ルプキネスカプセル7.9 mg

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

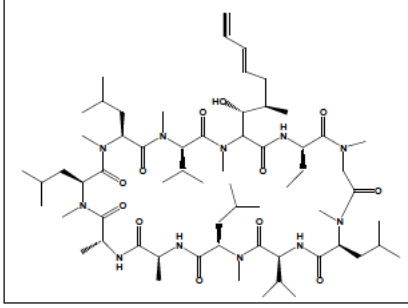
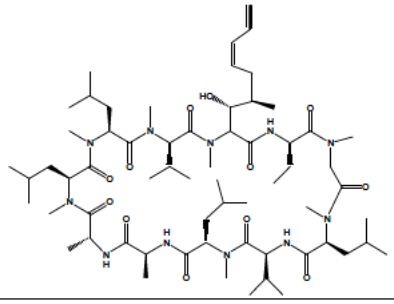
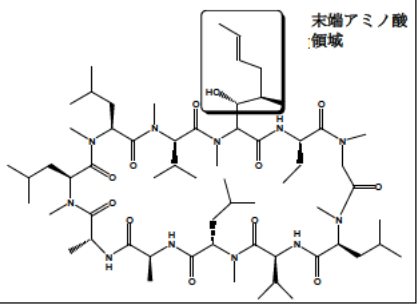
目次

目次 2
2.6.1 緒言 3
2.6.2 参考文献 5

2.6.1　緒言

次世代カルシニューリン阻害薬（CNI）であるボクロスポリンは，末端アミノ酸領域の修飾を除いてシクロスポリン A（CsA）と構造的に類似している。本薬は，末端アミノ酸の修飾された官能基の向きに応じた，トランス異性体及びシス異性体という 2 種類の幾何異性体により構成される（表 2.6.1-1）。この修飾によりボクロスポリンのカルシニューリンへの結合が変化し，in vitro 及び in vivo のいずれにおいても CsA と比較して薬効が強いことが明らかになっている。さらにこの修飾によって，CsA の主要な代謝部位である末端アミノ酸からの代謝が変化し，CsA と異なる代謝プロファイルとなっている。ボクロスポリンがもつ高い力価と代謝物プロファイルの変化という組み合わせにより，CsA と比較して一貫性の高い薬物動態（PK）/薬力学的関係が得られ，低用量の投与が可能となり，さらに安全性プロファイルが改善される可能性がある。

表 2.6.1-1　　ボクロスポリンのトランス及びシス異性体並びに CsA の構造

ボクロスポリンのトランス異性体	ボクロスポリンのシス異性体	CsA
		

注：CsA＝ シクロスポリン A

カルシニューリン阻害薬はこれまで，白血球の活性化及び特に T リンパ球におけるサイトカイン産生を可逆的に阻害することが示されている。CsA は，ユビキタスな細胞内タンパク質であるシクロフィリンに結合することにより，T リンパ球に対する抑制作用を示す。次にこの複合体は，カルシニューリン酵素のカルシウム及びカルモジュリン依存性セリン-スレオニンホスファターゼ活性を阻害する。カルシニューリンの阻害はさらに，T 細胞活性化においてサイトカイン遺伝子（インターロイキン-2，インターフェロン-γ，インターロイキン-4 及び顆粒球マクロファージコロニー刺激因子）の誘導に必要な様々な転写因子の活性化を阻害する。ボクロスポリンの免疫抑制活性が CsA と比較して強力であることは，非臨床薬理試験及び毒性試験において立証されている。

ループス腎炎の病態形成において T 細胞を介した免疫応答は重要である[1, 2]。ループス腎炎の治療薬としてボクロスポリンを使用する根拠は，一部には T 細胞活性化に対する免疫抑制作用に基づいている。

開発初期相に使用され，mix-ISA247 と呼ばれていた（試験報告書では $ISA_{TX}247$ とも呼ばれた）本薬の当初の剤形は，幾何異性体をほぼ等量含んでいた（トランス型 45%～50%，シス型 50%～

55%）。臨床開発中に，製造，規制及び有効性/毒性を考慮した上で，トランス異性体を多く（トランス異性体 [redacted]%～[redacted]%）含有する原薬を開発した。これが現在，ボクロスポリンと呼ばれている製剤である（別名トランス型 ISA247，ISA247 及び LX211）。「非臨床試験の概要」全体を通して，本原薬/製剤は，その剤形及び治験依頼者に応じて複数の名称で記載している。以下の取り決めに従って表記する：

- ボクロスポリン：有効成分名（国際一般名）であり，現在大塚製薬株式会社/Aurinia Pharmaceuticals Inc.により開発が進められている，トランス異性体を [redacted]%～[redacted]%含有する製剤の名称。
- ISA247，トランス型 ISA247：過去に Isotechnika Pharma Inc.（Isotechnika）により開発された，トランス異性体を [redacted]%以上含有するボクロスポリンの製剤。
- LX211：Lux Biosciences, Inc.により使用されている，トランス異性体を [redacted]%以上含有するボクロスポリンの製剤。
- Mix-ISA247（試験報告書には $ISA_{TX}247$ とも記載している）：ボクロスポリンのトランス異性体 45%～50%及びシス異性体 50%～55%を含有。非臨床試験の概要文では確認しやすいよう，全文を通して「mix-ISA247」という用語を使用している。

ボクロスポリンの免疫抑制活性は，非臨床薬理試験及び毒性試験において立証されている。初期の非臨床プログラムには mix-ISA247 を使用した。ブリッジング毒性プログラムとして，ラットを用いた 13 週間経口投与毒性試験，ウサギを用いた 13 日間催奇形性試験，in vitro 代謝試験及び霊長類を用いた心血管系試験を実施した。2003 年以降は，すべての非臨床試験及び臨床試験でボクロスポリンを使用している。Mix-ISA247 は，現在では試験を実施しておらず，今後の開発及び販売の予定もない。Mix-ISA247 を用いて実施した試験の結果は，非臨床試験の概要文に関連する場合を除き，通常は考察の対象としない。Mix-ISA247 は臨床試験においても検討されたが，すべての試験はボクロスポリンを用いて再試験されたことから，本申請資料には mix-ISA247 の臨床試験を記載していない。開発の後半にボクロスポリンを用いて実施された非臨床試験として，がん原性試験，薬理試験及び PK 試験のほか，幼若ラットを用いた試験がある。

2016 年 12 月，申請した非臨床パッケージを含む数点のテーマについて欧州医薬品庁（EMA）の科学的助言を求めた[3]。2017 年 3 月 23 日に発行された Final Advice Letter において，申請した非臨床パッケージが，ループス腎炎を適応症とする MAA の十分な裏付けとなるだろうという CHMP の同意が示された。したがって，免疫抑制薬としてのボクロスポリンの非臨床薬理及び安全性プロファイルが開発プロセスにおいて十分に解明されているとの同意が得られたことから，ループス動物モデルを用いた追加の非臨床試験は実施していない。

ヒトにおける投与経路として経口を予定していることから，安全性薬理試験でも経口投与を行った。特記なき限り，すべての非臨床薬理試験及び毒性試験では，溶媒としてビタミン E TPGS（D-α-トコフェリルポリエチレングリコール 1000 コハク酸塩）/中鎖トリグリセリド油/Tween 40/95%エタノール（[redacted], w/w/w/w）を使用した。初期の臨床プログラムにおいて，ボクロスポリンは経口投与用の 5 mg 又は 10 mg ソフトゼラチンカプセルとして提供され，長期投与の推奨用量を 0.4 mg/kg 1 日 2 回（BID）としていた。ループス腎炎患者を対象とした臨床試験における

ボクロスポリンは，経口投与用の 7.9 mg ソフトゼラチンカプセルとして提供され，推奨用量を 23.7 mg BID とした。市販用にも同用量・用法を予定している。

2.6.2 参考文献

1 Comte D, Karampetsou MP, Tsokos GC. T cells as a therapeutic target in SLE. Lupus. 2015;24:351-63.

2 Rahman A, Isenberg DA. Systemic lupus erythematosus. N Engl J Med. 2008 Feb 28;358(9):929-39.

3 EMEA/H/SA/3483/1/2017/SME/III. EMA Scientific Advice sought on LN development programme; Final Advice Letter issued 23 March 2017.

ルプキネスカプセル 7.9 mg

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 6

2.6.2.1 まとめ 6

2.6.2.1.1 効力を裏付ける試験 7

2.6.2.1.2 副次的薬理試験 8

2.6.2.1.3 安全性薬理試験 8

2.6.2.1.4 薬理試験の概要 9

2.6.2.2 効力を裏付ける試験 9

2.6.2.2.1 カルシニューリン阻害アッセイにより測定された免疫抑制活性 9

2.6.2.2.2 T 細胞機能に対する影響 10

2.6.2.2.3 自己免疫疾患モデル 11

2.6.2.2.4 移植動物モデルにおける有効性 12

2.6.2.3 副次的薬理試験 15

2.6.2.3.1 Mix-ISA247 の腎臓に対する影響 15

2.6.2.3.2 移植膵島細胞に対する mix-ISA247 の影響 17

2.6.2.4 安全性薬理試験 17

2.6.2.4.1 CHO 細胞を用いた hERG アッセイ 17

2.6.2.4.2 ウサギプルキンエ線維アッセイ 18

2.6.2.4.3 覚醒下サルにおける心血管系に対する影響（1） 18

2.6.2.4.4 覚醒下サルにおける心血管系に対する影響（2） 19

2.6.2.4.5 ラットにおける中枢神経系に対する影響 20

2.6.2.4.6 ラットにおける呼吸系に対する影響 20

2.6.2.4.7 ラットにおける腎/泌尿器系に対する影響 21

2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用 21

2.6.2.6 考察及び薬理試験の全般的結論 21

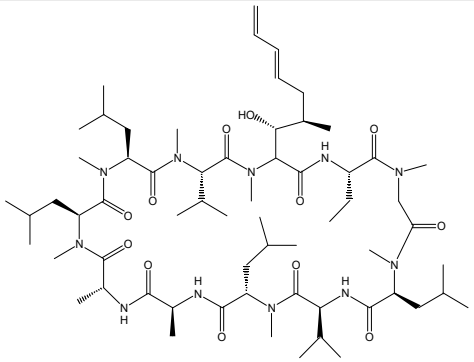
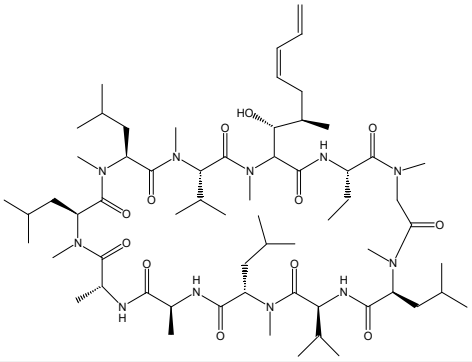
2.6.2.7 図表 23

2.6.2.8 参考文献 23

略号一覧

略号	省略していない表現
APD_{90}	Action potential duration at 90% repolarization　90%再分極時活動電位持続時間
AUC	Area under the concentration-time curve　濃度 - 時間曲線下面積
AUC_{10h}	投与後 0 時間から 10 時間までの AUC
AUC_{12h}	投与後 0 時間から 12 時間までの AUC
AUC_{24h}	投与後 0 時間から 24 時間までの AUC
BID	Twice daily　1 日 2 回
C_{3h}	Drug concentration at 3 hours　投与 3 時間後の薬物濃度
CHO	Chinese hamster ovary　チャイニーズハムスター卵巣
C_{max}	Maximum concentration　最高濃度
CNI	Calcineurin inhibitor　カルシニューリン阻害薬
CsA	Cyclosporine A　シクロスポリン A
EAU	Experimental autoimmune uveoretinitis　実験的自己免疫性ぶどう膜炎
ECG	Electrocardiogram　心電図
E_{max}	Maximum effect　最大効果
EC_{50}	Half maximal effective concentration　50%効果濃度
GLP	Good Laboratory Practices　医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
hERG	Human Ether-à-go-go Related Gene　ヒト遅延整流性カリウムイオンチャネル遺伝子
IC_{20}	Twenty percent inhibitory concentration　20%阻害濃度
IC_{50}	Half maximal inhibitory concentration　50%阻害濃度
IP	Intraperitoneal　腹腔内
IRBP	Interphotoreceptor retinoid-binding protein　光受容体間レチノイド結合タンパク質
ISA247	Isotechnika Pharma Inc. designation for voclosporin　ボクロスポリンの Isotechnika Pharma Inc.による呼称
IVGTT	Intravenous glucose tolerance test　静脈内糖負荷試験
LN	Lupus nephritis　ループス腎炎
LX211	Lux Biosciences, Inc. designation for voclosporin　Voclosporin の Lux Biosciences, Inc.による呼称
MCT	Medium chain triglyceride　中鎖脂肪酸トリグリセリド
mix-ISA247（$ISA_{TX}247$）	Formulation consisting of 45-50% *trans*- and 50-55% *cis*-isomers of voclosporin　ボクロスポリンのトランス異性体（45%～50%）及びシス異性体（50%～55%）を成分とする薬剤
NDA	New drug application　新薬承認申請
OGTT	Oral glucose tolerance test　経口糖負荷試験

