Table of Contents

1 非臨床試験計画概略 5
1.1 薬理 5
1.1.1 薬効薬理試験及び副次的薬理試験 5
1.1.2 安全性薬理試験 5
1.2 薬物動態 5
1.3 毒性 6
2 薬理試験 7
2.1 薬効薬理試験 7
2.2 副次的薬理試験 8
2.3 安全性薬理試験 9
2.3.1 中枢神経系に及ぼす影響 9
2.3.2 循環器系及び呼吸器系に及ぼす影響 9
2.3.2.1 In vitro 試験 9
2.3.2.2 In vivo 試験 10
3 薬物動態試験 10
4 毒性試験 12
5 総括及び結論 13
5.1 動物とヒトの曝露量比較 17
6 参考文献 20

List of Tables

Table 1-1: 毒性試験プログラム 6

Table 5-1: フェドラチニブのマウス 1 ヵ月間投与試験で認められた主な影響及びその曝露量（雌雄合算平均値） 15

Table 5-2: フェドラチニブのラット 1 ヵ月間及び 6 ヵ月間投与試験で認められた主な影響及びその曝露量（雌雄合算平均値） 16

Table 5-3: フェドラチニブのイヌ 1 ヵ月間及び 9 ヵ月間投与試験で認められた主な 影響及びその曝露量（雌雄合算平均値） 16

Table 5.1-1: 動物とヒトとの曝露量比 17

用語及び略号一覧

略号	英語	日本語
AUC	area under the plasma concentration-time curve	血漿中濃度時間曲線下面積
AUC(0-24h)	AUC from time 0 to 24 hours	投与 0 時間後から 24 時間までの AUC
BCRP	breast cancer resistance protein	乳癌耐性タンパク質
BSEP	bile salt export pump	胆汁酸塩排出ポンプ
Cmax	maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
CNS	central nervous system	中枢神経系
CYP	cytochrome P450	チトクローム P450
DDI	drug-drug-interaction	薬物相互作用
F	absolute bioavailability	絶対的バイオアベイラビリティ
FLT3	FMS-like tyrosine kinase 3	FMS 様チロシンキナーゼ 3
FMO	flavin-containing monooxygenase	フラビン含有モノオキシゲナーゼ
GALT	gut-associated lymphoid tissue	腸管関連リンパ組織
GLP	good laboratory practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
hERG	human ether-a-go-go related gene	ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子
IC50	half maximal inhibitory concentration	50%阻害濃度
ICH	international council for harmonisation of technical requirements for pharmaceuticals for human use	医薬品規制調和国際会議
JAK	Janus Kinase	ヤヌスキナーゼ
$JAK2^{V617F}$	—	617 番アミノ酸残基のバリンがフェニルアラニンへ変異した活性化変異を有する JAK2
MATE	multidrug and toxin extrusion protein	多剤・毒性化合物排出タンパク質
MF	myelofibrosis	骨髄線維症
MPN	myeloproliferative neoplasms	骨髄増殖性腫瘍
MRP	multidrug resistance-associated protein	多剤耐性タンパク質
NA	not applicable	該当せず
OAT	organic anion transporter	有機アニオントランスポーター
OATP	organic anion transporting polypeptide	有機アニオン輸送ポリペプチド
OCT	organic cation transporter	有機カチオントランスポーター
P-gp	P-glycoprotein	P 糖タンパク質
PK	pharmacokinetic(s)	薬物動態

略号	英語	日本語
PO	oral	経口投与
PV	polycythemia vera	真性多血症
STAT	signal transducers and activator of transcription	シグナル伝達性転写因子
THTr	thiamine transporter	チアミントランスポーター
TK	toxicokinetic(s)	トキシコキネティクス
TYK2	tyrosine kinase 2	チロシンキナーゼ 2

1 非臨床試験計画概略

ヤヌスキナーゼ 2（JAK2）シグナル伝達経路の異常な活性化が骨髄線維症（MF）などの骨髄増殖性腫瘍（MPN）の発症に寄与している。フェドラチニブは野生型及び活性化変異型 JAK2（$JAK2^{V617F}$）に対する選択的阻害薬であり、ルキソリチニブ投与経験のある患者を含む MPN 関連 MF［すなわち、原発性骨髄線維症、真性多血症（PV）並びに本態性血小板血症からの二次性 MF］の治療薬として開発されている。なお、フェドラチニブは別名 SAR302503 及び TG101348 としても知られている。

1.1 薬理

1.1.1 薬効薬理試験及び副次的薬理試験

フェドラチニブの効力を裏付ける試験として、複数のキナーゼからなる評価パネルを用いた選択性評価試験及び $JAK2^{V617F}$ 発現細胞（遺伝子導入細胞、細胞株及び MPN 患者由来細胞）を用いた in vitro 試験を実施した。さらに、in vivo 薬効薬理試験では $JAK2^{V617F}$ 発現骨髄細胞を同種同所移植した、及び $JAK2^{V617F}$ をノックインした MPN モデルマウスを用いてフェドラチニブの薬効を評価した。

フェドラチニブの副次的薬理作用を一連の受容体及びトランスポーターからなる評価パネルを用いた in vitro スクリーニングにより評価し、一部のタンパク質に対しては 50%阻害濃度（IC50 値）を決定した。また、チアミン依存性酵素活性、チアミンの状態及びチアミンの取り込みに対するフェドラチニブの影響を評価する目的で in vitro 及び in vivo 試験を実施した。

1.1.2 安全性薬理試験

安全性薬理試験として医薬品規制調和国際会議（ICH）S7A 及び S7B ガイドラインにて規定されたコアバッテリー試験を実施し、ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子（hERG）チャネル電流及び心臓イオンチャネルに対する in vitro 作用、並びにラット神経機能及びイヌ心血管系及び呼吸器系に対する in vivo 作用を評価した。

