目次

2.6.2 薬理試験の概要文 4
2.6.2.1 まとめ 4
2.6.2.2 効力を裏付ける試験 4
2.6.2.3 副次的薬理試験 15
2.6.2.4 安全性薬理試験 16
2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験 18
2.6.2.6 考察及び結論 18
2.6.2.7 図表 19
2.6.2.8 参考文献 19
2.6.3 薬理試験概要表 1

略号一覧表

略号又は略称	名称及び内容
BID	1日2回（bis in die, twice a day）
CD	分化抗原群（cluser of differentiation）
C_{max}	最高血漿中濃度（maximum plasma concentration）
$C_{max,ss}$	定常状態における最高血漿中濃度（maximum plasma concentration at steady state）
CNS	中枢神経系（central nervous system）
COX1	シクロオキシゲナーゼ1（cyclooxygenase 1）
DMSO	ジメチルスルホキシド（dimethylsulfoxide）
EC_{50}	50%作用濃度（half-maximal effective concentration）
ECG	心電図（electrocardiogram）
EP	乾癬性紅皮症（erythrodermic psoriasis）
FDR	偽陽性率（false discovery rate）
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（Good Laboratory Practice）
GPP	膿疱性乾癬（generalized pustular psoriasis）
HB-PSS	HEPES緩衝生理的食塩液（HEPES buffered physiological saline solution）
HEK	ヒト胎児腎臓（human embryonic kidney）
HEPES	2-(4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazinyl)-ethanesulfonic acid
hERG	ヒト *ether-a-go-go*-関連遺伝子（human *ether-a-go-go*-related gene）
IC_{50}	50%阻害濃度（half-maximal inhibitory concentration）
ICH	医薬品規制調和国際会議（International Council for Harmonisation）
ID	皮内（intradermal）
IFN-γ	インターフェロンガンマ（interferon gamma）
IL	インターロイキン（interleukin）
IL-23R	インターロイキン-23受容体（interleukin 23 receptor）
K_b	平衡解離定数（シルドプロット解析）［equilibrium dissociation constant（Shields analysis）］
K_D	平衡解離定数（equilibrium dissociation constant）
MSD	メソスケールディスカバリー（Meso Scale Discovery）
NK	ナチュラルキラー（natural killer）
NOEL	無影響量（no observed effect level）
PBMC	末梢血単核球（peripheral blood mononuclear cell）
PDE3A	ホスホジエステラーゼ3A（phosphodiesterase 3A）
PK	薬物動態（pharmacokinetics）
PO	経口（oral）
PsO	尋常性乾癬（psoriasis）
PR	the time for conduction from the SA node across the AV node and His-Purkinje system
QD	1日1回（quaque die, once daily）
QRS	QRS complex is the combination of three of the graphical deflections seen on a typical electrocardiogram
QT	measure of the time between the start of the Q wave and the end of the T wave in the heart's electrical cycle
QTc	補正QT間隔（heart rate corrected QT interval）
SD	標準偏差（standard deviation）
SPR	表面プラズモン共鳴（surface plasmon resonance）
STAT	シグナル伝達兼転写活性化因子（signal transducer and activator of transcription）
$t_{1/2}$	消失半減期（elimination half-life）

略号又は略称	名称及び内容
TK	トキシコキネティクス（toxicokinetics）
TNBS	2，4，6-トリニトロベンゼンスルホン酸（2, 4, 6-trinitrobenzene sulfonic acid）

2.6.2 薬理試験の概要文

2.6.2.1 まとめ

非臨床薬理試験計画概略

イコトロキンラの PsO，GPP 及び EP に対する経口治療薬としての有用性を確認するため，効力を裏付ける試験，副次的薬理試験及び安全性薬理試験を ICH ガイドラインに従って実施した。全ての非臨床薬理試験は最良の科学的基準に従って実施し，安全性薬理試験は GLP を遵守して実施した。安全性薬理試験では，心血管系，CNS 及び呼吸系に及ぼすイコトラキンラの影響を ICH S7A 及び S7B に従って評価し，さらに，2 回目の hERG 試験は ICH S7B/E14 Q&A のベストプラクティスの考慮事項に従って実施した。

ラット及びカニクイザルにおけるイコトロキンラの結合親和性及び *in vitro* 又は *in vivo* の薬理活性を踏まえ（2.6.2.2），薬理学的に適切な動物種としてラット及びカニクイザルを選択し，非臨床毒性試験を実施した【2.6.6.1】。安全性薬理試験では，心血管系，CNS 及び呼吸系に及ぼすイコトロキンラの影響をラット又はカニクイザルを用いて評価した。

非臨床薬理試験では，イコトロキンラ[redacted]及びイコトロキンラ塩酸塩の 2 種類の原薬を使用したが，概要文の用量は全て遊離塩基として示した。*In vivo* 安全性薬理試験では，イコトロキンラ[redacted]を 50 mmol/L リン酸ナトリウム緩衝液（pH 7.4 ± 0.1）に溶解し被験動物に投与した。

薬理試験概要表を【2.6.3】に示す。

非臨床薬理プロファイル

イコトロキンラはヒト，サル及びラット IL-23R に高い親和性で結合し，細胞を用いた試験においてヒト及びラット IL-23R に対して高い選択性及び強い阻害活性を示した。イコトロキンラの経口投与は，ラット皮膚炎モデルにおいて IL-23 誘導炎症反応を阻害し，ラット大腸炎モデルにおいて疾患に起因する体重減少，並びに結腸の浮腫，短縮及び疾患スコアを改善させた。

44 種類の標的パネル（受容体，イオンチャネル，酵素及びトランスポーター）に対するイコトロキンラのオフターゲット結合は認められなかった（IC_{50} >10 µmol/L）。また，ラット及びサルを用いた安全性薬理試験では，PsO 患者を対象とした第 3 相試験で 200 mg QD 投与したときの母集団 PK モデルに基づく PK パラメータの post hoc 推定 $C_{max,ss}$ = 2.93 ng/mL（5.3.3.5.2）の 40 倍を超える曝露量まで，心血管系，CNS 及び呼吸系に対する有害作用は認められなかった。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

2.6.2.2.1 *In vitro* 薬理試験

ヒト IL-23R に対するイコトロキンラの親和性，阻害活性及び選択性を結合試験及び細胞を用いた試験で評価した。また，非臨床動物種の IL-23R に対するイコトロキンラの交差反応性を結合試験及び細胞を用いた試験で評価した。

2.6.2.2.1.1 IL-23R に対するイコトロキンラの結合親和性

資料番号 4.2.1.1.1，4.2.1.1.2，4.2.1.1.3，4.2.1.1.4，4.2.1.1.5

ヒト IL-23R に対するイコトロキンラの結合親和性を 25°C で SPR 法により評価した結果，イコトロキンラの K_D は 0.41 ± 0.16 pmol/L（平均値 ± SD）であった（4.2.1.1.1）。

続いて，ヒト，サル，ラット，ウサギ及びマウス IL-23R に対するイコトロキンラの結合親和性を，より生理学的に適切な温度である 37°C で評価した（4.2.1.1.2，4.2.1.1.3）。イコトロキンラのヒト，サル及びラット IL-23R に対する結合親和性は同程度であったが，ウサギ及びマウス IL-23R に対する結合親和性は弱かった（表 2.6.2-1）。また，SPR 法のデータを用いて算出したヒト IL-23R に対するイコトロキンラの $t_{1/2}$（複合体量が 50%低減する時間）は 2.5 ± 1.3 時間（平均値 ± SD）であった。

表 2.6.2-1 ヒト，サル，ラット，ウサギ及びマウス IL-23R に対するイコトロキンラの結合親和性（SPR 法）

Species	IL-23R K_D (pmol/L)
Human	7.1 ± 2.5[a], 2[b]
Monkey	3[b]
Rat (protein batch 1, protein batch 2)[#]	12[b], 23[b]
Rabbit	420[b]
Mouse	86,000[b]

[a] SPR data from 5 different runs avg ± SD, Source: 4.2.1.1.2
[b] Source: 4.2.1.1.3
[#] Two unique batches of rat IL-23R were used for the SPR studies

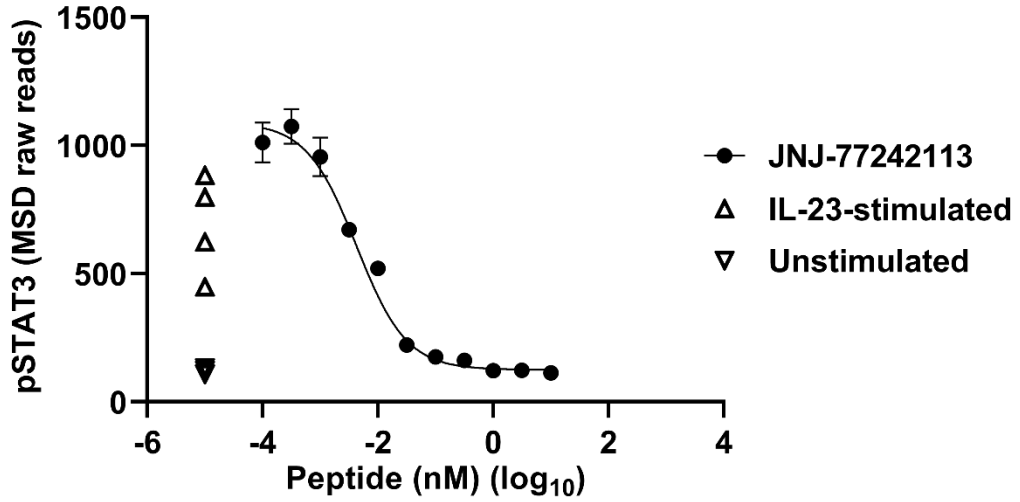
ヒト IL-23R の細胞外ドメインのタンパク質配列は，サル，ウサギ，ラット及びマウス IL-23R の細胞外ドメインのタンパク質配列に対してそれぞれ 95.5%，72.4%，76.8%及び 70.5%の相同性を有する（4.2.1.1.4）。ヒトとラット IL-23R のタンパク質配列の相同性は高くはないが（76.8%），イコトロキンラはラット IL-23R に対してヒト IL-23R と同程度の親和性で結合することが SPR 法により示された。

次いで，カニクイザル IL-23R に対するイコトロキンラの結合親和性を酵素結合免疫吸着測定法により評価した。イコトロキンラは，ヒト IL-23（0.3 nmol/L）のサル IL-23R への結合を競合的かつ濃度依存的に阻害し，その IC_{50} はそれぞれ 1.39 及び 0.719 nmol/L であった（4.2.1.1.5）。

2.6.2.2.1.2 ヒト PBMC における IL-23 誘導 STAT3 リン酸化及び IL-12 誘導 STAT4 リン酸化に対するイコトロキンラの阻害作用

資料番号 4.2.1.1.6

ヒト PBMC を用いて，IL-23R のシグナル伝達に対するイコトロキンラの阻害作用及び選択性を評価した。IL-23 刺激による STAT3 のリン酸化及び IL-12 刺激による STAT4 のリン酸化をそれぞれ MSD アッセイで測定した結果，イコトロキンラは濃度依存的に IL-23 誘導 STAT3 のリン酸化を阻害し（図 2.6.2-1），その IC_{50} は 5.6 ± 1.2 pmol/L（平均値 ± SD，各試験における個別値：4.3，6 及び 6.6 pmol/L）であった。一方，IL-12 誘導 STAT4 のリン酸化は 2,000 nmol/L まで阻害しなかった。これらの結果は，イコトロキンラの IL-23R に対する選択性の高さを裏付けるものであった。



	IC50 (nM)
JNJ-77242113	0.0043

図 2.6.2-1 ヒト PBMC における IL-23 誘導 STAT3 リン酸化に対する
イコトロキンラの阻害作用（代表的な 1 回の試験結果）

Human PBMCs were cultured for 4 days on anti-CD3 coated flasks in media supplemented with IL-1β, treated with increasing concentrations of icotrokinra (JNJ-77242113), stimulated with 5 ng/mL IL-23 for 30 minutes, and lysed for measurement of phosphorylated STAT3 protein. Each data point represents the mean (± SD) for duplicate values. An arbitrary concentration value was used to plot individual replicates for the non treated controls on a log(x) axis. Representative data are shown from 1 of 3 valid experimental runs performed using PBMCs from a single donor.
Source: 4.2.1.1.6

2.6.2.2.1.3 ヒト B リンパ腫細胞における IL-23 誘導 STAT3 リン酸化に対するイコトロキンラの阻害作用

資料番号 4.2.1.1.7

ヒトびまん性大細胞型 B リンパ腫細胞を用いて，IL-23 誘導 STAT3 リン酸化に対するイコトロキンラの阻害作用を評価した。種々の各固定濃度のイコトロキンラ（0～30 nmol/L）存在下で IL-23 刺激（0.001694～300 nmol/L）による STAT3 のリン酸化を測定し，イコトロキンラの平衡解離定数（K_b）及び IL-23R に対する拮抗様式を決定した。IL-23 刺激による STAT3 リン酸化の濃度反応曲線は，イコトロキンラの濃度上昇に伴い右方向（高濃度側）にシフトした（図 2.6.2-2）。また，イコトロキンラは IL-23 の IL-23R 結合に対して単純な競合的拮抗薬として作用することが Gaddum/Schild EC_{50} シフト解析により示され，その K_b は 15.1 pmol/L と算出された。

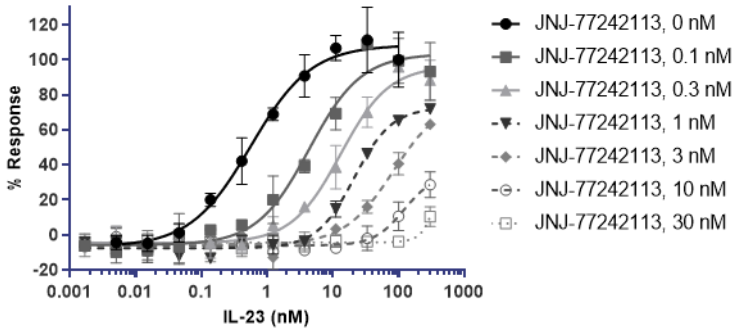


図 2.6.2-2 ヒトびまん性大細胞型 B リンパ腫細胞における IL-23 誘導 STAT3 リン酸化に対するイコトロキンラの阻害作用

Gaddum/Schild EC_{50} shift analysis of icotrokinra. The percentage response was calculated by normalizing vehicle and icotrokinra treated samples at varying concentration of IL-23 stimulation. Schild regression was analyzed using Gaddum/Schild EC_{50} shift in GraphPad Prism 8.3.0 software. For the IL-23-titrated samples containing icotrokinra, each data point represents the mean (± SD) for duplicate points. For the IL-23 titrated samples without icotrokinra (0 nmo/L), each point represents the mean (± SD) for quadruplicate points.
Source: 4.2.1.1.7

2.6.2.2.1.4 ヒト NK 細胞における IL-23 誘導 IFN-γ 産生に対するイコトロキンラの阻害作用

資料番号 4.2.1.1.8

ヒト NK 細胞を用いて，IL-23 誘導 IFN-γ 産生に対するイコトロキンラの阻害作用を評価した。イコトロキンラは IL-23 刺激による IFN-γ 産生を抑制し，その IC_{50} の平均値 ± SD は 18.4 ± 6.24 pmol/L（n = 5）であった（図 2.6.2-3）。

