タミフルカプセル75資料

（リン酸オセルタミビルカプセル剤）

日本ロシュ株式会社

目　次

へ. 吸収，分布，代謝，排泄に関する資料

ト. 臨床試験の試験成績に関する資料

効能・効果, 用法・用量, 使用上の注意 (案) 及びその設定根拠

毒薬・劇薬等の指定審査資料のまとめ

略語一覧表

ANOVA	analysis of variance (分散分析)
AUC	area under the plasma concentration-time curve (濃度－時間曲線下面積)
b.i.d.	bis in die, twice daily (1日2回)
BA	bioavailability (バイオアベイラビリティー, 生物学的利用率)
C_{12}	concentration 12 h post dose (投与後12時間時の血漿中濃度)
CDS	Core Data Sheet (コアデータシート)
CI	confidence interval (信頼区間)
CLcr	creatinine clearance (クレアチニンクリアランス)
CLr	renal clearance (腎クリアランス)
CLt	apparent clearance (みかけのクリアランス)
Cmax	maximum observed plasma concentration (最高濃度)
Cmin	trough plasma concentration (トラフ血漿濃度)
COAD	chronic obstructive airways disease(慢性閉塞性気道疾患)
CPE	cytopathic effect (細胞変性効果)
EID_{50}	50%発育鶏卵感染濃度 (50% egg infective dose)
H274Y	274番目のヒスチジンがタイロシンに変換した変異株
HAI抗体価	ヘマグルチニン凝集阻害
HPAI	highly pathogenic avian influenza(強い病原性を示すトリインフルエンザ)
I222T	222番目のイソロイシンがスレオニンに変換した変異株
I222V	222番目のイソロイシンがバリンに変換した変異株
IC_{50}	50%阻害濃度
Ki	Dissociation constant of enzyme reaction (阻害定数)
Km	Michaelis constant (Michaelis定数)
ln	natural logarithm (自然対数)
MBq	メガベクレル （1μCi = 0.037MBq ）
MDCK細胞	Madin-Darby canine kidney cells (イヌ腎臓細胞)
MSQ	Mental Status Questionnaire(精神状態に関する質問書)
MUNANA	2'-(4-methylumbelliferyl)-α-D-N-acetylneuraminic acid
NADPH	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
NAG	N-acetyl-β-D-glucosaminidase
o.d.	once daily (1日1回)
P/M ratio	parent to metabolite drug ratio (代謝物に対する親薬物の比)
pfu	plaque forming unit (プラーク形成単位)
R292K	292番目のアルギニンがリジンに変換した変異株
Ro64-0796	prodrug of neuraminidase inhibitor (Ro64-0796原薬)
Ro64-0802	active neuraminidase inhibitor, metabolite of Ro64-0796(Ro64-0796活性代謝物)
S9	9000 g supernatant (9000 g上清)
SaO_2	動脈血酸素飽和度
SD	standard deviation (標準偏差)
$t_{1/2}$ effective	effective elimination half-life (蓄積時の推定消失半減期)
$t_{1/2}$ observed	observed elimination half-life (見かけの消失半減期)
$TCID_{50}$	50%組織培養感染濃度 (50% tissue culture infective dose)
t_{max}	time to maximum observed plasma concentration (最高血漿中濃度到達時間)
U_{cum}	drug excreted in urine (尿中薬物排泄)
UDPGA	Uridine-5'-diphosphate-α-D-glucuronic acid
V_{ss}	volume of distribution at steady state (定常状態における分布容積)
μCi	microcurie (マイクロキュリー)

イ．起原又は発見の経緯及び外国における使用状況に関する資料

1. 起原又は発見の経緯及び開発の経緯

1-1. 発見の経緯

リン酸オセルタミビル(Ro64-0796)はA型及びB型インフルエンザに対する新規経口薬である。Ro64-0802はインフルエンザウイルスの増殖サイクルに必須の酵素であるノイラミニダーゼ(NA)の結晶構造の研究より，NAの活性部位に高い親和性を有する化合物を目指し，合理的にデザイン・合成された強力で選択的なA型及びB型インフルエンザウイルスNAの阻害剤である。リン酸オセルタミビルは，Ro64-0802の経口吸収を高めたエチルエステル型プロドラッグである。リン酸オセルタミビルは，経口投与後速やかに吸収され，エステラーゼにより活性体Ro64-0802に変換された後，インフルエンザウイルス増殖の場である呼吸気道内に移行する。Ro64-0802はインフルエンザウイルスNAを阻害することにより，ウイルス増殖を阻止し，ウイルス感染により誘導される炎症性サイトカインの産生を抑制し，結果としてインフルエンザ症状の軽減と罹病期間の短縮が期待される薬剤である。

この度，本邦及び海外の臨床試験の成績より，本剤のインフルエンザウイルス感染症に対する有効性(治療及び予防効果)と安全性が確認されたと判断されたので，申請を行うものである。

1-1-1. インフルエンザ対策の必要性と臨床症状

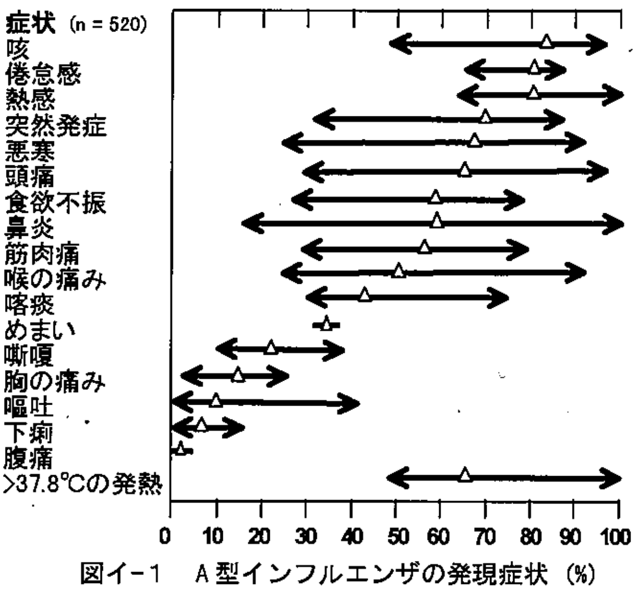
インフルエンザはインフルエンザウイルスの感染に起因する急性呼吸器感染症で，A型，B型及びC型インフルエンザウイルスが人に感染する[1-4]。1933年に初めてA型インフルエンザウイルスが分離されて以来，5種の抗原性の異なるA型インフルエンザウイルスがヒトから分離された。今世紀に世界的大流行をもたらしたA型インフルエンザは，1918年(スペイン風邪)のH1N1，1957年(アジア風邪)のH2N2，1968年(香港風邪)のH3N2である。スペイン風邪では全世界で6億人が罹患し，死者2,300万人にものぼる空前の大惨禍をもたらし，またアジア風邪では米国で70,000人の死亡者が出たとされている[5]。1968年よりH3N2の香港型が大流行し，1977年にH1N1ソ連型が再登場し現在に至っている。1997年香港においてトリ型インフルエンザウイルス(H5N1)に18人が感染し，うち6人が死亡した。更に，1999年香港においてH9N2感染患者が報告され，新型ウイルスによる大流行が危惧されたが，いずれも現在まで世界的流行には至っていない。A型インフルエンザは遺伝子交雑により抗原性の不連続変異を起し，今までヒトが罹患した事のない新型のウイルスが出現するため上述の様な世界的大流行を引き起こす。世界的流行に至らずとも，インフルエンザウイルスは年々突然変異によりその抗原性の連続変異を起こし毎年世界中で猛威を奮っている。また，B型インフルエンザも連続変異を示しつつ，A型ほど大規模ではないが毎年冬期に流行を繰り返し臨床的に重要な問題となっている。なお，C型インフルエンザはその症状はA型及びB型のように重篤でなく，大部分の感染は子供に限られ，大流行に至ることはない[6]。

我が国においてもインフルエンザは，世界各国と同様に流行を繰り返しており，1957年のアジア風邪では国民の約50%が罹患したと考えられている[7]。インフルエンザ流行期間の2ヵ月で少なくとも国民の5%が感染し，毎年600万人以上の人々がインフルエンザに感染すると言われている[8]。厚生省の病原微生物検出情報では1997～98年冬期には近年にない流行となり，児童・生徒だけでも127万人以上のインフルエンザ様疾患の報告があり，高齢者を中心にインフルエンザによる死者数が1287人と1976年以来最高を記録した。これらの流行の社会に及ぼす影響は甚大であり，その被害は計り知れないものと考える。我が国には経済的損失に関する具体的報告は見当たらないが，米国ではインフルエンザ流行期間の入院患者増加のため，高齢者身障者医療保険は7.5億～10億ドルの医療費を支払っており[9]，またインフルエンザ流行に関連した年平均経済損失は120億ドルに達すると試算されている[10]。1993年のヨーロッパインフルエンザ会議では，新型インフルエンザウイルスによる大流行が発生した場合，国民の25%が罹患，発症すると仮定して行動計画を策定するよう勧告している。この仮定に基づくと我が国では約3200万人

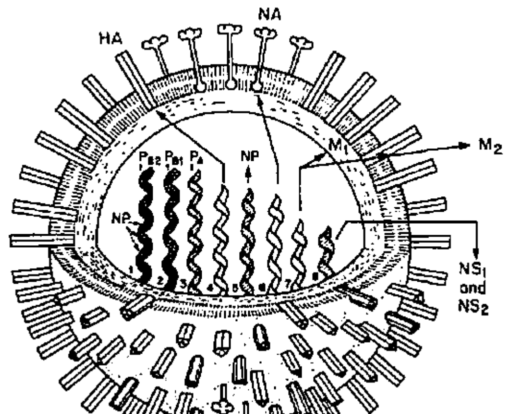
の患者が発生することになり，インフルエンザの大流行による死亡は最低でも3万〜4万人に達する可能性があると推測されている。現在の医療供給体制は質・量ともに過去の大流行時に比べ大幅に改善されて，衛生環境も向上しているが，人口の高齢化や合併症を有する患者の増加，大都市への人口過密傾向など生活環境も変化していることから，例年発生する通常のインフルエンザによる弊害を含め，新型インフルエンザによる危機管理対策が大変重要であると考える。

この様に，インフルエンザは，強い伝播力と高い罹患率，死亡率を伴う疾患で，特に小児，高齢者，呼吸器や心臓の慢性疾患患者，免疫能低下患者などハイリスク集団において重大な疾患である。更に，通常健康者では，重篤な症状に至らずとも，感染による活力の喪失，日常生活の障害が社会・経済に与える損害は甚大なもので，その治療及び予防の必要性が医学的・社会的な理由より強く望まれている。

インフルエンザの臨床症状は，ウイルス感染より 1〜2 日の潜伏期間後，突然の発熱を伴う「頭痛，筋肉・関節痛，倦怠感，悪寒」などの全身症状と「咳・くしゃみ，喉の痛み，鼻漏・鼻詰まり」などの呼吸器症状が発現する。発熱はインフルエンザの最も顕著な症状で，通常 38℃以上に達する。発熱と全身症状は発病後 3 日でピークに達し，その後 7 日間程で回復に向かうが，咳，疲労感・倦怠感は急性症状の回復後 1〜2 週間続くこともある[11-20]。図イ-1 は，1937〜1992 年の間に行われた 10 件の臨床試験で A 型インフルエンザウイルスが確認された 520 人の成人患者での各症状の発現率を示す[11-20]。インフルエンザの臨床症状は H1N1, H2N2, H3N2 など A 型及び B 型インフルエンザでほぼ同様である[21]。インフルエンザは，飛沫により伝播する。1 回のくしゃみ・咳で数ミクロンの飛沫が数百万個放出され，1 つの飛沫には数個の感染性のあるインフルエンザウイルスが含まれている[22]。直径約 5μm のウイルス飛沫は，気管・気管支の上皮細胞より感染が起こる。ウイルス複製は 4 時間(*in vitro*)で完了し，感染細胞が死滅する数時間前に複製された子孫ウイルスは感染細胞より遊離し，近接の未感染細胞に感染し，急速に呼吸器全体に広がる。ウイルスは症状発現の 24 時間前より急速に増加し，症状発現 48 時間以内にピーク (10^3〜10^7 $TCID_{50}$/ml) に達する[15]。