1.2 薬物動態

フェドラチニブの非臨床における吸収、分布、代謝及び排泄を評価するための in vitro 及び in vivo 試験を実施した。フェドラチニブ濃度を測定するために頑健及び再現性のある分析法を開発し、薬物動態（PK）及びトキシコキネティクス（TK）試験に用いた。マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びサルにフェドラチニブを単回静脈内、単回及び反復経口投与したときの吸収及び絶対的バイオアベイラビリティ（F）を評価した。ラットに ^{14}C 標識した[^{14}C]-フェドラチニブを単回経口投与したときの組織分布及びフェドラチニブの血漿タンパク結合率を評価した。動物及びヒトの肝ミクロソーム又は肝細胞を用いた in vitro 試験、並びにマウス、ラット及びイヌに[^{14}C]-フェドラチニブを単回経口投与した in vivo 試験で、フェドラチニブの代謝を明らかにするとともに動物及びヒトの代謝を比較した。マウス、ラット及びイヌに[^{14}C]-フェドラチニブを単回経口投与したとき、投与放射能のマスバランス及び排泄を評価した。薬物代謝酵素又は薬物トランスポーターを介するフェドラチニブの薬物相互作用（DDI）の可能性を評価するための in vitro 試験を実施した。

1.3 毒性

フェドラチニブの毒性について、単回投与毒性試験（ラット及びイヌ）、反復投与毒性試験（マウス最長 1 ヵ月間、ラット最長 6 ヵ月間、イヌ最長 9 ヵ月間）、in vitro 及び in vivo 遺伝毒性試験、受胎能試験（ラット）、胚・胎児発生毒性試験（ラット及びウサギ）、出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（ラット）、がん原性試験（トランスジェニックマウス 6 ヵ月間）、in vitro 光毒性試験を実施して評価した。また、不純物について安全性評価を実施した（Table 1-1）。

Table 1-1: 毒性試験プログラム

Study Type and Duration	Route of Administration	Species / Test System	Compound Administered
Single-dose toxicity / 10-day repeat dose	PO	Rat and dog	Fedratinib
Repeat-dose toxicity			
up to 14 days	PO	Mouse and rat	Fedratinib
1 month	PO	Mouse, rat and dog	Fedratinib
6 months	PO	Rat	Fedratinib
9 months	PO	Dog	Fedratinib
Genotoxicity			
Ames assay	In vitro	*S. typhimurium* and *E. coli*	Fedratinib & *不純物A
Chromosomal aberration assay	In vitro	CHO cells	Fedratinib
Micronucleus test	PO	Rat	Fedratinib
Carcinogenicity			
6-month	PO	Mouse (transgenic)	Fedratinib
Reproductive and Developmental toxicity			
Fertility	PO	Rat	Fedratinib
Range-finding embryo-fetal toxicity	PO	Rat and rabbit	Fedratinib
Definitive embryo-fetal toxicity	PO	Rat and rabbit	Fedratinib
Pre- and post-natal development	PO	Rat	Fedratinib
Impurity Qualification			
1 month	PO	Rat	Fedratinib + *不純物A impurity
Phototoxicity	In vitro	3T3 cells	Fedratinib
Impurity Studies			
Ames assay and chromosomal aberration assay	In vitro	*S. typhimurium;* HPBL cells	Indentified impurities

3T3 = BALB/c mouse fibroblasts; CHO = Chinese hamster ovary; HPBL= human peripheral blood lymphocytes; *不純物A = impurity of fedratinib; *不純物A is also known as [redacted].

＊新薬承認情報提供時に置き換え

2 薬理試験

2.1 薬効薬理試験

In vitro 酵素スクリーニング 2 試験（それぞれ、223 種類及び 192 種類のキナーゼを評価）において、フェドラチニブは $JAK2^{V617F}$、JAK2 及び FMS 様チロシンキナーゼ 3（FLT3）に対して阻害活性を示し、IC50 値はそれぞれ 3 nM、3 nM 及び 15 nM であった。また、フェドラチニブは他の JAK ファミリーメンバーである JAK1、JAK3 やチロシンキナーゼ 2（TYK2）よりも JAK2 に選択的な作用を示し、JAK1、JAK3 及び TYK2 に対する IC50 値は JAK2 に対する IC50 値よりもそれぞれ 36 倍、76 倍及び 136 倍高値であった。別の試験でも同様の結果が得られ、JAK1、JAK3 及び TYK2 に対する IC50 値は JAK2（野生型）に対する IC50 値よりもそれぞれ 6 倍、38 倍及び 71 倍高値であった。

JAK-シグナル伝達性転写因子（STAT）シグナル伝達系及び細胞増殖に対するフェドラチニブの作用を細胞試験系を用いて評価した薬理試験においても、フェドラチニブの作用は他の JAK ファミリーよりも JAK2 に対する選択性が高いことが確認された。すなわち、JAK2 強制発現 Ba/F3 細胞において、最高被験濃度（1.1 μM）のフェドラチニブは STAT3 リン酸化を 71%阻害し、同細胞の増殖を 94%阻害した。一方、JAK1、JAK3 及び TYK2 強制発現細胞においては、同濃度のフェドラチニブの STAT3 リン酸化阻害作用はそれぞれ 13%、5%及び 1%、細胞増殖抑制作用はそれぞれ 14%、33%及び 5%であった。なお、フェドラチニブの細胞増殖抑制作用（IC50 値）は JAK2 強制発現細胞では 0.36 μM であったが、JAK1、JAK3 及び TYK2 を強制発現させた細胞ではすべて 1.1 μM を上回った。

さらに、フェドラチニブがルキソリチニブ、AZD1480、CYT-387 及び lestaurtinib といった他の JAK 阻害薬に対して耐性を示す複数の変異型 JAK2 に対しても、強力な阻害活性を示すことが報告されている[1]。