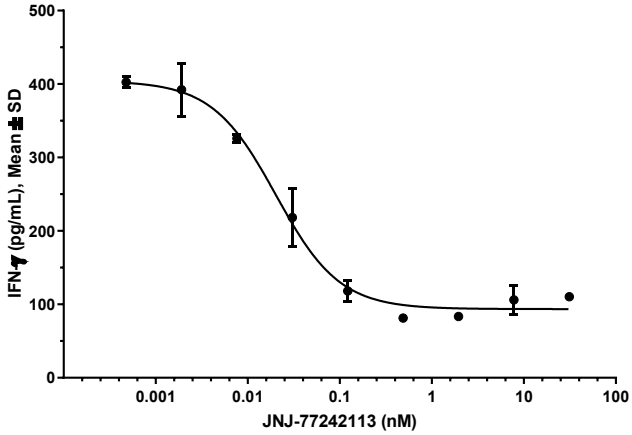


図 2.6.2-3 ヒト NK 細胞における IL-23 誘導 IFN-γ 産生に対するイコトロキンラの阻害作用（代表的な 1 回の試験結果）

Concentration dependent inhibition of IL-23-induced IFN-γ production by icotrokinra. IL-2-activated NK cells were further treated with IL-18 (10 ng/mL) and IL-23 (3 ng/mL) in the presence of increasing concentrations of icotrokinra for 20 to 24 hours. IFN-γ concentrations were plotted against log transformed peptide concentration, and a 4-parameter model was used to determine the half-maximal inhibitory concentration for each peptide. Each point represents the mean (± SD) for duplicate points. Representative data from 1 of 5 valid experimental runs using NK cells from 5 different donors. Icotrokinra calculated IC_{50} for this run is 20.2 nmol/L.
Source: 4.2.1.1.8

2.6.2.2.1.5 健康被験者及び患者由来の全血における IL-23 誘導 IFN-γ 産生に対するイコトロキンラの阻害作用

資料番号 4.2.1.1.9

健康被験者及び乾癬患者から採取した全血を用いて，IL-23 誘導 IFN-γ 産生に対するイコトロキンラの阻害作用を評価した。IL-2（10 ng/mL）及び IL-18（20 ng/mL）存在下で全血を IL-23（2 ng/mL）で刺激したところ，イコトロキンラは IL-23 刺激による IFN-γ 産生を濃度依存的に阻害した。また，健康被験者（15 例）の全血における IC_{50} の中央値は 11 pmol/L（各試験における個別値の範囲：4～91 pmol/L），乾癬患者（4 例）の全血における IC_{50} の中央値は 9 pmol/L（各試験における個別値の範囲：0.5～35 pmol/L）であった。

2.6.2.2.1.6 ラット脾細胞における IL-23 誘導 IL-17 産生に対するイコトロキンラの阻害作用

資料番号 4.2.1.1.6

ラット脾細胞を用いて，ラット IL-23R に対するイコトロキンラの交差反応性を評価した。コンカナバリン A（8 ng/mL）及びラット IL-23（4 ng/mL）で共刺激したラット脾細胞において，イコトロキンラは IL-23 誘導 IL-17A 産生を濃度依存的に阻害し，その IC_{50} の平均値 ± SD は 260 ± 130 pmol/L（各試験における個別値：140，250 及び 390 pmol/L）であった。この結果から，ラット IL-23R に対するイコトロキンラの交差反応性が確認された（図 2.6.2-4）。

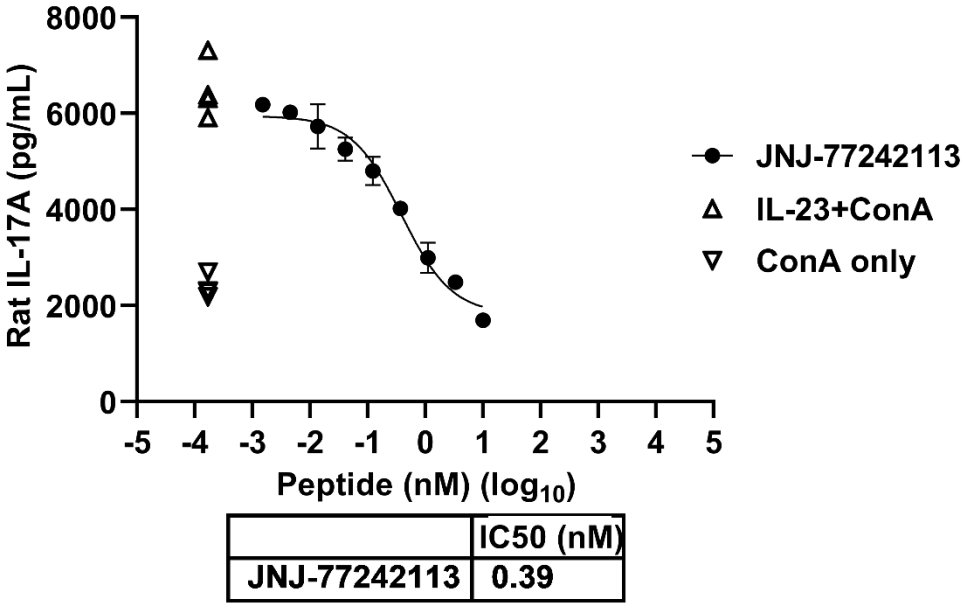


図 2.6.2-4 ラット脾細胞における IL-23 誘導 IL-17 産生に対するイコトロキンラの阻害作用（代表的な 1 回の試験結果）

Rat splenocytes were treated with increasing concentrations of icotrokinra prior to stimulation with 8 ng/mL Concanavalin A (ConA) and 4 ng/mL rat IL-23 for 3 days. Cell culture supernatants were collected for measurement of IL-17A. Representative data are shown from 1 of 3 valid experimental runs. IL-17A levels were plotted versus log transformed peptide concentration, and a 3-parameter model was used to determine the half-maximal inhibitory concentration value. For the peptide treated samples, each point represents the mean (± SD) for duplicate points. An arbitrary concentration value was used to plot individual replicates for the non peptide treated controls on a log(x) axis.
Source: 4.2.1.1.6

In vitro 試験の結果を要約すると，結合試験から，イコトロキンラはヒト，カニクイザル及びラット IL-23R に対してピコモル濃度の結合親和性を有すること，並びにヒト IL-23 のカニクイザル IL-23R への結合を競合的に阻害することが示された。次いで，ヒト細胞を用いた試験から，イコトロキンラは IL-23 の IL-23R への結合を強力に阻害する競合的拮抗薬であり，IL-23 のシグナル伝達及びその下流のサイトカイン産生を阻害することが示された。また，ラット細胞を用いた試験から，イコトロキンラはラット IL-23R を介した IL-17 産生を阻害することが確認された。

2.6.2.2.2 *In Vitro/Ex Vivo* 薬理試験

2.6.2.2.2.1 ラット全血におけるイコトロキンラの *In Vitro/Ex Vivo* 活性

資料番号 4.2.1.1.10

イコトロキンラの全身薬力学的作用を評価するため，ラット全血を用いた *in vitro* 及び *ex vivo* 試験を実施した。

In vitro 試験では，IL-1β 及び IL-23 共刺激による IL-17 産生阻害を指標にイコトロキンラの *in vitro* 活性を評価した。ラット全血を IL-1β（4 ng/mL）及び IL-23（4 又は 20 ng/mL）で刺激したところ，イコトロキンラは IL-1β 及び IL-23 共刺激による IL-17 産生を濃度依存的に阻害した。4 ng/mL の IL-23 で刺激した際の IC_{50} は 54 ± 34 pmol/L（平均値 ± SD，n = 8），20 ng/mL の IL-23 で刺激した際の IC_{50} は 250 ± 62 pmol/L（平均値 ± SD，n = 6）であった。高濃度側（20 ng/mL）でイコトロキンラの阻害活性が弱くなったことは，イコトロキンラが IL-23 の IL-23R への結合に対して競合的拮抗薬として作用することと一致している。

Ex vivo 試験では，種々の用量（0.03～100 mg/kg）のイコトロキンラをラットに経口投与し，2 又は 6 時間後に各個体から採血した（1 群各 5～6 例）。採取した全血を用いて，IL-1β（4 ng/mL）及び IL-23（4 又は 20 ng/mL）共刺激による IL-17 産生阻害，並びにイコトロキンラの血漿中濃度を指標に *ex vivo* 活性を評価した。その結果，4 及び 20 ng/mL の IL-23 で刺激した際のイコトロキンラの IC_{50}（希釈倍率で調整）は，それぞれ 32 及び 270 pmol/L であり，*in vitro* 活性と同程度の値を示した。また，イコトロキンラの IL-23R に対する阻害作用及びその後の IL-17A 産生阻害は，IL-23 の刺激濃度に比例して減弱した。この結果は，イコトロキンラが IL-23 の IL-23R への結合に対して競合的拮抗薬として作用することと一致している。次いで，イコトロキンラ（10 mg/kg）の経口投与における薬力学的作用の時間的推移を評価した。IL-1β（4 ng/mL）及び IL-23（20 又は 100 ng/mL）共刺激による IL-17 産生阻害を指標にイコトロキンラの *ex vivo* 活性を評価した結果，投与 2 時間後と比較して投与 6 時間後で *ex vivo* 活性は低下し，投与 6 時間後では溶媒群との間に有意差は認められなかった。また，血漿中イコトロキンラ濃度は，投与 6 時間後では定量下限未満であった。したがって，イコトロキンラの薬力学的作用は可逆的であることが示された。

2.6.2.2.3　イコトロキンラ原薬中の不純物の *in vitro* 薬理試験

2.6.2.2.3.1　イコトロキンラ原薬中の不純物の IL-23R に対する結合親和性

資料番号 4.2.1.1.11

イコトロキンラ原薬中に存在する 5 種類の不純物（ 不純物A* ， 不純物B* ， 不純物C* ； 不純物D* 及び 不純物E* ）について（2.3.S.3.2），ヒト IL-23R に対する結合親和性を評価した。

これら 5 種類の不純物の結合親和性を SPR 法により評価した結果，5 種類全てが IL-23R に対して濃度依存的な結合を示し，その K_D は [redacted] pmol/L の範囲であった（表 2.6.2-2）。

表 2.6.2-2 イコトロキンラ及びイコトロキンラ原薬中不純物のヒト IL-23R に対する結合親和性

Compound	K_D (pmol/L)
JNJ-77242113	7.1 ± 2.5[a]
不純物A*	[redacted]
不純物B*	[redacted]
不純物C*	[redacted]
不純物D*	[redacted]
不純物E*	[redacted]

Human IL-23R was immobilized on a sensor surface and the 5 icotrokinra impurities were injected over the immobilized IL-23R at multiple concentrations at 37°C to generate a concentration response. Data was processed using the Biacore Insight Software from GE. Solvent corrected sensorgrams were fit to a Langmuir 1:1 binding model to determine the K_Ds. K_Ds are calculated from two different experimental runs and are show as mean ± SD.

[a] SPR data from 5 different runs, K_D reported as avg ± SD, Source: 4.2.1.1.2

[b] SPR data from 2 different runs, K_D reported as avg ± SD, Source: 4.2.1.1.11

2.6.2.2.3.2　イコトロキンラ原薬中の不純物のヒト PBMC における IL-23 誘導 STAT3 に対する阻害作用

資料番号 4.2.1.1.12

IL-23R シグナル伝達の阻害作用を評価するために，ヒト PBMC を用いて IL-23 誘導 STAT3 リン酸化を測定した。これらの 5 種類の不純物は，いずれも IL-23 誘導 STAT3 リン酸化を濃度依存的に阻害し，その IC_{50} は [redacted] pmol/L の範囲であった（表 2.6.2-3）。

表 2.6.2-3 イコトロキンラ及びイコトロキンラ原薬中不純物のヒト PBMC における IL-23 誘導 STAT3 リン酸化に対する阻害作用

Compound	IC_{50} (pmol/L)
JNJ-77242113	5.6 ± 1.2[a]
不純物A*	[redacted]
不純物B*	[redacted]
不純物C*	[redacted]
不純物D*	[redacted]
不純物E*	[redacted]

Human PBMCs were cultured for 4 days on anti-CD3 coated flasks in media supplemented with IL-1β, treated with increasing concentrations of icotrokinra's impurities, stimulated with 5 ng/mL IL-23 for 30 minutes, and lysed for measurement of phosphorylated STAT3 protein. Phosphorylated STAT3 levels (ie, raw MSD plate reads) were plotted vs peptide concentration in GraphPad Prism v9.4.1. For each impurity, the IC_{50} value was calculated in GraphPad Prism using non-linear regression curve fit model. The IC_{50} data is calculated from a single valid experimental run.

[a] 3 runs done using PBMCs from a single donor IC_{50} reported as average ± SD, Source: 4.2.1.1.6

[b] Source: 4.2.1.1.12

[redacted], [redacted], [redacted]なお，5 種類の不純物を含んだイトコラキンラ原薬は，ラットを用いた毒性試験で安全性が確認されており評価した最高用量である 200 mg/kg/日まで忍容性は良好であった【2.6.6.8.6.1】。

2.6.2.2.4 *In Vivo* 薬理試験

2.6.2.2.4.1 IL-23 誘導皮膚炎モデルにおけるイコトロキンラの病態改善作用

資料番号 4.2.1.1.13

ラットの耳介にラット IL-23 を ID 投与すると，下流の炎症性サイトカインの亢進，並びに紅斑及び耳介厚の増加を症状とする局所炎症反応が誘発される。ラット IL-23 誘導皮膚炎モデルを用いて，耳介における各種サイトカインの mRNA 発現，並びに耳介の紅斑及び肥厚を指標に，イコトロキンラの薬力学的活性を評価した。なお本評価では，3 回の独立した試験を行い，試験終了後に全てのデータを統合して結果を解析した。

ラット IL-23 初回投与日を Day 0 とした。ラット耳介の炎症は，Day 0 から Day 3 にラット IL-23（1.5 μg/例）を連日 ID 投与することにより誘導した。イコトロキンラ（1，3，10，30，100 及び 300 mg/kg，BID）は，Day -1 から予防的に経口投与を開始し，Day 3 まで継続投与した。全てのラットは Day 4 に安楽死させた。また，陽性対照かつ比較対照として抗 IL-23 モノクローナル抗体（マウス，ラット及びヒト IL-23R の p19 サブユニットに交差）を全試験で Day -1 及び Day 3 に腹腔内投与した。

その結果，イコトロキンラはラット耳介における IL-17A，IL-17F 及び IL-22 mRNA の発現を用量依存的に抑制し（図 2.6.2-5），10 mg/kg（BID）以上の用量で抗 IL-23 モノクロ―ナル抗体と同程度の抑制作用を示した。