PCNA	Proliferating cell nuclear antigen 増殖細胞核抗原
PD	Pharmacodynamic(s)　薬力学
PK	Pharmacokinetic(s)　薬物動態
PTLD	Post-transplant lymphoproliferative disorder　移植後リンパ増殖性疾患
QTc	Corrected QT interval　補正 QT 間隔
TK	Toxicokinetic(s)　トキシコキネティクス
t_{max}	Time of maximum concentration　最高濃度到達時間
TPGS	D-alpha-tocopheryl-polyethylene glycol 1000 succinate　コハク酸 *d*-α-トコフェロールポリエチレングリコール

名称（由来）	構造式
ボクロスポリン（JAN）のトランス異性体	
ボクロスポリン（JAN）のシス異性体	

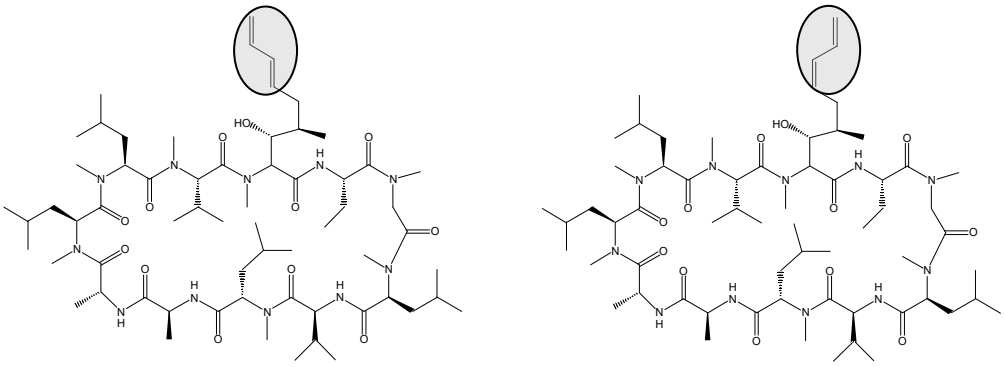
2.6.2　薬理試験の概要文

2.6.2.1　まとめ

非臨床薬理データから，ボクロスポリンはホスファターゼであるカルシニューリンの強力な阻害薬であり，自己免疫性ぶどう膜炎，関節炎及び臓器移植など複数の免疫関連動物モデルにおいて薬理活性が確認されている。また，安全性薬理試験により，心血管系，中枢神経系，呼吸系及び腎/泌尿器系に関する優れた安全性プロファイルが立証されている。QT 延長に対する潜在的影響が *in vivo* 及び *in vitro* において確認されているが，ボクロスポリンの治療用量を上回る用量で認められ，薬理活性に必要な用量では，この影響は認められなかった。

ボクロスポリンは，末端アミノ酸の修飾された官能基の向きに応じた，トランス異性体及びシス異性体という 2 種類の幾何異性体により構成される（図 2.6.2.1-1）。

図 2.6.2.1-1　　ボクロスポリンの異性体



トランス異性体　　シス異性体

初期の非臨床及び臨床試験で使用した原薬/薬剤は，各異性体をほぼ等量含んでいた（トランス異性体 45%～50%，シス異性体 50%～55%）。同薬剤は，本書全体を通して mix-ISA247 と記載している。19[redacted] 年から 20[redacted] 年まで，mix-ISA247 の PD を *in vitro* 及び *in vivo* において検討した。この検討に基づき，20[redacted] 年，トランス異性体を多く（[redacted]%～[redacted]%）含有する新たな原薬/製剤を製造/開発することを決定した。本書全体を通して，本原薬/薬剤は，その剤形及び開発元に応じて複数の名称で記載している。以下の取り決めにしたがって表記する：

- ボクロスポリン：有効成分名（国際一般名）であり，大塚製薬株式会社/Aurinia Pharmaceuticals Inc.により開発が進められている，トランス異性体を [redacted]%～[redacted]%含有する薬剤の名称。
- ISA247，trans-ISA247：過去に Isotechnika Pharma Inc により開発された，トランス異性体を [redacted]%以上含有するボクロスポリンの薬剤。
- LX211：Lux Biosciences, Inc.により使用されている，トランス異性体を [redacted]%以上含有するボクロスポリンの薬剤。
- Mix-ISA247（試験報告書には $ISA_{TX}247$ とも記載している）：ボクロスポリンのトランス

異性体 45%～50%及びシス-異性体 50%～55%を含有する薬剤。本書では確認しやすいよう，全文を通して「mix-ISA247」という用語を使用している。

開発元がその開発対象を，トランス異性体を [redacted]%～[redacted]%含有する原薬に移行させていた過渡期では，PD 及び安全性薬理試験に mix-ISA247 及びボクロスポリンの双方を使用していた。2003 年以降は，すべての非臨床試験及び臨床試験でボクロスポリンを使用している（表 2.6.2.1.4-1）。

ヒトにおける投与経路として経口を予定していることから，安全性薬理試験でも経口投与を行った。特記なき限り，すべての経口投与試験では，溶媒としてビタミン E TPGS/MCT 油/Tween 40（ポリソルベート 40）/95%エタノール（[redacted]，w/w/w/w）を使用した。

ボクロスポリンは，構造的に CsA と類似した次世代の CNI である。本分子の末端アミノ酸残基の修飾により，ホスファターゼであるカルシニューリンに対するボクロスポリンの結合が変化し，CsA の主要な代謝部位である末端アミノ酸の代謝が変化している。これにより CsA と比較して力価が改善し，代謝プロファイルも変化している。ボクロスポリンがもつ高い力価と代謝物プロファイルの変化との組み合わせにより，優れた PK/PD が予測可能となっている。

CNI は，白血球の活性化及び特に T リンパ球におけるサイトカイン産生を可逆的に阻害することが示されている [1, 2]。CsA は，ユビキタスな細胞内タンパク質であるシクロフィリンに結合することにより，T リンパ球に対する抑制作用を示す。次にこの複合体は，カルシニューリン酵素のカルシウム及びカルモジュリン依存性セリン-スレオニンホスファターゼ活性を阻害する。これにより，T 細胞活性化においてサイトカイン遺伝子（インターロイキン-2，インターロイキン-4，インターフェロン-γ 及び顆粒球マクロファージコロニー刺激因子）の誘導に必要な様々な転写因子の活性化を阻害する。

2.6.2.1.1 効力を裏付ける試験

免疫抑制活性の PD マーカーとしてヒト全血におけるカルシニューリン阻害を用いた効力を裏付ける試験により，mix-ISA247 及びボクロスポリンは in vitro 試験において CsA よりも高い力価を示した（概要表 2.6.3.2，資料番号 4.2.1.1-01 及び 4.2.1.1-02）。このことは，カニクイザルを用いて別途実施された *in vitro* 及び *in vivo* 試験において確認されており（概要表 2.6.3.2，資料番号 4.2.1.1-03）[3]，これらの試験において mix-ISA247 は，CsA と比べて全体に高いリンパ球増殖阻害能を示した。カルシニューリン阻害の代替指標として *in vitro* ヒトリンパ球増殖アッセイを用いたとき，ヒトにおけるボクロスポリンの主要代謝物はボクロスポリン自体と比べて極めて低い力価を示した（概要表 2.6.3.2，資料番号 4.2.1.1-04）。Mix-ISA247 は CsA と比べてマウスに同種移植した膵島細胞の生着時間をより延長させた（概要表 2.6.3.2，資料番号 4.2.1.1-05）。ラット心移植モデルにおいても，mix-ISA247 及びボクロスポリンはいずれも CsA と比べて強力な薬効を示した（概要表 2.6.3.2，資料番号 4.2.1.1-06 及び 4.2.1.1-07）。血中濃度に基づいて投与量を調節したカニクイザルの腎移植試験において，同程度の曝露量で，mix-ISA247 は CsA と比べて強力な薬効を示した（概要表 2.6.3.2，資料番号 4.2.1.1-08）。最後に，自己免疫性の関節症モデルとして，コラーゲン誘導関節炎を発症したマウス，及び抗原誘導関節炎を発症したウサギにおいて，mix-ISA247 は CsA と比べて高い治療効果を示した（概要表 2.6.3.2，資料番号 4.2.1.1-09））。これらのデータは，動物モデルにおいてボクロスポリンは CsA と比べて薬効が強力であることを示

し，さらにループス腎炎（LN）などの T 細胞が関与する疾患において治療効果を発揮する可能性を示している。

ぶどう膜炎は，T 細胞が関与する眼の炎症性疾患であり，したがって，CsA など免疫抑制剤が奏効する。自己免疫性ぶどう膜炎のラットモデルにおいて（概要表 2.6.3.2）[4]，ボクロスポリンは EAU の発症を予防し，EAU に対して優れた治療効果を示した。ボクロスポリンを投与された動物由来のリンパ球では，無処置の動物由来のリンパ球と比べ，in vitro における抗原刺激による増殖を抑制していた。

LN の病態形成において T 細胞を介した免疫応答は重要である[5, 6]。LN の治療薬としてボクロスポリンを使用する根拠は，一部には T 細胞活性化に対する強力な免疫抑制作用に基づいている。

カニクイザルを用いた 39 週間経口投与毒性試験において，mix-ISA247 によるカルシニューリン阻害作用は全血中濃度と相関していた（概要表 2.6.3.2，資料番号 4.2.3.2-15）。

2.6.2.1.2　副次的薬理試験

副次的薬理試験により，腎移植サルにおける腎臓のミトコンドリア機能不全に対して，mix-ISA247（50 mg/kg）は，CsA（25 mg/kg）と比べて影響が小さいことが示された（概要表 2.6.3.3，資料番号 4.2.1.2-01）。ウサギを用いた試験で mix-ISA247 を 25 mg/kg/日以下の用量で 7 日間静脈内投与し，次いで 23 日間皮下投与したとき，腎臓に対する有害作用は認められなかったが，25 mg/kg/日群の 2 例は，代謝障害が認められ死亡した（概要表 2.6.3.3，資料番号 4.2.1.2-02）。膵島細胞を自家移植したイヌにおいて，mix-ISA247（20 mg/kg/日を 4 週間投与）は膵島細胞に対して毒性を示さなかったが，CsA（20 mg/kg/日を 4 週間投与）は膵島細胞機能に対して有害な作用を示した（概要表 2.6.3.3，資料番号 4.2.1.2-03）。

2.6.2.1.3　安全性薬理試験

Mix-ISA247，シス型 ISA247 及びボクロスポリンの心血管系に対する作用を評価するため，安全性薬理試験を実施した。覚醒サルを用いた 2 つの *in vivo* 試験において，mix-ISA247，シス型 ISA247 及びボクロスポリンは 200 mg/kg の用量で QT 間隔及び QTc を延長し，心室再分極に影響すると判断された（概要表 2.6.3.4，資料番号 4.2.1.3-03 及び 4.2.1.3-04）。これらの試験において心拍数に対する影響は認められず，ECG 波形からは RR，PR 又は QRS 間隔に対する影響も示されなかった。*In vitro* の電気生理学的試験として，hERG チャネルアッセイ及びウサギプルキンエ線維アッセイを実施し，それぞれ心臓のイオン電流及び活動電位持続時間に対するボクロスポリンの影響を評価した。CHO 細胞を用いた hERG アッセイの結果により，mix-ISA247，シス型 ISA247 及びボクロスポリンは *in vitro* において hERG K^+チャネルを介する再分極電流を阻害し，IC_{20} は約 6～18 µmol/L（7284～21852 ng/mL）であることが示された（概要表 2.6.3.4，資料番号 4.2.1.3-01）。これらの濃度は，治療効果を示すと推定される全血中濃度（0.093 µmol/L，約 113 ng/mL）を大きく上回っていた。さらに，ウサギプルキンエ線維アッセイにおいて，mix-ISA247 は検討した濃度範囲（設定濃度：0.01～10 µmol/L）で不整脈を誘発しなかった（概要表 2.6.3.4，資料番号 4.2.1.3-02）。また，イヌの 2 及び 13 週間，サルの 13 及び 39 週間反復投与毒性試験を含む，他のいずれの毒性試験においても，薬物投与に関連する ECG 異常は認められなかった。

ボクロスポリンの中枢神経系，呼吸器及び腎/泌尿器系に対する影響を評価するため，ラットを用いた安全性薬理試験を実施した。25 mg/kg（検討した最高用量）の投与により，投与後 120 分の時点で呼吸数の有意な減少が認められたが，投与後 360 分には消失した。また，一回換気量は増加しなかった（概要表 2.6.3.4，資料番号 4.2.1.3-06）。ボクロスポリンは 25 mg/kg の用量まで，神経薬理学的及び毒性学的徴候を引き起こさなかった（概要表 2.6.3.4，資料番号 4.2.1.3-05）。腎/泌尿器系に対する影響を検討した試験において認められたボクロスポリンの影響は，25 mg/kg（検討した最高用量）の投与による尿量の軽微な減少のみであった（概要表 2.6.3.4，資料番号 4.2.1.3-07）。

2.6.2.1.4　　薬理試験の概要

Mix-ISA247 又はボクロスポリンを用いて実施した非臨床薬理試験の一覧を表 2.6.2.1.4-1 に示す。これらの試験結果は，作用機序が CsA と類似している mix-ISA247 及びボクロスポリンの双方の免疫抑制活性を支持するものである。非臨床薬理試験の詳細な概要は概要表 2.6.3.1 に示す。