$JAK2^{V617F}$ を発現する細胞モデルにおいて、フェドラチニブは STAT5 リン酸化及び細胞増殖を阻害し、アポトーシスによる細胞死を誘導したが、$JAK2^{V617F}$ を発現していないヒト正常皮膚線維芽細胞に対してはアポトーシスを誘導しなかった。すなわち、内因性に $JAK2^{V617F}$ を発現するヒト赤白血病細胞株（HEL 細胞）及び $JAK2^{V617F}$ を発現するように遺伝子操作したマウス pro-B 細胞株（Ba/F3:$JAK2^{V617F}$ 細胞）の増殖をフェドラチニブは阻害し、その EC50 値はいずれも約 0.3 μM であった。また、$JAK2^{V617F}$ を内因性に発現している別の細胞株である血液疾患患者由来細胞株（SET-2 細胞及び UKE-1 細胞）に対してもフェドラチニブは細胞増殖抑制作用を示した。

$JAK2^{V617F}$ を遺伝子導入したヒト正常臍帯血幹細胞、並びに $JAK2^{V617F}$ を内因性に発現する PV 患者由来の造血幹細胞、造血前駆細胞及び骨髄系共通前駆細胞をフェドラチニブで処置したところ、赤血球コロニー形成が濃度依存的に阻害され（IC50 値は総じて 300 nM 以下）、これらの細胞がフェドラチニブ感受性であることが確認された。

各種有効性評価モデルを用いた in vivo 評価において、フェドラチニブは STAT リン酸化阻害作用、抗腫瘍効果、病態改善効果を示し、一部のモデル動物では生存期間の延長作用も示した。$JAK2^{V617F}$ を発現させた Ba/F3 細胞の静脈内移植により誘発した重度の白血球数増加及び脾腫を特徴とするマウスモデルにおいて、フェドラチニブ投与により循環血中腫瘍細胞量及びリン酸化 STAT5 が減少し、生存期間延長も認められた。$JAK2^{V617F}$ を遺伝子導入した同種骨髄細胞の移植により誘発した悪性 MPN 様の徴候を示すモデルマウスにおいて、フェドラチニブは骨髄細胞におけるリン酸化 STAT5 を減少させ、生存期間を延長させ、$JAK2^{V617F}$ 発現頻度、白血球数、ヘマトクリット値、脾腫及びレチクリン線維症の減少などの病態改善作用を示した。これらの観察結果と一致して、$JAK2^{V617F}$ ノックイン PV モデルマウスにおいて、フェドラチニブ投与による脾臓重量の有意な減少並びに骨髄と脾臓での赤血球過形成に対する改善効果が認められたが、疾患起源細胞（disease-initiating population）を消滅させることはできないと考えられた。

ヒト SET-2 細胞を異種移植した評価モデルにおいて、フェドラチニブは STAT3 及び STAT5 のリン酸化を阻害し、腫瘍増殖を抑制した。また、$JAK2^{V617F}$ を遺伝子導入したヒト正常臍帯血細胞を異種移植したマウスにおいて、フェドラチニブは赤血球前駆細胞の生着を阻害したが、野生型 JAK2 赤血球前駆細胞や T 細胞に対する生着阻害作用は弱かった。

2.2 副次的薬理試験

80 種のタンパク質を対象とした in vitro 結合試験で、フェドラチニブ（1 μM）は以下の 13 種類の受容体及びトランスポーターへのリガンド結合を 50%超阻害した：ヒトアデノシン A1 及び A2A 受容体、ヒトムスカリン M1、M2、M3、M4 及び M5 受容体、ラットセロトニン 5HT1B 受容体、ラットシグマ（非選択性）受容体、ラット Na チャネル（サイト 2）、ヒトノルエピネフリントランスポーター、ヒトドパミントランスポーター並びにヒトセロトニン 5HT トランスポーター。

その後のスクリーニングにより、上記の 13 種類の受容体及びトランスポーターの IC50 値を決定した結果、下記の受容体 2 種とトランスポーター1 種に対する IC50 値が 100 nM 未満であった。

ヒトムスカリン M1 受容体：33 nM
ヒトムスカリン M5 受容体：21 nM（アゴニストに対しては 71 nM）
ヒトドパミントランスポーター：36 nM

ヒトチアミントランスポーター（THTr）-1 及び THTr-2 に対するフェドラチニブの阻害能を in vitro 試験で評価した。最高被験濃度 300 μM におけるフェドラチニブの THTr-1 及び THTr-2 の最大阻害率はそれぞれ 24.5%及び 44.2%であったことから、両トランスポーターに対する IC50 値は 300 μM 超と推定された。雄 Sprague Dawley ラットを用いた試験を実施し、ウェルニッケ脳症の発症又はその予後、チアミン依存性酵素活性、チアミンの状態及びチアミンの取り込みに対するフェドラチニブの影響を検討した。フェドラチニブを MF の治療に用いる予定臨床推奨用量（400 mg/ヒト/day）

に近い投与量（2.27 mg/ラット/day）で正常ラットに 28 日間腹腔内投与したところ、チアミン欠乏症進行や赤血球トランスケトラーゼ活性の変化は認められなかった。また、培養ラットアストロサイトをフェドラチニブ（17 μM）で処置しても当該細胞へのチアミン取り込み量は減少しないことが示された。血漿及び脳へのチアミン輸送に対するフェドラチニブの影響を評価するため、Sprague Dawley ラットを用いた 28 日間反復経口投与試験を医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に準拠して実施した。血漿中又は脳内のチアミン及びリン酸チアミンの濃度はフェドラチニブ投与の 7、14 及び 29 日後においても減少せず、ラットにおける消化管から血漿（血液）及び血漿（血液）から脳内へのチアミン輸送はフェドラチニブによって阻害されないことが示唆された。なお、すべての動物は計画剖検時まで生存した。

2.3 安全性薬理試験

2.3.1 中枢神経系に及ぼす影響

雄 Sprague Dawley ラットにフェドラチニブを単回経口投与し、神経機能に対する影響を評価した（GLP 試験）。30 mg/kg までの用量において、フェドラチニブは深部体温、体重、中枢神経系（CNS）、自律神経系、感覚運動及び神経筋に対する影響を示さなかった。

