニブの急性 GVHD における効果を検討した[2.6.3.1-PRECLIN-18.02.1]。C57BL/6 マウス由来の抗原特異的ドナーT 細胞を BALB/c マウスに移植することにより，宿主組織を標的とする特異的免疫応答をきたし，消化管，肺及び肝臓といった複数の臓器に GVHD が発症する。なお，宿主における免疫応答を抑制し，生着を促進する目的で，同種 HSCT に先立ち全身照射による前治療を行うことで，より確実に GVHD を誘導可能である。

移植前日に 8 Gy の全身照射により前処置を行い，移植当日に C57BL/6 マウスの骨髄及び脾臓由来の骨髄及び脾臓細胞を静脈内投与により同種移植した。移植後初期に体重減少がみられ，その後一過性の回復期間を経て，一般的には移植後 14 日前後で急性 GVHD を発症し，再び体重減少が進行する。急性 GVHD の程度を評価するため，活動性，姿勢，被毛及び皮膚の状態について臨床兆候をスコア化した。なお，BALB/c マウス由来の脾臓細胞及び T 細胞を除去した骨髄細胞を合わせたものを静脈内投与により同系移植した場合，GVHD を発症せず，本同系移植群を陰性対象として設定した。

2.1.1 ステロイド未治療の急性 GVHD マウスモデルに対するルキソリチニブの効果

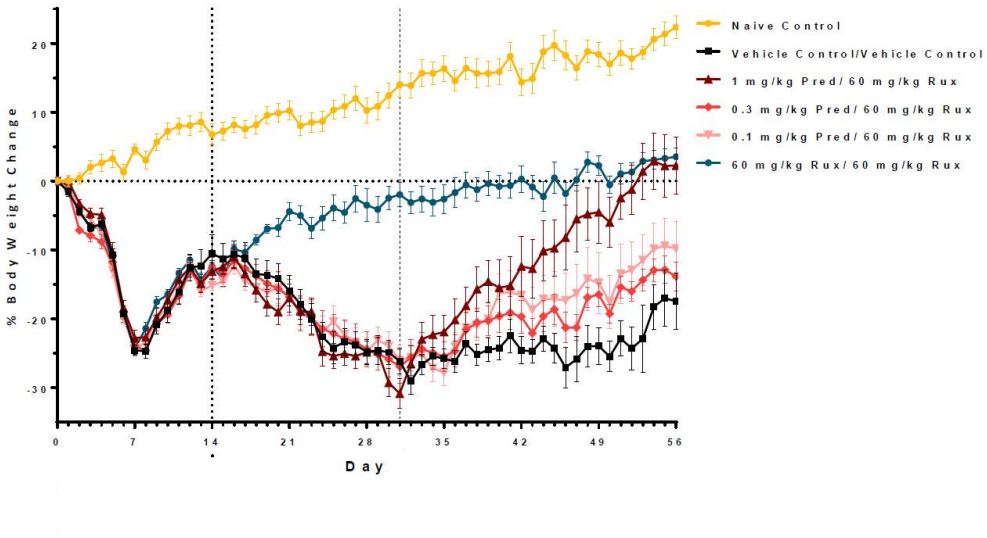
同種 HSCT 移植前 3 日目の予防期又は移植後 14 日目の治療期より，MHC 不適合同種 HSCT モデルにルキソリチニブを 1 日 2 回 60 mg/kg の用量でそれぞれ経口投与し，ステロイド未治療条件下におけるルキソリチニブの急性 GVHD に対する作用を検討した[2.6.3.1-PRECLIN-18.02.1]。移植後 35 日までの各時点で結腸を採取し，MAGPIX による炎症性サイトカインの測定，及び免疫組織化学染色法による CD3，CD4，CD8，pSTAT3 及び pSTAT5 の発現解析を実施した。