表 2.6.2.1.4-1　　Mix-ISA247 及び/又はボクロスポリンを用いた薬理試験の一覧

被験物質	開発タイムライン	年	試験	
			PD	安全性薬理試験
Mix-ISA247 単独	非臨床 [a]	19[redacted]-20[redacted]	ISA99-02 ISA00-05 ISA00-07 ISA00-21 ISA01-08 ISA01-14 ISA01-20 ISA02-01 ISA02-08 ISA02-09	ISA02-07 ISA03-15
Mix-ISA247 及びボクロスポリン	開発初期	20[redacted]-20[redacted]	ISA02-06 ISA03-05	ISA03-02 ISA03-14
ボクロスポリン単独	非臨床～NDA[b]	20[redacted]～現在	ISA08-40	ISA05-28 ISA05-29 ISA07-11

[a]：Mix-ISA247 は臨床試験においても検討されたが，すべての試験はボクロスポリンを用いて再試験されたことから，本申請資料には mix-ISA247 の臨床試験を記載していない。

[b]：NDA = 新薬承認申請

2.6.2.2　　効力を裏付ける試験

2.6.2.2.1　　カルシニューリン阻害アッセイにより測定された免疫抑制活性

（概要表 2.6.3.2，報告書番号 ISA00-05，ISA02-06，ISA02-01，ISA01-08）

CsA 又は CsA 誘導体の有効性の 1 つの指標は，カルシニューリンのホスファターゼ活性の阻害能である。カルシニューリン阻害アッセイは，薬物の作用部位での活性を測定することから，

CsA 誘導体の力価の直接的な *in vitro* 評価法である[7]。

In vitro カルシニューリン阻害アッセイを用いて，ヒト血液で mix-ISA247，ボクロスポリン及びシス型 ISA247 の免疫抑制活性を，CsA と比較評価した（概要表 2.6.3.2，資料番号 4.2.1.1-01 及び 4.2.1.1-02）。この結果から，mix-ISA247 によるカルシニューリン活性の阻害は CsA の 2 倍，ボクロスポリンによるカルシニューリン活性の阻害は CsA の 1.5 倍強力であり，シス型 ISA247 による阻害は中間的な数値であることが示唆された。

サルにおける mix-ISA247 によるカルシニューリン阻害は用量に依存して増強し，カルシニューリン阻害率の平均値 ± 標準偏差は 25 mg/kg/日群で 42%±20%，75 mg/kg/日群で 74%±16%，150 mg/kg/日群で 87%±7%であった（75 mg/kg/日群, 150 mg/kg/日群は統計学的に有意，$p < 0.05$）（概要表 2.6.3.2，資料番号 4.2.3.2-15）。また，最大カルシニューリン阻害活性は C_{max} と相関し（$R = 0.76$），最高薬物濃度と最大カルシニューリン阻害作用との間に時間差はほとんど又はまったくないことが示された。このことは，PD 効果と薬物濃度との間に直接的な関係があることを示している。

カルシニューリン阻害の代替指標としてリンパ球増殖アッセイを用い，ボクロスポリン及びその 5 つの代謝物［IM9，IM4，IM4n，IM1c(R)，IM1-Diol-1 の免疫抑制力価を検討した（最終濃度：0～1000 ng/mL）（概要表 2.6.3.2，資料番号 4.2.1.1-04）。細胞培養系において，抗体を介して T 細胞受容体を刺激してヒトリンパ球を 3 日間活性化することで，カルシニューリン依存性のリンパ球増殖を誘導した。その結果，ボクロスポリンの力価が最大であった［IC_{50}（平均値 ± 標準偏差）：17.5±9.6 ng/mL］。代謝物の力価はボクロスポリンと比べて著しく低く，IC_{50} 値に基づいたときボクロスポリンの 1%未満（IM1-Diol-1）から 12.9%（IM9）であった。

2.6.2.2.2　T 細胞機能に対する影響

（概要表 2.6.3.2，報告書番号 ISA01-08）

カニクイザルの T 細胞機能に対する mix-ISA247 及び CsA の影響を，個別に実施した *in vitro* 及び *in vivo* 試験において検討した（概要表 2.6.3.2，資料番号 4.2.1.1-03）[3]。サル全血を用いた *in vitro* 試験において，リンパ球増殖，T 細胞サイトカイン産生，及び T 細胞活性化表面抗原の発現に関する EC_{50} は，mix-ISA247 が CsA と比べて有意に低かった（CD11a を除く，解析したすべてのパラメータについて $p = 0.043$）。これらのデータは，mix-ISA247 が CsA と比べて強力に多様な免疫機能を抑制することを示している。

In vitro の結果は *in vivo* でも確認された。カニクイザルに溶媒（n = 4），CsA 25 mg/kg（n = 5），mix-ISA247 25 mg/kg（n = 6）又は mix-ISA247 50 mg/kg（n = 6）を 1 日 2 回（BID），7 日間経口投与したところ，mix-ISA247 の *ex vivo* のリンパ球増殖の阻害能は，CsA と比べて有意に高かった（PCNA を指標にした mix-ISA247 の阻害率: 80%（mix-ISA247 の 2 用量に差はなし），CsA の阻害率: 65%, $p = 0.018$）。さらに mix-ISA247 は，あらゆる T 細胞活性化表面抗原の発現に対しても，CsA と比べて高い阻害能を示した。

Mix-ISA247 のいずれの用量群の曝露量（25 mg/kg/日群：C_{3h} 303±94 ng/mL，AUC_{10h} 1979±759 ng·h/mL。50 mg/kg/日群：C_{3h} 375±62 ng/mL，AUC_{10h} 2496±614 ng·h/mL）も，CsA の曝露量（C_{3h} 877±202 ng/mL，AUC_{10h} 6262±1340 ng·h/mL）と比べて低値であった。Mix-ISA247 のいずれの用量群でも曝露量は CsA と比べて低かったにもかかわらず，mix-ISA247 投与は CsA

投与と比べて多くのサイトカイン産生を阻害した。このように，カニクイザルにおいて mix-ISA247 は CsA と比べ，全血中の薬物濃度は低かったにもかかわらず，全体的に高い PD 効果（免疫抑制に関わる多数の T 細胞マーカー抑制作用）を示した。

2.6.2.2.3　自己免疫疾患モデル

ボクロスポリン及び mix-ISA247 と CsA との有効性の比較を，ぶどう膜炎及び関節炎という 2 つの自己免疫疾患の動物モデルを用いて検討した。いずれの場合も，mix-ISA247 は CsA と比べて薬効が強力であることが示された。非臨床におけるボクロスポリンの PD プロファイルはぶどう膜炎モデル及び関節炎モデルにおいて十分に解明されたことから，追加試験として，ループス動物モデルを用いた非臨床試験は実施しなかった。

2.6.2.2.3.1　ラットを用いたぶどう膜炎試験

（概要表 2.6.3.2）

6～8 週齢の雄 Lewis ラットに IRBP を接種し，EAU を誘導した（概要表 2.6.3.2）[4]。Mix-ISA247 の MCT 溶液を 2.5，10 又は 40 mg/kg の用量で皮下投与した。同様に対照薬として CsA のオリーブ油溶液を 40 mg/kg の用量で投与した。ラットを予防群及び治療群の 2 群（8 例/群）に分けた。予防群には IRBP 接種当日から 13 日後までに，該当する薬物/用量を投与し，治療群には IRBP 接種 7 日後から 13 日後までに同様に投与した。眼の臨床徴候を IRBP 接種 7 日後から 1 日 1 回，グレード判定した。投与期間終了時に眼のリンパ節からリンパ球を回収し，増殖アッセイに供した。このアッセイではインキュベーションしたリンパ球を IRBP で 7 日間刺激し，[^{3}H] チミジンを添加した。光学顕微鏡による眼の病理組織学的検査も行った。

本モデルにおいて mix-ISA247（40 mg/kg）は，陽性対照とした CsA（40 mg/kg）と同様に有効であった [8]。予防群において，mix-ISA247 は全用量で臨床的に意義のあるぶどう膜炎予防効果（スコア＜2）を示した。平均臨床スコアは用量依存的に低下した。病理組織学的には，ぶどう膜炎に伴う変化の発現頻度は用量依存的に低下し，高用量のボクロスポリンはぶどう膜炎の発現を完全に抑制した。治療群において，ボクロスポリンはぶどう膜炎の臨床徴候を改善し，病理組織学的変化の発現頻度及び重症度を用量依存的に低下させ，中用量及び高用量の mix-ISA247 群では統計学的に有意な改善が認められた。高用量を投与された治療群のラットでは，ぶどう膜炎に関連する病理組織学的変化は認められなかった。

これらの結果は，自己免疫性ぶどう膜炎のラットモデルにおいて mix-ISA247 は本疾患の予防及び治療に有効であることを示している。

2.6.2.2.3.2　マウス及びウサギを用いた関節炎試験

（概要表 2.6.3.2，報告書番号 ISA00-21）

Mix-ISA247 の安全性及び有効性を，コラーゲン誘導関節炎マウスモデル及び抗原誘導関節炎ウサギモデルという 2 つの関節炎動物モデルを用いて検討した（概要表 2.6.3.2，資料番号 4.2.1.1-09）。全体として，コラーゲン誘導関節炎を発症したマウス及び抗原誘導関節炎を発症したウサギの治療に，mix-ISA247 は CsA と比べて高い効力を示した。

(1)　コラーゲン誘導関節炎マウスモデル

雄 DBA/1Lac J マウスを用い，発症時点から，mix-ISA247 を 1 例あたり 0（n＝24），125（n＝20），250（n＝20）又は 500（n＝26）μg/日の用量で，及び CsA を 1 例あたり 250（n＝16）又は 500（n＝26）μg の用量で 1 日 1 回，10 日間 IP 投与した。これらの用量は（体重を 25 g と想定したとき）mix-ISA247 について約 0，5，10 又は 20 mg/kg/日，CsA について 10 又は 20 mg/kg/日に相当する（概要表 2.6.3.2，資料番号 4.2.1.1-09）。

10 日間の投与後には，mix-ISA247 群のマウスでは臨床的重症度（目視による各肢の臨床スコア）及び足蹠の腫脹が用量に依存した改善傾向を示したが，CsA 群では用量依存性は認められなかった。さらに mix-ISA247 群のマウスでは溶媒群と比べ，滑膜の組織学的スコア及び関節軟骨の損傷スコアも，最低用量においても改善していた（併合群の p 値は滑液及び軟骨についてそれぞれ $p < 0.001$ 及び $p = 0.009$）。一方 CsA 群については，いずれの用量でも統計学的有意差は認められなかった。Mix-ISA247 最高用量群では近位指節間関節のびらんの発現が有意に減少（$p < 0.05$）していたが，CsA 投与群では差が認められなかった。II 型コラーゲン抗体価の有意な低下が mix-ISA247 の中用量群（$p < 0.05$）及び高用量群（$p < 0.001$）において認められたが，CsA については高用量（500 μg）群のみで認められた（$p < 0.05$）。Mix-ISA247 投与の忍容性は良好で，重大な毒性は認められなかった。

(2)　抗原誘導関節炎ウサギモデル

ニュージーランド白色ウサギの抗原誘導関節炎モデル（雌雄各 4 例/群）を用い，mix-ISA247 を 1 日量 0，2.5，5 又は 10 mg/kg，及び CsA を 5，10 又は 15 mg/kg の用量で，抗原接種後 28 日間（予防プロトコル）又は発症後 14 日間（治療プロトコル），1 日 1 回 IP 投与した（資料番号 4.2.1.1-09）。

28 日間の投与後には mix-ISA247 群と CsA 群のいずれにおいても溶媒対照群と比べて，滑膜の病理組織学的スコアの有意な低下が認められた（予防プロトコル）（mix-ISA247 併合群で $p = 0.006$，CsA 併合群で $p = 0.018$）。これに伴い，滑液中の白血球数も有意に減少していた（mix-ISA247 併合群で $p = 0.003$，CsA 併合群で $p < 0.001$）。関節炎を発症した動物においても，mix-ISA247（$p = 0.02$）又は CsA（$p = 0.005$）を 14 日間投与したときに溶媒対照と比べて滑膜の病理組織学的スコアの有意な改善が認められた（治療プロトコル）。肉眼的関節炎スコアの有意な低下が mix-ISA247 群で認められた（$p = 0.011$）が，CsA 群では認められなかった（$p = 0.09$）。Mix-ISA247 又は CsA 投与の忍容性は良好であり，血清クレアチニン濃度及び剖検時の組織学的検査から腎毒性はなかったことを含め，主要な臓器に，臨床的又は組織学的に明らかな毒性を示す重大な所見は認められなかった。

全体として，コラーゲン誘導関節炎を発症したマウス及び抗原誘導関節炎を発症したウサギにおいて，mix-ISA247 は CsA と比べて高い治療効果を示した。

2.6.2.2.4　　移植動物モデルにおける有効性

4 つの移植動物モデル（マウス，ラット，イヌ，サル）を用いて mix-ISA247 及び CsA の有効性を比較検討した（概要表 2.6.3.2，資料番号 4.2.1.1-05，4.2.1.1-06，4.2.1.1-07 及び 4.2.1.1-08）。い