図イ-1　A 型インフルエンザの発現症状 (%)



図イ-2 インフルエンザウイルスの構造

1-1-2. インフルエンザウイルス

インフルエンザウイルスは，図イ-2 に示すように，1 本鎖(－鎖)RNA を遺伝子情報として有し，オルトミキソウイルス科に属す。ウイルス粒子の直径はおよそ 100〜150nm で，感染細胞由来の脂質二重層の外被を有する。8 分節した各 RNA はウイルス核タンパク (NP)，ポリメラーゼ複合体と会合し，リボ核タンパク質粒子(RNP)と呼ばれ，ウイルスの外被を裏打ちしている M1 タンパクの殻の中に局在している。ウイル

スの外被には，2つのスパイク糖タンパク，ヘマグルチニン(HA)及びノイラミニダーゼ(NA)，ならびに膜チャネルタンパク M2 が埋め込まれている。HA(3 量体)は，その先端に細胞のウイルス受容体に結合する領域があり，この膜融合活性によりウイルスが細胞に吸着する。NA(4 量体)は細胞のウイルス受容体を破壊し，新たに作られたウイルスを感染細胞の表面から遊離する。M2 蛋白は 4 量体の膜チャンネルを形成し，このイオンチャンネルを介してウイルス内部の酸性化が起こり，細胞質中へ RNP が移行する。B 型及びC 型インフルエンザウイルスにはM2 タンパクがなく，更にC 型インフルエンザウイルスは，HA 及び NA の代わりに受容体結合及び受容体破壊の両活性を有する単一の糖タンパク(HE:ヘムアグルチニン エステラーゼ)を有する [23,24]。

ウイルスの複製と増殖の最初の段階は，細胞内に侵入するためにウイルスが細胞膜と融合する。A 型及びB 型インフルエンザウイルスは HA を介して，呼吸器気道細胞の表面にあるシアル酸(ノイラミン酸)に結合し，エンドソームとして細胞内に取り込まれたウイルスは，A 型インフルエンザウイルスでは M2 イオンチャンネルを介した酸性化により脱殻し，RNP は細胞質へ移行する。複製の過程が完了すると，新たに産生されたウイルス RNA 及び蛋白は細胞膜下に集まり，ウイルス粒子が再構成され，最終的に出芽によって細胞から放出される [8]。NA は，宿主細胞の表面にある糖蛋白・糖脂質・多糖類の末端シアル酸残基及び HA や NA 蛋白上のシアル酸を加水分解する酵素で，感染細胞内で産生された子孫ウイルス粒子が細胞から遊離し，呼吸気道内に拡散していくために必須の酵素である。この時 NA の作用がないと，ウイルス粒子は細胞膜に結合したままの状態で遊離出来ず，また感染細胞から遊離しても，互いに HA や NA 上のシアル酸を認識，結合し凝集してしまい，未感染細胞への感染拡大が妨げられる [25,26]。更に，NA の活性部位は，頻繁に抗原変異する部位とは異なる部位で，その遺伝子配列，蛋白の高次構造はインフルエンザウイルス亜型間で高率に保持されている。この様な理由より，インフルエンザ治療の効果的なターゲットの1つとして，インフルエンザウイルスの NA 活性を特異的に阻害することが挙げられる。

1-1-3. 現在のインフルエンザ治療法

インフルエンザ対策の第一選択肢として，ワクチンによる予防が挙げられる。インフルエンザはその症状が発現した時点においては，感染患者でのウイルス増殖はピークレベル近くに達しており，呼吸気道上皮細胞の障害も大きく，この時点から治療すること自体に難しさがある。従って，インフルエンザ感染により合併症を起こしやすいハイリスク集団や感染機会の高い人では，ウイルス感染・増殖過程の出来るだけ早い時期よりこれを抑制することが理想的な対策である。ワクチンはインフルエンザの発症抑制，症状の軽減化を目指した効果的かつ医療経済的観点からも推奨される対策の一つで，日本をはじめ欧米先進諸国では，ハイリスク集団及び医療従事者へのワクチン接種を勧めている。しかし，ワクチンの有効率は 60～90%といわれ [27]，抗原性変異を繰り返すウイルス側要因，被接種者の免疫応答能及び免疫獲得までの期間，ワクチン生産量，供給・接種体制，ワクチン接種率，新型ウイルス出現時の対策，更にインフルエンザ罹患者の治療など，ワクチンの諸問題を補うべく安全で有効な化学療法剤が望まれている。

現在欧米におけるインフルエンザの治療・予防には，塩酸アマンタジン(Symmetrel™)及びリマンタジン(Flumadine™)がある。日本においても，1998 年 11 月に塩酸アマンタジンが A 型インフルエンザの治療・予防薬として承認を得た。これら薬剤の作用機作は，薬剤がインフルエンザの M2 蛋白に結合することにより，M2 蛋白の構造が変化し，イオンチャンネル孔としての M2 蛋白の活性が阻害され，ウイルス粒子内部の酸性化が阻害される。その結果，RNP の解離，細胞質への移行が阻害されると考えられている [28]。従って M2 蛋白のない B 型及び C 型インフルエンザに対しては，活性を示さない。両薬剤とも，インフルエンザ感染による最初の症状が出てから 48 時間以内に治療(1 回 100 mg を 1 日 2 回投与)を開始すると，通常健康な成人では，ウイルス放出期間の短縮，症状の軽減，病状の回復が 1 日程度早くなる [29]。しかし，これら薬剤の副作用として，アマンタジンでは，100 mg/day を超える用量を投与した時，興奮，記憶障害，集中力の低下，睡眠障害などの中枢神経系の副作用が知られており [33,34]，これら副作用は，用量の増

加，腎障害患者及び高齢者において，発現頻度の増加及び重篤度が増強される。更に，これら薬剤を使用した場合，成人のおよそ10～27%で耐性ウイルスが出現し，免疫機能低下患者や小児では更に高い出現頻度(最高50%)で認められる[30,31]。これら耐性ウイルスは原株と同様の感染性及び病原性を有するため，耐性ウイルスの急速な伝播が起こりうることが危惧される[32]。この様にアマンタジン，リマンタジンでは，B型インフルエンザに対して治療効果がないこと，中枢神経系の副作用，早期に感染性のある耐性ウイルス株が出現する可能性などの問題があり，より安全で効果の高い新規抗インフルエンザ薬の開発が強く望まれている。

この様な背景の下に，1999/2000 冬期インフルエンザシーズンより，米国，カナダ,欧州の国々において新規 NA 阻害剤(ザナミビル及びリン酸オセルタミビル)がインフルエンザ治療薬として承認され，100万人以上のインフルエンザ患者に使用された。

1-1-4. ノイラミニダーゼ阻害剤

インフルエンザウイルスの NA は現在までに 9 つの亜型が報告されているが，本酵素の活性部位の遺伝子配列はこれら亜型間で高率に保持されており，特異的な NA 阻害物質は，A 型及び B 型インフルエンザウイルスの全ての NA に対し阻害活性を示すと考えられる。1983 年にインフルエンザウイルスの NA 酵素蛋白の結晶化の成功に続き，NA 阻害物質の探索が行われた[32,33]。この系統に属する化合物のうち，最初にヒト臨床試験に入った薬物はザナミビル水和物(Relenza™)であった。ザナミビルはA型及びB型インフルエンザウイルスのNAを阻害し，実験動物モデル及びヒトでのインフルエンザに対して活性を示し，1999年2～4月にオーストラリア，ニュージーランドで承認され，同年6月より販売された。一方米国においては，FDAのアドバイサリー委員会の推薦評価は得られなかったが，同年7月にFDAより承認を受け，1999年 12 月に本邦においても承認された。ザナミビルは，経口投与ではバイオアベイラビリティー(BA)が低く，粉末薬剤を直接吸入により投与しなければならない。薬剤を直接ウイルス増殖の場である気道に吸入することにより，高い抗ウイルス効果と全身性の副作用出現の可能性が低いことが期待される。反面，喘息・COADなど呼吸器疾患を有する患者において気管支痙攣の起こる危険性があり，また吸入の不慣れにより薬剤が標的部位に効果的に分布されず安定した効果が発揮できないという欠点も考えられるため，服薬法の訓練が必要とされている[34]。

この様な背景より，インフルエンザ治療には，強力かつ特異的にA型及びB型インフルエンザに対して効果を示し，副作用の少ないことに加え，誰でもいつでも簡単に服薬でき，ウイルスの増殖部位に薬剤が分布し，常に一定の効果が期待できるBAの高い経口剤型が望まれる。

1-1-5. Ro64-0802の合理的なデザイン･合成

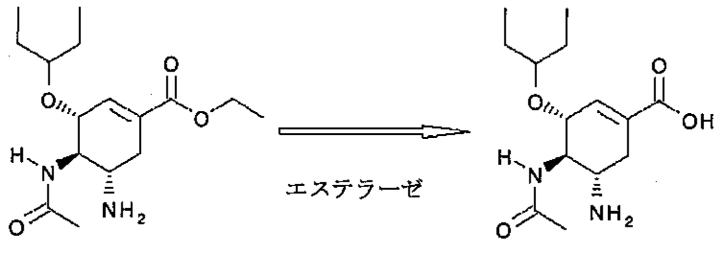
Ro64-0802 は 19　年に米国ギリヤード･サイエンス社において発見されたシアル酸の類似体で，インフルエンザウイルスのNAと

の共結晶を用いたX線解析の研究に基づき理論的にデザイン･合成された強力かつ特異的なインフルエンザNA阻害剤で，他のウイルス，細菌あるいはヒト組織のNAに対しては殆ど活性を示さない。

この様にしてデザイン・合成された約　　種の候補化合物の中から，A型及びB型インフルエンザウイルスのNA阻害活性の強さに基づき，Ro64-0802が選ばれた。更に19　年に，Ro64-0802を基に経口投与

での BA を高めるために 種の誘導体が合成された。Ro64-0796 は，動物の経口投与試験成績より選ばれた経口 BA の高い Ro64-0802 のエチルエステル型プロドラッグである。

Ro64-0796 は，経口吸収後，ヒトでは主に肝の可溶性エステラーゼにより速やかに Ro64-0802 に変換され，持続的な活性体 Ro64-0802 の血漿中レベルが得られた。更に，ラットの肺・気管支の洗浄液中に抗ウイルス活性を期待できる濃度の Ro64-0802 が検出されたことより，Ro64-0796 は吸収後，活性体 Ro64-0802 に速やかに変換され，Ro64-0802 がウイルス複製，増殖部位に効果的に分布することが明らかとなった。