その結果，移植 3 日前又は移植後 14 日目よりルキソリチニブを投与した群では，溶媒投与群と比較して，GVHD スコア及び GVHD に伴う体重減少の顕著な改善が認められた。ルキソリチニブ投与群及び溶媒投与群のドナー細胞には差は認められなかったことから，ルキソリチニブ投与はドナーの生着には影響を与えなかった。また，移植後 28 日目の結腸組織中の IFNγ，IL-1β 及び TNFα の濃度は，溶媒投与群と比較してルキソリチニブ投与群で有意に低下していた。また，ルキソリチニブ投与群では，移植後 28 日目の結腸組織中において $pSTAT3^+$，$pSTAT5^+$，$CD4^+$及び $CD8^+$の T 細胞がそれぞれ顕著に減少したことから，ルキソリチニブは JAK のシグナル下流である STAT3/STAT5 リン酸化を阻害し，病変結腸組織への免疫細胞浸潤を減少させることが示された。

2.1.2 ステロイド抵抗性急性 GVHD マウスモデルにおけるルキソリチニブの有効性

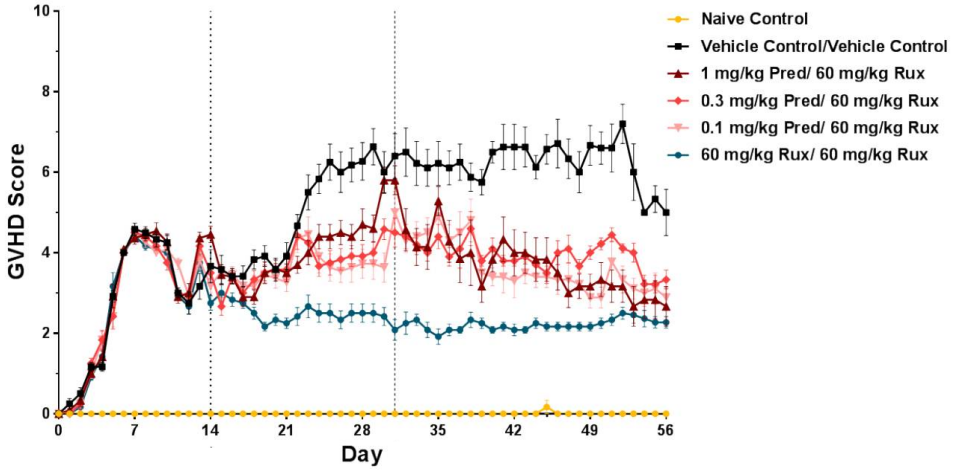
同種 HSCT 移植後 14 日目より，プレドニゾロン（1.0，0.3 及び 0.1 mg/kg）の投与を開始し，ステロイド抵抗性の急性 GVHD モデルを作製し，ステロイド抵抗性の条件下におけるルキソリチニブの作用を検討した[2.6.3.1-PRECLIN-18.02.1]。ステロイド抵抗性を確認後，移植後 31 日目に 1 日 2 回 60 mg/kg の用量でルキソリチニブの経口投与を開始し，移植後 56 日目まで投与した（ステロイド/ルキソリチニブ群）。未処置群，溶媒投与群，同種 HSCT 移植後 14 日目よりルキソリチニブを投与し，移植後 56 日目まで投与した群（ルキソリチニブ/ルキソリチニブ群）をそれぞれ設定した。ステロイド/ルキソリチニブ群のプレドニゾロン投与時においては，GVHD に伴う体重減少は溶媒投与群と同程度であったが，ルキソリチニブ投与へ切替え後，体重減少の改善が認められた（Figure 2-1）。また，プレドニゾロン投与中に GVHD スコアの悪化が認められたステロイド/ルキソリチニブ群において，ルキソリチニブ投与へ切替え後に GVHD スコアが改善し，移植後 56 日目の時点での GVHD の程度はルキソリチニブ/ルキソリチニブ群とほぼ同等であった（Figure 2-2）。さらに，ルキソリチニブ/ルキソリチニブ群及びステロイド/ルキソリチニブ群では，溶媒投与群と比較して死亡率が有意に低下した。