ずれの場合も，mix-ISA247 は CsA と比べて強力な薬効が示された。

2.6.2.2.4.1　マウスを用いた膵島細胞移植試験

（概要表 2.6.3.2，報告書番号 ISA01-20）

糖尿病 Balb/c マウスにドナーCBA/J マウスの膵島細胞を移植し，マウス膵島細胞同種移植の移植片生着達成及び糖尿病予防に対する有効性を，mix-ISA247 と CsA で比較検討した（概要表 2.6.3.2，資料番号 4.2.1.1-05）。各群 12 例のレシピエント雄 Balb/c マウスに，mix-ISA247 を 1.75，10，20 又は 25 mg/kg（投与群 A），CsA を 1.75，10，20 又は 25 mg/kg（投与群 B），又は溶媒（Cremophor EL/エタノール/生理食塩水）を単独で，1 日 1 回，30 日間 IP 投与した。生着不全及び糖尿病発症は，2 日連続して血糖値が 17 mmol/L を超えることと定義した。移植術の全体の成功率は 60%超（全移植群）であり，膵島細胞同種移植片の生着について用量依存性の効果が認められた。10 mg/kg/日以下の用量の mix-ISA247 及び CsA は，宿主への移植片生着をわずかに改善した。10 mg/kg/日を超える用量の mix-ISA247 及び CsA は，移植片生着を著明に改善した。特に，mix-ISA247 20 mg/kg/日の投与は CsA 20 mg/kg/日又は溶媒単独投与と比べ，平均移植生着を有意に改善した。最高用量（25 mg/kg/日）の mix-ISA247 投与により，最高の平均移植片生着が得られた（表 2.6.2.2.4.1-1）。

表 2.6.2.2.4.1-1　マウス膵島細胞同種移植の移植片生着日数（ISA01-20 試験）

1 日量（mg/kg/日）	移植片生着（移植後の日数）			
	溶媒	CsA	Mix-ISA247	有意性（p 値）
0	15.9	N/A	N/A	N/A
20	N/A	21	28.1	対照と比較して p = 0.0001，CsA と比較して p = 0.02
0	21.2	N/A	N/A	N/A
25	N/A	N/A 8 例中 5 例が死亡	46.4[a]	N/A

[a]：CsA 群は 8 例中 5 例の死亡が認められたため，統計解析に使用せず。

注：　N/A =　該当せず

Mix-ISA247 は膵島細胞同種移植片の生着延長に有効な薬剤であることが示された。20 及び 25 mg/kg/日の用量の mix-ISA247 は，CsA と比べて高い効力と低い毒性を示した（CsA 25 mg/kg/日群では毒性に関連した死亡が認められたため）。

2.6.2.2.4.2　異所性心臓移植試験

（概要表 2.6.3.2，報告書番号 ISA00-07 及び ISA03-05）

ドナーWistar-Furth ラットから Lewis ラットに異種移植された心臓の拒絶に対する，mix-ISA247 及び CsA の抑制能を比較した（概要表 2.6.3.2，資料番号 4.2.1.1-06）。Mix-ISA247 又は CsA を 0.25，0.875 又は 1.5 mg/kg の用量で 1 日 2 回（0.5，1.75 又は 3 mg/kg/日），移植 3 日前から移植後 30 日まで IP 投与した（n = 6/群，1.75 mg/kg/日群のみ n = 13）。溶媒を同一スケジュールで投与した（n = 6）。試験中に移植片機能不全（移植心の拍動停止）が認められた場合は，当該動物

を切迫屠殺した。動物が移植後 30 日間生存した場合は被験物質又は対照物質を中止し，移植片機能不全が確認されるまで又は最長 100 日間，動物を飼育した。Mix-ISA247 は 1.75 mg/kg/日の用量で，CsA（表 2.6.2.2.4.2-1）と比べ，全生存期間（日数）という点で高い効力を有することが示された。

表 2.6.2.2.4.2-1　ラット心移植モデルにおける mix-ISA247 及び CsA による生存（ISA00-07 試験）

1 日量（mg/kg）[a]	生存（移植後の日数）			
	溶媒	CsA	Mix-ISA247	CsA に対する有意性（p 値）
0	9±1	N/A	N/A	N/A
0.5	N/A	13±4	11±2	NS
1.75	N/A	18±7	57±32	<0.01
3	N/A	50±8	55±12	NS

[a]：これらの用量は 2 分割して等量を投与した。
注： N/A = 該当せず，NS = 非有意

2 つめのラット心移植試験として，ドナーWistar-Furth ラットから雄 Lewis ラットに心臓を異種移植し，合計 30 例の雄ラットに mix-ISA247，シス型 ISA247，ボクロスポリン，CsA 又は溶媒を 0.875 mg/kg/日で 1 日 2 回（1.75 mg/kg/日）の用量で IP 投与した（各群 6 例）（概要表 2.6.3.2，資料番号 4.2.1.1-07）。

100 日間の観察期間における全体の移植片生着率は，mix-ISA247 群及びボクロスポリン群で最高であった。さらに，有効性を投与期間終了時（30 日後）に移植片機能不全を認めないことと定義したとき，移植片生着期間の延長が認められた mix-ISA247 群とボクロスポリン群の双方で有効性が示された（表 2.6.2.2.4.2-2）。このようにボクロスポリンは，異種移植したラット心臓の移植片生着期間の延長に有効な薬剤であり，シス型 ISA247 に比べて高い効力を有することが示された。

表 2.6.2.2.4.2-2　移植片ラット心移植モデルにおける mix-ISA247，シス型 ISA247，ボクロスポリン及び CsA による移植片生着（ISA03-05 試験）

移植片生着	溶媒 (0 mg/kg)	CsA (1.75 mg/kg)[a]	Mix-ISA247 (1.75 mg/kg)[a]	シス型 ISA247 (1.75 mg/kg)[a]	ボクロスポリン (1.75 mg/kg)[a]
移植後日数（平均値±SD）[b]	9±3	55±25	82±23	32±34	44±3
移植後 30 日時点で移植片生着が認められたラット（%）	0	83	100	33	100

a：これらの用量は 2 分割して等量を投与した（1 回に 0.875 mg/kg）。

b：CsA，mix-ISA247 及びボクロスポリン群の生着期間は，対照群と比較して統計学的に有意に長かった。

注：SD＝ 標準偏差

2.6.2.2.4.3　腎移植試験

（概要表 2.6.3.2，報告書番号 ISA01-14）

カニクイザルを用いた腎同種移植試験において，移植片生着日数及びカルシニューリン阻害に関する mix-ISA247 の力価を CsA と比較した（概要表 2.6.3.2，資料番号 4.2.1.1-08）[9]。本試験では，腎同種移植を受け mix-ISA247（n＝8）又は CsA（n＝7）を投与されたサルの生存日数を評価した。血中濃度に基づいて投与量を調節した本試験では，全身曝露量のモニタリング及びリアルタイムの用量調節を行った。雄のサルを，血液型が適合し，混合リンパ球反応がミスマッチ（2.5 倍超）であったドナー/レシピエントペアに分けた。各レシピエントに異所性腎移植及び両側腎摘出を行ったサルに CsA 又は mix-ISA247 を，12 時間トラフ濃度が 150 ng/mL を維持するよう，1 日 2 回経口投与した。

Mix-ISA247 群の 3 例に PTLD が発現した。PTLD 発現は，当該群のサルでカルシニューリン阻害の程度，及び生存期間が長かったことで生じた可能性がある。

同種移植を受け mix-ISA247 を投与されたサルの生存期間（50.43 ± 28.93 日）は，CsA を投与されたサル（13.8 ± 5.78 日）と比べて有意に長かった。さらに，総薬物曝露量に有意差は認められなかった。CsA 及び mix-ISA247 の平均 AUC_{12h} は，それぞれ 4919 ± 823 ng·h/mL 及び 6045 ± 1679 ng·h/mL であった。CsA 及び mix-ISA247 の平均全血中トラフ濃度はそれぞれ 189 ± 131 ng/mL 及び 120 ± 32 ng/mL であった。血中トラフ濃度が認められた時点の平均カルシニューリン阻害率は，CsA 群で 48%，mix-ISA247 群で 66%であった。Mix-ISA247 は同様の曝露量で CsA と比べて高い免疫抑制能を有していた。

2.6.2.3　副次的薬理試験

2.6.2.3.1　Mix-ISA247 の腎臓に対する影響

2.6.2.3.1.1　腎臓における代謝変化の評価及び比較

（概要表 2.6.3.3，報告書番号 ISA02-08）

CsA は腎毒性を伴うことから，腎の細胞代謝に対する CsA 及び mix-ISA247 の影響を，腎移植したサルを用いて検討した（概要表 2.6.3.3，資料番号 4.2.1.2-01）。サルに mix-ISA247 を 50 mg/kg の用量で（n = 3），又は CsA を 25 mg/kg の用量で投与した（n = 2）（投与経路及び投与期間の特定なし）。採取した腎組織を凍結後に過塩素酸/脂質による二相抽出を行い，抽出物中の水溶性代謝物及び脂質代謝物を ^{1}H 及び ^{31}P-磁気共鳴分光法を用いて定量した。

CsA 投与群の腎臓のグルコース濃度（1.1 µmol/g）は mix-ISA247 投与群（3 µmol/g）よりも低く（p = 0.0103），これは解糖速度の上昇と，乳酸及びグリシンの産生増加と関連していた。これらの組織では，アセチル-CoA 前駆物質［リジン（20.5 vs 9.4 µmol/g，p = 0.0036），酢酸塩（3.4 vs 0.8 µmol/g，p = 0.0363）及びチロシン（6.1 vs 3.3 µmol/g，p = 0.0500）］の蓄積，及びコハク酸の減少（検出不能 vs 1.5 µmol/g，p = 0.0025）も認められ，ミトコンドリアのクレブス回路の初期段階が有意に阻害されていた。CsA 投与群の動物の組織では，ミトコンドリア機能不全のマーカーであるグルタミン酸量が有意に増加し（4.1 vs 1.3 µmol/g，p = 0.0403），腎乳頭の浸透圧調節物質であるグリセロホスホコリン（1.9 vs 2.2 µmol/g，p = 0.0103）及びイノシトール（4.2 vs 6 µmol/g，p = 0.0103）の濃度が低下していた。このことは，mix-ISA247 投与動物と比べて細胞の浮腫及び壊死が多く生じたことを示している。

水溶性代謝物の濃度については，mix-ISA247 投与群と CsA 投与群で有意差はなかった。CsA 投与例の組織では，mix-ISA247 を投与されたサルと比べ，腎臓中のコレステロール（6.7 vs 4.9 µmol/g）及びトリアシルグリセロール（6.4 vs 4.1 µmol/g）量が高く，一価及び多価不飽和脂肪酸（それぞれ 4 vs 7.2 µmol/g 及び 37.2 vs 49.7 µmol/g）が低い傾向が認められた（これが低いことは脂質過酸化が多いことを示す）が，統計学的有意差は認められなかった。

Mix-ISA247 投与例の組織では，ミトコンドリア機能不全の組織で通常認められるものと比べ，ミトコンドリアのクレブス回路活性がよく維持され，細胞質基質における解糖系の活性化及びグルコース利用が低かった。さらに，腎乳頭の浸透圧調節物質の変化から，mix-ISA247 投与例の組織では CsA 投与例の組織と比べ，細胞の浮腫，乳頭壊死及び腎臓における脂質過酸化が少ないことが示された。

2.6.2.3.1.2　薬物動態及び腎毒性の特性

（概要表 2.6.3.3，報告書番号 ISA99-02）

ニュージーランド白色ウサギを用いた探索的試験を実施し，mix-ISA247 を最初の 7 日間は静脈内投与し，残りの 23 日間は皮下投与した（概要表 2.6.3.3，資料番号 4.2.1.2-02）[10]。試験当初，用量は 0（溶媒），5（雌 2 例のみ），10 又は 25 mg/kg/日（雌雄各 4 例/群）と設定していたが，25 mg/kg/日群の雄 2 例が死亡したことから，15 mg/kg/日の用量を追加した。CsA 群（雄 6 例，10 mg/kg/日）も含めた。体重，血液学的検査，血液生化学検査，PK 及び腎病理組織学検査も行った。

試験中 3 例が死亡又は安楽死処分となった（15 mg/kg/日の雌 1 例は Day 23，25 mg/kg/日群の雄 2 例はそれぞれ Day 5 及び 7）。死亡前に一般状態の変化が認められていた（例えば，雌では過度な下痢，過度な体重増加及び筋量減少，雄 1 例で脂肪肝，他の雄 1 例で傾眠/不応答が認められた）。15 mg/kg/日群で精子形成の減少が認められた。被験物質と関連がある腎所見は認められなかった。

2.6.2.3.2　移植膵島細胞に対する mix-ISA247 の影響

（概要表 2.6.3.3，報告書番号 ISA02-09）

移植（自家移植）膵島細胞に対する mix-ISA247 及び CsA の相対的毒性作用を明らかにするため，イヌを用いたクロスオーバー試験を実施した（概要表 2.6.3.3，資料番号 4.2.1.2-03）。本試験では正常血糖のイヌ 6 例を使用した。第 1 期では各イヌの膵臓を摘出した。第 2 期では各イヌに，自身の膵臓から単離した膵島細胞を自家移植し，正常な血糖維持機能を回復させた。その後，各群 3 例を含む 2 群に分け，mix-ISA247 又は CsA を 20 mg/kg の用量で 1 日 1 回，4 週間経口投与し，2 週間の休薬期間を設けてから次の投与を行った。