Ro 64-0796 **Ro 64-0802**

図イ－３ プロドラッグ Ro64-0796 から活性体 Ro64-0802 への変換

1-2. 海外における開発の経緯

1-2-1. 非臨床試験

Ro64-0802 は，ヒト A 型及び B 型インフルエンザ並びにトリインフルエンザウイルス NA に対し強力で，かつ特異的な阻害剤であり，他の NA に対する活性は殆どない。Ro64-0802 は，培養細胞で試験した A 型及び B 型インフルエンザウイルスの増殖をそれぞれ 0.56～24 及び 124～155nM (IC_{50}) で阻害した。Ro64-0796 は経口投与により，マウス，フェレット及びニワトリのインフルエンザ感染動物モデルにおいて，それぞれ 0.1～100，10～50，20～200 mg/kg/日の用量範囲において用量依存的に治療及び予防効果を示した。マウスでの治療効果は，ウイルス感染 60 時間後より治療を開始しても認められた。Ro64-0796 の経口吸収は，すべての動物種において良好で，吸収後エステラーゼによって速やかに活性体 Ro64-0802 に変換され，肺，気管支，鼻粘膜，中耳及び気管などのインフルエンザウイルスが感染する主要部位で抗ウイルス効果を発揮する薬物レベルに達した。Ro64-0796 及び Ro64-0802 の血漿中薬物動態は，著しい性差はなく，一般的に個体間の変動も小さく，用量－血中濃度の関係は比例的であり，蓄積性はない。動物実験において Ro64-0796 投与による，重大な副作用に繋がる所見はみられていない。ラットでの 27 週間投与試験に基づいて求めた本薬の安全域（本薬の毒性発現用量における AUC/推奨臨床用量投与時のヒトにおける AUC）は，Ro64-0796 で 80 倍，Ro64-0802 で 11 倍であった。

1-2-1-1. 物理化学的及び薬剤学的性質

Ro64-0796 の経口用製剤の原薬 Ro64-0796/002（JAN：リン酸オセルタミビル，化学名：(-)-ethyl (3*R*, 4*R*, 5*S*)-4-acetamido-5-amino-3-(1-ethylpropoxy)cyclohex-1-ene-1-carboxylate monophosphate）は，白色～微黄白色の結晶性の粉末である。本薬は，水及びメタノールに溶けやすく，アセトニトリルにほとんど溶けない。製剤は，本薬の遊離塩基であるオセルタミビル ($C_{16}H_{28}N_2O_4$) を 75mg（リン酸オセルタミビル ($C_{16}H_{28}N_2O_4 \cdot H_3PO_4$) として 98.5mg）含有する 2 号硬カプセル剤である。

本薬は苛酷試験条件下において，温度及び湿度に対して安定であった。PTP 包装したリン酸オセルタミビルカプセル剤を加速条件下に 6 ヵ月間保存するとき，カプセル内容物の色が経時的にわずかに微黄色に変化し，分解物 がわずかに増加したが，規格

の範囲内であり，その他の試験項目においてほとんど変化は認められなかった。24 ヵ月間の長期保存試験において安定であったことから，本剤を PTP 包装して室温に保存するとき，少なくとも 2 年間は安定な医薬品である。 なお，長期保存試験は，海外において現在継続中である。

1-2-1-2. 毒性

リン酸オセルタミビルの主な毒性試験として，単回投与試験，9 ヵ月までの反復投与試験，生殖・発生毒性試験，遺伝毒性試験，抗原性試験を実施した。また，本薬の小児への適用を考慮して，幼若動物における単回，反復投与試験を実施した。

＜単回投与毒性＞本薬の単回経口投与での概略の致死量は，マウス，ラット及び幼若ラット(14 日齢)で 2000mg/kg 以上，マーモセットで 2000mg/kg と推定された。単回静脈内投与での概略の致死量は，マウスで 250mg/kg と推定された。

＜反復投与毒性＞本薬に関する一連の反復経口投与試験においてみられた主な毒性所見は，ラットにおける腎臓障害(1000mg/kg/日以上)とマーモセットにおける嘔吐(500mg/kg/日以上)及び胃腸管障害(2000mg/kg/日)であった。ラットにおける反復投与試験では，無毒性量は 4 週間試験で 250mg/kg/日，6 ヵ月間試験では 100mg/kg/日と推定された。6 ヵ月間反復投与試験での病理組織学的検査では，腎臓にのみ異常所見(1000mg/kg/日群で尿細管上皮・基底膜・ボーマン嚢の変性及び再生性変化，尿細管の空胞化・鉱質沈着・硝子円柱)がみられた。マーモセットにおける反復投与試験では，無毒性量は 4 週間試験では 1000mg/kg/日，9 ヵ月間試験では 200mg/kg/日と推定された。9 ヵ月間試験の主な毒性所見は，1000mg/kg/日群の嘔吐，投与初期における体重減少及び尿量の増加で，ラットでみられたような腎臓の異常所見はみられなかった。幼若ラットにおける反復投与試験 (2 週間試験；投与開始時 7 日齢，4 週間試験；投与開始時 21 日齢) において，薬物に起因する死亡例はなく，一般症状，体重，摂餌量，病理組織学的及び臨床検査に異常所見はみられず，無毒性量は両試験ともに 500mg/kg/日と推定された。Ro64-0802 の 2 週間静脈内投与試験における無毒性量はラットで 20mg/kg/日，マーモセットで 50mg/kg/日と推定された。

＜生殖・発生毒性＞本薬のラットの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験(Ⅰ試験)，ラットの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(Ⅱ試験)，ラット及びウサギの胚・胎児発生に関する試験(Ⅲ試験)を実施した。ラットでは雌雄親動物の生殖能(交配能・受胎能)及び F_1 胚・胎児に対し 1500mg/kg/日まで，母動物及び出生児に対し 500mg/kg/日の投与量まで影響を示さなかった。ウサギにおいては，500mg/kg/日の投与量で流産が発現したが，胎児に対する催奇形性作用はみられなかった。

＜遺伝毒性＞ 本薬の復帰突然変異試験(Ames 試験)，染色体異常試験(ヒトリンパ球)及び小核試験(マウス)を実施した。また，Ro64-0802 の復帰突然変異試験及び遺伝子突然変異試験(マウスリンパ腫細胞)を実施した。本薬及び Ro64-0802 に遺伝毒性はみられなかった。

＜抗原性＞ モルモットを用いた Maximization Test 法により本薬の皮膚感作性を検討した結果，皮膚感作性がみられた。しかし，アジュバント併用高用量免疫条件下(皮内投与，30mg/匹)での本薬及び Ro64-0802 のモルモットを用いた抗原性試験(能動全身アナフィラキシー(ASA)試験，同種受身皮膚アナフィラキシー(PCA)試験，血清中の特異的 IgG 抗体測定)で，本薬及び Ro64-0802 に抗原性がみられなかったことから，臨床使用上，本薬が抗原性を示す可能性は非常に低いと推察される。

＜その他の毒性試験＞ ウサギを用いた局所刺激性試験において，本薬原体(粉末)に軽度の眼粘膜刺激性がみられたが，皮膚刺激性はみられなかった。イヌを用いて本薬の 75mg カプセル剤(臨床製剤)の消化管に対する影響(刺激性)を検討した結果，食道を含む胃腸管に対する刺激性はみられなかった。また，本薬に光毒性作用はみられなかった。不純物(分解物/副生成物)の毒性試験として，本薬原体及び保存したカプセル剤に含まれると予測される 5 種類の不純物を添加した本薬の復帰突然変異試験(Ames 試

験)及び染色体異常試験を実施したが，遺伝毒性はみられなかった。また，3 種類の不純物を添加した本薬のラット 2 週間経口投与試験を実施したが，不純物の添加に起因する新たな毒性の発現はなかった。

1-2-1-3. 薬理作用

Ro64-0796 の活性代謝物 Ro64-0802 は，種々のヒトインフルエンザウイルス A 型及び B 型株並びにトリインフルエンザウイルスの NA を，強力かつ選択的に阻害し(IC_{50}：0.1～100 nM)，他のウイルスや微生物及びヒトの NA に対しては 1mM の高濃度でも殆ど活性を示さなかった。 Ro64-0802 は，MDCK 細胞における A 型及び B 型インフルエンザウイルスの増殖を 0.56～155nM(IC_{50})の低濃度で阻害した。NA はインフルエンザウイルスの増殖に必須の酵素で，NA を阻害することによりウイルスの増殖を阻害することが示された。

Ro64-0796 を経口投与したとき，マウス感染モデルでは，インフルエンザ感染による肺炎での死亡及び肺機能低下を防いだ。ヒトと同様の症状を示すフェレット感染モデルでは，インフルエンザ感染による体温上昇及び鼻腔内の炎症細胞の増加を阻害した。また，ニワトリ感染モデルにおいて，用量依存的な治療及び予防効果を示した。従って，本薬は経口投与後，速やかに吸収され Ro64-0802 に変換され，ウイルス増殖の場である呼吸気道内にウイルス増殖を阻害するのに十分な濃度の Ro64-0802 が移行することが示唆された。マウス感染モデルでは，ウイルス感染 60 時間後から本薬の治療を開始しても，治療効果が認められた。ヒトではウイルス感染 2～3 日後よりインフルエンザ症状が発現するが，本薬のように感染後長時間を経てからでも治療効果が認められる薬剤は，ヒトでの治療効果が期待出来ると推察された。

Ro64-0796 及び活性体である Ro64-0802 の一般薬理学的検討をマウス，ラット，モルモット，イヌ，ヒツジなどの動物及びヒト血液サンプルを使用して，一般症状及び行動，中枢神経系，自律神経系及び平滑筋，呼吸･循環器系，消化器系，水及び電解質代謝及び免疫系などに及ぼす影響について検討した。このうち，イヌ静脈内漸増投与で Ro64-0802 の 100 mg/kg 投与後に心拍数及び pCO_2 の増加及び心電図の変動が観察された。この心電図の変動に対する影響を精査する目的で，摘出ヒツジ心筋プルキンエ線維の活動電位について検討したが，Ro64-0802 は 100μM まで活動電位に影響を与えなかった。その他の項目でも，本薬を臨床的に使用した場合に治療の障害となる様な反応が発現する可能性を示す所見は得られなかった。

1-2-1-4. 動物における薬物動態及び薬物代謝

Ro64-0796 は経口吸収後速やかに活性体 Ro64-0802 に加水分解され，投与後 0.5(マウス) ～1.5 時間(ラット)で Ro64-0802 は最高血漿中濃度(Cmax)を示した。その後血漿中 Ro64-0802 濃度は比較的緩やかに低下し，マーモセットでは有効薬効濃度である 100ng/mL を 12 時間維持した。マウス，フェレット，ニワトリ及びマーモセットでの Ro64-0796 経口投与時の Ro64-0802 の BA はそれぞれ 27，44，6.4 及び 51%であった。マーモセットに Ro64-0796 を 50，200 及び 1000mg/kg/日を 9 ヵ月間反復経口投与した際，血漿中 Ro64-0802 の AUC は用量にほぼ比例した増加を示し，蓄積性は認められなかった。