2.3.2 循環器系及び呼吸器系に及ぼす影響

2.3.2.1 In vitro 試験

hERG チャネルに及ぼす影響を 2 試験（非 GLP 試験及び GLP 試験を各 1 試験）で評価した。これらの試験で得られたフェドラチニブの IC50 値は、それぞれ 17.5 μM 及び 2.1 μM であった。別の試験では、心臓の活動電位維持に重要なイオンチャネル 11 種に及ぼすフェドラチニブの影響を検討した（非 GLP 試験）。その結果、下記の 6 種類のチャネルに対するフェドラチニブの IC50 値が得られた。

hERG：17.8 μM
hNav1.5：10.8 μM
hkvLQT1/hminK：20.6 μM
hKv4.3：31.2 μM
hCav3.2：8.2 μM
hKir6.2/SUR2A：2.8 μM

一方、本試験で検討した濃度範囲（最高 30 μM まで）では、次の 5 種類のチャネルに対する IC50 値には到達しなかった：hKv1.5、hCav1.2、hKir2.1、hHCN4 及び hKir3.1/3.4。

2.3.2.2 In vivo 試験

遠隔測定装置を装着させた雄覚醒ビーグル犬を用いた心血管系及び呼吸器系試験（GLP 試験）において、フェドラチニブを 20 mg/kg（400 mg/m^2）までの投与量で経口単回投与したところ、心血行動態［血圧（拡張期、収縮期及び平均動脈圧）及び心拍数］及び心電図波形（PR、QRS、QT 及び QTc）に対する影響は認められなかった。また、呼吸器パラメータ（呼吸数及び動脈血ガス分圧）も本薬の投与による影響を受けなかった。

3 薬物動態試験

GLP 適合の毒性試験を実施した動物の血漿中フェドラチニブ濃度を測定するため、液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析を用いた分析法を開発した。これらの分析法は、適用される GLP ガイダンス及び米国食品医薬品局の生体試料中薬物濃度分析法バリデーションガイダンス（2001 年）に従ってバリデーションを実施した。

マウス、ラット、イヌ及びサルにフェドラチニブを単回静脈内投与したときのクリアランスは 19～125 mL/min/kg で中等度から高度であり、消失半減期は 3～11 時間であった。定常状態分布容積は 11～32 L/kg で大きかった。マウス、ラット、イヌ及びサルにフェドラチニブを単回経口投与したとき、フェドラチニブは速やかに吸収され、最高血漿中濃度到達時間は 1.0～3.7 時間、F は 17.7%～37%であった。

マウス、ラット、ウサギ及びイヌにフェドラチニブを反復経口投与したときの曝露量は、概して用量比を上回って増加した。ラット及びイヌに 28 日間反復経口投与したとき、フェドラチニブの軽微な蓄積が認められた。マウス及びラットではわずかな性差が認められ、概して雄より雌の曝露量が高かった。

マウス及びラットにフェドラチニブを経口及び静脈内投与したときのフェドラチニブの脳／血漿分配比から、フェドラチニブの脳内移行性は低度から中等度であり、脳内からの消失は血漿中からの消失よりも遅いことが示唆された。ラットに[^{14}C]-フェドラチニブを 25 mg/kg の用量で単回経口投与したとき、[^{14}C]-フェドラチニブ由来の放射能は広範な組織に分布した。放射能濃度は、胆汁、肝臓、腎髄質、副腎及び脾臓で特に高かった。眼（ぶどう膜）の放射能濃度は、Long-Evans ラットでは認められたが、Sprague Dawley ラットでは認められなかった。フェドラチニブの胎盤通過性及び乳汁中移行を検討する試験は実施しなかった。

検討した各動物種において、5 μM の濃度でのフェドラチニブの in vitro 血漿タンパク結合率は 83.3%～93.2%で中等度から高度であった。ヒト血漿中で主に α1-酸性糖タンパク質と結合した。ラット及びイヌの血液／血漿比は 1.1～2.0 であり、投与した放射能は血液の細胞画分へわずかに移行することが示された。

動物及びヒトの肝ミクロソーム又は肝細胞を用いた in vitro 試験で、検討した各動物種において、フェドラチニブの肝臓における酸化代謝が認められた。ヒト肝ミクロソーム又は肝細胞で認められ

たヒトの主要な代謝物は、毒性試験に用いた動物種（マウス、ラット及びイヌ）でも認められ、ヒトに特有の代謝物はなかった。

マウス、ラット、イヌ及びヒトに[^{14}C]-フェドラチニブを単回経口投与したとき、ヒト及び各動物種において、血漿中では未変化体が血漿中総放射能の大部分を占め、ヒト及び各動物種での未変化体の血漿中濃度時間曲線下面積（AUC）は血漿中総放射能の AUC のそれぞれ 79.8%及び 66%～88%を占めた。ヒトを含む各動物種において 5 種の代謝経路が同定され、主要な代謝経路はエチルピロリジン基の酸化（経路 A）であり、動物種では投与放射能の 21%～59%を、ヒトでは投与放射能の 28%を占めた。他の 4 種の副次的な代謝経路は、いずれの動物種でも認められたトリ芳香族基の酸化（経路 B）が投与放射能の 3%～6%（ヒトでは投与放射能の 4%）、ヒト、ラット及び C57Bl/6 マウスで認められた *tert*-ブチル基の酸化（経路 C）は投与放射能の 3%以下、雌性ラットの排泄物中のみで認められたグルタチオン抱合（経路 D）は投与放射能の 2%、ラット胆汁中ではさらにグルクロン酸抱合体（経路 E）がわずかに認められた。また、in vivo 試験で認められた全てのヒト代謝物は、少なくともヒト以外の 1 種の動物種で認められ、ヒトに特有の代謝物はなかった。

マウス、ラット及びイヌに[^{14}C]-フェドラチニブを単回経口投与したとき、投与放射能の総回収率は 83.3%～97.8%であった。各動物種において、投与放射能の 78%以上が糞中排泄され、尿中排泄率は 5%未満であったことから、大部分が糞中排泄であることが示された。ラットで吸収された[^{14}C]-フェドラチニブの主な排泄経路は胆汁中排泄であり、投与放射能の約 51%が排泄された。フェドラチニブのほとんどは未変化体ではなく代謝物として胆汁中に排泄された。