Figure 2-1 ルキソリチニブの急性 GVHD に伴う体重減少の抑制作用



毎日の体重を測定し，HSCT 移植日に対する体重の割合を算出した。
Source: [2.6.3.1-PRECLIN-18.02.1]

Figure 2-2　　ルキソリチニブの急性 GVHD スコアの軽減作用



Day 56 の試験終了まで，GVHD スコアを毎日記録した。
Source: [2.6.3.1-PRECLIN-18.02.1]

2.2　　慢性 GVHD に対する効果

scGVHD モデルとして，MHC 適合かつマイナー組織適合性抗原不適合のマウスモデルを用いて，ルキソリチニブの慢性 GVHD における効果を評価した。GVHD の発症は LP/J マウス由来の抗原特異的ドナーT 細胞を C57BL/6 マウスに移植することにより，宿主組織を標的とする特異的免疫応答をきたし，GVHD が発症する。なお，宿主における免疫応答を抑制し，生着を促進する目的で，同種 HSCT に先立ち全身照射による前治療を行うことで，より確実に GVHD を誘導可能である。

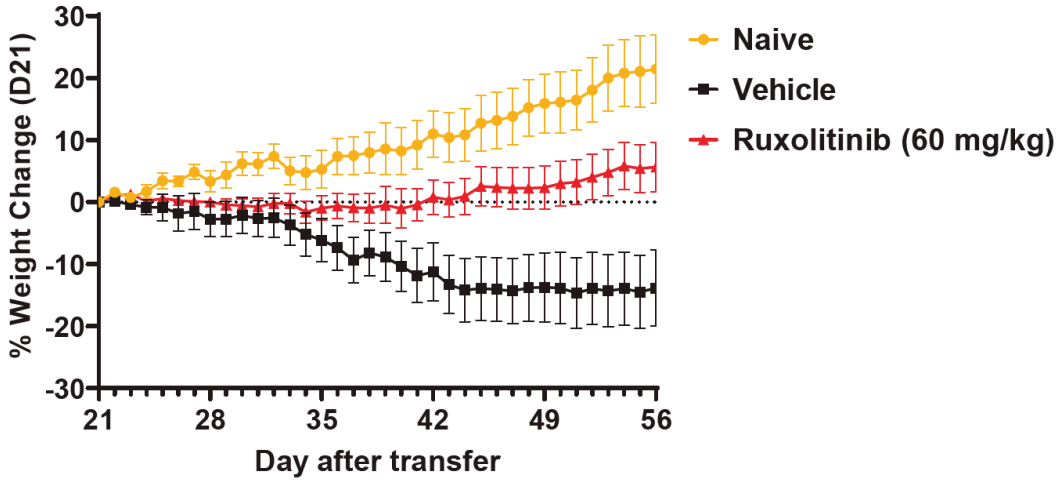
移植前日に 8.5 Gy の全身照射により前処置を行い，移植当日に LP/J マウスの骨髄及び脾臓由来の骨髄及び脾臓細胞を静脈内投与により同種移植した。移植後 21 日前後において，進行性の体重減少及び GVHD の臨床兆候が認められ，scGVHD が発症する。scGVHD の程度を評価するため，体重変化率，活動性，姿勢，被毛及び皮膚の状態について臨床兆候をスコア化した。全例の生存を追跡し，皮膚及び肺試料の病理組織学的分析を実施した。なお，全身照射及び細胞移植をしていない LP/J マウスを陰性対照（ナイーブ群）として設定した。