ラットに[^{14}C]Ro64-0796 20mg/kg を単回経口投与した際，放射能は投与後速やかに全身に分布し，多くの組織で投与後 1 時間前後に最高値を示した。消化管を除くと肝臓，腎臓で高濃度を示し，肺では血漿の約 2 倍の濃度であった。一方，中枢神経系への移行は少なく，胎児への移行は母体の血漿の 1/2 であった。ラットに Ro64-0796 30mg/kg を単回経口投与した時の血漿中及び気管支肺胞液(BALF)中の Ro64-0802 濃度は投与 2 時間後では両者で同程度であったが，血漿中に比べて消失が遅く，BALF 中には十分な薬効濃度(>1000ng/mL)の Ro64-0802 が 6 時間以上維持された。*In vitro* におけるヒト，ラット，ウサギ及びイヌ血漿蛋白との結合率は，Ro64-0796 で 50%以下の中程度の結合であったが，Ro64-0802 ではいずれの種においても 3%以下の弱いものであった。

Ro64-0796のRo64-0802への加水分解は，ラットにおいては主として血漿で認められ，ヒトでは主として肝臓で認められた。マーモセットにRo64-0796を単回経口投与後の尿中代謝物は，主としてRo64-0802であった。ヒト肝ミクロソームでの各種P450分子種の基質代謝に対するRo64-0796及びRo64-0802の影響を検討したが，阻害率は最大でも20%以内であり，Ro64-0796及びRo64-0802のヒトP450分子種に対する相互作用はほとんどないことが示唆された。

ラットに[^{14}C]Ro64-0796 (10mg/kg)を単回経口投与後96時間までに大部分の放射能が排泄(尿中：38.6%，糞中：50.0%)され，マーモセットでは[^{14}C]Ro64-0796 (20mg/kg)を単回経口投与後72時間までに投与量の45%が尿中に，27%が糞中に排泄された。授乳ラットに[^{14}C]Ro64-0796 (10mg/kg)を単回経口投与後，吸収されたRo64-0796は速やかに乳汁中に移行し，乳汁中及び血漿中放射能濃度はいずれも投与後1時間で最高濃度に達した後，ほぼ同様な推移で消失した。

前述のマウス及びフェレットでのインフルエンザ感染実験モデルにおいて，本薬が治療効果を示した際の活性体Ro64-0802の血漿AUCはそれぞれ3.9及び3.5μg·h/mLであった。本薬の抗ウイルス活性は，インフルエンザウイルスの亜型により大きく異なるが，感染動物モデルにおいて治療効果が認められたRo64-0802の血漿中AUC(3.5μg·h/mL)及び本薬にもっとも感受性の低いB型インフルエンザに対する推定有効濃度（*in vitro* 試験成績）のトラフ値（100ng/mL）がヒトで得られれば，いずれのタイプのインフルエンザが流行しても本剤による治療効果が期待できると考えられた。

1-3. 海外臨床試験

＜治療試験＞

海外におけるRo64-0796の臨床試験は，海外ロシュ社と米国ギリヤード·サイエンス社との共同で，米国，カナダ，欧州諸国，オーストラリア，南アフリカ，香港など，およそ20ヵ国で実施した。本剤の臨床開発における各種臨床試験とその目的及び手段は ①第Ⅰ相臨床試験：Ro64-0796及びその活性体Ro64-0802の安全性及び薬物動態を検討し，*in vitro* でのNA阻害，抗ウイルス活性及び感染動物モデルでの治療効果を発揮するRo64-0802血中濃度がヒトでも得られるかを検討すること。②第Ⅱ相臨床試験：実験的なヒトインフルエンザ感染試験において本剤のインフルエンザ患者に対する抗ウイルス効果及び治療効果と安全性を明らかにすること。③第Ⅲ相臨床試験：自然のインフルエンザ感染に対する本剤の臨床使用における有効性と安全性を明らかにすることである。更に，インフルエンザは年齢·性別·患者の背景などに関わらず全ての人が対象となる疾患であることから，抗インフルエンザ薬は，その有効性と共に幅広い安全性が求められる。このため，高齢者，腎機能障害患者，小児での薬物動態と安全性試験，また解熱剤，腎排泄型薬剤との相互作用などの各種臨床薬理試験により，本剤の安全性を確認し，ハイリスク集団においても本剤のインフルエンザに対する有効性·安全性を明らかにすることが重要である。また，本剤の使用により臨床的に問題となるような薬剤耐性ウイルスの出現に関する基礎·臨床試験の検討を行なうことは，本剤の臨床使用上またインフルエンザ対策上重要である。

＜予防試験＞

治療試験同様，米国，カナダ，欧州諸国，オーストラリアなど，およそ10ヵ国で実施した。

1-3-1. 第Ⅰ相臨床試験(単回・反復投与試験及び各種臨床薬理試験)

全体的に健康成人とインフルエンザウイルスに感染した患者のRo64-0796及びRo64-0802における薬物動態の間に差はみられなかった。

<単回投与試験> 19 年 月より，英国において本剤の単回投与試験(健康成人男子48例，20，50，100，200，500，1000mgまたはプラセボを単回投与する二重盲検試験)を実施した。Ro64-0796及びRo64-0802の血漿中濃度は用量比例的に増加し，Ro64-0796の吸収及びRo64-0802への変換は速やかであった。消失半減期は，用量にかかわりなくRo64-0802では，6.7～8.2時間であった。このことから本剤は治療に用いる場合1日2回の投与が望ましいと考えられた。投与後48時間までにRo64-0796及びRo64-0802あせて投与量の65～80%が尿中に排泄された。安全性においては，1000mg投与群で6例中2例に嘔気(1例)，嘔吐(1例)を認めたが，その他特に問題となる有害事象は認められず，Ro64-0796は1000mgまで忍容性があると判断された。

<反復投与試験> 19 年 月より，英国において本剤の反復投与試験(健康成人男子32例，50，100，200，500mgまたはプラセボを1日2回(b.i.d.)，7日間の反復投与試験)を実施した。その結果，Ro64-0796及びRo64-0802のAUC及びC_{max}は投与量に比例しており，3日以内に定常状態に達し，反復投与により予期できない薬剤の蓄積はみられなかった。安全性においては500mg投与群で6例中4例に嘔気が発現し，そのうち2例は嘔吐を伴ったが，その他問題となる有害事象は認められず，本剤の500mg b.i.d.までの忍容性があると判断された。

<高齢者での反復投与試験> 高齢者はインフルエンザ感染による肺炎など合併症を起しやすく死亡率も高いハイリスク集団で，有効な治療薬が強く求められる。そこで65歳以上の健康な高齢者を対象に，英国において本剤100，150及び200mg b.i.d.，7日間の反復投与試験を実施した。高齢者においても健康成人同様，Ro64-0796及びRo64-0802のAUC及びC_{max}は投与量に比例して増加したが，Ro64-0802のC_{max}，AUCは健康成人のおよそ1.3倍の高値を示した。安全性においては200mg投与群で6例中3例において嘔気，嘔吐が報告されたが，他の投与群では有害事象の頻度は低く，200mg b.i.d.までの忍容性があると判断された。

<腎機能障害患者でのPK試験> 本剤は投与量の70～80%が尿中排泄される。そこで腎機能障害者における本剤の反復投与(100mg b.i.d.，6日間)での薬物動態を調べた。Ro64-0802のC_{max}，AUCは，健康成人に比べ軽度腎機能障害者(Clcr:60～90 mL/min)で2.1，2.4倍，中等度障害者(Clcr：30～60 mL/min)で3.1，3.6倍，高度障害者(Clcr:<30 mL/min)では8.2，10.3倍高かった。安全性においては健康成人の試験でみられた有害事象と同様に，嘔気の報告が多かったが，他の有害事象の発現も，健康成人との間に違いはなかった。これより，腎機能障害者でも本剤100mg，b.i.d.，6日間反復投与での忍容性は良好であると判断されたが，高度腎機能障害者では，正常腎機能者と同程度のRo64-0802血中AUCを維持するために，用量の減量が必要と考えられた。

<他剤併用試験> インフルエンザ症状のうち，発熱はかなり辛い初期症状の1つで，時として解熱剤の併用が必要となる。そこで，本剤とパラセタモール(アセトアミノフェン)の併用試験を行った。本剤とパラセタモールの併用は，相互の薬物動態に影響を与えなかった。更に，腎排泄型薬剤シメチジン(カチオン性腎尿細管分泌過程)及びプロベネシド(アニオン型輸送過程)との併用試験を行った。シメチジンとの併用は本剤の薬物動態にも影響を与えなかったが，プロベネシドとの併用により，Ro64-0802の腎クリアランスは本剤の単独投与に比べ約50%低下し，C_{max}及びAUCはそれぞれ1.9倍及び2.5倍増加した。また，呼吸器細菌感染やインフルエンザ様症状の治療に用いられるアモキシシリン(アニオン型輸送プロセス)との併用も相互の薬物動態に影響を与えなかった。以上の結果より，本剤はこれら薬剤と併用しても，臨床的に問題となる相互作用はないと推測された。

<小児でのPK試験>

＜臨床使用カプセル剤　　　　　　　　　　市販カプセル製剤の生物学的同等性＞海外第Ｉ相臨床試験及び第Ⅱ相臨床試験で用いられた初期臨床開発用製剤（10mg 及び 100mg カプセル），市販用製剤（75mg カプセル），　　　　　　　　　　　　　　　間の生物学的同等性，及び治験用製剤（75mg カプセル），市販用製剤(75mg カプセル)間の生物学的同等性の検討が行われた。この結果，国内外で用いられた本薬の各種製剤（10mg，75mg，100mg カプセル）ならびに市販用製剤（75mg カプセル）は各製剤間の対数変換された各薬物動態パラメータ比の 90%信頼区間は 85～125%以内であり，生物学的に同等であることが示された。

以上，海外の第Ｉ相臨床試験(単回･反復及び臨床薬理試験)成績より，ヒトに対する薬物動態が明らかとなり，安全性においても問題ないと考えられた。

1-3-2. 第Ⅱ相臨床試験

第Ｉ相臨床試験成績及び臨床薬理試験成績を基に，フェレットでのＢ型インフルエンザ感染で効果の見られた活性体 Ro64-0802 の血漿中 AUC が 3.5μg･h/mL 及びトラフ値で 100ng/mL 以上の有効濃度が得られる用量を目安に，通常のインフルエンザ罹病期間を考慮し，また予防試験ではウイルス感染のきわめて初期より抗ウイルス活性を発揮できることを考慮し用量・治療期間を設定した。実験的ヒトＡ及びＢ型インフルエンザ感染試験が行われ，本剤のウイルス増殖抑制効果，インフルエンザ治療効果(ウイルス接種後 24 時間以内に本剤投与)及びインフルエンザ感染発症抑制効果(ウイルス接種前 24 時間以前に本剤投与)が確認され，これら試験において本剤の忍容性も確認された。

＜実験的ヒトインフルエンザ感染治療試験＞

実験的ヒトインフルエンザＡ型(A/Texsas/36/91)感染に対する治療試験(プロトコール No. GS97-801：80 例，プラセボ対照試験，本剤 20，100，200mg b. i. d. 及び 200mg o. d.，5 日間投与)を行った。本剤投与群(全ての用量群を併合)はプラセボ投与群に比較して，主要評価項目であるウイルス放出量を有意に抑制した(p=0.020)。更に，本剤治療群においてウイルス感染により亢進される IL-6，TNF-α，IFN-γなど炎症性サイトカインの産生が抑制された。プラセボ投与群も含めて 80 例中 29 例(36.3%)40 件の有害事象が報告された。嘔気が最も多く，13 件(16.3%)に認められた。この胃腸障害は 200mg の高用量投与群で多くみられたが，本剤を食後投与することにより減少した。