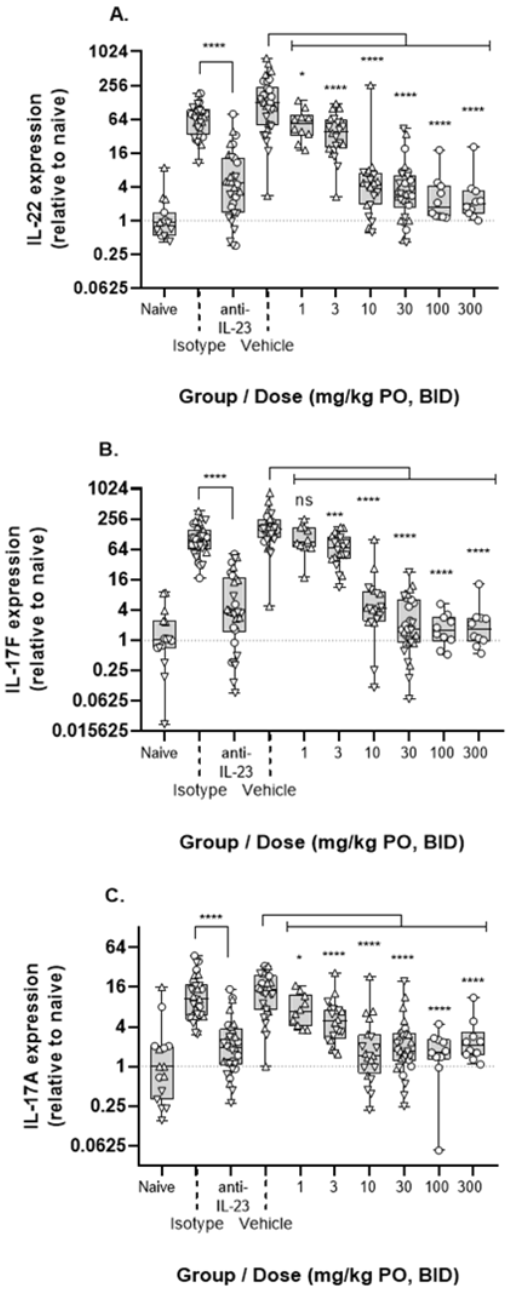


図 2.6.2-5 ラット耳介におけるイコトロキンラ（経口投与）の
IL-23 誘導遺伝子発現に対する作用

Changes in skin IL-22 (A), IL-17F (B) and IL-17A (C) gene expression in naïve rats or rats after intradermal administration of recombinant rat IL-23 (1.5 µg in a volume of 20 µL) with oral administration of vehicle or icotrokinra (1, 3, 10, 30, 100, or 300 mg/kg BID; Days -1 to 3), or intraperitoneal administration isotype control antibody or 4 mg/kg anti-IL-23 (Days -1 and 3). Data from 3 different studies were combined (represented by shapes of the symbols at each dose level: study # 2971 (○), 2972 (△), 2973 (▽); box at interquartile range, bars at minima/maxima). The overall analysis approach was comprised of two steps for each endpoint: first, the data from three studies were combined after using a model-based adjustment to control for any study-specific effects while minimally impacting the treatment effect; second, the treatment groups were compared to the disease control to evaluate treatment effect using robust regression
ns = not significant, *p<0.05, *** p<0.001, **** p<0.0001.
Source: 4.2.1.1.13

この mRNA 発現抑制作用は，IL-23 投与による耳介の紅斑及び肥厚に対するイコトロキンラの抑制作用（図 2.6.2-6）と関連していた。すなわち，イコトロキンラの予防的経口投与は，IL-23

刺激による耳介の紅斑及び肥厚を用量依存的に阻害し，その抑制作用は抗 IL-23 モノクローナル抗体と同程度であった。

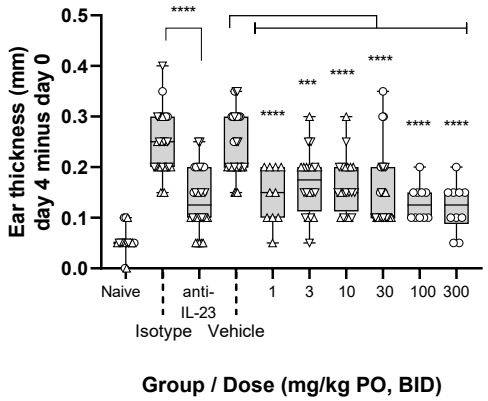


図 2.6.2-6 ラット耳介におけるイコトロキンラ（経口投与）の IL-23 誘導耳介肥厚に対する作用

Change in ear thickness of naïve rats or rats after intradermal administration of recombinant rat IL-23 with oral administration of vehicle or icotrokinra (1, 3, 10, 30, 100, or 300 mg/kg BID; days -1 to 3), or intraperitoneal administration of isotype control or 4 mg/kg of anti-IL-23 or isotype antibody (days -1 and 3). Data from 3 different studies were combined (represented by shapes of the symbols at each dose level: study#2971 (○), 2972 (△), 2973 (▽); box at interquartile range, bars at minima/maxima). Ear thickness differences by treatment group and day, adjusted for experiment, were analyzed with a Generalized Least Squares model with an first-order autoregressive covariance with an FDR correction for post-hoc comparisons.
*** p<0.001, **** p<0.0001.
Source: 4.2.1.1.13

以上の結果は，非臨床皮膚炎モデルにおいて，イコトロキンラの経口投与が IL-23 誘導による炎症反応を阻害し，皮膚炎の病態改善に繋がることを裏付けている。

2.6.2.2.4.2 TNBS 誘導大腸炎モデルにおけるイコトロキンラの病態改善作用

資料番号 4.2.1.1.14

ラットに TNBS を結腸内に注入すると結腸での炎症が誘発されるが，この結腸炎に IL-23/IL-23R シグナル伝達が部分的に関与していることが，ラット抗 IL-23p19 抗体を用いた試験から示されている（Cheng 2017）。ラット TNBS 誘導大腸炎モデルを用いて，体重，結腸重量/長さ比及び結腸炎スコアを指標に，イコトラキンラの予防的経口投与による有効性を評価した。なお本評価では，3 回の独立した試験を行い，試験終了後に全てのデータを統合して結果を解析した。

TNBS 投与日を Day 0 とした。イコトロキンラの投与は TNBS 注入による大腸炎誘発の 2 日前に開始し，Day 6 まで継続した（9 日間投与）。各試験には大腸炎を誘発しない無処置群を設けた。0（溶媒：水），0.03，0.1，0.3，1，3 又は 10 mg/kg/日のイコトロキンラを強制経口投与した（1 日 3 回，約 7～8 時間ごと）。Day 7（最終投与から約 14 時間後）に全てのラットを安楽死させた。

TNBS 投与による大腸炎誘発後，ラットは急激な体重減少を示したが，大腸炎を誘発しない対照群では体重増加が維持された。イコトロキンラは，0.3 mg/kg/日以上の用量で TNBS 誘導性の体重減少を有意に抑制した。イコトロキンラの 1，3 又は 10 mg/kg/日の作用は 0.3 mg/kg/日と同程度であり，最小有効用量は 0.3 mg/kg/日であることが示された（図 2.6.2-7）。

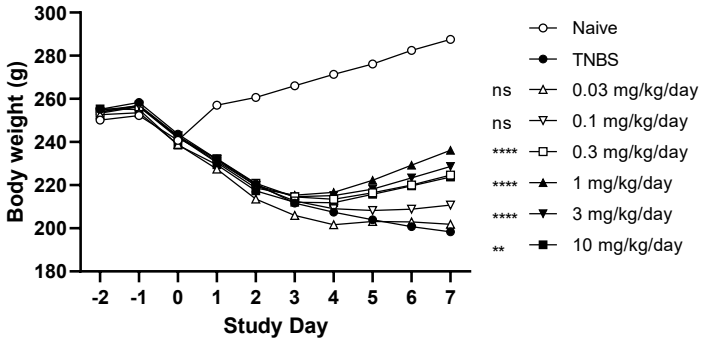


図 2.6.2-7 TNBS 誘導大腸炎におけるイコトロキンラ（経口投与）の体重減少に対する作用

Data represent mean body weight (n=10 to 29 rats/group). Error bars are omitted for the sake of clarity. The body weight in icotrokinra (0.3, 1, 3, or 10 mg/kg/day) treated rats was significantly different from vehicle group by Day 7. A mixed effects model adjusting for baseline and with a first-order autoregressive covariance and Tukey-Kramer adjustment for imbalanced group sizes was used to estimate and compare body weight change from baseline by treatment and day.
ns = not significant; ** p<0.01; **** p<0.0001.
Source: 4.2.1.1.14

TNBS 誘導大腸炎では，結腸の短縮，浮腫の増加及び肥厚が認められ，結腸の重量/長さ比が増加する。0.1，0.3，1，3 及び 10 mg/kg/日のイコトロキンラ投与は，TNBS 群と比較して結腸の重量/長さ比を有意に減少させた（それぞれ p = 0.0019，p<0.0001，p<0.0001，p<0.0001 及び p = 0.0073）。この結果から，大腸炎の指標に対するイコトロキンラの最小有効用量は 0.1 mg/kg/日と考えられた（図 2.6.2-8）。

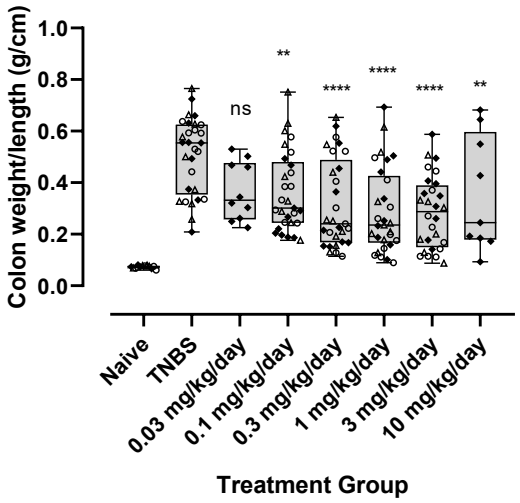


図 2.6.2-8 TNBS 誘導性大腸炎におけるイコトロキンラ（経口投与）の結腸重量/長さ比に対する作用

Data from 3 different studies were combined (represented by shapes of the symbols at each dose level: △, □, and ○); box at interquartile range, bars at minima/maxima. Icotrokinra at doses of 0.1, 0.3, 1, 3, or 10 mg/kg/day showed significant treatment effect of reducing colon weight/length ratio. Colon Weight/Length measurements were square-root transformed to achieve normality, then analyzed using a robust regression model to compare treatment groups.
ns = not significant; ** p<0.01; **** p<0.0001.
Source: 4.2.1.1.14

TNBS 誘導大腸炎の疾患重症度は，狭窄，癒着，並びに潰瘍形成及び結腸壁厚増加のスコアにより定性的に評価した。TNBS 群では無処置ラットと比較して結腸スコアの合計が増加した（図 2.6.2-9）。イコトロキンラの最低用量群（0.03 mg/kg/日）における結腸疾患スコアは，TNBS 群と同程度であったが，0.1 mg/kg 日以上のイコトロキンラの投与により結腸疾患スコアは有意に減少した（0.1，0.3，1，3 及び 10 mg/kg/日で，それぞれ $p = 0.0187$，$p = 0.0002$，$p<0.0001$，$p<0.0001$ 及び $p<0.0001$）。この結果から，結腸疾患スコアの減少に対するイコトロキンラの最小有効用量は 0.1 mg/kg/日と考えられた。

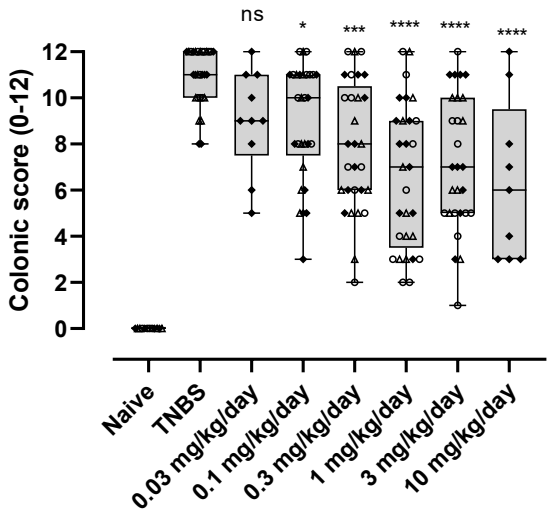


図 2.6.2-9 TNBS 誘導大腸炎におけるイコトロキンラ（経口投与）の結腸疾患スコアに対する作用

Data from 3 different studies were combined (represented by shapes of the symbols at each dose level: △, □, ○); box at interquartile range, bars at minima/maxima. The colons were scored on the following parameters: adhesion (0 to 2), stricture (0 to 3), ulcer (0 to 5), and wall thickness (0 to 2) for a total sum component score range of 0 to 12. The colon score was reduced by treatment with icotrokinra at doses of 0.1 to 10 mg/kg/day. To account for the discrete nature of the Colonic Score, a Poisson regression model was used to estimate and compare scores between treatment groups
ns = not significant; * $p<0.05$; *** $p<0.001$; **** $p<0.0001$.
Source: 4.2.1.1.14

また，ラット TNBS 誘導大腸炎モデルの結腸の病理組織学的検査から，本モデルにおけるイコトロキンラの抗炎症作用が確認された。

以上の結果から，TNBS 誘導大腸炎モデルにおいて，イコトロキンラの予防的経口投与は体重減少（最小有効用量：0.3 mg/kg）を抑制するとともに，結腸の浮腫及び短縮（最小有効用量：0.1 mg/kg），並びに結腸疾患スコア（最小有効用量：0.1 mg/kg）を改善し，全体的な最小有効用量は 0.3 mg/kg/日であった。

2.6.2.3 副次的薬理試験

資料番号 4.2.1.2.1

44 種類のラット又はヒトの受容体，イオンチャネル，酵素及びトランスポーターを含む標的パネルに対するイコトロキンラの *in vitro* 選択性を評価した。

イコトロキンラは 10 μmol/L（遊離塩基として 19.0 μg/mL）の評価濃度において，全標的分子に対して 50%を超える阻害又は活性化は認められず，44 種中 42 種に対する作用は 25%未満であった。COX1（28.2%）及び PDE3A（37.6%）の 2 種で酵素活性の増加が認められた。

ヒト 200 mg QD 投与時の推定 $C_{max,ss}$ が 2.93 ng/mL（血漿タンパク非結合型濃度として 1.41 ng/mL に相当）であることを考慮すると，これら 2 種類の細胞内酵素に対するイコトロキンラ（遊離塩基として 19.0 μg/mL）の活性が，臨床的意義を示す可能性は低いと考えられた。

2.6.2.4 安全性薬理試験

イコトロキンラの安全性薬理試験として，ICH S7A 及び S7B に基づき，心血管系，CNS 及び呼吸系に対する影響を一連の GLP 試験で評価した。

心血管系に対する安全性は，*in vitro* hERG 試験及びテレメトリーを装着した覚醒サルを用いて評価した。hERG 試験は 2 回実施し，2 回目の hERG 試験は ICH E14/S7B Q&A 2.1 におけるベストプラクティスの考慮事項に従い，心室活動電位の適切な因子及び適切なペーシング速度を採用したボルテージクランプ法を用いて，生理的温度付近（35°C～37°C）で実施した。

In vivo 試験では，イコトロキンラ[redacted]を 50 mmol/L リン酸ナトリウム緩衝液（pH 7.4 ± 0.1）の水溶液として調製した。

安全性薬理試験での所見の概要を【2.6.3】に示す。

2.6.2.4.1 心血管系に対するイコトロキンラの作用

2.6.2.4.1.1 *In vitro* hERG 試験

資料番号 4.2.1.3.1，4.2.1.3.2

1 回目の hERG 試験（GLP）では，hERG チャネルを安定発現させた HEK-293 細胞を用いて，hERG チャネル電流に対するイコトロキンラの阻害作用を評価した（n = 3～5）。評価濃度は 0（HB-PSS 又は 0.3% DMSO を含む HB-PSS），0.78，3.7，14 及び 927 μmol/L（名目濃度：1.5，4.8，15 及び 1,000 μmol/L）であり，テルフェナジン（50 nmol/L）を陽性対照として用いた（4.2.1.3.1）。溶媒データを用いた補正後，最高濃度（927 μmol/L）のイコトロキンラは，hERG テール電流の振幅をベースラインの 75.4 ± 2.4%（24.6%阻害に相当）に減少させた。0.78，3.7 及び 14 μmol/L のイコトロキンラでは，hERG テール電流の振幅がそれぞれ 0，9.1 及び 44.6%減少した。14 μmol/L と比べて，高濃度である 927 μmol/L でイコトロキンラによる阻害作用が増強されなかったことから，14 μmol/L で認められた阻害は薬理学的に意味のある作用ではなく，非特異的な作用であると考えられた。陽性対照のテルフェナジン（50 nmol/L）は hERG チャネル電流を 81%阻害し，試験の妥当性が確認された。したがって，イコトロキンラの IC_{50} は 14 μmol/L（遊離塩基として 26.6 μg/mL）以上であり，NOEL は 0.78 μmol/L（遊離塩基として 1.5 μg/mL）と考えられた。NOEL における安全域は，ヒト 200 mg QD 投与時のヒト血漿タンパク非結合型 $C_{max,ss}$（1.41 ng/mL）に対して 1064 倍に相当する。