2.2.1　　慢性 GVHD マウスモデルにおけるルキソリチニブの有効性

同種 HSCT 移植後 21 日目から 56 日目の試験終了時まで，MHC 適合かつマイナー組織適合性抗原不適合のマウスモデルにルキソリチニブを 1 日 2 回 60 mg/kg の用量で経口投与し，ルキソリチニブの慢性 GVHD に対する作用を検討した[2.6.3.1-PRECLIN-20]。その結果，ルキソリチニブ投与群では溶媒投与群と比較して，scGVHD スコア及び GVHD に伴う体重減少の改善（Figure 2-

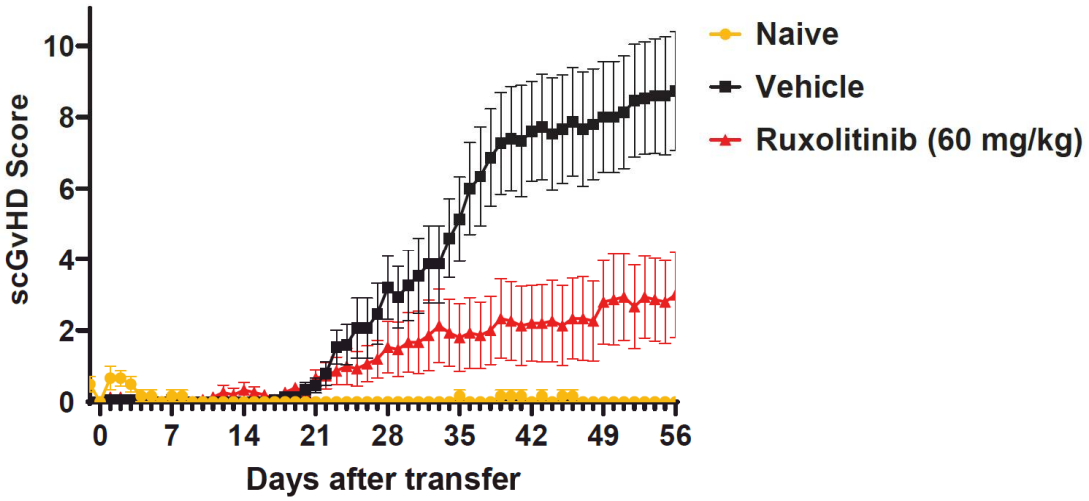
3，Figure 2-4），無増悪生存期間の延長及び死亡率の低下が認められた。また，皮膚病変の改善，並びに皮膚及び肺の炎症の減少がみられた。

Figure 2-3　　ルキソリチニブの慢性 GVHD に伴う体重減少の抑制作用



毎日の体重を測定し，HSCT 移植後 21 日目に対する体重の割合を算出した各群 6～15 例。
Source: [2.6.3.1-PRECLIN-20]

Figure 2-4　　ルキソリチニブの慢性 GVHD スコアの軽減作用



Day 56 の試験終了まで，GVHD スコアを毎日記録した。各群 6～15 例。
Source: [2.6.3.1-PRECLIN-20]

3　　副次的薬理試験

該当資料なし。

4 安全性薬理試験

該当資料なし。

5 薬力学的薬物相互作用試験

該当資料なし。

6 考察及び結論

ルキソリチニブは，*in vivo* での急性及び慢性 GVHD モデルにおいて，GVHD スコア及び GVHD に伴う体重減少を改善し，死亡率を減少させた。また，ステロイド未治療の急性 GVHD モデルにおいて，炎症性サイトカインの抑制，JAK のシグナル下流である STAT3/STAT5 リン酸化の阻害及び病変組織への T 細胞を中心とする免疫細胞浸潤の抑制に寄与し，GVHD に対するルキソリチニブの薬力学的効果が明らかとなった。さらに，慢性 GVHD モデルにおいてルキソリチニブは，皮膚病変を改善し，皮膚及び肺の炎症を減少させた。

以上の結果から，ルキソリチニブを投与することで，GVHD に対して優れた抑制効果が期待される。

7 参考文献

[Ali H, Salhotra A, Modi B, et al. (2020)] Ruxolitinib for the treatment of graft-versus-host disease. Expert Rev Clin Immunol; 16(4):347-59.