Mix-ISA247 の前に CsA を投与されたイヌのうち，1 例が CsA 投与期間中に膵島機能をすべて喪失して糖尿病となった。その後，このイヌのクロスオーバーは行われずに試験中止となった。他の 2 例は，OGTT 及び IVGTT の結果から示されたように，投与前と比べて CsA 投与期間中に一部の膵島機能を喪失した。CsA 投与期間に認められた催糖尿病作用は，mix-ISA247 投与前の休薬期間に回復することはなかった。続く mix-ISA247 投与によって β 細胞機能に対するさらなる有害作用は生じることなく，1 例では耐糖能が改善した。

CsA の前に mix-ISA247 を投与された群では，mix-ISA247 投与期間中に膵島機能に対する有害作用は認められなかった。投与期間中に行った静脈内糖負荷試験及び OGTT の結果は投与前期間の結果と同様であり，mix-ISA247 が膵島細胞に毒性をもたないことを示唆していた。続く CsA 投与は膵島細胞に有害作用をもつことが，OGTT 及び IVGTT の結果から確認された。

本試験で測定された mix-ISA247 の平均トラフ濃度は 40.4 ± 31.1 ng/mL で，CsA の平均トラフ濃度は 148.1 ± 26.9 ng/mL であったことから，mix-ISA247 を投与された動物の薬物曝露量は CsA を投与された動物と比べて低いことが示された。

2.6.2.4　安全性薬理試験

安全性薬理試験は合計 7 試験実施しており，このうち 2 試験（資料番号 4.2.1.3-02 及び 4.2.1.3-03）は mix-ISA247 を，5 試験（資料番号 4.2.1.3-01，4.2.1.3-04～4.2.1.3-07）はボクロスポリンを被験物質として用いた。安全性薬理試験の概要を概要表 2.6.3.4 に示す。

2.6.2.4.1　CHO 細胞を用いた hERG アッセイ

（概要表 2.6.3.4，報告書番号 ISA03-14）

hERG チャネル発現 CHO 細胞（3 細胞/濃度）を用いて，hERG チャネル電流に対する mix-ISA247，シス型 ISA247 及びボクロスポリンの作用を評価した。

Mix-ISA247，シス型 ISA247 及びボクロスポリンは *in vitro* において，hERG チャネル電流を阻害した［IC_{20} 6～18 µmol/L（7000～22000 ng/mL）］。これらの濃度は，臨床で 0.4 mg/kg を BID 投与したときの推定 C_{max} である 0.093 µmol/L（約 113 ng/mL）をはるかに超える濃度であった［LX211-06（24 例）及び LX211-07（20 例）試験のボクロスポリンデータを合算した］。算出して求めた IC_{20} 及び IC_{50} を表 2.6.2.4.1-1 に要約する。

表 2.6.2.4.1-1　　hERG チャネル電流に対する影響の評価

薬物	IC_{50}（μmol/L）	IC_{20}（μmol/L）
Mix-ISA247	23	6
シス型 ISA247	72	18
ボクロスポリン	43	11

2.6.2.4.2　　ウサギプルキンエ線維アッセイ

（概要表 2.6.3.4，報告書番号 ISA03-15）

ニュージーランド白色ウサギの心臓プルキンエ線維標本（6 例/濃度）に mix-ISA247（設定濃度 0.01～10 μmol/L）を適用して 2，1 及び 0.2 Hz で刺激したところ，APD_{90} に意義のある影響は認められなかった。最大変動は，本アッセイにおけるバックグラウンド変動（± 20%）よりも小さかった。

ウサギプルキンエ線維の活動電位に対する 0.01～10 μmol/L（設定濃度）の主な影響は，第 0 相最大立ち上がり速度の低下であり，これは濃度依存性かつ周波数依存性を示した。緩衝液における本剤の溶解度の上限である 10 μmol/L（設定濃度）においてのみ，第 0 相最大立ち上がり速度の軽度低下（25%）が認められた。10 μmol/L では，本アッセイにおけるバックグラウンド変動（± 20%）を超えていた。活動電位データをドフェチリド，スパルフロキサシン，シサプリド及びニフェジピンと比較した時，これらの比較対照薬とは対照的に，本試験の濃度範囲において mix-ISA247 は単離プルキンエ線維に不整脈（早期後脱分極）を誘発しなかった。したがって，mix-ISA247 が QT 間隔延長又は torsades de pointes を誘発する可能性は示されなかった。

2.6.2.4.3　　覚醒下サルにおける心血管系に対する影響（1）

（概要表 2.6.3.4，報告書番号 ISA02-07）

均衡ラテン方格クロスオーバーデザインを用いて，雌カニクイザル 6 例に mix-ISA247 を 0（溶媒），20，60 又は 200 mg/kg の用量で経鼻胃管から投与した。各動物に対し，溶媒及び 3 用量の被験物質を，最低 3 日間の休薬期間を設けて投与した（サルごとに異なる投与順序を用い，初回投与日を Day 0 とした）。各動物の溶媒投与時のデータを自身の対照データとした。Day 13 及び 42 には TK 評価のため追加投与を行った。Mix-ISA247 で認められた影響に再現性があるかどうかを明らかにするため，溶媒及び 200 mg/kg の 2 回目投与も，初回の 200 mg/kg 投与後 6 週間以降に実施した。

200 mg/kg（初回と 2 回目の双方）までの mix-ISA247 投与により，一般状態の変化は認められなかった。24 時間の記録期間を通して，20 又は 60 mg/kg の投与は溶媒と比べ血圧及び体温に影響を与えなかった。Mix-ISA247 を 200 mg/kg（2 回目の投与）で投与したとき，血圧に軽度であるが統計学的に有意な上昇が認められた（投与 2～4 時間後で溶媒に比べて約 10 mmHg 上昇）。初回の 200 mg/kg 投与後にも同様の傾向が認められたが，その影響は統計学的に有意ではなかった。200 mg/kg（初回と 2 回目の双方）で軽度であるが統計学的に有意な体温の低下（初回：0.3°C～0.5°C，2 回目：0.3°C～0.6°C）が認められた。

ECG について，200 mg/kg（初回と 2 回目の双方）までの用量で PR 間隔，RR 間隔及び QRS 間

隔に対する影響は認められなかった。Mix-ISA247 を 20 又は 60 mg/kg で投与したとき，溶媒投与時と比較して，QT 間隔及び QTc に対する影響は認められなかったことから，これらの用量の mix-ISA247 は心室再分極に影響しないと結論付けられた。

200 mg/kg の初回投与 2～6 時間後に，QT 間隔及び QTc の延長が疑われた。Bazett 又は Fridericia の補正式を用いた QTc にわずかな延長が認められたが，いずれの式を用いた場合でも，平均 QTc 延長は 33 ms を超えることはなかった。200 mg/kg の 2 回目投与後に，統計学的に有意な QT 間隔延長が確認された（6 例中 4 例で QT 間隔延長が認められた）。投与 3 時間後の平均 QTc は，溶媒投与後と比べ，43 ms（Bazett の補正式）及び 34 ms（Fridericia の補正式）延長した。

投与された全例（全用量）に，mix-ISA247 の全身曝露が確認された。Mix-ISA247 の t_{max} は全用量で 2～4 時間であった。曝露量は用量に依存して増加した。mix-ISA247 を 20，60 及び 200 mg/kg で投与したときの平均 C_{max} は 32.3，275 及び 605 ng/mL であり，平均 AUC_{24h} はそれぞれ 368，2722 及び 6702 ng･hr/mL であった。200 mg/kg 単回投与後の曝露量（C_{max} 及び AUC_{24h}）は，臨床試験で認められた曝露量［LX211-06（24 例）及び LX211-07（20 例）試験で，臨床用量である 0.4 mg/kg BID を投与したときの合算データ C_{max} 113 ng/mL 及び AUC_{12h}（444 ng･h/mL）を 2 倍して算出した AUC_{24h} 888 ng･h/mL］の約 5 及び 8 倍であった。

したがって，mix-ISA247 の 200 mg/kg 投与は雌カニクイザルの心室再分極に影響を与えると判断された。本試験で認められた影響の差は，薬理作用自体の差ではなく血中曝露の差を反映していると考えられた。

2.6.2.4.4　覚醒下サルにおける心血管系に対する影響（2）

（概要表 2.6.3.4，報告書番号 ISA03-02）

カニクイザルを用いた 2 つ目の心血管系に対する安全性薬理試験において，mix-ISA247，シス型 ISA247 及びボクロスポリンの影響を検討した。均衡クロスオーバー試験において，各動物に，溶媒及び単一用量（200 mg/kg）を経鼻胃管を用いて投与し，各被験物質の投与には 3 日以上の休薬期間を設けた（初回投与日を Day 0 とした）。各動物の溶媒投与時のデータを自身の対照データとした。TK 評価のため mix-ISA247，シス型 ISA247 及びボクロスポリンの追加投与をそれぞれ Day 14，18 及び 21 に行った。

各被験物質による血圧及び心拍数に対する影響は認められなかった。さらに，mix-ISA247，シス型 ISA247 又はボクロスポリンの投与後に RR 間隔，PR 間隔及び QRS 間隔に対する影響は認められなかった。したがって，これらの被験物質は，房室伝導速度及び心室内伝導速度に影響しないと考えられた。Mix-ISA247 及びボクロスポリンは，統計学的に有意な QT 間隔及び QTc（Bazett 式又は Fridericia 補正式を使用）延長を引き起こした。この延長は投与 1～2 時間後から認められ，6 時間後に最大の影響が認められた。心室再分極時間の延長を示す QTc の延長の程度は，ボクロスポリン投与が mix-ISA247 投与と比べてわずかに強かった（Fridericia の補正式でそれぞれ 40 ms 及び 33 ms）。シス型 ISA247 は最も弱いものの，統計学的に有意な延長を誘発した（Fridericia の補正式で 18 ms）。

Mix-ISA247 及びボクロスポリンは軽度（≤ 0.5°C）であるが統計学的に有意な体温低下を誘発した。この低下は主に投与 2～6 時間後で認められ，最大効果は投与 6 時間後の時点で認められた。シス型 ISA247 は体温に影響しなかった。

ボクロスポリンを投与した時の曝露量（C_{max} 538.4 ± 95.1 ng/mL，及び AUC_{24h} 3534.5 ± 709.4 ng·h/mL）は，mix-ISA247 を投与した時の曝露量に比べてわずかに高かった（トランス異性体：C_{max} 305.2 ± 77.2 ng/mL 及び AUC_{24h} 2205.9 ± 796.9 ng·h/mL，シス異性体：C_{max} 183.7 ± 43.9 ng/mL，AUC_{24h} 1226.9 ± 434.8 ng·h/mL）。シス型 ISA247 を投与した時の曝露量は最も低かった（C_{max} 285.5 ± 58.7 ng/mL，AUC_{24h} 1701.1 ± 544.8 ng·h/mL）。ボクロスポリン，mix-ISA247 及びシス型 ISA247 の間に認められた影響の差は，単純に曝露量の差に起因すると考えられた（シス型 ISA247 の影響が小さく，血中濃度も低かった）。本試験におけるボクロスポリンの曝露量（C_{max} 及び AUC_{24h}）は臨床試験で認められた曝露量（C_{max} 113 ng/mL 及び AUC_{24h} 888 ng･h/mL）の約 5 及び 4 倍であった。

したがって，カニクイザルに mix-ISA247，シス型 ISA247 及びボクロスポリンを 200 mg/kg の用量で投与したとき，QT/QTc 間隔が延長した。

2.6.2.4.5　ラットにおける中枢神経系に対する影響

（概要表 2.6.3.4，報告書番号 ISA05-28）

Sprague-Dawley ラット（雄 10 例/群）に溶媒又はボクロスポリンを 2.5，10 又は 25 mg/kg で単回強制経口投与した。過去の試験結果に基づいたとき，このデザインにより単回投与後に推定される最大曝露量（C_{max} 1412.5 ng/mL 及び AUC_{24h} 21929.3 ng･h/mL，ラット 13 週間ブリッジング毒性試験の 25 mg/kg/日における Day 1 のデータ，資料番号 4.2.3.2-09）は，臨床試験で認められた曝露量（C_{max} 113 ng/mL 及び AUC_{24h} 888 ng･h/mL）の約 13 及び 25 倍であった。投与 15，30 及び 45 分後，並びに 1，2，3，4 及び 24 時間後に，Irwin 変法に従い神経薬理学的プロファイルを観察した。体温を投与 120 及び 360 分後の時点で測定した。その結果，いずれの用量のボクロスポリンによっても，神経薬理学的徴候及び毒性学的徴候は認められなかった。25 mg/kg 群で体温の統計学的に有意な低下（$p < 0.05$，溶媒対照と比べて 0.5ºC 低下）が認められた。体温低下は投与 120 分後では認められたが，360 分後には認められなかった。