2 回目の hERG 試験（GLP）は，ICH E14/S7B Q&A 2.1 におけるベストプラクティスの考慮事項に準拠して実施した。hERG チャネルを安定発現させた HEK-293 細胞に 0（HEPES 緩衝生理食塩液），10，100 又は 300 μmol/L のイコトロキンラを添加した（n = 4）。陽性対照としてオンダンセトロン（0.5 及び 5 μmol/L）を用いた（4.2.1.3.2）。イコトロキンラは hERG チャネルを 10，

100 及び 300 μmol/L（遊離塩基としてそれぞれ 19.0，190 及び 569 μg/mL）でそれぞれ 16.8%，23.4%及び 23.7%阻害したのに対し，溶媒群の阻害率は 14.3%であり，溶媒群と比較して統計学的に有意な差は認められなかった。陽性対照のオンダンセトロンは，hERG チャネルを 0.5 μmol/L で 29.0%及び 5 μmol/L で 83.0%阻害した。hERG チャネルに対するイコトロキンラの阻害作用の IC_{50} は算出されなかったが，300 μmol/L（遊離塩基として 569 μg/mL）以上と推定され，NOEL は 300 μmol/L と考えられた。また，NOEL における安全域は，ヒト 200 mg QD 投与時のヒト血漿タンパク非結合型 $C_{max,ss}$（1.41 ng/mL）に対して 40 万倍超であった。

2.6.2.4.1.2 テレメトリー装着サルを用いた心血管系試験

資料番号 4.2.1.3.3

テレメトリーを装着した無拘束の覚醒雄カニクイザルを用いた心血管系安全性薬理試験（GLP）で，心血管系に及ぼすイコトロキンラの影響を評価した。Day 1，8，15 及び 22 に，同じ 4 例のサルに 0，10，100 又は 300 mg/kg のイコトロキンラをラテン方格のクロスオーバー法により単回強制経口投与した。定性的 ECG 評価，定量的 ECG パラメータ（PR 間隔，QRS 幅，QT 及び QTc 間隔），血行動態パラメータ（心拍数，収縮期血圧，拡張期血圧，平均動脈圧及び動脈圧），呼吸数，並びに体温を投与 90 分以上前から投与 19 時間以上後まで連続的にモニタリングした。さらに，動物の生死，体重及び一般状態を評価した。

投与した全ての用量において，イコトロキンラ投与による定性的な ECG 評価，定量的 ECG パラメータ，心拍数及び血圧に及ぼす影響は認められなかった。また，呼吸数及び体温に関連した影響も認められなかった。さらに，イコトロキンラ投与による死亡は認められず，投与に関連する体重変化や一般状態の変化も認められなかった。

以上の結果から，心血管系に関する NOEL は 300 mg/kg であると考えられた。

なお，本試験では TK を評価していないが，カニクイザルを用いた 2 週間反復投与毒性試験（GLP）において，300 mg/kg のイコトロキンラを雄サルに単回経口投与したときの C_{max} は，166 ng/mL であった【2.6.6.3.2.1】。NOEL における安全域は，ヒト 200 mg QD 投与時の推定 $C_{max,ss}$（2.93 ng/mL）に対して 57 倍であった。

2.6.2.4.2 ラット呼吸系に対するイコトロキンラの作用

資料番号 4.2.1.3.4

雄ラット（1 群各 8 例）に 0，70，200 又は 600 mg/kg のイコトロキンラを単回強制経口投与した呼吸系安全性薬理試験（GLP）において，呼吸系に対するイコトロキンラの影響を全身プレチスモグラフィーにより評価した。呼吸データ（呼吸数，補正 1 回換気量及び補正毎分換気量）は，投与 1 時間以上前（ベースライン測定）から投与後少なくとも 6 時間後まで収集した。次いで，投与約 20.5 時間後に動物をチャンバーに戻し，呼吸データを 2 時間以上収集した。また，動物の生死及び一般状態を評価した。

投与した全ての用量において，投与後 22 時間まで死亡は認められなかった。また，一般状態及び呼吸機能（1 回換気量，呼吸数又は分時換気量）に対して，イコトロキンラの投与に関連した影響は認められなかった。

以上の結果から，呼吸機能に関する NOEL は 600 mg/kg であると考えられた。ラットを用いた 2 週間反復投与毒性試験（GLP）で 600 mg/kg を単回投与した雄ラットにおける C_{max} は，

142 ng/mL であった【2.6.6.3.1.2】。NOEL における安全域は，ヒト 200 mg QD 投与時の推定 $C_{max,ss}$（2.93 ng/mL）に対して 48 倍であった。

2.6.2.4.3 ラット CNS に対するイコトロキンラの影響

資料番号 4.2.1.3.5

雄 SD ラットを用いた CNS 安全性薬理試験（GLP）において，イコトロキンラの CNS に対する影響を評価した。0，70，200 又は 600 mg/kg のイコトロキンラを雄 SD ラットに単回強制経口投与し（1 群各 8 例），コアバッテリーとして Irwin の変法により評価した。投与前及び投与 0.5，3，6 及び 24 時間後に，ホームケージ内観察，ハンドリング観察，オープンフィールド観察及び刺激に対する反応，並びに神経活動に関する観察［CNS 活動性，CNS 興奮性，感覚運動，神経筋，自律神経及び生理学的観察（体温を含む）］を実施した。動物の全体的な健康状態の評価は，死亡及び一般状態観察に基づいて行った。

投与した全ての用量において，投与 24 時間後まで死亡率，一般状態及び Irwin 変法評価のいずれの項目においてもイコトロキンラの投与に関連した影響は認められなかった。

以上の結果から，CNS に対する NOEL は 600 mg/kg であると考えられた。ラットを用いた 2 週間反復投与毒性試験（GLP）で 600 mg/kg を単回投与した雄ラットにおける C_{max} は，142 ng/mL であった【2.6.6.3.1.2】。NOEL における安全域は，ヒト 200 mg QD 投与時の推定 $C_{max,ss}$（2.93 ng/mL）に対して 48 倍の安全域であった。

2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験

イコトロキンラの IL-23R に対する特異的な結合親和性を考慮すると，併用薬との間に薬力学的相互作用が生じる可能性は低いと想定されるため，薬力学的薬物相互作用試験試験は実施しなかった。

2.6.2.6 考察及び結論

イコトロキンラは IL-23R に選択的に結合し，IL-23 の IL-23R への結合を競合的に拮抗することにより IL-23R シグナルを阻害する経口ペプチド薬である。一連の非臨床薬理試験から，イコトロキンラの *in vitro*，*in vivo* 薬理作用及び安全性薬理作用を評価した。

ヒト PBMC を用いたシグナル伝達のデータから，イコトロキンラは IL-23/IL-23R シグナル伝達を強力に阻害するが，IL-12 受容体を介した IL-12 シグナル伝達は阻害しないことが示された。ラット皮膚炎モデルにイコトロキンラを予防的に経口投与したところ，IL-23 誘導性の耳介厚の増加が抑制され，耳介における IL-23 シグナル伝達経路の遺伝子発現が減弱した。イコトロキンラの耳介紅斑及び肥厚に対する阻害作用は，陽性対照として用いた抗 IL-23 抗体と同程度であり，イコトロキンラの PsO，GPP 及び EP に対する治療薬としての有用性を裏付ける結果であった。また，ラット大腸炎モデルにおいても，イコトロキンラを予防的に経口投与したところ，0.3 mg/kg/日で複数の疾患パラメータが有意に改善した。

44 種類の標的パネルを用いてイコトロキンラの選択性を評価した試験では，評価した全ての標的に対する IC_{50} は 10 µmol/L（19.0 µg/mL）以上であり，これは 200 mg QD 投与時の推定 $C_{max,ss}$ である 2.93 ng/mL（血漿タンパク非結合型 1.41 ng/mL に相当）よりも著しく高い値であった。

2 回実施した hERG 試験のうち，1 回目の hERG 試験におけるイコトロキンラの IC_{50} は 14 μmol/L（遊離塩基として 26.6 μg/mL）以上であった。NOEL は 0.78 μmol/L（遊離塩基として 1.5 μg/mL）であり，ヒト 200 mg QD 投与時の推定血漿タンパク非結合型 $C_{max,ss}$（1.41 ng/mL）と比較して 1,064 倍の安全域があった。ベストプラクティスの考慮事項に準拠した 2 回目の hERG 試験では，イコトロキンラの IC_{50} は 300 μmol/L 以上であった。NOEL は 300 μmol/L（遊離塩基として 569 μg/mL）であり，ヒト血漿タンパク非結合型 $C_{max,ss}$（1.41 ng/mL）と比較して 40 万倍の安全域が得られた。

テレメトリー装着サルに 300 mg/kg（C_{max} = 166 ng/mL）までの用量でイコトロキンラを単回経口投与した結果，心血管系機能に対する影響は認められず，200 mg QD 投与時の推定 $C_{max,ss}$ に対しての安全域は 57 倍であった。また，2 週間，17 週間及び 9 カ月間反復投与毒性試験の一環として無麻酔拘束サルを用いて ECG 評価を実施したが，特記すべき所見は認められず，300 mg/kg/日を投与した際の曝露量（C_{max}：雄/雌 = 191/429 ng/mL，989/438 ng/mL 及び 1,030/1,140 ng/mL）はヒト 200 mg QD 投与時の推定 $C_{max,ss}$ と比較して 65 倍以上の安全域が得られた【2.6.6.3.2】。

イコトロキンラは 600 mg/kg（C_{max} = 142 ng/mL）までの用量でラットの CNS 及び呼吸系に影響を及ぼさなかった。これはヒト 200 mg QD 投与時の推定 $C_{max,ss}$ と比較して，48 倍の安全域であった。

上記のとおり，イコトロキンラ投与による心血管系，CNS 及び呼吸系への影響は *in vitro* 及び *in vivo* 試験ともに確認されなかった。

非臨床薬理試験及び安全性薬理試験の結果から，イコトロキンラを PsO，GPP 及び EP の治療薬として使用することの適切性が裏付けられた。

2.6.2.7 図表

図表は本文中に記載した。

2.6.2.8 参考文献

Cheng X, et al. The biomarker profile of PTG-200, an oral peptide antagonist of IL-23 receptor, tracks with efficacy in a preclinical model of IBD. J Crohns Colitis. 2017;11(suppl 1):S80 [abstract P001].

目次

2.6.2 薬理試験の概要文 4
2.6.2.1 まとめ 4
2.6.2.2 効力を裏付ける試験 4
2.6.2.3 副次的薬理試験 15
2.6.2.4 安全性薬理試験 16
2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験 18
2.6.2.6 考察及び結論 18
2.6.2.7 図表 19
2.6.2.8 参考文献 19
2.6.3 薬理試験概要表 1

略号一覧表

略号又は略称	名称及び内容
BID	1日2回（bis in die, twice a day）
CD	分化抗原群（cluser of differentiation）
C_{max}	最高血漿中濃度（maximum plasma concentration）
$C_{max,ss}$	定常状態における最高血漿中濃度（maximum plasma concentration at steady state）
CNS	中枢神経系（central nervous system）
COX1	シクロオキシゲナーゼ1（cyclooxygenase 1）
DMSO	ジメチルスルホキシド（dimethylsulfoxide）
EC_{50}	50%作用濃度（half-maximal effective concentration）
ECG	心電図（electrocardiogram）
EP	乾癬性紅皮症（erythrodermic psoriasis）
FDR	偽陽性率（false discovery rate）
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（Good Laboratory Practice）
GPP	膿疱性乾癬（generalized pustular psoriasis）
HB-PSS	HEPES緩衝生理的食塩液（HEPES buffered physiological saline solution）
HEK	ヒト胎児腎臓（human embryonic kidney）
HEPES	2-(4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazinyl)-ethanesulfonic acid
hERG	ヒト *ether-a-go-go*-関連遺伝子（human *ether-a-go-go*-related gene）
IC_{50}	50%阻害濃度（half-maximal inhibitory concentration）
ICH	医薬品規制調和国際会議（International Council for Harmonisation）
ID	皮内（intradermal）
IFN-γ	インターフェロンガンマ（interferon gamma）
IL	インターロイキン（interleukin）
IL-23R	インターロイキン-23受容体（interleukin 23 receptor）
K_b	平衡解離定数（シルドプロット解析）［equilibrium dissociation constant（Shields analysis）］
K_D	平衡解離定数（equilibrium dissociation constant）
MSD	メソスケールディスカバリー（Meso Scale Discovery）
NK	ナチュラルキラー（natural killer）
NOEL	無影響量（no observed effect level）
PBMC	末梢血単核球（peripheral blood mononuclear cell）
PDE3A	ホスホジエステラーゼ3A（phosphodiesterase 3A）
PK	薬物動態（pharmacokinetics）
PO	経口（oral）
PsO	尋常性乾癬（psoriasis）
PR	the time for conduction from the SA node across the AV node and His-Purkinje system
QD	1日1回（quaque die, once daily）
QRS	QRS complex is the combination of three of the graphical deflections seen on a typical electrocardiogram
QT	measure of the time between the start of the Q wave and the end of the T wave in the heart's electrical cycle
QTc	補正QT間隔（heart rate corrected QT interval）
SD	標準偏差（standard deviation）
SPR	表面プラズモン共鳴（surface plasmon resonance）
STAT	シグナル伝達兼転写活性化因子（signal transducer and activator of transcription）
$t_{1/2}$	消失半減期（elimination half-life）

略号又は略称	名称及び内容
TK	トキシコキネティクス（toxicokinetics）
TNBS	2，4，6-トリニトロベンゼンスルホン酸（2, 4, 6-trinitrobenzene sulfonic acid）

2.6.2 薬理試験の概要文

2.6.2.1 まとめ

非臨床薬理試験計画概略

イコトロキンラの PsO，GPP 及び EP に対する経口治療薬としての有用性を確認するため，効力を裏付ける試験，副次的薬理試験及び安全性薬理試験を ICH ガイドラインに従って実施した。全ての非臨床薬理試験は最良の科学的基準に従って実施し，安全性薬理試験は GLP を遵守して実施した。安全性薬理試験では，心血管系，CNS 及び呼吸系に及ぼすイコトラキンラの影響を ICH S7A 及び S7B に従って評価し，さらに，2 回目の hERG 試験は ICH S7B/E14 Q&A のベストプラクティスの考慮事項に従って実施した。

ラット及びカニクイザルにおけるイコトロキンラの結合親和性及び *in vitro* 又は *in vivo* の薬理活性を踏まえ（2.6.2.2），薬理学的に適切な動物種としてラット及びカニクイザルを選択し，非臨床毒性試験を実施した【2.6.6.1】。安全性薬理試験では，心血管系，CNS 及び呼吸系に及ぼすイコトロキンラの影響をラット又はカニクイザルを用いて評価した。

非臨床薬理試験では，イコトロキンラ[redacted]及びイコトロキンラ塩酸塩の 2 種類の原薬を使用したが，概要文の用量は全て遊離塩基として示した。*In vivo* 安全性薬理試験では，イコトロキンラ[redacted]を 50 mmol/L リン酸ナトリウム緩衝液（pH 7.4 ± 0.1）に溶解し被験動物に投与した。

薬理試験概要表を【2.6.3】に示す。

非臨床薬理プロファイル

イコトロキンラはヒト，サル及びラット IL-23R に高い親和性で結合し，細胞を用いた試験においてヒト及びラット IL-23R に対して高い選択性及び強い阻害活性を示した。イコトロキンラの経口投与は，ラット皮膚炎モデルにおいて IL-23 誘導炎症反応を阻害し，ラット大腸炎モデルにおいて疾患に起因する体重減少，並びに結腸の浮腫，短縮及び疾患スコアを改善させた。