ヒト肝ミクロソーム、ヒト肝細胞及びヒト組換え代謝酵素発現系を用いた in vitro 試験で、チトクローム P450（CYP）及びフラビン含有モノオキシゲナーゼ（FMO）酵素がフェドラチニブの第 I 相代謝反応に関与することが示唆された。フェドラチニブの代謝には CYP3A4、CYP2C19 及び FMO3 が関与し、主に CYP3A4 が寄与すると考えられた。

ヒト肝ミクロソームを用いた in vitro 試験で、フェドラチニブは CYP2C8、CYP2C9 及び CYP2D6 を可逆的に阻害し、阻害定数値はそれぞれ 50.4、26.1 及び 10.1 μM であった。フェドラチニブは CYP2C19 及び CYP3A4 に対して時間依存的に阻害し、最大不活性化速度定数／最大不活性化の 50%の速度をもたらす阻害薬濃度の値は CYP2C19 では 0.000299、CYP3A4 では 0.0274 及び 0.456（プローブ基質：ミダゾラム及びテストステロン）であった。また、100 μM までのフェドラチニブは CYP1A2 及び CYP2B6 に対して阻害作用を示さなかった。

反復投与毒性試験における TK データに基づくと、フェドラチニブによる CYP 酵素の自己誘導作用は観察されなかった。3 例のドナー由来ヒト肝細胞を用いた in vitro 試験で、フェドラチニブは 5 μM までの濃度で CYP1A2 及び CYP2B6 に対する代謝活性又は mRNA レベルでの酵素誘導作用を示さなかった。フェドラチニブは各ヒト肝細胞で濃度依存的に CYP3A4 mRNA レベルを増加させたが、CYP3A4 の代謝活性は増加させなかった。フェドラチニブによる CYP3A4 mRNA レベルの増加を伴

う CYP3A4 代謝活性の正味の低下は、フェドラチニブの CYP3A4 に対する時間依存的な阻害作用に起因する可能性が考えられた。

フェドラチニブが様々な薬物トランスポーターの基質となる可能性を評価した in vitro 試験で、フェドラチニブは P 糖タンパク質（P-gp）の基質であるが、乳癌耐性タンパク質（BCRP）、胆汁酸塩排出ポンプ（BSEP）、多剤耐性タンパク質（MRP）2、有機アニオン輸送ポリペプチド（OATP）1B1 及び OATP1B3 の基質ではなかった。

フェドラチニブの様々な薬物トランスポーターに対する阻害を評価した in vitro 試験で、フェドラチニブは P-gp、BCRP、OATP1B1、OATP1B3、有機カチオントランスポーター（OCT）1、OCT2、多剤・毒性化合物排出タンパク質（MATE）1 及び MATE2-K を介したプローブ基質の輸送を阻害し、IC50 値はそれぞれ 10.1～11.2、29.9、16.4、9.51、6.06、0.78、0.352 及び 0.227 μM であった。100 μM の濃度までのフェドラチニブは BSEP、MRP2、有機アニオントランスポーター（OAT）1 及び OAT3 を介するプローブ基質の輸送を阻害しなかった。

4 毒性試験

マウスにおける主な毒性の標的器官は、骨髄（低形成）、リンパ組織［脾臓、胸腺、腸管関連リンパ組織（GALT）及び腸間膜リンパ節のリンパ球減少・壊死］、腎臓（尿細管変性及び壊死）、胃（前胃の潰瘍・炎症、腺肥大）、膣（不完全性周期）、横隔膜筋（変性、壊死、炎症）及び膀胱（移行上皮空胞化）であった。

ラットにおける主な毒性の標的器官は、骨髄（低形成）及び肝臓（胆管肥大及び壊死）であった。その他、リンパ系組織（胸腺、脾臓、腸間膜リンパ節の萎縮、腸間膜リンパ節の組織球浸潤）、肺（組織球浸潤）及び心臓（心筋症、心筋の変性・壊死）にも変化が認められた。

イヌにおける主な毒性の標的器官は、骨髄（低形成及び骨髄前駆細胞の増加、無効造血と一致）及び肝臓（胆管上皮の肥大及び増殖）であった。9 ヵ月間投与試験では、脾臓及び肝臓に骨髄前駆細胞の浸潤も認められた。この骨髄前駆細胞の増加は、骨髄・血液の回復傾向を示唆する所見と考えられた。死亡例がみられた用量では、肝臓へのより重度な影響として、胆管上皮の変性・再生及び壊死（散発的に線維化及び炎症を伴う）、肝細胞壊死、クッパー細胞過形成、胆汁うっ滞及び動脈壁壊死が認められた。また、9 ヵ月間投与試験の状態悪化例では、食道及び胃の潰瘍及び慢性活動性炎症に関連した内出血、ストレス及び食欲不振に関連したリンパ組織のリンパ球減少などが認められた。さらに死亡例では肺炎・膿瘍も認められたが、骨髄及びリンパ器官の変化に伴う免疫系への影響による二次的変化と考えられた。

*不純物A の安全性確認のために実施したラット 1 ヵ月間投与試験では、標的器官はフェドラチニブの 1 ヵ月間投与試験と概して同様であったが、さらに前胃の粘膜下浮腫及び扁平上皮過形成、大腿四頭筋壊死並びに肝細胞肥大が認められた。しかしながら、本試験では *不純物A を含有しないフェドラチニブ対照群を設定しなかったため、これらの所見が不純物に起因するか明らかでない。

＊新薬承認情報提供時に置き換え

フェドラチニブの遺伝毒性については、細菌を用いた in vitro 復帰突然変異（Ames）試験、チャイニーズハムスター卵巣細胞を用いた in vitro 染色体異常試験、ラットを用いた in vivo 小核試験により評価した結果、いずれの試験でも陰性であった。