2.6.2.4.6　ラットにおける呼吸系に対する影響

（概要表 2.6.3.4，報告書番号 ISA05-29）

Sprague-Dawley ラット（雄 8 例/群）に溶媒又はボクロスポリン（2.5，10 又は 25 mg/kg）を単回強制経口投与した。過去の試験結果に基づいたとき，このデザインにより単回投与後に推定される最大曝露量（C_{max} 1412.5 ng/mL 及び AUC_{24h} 21929.3 ng･h/mL，ラット 13 週間ブリッジング毒性試験の 25 mg/kg/日における Day 1 のデータ，資料番号 4.2.3.2-09）は，臨床試験で認められた曝露量（C_{max} 113 ng/mL 及び AUC_{24h} 888 ng･h/mL）の約 13 及び 25 倍であった。呼吸数及び一回換気量を，投与前並びに投与 120 分及び 360 分後の時点で評価した。毎回の記録毎に，動物をプレチスモグラフィーチャンバー内に入れた。陽性対照群としてバクロフェン 20 mg/kg を投与したところ，既知の薬理活性と一致した影響が認められた。溶媒投与群と比較して，いずれのボクロスポリン用量群でも平均一回換気量に有意差は認められなかった。2.5 及び 10 mg/kg 群では呼吸数に有意差は認められなかった。ボクロスポリンを 25 mg/kg の用量で投与したとき，投与 120 分後に呼吸数の有意な減少が認められた（溶媒対照と比べ 16.2%減少）が，投与 360 分後には認められなかった（表 2.6.2.4.6-1）。

表 2.6.2.4.6-1　　ラットにおいてボクロスポリン及びバクロフェンが呼吸数に及ぼす影響

被験物質（用量）	投与後時間における呼吸数（回/分）		
	投与前	120 分	360 分
溶媒	184.7 ± 12.04	159.7 ± 7.64	143.3 ± 10.70
ボクロスポリン（2.5 mg/kg）	161.1 ± 6.54	139.9 ± 6.92	127.5 ± 6.05
ボクロスポリン（10 mg/kg）	165.7 ± 8.57	144.2 ± 5.20	123.3 ± 6.77
ボクロスポリン（25 mg/kg）	167.8 ± 7.79	133.8 ± 6.84*	120.5 ± 5.86
バクロフェン（20 mg/kg）	171.1 ± 8.55	66.01 ± 6.97**	141.9 ± 4.85

*：$p < 0.05$（溶媒群との比較，Dunnett 検定）

**：$p < 0.001$（溶媒群との比較，対応のない Student の t 検定）

各群 8 例。データは平均値 ± 平均値の標準誤差で表す。

2.6.2.4.7　　ラットにおける腎/泌尿器系に対する影響

（概要表 2.6.3.4，報告書番号 ISA07-11）

Sprague-Dawley ラットを用いて，ボクロスポリン単回経口投与が腎/泌尿器系に及ぼす急性効果の可能性を評価した。ラット（雄 10 例/群）に溶媒又はボクロスポリンを 2.5，10 又は 25 mg/kg で単回強制経口投与した。過去の試験結果に基づいたとき，このデザインにより単回投与後に推定される最大曝露量（C_{max} 1412.5 ng/mL 及び AUC_{24h} 21929.3 ng･h/mL，ラット 13 週間ブリッジング毒性試験の 25 mg/kg/日における Day 1 のデータ，資料番号 4.2.3.2-09）は，臨床試験で認められた曝露量（C_{max} 113 ng/mL 及び AUC_{24h} 888 ng･h/mL）の約 13 及び 25 倍であった。投与後に動物を代謝ケージに入れ，4 時間かけて尿を採取した。尿量及び pH を記録した。尿中電解質（ナトリウム，カリウム及びクロール），尿比重及びタンパクも分析した。採尿後，心臓穿刺により採血し，尿素窒素，クレアチニン及びタンパクを測定した。25 mg/kg 投与群において尿量がわずかに減少した（溶媒対照群と比べて 25%減少した）ことを除き，ボクロスポリン経口投与によるラットの腎/泌尿器系に対する影響は認められなかった。

2.6.2.5　　薬力学的薬物相互作用

ボクロスポリンの薬力学的薬物相互作用は検討していない。

2.6.2.6　　考察及び薬理試験の全般的結論

ボクロスポリンは，構造的に CsA と類似しているが末端アミノ酸残基に重要な修飾が加えられている，次世代の CNI である。

ボクロスポリン（及び mix-ISA247）の非臨床薬理試験データにより，T 細胞が関わるヒトの疾患において治療効果を発揮する可能性が明らかとなっている。ボクロスポリンは CsA の末端アミノ酸残基を修飾することで，CsA の主要代謝部位である末端アミノ酸の代謝が変化することがデータで示されている。この修飾によってボクロスポリンのカルシニューリンへの結合方法も変化し，CsA と比較してカルシニューリンへの結合がより強力となっている [11]。

In vitro の免疫抑制活性の PD マーカーであるカルシニューリン阻害アッセイにおいて，ボクロスポリン（及び mix-ISA247）は CsA と比べて高い力価を示した。この活性はカニクイザルを用いた *in vitro* 及び *in vivo* 試験においても確認され，mix-ISA247 は CsA と比べてリンパ球増殖の阻

害能が高かった。

自己免疫疾患の動物モデルであるコラーゲン誘導関節炎を発症したマウス，及び抗原誘導関節炎を発症したウサギにおいて，mix-ISA247 は CsA と比べて高い治療効果を示した。Mix-ISA247 及び CsA はいずれもウサギの抗原誘導関節炎の症状軽減に関して，予防または治療効果を発揮した。ラットにおいてボクロスポリンは臨床的に問題となるぶどう膜炎においても治療及び予防効果を示した。

Mix-ISA247 は CsA と比べて臓器移植片生着時間を延長させることが，マウスにおける膵島細胞同種移植，ラットにおける異所性心臓移植，及びサルにおける腎同種移植を含め，複数の臓器移植モデルにおいて実証された。Mix-ISA247 及びボクロスポリンを用いたラット異所性心移植試験において，いずれの化合物も CsA と比べ，移植片生着時間をより延長させた。

心血管系，呼吸系，中枢神経系及び腎/泌尿器系に対するボクロスポリン，mix-ISA247 及び/又はシス型 ISA247 の影響を評価するため，安全性薬理試験を実施した。これらの試験で得られた所見は，心血管系試験における QTc に対する影響，呼吸系試験における呼吸数の減少，心血管系及び中枢神経系試験で認められた体温低下，並びに腎/泌尿器系試験における尿量に対する軽微な影響に限られていた。

心血管系への潜在的な影響を，hERG アッセイ及びプルキンエ線維アッセイを用いて *in vitro* で検討した。hERG アッセイにおいて，mix-ISA247，シス型 ISA247 及びボクロスポリンは hERG チャネル電流を阻害し［IC_{20} 6～18 µmol/L（7000～22000 ng/mL）］，QT 間隔延長の可能性を示した。しかしながら，このような阻害作用は，臨床で推定される C_{max} である 0.093 µmol/L（約 113 ng/mL）をはるかに超える濃度で認められた。さらに，ウサギプルキンエ線維アッセイにおいて，mix-ISA247 は検討した濃度範囲（設定濃度：0.01～10 µmol/L）で不整脈を誘発しなかった。*In vivo* では，覚醒サルを用いた心血管系試験においてボクロスポリン，シス型 ISA247 及び/又は mix-ISA247 は 200 mg/kg の用量で QT 間隔及び QTc を延長したが，低用量の mix-ISA247 では影響が認められなかった。心拍数，RR，PR 及び QRS 間隔に対する影響は認められなかった。なお，イヌの 2 及び 13 週間，サルの 13 及び 39 週間反復投与毒性試験を含む，他のいずれの毒性試験においても，薬物投与に関連する ECG 異常は認められなかった。健康被験者（ISA05-03 試験）及び AURA-LV 試験のループス腎炎患者（AUR-VCS-2012-01 試験）からの ECG 所見の解析では，ECG 上の安全性の懸念を示すエビデンスは認められず，ボクロスポリンのいずれの用量でも，ECG パラメータ（心拍数，PR 間隔，QRS 間隔，QTcF）にベースラインからの臨床的に意味のある変化又は投与群間差は認められなかった。

ボクロスポリンは，ラットを用いた試験において検討した最高用量（25 mg/kg）により，投与 120 分後の時点で呼吸数を有意に減少させたが，一回換気量に有意差は認められなかった。サル及びラットを用いた試験で検討した最高用量（それぞれ 200 mg/kg 及び 25 mg/kg）では，体温の軽度低下が認められた。これらの変化の程度は小さかったこと，さらに一過性であったことから，重大な安全上の懸念とは判断されなかった。

ラットに単回投与した安全性薬理試験において，腎機能に対する軽微な影響（検討した最高用量である 25 mg/kg の投与による尿量の 25%の減少）のみが認められた。これらの結果は，特定の腎機能パラメータを評価したとき，薬理学的に関連する用量において腎機能に対する急性の有

害作用はないことを示している。

要約を以下に示す：

- ボクロスポリンの薬理活性が，包括的な一連の試験，すなわち *in vitro* の PD 試験（カルシニューリン阻害及び T 細胞機能）並びに *in vivo* の自己免疫疾患モデル（自己免疫性ぶどう膜炎，関節炎及び臓器移植を含む）において実証された。
- これらの試験から，ボクロスポリンは CsA と比べて高い効力を有することが示された。
- 安全性薬理試験プログラムにおいて，ボクロスポリンの曝露量が臨床試験で認められた曝露量（AUC_{24h}）の約 4 倍となる用量を投与したとき，心毒性となる可能性として QT 間隔延長が確認された。一方で，臨床試験の ISA05-03 試験（健康被験者）及び AURA-LV 試験（ループス腎炎患者）において，反復投与後の QTcF 延長は認められていない。
- その他の主要な臓器系に対する有意な影響は認められなかった。

以上より，ボクロスポリンの非臨床薬理試験プログラムから，その安全性薬理プロファイルが明確に示されたとともに，PD 効果をもつ可能性が裏付けられた。

2.6.2.7 図表

本文中に記載した。

2.6.2.8 参考文献

---

1 Granelli-Piperno A, Andrus L, Steinman RM. Lymphokine and nonlymphokine mRNA levels in stimulated human T cells: kinetics, mitogen requirements, and effects of cyclosporin A. J Exp Med. 1986;163:922-37.（参考文献番号 4.3-01）

2 Stepkowski SM. Molecular targets for existing and novel immunosuppressive drugs. Expert Rev Mol Med. 2000;2(4):1-23.（参考文献番号 4.3-02）

3 Stalder M, Bîrsan T, Hubble RW, Paniagua RT, Morris RE. In vivo evaluation of the novel calcineurin inhibitor ISATX247 in non-human primates. J Heart Lung Transplant. 2003;22(12):1343-52.（参考文献番号 4.3-38）

4 Cunningham MA, Austin BA, Li Z, Liu B, Yeh S, Chan C-C, et al. LX211 (voclosporin) suppresses experimental uveitis and inhibits human T cells. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2009;50(1):249-55.（参考文献番号 4.3-21）

5 Rahman A, Isenberg DA. Systemic lupus erythematosus. N Engl J Med. 2008;358(9):929-39.（参考文献番号 4.3-03）

6 Comte D, Karampetsou MP, Tsokos GC. T cells as a therapeutic target in SLE. Lupus. 2015;24:351-63.（参考文献番号 4.3-04）

7 Fruman DA, Klee CB, Bierer BE, Burakoff SJ. Calcineurin phosphatase activity in T lymphocytes is inhibited by FK 506 and cyclosporine A. Proc Natl Acad Sci. 1992;89:3686-90.（参考文献番号 4.3-39）

8 Nussenblatt RB, Palestine AG, Chan CC. Cyclosporine therapy for uveitis: long-term followup. J Ocul Pharmacol. 1985;1(4):369-82.（参考文献番号 4.3-40）

[9] Gregory CR, Kyles AE, Bernsteen L, Wagner GS, Tarantal AF, Christe KL, et al. Compared with cyclosporine, $ISA_{TX}247$ significantly prolongs renal-allograft survival in a nonhuman primate model. Transplantation. 2004;78(5):681-5.（参考文献番号 4.3-41）

[10] Thliveris JA, Yatscoff RW, Lukowski MP, Copeland KR, Jeffery JR, Murphy GF. Chronic ciclosporin nephrotoxicity: a rabbit model. Nephron. 1991;57:470-6.（参考文献番号 4.3-42）

[11] Kuglstatter A, Mueller F, Kusznir E, Gsell B, Stihle M, Thoma R, et al. Structural basis for the cyclophilin A binding affinity and immunosuppressive potency of E-ISA247 (voclosporin). Acta Crystallogr D Biol Crystallogr. 2011;67(Pt 2):119-23. （参考文献番号 4.3-43）

ルプキネスカプセル7.9 mg

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 6

2.6.3.3 副次的薬理試験 13

2.6.3.4 安全性薬理試験 14

2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験 17

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：ボクロスポリン（及び/又は mix-ISA247，シス型 ISA247）