44 種類の標的パネル（受容体，イオンチャネル，酵素及びトランスポーター）に対するイコトロキンラのオフターゲット結合は認められなかった（IC_{50} >10 µmol/L）。また，ラット及びサルを用いた安全性薬理試験では，PsO 患者を対象とした第 3 相試験で 200 mg QD 投与したときの母集団 PK モデルに基づく PK パラメータの post hoc 推定 $C_{max,ss}$ = 2.93 ng/mL（5.3.3.5.2）の 40 倍を超える曝露量まで，心血管系，CNS 及び呼吸系に対する有害作用は認められなかった。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

2.6.2.2.1 *In vitro* 薬理試験

ヒト IL-23R に対するイコトロキンラの親和性，阻害活性及び選択性を結合試験及び細胞を用いた試験で評価した。また，非臨床動物種の IL-23R に対するイコトロキンラの交差反応性を結合試験及び細胞を用いた試験で評価した。

2.6.2.2.1.1 IL-23R に対するイコトロキンラの結合親和性

資料番号 4.2.1.1.1，4.2.1.1.2，4.2.1.1.3，4.2.1.1.4，4.2.1.1.5

ヒト IL-23R に対するイコトロキンラの結合親和性を 25°C で SPR 法により評価した結果，イコトロキンラの K_D は 0.41 ± 0.16 pmol/L（平均値 ± SD）であった（4.2.1.1.1）。

続いて，ヒト，サル，ラット，ウサギ及びマウス IL-23R に対するイコトロキンラの結合親和性を，より生理学的に適切な温度である 37°C で評価した（4.2.1.1.2，4.2.1.1.3）。イコトロキンラのヒト，サル及びラット IL-23R に対する結合親和性は同程度であったが，ウサギ及びマウス IL-23R に対する結合親和性は弱かった（表 2.6.2-1）。また，SPR 法のデータを用いて算出したヒト IL-23R に対するイコトロキンラの $t_{1/2}$（複合体量が 50%低減する時間）は 2.5 ± 1.3 時間（平均値 ± SD）であった。

表 2.6.2-1 ヒト，サル，ラット，ウサギ及びマウス IL-23R に対するイコトロキンラの結合親和性（SPR 法）

Species	IL-23R K_D (pmol/L)
Human	7.1 ± 2.5[a], 2[b]
Monkey	3[b]
Rat (protein batch 1, protein batch 2)[#]	12[b], 23[b]
Rabbit	420[b]
Mouse	86,000[b]

[a] SPR data from 5 different runs avg ± SD, Source: 4.2.1.1.2
[b] Source: 4.2.1.1.3
[#] Two unique batches of rat IL-23R were used for the SPR studies

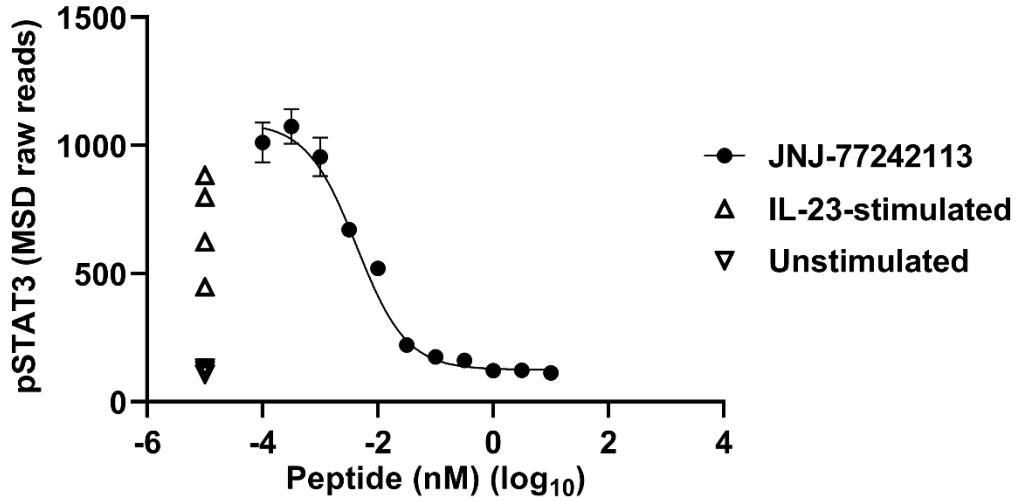
ヒト IL-23R の細胞外ドメインのタンパク質配列は，サル，ウサギ，ラット及びマウス IL-23R の細胞外ドメインのタンパク質配列に対してそれぞれ 95.5%，72.4%，76.8%及び 70.5%の相同性を有する（4.2.1.1.4）。ヒトとラット IL-23R のタンパク質配列の相同性は高くはないが（76.8%），イコトロキンラはラット IL-23R に対してヒト IL-23R と同程度の親和性で結合することが SPR 法により示された。

次いで，カニクイザル IL-23R に対するイコトロキンラの結合親和性を酵素結合免疫吸着測定法により評価した。イコトロキンラは，ヒト IL-23（0.3 nmol/L）のサル IL-23R への結合を競合的かつ濃度依存的に阻害し，その IC_{50} はそれぞれ 1.39 及び 0.719 nmol/L であった（4.2.1.1.5）。

2.6.2.2.1.2 ヒト PBMC における IL-23 誘導 STAT3 リン酸化及び IL-12 誘導 STAT4 リン酸化に対するイコトロキンラの阻害作用

資料番号 4.2.1.1.6

ヒト PBMC を用いて，IL-23R のシグナル伝達に対するイコトロキンラの阻害作用及び選択性を評価した。IL-23 刺激による STAT3 のリン酸化及び IL-12 刺激による STAT4 のリン酸化をそれぞれ MSD アッセイで測定した結果，イコトロキンラは濃度依存的に IL-23 誘導 STAT3 のリン酸化を阻害し（図 2.6.2-1），その IC_{50} は 5.6 ± 1.2 pmol/L（平均値 ± SD，各試験における個別値：4.3，6 及び 6.6 pmol/L）であった。一方，IL-12 誘導 STAT4 のリン酸化は 2,000 nmol/L まで阻害しなかった。これらの結果は，イコトロキンラの IL-23R に対する選択性の高さを裏付けるものであった。



	IC50 (nM)
JNJ-77242113	0.0043

図 2.6.2-1 ヒト PBMC における IL-23 誘導 STAT3 リン酸化に対する
イコトロキンラの阻害作用（代表的な 1 回の試験結果）

Human PBMCs were cultured for 4 days on anti-CD3 coated flasks in media supplemented with IL-1β, treated with increasing concentrations of icotrokinra (JNJ-77242113), stimulated with 5 ng/mL IL-23 for 30 minutes, and lysed for measurement of phosphorylated STAT3 protein. Each data point represents the mean (± SD) for duplicate values. An arbitrary concentration value was used to plot individual replicates for the non treated controls on a log(x) axis. Representative data are shown from 1 of 3 valid experimental runs performed using PBMCs from a single donor.
Source: 4.2.1.1.6

2.6.2.2.1.3 ヒト B リンパ腫細胞における IL-23 誘導 STAT3 リン酸化に対するイコトロキンラの阻害作用

資料番号 4.2.1.1.7

ヒトびまん性大細胞型 B リンパ腫細胞を用いて，IL-23 誘導 STAT3 リン酸化に対するイコトロキンラの阻害作用を評価した。種々の各固定濃度のイコトロキンラ（0～30 nmol/L）存在下で IL-23 刺激（0.001694～300 nmol/L）による STAT3 のリン酸化を測定し，イコトロキンラの平衡解離定数（K_b）及び IL-23R に対する拮抗様式を決定した。IL-23 刺激による STAT3 リン酸化の濃度反応曲線は，イコトロキンラの濃度上昇に伴い右方向（高濃度側）にシフトした（図 2.6.2-2）。また，イコトロキンラは IL-23 の IL-23R 結合に対して単純な競合的拮抗薬として作用することが Gaddum/Schild EC_{50} シフト解析により示され，その K_b は 15.1 pmol/L と算出された。

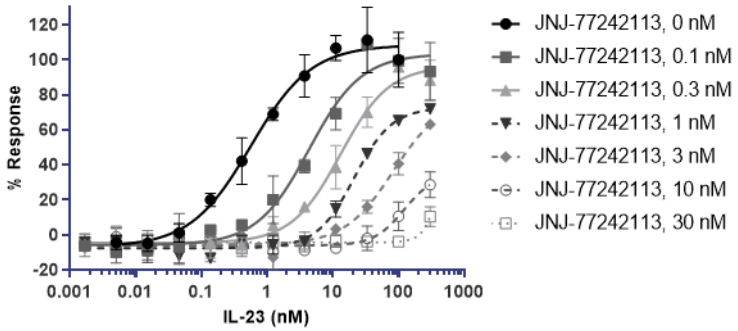


図 2.6.2-2 ヒトびまん性大細胞型 B リンパ腫細胞における IL-23 誘導 STAT3 リン酸化に対するイコトロキンラの阻害作用

Gaddum/Schild EC_{50} shift analysis of icotrokinra. The percentage response was calculated by normalizing vehicle and icotrokinra treated samples at varying concentration of IL-23 stimulation. Schild regression was analyzed using Gaddum/Schild EC_{50} shift in GraphPad Prism 8.3.0 software. For the IL-23-titrated samples containing icotrokinra, each data point represents the mean (± SD) for duplicate points. For the IL-23 titrated samples without icotrokinra (0 nmo/L), each point represents the mean (± SD) for quadruplicate points.
Source: 4.2.1.1.7

2.6.2.2.1.4 ヒト NK 細胞における IL-23 誘導 IFN-γ 産生に対するイコトロキンラの阻害作用

資料番号 4.2.1.1.8

ヒト NK 細胞を用いて，IL-23 誘導 IFN-γ 産生に対するイコトロキンラの阻害作用を評価した。イコトロキンラは IL-23 刺激による IFN-γ 産生を抑制し，その IC_{50} の平均値 ± SD は 18.4 ± 6.24 pmol/L（n = 5）であった（図 2.6.2-3）。

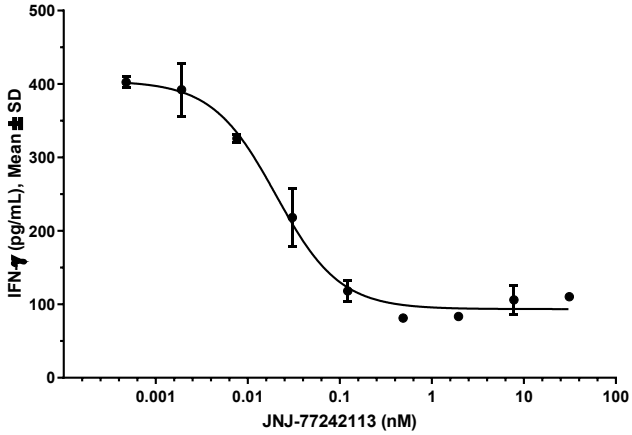


図 2.6.2-3 ヒト NK 細胞における IL-23 誘導 IFN-γ 産生に対するイコトロキンラの阻害作用（代表的な 1 回の試験結果）

Concentration dependent inhibition of IL-23-induced IFN-γ production by icotrokinra. IL-2-activated NK cells were further treated with IL-18 (10 ng/mL) and IL-23 (3 ng/mL) in the presence of increasing concentrations of icotrokinra for 20 to 24 hours. IFN-γ concentrations were plotted against log transformed peptide concentration, and a 4-parameter model was used to determine the half-maximal inhibitory concentration for each peptide. Each point represents the mean (± SD) for duplicate points. Representative data from 1 of 5 valid experimental runs using NK cells from 5 different donors. Icotrokinra calculated IC_{50} for this run is 20.2 nmol/L.
Source: 4.2.1.1.8

2.6.2.2.1.5 健康被験者及び患者由来の全血における IL-23 誘導 IFN-γ 産生に対するイコトロキンラの阻害作用

資料番号 4.2.1.1.9

健康被験者及び乾癬患者から採取した全血を用いて，IL-23 誘導 IFN-γ 産生に対するイコトロキンラの阻害作用を評価した。IL-2（10 ng/mL）及び IL-18（20 ng/mL）存在下で全血を IL-23（2 ng/mL）で刺激したところ，イコトロキンラは IL-23 刺激による IFN-γ 産生を濃度依存的に阻害した。また，健康被験者（15 例）の全血における IC_{50} の中央値は 11 pmol/L（各試験における個別値の範囲：4～91 pmol/L），乾癬患者（4 例）の全血における IC_{50} の中央値は 9 pmol/L（各試験における個別値の範囲：0.5～35 pmol/L）であった。

2.6.2.2.1.6 ラット脾細胞における IL-23 誘導 IL-17 産生に対するイコトロキンラの阻害作用

資料番号 4.2.1.1.6

ラット脾細胞を用いて，ラット IL-23R に対するイコトロキンラの交差反応性を評価した。コンカナバリン A（8 ng/mL）及びラット IL-23（4 ng/mL）で共刺激したラット脾細胞において，イコトロキンラは IL-23 誘導 IL-17A 産生を濃度依存的に阻害し，その IC_{50} の平均値 ± SD は 260 ± 130 pmol/L（各試験における個別値：140，250 及び 390 pmol/L）であった。この結果から，ラット IL-23R に対するイコトロキンラの交差反応性が確認された（図 2.6.2-4）。

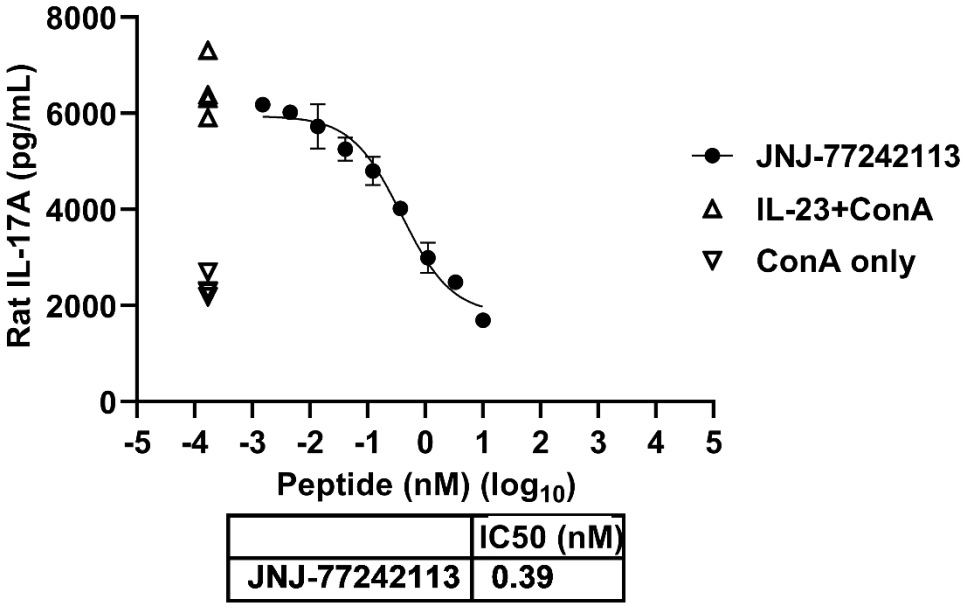


図 2.6.2-4 ラット脾細胞における IL-23 誘導 IL-17 産生に対するイコトロキンラの阻害作用（代表的な 1 回の試験結果）

Rat splenocytes were treated with increasing concentrations of icotrokinra prior to stimulation with 8 ng/mL Concanavalin A (ConA) and 4 ng/mL rat IL-23 for 3 days. Cell culture supernatants were collected for measurement of IL-17A. Representative data are shown from 1 of 3 valid experimental runs. IL-17A levels were plotted versus log transformed peptide concentration, and a 3-parameter model was used to determine the half-maximal inhibitory concentration value. For the peptide treated samples, each point represents the mean (± SD) for duplicate points. An arbitrary concentration value was used to plot individual replicates for the non peptide treated controls on a log(x) axis.
Source: 4.2.1.1.6