実験的ヒトインフルエンザＢ型(B/Yamagata/16/88)感染に対する治療試験(プロトコール No. NP15827：117 例，プラセボ対照試験，本剤 75mg b. i. d. 投与，5 日間投与)を行った。主要評価項目であるウイルス放出量は，本剤治療群でプラセボ投与群に比較して有意(P=0.0023)に低下した。報告された有害事象は 117 例中 40 例(34.2%)60 件で，プラセボ投与群 14/39 例(35.9%)21 件，Ro64-0796 投与群 26/78 例(33.3%)39 件であった。発現頻度の高かった有害事象は嘔気で，プラセボ投与群で 3 件(7.7%)，Ro64-0796 投与群で 8 件(10.3%)に認められた。

＜実験的ヒトインフルエンザ感染における予防試験＞

これら第Ⅱ相臨床試験成績より，本剤の実験的ヒトA型及びB型インフルエンザウイルス感染症に対する治療　　　　効果と忍容性が認められ，自然に発生するインフルエンザウイルス感染症に対する臨床的有用性が期待された。

1-3-3. 第Ⅲ相臨床試験

第Ⅱ相臨床試験成績を踏まえ，臨床の場において最も問題となるインフルエンザの7つの症状（頭痛，筋肉・関節痛，倦怠感・疲労感，悪寒・発汗，咳，喉の痛み，鼻症状）を指標として，罹病期間，インフルエンザ症状の総症状スコアの短縮，軽減を評価するため75mg及び150mg，b.i.d,の2用量で用量反応性の検討も加えインフルエンザ治療の第Ⅲ相臨床試験が行なわれた。更に高齢者，ハイリスク集団のインフルエンザ患者に対しても通常健康成人と同様の効果，安全性を検討した。一方，インフルエンザ予防の第Ⅲ相臨床試験においては，

<治療試験：自然に感染したインフルエンザ感染患者に対する臨床試験>

2つの大規模臨床試験（プロトコールNo.WV15670及びWV15671）では，臨床推奨用量の検討も行われ，本適応症に臨床使用する際の有効性及び安全性が示された。更に，高齢者，心･呼吸器慢性疾患を有するハイリスク集団患者での有効性，安全性が確認された。

19　～19　年冬期に欧州を中心に実施された大規模な臨床試験（プロトコールNo.WV15670）では，合計719例（プラセボ投与群235例，本剤75mg b.i.d.投与群242例，150mg b.i.d.投与群242例）に5日間の治療が実施された。主要評価項目であるインフルエンザの罹病期間は，75mg投与群（87.4時間；p=0.0168）及び150mg投与群（81.8時間；p=0.0074）がプラセボ投与群（116.5時間）に比較して25～30%短縮し，両投与群とも有意な罹病期間の短縮効果が認められた。719例中232例（32.3%）401件の有害事象が報告された。多く報告された有害事象は嘔気，嘔吐，下痢などの胃腸障害であった。嘔気はプラセボ投与群で10件（4.3%），75mg投与群で30件（12.0%），150mg投与群で29件（12.4%）報告された。治験薬との因果関係が否定できなかった副作用の発現頻度は，プラセボ投与群の17.4%に比較して，75mg投与群は25.6%，150mg投与群は26.4%であった。医学的に問題となる有害事象の報告はなく，安全性は良好であると考えられた。

上記試験と同時期に米国で実施された大規模試験（プロトコールNo.WV15671）には，627例（プラセボ投与群208例，本剤75mg b.i.d.投与群210例，150mg群 b.i.d.投群209例）に5日間の治療が実施された。主要評価項目であるインフルエンザ罹病期間は，75mg投与群で71.5時間（31%の短縮；p＜0.0001），150mg投与群で69.9時間（32%の短縮；p=0.0061）とプラセボ投与群（103.3時間）に比較して短縮し，本剤投与群で有意な短縮効果が認められた。615例中294例（47.8%）540件の有害事象が報告されたが，因果関係が「あり」と判断された副作用は，プラセボ投与群が2.0%，75mg投与群が4.9%，150mg投与群が6.3%であった。発現頻度が多かった有害事象は，嘔気，嘔吐，下痢などの胃腸障害で，嘔気，嘔吐はそれぞれプラセボ投与群で15件（7.4%），及び7件（3.4%），75mg投与群で35件（17.0%）及び27件（13.1%），150mg投与群で39

件(19.0%)及び31件(15.1%)と高用量群で頻度が高かった。その他医学的に問題となる有害事象の報告はなく，両投薬群とも安全性は良好であると考えられた。

以上の2つの治療試験成績より，本剤はインフルエンザウイルス感染症治療に有用な薬剤であることが確認された。更に，これら試験において肺炎，気管支炎などインフルエンザ感染に伴う合併症の発現に関し，これら二次疾患に対し化学療法剤投与などの処置が必要とされた発現例が，プラセボ投与群で多かった。なお，本剤は75及び150mg，1日2回投与いずれの用量においてもその効果,安全性は同様であった。

本試験より本剤のインフルエンザ感染に対する治療効果が確認され，その臨床使用においては75mg 1日2回投与が適当であると判断された。

＜治療試験：高齢者，ハイリスク患者におけるインフルエンザ治療試験＞

19　-19　年の冬期に北半球において，高齢者に対する治療試験(プロトコールNo.WV15819)が行われ，現在までに172例(プラセボ投与群94例，本剤75mg b.i.d.投与群78例)の高齢者(ワクチン接種者，COAD併存者を含む)が参加した。最終成績はまだ得られていないが，インフルエンザ罹病期間は，プラセボ投与群で213.2時間，本剤投与群で161.8時間と23%短縮し，総症状スコアのAUCは本剤投与群で30%低下した。ウイルス放出患者の割合は治療3日目の本剤投与群で低値を示し，平熱に回復するまでの時間も本剤投与群で短縮した。有害事象は前述の成人に対する試験と同様に嘔気，嘔吐が多くみられ，それぞれプラセボ投与群で7件(7.7%)，2件(2.2%)，本剤投与群で11件(14.3%)，6件(7.8%)で，これらの発現率は成人に対する試験に比べ少なかった。本試験より高齢者(ワクチン接種者，COAD併存者を含む)に対しても，本剤の用量調整は必要なく，75mg 1日2回の治療で成人と同様の効果，安全性を示すものと考えられた。

19　-19　年の冬期に北半球において，13歳以上の心疾患あるいは呼吸器疾患を有するインフルエンザ患者に対する治療試験(プロトコールNo.WV15812)が行われた。304例(プラセボ投与群151例，本剤75mg b.i.d.投与群153例)が参加し，インフルエンザ罹病期間において，プラセボ投与群と本剤投与群で差は認められなかった。その理由として本試験の母集団は心疾患あるいは呼吸器疾患を有するために，インフルエンザ症状と同様の症状（咳，喉の痛み，疲労感など）が継続したためと推察される。しかし，本剤投与群で症状スコアのAUCは約20%低下し，症状の重症度が低下した。ウイルス放出患者の割合は治療2日目のプラセボ投与群(41%)に比べ本剤投与群(19%)は低値を示し，平熱に回復するまでの時間も本剤投与群で短縮した。有害事象では本剤投与群において嘔気(プラセボ投与群10件(6.7%)，本剤投与群13件(8.6%))，気管支炎(プラセボ投与群9件(6.0%)，本剤投与群11件(7.3%))が多く報告された。しかし嘔気,嘔吐の発現率は成人に対する試験に比べ少なかった。

本試験より，心疾患あるいは呼吸器疾患を有するハイリスク集団のインフルエンザウイルス感染症患者に対し，本剤は成人と同様の罹病期間の短縮を示す結果は得られていないが，症状の重篤化の抑制，発熱期間の短縮，ウイルス放出の抑制が認められ，有効な薬剤であることが示唆された。安全性に関しても，成人と同様全般的に良好であり用量調節の必要性はないと判断された。

1-4. ウイルス学的検討

抗ウイルス剤の開発に際して，感染性のある薬剤耐性ウイルスの出現とその頻度は医学･薬学･ウイルス学的に重要かつ興味ある点で，実験室レベル及び上記，海外臨床試験での耐性ウイルスの調査･研究を行った。

In vitro のウイルス学的研究より Ro64-0802 耐性株の変異はサブタイプ特異的であり，A 型インフルエンザの N1 亜型では H274Y 変異株が，また N2 亜型では R292K 変異株が認められた。一方，B 型インフルエンザの NA では Ro64-0802 耐性の NA 変異は発生しなかった。これら NA 変異株は，Ro64-0802 に対する感受性が大幅に低下するが，NA 自体の基質親和性も大きく低下し，耐性ウイルスは培養細胞系・ふ化鶏卵でその増殖が悪く，マウス，フェレットなどの動物に対する感染力も原株に比べ大きく低下していた。一方，シアル酸との結合に対する HA の親和性が低下する変異は，複製・増殖した子孫ウイルスが NA 活性に依存することなく遊離することが可能になるが，この HA 変異は，未感染細胞の受容体に対するウイルスの結合能も低下し，その感染能力が低下すると考えられる。

海外で実施された臨床試験で得られたウイルス検体の表現型及び遺伝子型変異を調べ，その出現頻度と得られた耐性ウイルスについて以下の結論が得られた。

- 第Ⅲ相臨床試験(WV15670 及び WV15671)で検出された Ro64-0802 耐性ウイルスの出現率は，0.96%(4/418 例)であった。これら耐性ウイルスの出現率は 75mg と 150mg 投与群で差は認められなかった。これら耐性ウイルスの出現により，インフルエンザ症状が悪化することはなかった。更に，本剤を服用した被験者より得られたウイルスの NA 遺伝子型の解析により，表現型で捕らえることが出来なかった耐性ウイルスが検出された。これを考慮すると Ro64-0802 耐性ウイルスの総出現率は 1.2%(5/418 例)であると推測された。
- 成人及び高齢者に対する第Ⅲ相臨床試験から，投与前後の検体の両方で酵素活性が測定されている患者における表現型変異による出現率は，1.2% (4/330 例) であった。
- 第Ⅲ相臨床試験で検出された耐性ウイルスは，A 型インフルエンザの N2 亜型で生じた変異で，R292K(292 番目のアルギニンがリジンに変換)と E119V(119 番目のグルタミン酸がバリンに変換)であり，A 型インフルエンザの N1 亜型，HA 変異及び B 型インフルエンザでの本剤に対する耐性ウイルスの出現は確認されていない。
- 小児の臨床試験で検出された Ro64-0802 耐性ウイルスの出現頻度は 6.1～8.6%(表現型+遺伝子型変異による出現率：15/247，及び投与前後の検体の両方で酵素活性が測定されている患者における表現型変異による出現率：9/105)で，成人の場合に比べ出現頻度は高かった。
- 小児で検出された耐性ウイルスは，成人と同様 A 型インフルエンザの N2 亜型の R292K がおもで，低頻度で E119V と N1 亜型の H274Y (274 番目のヒスチジンがチロシンに変換)であった。A 型インフルエンザの HA 変異及び B 型インフルエンザでの本剤に対する耐性ウイルスの出現は確認されていない。
- これら成人，小児で検出された本剤に対する耐性ウイルスは，いずれもマウス，フェレットでの感染力が元株に比べ大きく低下しており，NA 酵素活性自体も低下していた。また，これらの変異部位は NA 蛋白の抗原部位とは異なる部位であった。

以上，本剤投与により，薬剤投与前後 matched pair のウイルス検体で検出された耐性ウイルスの出現

頻度は成人，小児を合わせおよそ3%（13/435例）と低く，耐性ウイルスの分離された患者においてインフルエンザ症状の悪化，罹病期間の延長などは見られず，分離された耐性ウイルスはマウス，フェレットに対する感染性が原株に比較して大きく低下していることから，本剤治療中にこれら薬剤耐性株が出現しても，感染部位での増殖，他人への伝播は極めて起こり難いと考えられた。