試験の種類	被験物質/ 対照物質	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）
効力を裏付ける試験：						
In vitro ヒトカルシニューリン阻害アッセイ	シス型 ISA247；ボクロスポリン[a]；CsA	ヒト全血	In Vitro	Isotechnika Pharma Inc.	ISA02-06	4.2.1.1-01
In vitro ヒトカルシニューリン阻害アッセイ	mix-ISA247；CsA	ヒト全血	In Vitro	Isotechnika Pharma Inc.及び [redacted]	ISA00-05	4.2.1.1-02 （参考資料）
ボクロスポリン代謝物の in vitro ヒトリンパ球増殖アッセイ	ボクロスポリン；IM9，IM4，IM4n，IM1c(R)，IM1-Diol-1	ヒトリンパ球	In Vitro	Isotechnika Pharma Inc.	ISA08-40	4.2.1.1-04 （参考資料）
カニクイザルにおけるカルシニューリン阻害アッセイ[a]	mix-ISA247	カニクイザル	経口	[redacted]	ISA02-01	4.2.3.2-15
カニクイザルの T 細胞機能に対する影響	mix-ISA247；CsA	カニクイザル全血 カニクイザル	In vitro 及び in vivo（経口）	[redacted]	ISA01-08	4.2.1.1-03 （参考資料）
自己免疫性ぶどう膜炎（ラット）における有効性	mix-ISA247；CsA	IRBP を接種した雄 Lewis ラット	皮下	[redacted]	Cunningham et al., 2009	4.3-21 （参考資料）
コラーゲン誘導関節炎（マウス）及び抗原誘導関節炎（ウサギ）における安全性及び有効性	mix-ISA247	DBA1/Lac J マウス； NZW ウサギ	腹腔内	Isotechnika Pharma Inc.	ISA00-21	4.2.1.1-09

（続く）2.6.3.1　薬理試験　　一覧表（2）

被験物質：ボクロスポリン（及び/又は mix-ISA247，シス型 ISA247）

試験の種類	被験物質/ 対照物質	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）
マウス膵島細胞同種移植モデルにおける有効性	mix-ISA247；CsA	ドナーCBA/J マウス由来の膵島細胞を移植した糖尿病 Balb/c マウス	腹腔内	Isotechnika Pharma Inc.	ISA01-20	4.2.1.1-05 （参考資料）
ラット異所性心移植モデルにおける有効性	mix-ISA247；CsA	ドナーWistar-Furth ラット由来の心臓を異所移植した Lewis ラット	腹腔内	Isotechnika Pharma Inc.	ISA00-07	4.2.1.1-06 （参考資料）
ラット異所性心移植モデルにおける有効性	mix-ISA247；シス型 ISA247；ボクロスポリン[a]；CsA	ドナーWistar-Furth ラット由来の心臓を異所移植した Lewis ラット	腹腔内	Isotechnika Pharma Inc.	ISA03-05	4.2.1.1-07
サル腎同種移植モデルにおける有効性	mix-ISA247，CsA	腎同種移植片を移植したカニクイザル	経口	[redacted]	ISA01-14	4.2.1.1-08 （参考資料）
副次的薬理試験：						
移植モデルにおける腎毒性	mix-ISA247，CsA	サル	経口	[redacted]	ISA02-08	4.2.1.2-01 （参考資料）
腎毒性	mix-ISA247，CsA	NZW ウサギ	静脈内/皮下	Isotechnika Pharma Inc.	ISA99-02	4.2.1.2-02 （参考資料）
移植膵島細胞に対する影響	mix-ISA247，CsA	イヌ	経口	[redacted]	ISA02-09	4.2.1.2-03 （参考資料）
安全性薬理試験：						
hERG 電流に対する影響	mix-ISA247；シス型 ISA247；ボクロスポリン	遺伝子組換え hERG チャネル発現 CHO 細胞	*In vitro*	[redacted]	ISA03-14	4.2.1.3-01 （参考資料）

（続く）

2.6.3.1　　薬理試験　　一覧表（3）

被験物質：ボクロスポリン（及び/又は mix-ISA247，シス型 ISA247）

試験の種類	被験物質/ 対照物質	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）
心筋活動電位に対する影響	mix-ISA247	雌 NZW ウサギ単離プルキンエ線維	*In vitro*	[redacted]	ISA03-15	4.2.1.3-02 （参考資料）
心血管系に対する影響 [b]	mix-ISA247	カニクイザル （雌）	経口	[redacted]	ISA02-07	4.2.1.3-03
心血管系に対する影響 [b]	mix-ISA247；シス型 ISA247；ボクロスポリン	カニクイザル （雌雄）	経口	[redacted]	ISA03-02	4.2.1.3-04
中枢神経系に対する影響 [b]	ボクロスポリン	Sprague-Dawley ラット （雄）	経口	[redacted]	ISA05-28	4.2.1.3-05
呼吸系に対する影響 [b]	ボクロスポリン	Sprague-Dawley ラット （雄）	経口	[redacted]	ISA05-29	4.2.1.3-06
腎/泌尿器系に対する影響 [b]	ボクロスポリン	Sprague-Dawley ラット （雄）	経口	[redacted]	ISA07-11	4.2.1.3-07

[a]：トランス異性体を 80~82%含む製剤で，90%以上の純度ではないものを使用

[b]：試験を GLP に従って実施

IV：静脈内，NZW：ニュージーランド白色。

2.6.3.2　効力を裏付ける試験

2.6.3.2　動物モデルを用いて CsA と比較するボクロスポリン，mix-ISA247 及び/又はシス型 ISA247 の効力を裏付ける試験（1）

被験物質：ボクロスポリン（及び/又は mix-ISA247，シス型 ISA247）

<table>
<tr><th>試験の種類
［被験物質/
対照物質］</th><th>動物種/
系統</th><th>投与方法</th><th>投与期間</th><th>投与量
（mg/kg）</th><th>性別及び
動物数/群</th><th>特記すべき所見</th><th>報告書番号</th><th>資料番号</th></tr>
<tr><td colspan="9">In vitro 試験：</td></tr>
<tr><td>In vitro ヒトカルシニューリン阻害アッセイ[シス型 ISA247；ボクロスポリン[a]；CsA]</td><td>ヒト全血</td><td>In vitro</td><td>該当せず</td><td>0～1,000 ng/mL</td><td>N=11</td><td>シス型 ISA247 及びボクロスポリンは CsA と比べて強力な CN 阻害薬であった。
<table><tr><td></td><td>IC_{50}（ng/mL）</td></tr><tr><td>ボクロスポリン</td><td>560</td></tr><tr><td>シス型 ISA247</td><td>650</td></tr><tr><td>CsA</td><td>830</td></tr></table></td><td>ISA02-06</td><td>4.2.1.1-01</td></tr>
<tr><td>In vitro ヒトカルシニューリン阻害アッセイ[mix-ISA247；CsA]</td><td>ヒト全血</td><td>In vitro</td><td>該当せず</td><td>0～1,000 ng/mL</td><td>該当せず</td><td>Mix-ISA247 は CsA と比べて強力な CN 阻害薬であった。
<table><tr><td></td><td>EC50（ng/mL）</td></tr><tr><td>mix-ISA247</td><td>168.4</td></tr><tr><td>CsA</td><td>310.8</td></tr></table></td><td>ISA00-05</td><td>4.2.1.1-02（参考資料）</td></tr>
<tr><td>ボクロスポリン代謝物の in vitro ヒトリンパ球増殖アッセイ[ボクロスポリン，IM9，IM4，IM4n，IM1c(R)，IM1-Diol-1]</td><td>ヒトリンパ球</td><td>In vitro</td><td>該当せず</td><td>0～1,000 ng/mL</td><td>N=3-9</td><td>ボクロスポリンの力価は最大であった（IC_{50} = 17.5 ± 9.6 ng/mL）。すべての代謝物の IC_{50} 値はボクロスポリンの 9 倍以上であった。</td><td>ISA08-40</td><td>4.2.1.1-04（参考資料）</td></tr>
</table>

（続く）

2.6.3.2　　動物モデルを用いて CsA と比較するボクロスポリン，mix-ISA247 及び/又はシス型 ISA247 の効力を裏付ける試験（2）

被験物質：ボクロスポリン（及び/又は mix-ISA247，シス型 ISA247）

試験の種類［被験物質/対照物質］	動物種/系統	投与方法	投与期間	投与量（mg/kg）	性別及び動物数/群	特記すべき所見	報告書番号	資料番号
In vivo **試験**：								
カニクイザルにおけるカルシニューリン阻害アッセイ [mix-ISA247]	カニクイザル	経口	39 週間	0（生理食塩水） 0（溶媒） 25，75，150 mg/kg/日	雌雄各 8 例（75 mg/kg/日群のみ雌雄各 5 例）	CN 阻害率は用量に依存していた（Day 1，Week 13，24 及び 39 の平均値，雌雄合計）：25，75 及び 150 mg/kg/日群でそれぞれ 42 ± 20%，74 ± 16%，87 ± 7%	ISA02-01	4.2.3.2-15

（続く）

2.6.3.2　　動物モデルを用いて CsA と比較するボクロスポリン，mix-ISA247 及び/又はシス型 ISA247 の効力を裏付ける試験（3）

被験物質：ボクロスポリン（及び/又は mix-ISA247，シス型 ISA247）

<table>
<tr><th>試験の種類
［被験物質/
対照物質］</th><th>動物種/
系統</th><th>投与方法</th><th>投与期間</th><th>投与量
（mg/kg）</th><th>性別及び
動物数/群</th><th>特記すべき所見</th><th>報告書
番号</th><th>資料番号</th></tr>
<tr><td>カニクイザルの T 細胞機能に対する影響[mix-ISA247；
CsA]</td><td>カニクイザル
全血；
カニクイザル</td><td>In vitro 及び in vivo（経口）</td><td>In vivo：
7 日間（bid）</td><td>In vitro：
50-10,000 ng/mL
In vivo：
mix-ISA247（bid）：
0（溶媒）
25, 50 mg/kg
CsA（bid）：
25 mg/kg</td><td>In vitro
N=5

In vivo
雌雄の特定なし

溶媒：4
mix-ISA247
25 mg/kg:6
mix-ISA247
50 mg/kg:6
CsA：5</td><td>In vitro：リンパ球増殖，T 細胞のサイトカイン産生，及び T 細胞活性化表面抗原の発現に関する EC_{50} 値は，mix-ISA247 が CsA と比べて有意に低かった
<table>
<tr><th></th><th colspan="2">EC_{50}（ng/mL）</th></tr>
<tr><th></th><th>ISA</th><th>CsA</th></tr>
<tr><td>3HTdR[b]</td><td>203±59</td><td>766±258</td></tr>
<tr><td>PCNA[c]</td><td>241±73</td><td>495±49</td></tr>
<tr><td>IL-2[d]</td><td>135±30</td><td>537±107</td></tr>
<tr><td>IFN-γ[d]</td><td>177±59</td><td>681±199</td></tr>
<tr><td>TNF-α[d]</td><td>139±27</td><td>542±118</td></tr>
<tr><td>CD71[d]</td><td>170±57</td><td>569±228</td></tr>
<tr><td>CD25[d]</td><td>138±38</td><td>432±133</td></tr>
<tr><td>CD11a[d]</td><td>267±106</td><td>584±86</td></tr>
<tr><td>CD95[d]</td><td>191±99</td><td>422±68</td></tr>
<tr><td>CD154[d]</td><td>248±85</td><td>638±202</td></tr>
</table>
［CD11a（0.068）を除き p = 0.043］
In vivo（Day 7）：PCNA を指標にしたリンパ球増殖の阻害率は mix-ISA247（両群で約 80%）が CsA（65%）と比べ有意に高かった。T 細胞活性化表面抗原の発現の阻害にも，mix-ISA247 と CsA との間に同様の差が認められた</td><td>ISA01-08</td><td>4.2.1.1-03
（参考資料）</td></tr>
</table>

（続く）

2.6.3.2　　動物モデルを用いて CsA と比較するボクロスポリン，mix-ISA247 及び/又はシス型 ISA247 の効力を裏付ける試験（4）

被験物質：ボクロスポリン（及び/又は mix-ISA247，シス型 ISA247）

試験の種類［被験物質/対照物質］	動物種/系統	投与方法	投与期間	投与量（mg/kg）	性別及び動物数/群	特記すべき所見	報告書番号	資料番号
自己免疫性ぶどう膜炎（ラット）における有効性[mix-ISA247，CsA]	IRBP を接種した雄 Lewis ラット	皮下	予防群：IRBP 接種当日から 13 日後まで 治療群：RBP 接種 7 日後から 13 日後まで	mix-ISA247 の miglyol 812 オイル溶液：2.5，10，40 mg/kg/日 CsA のオリーブ油溶液：40 mg/kg/日	雄 8 例/群	mix-ISA247 40mg/kg 群は CsA 40mg/kg 群（陽性対照）と同程度有効であった。 **予防群**：mix-ISA247 はすべての用量群において用量依存的に，臨床的に問題となるぶどう膜炎を予防した。高用量ではぶどう膜炎を完全に予防した。 **治療群**：mix-ISA247 はぶどう膜炎の臨床徴候を改善し，病理組織学的変化の発現頻度及び重症度を用量依存的に低下させた。高用量群のラットでは，ぶどう膜炎に関連する病理組織学的変化は認められなかった。	Cunningham et al., 2009	4.3-21（参考資料）