In vitro 試験の結果を要約すると，結合試験から，イコトロキンラはヒト，カニクイザル及びラット IL-23R に対してピコモル濃度の結合親和性を有すること，並びにヒト IL-23 のカニクイザル IL-23R への結合を競合的に阻害することが示された。次いで，ヒト細胞を用いた試験から，イコトロキンラは IL-23 の IL-23R への結合を強力に阻害する競合的拮抗薬であり，IL-23 のシグナル伝達及びその下流のサイトカイン産生を阻害することが示された。また，ラット細胞を用いた試験から，イコトロキンラはラット IL-23R を介した IL-17 産生を阻害することが確認された。

2.6.2.2.2 *In Vitro/Ex Vivo* 薬理試験

2.6.2.2.2.1 ラット全血におけるイコトロキンラの *In Vitro/Ex Vivo* 活性

資料番号 4.2.1.1.10

イコトロキンラの全身薬力学的作用を評価するため，ラット全血を用いた *in vitro* 及び *ex vivo* 試験を実施した。

In vitro 試験では，IL-1β 及び IL-23 共刺激による IL-17 産生阻害を指標にイコトロキンラの *in vitro* 活性を評価した。ラット全血を IL-1β（4 ng/mL）及び IL-23（4 又は 20 ng/mL）で刺激したところ，イコトロキンラは IL-1β 及び IL-23 共刺激による IL-17 産生を濃度依存的に阻害した。4 ng/mL の IL-23 で刺激した際の IC_{50} は 54 ± 34 pmol/L（平均値 ± SD，n = 8），20 ng/mL の IL-23 で刺激した際の IC_{50} は 250 ± 62 pmol/L（平均値 ± SD，n = 6）であった。高濃度側（20 ng/mL）でイコトロキンラの阻害活性が弱くなったことは，イコトロキンラが IL-23 の IL-23R への結合に対して競合的拮抗薬として作用することと一致している。

Ex vivo 試験では，種々の用量（0.03～100 mg/kg）のイコトロキンラをラットに経口投与し，2 又は 6 時間後に各個体から採血した（1 群各 5～6 例）。採取した全血を用いて，IL-1β（4 ng/mL）及び IL-23（4 又は 20 ng/mL）共刺激による IL-17 産生阻害，並びにイコトロキンラの血漿中濃度を指標に *ex vivo* 活性を評価した。その結果，4 及び 20 ng/mL の IL-23 で刺激した際のイコトロキンラの IC_{50}（希釈倍率で調整）は，それぞれ 32 及び 270 pmol/L であり，*in vitro* 活性と同程度の値を示した。また，イコトロキンラの IL-23R に対する阻害作用及びその後の IL-17A 産生阻害は，IL-23 の刺激濃度に比例して減弱した。この結果は，イコトロキンラが IL-23 の IL-23R への結合に対して競合的拮抗薬として作用することと一致している。次いで，イコトロキンラ（10 mg/kg）の経口投与における薬力学的作用の時間的推移を評価した。IL-1β（4 ng/mL）及び IL-23（20 又は 100 ng/mL）共刺激による IL-17 産生阻害を指標にイコトロキンラの *ex vivo* 活性を評価した結果，投与 2 時間後と比較して投与 6 時間後で *ex vivo* 活性は低下し，投与 6 時間後では溶媒群との間に有意差は認められなかった。また，血漿中イコトロキンラ濃度は，投与 6 時間後では定量下限未満であった。したがって，イコトロキンラの薬力学的作用は可逆的であることが示された。

2.6.2.2.3　イコトロキンラ原薬中の不純物の *in vitro* 薬理試験

2.6.2.2.3.1　イコトロキンラ原薬中の不純物の IL-23R に対する結合親和性

資料番号 4.2.1.1.11

イコトロキンラ原薬中に存在する 5 種類の不純物（ 不純物A* ， 不純物B* ， 不純物C* ； 不純物D* 及び 不純物E* ）について（2.3.S.3.2），ヒト IL-23R に対する結合親和性を評価した。

これら 5 種類の不純物の結合親和性を SPR 法により評価した結果，5 種類全てが IL-23R に対して濃度依存的な結合を示し，その K_D は [redacted] pmol/L の範囲であった（表 2.6.2-2）。

表 2.6.2-2 イコトロキンラ及びイコトロキンラ原薬中不純物のヒト IL-23R に対する結合親和性

Compound	K_D (pmol/L)
JNJ-77242113	7.1 ± 2.5[a]
不純物A*	[redacted]
不純物B*	[redacted]
不純物C*	[redacted]
不純物D*	[redacted]
不純物E*	[redacted]

Human IL-23R was immobilized on a sensor surface and the 5 icotrokinra impurities were injected over the immobilized IL-23R at multiple concentrations at 37°C to generate a concentration response. Data was processed using the Biacore Insight Software from GE. Solvent corrected sensorgrams were fit to a Langmuir 1:1 binding model to determine the K_Ds. K_Ds are calculated from two different experimental runs and are show as mean ± SD.

[a] SPR data from 5 different runs, K_D reported as avg ± SD, Source: 4.2.1.1.2

[b] SPR data from 2 different runs, K_D reported as avg ± SD, Source: 4.2.1.1.11

2.6.2.2.3.2　イコトロキンラ原薬中の不純物のヒト PBMC における IL-23 誘導 STAT3 に対する阻害作用

資料番号 4.2.1.1.12

IL-23R シグナル伝達の阻害作用を評価するために，ヒト PBMC を用いて IL-23 誘導 STAT3 リン酸化を測定した。これらの 5 種類の不純物は，いずれも IL-23 誘導 STAT3 リン酸化を濃度依存的に阻害し，その IC_{50} は [redacted] pmol/L の範囲であった（表 2.6.2-3）。

表 2.6.2-3 イコトロキンラ及びイコトロキンラ原薬中不純物のヒト PBMC における IL-23 誘導 STAT3 リン酸化に対する阻害作用

Compound	IC_{50} (pmol/L)
JNJ-77242113	5.6 ± 1.2[a]
不純物A*	[redacted]
不純物B*	[redacted]
不純物C*	[redacted]
不純物D*	[redacted]
不純物E*	[redacted]

Human PBMCs were cultured for 4 days on anti-CD3 coated flasks in media supplemented with IL-1β, treated with increasing concentrations of icotrokinra's impurities, stimulated with 5 ng/mL IL-23 for 30 minutes, and lysed for measurement of phosphorylated STAT3 protein. Phosphorylated STAT3 levels (ie, raw MSD plate reads) were plotted vs peptide concentration in GraphPad Prism v9.4.1. For each impurity, the IC_{50} value was calculated in GraphPad Prism using non-linear regression curve fit model. The IC_{50} data is calculated from a single valid experimental run.

[a] 3 runs done using PBMCs from a single donor IC_{50} reported as average ± SD, Source: 4.2.1.1.6

[b] Source: 4.2.1.1.12

[redacted], [redacted], [redacted]なお，5 種類の不純物を含んだイトコラキンラ原薬は，ラットを用いた毒性試験で安全性が確認されており評価した最高用量である 200 mg/kg/日まで忍容性は良好であった【2.6.6.8.6.1】。

2.6.2.2.4 *In Vivo* 薬理試験

2.6.2.2.4.1 IL-23 誘導皮膚炎モデルにおけるイコトロキンラの病態改善作用

資料番号 4.2.1.1.13

ラットの耳介にラット IL-23 を ID 投与すると，下流の炎症性サイトカインの亢進，並びに紅斑及び耳介厚の増加を症状とする局所炎症反応が誘発される。ラット IL-23 誘導皮膚炎モデルを用いて，耳介における各種サイトカインの mRNA 発現，並びに耳介の紅斑及び肥厚を指標に，イコトロキンラの薬力学的活性を評価した。なお本評価では，3 回の独立した試験を行い，試験終了後に全てのデータを統合して結果を解析した。

ラット IL-23 初回投与日を Day 0 とした。ラット耳介の炎症は，Day 0 から Day 3 にラット IL-23（1.5 μg/例）を連日 ID 投与することにより誘導した。イコトロキンラ（1，3，10，30，100 及び 300 mg/kg，BID）は，Day -1 から予防的に経口投与を開始し，Day 3 まで継続投与した。全てのラットは Day 4 に安楽死させた。また，陽性対照かつ比較対照として抗 IL-23 モノクローナル抗体（マウス，ラット及びヒト IL-23R の p19 サブユニットに交差）を全試験で Day -1 及び Day 3 に腹腔内投与した。

その結果，イコトロキンラはラット耳介における IL-17A，IL-17F 及び IL-22 mRNA の発現を用量依存的に抑制し（図 2.6.2-5），10 mg/kg（BID）以上の用量で抗 IL-23 モノクロ―ナル抗体と同程度の抑制作用を示した。

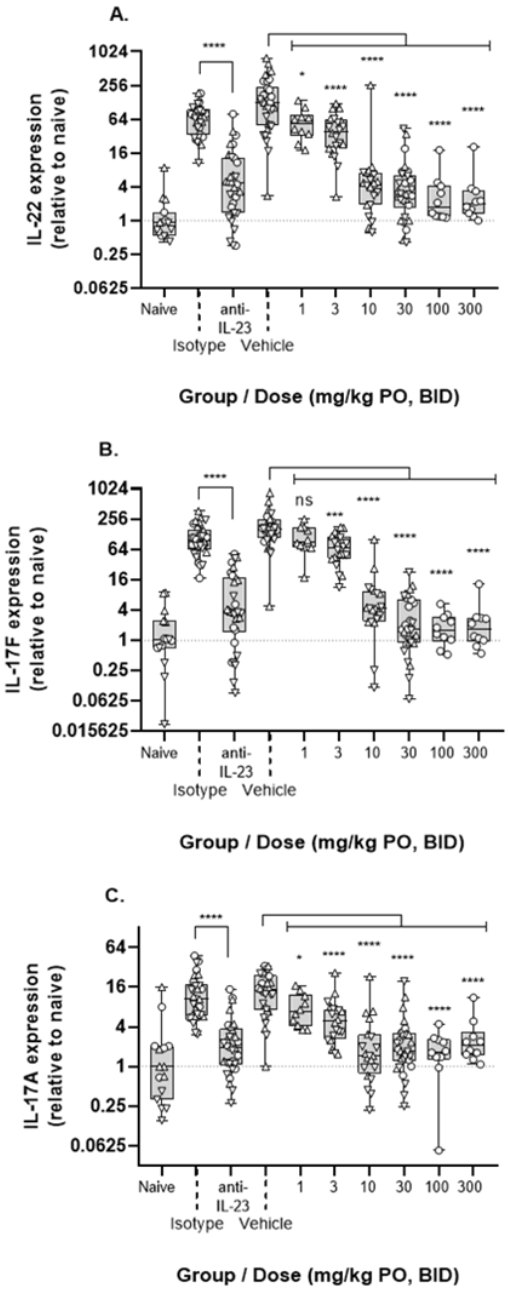


図 2.6.2-5 ラット耳介におけるイコトロキンラ（経口投与）の
IL-23 誘導遺伝子発現に対する作用

Changes in skin IL-22 (A), IL-17F (B) and IL-17A (C) gene expression in naïve rats or rats after intradermal administration of recombinant rat IL-23 (1.5 µg in a volume of 20 µL) with oral administration of vehicle or icotrokinra (1, 3, 10, 30, 100, or 300 mg/kg BID; Days -1 to 3), or intraperitoneal administration isotype control antibody or 4 mg/kg anti-IL-23 (Days -1 and 3). Data from 3 different studies were combined (represented by shapes of the symbols at each dose level: study # 2971 (○), 2972 (△), 2973 (▽); box at interquartile range, bars at minima/maxima). The overall analysis approach was comprised of two steps for each endpoint: first, the data from three studies were combined after using a model-based adjustment to control for any study-specific effects while minimally impacting the treatment effect; second, the treatment groups were compared to the disease control to evaluate treatment effect using robust regression
ns = not significant, *p<0.05, *** p<0.001, **** p<0.0001.
Source: 4.2.1.1.13

この mRNA 発現抑制作用は，IL-23 投与による耳介の紅斑及び肥厚に対するイコトロキンラの抑制作用（図 2.6.2-6）と関連していた。すなわち，イコトロキンラの予防的経口投与は，IL-23

刺激による耳介の紅斑及び肥厚を用量依存的に阻害し，その抑制作用は抗 IL-23 モノクローナル抗体と同程度であった。

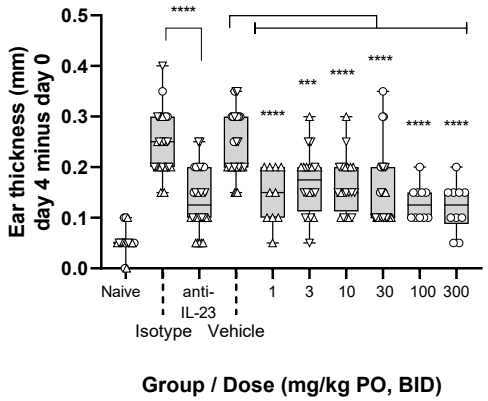


図 2.6.2-6 ラット耳介におけるイコトロキンラ（経口投与）の IL-23 誘導耳介肥厚に対する作用

Change in ear thickness of naïve rats or rats after intradermal administration of recombinant rat IL-23 with oral administration of vehicle or icotrokinra (1, 3, 10, 30, 100, or 300 mg/kg BID; days -1 to 3), or intraperitoneal administration of isotype control or 4 mg/kg of anti-IL-23 or isotype antibody (days -1 and 3). Data from 3 different studies were combined (represented by shapes of the symbols at each dose level: study#2971 (○), 2972 (△), 2973 (▽); box at interquartile range, bars at minima/maxima). Ear thickness differences by treatment group and day, adjusted for experiment, were analyzed with a Generalized Least Squares model with an first-order autoregressive covariance with an FDR correction for post-hoc comparisons.
*** p<0.001, **** p<0.0001.
Source: 4.2.1.1.13

以上の結果は，非臨床皮膚炎モデルにおいて，イコトロキンラの経口投与が IL-23 誘導による炎症反応を阻害し，皮膚炎の病態改善に繋がることを裏付けている。

2.6.2.2.4.2 TNBS 誘導大腸炎モデルにおけるイコトロキンラの病態改善作用

資料番号 4.2.1.1.14

ラットに TNBS を結腸内に注入すると結腸での炎症が誘発されるが，この結腸炎に IL-23/IL-23R シグナル伝達が部分的に関与していることが，ラット抗 IL-23p19 抗体を用いた試験から示されている（Cheng 2017）。ラット TNBS 誘導大腸炎モデルを用いて，体重，結腸重量/長さ比及び結腸炎スコアを指標に，イコトラキンラの予防的経口投与による有効性を評価した。なお本評価では，3 回の独立した試験を行い，試験終了後に全てのデータを統合して結果を解析した。

TNBS 投与日を Day 0 とした。イコトロキンラの投与は TNBS 注入による大腸炎誘発の 2 日前に開始し，Day 6 まで継続した（9 日間投与）。各試験には大腸炎を誘発しない無処置群を設けた。0（溶媒：水），0.03，0.1，0.3，1，3 又は 10 mg/kg/日のイコトロキンラを強制経口投与した（1 日 3 回，約 7～8 時間ごと）。Day 7（最終投与から約 14 時間後）に全てのラットを安楽死させた。

TNBS 投与による大腸炎誘発後，ラットは急激な体重減少を示したが，大腸炎を誘発しない対照群では体重増加が維持された。イコトロキンラは，0.3 mg/kg/日以上の用量で TNBS 誘導性の体重減少を有意に抑制した。イコトロキンラの 1，3 又は 10 mg/kg/日の作用は 0.3 mg/kg/日と同程度であり，最小有効用量は 0.3 mg/kg/日であることが示された（図 2.6.2-7）。