海外では非臨床・臨床試験成績より本剤は，年齢・性別・人種によらずA型及びB型インフルエンザ感染に対し，感染初期より本剤を服用することにより，安定した効果が期待でき，かつ安全性に問題のない抗インフルエンザ薬であることが確認された。

1-5. 国内における開発の経緯

海外での非臨床試験及び臨床試験の結果から，本剤がインフルエンザウイルス感染症の新規治療薬及び予防薬となることを期待し，19　年　月より本邦においてもその開発に着手した。

本邦における開発の基本は，本邦のインフルエンザ医療の現状と新型インフルエンザの出現の可能性を考慮し，国内早期導入が必要かつ重要であると考え，可能な限り海外データを有効に活用し，開発期間の短縮を計ることとした。ブリッジング試験を通して，本剤の薬物動態は民族的要因の影響を受けず，日本人においても外国人と同様な効果・安全性を示すことで，海外データの外挿が可能であると判断した。

本邦では，第I相臨床試験（単回投与）及び海外で行われた日本人と白人のPK直接比較試験成績から，日本人と白人に人種間差はないと判断され，本剤の日本人に対する臨床用量は，A型及びB型インフルエンザウイルスに対し，効果が発揮できる用量で安全性の確保できる最高用量が望ましいとの論拠から，日本人での用量設定試験は割愛し，海外データをこれに代わり使用すべく 19　　年　月及び　　年　月に医薬品機構相談を行った。

以下に，本剤の本邦での開発に関し日本人での用量設定試験を割愛し，海外の臨床推奨用量（75mg）1用量にて，高齢者も含めた第Ⅲ相臨床試験をブリッジング試験として設定・実施した論拠を示す。

＜本剤の臨床推奨用量は海外で以下の様にして決定された＞

➢ 非臨床試験成績

- 本剤の活性体Ro64-0802はヒトA型及びB型インフルエンザウイルスのNAの特異的かつ強力な阻害剤（IC_{50}： 0.1～2.6nM）で，NAの活性を阻害することによりインフルエンザウイルスの増殖を0.6～155nM(IC_{50})の低濃度で阻害した。
- 本剤は経口投与で，マウス及びフェレットのA型及びB型インフルエンザ感染モデルで治療効果を示し，この時血漿中Ro64-0802のAUCは3.9及び3.5μg･h/mLであった。
- ラットに本剤を経口投与した時，気管支肺胞液中に抗ウイルス活性を示すRo64-0802濃度がみられ，6時間後でも血漿中濃度の20倍以上高い濃度(＞1000 ng/mL)が維持された。

  これら基礎試験成績より，ヒトでの血漿中Ro64-0802濃度としてトラフ値で100ng/mL以上，AUCとして約4μg･h/mLを目安として用量検討を行った。

➢ 薬物動態試験

- ヒトにおいて本剤経口投与時，Ro64-0796及びRo64-0802の血漿中濃度は，用量に比例して増加した。
- 高齢者において本剤 150mg b.i.d.の反復経口投与は良好な忍容性を示し，この時血漿中 Ro64-0802のAUCは8.4μg･h/mLで動物感染モデルで治療効果を示したAUCの2倍であった。
- 本剤の代謝(活性化)は，ヒトでは主として肝臓のエステラーゼにより起こるが，本酵素は人種的･遺伝的要因の影響を受け難い。本剤は，投与量の70%以上がRo64-0802として腎排泄される。また，本剤はヒトP450分子種との相互作用がないことから，他薬剤投与により本剤の効果，安全性が影響を受け難いことが推察された。
- 高齢者，腎機能障害者でのPK試験成績及びパラセタモール，腎排泄型薬剤との併用試験など種々の

薬物動態試験成績より，本剤の薬物動態は年齢・性別・体重などの要因の影響を受け難く，血漿中Ro64-0802濃度は個々の患者の腎機能により決まる。従って，高度腎機能障害患者以外は，用量の調整が必要ないと考えられた。

➢ 臨床試験成績

- A型及びB型ウイルスに対する実験的ヒトインフルエンザ感染治療試験において，本剤20,100,200mgでウイルス力価の抑制が見られたが，インフルエンザ症状の軽減は100,200mgでは認められたが，20mgでは認められなかった。一方，200mgの高用量で嘔気,嘔吐の発現が増加したが，食後投与によりこれら有害事象の発現は軽減した。
- 第Ⅲ相臨床試験(治療)において，本剤75 mg b.i.d.,150 mg b.i.d.投与によりプラセボ投与群に比べ有意に罹病期間の短縮，症状の軽減，ウイルス放出期間の短縮が認められた。一方，第Ⅲ相臨床試験(予防)において，

  いずれの試験においても，これら2用量･用法間で有効性,安全性に差は認められなかった。
- これら臨床試験を通して，多くの有害事象が報告されたが，臨床上安全性に問題はないと判断された。最も高頻度に見られた有害事象は，嘔気，嘔吐など胃腸障害(軽度かつ一過性)であった。

以上の成績より，本剤が高齢者も含め広い成人層で有効で安全に使用できる用量･用法として「治療では75mg，1日2回，5日間」また「予防では mg, 」を臨床推奨用量と決めた。

<1用量にて本邦第Ⅲ相臨床試験を実施した理由>

➢ インフルエンザの原因と病状

インフルエンザの原因ウイルス及びインフルエンザの病状は人種によらず同じである。

- インフルエンザウイルス(現在A型H3N2：香港型，A型H1N1：ソ連型，B型インフルエンザウイルスが流行している)は，年々その抗原性を少しずつ変え(antigenic drift)繰り返し流行するが，各年に流行するインフルエンザウイルスの種類・亜型は基本的に世界中同じである。
- 抗原性の変化はHA及びNAの表面蛋白を構成するアミノ酸の変異による。本剤のターゲットであるNA酵素の活性中心は抗原変異部位とは異なり，抗原性変異の影響をほとんど受けず，現在知られている9種A型インフルエンザウイルスのNA亜型間及びB型インフルエンザウイルスのNAで高度に保持されている。
- インフルエンザの臨床症状は，ウイルスの抗原性の変化によって大きく変わらない（図イ-1)。その重症度,発現症状の違いは主に罹患者側の要因に負うところが大きく，年齢層,保有抗体の種類と力価，基礎疾患の種類と重症度などにより異なる。
- どのタイプのインフルエンザウイルスがどの地域で，どの程度流行するかの予測は極めて困難である。

➢ 日本人/白人での薬物動態

- 本剤を単回投与時の薬物動態は，日本人において白人と同様であった。日本人/白人で本剤を反復投与する直接薬物動態比較試験において，75mg b.i.d.投与時のRo64-0802のAUC及びCminは，それぞれ2.3μg･h/mL，135ng/mLで，本剤の薬物動態，PKパラメータに人種差はなかった。これら試験において，日本人成人は本剤に対し白人と同様に良好な忍容性を示した。
- ヒト実験的インフルエンザ感染試験成績より，75mg未満の低用量では日本人においても十分な抗インフルエンザ活性を示唆するRo64-0802血漿中AUC及びトラフ値が得られない。一方，150mgに増量しても75mgに比べより有意に優れた抗インフルエンザ活性を示すとは考えられず，200mg以上の高用量では嘔気･嘔吐などの障害が増加すると推察された。
- 本試験は海外試験とのブリッジング試験であり，基本的に海外と同じ用量･用法を用いて本剤の日本

人での効果,安全性を検証する試験である。なお，海外では高齢者の薬物動態パラメータが成人より30%高い値を示していることを考慮し，本邦においても，高齢者を含め広い成人層で有効かつ安全な用量である海外推奨用量を用いることが適切であると判断した。

以上の海外成績，国内成績を基に医薬品機構において治験相談を行い，日本では用量探索試験を行わず，海外臨床推奨の1用量を用い，海外試験と同様のプロトコールでプラセボを対照とした二重盲験試験において，本剤の効果・安全性を確認すべく第Ⅲ相臨床試験をブリッジング試験として実施する事とした。

1-5-1. 国内第Ⅰ相臨床試験(単回投与試験)

20～35歳の健康成人男子(28例)を対象に，プラセボ及び本剤37.5，75，150及び300mgの用量で単回投与した(プロトコール No. JP15734)。本剤は経口投与後速やかに吸収され，血漿中 Ro64-0796 及び Ro64-0802 の AUC 及び Cmax は投与量に比例して増加した。Ro64-0802 の半減期は 5～7 時間で，主に Ro64-0802 として投与量の70～80%が尿中に排泄された。安全性においては75mg投与群で眠気，倦怠感が各1例報告されたが，程度は軽度であり試験薬剤との因果関係は「ほとんどなし」と判断された。その他，生理学的検査，臨床検査，心電図においても特記すべき変化を認めなかった。

本試験で得られた日本人の薬物動態と海外単回投与試験で得られた外国人(白人)の薬物動態を比較した。Ro64-0796及びRo64-0802の血漿中濃度は日本人と白人で同様の推移を示し，AUC及びCmaxも用量比例的に増加した。投与量あたりのAUC及びCmaxに関しても，Ro64-0796，Ro64-0802共に最小自乗平均の90%信頼区間は日本人と白人でほぼ同様であった。以上より単回投与における薬物動態に関して，日本人と白人では同様であり，本剤の薬物動態は，人種的要因を受け難いと推察された。

1-5-2. 第Ⅰ相臨床試験(日本人における反復投与試験)：海外試験成績

反復投与での日本人と白人(米国人)の薬物動態及び安全性を直接比較することによって,本剤の薬物動態に関し人種的要因が影響しないことを確認するため，19 年 月に米国において健康成人男子(日本人14例，白人14例)を対象に，75mgと150mg(b.i.d.)，7日間投与における二重盲検試験(プロトコール No. JP15735)が実施された。その結果，体重，身長などの背景因子は，日本人と白人で有意に異なっていたが，その薬物動態は，日本人と白人の間に差はなかった。安全性に関し報告された有害事象はすでに知られている事象で，本試験でも先行海外試験と同様に胃腸障害の報告が多く，その発現頻度も日本人と白人で差がなかった。本試験成績より本剤の薬物動態は，人種的要因の影響を受け難いことが確認された。

1-5-3. 国内第Ⅲ相臨床試験

19 ～19 年及び 19 ～ 年の冬期に海外臨床推奨用量を用いて，治療試験及び予防試験を実施した。

治療に対する第Ⅲ相臨床試験 (プロトコール No. JV15823) では，A型又はB型インフルエンザウイルス感染症患者を対象として二重盲検法により，プラセボ，Ro64-0796 1回75mgを1日2回，5日間投与し，有効性及び安全性を検討した。本試験ではプラセボ投与群160例，75mg b.i.d.投与群153例が治験薬による治療を受けた。その結果，主要評価項目であるインフルエンザの罹病期間は，75mg投与群で70.0時間とプラセボ投与群(93.3時間)に比較してほぼ1日短縮する効果を示した(p=0.0216)。また，副次的評価項目であるインフルエンザ症状スコア(重症度)，ウイルス力価の変化量及び体温の回復期間の全てにおいて，75mg投与群はプラセボ投与群に比較して有意に優れた効果を示した。有害事象発現率は本剤とプラセボ投与群間に差を認めず，いずれの投与群でも多く報告された事象は胃腸障害であった。75mg投与群では嘔気,嘔吐のやや高かったものの，ほとんど軽度な事象であった。その他の有害事象や臨床検査値