（続く）

2.6.3.2　　動物モデルを用いて CsA と比較するボクロスポリン，mix-ISA247 及び/又はシス型 ISA247 の効力を裏付ける試験（5）

被験物質：ボクロスポリン（及び/又は mix-ISA247，シス型 ISA247）

試験の種類［被験物質/対照物質］	動物種/系統	投与方法	投与期間	投与量（mg/kg）	性別及び動物数/群	特記すべき所見	報告書番号	資料番号
コラーゲン誘導関節炎（マウス）及び抗原誘導関節炎（ウサギ）における安全性及び有効性[mix-ISA247]	DBA/1Lac J マウス ニュージーランド白色ウサギ	腹腔内	**マウス**：10 日間 **ウサギ**：14 又は 28 日間	**マウス**： mix-ISA247：0，125，250，500 μg/マウス CsA：250，500 μg/マウス **ウサギ**： mix-ISA247：0，2.5，5，10 mg/kg/日 CsA：5，10，15 mg/kg/日	**マウス**： mix-ISA247：20-26 CsA：雄 16～26 例 **ウサギ**：雌雄各 4 例	**マウス**：Mix-ISA247 群では臨床的重症度及び足蹠の腫脹が用量に依存した改善傾向を示したが，CsA 群では用量依存性は認められなかった。滑膜の組織学的スコア及び関節軟骨の損傷スコアが改善。高用量の mix-ISA247：近位指節間関節びらんが有意に減少。II 型コラーゲン抗体価が有意に低下。 **ウサギ**：Mix-ISA247 群及び CsA 群で滑膜の組織学的スコア低下及び滑液中の細胞数減少が認められた（予防プロトコルー14 日間）。関節炎が確立された動物で滑膜の組織学的スコアが改善（治療プロトコルー28 日間）。Mix-ISA247 群で肉眼的関節炎スコアが低下。	ISA00-21	4.2.1.1-09
マウス膵島細胞同種移植モデルにおける有効性[mix-ISA247；CsA]	ドナーCBA/J マウス由来の膵島細胞を移植した糖尿病 Balb/c マウス	腹腔内	30 日間	0（溶媒），1.75，10，20，25 mg/kg/日	雄 8-18 例	Mix-ISA247 20 mg/kg/日群では CsA 群と比べ移植片生着日数が有意に長く，毒性も低かった［20 mg/kg/日：mix-ISA247 群で 28.1 日，CsA 群で 21 日。25 mg/kg/日：Mix-ISA247 群で 46.4 日，CsA 群では動物が死亡した（5/8 例）ことから算出しなかった］。	ISA01-20	4.2.1.1-05（参考資料）

（続く）

2.6.3.2　　動物モデルを用いて CsA と比較するボクロスポリン，mix-ISA247 及び/又はシス型 ISA247 の効力を裏付ける試験（6）

被験物質：ボクロスポリン（及び/又は mix-ISA247，シス型 ISA247）

試験の種類［被験物質/対照物質］	動物種/系統	投与方法	投与期間	投与量（mg/kg）	性別及び動物数/群	特記すべき所見	報告書番号	資料番号
ラット異所性心移植モデルにおける有効性[mix-ISA247　；CsA]	ドナー Wistar-Furth ラット由来の心臓を異所移植した Lewis ラット	腹腔内	移植前 3 日間及び移植後 30 日間	0，0.25，0.875 又は 1.5 mg/kg，bid（0，0.5，1.75，3 mg/kg/日）	雌雄の特定なし 6（1.75 mg/kg/日群のみ 13 例）	Mix-ISA2471.75 mg/kg 群の移植片生着日数は CsA 1.75 mg/kg 群よりも長かった。1.75 mg/kg/日群で移植後 30 日の移植片生着率は，mix-ISA247 群で 77%（10/13 例），CsA 群ではわずか 15%（2/13 例）であった。	ISA00-07	4.2.1.1-06（参考資料）
ラット異所性心移植モデルにおける有効性[mix-ISA247；シス型 ISA247；ボクロスポリン[e]；CsA]	ドナー Wistar-Furth ラット由来の心臓を異所移植した Lewis ラット	腹腔内	移植後 30 日	0.875 mg/kg，bid（1.75 mg/kg/日）	雄 6 例	Mix-ISA247 群及びボクロスポリン群では移植後 30 日の移植片生着率が最高であった。移植後 30 日の移植片生着率は，mix-ISA247 群，ボクロスポリン群で 100%（6/6 例），CsA 群で 83%（5/6 例）。	ISA03-05	4.2.1.1-07
サル腎同種移植モデルにおける有効性[mix-ISA247；CsA]	腎同種移植片を移植したカニクイザル	経口	死亡，重篤合併症の発現，又は血清クレアチニン濃度が 7 mg/dL 以上となるまで	bid 投与により薬物トラフ濃度 150 ng/mL を維持	雄 7～8 例	同種移植を受け mix-ISA247 を投与されたサルの生存期間（50.43 ± 28.93 日）は，CsA を投与されたサル（13.8 ± 5.78 日）と比べて有意に長かった。平均 CN 阻害率は，CsA 群で 48%，mix-ISA247 群で 66%であった。	ISA01-14	4.2.1.1-08（参考資料）

a：トランス異性体を 82%含む製剤で，90%以上の純度でないものを使用

b：[^{3}H]-TdR 取り込み試験

c：S/G2M 細胞上の PCNA 発現

d：$CD3^{+}$細胞における産生/発現

e：トランス異性体を 80%含む製剤を使用

注：bid = 1 日 2 回，CN = カルシニューリン・ホスファターゼ，CsA = シクロスポリン A，EC_{50} = 50%効果濃度，IFN-γ = インターフェロン—γ，
IL-2 = インターロイキン-2，IRBP = 光受容体間レチノイド結合タンパク質，ISA = mix-ISA247，PCNA = 増殖細胞核抗原，
[^{3}H]-TdR = トリチウム標識チミジン，TNF-α = 腫瘍壊死因子-α

2.6.3.3　副次的薬理試験

2.6.3.3　動物モデルを用いて CsA と比較する mix-ISA247 の副次的試験（1）

被験物質： mix-ISA247

試験の種類 ［被験物質/ 対照物質］	動物種/系統	投与方法	投与量 （mg/kg）	性別及び 動物数/群	特記すべき所見	報告書番号	資料番号
移植モデルにおける腎毒性 [mix-ISA247，CsA]	サル	投与経路及び投与期間の特定なし	mix-ISA247： 50 mg/kg/日 CsA：25 mg/kg/日	mix-ISA247： 3M CsA：2M	磁気共鳴分光法を用いたとき，腎臓のミトコンドリア機能不全に対する影響は mix-ISA247 が CsA と比べて小さかった。	ISA02-08	4.2.1.2-01 （参考資料）
腎毒性 [mix-ISA247，CsA]	ニュージーランド白色ウサギ	IV 7 日間，SC 23 日間（合計 30 日間）	mix-ISA247： 5, 10, 15, 25 CsA：10	溶媒：4M, 4F mix-ISA247 5:2F 10:4M, 4F 15:4M, 4F 25:2M CsA：6M	3 例が計画屠殺前に死亡（15 mg/kg の雌 1 例，25 mg/kg の雄 2 例）。25 mg/kg 群では代謝障害により死亡に至った。15 mg/kg 群では精子形成の減少。	ISA99-02	4.2.1.2-02 （参考資料）
移植膵島細胞に対する影響 [mix-ISA247，CsA]	イヌ	強制経口投与：1 日 1 回で 4 週間投与し，2 週間の休薬後に次の投与	20 [クロスオーバー]	6 [雌雄の特定なし]	第 I 期では各イヌの膵臓を摘出した。第 II 期では各イヌに，自身の膵臓から単離した膵島細胞を自家移植し，正常な血糖維持機能を回復させた。Mix-ISA247 は膵島細胞に毒性を示さなかったが，CsA は膵島細胞に有害作用を示すことが OGTT 及び IVGTT の結果から確認された。	ISA02-09	4.2.1.2-03 （参考資料）

注：CsA＝ シクロスポリン A，F＝ 雌；IV＝ 静脈内，IVGTT＝ 静脈内糖負荷試験，M＝ 雄，OGTT＝ 経口糖負荷試験，SC＝ 皮下

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：ボクロスポリン（及び/又は mix-ISA247，シス型 ISA247）

評価対象となる組織（評価項目）［被験物質/対照物質］	動物種/系統	投与方法	投与量（mg/kg）[a]	性別及び動物数／群	特記すべき所見	GLP 適用	報告書番号 資料番号
心血管系（hERG チャネル電流）［ボクロスポリン，mix-ISA247，シス型 ISA247］	hERG チャネル発現 CHO 細胞	*In vitro* 灌流	0（0.1% DMSO），0.1～10 µmol/L	3 細胞/濃度	Mix-ISA247，シス型 ISA247 及びボクロスポリンの IC_{20} 値は，それぞれ 6 µmol/L（7284 ng/mL），18 µmol/L（21852 ng/mL）及び 11 µmol/L（13354 ng/mL）であった。Mix-ISA247，シス型 ISA247 及びトランス型 ISA247 の IC_{50} 値は，それぞれ 23，72 及び 43 µmol/L であった。	不適	ISA03-14 4.2.1.3-01 （参考資料）
心血管系（摘出左心室プルキンエ線維活動電位）［Mix-ISA247］	ウサギ/NZW	*In vitro* 灌流	0（0.1% DMSO），0.01～10 µmol/L	6 試料/濃度	Mix-ISA247 は 10 µmol/L で Vmax の軽度低下が認められたが，QT 延長や不整脈を誘発する兆候は示さなかった。	不適	ISA03-15 4.2.1.3-02 （参考資料）
心血管系（体温，血圧，心拍数及び ECG）［Mix-ISA247］	サル/カニクイ	経口（経鼻胃管）単回	0（溶媒），20，60，200	雌 6	最高用量の mix-ISA247（200 mg/kg，6 例）で QT 間隔及び QTc（Bazett 式又は Fridericia 式による補正値）に統計学的に有意な延長が認められた。低用量の mix-ISA247（20 mg/kg 及び 60 mg/kg，各群 6 例）では，QT 間隔に影響は認められなかった。その他の ECG 変化は認められなかった。	適	ISA02-07 4.2.1.3-03

（続く）

2.6.3.4　　安全性薬理試験（2）

被験物質：ボクロスポリン（及び/又は mix-ISA247，シス型 ISA247）

評価対象となる組織（評価項目）	動物種/系統	投与方法	投与量（mg/kg）[a]	性別及び動物数／群	特記すべき所見	GLP 適用	報告書番号 資料番号
心血管系（体温，血圧，心拍数及び ECG）［ボクロスポリン，mix-ISA247，シス型 ISA247］	サル/カニクイ	経口（経鼻胃管）単回	0（溶媒），200	雌雄 3	Mix-ISA247 及びボクロスポリンは，体温の軽度低下，統計学的に有意な QT 間隔延長及び QTc（Bazett 式又は Fridericia 式による補正値）延長を引き起こした。シス型 ISA247 も統計学的に有意な QT 間隔延長を引き起こしたが，その延長は mix-ISA247 及びボクロスポリンよりも短かった。	適	ISA03-02 4.2.1.3-04
中枢神経系（一般症状及び行動並びに体温）［ボクロスポリン］	ラット/SD	強制経口単回	0（溶媒），2.5，10，25	雄 10	いずれの用量でも，神経薬理学的及び毒性学的徴候は認められなかった。25 mg/kg 投与群において，投与後 120 分の時点で統計学的に有意な体温低下（0.5ºC）が認められたが，投与後 360 分では消失した。	適	ISA05-28 4.2.1.3-05
呼吸系（呼吸数及び一回換気量）［ボクロスポリン］	ラット/SD	強制経口単回	0（溶媒），2.5，10，25	雄 8	いずれの用量でも，一回換気量に差は認められなかった。25 mg/kg 投与群において，投与後 120 分の時点で統計学的に有意な平均呼吸数の減少が認められたが，投与後 360 分では消失した。	適	ISA05-29 4.2.1.3-06

（続く）

2.6.3.4　　安全性薬理試験（3）

被験物質：ボクロスポリン（及び/又は mix-ISA247，シス型 ISA247）

評価対象 となる組織 （評価項目）	動物種/系統	投与方法	投与量 （mg/kg）[a]	性別及び 動物数／群	特記すべき所見	GLP 適用	報告書番号 資料番号
腎/泌尿器系 （尿量，pH，尿中電解質，比重，タンパク質，血中尿素窒素，及びクレアチニン） ［ボクロスポリン］	ラット/SD	強制経口 単回	0（溶媒）， 2.5，10，25	雄 10	25 mg/kg 投与群において尿量がわずかに減少したことを除き，25 mg/kg までラットの腎/泌尿器系への影響は認められなかった。	適	ISA07-11 4.2.1.3-07

a：特記なき限り単位は mg/kg，溶媒はビタミン E TPGS/MCT 油/Tween 40/95%エタノール（[redacted], w/w/w/w）とした。

DMSO：Dimethyl sulfoxide，NZW：ニュージーランド白色，SD：Sprague-Dawley，V_{max}：第 0 相最大立ち上がり速度

2.6.3.5　薬力学的薬物相互作用試験

薬力学的薬物相互作用試験を実施していない。