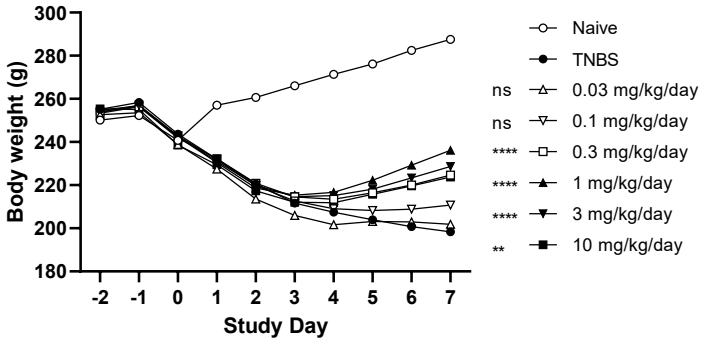


図 2.6.2-7 TNBS 誘導大腸炎におけるイコトロキンラ（経口投与）の体重減少に対する作用

Data represent mean body weight (n=10 to 29 rats/group). Error bars are omitted for the sake of clarity. The body weight in icotrokinra (0.3, 1, 3, or 10 mg/kg/day) treated rats was significantly different from vehicle group by Day 7. A mixed effects model adjusting for baseline and with a first-order autoregressive covariance and Tukey-Kramer adjustment for imbalanced group sizes was used to estimate and compare body weight change from baseline by treatment and day.
ns = not significant; ** p<0.01; **** p<0.0001.
Source: 4.2.1.1.14

TNBS 誘導大腸炎では，結腸の短縮，浮腫の増加及び肥厚が認められ，結腸の重量/長さ比が増加する。0.1，0.3，1，3 及び 10 mg/kg/日のイコトロキンラ投与は，TNBS 群と比較して結腸の重量/長さ比を有意に減少させた（それぞれ p = 0.0019，p<0.0001，p<0.0001，p<0.0001 及び p = 0.0073）。この結果から，大腸炎の指標に対するイコトロキンラの最小有効用量は 0.1 mg/kg/日と考えられた（図 2.6.2-8）。

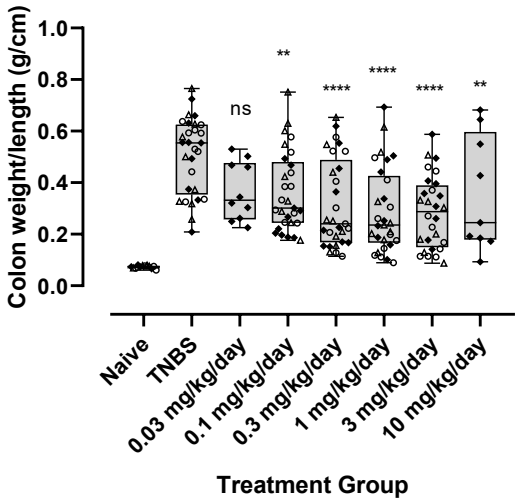


図 2.6.2-8 TNBS 誘導性大腸炎におけるイコトロキンラ（経口投与）の結腸重量/長さ比に対する作用

Data from 3 different studies were combined (represented by shapes of the symbols at each dose level: △, □, and ○); box at interquartile range, bars at minima/maxima. Icotrokinra at doses of 0.1, 0.3, 1, 3, or 10 mg/kg/day showed significant treatment effect of reducing colon weight/length ratio. Colon Weight/Length measurements were square-root transformed to achieve normality, then analyzed using a robust regression model to compare treatment groups.
ns = not significant; ** p<0.01; **** p<0.0001.
Source: 4.2.1.1.14

TNBS 誘導大腸炎の疾患重症度は，狭窄，癒着，並びに潰瘍形成及び結腸壁厚増加のスコアにより定性的に評価した。TNBS 群では無処置ラットと比較して結腸スコアの合計が増加した（図 2.6.2-9）。イコトロキンラの最低用量群（0.03 mg/kg/日）における結腸疾患スコアは，TNBS 群と同程度であったが，0.1 mg/kg 日以上のイコトロキンラの投与により結腸疾患スコアは有意に減少した（0.1，0.3，1，3 及び 10 mg/kg/日で，それぞれ $p = 0.0187$，$p = 0.0002$，$p<0.0001$，$p<0.0001$ 及び $p<0.0001$）。この結果から，結腸疾患スコアの減少に対するイコトロキンラの最小有効用量は 0.1 mg/kg/日と考えられた。

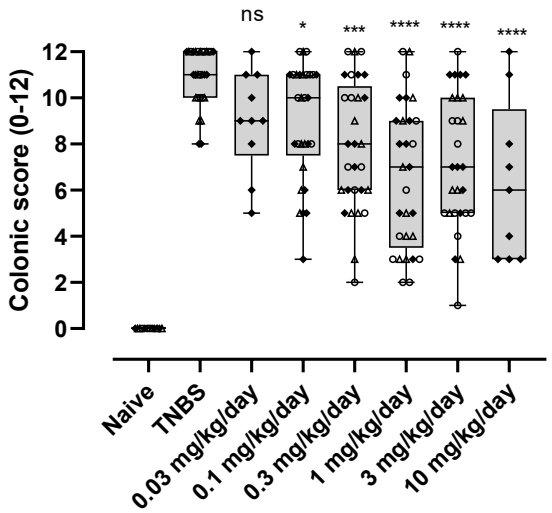


図 2.6.2-9 TNBS 誘導大腸炎におけるイコトロキンラ（経口投与）の結腸疾患スコアに対する作用

Data from 3 different studies were combined (represented by shapes of the symbols at each dose level: △, □, ○); box at interquartile range, bars at minima/maxima. The colons were scored on the following parameters: adhesion (0 to 2), stricture (0 to 3), ulcer (0 to 5), and wall thickness (0 to 2) for a total sum component score range of 0 to 12. The colon score was reduced by treatment with icotrokinra at doses of 0.1 to 10 mg/kg/day. To account for the discrete nature of the Colonic Score, a Poisson regression model was used to estimate and compare scores between treatment groups
ns = not significant; * $p<0.05$; *** $p<0.001$; **** $p<0.0001$.
Source: 4.2.1.1.14

また，ラット TNBS 誘導大腸炎モデルの結腸の病理組織学的検査から，本モデルにおけるイコトロキンラの抗炎症作用が確認された。

以上の結果から，TNBS 誘導大腸炎モデルにおいて，イコトロキンラの予防的経口投与は体重減少（最小有効用量：0.3 mg/kg）を抑制するとともに，結腸の浮腫及び短縮（最小有効用量：0.1 mg/kg），並びに結腸疾患スコア（最小有効用量：0.1 mg/kg）を改善し，全体的な最小有効用量は 0.3 mg/kg/日であった。

2.6.2.3 副次的薬理試験

資料番号 4.2.1.2.1

44 種類のラット又はヒトの受容体，イオンチャネル，酵素及びトランスポーターを含む標的パネルに対するイコトロキンラの *in vitro* 選択性を評価した。

イコトロキンラは 10 μmol/L（遊離塩基として 19.0 μg/mL）の評価濃度において，全標的分子に対して 50%を超える阻害又は活性化は認められず，44 種中 42 種に対する作用は 25%未満であった。COX1（28.2%）及び PDE3A（37.6%）の 2 種で酵素活性の増加が認められた。

ヒト 200 mg QD 投与時の推定 $C_{max,ss}$ が 2.93 ng/mL（血漿タンパク非結合型濃度として 1.41 ng/mL に相当）であることを考慮すると，これら 2 種類の細胞内酵素に対するイコトロキンラ（遊離塩基として 19.0 μg/mL）の活性が，臨床的意義を示す可能性は低いと考えられた。

2.6.2.4 安全性薬理試験

イコトロキンラの安全性薬理試験として，ICH S7A 及び S7B に基づき，心血管系，CNS 及び呼吸系に対する影響を一連の GLP 試験で評価した。

心血管系に対する安全性は，*in vitro* hERG 試験及びテレメトリーを装着した覚醒サルを用いて評価した。hERG 試験は 2 回実施し，2 回目の hERG 試験は ICH E14/S7B Q&A 2.1 におけるベストプラクティスの考慮事項に従い，心室活動電位の適切な因子及び適切なペーシング速度を採用したボルテージクランプ法を用いて，生理的温度付近（35°C～37°C）で実施した。

In vivo 試験では，イコトロキンラ[redacted]を 50 mmol/L リン酸ナトリウム緩衝液（pH 7.4 ± 0.1）の水溶液として調製した。

安全性薬理試験での所見の概要を【2.6.3】に示す。

2.6.2.4.1 心血管系に対するイコトロキンラの作用

2.6.2.4.1.1 *In vitro* hERG 試験

資料番号 4.2.1.3.1，4.2.1.3.2

1 回目の hERG 試験（GLP）では，hERG チャネルを安定発現させた HEK-293 細胞を用いて，hERG チャネル電流に対するイコトロキンラの阻害作用を評価した（n = 3～5）。評価濃度は 0（HB-PSS 又は 0.3% DMSO を含む HB-PSS），0.78，3.7，14 及び 927 μmol/L（名目濃度：1.5，4.8，15 及び 1,000 μmol/L）であり，テルフェナジン（50 nmol/L）を陽性対照として用いた（4.2.1.3.1）。溶媒データを用いた補正後，最高濃度（927 μmol/L）のイコトロキンラは，hERG テール電流の振幅をベースラインの 75.4 ± 2.4%（24.6%阻害に相当）に減少させた。0.78，3.7 及び 14 μmol/L のイコトロキンラでは，hERG テール電流の振幅がそれぞれ 0，9.1 及び 44.6%減少した。14 μmol/L と比べて，高濃度である 927 μmol/L でイコトロキンラによる阻害作用が増強されなかったことから，14 μmol/L で認められた阻害は薬理学的に意味のある作用ではなく，非特異的な作用であると考えられた。陽性対照のテルフェナジン（50 nmol/L）は hERG チャネル電流を 81%阻害し，試験の妥当性が確認された。したがって，イコトロキンラの IC_{50} は 14 μmol/L（遊離塩基として 26.6 μg/mL）以上であり，NOEL は 0.78 μmol/L（遊離塩基として 1.5 μg/mL）と考えられた。NOEL における安全域は，ヒト 200 mg QD 投与時のヒト血漿タンパク非結合型 $C_{max,ss}$（1.41 ng/mL）に対して 1064 倍に相当する。

2 回目の hERG 試験（GLP）は，ICH E14/S7B Q&A 2.1 におけるベストプラクティスの考慮事項に準拠して実施した。hERG チャネルを安定発現させた HEK-293 細胞に 0（HEPES 緩衝生理食塩液），10，100 又は 300 μmol/L のイコトロキンラを添加した（n = 4）。陽性対照としてオンダンセトロン（0.5 及び 5 μmol/L）を用いた（4.2.1.3.2）。イコトロキンラは hERG チャネルを 10，

100 及び 300 μmol/L（遊離塩基としてそれぞれ 19.0，190 及び 569 μg/mL）でそれぞれ 16.8%，23.4%及び 23.7%阻害したのに対し，溶媒群の阻害率は 14.3%であり，溶媒群と比較して統計学的に有意な差は認められなかった。陽性対照のオンダンセトロンは，hERG チャネルを 0.5 μmol/L で 29.0%及び 5 μmol/L で 83.0%阻害した。hERG チャネルに対するイコトロキンラの阻害作用の IC_{50} は算出されなかったが，300 μmol/L（遊離塩基として 569 μg/mL）以上と推定され，NOEL は 300 μmol/L と考えられた。また，NOEL における安全域は，ヒト 200 mg QD 投与時のヒト血漿タンパク非結合型 $C_{max,ss}$（1.41 ng/mL）に対して 40 万倍超であった。

2.6.2.4.1.2 テレメトリー装着サルを用いた心血管系試験

資料番号 4.2.1.3.3

テレメトリーを装着した無拘束の覚醒雄カニクイザルを用いた心血管系安全性薬理試験（GLP）で，心血管系に及ぼすイコトロキンラの影響を評価した。Day 1，8，15 及び 22 に，同じ 4 例のサルに 0，10，100 又は 300 mg/kg のイコトロキンラをラテン方格のクロスオーバー法により単回強制経口投与した。定性的 ECG 評価，定量的 ECG パラメータ（PR 間隔，QRS 幅，QT 及び QTc 間隔），血行動態パラメータ（心拍数，収縮期血圧，拡張期血圧，平均動脈圧及び動脈圧），呼吸数，並びに体温を投与 90 分以上前から投与 19 時間以上後まで連続的にモニタリングした。さらに，動物の生死，体重及び一般状態を評価した。

投与した全ての用量において，イコトロキンラ投与による定性的な ECG 評価，定量的 ECG パラメータ，心拍数及び血圧に及ぼす影響は認められなかった。また，呼吸数及び体温に関連した影響も認められなかった。さらに，イコトロキンラ投与による死亡は認められず，投与に関連する体重変化や一般状態の変化も認められなかった。

以上の結果から，心血管系に関する NOEL は 300 mg/kg であると考えられた。

なお，本試験では TK を評価していないが，カニクイザルを用いた 2 週間反復投与毒性試験（GLP）において，300 mg/kg のイコトロキンラを雄サルに単回経口投与したときの C_{max} は，166 ng/mL であった【2.6.6.3.2.1】。NOEL における安全域は，ヒト 200 mg QD 投与時の推定 $C_{max,ss}$（2.93 ng/mL）に対して 57 倍であった。

2.6.2.4.2 ラット呼吸系に対するイコトロキンラの作用

資料番号 4.2.1.3.4

雄ラット（1 群各 8 例）に 0，70，200 又は 600 mg/kg のイコトロキンラを単回強制経口投与した呼吸系安全性薬理試験（GLP）において，呼吸系に対するイコトロキンラの影響を全身プレチスモグラフィーにより評価した。呼吸データ（呼吸数，補正 1 回換気量及び補正毎分換気量）は，投与 1 時間以上前（ベースライン測定）から投与後少なくとも 6 時間後まで収集した。次いで，投与約 20.5 時間後に動物をチャンバーに戻し，呼吸データを 2 時間以上収集した。また，動物の生死及び一般状態を評価した。

投与した全ての用量において，投与後 22 時間まで死亡は認められなかった。また，一般状態及び呼吸機能（1 回換気量，呼吸数又は分時換気量）に対して，イコトロキンラの投与に関連した影響は認められなかった。

以上の結果から，呼吸機能に関する NOEL は 600 mg/kg であると考えられた。ラットを用いた 2 週間反復投与毒性試験（GLP）で 600 mg/kg を単回投与した雄ラットにおける C_{max} は，

142 ng/mL であった【2.6.6.3.1.2】。NOEL における安全域は，ヒト 200 mg QD 投与時の推定 $C_{max,ss}$（2.93 ng/mL）に対して 48 倍であった。

2.6.2.4.3 ラット CNS に対するイコトロキンラの影響

資料番号 4.2.1.3.5

雄 SD ラットを用いた CNS 安全性薬理試験（GLP）において，イコトロキンラの CNS に対する影響を評価した。0，70，200 又は 600 mg/kg のイコトロキンラを雄 SD ラットに単回強制経口投与し（1 群各 8 例），コアバッテリーとして Irwin の変法により評価した。投与前及び投与 0.5，3，6 及び 24 時間後に，ホームケージ内観察，ハンドリング観察，オープンフィールド観察及び刺激に対する反応，並びに神経活動に関する観察［CNS 活動性，CNS 興奮性，感覚運動，神経筋，自律神経及び生理学的観察（体温を含む）］を実施した。動物の全体的な健康状態の評価は，死亡及び一般状態観察に基づいて行った。

投与した全ての用量において，投与 24 時間後まで死亡率，一般状態及び Irwin 変法評価のいずれの項目においてもイコトロキンラの投与に関連した影響は認められなかった。