トランスジェニックマウスを用いた 6 ヵ月間がん原性試験では、フェドラチニブ投与に起因すると考えられる腫瘍発生は認められなかった。

ラットを用いた受胎能及び初期胚発生に関する試験では、いずれの用量でも、性周期、交尾行動、交尾所要日数、受胎能、妊娠率などの生殖能指標にフェドラチニブの影響は認められなかった。

胚・胎児発生への影響に関する試験の結果、ラットにおいて着床後胚損失率の増加、胎児体重の減少及び骨格変異（頚椎神経弓過剰骨化中心）がみられ、胚・胎児発生への影響が認められた。ウサギでは、胚・胎児発生への影響は認められなかった。

ラットを用いた出生前及び出生後の発生に関する試験では、母動物の体重増加抑制、F1 出生児の体重及び摂餌量の減少がみられた。F1 出生児の身体発育分化及び行動、交尾率、生殖能、受胎能指数及び妊娠 13 日の帝王切開所見にはフェドラチニブ投与による影響は認められなかった。

3T3 細胞を用いた in vitro 光毒性試験でフェドラチニブは光毒性を示さなかった。

5 総括及び結論

薬理試験結果から、フェドラチニブは野生型及び活性化変異型 JAK2 に対して阻害活性を示す経口投与可能な新規キナーゼ阻害薬であり、TYK2 を含む他の JAK ファミリーと比較して JAK2 に対する選択性が高いことが明らかとなった。活性化変異型 JAK2 を発現する MPN 患者由来細胞を含む in vitro モデルにおいて、フェドラチニブはシグナル伝達因子である STAT3 及び STAT5 のリン酸化を抑制し、細胞増殖を阻害し、アポトーシスを誘導した。また、フェドラチニブは $JAK2^{V617F}$ 誘発性 MPN モデルマウスにおいて生存率を向上させ、白血球数及びヘマトクリット値の低下や脾腫及び線維症の抑制といった MPN 疾患関連症状改善効果を示した。これらの結果により、フェドラチニブは JAK2 シグナル伝達経路の異常活性化を特徴とする MPN 疾患に対する経口治療薬となることが期待される。なお、フェドラチニブは FLT3 に対しても阻害作用を示すが、MPN の病態における FLT3 の関与を示す報告はない。また、フェドラチニブによる FLT3 阻害作用が急性白血病への転化を抑制する可能性は否定できないものの、FLT3 阻害薬として知られるギルテリチニブ及びキザルチニブの効能または効果として MPN は認められていないことや、MPN における FLT3 活性化変異（FLT3-ITD）の頻度は 3%未満であると報告されていること[2]から、フェドラチニブの MPN 治療効果における FLT3 阻害の貢献度は高くはないと考えられる。

副次的薬理試験において、フェドラチニブは複数の受容体及びトランスポーターに対してリガンド結合を阻害した。特にムスカリン受容体 2 種及びドパミントランスポーターに対する IC50 値は低値であったことから、本薬投与によって神経行動学的影響が発現する可能性が示唆された。しかしながら、ラットを用いて神経行動学的影響を検討した安全性薬理試験では、本薬は CNS、自律神経系、

感覚運動及び神経筋に影響を及ぼさなかった。また、マウス、ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験において一般状態の変化は認められたものの、それらは健康状態の悪化又は瀕死状態によるもので、上記標的外タンパク質相互作用に関連した影響ではないと考えられた（M2.6.6、3 項）。なお、臨床試験において、CNS 関連の有害事象が認められるものの、Grade3 以上の重篤なものは稀であることが確認されている（M2.7.4、2.1.1.2 項）。

フェドラチニブを 2.27 mg/day でラットに 28 日間腹腔内投与したところ、チアミン欠乏を示す一般状態の変化は認められず、また赤血球トランスケトラーゼ活性及びチアミン状態に対する影響も認められなかった。また、培養アストロサイトをフェドラチニブ（17 μM）で処置してもチアミンの細胞への取り込みは阻害されなかった。ラットを用いて実施した追加の 28 日間反復投与試験では、80 mg/kg でのフェドラチニブ投与は血漿中及び脳内のチアミン濃度に影響を及ぼさないことが示された。これはフェドラチニブはチアミントランスポーターを阻害しないことを示した in vitro 試験と一致するものであった。

フェドラチニブは in vitro で hERG チャネル電流を阻害し（IC50 値＝2.1 及び 17.8 μM）、他のイオンチャネルに対する IC50 値は 2.8～31.2 μM の範囲であった。一方、覚醒イヌを用いた心血管系及び呼吸器系に対する影響を検討した in vivo 安全性薬理試験では、本薬投与による血圧、心拍数、心電図波形、呼吸数及び動脈血ガス分圧に対する影響は認められなかった。

In vivo 安全性薬理試験結果を評価するにあたって、日本人における血漿中曝露量［最高血漿中濃度（Cmax）及び AUC］がラット及びイヌを用いた安全性薬理試験で得られた最高曝露量を上回っていることが明らかとなった。毒性試験においてヒトは動物よりもフェドラチニブに対する感受性が低いと考えられる（5.1 項）ことからも、本試験のヒトにおける安全性薬理作用を発現する曝露量の予測性については限定的と考えられる。

フェドラチニブは複数の代謝酵素 CYP3A4、CYP2C19 及び FMO3 により代謝され、主に CYP3A4 がフェドラチニブの代謝に寄与する。フェドラチニブと CYP3A4 阻害薬を併用すると、血漿中フェドラチニブ濃度が上昇する可能性が考えられた。フェドラチニブを被相互作用薬として、強い CYP3A4 阻害薬であるケトコナゾールとの臨床 DDI 試験を実施した。その結果、フェドラチニブとケトコナゾールとの間に臨床的に意義のある DDI が認められ、被相互作用薬であるフェドラチニブの曝露量が上昇した（M2.7.2、2 項）。