[Choi J, Cooper ML, Alahmari B, et al. (2014)] Pharmacologic blockade of JAK1/JAK2 reduces GvHD and preserves the graft-versus-leukemia effect. PLoS One; 9(10):e109799.

[Heine A, Held SAE, Daecke SN, et al. (2013)] The JAK-inhibitor ruxolitinib impairs dendritic cell function in vitro and in vivo. Blood;122(7):1192-202.

[Spoerl S, Mathew NR, Bscheider M, et al. (2014)] Activity of therapeutic JAK 1/2 blockade in graft-versus-host disease. Blood;123(24):3832-42.

[Teshima T (2014)] JAK inhibitors: a home run for GVHD patients? Blood;123 (24):3691-3.

[Zeiser R, Burchert A, Lengerke C, et al. (2015)] Ruxolitinib in corticosteroid-refractory graft-versus-host disease after allogeneic stem cell transplantation: a multi-center survey. Leukemia;29(10):2062-8.

日本造血細胞移植学会 (2018) 造血細胞移植学会ガイドライン第 1 巻 GVHD 第 4 版 (Internet) Available from: <https://www.jshct.com/guideline/pdf/01_02_gvhd_ver04.pdf> (Accessed 20 August 2020) (available upon request)

2.6.3 薬理試験概要表

目　次

目　次 2
略号一覧 3
2.6.3.1　薬理試験一覧表 4
2.6.3.2　薬効を裏付ける試験 5
2.6.3.3　副次的薬理試験 5
2.6.3.4　安全性薬理試験 5

略号一覧

略号	省略していない表現（英）	省略していない表現（日）
GVHD	graft-versus-host disease	移植片対宿主病
HSCT	hematopoietic stem cell transplantation	造血幹細胞移植
MHC	major histocompatibility complex	主要組織適合抗原複合体
scGVHD	sclerodermatous chronic GVHD	強皮症様の皮膚病変を有する慢性移植片対宿主病

2.6.3.1 薬理試験一覧表

試験の種類	試験系／プロトコール	投与方法	実施施設	試験番号	CTD における記載箇所
効力を裏付ける試験					
In vitro 薬理試験					
該当なし					
In vivo 薬理試験					
MHC 不適合同種 HSCT に伴う急性 GVHD モデル（ステロイド未治療及び抵抗性）	全身照射による前処置後，C57BL/6 マウスの骨髄及び脾臓由来細胞を静脈内投与により同種移植し，BALB/c マウスに急性 GVHD を発症させた。ステロイド未治療の条件下で，ルキソリチニブを 1 日 2 回 60 mg/kg の用量で経口投与し，体重，GVHD スコア，生着，結腸組織への炎症，細胞プロファイル，薬力学的作用を測定した。また，ステロイド抵抗性の条件下でルキソリチニブを 1 日 2 回 60 mg/kg の用量で経口投与し，体重，GVHD スコア，生存期間を評価した。	経口投与	[redacted], USA	[PRECLIN-18.02.1]	4.2.1.1-1
MHC 適合かつマイナー組織適合性抗原不適合同種 HSCT に伴う慢性 GVHD モデル	全身照射による前処置後，LP/J マウスの骨髄及び脾臓由来細胞を静脈内投与により同種移植し，C57BL/6 マウスに慢性 GVHD を発症させた。ルキソリチニブを 1 日 2 回 60 mg/kg の用量で経口投与し，体重，scGVHD スコア，生存期間，無増悪生存期間，皮膚病変，皮膚及び肺の炎症について評価した。	経口投与	[redacted], USA	[PRECLIN-20.04.01]	4.2.1.1-2

2.6.3.2　薬効を裏付ける試験

該当なし（2.6.3.1 薬理試験一覧表に記載したため。）。

2.6.3.3　副次的薬理試験

該当なし。

2.6.3.4　安全性薬理試験

該当なし。