以上の結果から，CNS に対する NOEL は 600 mg/kg であると考えられた。ラットを用いた 2 週間反復投与毒性試験（GLP）で 600 mg/kg を単回投与した雄ラットにおける C_{max} は，142 ng/mL であった【2.6.6.3.1.2】。NOEL における安全域は，ヒト 200 mg QD 投与時の推定 $C_{max,ss}$（2.93 ng/mL）に対して 48 倍の安全域であった。

2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験

イコトロキンラの IL-23R に対する特異的な結合親和性を考慮すると，併用薬との間に薬力学的相互作用が生じる可能性は低いと想定されるため，薬力学的薬物相互作用試験試験は実施しなかった。

2.6.2.6 考察及び結論

イコトロキンラは IL-23R に選択的に結合し，IL-23 の IL-23R への結合を競合的に拮抗することにより IL-23R シグナルを阻害する経口ペプチド薬である。一連の非臨床薬理試験から，イコトロキンラの *in vitro*，*in vivo* 薬理作用及び安全性薬理作用を評価した。

ヒト PBMC を用いたシグナル伝達のデータから，イコトロキンラは IL-23/IL-23R シグナル伝達を強力に阻害するが，IL-12 受容体を介した IL-12 シグナル伝達は阻害しないことが示された。ラット皮膚炎モデルにイコトロキンラを予防的に経口投与したところ，IL-23 誘導性の耳介厚の増加が抑制され，耳介における IL-23 シグナル伝達経路の遺伝子発現が減弱した。イコトロキンラの耳介紅斑及び肥厚に対する阻害作用は，陽性対照として用いた抗 IL-23 抗体と同程度であり，イコトロキンラの PsO，GPP 及び EP に対する治療薬としての有用性を裏付ける結果であった。また，ラット大腸炎モデルにおいても，イコトロキンラを予防的に経口投与したところ，0.3 mg/kg/日で複数の疾患パラメータが有意に改善した。

44 種類の標的パネルを用いてイコトロキンラの選択性を評価した試験では，評価した全ての標的に対する IC_{50} は 10 µmol/L（19.0 µg/mL）以上であり，これは 200 mg QD 投与時の推定 $C_{max,ss}$ である 2.93 ng/mL（血漿タンパク非結合型 1.41 ng/mL に相当）よりも著しく高い値であった。

2 回実施した hERG 試験のうち，1 回目の hERG 試験におけるイコトロキンラの IC_{50} は 14 μmol/L（遊離塩基として 26.6 μg/mL）以上であった。NOEL は 0.78 μmol/L（遊離塩基として 1.5 μg/mL）であり，ヒト 200 mg QD 投与時の推定血漿タンパク非結合型 $C_{max,ss}$（1.41 ng/mL）と比較して 1,064 倍の安全域があった。ベストプラクティスの考慮事項に準拠した 2 回目の hERG 試験では，イコトロキンラの IC_{50} は 300 μmol/L 以上であった。NOEL は 300 μmol/L（遊離塩基として 569 μg/mL）であり，ヒト血漿タンパク非結合型 $C_{max,ss}$（1.41 ng/mL）と比較して 40 万倍の安全域が得られた。

テレメトリー装着サルに 300 mg/kg（C_{max} = 166 ng/mL）までの用量でイコトロキンラを単回経口投与した結果，心血管系機能に対する影響は認められず，200 mg QD 投与時の推定 $C_{max,ss}$ に対しての安全域は 57 倍であった。また，2 週間，17 週間及び 9 カ月間反復投与毒性試験の一環として無麻酔拘束サルを用いて ECG 評価を実施したが，特記すべき所見は認められず，300 mg/kg/日を投与した際の曝露量（C_{max}：雄/雌 = 191/429 ng/mL，989/438 ng/mL 及び 1,030/1,140 ng/mL）はヒト 200 mg QD 投与時の推定 $C_{max,ss}$ と比較して 65 倍以上の安全域が得られた【2.6.6.3.2】。

イコトロキンラは 600 mg/kg（C_{max} = 142 ng/mL）までの用量でラットの CNS 及び呼吸系に影響を及ぼさなかった。これはヒト 200 mg QD 投与時の推定 $C_{max,ss}$ と比較して，48 倍の安全域であった。

上記のとおり，イコトロキンラ投与による心血管系，CNS 及び呼吸系への影響は *in vitro* 及び *in vivo* 試験ともに確認されなかった。

非臨床薬理試験及び安全性薬理試験の結果から，イコトロキンラを PsO，GPP 及び EP の治療薬として使用することの適切性が裏付けられた。

2.6.2.7 図表

図表は本文中に記載した。

2.6.2.8 参考文献

Cheng X, et al. The biomarker profile of PTG-200, an oral peptide antagonist of IL-23 receptor, tracks with efficacy in a preclinical model of IBD. J Crohns Colitis. 2017;11(suppl 1):S80 [abstract P001].

Confidential

2.6.3 薬理試験概要表

2.6.3.1 薬理試験：一覧表

Test Article: Icotrokinra

Type of Study	Test System	Route, Doses (Vehicle/Formulation)[a]	Batch No.[b]	GLP	Test Facility	Study No./ Location in CTD
Primary Pharmacodynamics						
Binding affinity to IL-23R at 25°C	Recombinant human IL-23R	In vitro	[redacted]	No	JRD (Spring House, PA, US)	DD[redacted]019/ 4.2.1.1.1
Binding affinity to IL-23R at 37°C	Recombinant human IL-23R	In vitro	[redacted]	No	JRD (Spring House, PA, US)	DD[redacted]067/ 4.2.1.1.2
Binding affinity to IL-23R at 37°C	Recombinant human, monkey, rat, rabbit and mouse IL-23R	In vitro	[redacted]	No	JRD (Spring House, PA, US)	DD[redacted]102/ 4.2.1.1,3
IL23-R sequence homology	Human, mouse, rat, rabbit, dog, pig, monkey		[redacted]	No	JRD (San Diego, CA, US)	DD[redacted]029/ 4.2.1.1.4
Competition with IL-23 binding to monkey IL-23R	Recombinant cynomolgus monkey IL-23R	In vitro	[redacted]	No	Protagonist Therapeutics Inc. (Newark, CA, US)	DD[redacted]023 PTG-B2-007/ 4.2.1.1.5
Inhibition of IL-23-stimulated STAT3 and IL-12-stimulated STAT4 phosphorylation in human PBMCs Inhibition of IL-23-stimulated IL-17A production in rat primary cells	Human peripheral blood mononuclear cells Rat splenocytes	In vitro	[redacted]	No	JRD (San Diego, CA, US)	DD[redacted]018/ 4.2.1.1.6
Inhibition of IL-23-stimulated STAT3 phosphorylation in human DB cells	Human diffuse large-cell B lymphoma (DB) cells	In vitro	[redacted]	No	Protagonist Therapeutics Inc. (Newark, CA, US)	DD[redacted]021 PTG-B2-003/ 4.2.1.1.7
Inhibition of IL-23-stimulated IFNγ in human NK cells	Human natural killer cells	In vitro	[redacted]	No	Protagonist Therapeutics Inc. (Newark, CA, US)	DD[redacted]020 PTG-B2-006/ 4.2.1.1,8
Inhibition of IL-23-stimulated IFNγ in human whole blood	Human whole blood (healthy and psoriasis subjects)	In vitro	[redacted]	No	JRD (San Diego, CA, US)	DD[redacted]066/ 4.2.1.1.9

(Continued)

2.6.3.1 薬理試験：一覧表（続き）

Test Article: Icotrokinra

Type of Study	Test System	Route, Doses (Vehicle/Formulation)[a]	Batch No.[b]	GLP	Test Facility	Study No./ Location in CTD
Primary Pharmacodynamics (Continued)						
Inhibition in vitro and ex vivo of IL-23-stimulated IL-17A in rat whole blood	Sprague Dawley rat	In vitro or ex vivo following oral gavage[c]: 0 (vehicle control), 0.03, 0.1, 0.3, 1, 3, 10, 30 or 100 mg/kg	[redacted]	No	JRD (San Diego, CA, US)	DD[redacted]040/ 4.2.1.1.10
Evaluation of the binding affinity and kinetics of five JNJ-77242113 impurities to human IL-23R using SPR	Recombinant human IL-23R	In vitro	[redacted]	No	JRD (Spring House, PA, US)	DD[redacted]018/ 4.2.1.1.11
Evaluation of the in vitro potency of five JNJ-77242113 impurities in a human PBMC-based assay of IL-23-induced STAT3 phosphorylation	Human PBMCs	In vitro	[redacted]	No	JRD (San Diego, CA, US)	DD[redacted]017/ 4.2.1.1.12
IL-23-induced Skin Inflammation Model	Sprague Dawley rat	Oral gavage: 0 (vehicle control), 1, 3, 10, 30, 100, or 300 mg/kg (BID)[d]	[redacted]	No	[redacted] ([redacted], US)	DD[redacted]039/ 4.2.1.1.13
TNBS-induced Colitis Model	Sprague Dawley rat	Oral gavage (TID)[c]: 0 (vehicle control), 0.03, 0.1, 0.3, 1, 3, or 10 mg/kg/day	[redacted]	No	[redacted] ([redacted], US)	DD[redacted]017/ 4.2.1.1.14
Secondary Pharmacodynamics						
Selectivity screening	44 human or rat targets (receptors, ion channels, enzymes, transporters)	In vitro 10 µM	[redacted]	No	[redacted] France	DD[redacted]022 FR095-0015189/ 4.2.1.2.1
Safety Pharmacology						
hERG assay	HEK-293 cells stably expressing hERG ion channel	In vitro 0, 0.78, 3.7, 14, and 927 µM	[redacted]	Yes	[redacted] UK	[redacted]-017/ 4.2.1.3.1
hERG assay	HEK-293 cells stably expressing hERG ion channel	In vitro 0, 10, 100, and 300 µM	[redacted]	Yes	[redacted] ([redacted], US)	TOX16822/ 4.2.1.3.2
Cardiovascular safety-telemetry	Cynomolgus monkey	Oral gavage, single dose, 0, 10, 100, or 300 mg/kg[d]	[redacted]	Yes	[redacted] ([redacted], US)	[redacted]-008 TOX16891/ 4.2.1.3.3
Respiratory safety	Sprague Dawley rat	Oral gavage, single dose, 0, 70, 200, or 600 mg/kg[d]	[redacted]	Yes	[redacted] China	[redacted]-015/ 4.2.1.3.4
Central nervous system safety (modified Irwin test)	Sprague Dawley rat	Oral gavage, single dose, 0, 70, 200, or 600 mg/kg[d]	[redacted]	Yes	[redacted] China	[redacted]-016/ 4.2.1.3.5

(Continued)

Confidential

2.6.3.1 薬理試験：一覧表（続き）

Test Article: Icotrokinra

Type of Study	Test System	Route, Doses (Vehicle/Formulation)[a]	Batch No.[b]	GLP	Test Facility	Study No./ Location in CTD
Pharmacodynamic Drug Interactions						
No pharmacodynamic drug interaction studies have been performed.						

Note: Icotrokinra = JNJ-77242113 = PN-235

[a] Vehicle/formulation information for in vivo studies

[b] For safety pharmacology studies, all drug substance batches were produced according to [redacted], except for the batch used in the hERG study TOX16822, which was manufactured via [redacted]. For details on drug substance, see 3.2.S.4.4/Batch Analyses and 3.2.S.3.2/Impurities/Table 1 and Table 2.

[c] Water

[d] Vehicle/formulation = 50 mM sodium phosphate buffer, pH 7.4 ± 0.1

BID: twice daily; CA: California; GLP: Good Laboratory Practice; HEK: human-embryonic kidney; hERG: human ether à go go related gene; JRD: Janssen Research and Development; [redacted]; PA: Pennsylvania; PBMC: peripheral blood mononuclear cell; TID: three times daily; TNBS: trinitrobenzenesulfonic acid; UK: United Kingdom; US: United States; [redacted]

2.6.3.2　効力を裏付ける試験

No primary pharmacodynamics tabulated summary is provided as a separate document. Tables and figures were included as part of【2.6.2】.

2.6.3.3 副次的薬理試験

Test Article: Icotrokinra

Organ Systems Evaluated	Species/Strain	Route	Doses (µM)	Noteworthy Findings	GLP	Study No./ Location in CTD
Selectivity screening off-target binding	Human or rat, 44 targets including receptors, ion channels, enzymes and transporters	In vitro	10	No inhibition or activation >50% Minor increase in activity for COX1 (28.2%) and PDE3A (37.6%) enzymes <25% inhibition for 42/44 of the targets	N	DD[redacted]022 FR095-0015189/ 4.2.1.2.1

Note: Icotrokinra = JNJ-77242113 = PN-235

COX1: cyclooxygenase 1; GLP: good laboratory practice; N: no; PDE3A: phosphodiesterase 3A

2.6.3.4 安全性薬理試験

Test Article: Icotrokinra

Organ Systems Evaluated	Species/Strain Sex/No. Per Group	Route (Vehicle/Formulation)	Doses[a] (mg/kg)	Noteworthy Findings	GLP	Study No./ Location in CTD
hERG assay	HEK-293 cells stably expressing hERG ion channel	In vitro (0.3% v/v DMSO in HB-PSS or HB-PSS alone)	0, 0.78, 3.7, 14, and 927 µM	hERG tail current amplitude reduction to: 0% inhibition at 0.78 µM 9.1% inhibition at 3.7 µM 44.6% inhibition at 14 µM 24.6% inhibition at 927 µM → NOEL = 0.78 µM → IC_{50} >14 µM	Yes	[redacted]-017/ 4.2.1.3.1
hERG assay	HEK-293 cells stably expressing hERG ion channel	In vitro (HEPES-buffered physiological saline solution)	0, 10, 100, and 300 µM	hERG tail current amplitude reduction to: 16.8% inhibition at 10 µM 23.4% inhibition at 100 µM 23.7% inhibition at 300 µM → NOEL = 300 µM → IC_{50} >300 µM	Yes	TOX16822/ 4.2.1.3.2
Cardiovascular safety-Telemetry-instrumented	Cynomolgus monkey (conscious) 4M (Latin square cross-over design)	Single dose Oral gavage (50 mM sodium PB, pH 7.4 ± 0.1)	0, 10, 100, and 300	No mortality Continuous monitoring up to at least 19 hours postdose: no ECG abnormalities; no changes in quantitative ECG parameters, heart rate, blood pressure; no effect on respiration rate, body temperature, body weight, clinical observations. → NOEL = 300 mg/kg	Yes	[redacted]-008 TOX16891/ 4.2.1.3.3
Respiratory safety	Sprague Dawley rat 8M/group	Single dose Oral gavage (50 mM sodium PB, pH 7.4 ± 0.1)	0, 70, 200, and 600	No mortality, no clinical observations No effects on respiratory function (tidal volume, respiration rate, or minute volume) through 22 hours postdose → NOEL = 600 mg/kg	Yes	[redacted]-015/ 4.2.1.3.4
Central nervous system safety (modified Irwin test)	Sprague Dawley rat 8M/group	Single dose Oral gavage (50 mM sodium PB, pH 7.4 ± 0.1)	0, 70, 200, and 600	No mortality, no clinical observations No effects on the home-cage, hand-held, open-field or elicited CNS assessments (CNS activity, CNS excitability, sensorimotor, neuromuscular, autonomic and physiological observations [including body temperature]) up to 24 hours postdose. → NOEL = 600 mg/kg	Yes	[redacted]-016/ 4.2.1.3.5

Note: Icotrokinra = JNJ-77242113 = PN-235

[a] unless otherwise specified

CNS: central nervous system; DMSO: dimethylsulfoxide; HB-PSS: HEPES buffered physiological saline solution; HEK: human embryonic kidney; HEPES: (4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid); hERG: human ether-à-go-go-related gene; IC_{50}: 50% inhibitory constant; M: male; NOEL: no observed effect level; PB: phosphate buffer

Confidential

2.6.3.5　薬力学的薬物相互作用試験

No pharmacodynamics drug interactions studies have been conducted.