フェドラチニブは CYP2C8、CYP2C9 及び CYP2D6 に対して可逆的な阻害作用、並びに CYP2C19 及び CYP3A4 に対して時間依存的な阻害作用を示した。また、フェドラチニブは in vitro 酵素誘導試験で CYP3A4 mRNA レベルを増加させる誘導作用を示したが、CYP3A4 代謝活性に対する誘導作用は認められず、代謝活性の低下が認められた。フェドラチニブによる CYP3A4 mRNA レベルの増加を伴う CYP3A4 代謝活性の正味の低下は、フェドラチニブの CYP3A4 に対する時間依存的な阻害作用に起因する可能性が考えられた。フェドラチニブとこれらの CYP 分子種の基質を併用すると、被相

互作用薬である CYP 分子種の基質の血漿中薬物濃度が上昇する可能性が考えられた。フェドラチニブを相互作用薬として、CYP3A4、CYP2C19 及び CYP2D6 の基質であるミダゾラム、オメプラゾール及びメトプロロールとの臨床 DDI 試験を実施した。その結果、フェドラチニブとミダゾラム、オメプラゾール及びメトプロロールとの間に臨床的に意義のある DDI が認められ、被相互作用薬であるミダゾラム、オメプラゾール及びメトプロロールの曝露量が上昇した（M2.7.2、2 項）。

フェドラチニブは P-gp、OATP1B1、OATP1B3、BCRP、OCT1、OCT2、MATE1 及び MATE2-K を IC50 値 0.2 μM 以上で阻害した。フェドラチニブとこれらの薬物トランスポーターの基質を併用すると、被相互作用薬である薬物トランスポーターの基質の血漿中薬物濃度が変化する可能性が考えられた。フェドラチニブを相互作用薬として、P-gp、OATP1B1、OATP1B3、BCRP、OCT1、OCT2、MATE1 及び MATE2-K の基質であるジゴキシン、ロスバスタチン及びメトホルミンとの臨床 DDI 試験を実施した。その結果、いずれの被相互作用薬の曝露量については臨床的に意義のある DDI が認められなかったものの、被相互作用薬であるメトホルミンの腎クリアランスが低下した（M2.7.2、2 項）。

1、6 及び 9 ヵ月間投与試験で認められたフェドラチニブに関連する主な影響及びこれらの影響に関連する曝露量を Table 5-1、Table 5-2 及び Table 5-3 に要約する。

Table 5-1: **フェドラチニブのマウス 1 ヵ月間投与試験で認められた主な影響及びその曝露量（雌雄合算平均値）**

Dose (mg/kg)	100	200	400/300[d]
Exposures[a]			
Cmax (ng/mL)[b]	3840	5620	NA[e]
AUC(0-24h) (ng•h/mL)[b]	32 600	84100	NA[e]
Main Effects[c]			
Lymphoid atrophy/ necrosis (spleen, thymus, lymph nodes and /or GALT)	+	+	+
Bone marrow hypoplasia	−	+	+
Kidney (degeneration/ necrosis renal tubules)	−	−	+
Stomach (non-glandular ulceration/ inflammation; glandular hypertrophy)	−	−	+
Mortality (main study)	2/12	6/12	12/12

[a] Average of male and female values.
[b] Cmax and AUC: Day 28.
[c] Effect (+) observed or (−) not observed.
[d] 400 mg/kg for 2 days followed by 300 mg/kg for 5 days; or 300 mg/kg for 4 days (Days 4-7)
[e] Not applicable; due to mortality.

Source: Study DDC0131.

Table 5-2: フェドラチニブのラット 1 ヵ月間及び 6 ヵ月間投与試験で認められた主な影響及びその曝露量（雌雄合算平均値）

Dose (mg/kg)	5	3	30	10	80	30
	1-month	6-month	1-month	6-month	1-month	6-month
Exposures[a]						
Cmax (ng/mL)[b]	20	8	262	78	600	279
AUC(0-24h) (ng•h/mL)[b]	150	77	2860	721	8830	3760
Main Effects[c]						
Lymphoid tissue atrophy (spleen, thymus, lymph nodes)	−	−	+	−	+	−
Bone marrow hypoplasia	−	−	+	−	+	+
Bile duct (epithelial cell) hypertrophy and/or necrosis[d]	−	−	−	−	+	+
Stomach (non-glandular submucosal edema, squamous cell hyperplasia)	−	−	−	−	+[e]	−
Heart cardiomyopathy (degeneration / necrosis)	−	−	−	−	+	−
Skeletal muscle (degeneration / necrosis)	−	−	−	−	+[e]	−
Lung (histiocytic infiltration)	−	−	+	−	+	+
Mortality	−	−	−	−	−	−

[a] Average of male and female values.
[b] Cmax and AUC: Day 28 for 4-week study; Day 180 for 6-month study.
[c] Effect (+) observed or (−) not observed.
[d] Associated with increased liver enzymes and/or bilirubin.
[e] Only observed in 28-day rat study with *不純物A .

Source: Study TX-[redacted]-101348-074F; Study TX[redacted]-101348-044; Study TSA1485.

Table 5-3: フェドラチニブのイヌ 1 ヵ月間及び 9 ヵ月間投与試験で認められた主な影響及びその曝露量（雌雄合算平均値）

Dose (mg/kg)	2	2	5	6	10	40/30	20/15
	1-month	9-month	1-month	9-month	1-month	1-month	9-month
Exposures[a]							
Cmax (ng/mL)[b]	21	20	105	97	244	1790	296
AUC(0-24h) (ng•h/mL)[b]	205	188	1040	1020	2760	18 600	3360
Main Selected Effects[c]							
Lymphoid tissue atrophy (spleen, thymus, lymph nodes)	+	−	+	−	+	+	+
Bone marrow							

＊新薬承認情報提供時に置き換え

Table 5-3: フェドラチニブのイヌ 1 ヵ月間及び 9 ヵ月間投与試験で認められた主な影響及びその曝露量（雌雄合算平均値）

Dose (mg/kg)	2	2	5	6	10	40/30	20/15
	1-month	9-month	1-month	9-month	1-month	1-month	9-month
hypoplasia	+	−	+	−	+	+	+
increased myeloid progenitor cells[d]	−	−	−	−	−	−	+
Liver[e]							
bile duct (epithelial cell) hypertrophy, proliferation, degeneration/regeneration, and/or necrosis	−	−	−	+	+	+	+
Mortality	−	−	−	−	−	6/10	9/20

[a] Average of male and female values.
[b] Cmax and AUC: Day 28 for 4-week study; Day 271 for 9-month study.
[c] Effect (+) observed or (−) not observed.
[d] Increased myeloid progenitor cells also observed in liver and spleen.
[e] Associated with increased liver enzymes and/or bilirubin.
Source: Study TX-[redacted]-101348-075F; Study TX-[redacted]-101348-046A.