で特に問題となる所見は認められず，発現頻度はプラセボと同程度であり，安全性も良好であることが確認された。

一方，インフルエンザウイルス感染症の発症抑制を検討する予防試験 に
おいては,

1-6. 海外試験成績とのブリッジング

国内の第Ⅲ相臨床試験成績をこれらに相応する海外の試験成績と比較した。
国内及び海外試験が実施されたシーズンに流行したインフルエンザウイルスは主にA香港型(H3N2)で，その他Aソ連型(H1N1)，B型であり世界的に大きな亜型の違いはなかった。本剤の薬物動態に関しては，日本人と白人の薬物動態パラメータ(特に，本剤の薬理作用に寄与する活性体Ro64-0802のAUC)及び尿中排泄，蓄積性において同様であり，本剤の薬物動態は民族的要因の影響を受け難い。

治療試験の
において海外試験成績と同様であることが検証された。また予防試験において
これら国内の第Ⅲ相臨床試験における安全性に
関しても，海外と同様の成績が確認された。

以上，本剤の国内臨床試験成績は効果・安全性において海外と同様な結果である事から，海外の治療及び予防試験に関する試験成績（第Ⅰ相臨床試験，第Ⅱ相臨床試験，第Ⅲ相臨床試験）を外挿し，それらを含めて本邦における臨床データパッケージとする事は妥当であると判断した。

1-7. 本剤の臨床的意義と位置づけ

インフルエンザはその症状が発現した時点においては，感染患者でのウイルス増殖はピークレベル近くに達しており，呼吸気道上皮細胞の障害も大きく，この時点から速やかに治療することが望ましい。特に，インフルエンザ感染により合併症を起こしやすい高齢者などハイリスク集団では，ウイルス感染・増殖過程の出来るだけ早い時期よりこれを抑制することが理想的な対策である。ワクチンはインフルエンザの感染予防，症状の軽減化を目指した効果的な対策の基本であり，日本をはじめ欧米先進諸国では，高齢者などハイリスク集団及び医療従事者へのワクチン接種を勧めている。

本剤の臨床的位置づけとしては，ワクチンに置き換わるものではなく，ワクチンの諸問題を補うべく安全で有効な化学療法剤と考える。

本剤の第一の臨床的意義はインフルエンザ感染，発症患者に対する治療である。インフルエンザ患者に本剤を発症後速やかに投与することにより，原因ウイルスの増殖が抑制され，患者よりウイルス放出も抑制される。その結果症状の軽減，特に発熱期間を半減し，全体の罹病期間を短縮することは，臨床的にも社会的にも大いに意義のあるものと考える。事実，本剤による治療により，患者のインフルエンザ症状を軽減することにより，対症療法薬剤の使用が減少し，抗生物質での治療を必要とする肺炎，気管支炎などの合併症発現率が低下した（トの項：外国人における有効性のまとめ)。即ち，インフルエンザ感染に対し，対症療法薬剤を使用してもその効果は一時的なもので，罹病期間全体を通しての症状軽減，ひいては

罹病期間の短縮に繋がらない。インフルエンザ感染による発熱などは，一つの生体防御反応であり，本剤による発熱期間の短縮は，本剤がその原因であるウイルス増殖を抑えることによりもたらされるもので，ウイルス感染により発現している症状だけを抑える対症療法とは根本的に異なるものである。本剤の罹病期間に対する効果を，カプランマイヤー曲線で現わした場合，本剤投与群はいずれの時点においてもアセトアミノフェンの対症療法が含まれたプラセボ投与群に比べ常に改善効果が認められた。

この様に，インフルエンザに感染し発症した場合，全ての年齢層の患者に対し，本剤を速やかに投与することは，インフルエンザの発熱や諸症状の軽減と罹病期間の短縮をもたらすことから，大いに臨床的意義のあるものである。特に，高齢者などハイリスク集団においては，症状の軽減や抗生物質の使用を要する合併症の発現率の低下をもたらすことから，その臨床的意義は高い。また，成人層においては，罹病期間の苦痛の軽減と早期社会生活への復帰により，生産性の低下，治安・交通・医療など公共分野での支障を減少させ，小児においては，ウイルス放出を早期に抑制することにより，インフルエンザの家庭内，地域での伝播，拡散の抑制に繋がることは医学的のみならず社会的見地から重要なものと判断する。

本剤の第二の意義は，ワクチンの有効率，生産量，供給･接種体制，抗原性変異を繰り返すウイルス側要因や被接種者の免疫応答能及び免疫獲得までの期間など現在のワクチン療法の種々問題を補完することである。毎年インフルエンザ流行期における超過死亡は，その殆どがインフルエンザ感染に起因した合併症の発現によるもので，米国の冬期インフルエンザ流行期の超過死亡は毎年 1～4 万人にものぼる。従って，高齢者などハイリスク集団に対しては，ワクチンによる予防が基本であるが，インフルエンザ感染，発症を減少させることが大切で，この結果インフルエンザによる超過死亡の減少に繋がるものと考える。

第三の本剤の意義は，新型インフルエンザウイルス出現によるパンデミックへの対応である。新型ウイルス出現時には，これに対する効果的ワクチンがなく，その製造には少なくとも6ヵ月はかかり，更にワクチン効果が発揮されるには，接種後の抗体価上昇まで2週間を要する。この間，速やかに新型ウイルスに罹患した患者の治療とこの蔓延を阻止するため有効な抗インフルエンザ剤の予防使用が必要になる。1957年に新型インフルエンザウイルスA/H2N2（アジア風邪）出現時のパンデミックでは，本邦では国民の約半数が罹患したといわれ，休校，欠勤が増大し，警察官，消防士，電話交換手，交通機関労働者，医療従事者などの大量罹患により，治安，通信・交通，医療など公共分野で支障が生じ，社会不安に結びかねない状況をもたらした。新型インフルエンザウイルス出現時には，効果的ワクチンの生産，供給までの間，どこまでその蔓延を食い止め，パンデミックを最小に抑えるかが，本剤を含め抗インフルエンザ剤の意義である。新型インフルエンザウイルス出現時に，どれだけ早期に効果的なワクチンの供給が可能に出来るか，また計画的な抗インフルエンザ剤の備蓄が大切な課題である。

以上，本邦における本剤の医療上の有用性はインフルエンザの治療のみならず予防においても極めて高いと考える。インフルエンザシーズンを前に，新たな猛威・流行への懸念に対して，有用な薬物療法の早期提供に貢献すべきであると判断した。しかし，予防効能については，現時点での評価は困難であるとの審査センターの見解を受け，下記内容で輸入承認申請を行うこととした。

申 請 品 目：タミフルカプセル75
効能・効果：A型又はB型インフルエンザウイルス感染症
用法・用量：通常，成人にはオセルタミビルとして1回75mgを1日2回，5日間経口投与する。

本剤の開発年譜表を表イ-2に示す。

<引用文献>

1) Smith W et al. A virus obtained from influenza patients. Lancet 1933 ; ii : 66-68

2) Francis TJr. A new type of virus from epidemic influenza. Science 1940 ; 92 : 405-407

3) Magill TP. A virus from cases of influenza-like upper respiratory infection. Proc Soc Exp Biol Med 1940 ; 45 : 162-167

4) Taylor RM. Study on survival of influenza virus between epidemics and antigenic variants of the virus. Am J Public Health 1949 ; 39 : 171-177

5) 加地 正郎 インフルエンザ流行の歴史と今後 (加地 正郎 著) コモンコールドからインフルエンザまで pp 137-194 大道学館出版部 (1996)

6) Dykes RC, Cherry D and Nolan CE. A clinical, epidemiologic, serologic, and virologic study of influenza C virus infection. Archiv Intern Med 1980 ; 140 : 1295-1298

7) 菅谷 憲夫 低く見られているインフルエンザの被害 (菅谷 憲夫 著) インフルエンザ 新型ウイルスの脅威 pp38-44 丸善(1999)

8) Burch GE, Walsh JJ, and Mogabgeb WJ. Asian influenza- clinical picture AMA Achiv Intern Med 1959 ; 103 : 696-707

9) Gaydos JC, Hodder RA, Top FH et al. Swine influenza at Fort Dix, New jersey (January to February 1976) I. Case finding and clinical study of cases. J Infect Dis 1977 ; 136 : S356-362

10) Jordan WS, Denny FW, Badger GF et al. A study of illness in Cleveland families. XVII. The occurrence of Asian Influenza. Am J Hygeine 1958 ; 68 : 190-212

11) Ksiazek TG, Olsen JG, Irving GS et al. An influenza outbreak due to Influenza A/USSR/77-like (H1N1) virus aboard a US navy ship Am J Epidemiol 1980 ; 112 : 487-494

12) Lindsay MI, Herrman EC, Morrow GW et al. Hong Kong influenza: clinical microbiologic and pathologic features in 127 cases. J Am Med Assoc 1970 ; 214 : 1825-1832

13) Mathur U, Bentley DW and Hall CB. Concurrent respiratory syncytial virus and influenza A infections in the institutionalized elderly and chronically ill. Ann Int Med 1980 ; 93 : 49-52

14) Stuart-Harris CH. Twenty years of influenza epidemics. Am Rev Resp Dis 1961 ; 83 : 54-61

15) Wald TD, Miller BA, Schult P et al. Can Influenza virus be distinguished clinically in instituionalied older persons? J Am Geriatrics Assoc 1995 ; 148 : 113-116

16) Weingarten S Friedlander M, Rascon D et al. Influenza surveillance in an acute care hospital. Archive Intern Med 1988 ; 148 : 113-116

17) Wright PF, Thompson J and Karzon DT. Differing virulence of H1N1 and H3N2 strains. Am J Epidemiol 1980 ; 112 : 814-819

18) Ruigrok RWH. Structure on Influenza A, B and C Virus. Chapter 3 in Nicholson KG, Webster RG and Hay AJ (Eds) Textbook of Influenza. pp 29-42 Blackwell Publications, Oxford. (1998)

19) Alford RM, Kasel JA, Gerone PJ et al. Human influenza resulting from aerosol inhalation. Proc Soc Exp Biol Med 1966 ; 122 : 800-804

20) Herrler G and Klenk HD. The surface receptor is a major determinant of the cell tropism of influenza C virus. Virology 1987 ; 159 : 102-108

21) Vlasak R, Krystal M, Nacht M et al. The influenza C virus glycoprotein (HE) exhibits receptor-binding (hemagglutinin) and receptor-destroying (esterase) activities. Virology 1987 ; 160 : 419-425

22) Murti KG and Webster RG. Distribution of hemagglutinin and neuraminidase on influenza virions asrevealed by immunoelectron microscopy. Virology 1986 ; 149 : 36-43

23) Lie C et al. Influenza type A virus neuraminidase does not play a role in virus entry, replication, assembly, or budding. J Virol 1995 ; 69 : 1099-1106

24) 廣田 良夫 インフルエンザ対策と疫学研究 (加地 正郎 編集) インフルエンザとかぜ症候群 pp 139-184 南山堂 (1997)

25) Wang C et al. Ion channel activity of influenza A virus M2 protein : Characterization of the amantadine block. J Virol 1993 ; 67 : 5585-5594

26) Jackson GG et al. Serologicla evidence for pretension of influenza infection in volunteers by an anti-influenza drugs adamantanamine hydrochloride. Antimirob Agents Chemother 1963 ; 3 : 703-707

27) Hayden FG, Be3lshe RB, Clover RD et al. Emergence and possible transmission of rimantadine-resistant influenza A virus in families. N Engl J Med 1989 ; 321 : 1696-1702

28) Hayden FG, Sperber SJ, Belshe RB et al. Recovery of resistant influenza A virus during therapeutic use of rimantadine. Antimicrob Agents Chemother 1991 ; 35 : 1741-1747

29) Mast EE, Harmon MW, Gravenstein S et al. Emergence and possible transmission of amantadine resistant viruses during nursing home outbreaks of influenza A (H3N2). Am J Epidemiol 1991 ; 134 : 988-997

30) Stange KC, Little DW, and Blatnik B. Adverse reactions to amantadine prophylaxis of influenza in a retirement home. J Am Geriatr Soc 1991 ; 39 : 700-705

31) Douglas RG. Drug therapy. Prophylaxis and treatment of influenza. Am J Med 1990 ; 322 : 433-450

32) Varghese JN, Laver WG and Colman PM. Structure of the influenza virus glycoprotein antigen Neuraminidase at 2.9A resolution. Nature 1983 ; 303 : 35-40

33) Itzstein M et al. Rational design of potent sialidase-based inhibitors of influenza virus Replication.Nature 1993 ; 363 : 418-423

34) FDA Talk Paper. FDA approves RELENZA (ZANAMIVIR for inhalation) for Influenza Treatment T99-34 : 27 Jul 1999

35) 福見秀雄他編 アジアかぜ流行史, (財)日本公衆衛生協会, 1～15, 東京, 1960.