マウスでは、フェドラチニブの曝露量は用量比をわずかに上回って増加した。雌の曝露量は雄よりもわずかに高かった。ラットでは、1 ヵ月間及び 6 ヵ月間投与試験での曝露量は用量比を上回って増加した。軽微から中程度の蓄積がみられ、雌の方が雄よりわずかに高かった。イヌでは、1 ヵ月間及び 9 ヵ月間投与試験での曝露量は用量比を上回って増加し、軽微から中程度の蓄積がみられた。1 ヵ月間投与試験での雌雄の曝露量は同程度であったが、高用量の 30 mg/kg では雌の方が雄より低かった。9 ヵ月間投与試験では、雌の曝露量は雄と同程度又はわずかに低かった。

5.1 動物とヒトの曝露量比較

ラットを用いた 6 ヵ月間及びイヌを用いた 9 ヵ月間反復投与毒性試験、マウスを用いた 6 ヵ月間がん原性試験、ラット及びウサギを用いた生殖発生毒性試験における最高用量での曝露量と、臨床試験でのヒト曝露量を比較した（Table 5.1-1）。

Table 5.1-1: 動物とヒトとの曝露量比

Type of study	Species	Dose (mg/kg)	Cmax (ng/mL)	AUC(0-24h) (ng•h/mL)	Animal/Human Exposure Ratio[a]	
					Cmax	AUC(0-24h)
Repeat-dose toxicity	Rat (M)[b]	30[c]	200	3080	0.083	0.075
	Rat (F)[b]		357	4440	0.148	0.107
	Dog (M)[d]	15[c]	246	2880	0.102	0.070
	Dog (F)[d, g]		345	3840	0.143	0.093

Table 5.1-1: 動物とヒトとの曝露量比

Type of study	Species	Dose (mg/kg)	Cmax (ng/mL)	AUC(0-24h) (ng•h/mL)	Animal/Human Exposure Ratio[a]	
					Cmax	AUC(0-24h)
Carcinogenicity	Mouse (M)	30[c]	1280	12700	0.530	0.307
	Mouse (F)		2130	22100	0.881	0.535
Reproductive function (fertility and mating)	Rat (M)[e]	30[h]	188	2910	0.078	0.070
	Rat (F)[f]		342	3840	0.141	0.093
Embryo-fetal developmental toxicity	Rat	30	294	3250	0.122	0.079
	Rabbit	30	501	2320	0.207	0.056
Pre- and post-natal developmental toxicity	Rat[f]	30	342	3840	0.141	0.093

[a] Values are animal/human ratios. Ratios are based on mean human exposure after repeated administration of 400 mg once daily: AUC(0-24h) = 41316 ng•h/mL, Cmax = 2417 ng/mL in adult Japanese subjects (popPK study FEDR-MPK-004).
[b] 6-month repeat-dose toxicity study in rats.
[c] Highest doses administered in mice, rats and dogs (6- or 9-month study).
[d] 9-month repeat-dose toxicity study in dogs.
[e] PK parameters estimated based on Day 90 toxicokinetic data from 6-month general toxicity study (Study TX-[redacted]-101348-044).
[f] PK parameters estimated based on Day 28 toxicokinetic data from 28-Day general toxicity study (Study TX-[redacted]-101348-074F).
[g] Represents combined mean values for samples from Day 246 and Day 271.
[h] Highest doses tested.
Source: Study TX-[redacted]-101348-044; Study TX-[redacted]-101348-046A; Study TX-[redacted]-101348-074F; Study CAR0168; Study FER0500; Study TX-[redacted]-101348-057; Study TX[redacted]-101348-058A; Study DPN0371.

動物とヒトとの曝露量比較から、ヒト曝露量はラット及びイヌの最高曝露量を上回ることが示された。予定臨床推奨用量の 400 mg を投与した患者における定常状態 AUC は、ラット 6 ヵ月間及びイヌ 9 ヵ月間投与試験での AUC より約 9 倍～14 倍高い。

ヒト曝露量より高い曝露量が得られたマウス 1 ヵ月間投与試験の Cmax はヒトの約 4～5 倍（AUC は 0.6～0.8 倍）であったが、これらの曝露量では死亡例が発生した。また、ラット及びイヌの 1 ヵ月間試験では、ヒト曝露量はラットの最高 AUC より約 4 倍高く、イヌの最高 AUC の約 1.4 倍高い。

これらの比較から、ヒトは動物よりもフェドラチニブの毒性に対する感受性が低いことが示唆される。動物とヒトとの種差の要因については現時点では明らかでなく、JAK2 を介する細胞内情報伝達を惹起する受容体の様々な組織における分布や、同受容体に関連するフェドラチニブの作用若しくは標的外作用に関する感受性の種差など、多くの原因が考えられる。

以上に示したとおり、本概括評価に記載した一連の非臨床試験を実施し、フェドラチニブの有効性、薬物動態及び安全性を評価した。各試験の成績から、フェドラチニブをルキソリチニブ投与経験の

ある患者を含む MF の治療薬としての製造販売承認申請において非臨床での有効性、薬物動態及び安全性が確認された。

6 参考文献

[1] Kesarwani M, Huber E, Kincaid Z, Evelyn CR, Biesiada J, Rance M, et al. Targeting substrate-site in Jak2 kinase prevents emergence of genetic resistance. Sci Rep 2015;5:14538.

[2] 骨髄線維症診療の参照ガイド 令和 4 年改訂版（第 6 版）