36) McBean AM et al. The impact and cost of influenza in the elderly. Arch. Intern. Med. 1993 ; 153 : 2105-2111

37) Williams WW et al. Immunization politices and vaccine coverage among adults. : the risk for missed opportunities. Ann. Intern. Med. 1998 ; 108 : 616-625

表イ-2 開発年譜表

2. 特徴及び有用性

2-1. 非臨床試験成績からみた特徴及び有用性

インフルエンザウイルスのノイラミニダーゼを強力かつ選択的に阻害する　　　。

Ro64-0802 は種々のヒト A 型及び B 型インフルエンザウイルスのノイラミニダーゼを IC_{50} 2.6nM 以下の低濃度で阻害したが，哺乳類由来のノイラミニダーゼは 1mM でもほとんど阻害しなかった。

新型インフルエンザウイルスに対しても効果を示す可能性のあるインフルエンザ薬である　　。

Ro64-0802 はトリインフルエンザノイラミニダーゼの全ての亜型(N1～N9)を IC_{50} 0.8～100nM で阻害し，トリ及びヒトインフルエンザの交雑によって生じると考えられる新型インフルエンザウイルスに対する効果が示唆された。

リン酸オセルタミビルの毒性は低い　　　　　　　　　　。

本薬の単回経口投与での概略の致死量は，マウス，ラット及び幼若ラットで 2000mg/kg 以上，マーモセットで 2000mg/kg であった。反復経口投与試験でみられた重篤な毒性所見は，ラットにおける 1000mg/kg/日以上群での腎臓障害（尿細管の鉱質沈着など），マーモセットにおける 1000mg/kg/日以上群での嘔吐及び 2000mg/kg/日群での胃腸管障害であった。その他の毒性試験において，特に異常な毒性所見はみられなかった。なお，投与用量 1000mg/kg/日は，推奨臨床用量の約 300 倍に相当する。

リン酸オセルタミビルの活性体（Ro64-0802）はインフルエンザウイルスが感染，増殖する組織の一つである気管支肺胞内膜中への移行が良好である　　。

ラットにオセルタミビル 30mg/kg を単回経口投与した際,気管支肺胞液中に，抗ウイルス活性を示す濃度を超える Ro64-0802 が認められ，その消失は血漿中濃度に比べて遅く，投与後 6 時間においても血漿中濃度の約 20 倍以上を維持した。

2-2. 臨床試験成績からみた特徴及び有用性

リン酸オセルタミビルは，世界初の経口投与が可能となった抗 A 型又は B 型インフルエンザ薬である　　　　。

リン酸オセルタミビルは，活性体(Ro64-0802)の経口吸収を高めたプロドラッグである。リン酸オセルタミビルをヒトに経口投与したとき，Ro64-0802 の絶対 BA は 79.0%と高かった。国内及び海外の A 型及び B 型インフルエンザウイルス感染症の患者に対する各種臨床試験において，本剤はプラセボに比較して明らかにインフルエンザ罹病期間を短縮し，また予防的投与により

高度な腎機能障害者，透析患者以外は，本剤の使用にあたり用法・用量の調整は必要ない 。

本剤のプロドラッグ Ro64-0796 から活性体 Ro64-0802 への変換は，人では主に肝カルボキシエステラーゼにより起こる。また，Ro64-0796 及び Ro64-0802 はいずれもチトクローム P450 系の代謝を受けず，またこれら酵素活性を阻害しない。*In vitro* ヒト肝臓 S9 画分での Ro64-0796 の肝固有クリアランスはきわめて高く(87~169 μL/min/mg)，本代謝は肝血流量に大きく関係し，肝機能障害の程度にほとんど影響されない。リン酸オセルタミビルの活性体(Ro64-0802)は更なる代謝を受けることなく尿中へ排泄される。本剤の血漿中薬物動態は患者の腎機能により決まる。腎機能障害者(CLcr≦30mL/min)における活性体の Cmax，AUC は，健康成人に比較して 8 倍及び 10 倍高値を示したことから，高度に腎排泄能が低下している患者及び血液透析や腹膜透析を受けている患者では減量するなど，用法・用量の調整が必要であると考える。なお，健康高齢者における活性体 Ro64-0802 の Cmax，AUC は，健康成人に比較して 1.3 倍程度の高値を示すが，本剤の臨床使用量の 2 倍(150 mg, b.i.d.)での良好な忍容性も確認されており，高齢者での用量調整の必要はない。

リン酸オセルタミビルは，他剤との相互作用が少ない 。

リン酸オセルタミビルは，パラセタモールやシメチジン，アモキシシリンとの併用により，お互いの薬物動態に影響を及ぼさなかった。本剤は，腎臓のアニオン性排泄経路により排泄されるプロベネシドとの併用により活性体は腎クリアランスが約 50%低下し，AUC 及び Cmax が 1.9 倍及び 2.5 倍増加した。Ro64-0802 のおよそ半分は，腎尿細管分泌により排泄されるためプロベネシドと同じタイプの化合物により排泄が阻害されるが，残りの半分は，非飽和性糸球体濾過により排泄される。プロベネシド併用時における Ro64-0802 の血漿中曝露量の増加は最高でも 2 倍程度であり，臨床的に問題となる影響を及ぼさないことから，用量調整の必要はないと考える(米国添付文書)。また，P450 を介した薬物相互作用の検討において，オセルタミビルは各種 P450 基質の代謝に影響を与えなかった。また，多くの抗炎症剤は血漿蛋白との結合が強い(~90%)が，Ro64-0802 の血漿蛋白との結合は極めて低い (3%以下)。キノロンは多価金属イオンとのキレーションにより吸収低下を起こすが，Ro64-0796 は金属イオンを持たず，金属との複合体も形成しない。

リン酸オセルタミビルは成人と同様に高齢者，小児などのハイリスクな集団に対しても忍容性が高い薬剤である 。

A 型及び B 型ウイルスに自然感染した患者に対する安全性を検討した国内及び海外第Ⅲ相臨床試験において，本剤は良好な忍容性を示した。本剤投与による主な有害事象は嘔気，嘔吐などの胃腸障害であり，これらはプラセボ投与群においても多く認められた。胃腸管に対する影響は，プラセボ投与群に比べてその発現頻度では多かったものの，本剤投与初期に軽度～中等度に認められ，短期間で順応性を示したことから，安全性は良好と考えられた。これらの安全性プロファイルは高齢者，小児及び心疾患，呼吸器疾患などを有するハイリスク集団においても同様であった。

リン酸オセルタミビルの臨床使用において感染性を有する耐性ウイルスの出現頻度が低い　。

In vitro での活性体 Ro64-0802 に対するノイラミニダーゼ（NA）耐性ウイルスはアマンタジンの場合のように早期に出現することはなく，得られた耐性株はサブタイプ特異的なものであった。即ち，A/H1N1 からは H274Y が，A/H3N2 からは R292K が得られたが B 型からは得られていない。本剤と同じ作用機作を有するザナミビルに対する NA 耐性株は，A 型ウイルスでは E119G, R292K が，B 型ウイルスでは E119G が，また NA 以外のヘマグルチニン NA が変異した T198I（NA 変異株）が得られた。本剤とザナミビルは，作用機作が同じであるが NA 酵素活性部位への結合様式が異なることから，これら耐性株は両薬剤に交叉耐性を示すものと示さないものがある。一方，アマンタジンは本剤と作用機作が異なる事から，いずれの薬剤耐性株もお互いに交叉耐性を示さなかった。

海外で実施された臨床試験において分離ウイルスの Ro64-0802 に対する感受性表現型及び NA の遺伝子型変異を検討した結果，リン酸オセルタミビルの耐性ウイルスの総出現頻度は全年齢層で 3%と推測された。この頻度はアマンタジンで報告されている 10～27%に比べるとかなり低いと考える。本剤投与によって Ro64-0802 耐性株または変異株が検出された患者では，インフルエンザの症状の悪化，長期化などは見られなかった。これら耐性ウイルスは本剤治療期間の後半で得られ，ウイルス NA 酵素活性自体の機能低下を認め，マウス，フェレットでの感染性が大きく低下していたことから，分離患者体内でこれら耐性ウイルスの増殖は抑制されていたと考えられる。従って，薬剤耐性株が出現しても，感染部位での増殖，他人への伝播は極めて少ないと考えられる。更に，海外の試験において 7 例の免疫能低下患者の治療例があるが，いずれも本剤治療 4 日目までにウイルス放出は消失した。これらの患者より本剤耐性のウイルスの出現もなく本剤以外の薬剤治療も必要なかった。これら患者の内数例は本剤治療開始時にアマンタジン耐性のウイルスを放出していたが，本剤治療により 4 日目までにウイルス放出は消失した。

3. 特許状況

4. 海外における使用状況

カプセル剤につき，A 型及び B 型インフルエンザウイルスの治療を適応とし，19　年　月より米国，カナダ，欧州連合，スイスを始めオセアニア，南アメリカ，東南アジア，中近東，南アフリカなど世界各国で承認申請している。スイス，米国では迅速審査が行われ，1999 年 9 月 21 日及び同年 10 月 27 日に承認（米国では 12 項目の市販後試験指示がだされている。）されている。19　年のインフルエンザシーズンより米国，スイス，カナダで発売され 70 万人以上の患者に臨床使用された。その後，南半球のニュージーランドをはじめ現在まで，30 ヵ国において承認されている。なお，欧州連合 15 ヵ国に対しては，A 型及び B 型インフルエンザウイルスの治療を適応とし 19　年　月に中央審査方式による承認申請を行い，同年　月に CPMP の指示事項を受け，同年　月回答提出，更に翌　年　月の追加資料提出を経て，同年　月 CPMP とのヒアリングにより弊社より回答の説明（論点；B 型インフルエンザに対する有効性，一般薬理試験におけるイヌ心電図 QT 延長と臨床との関連性）を行った。その結果，審査期間満了前に追加データを要求されたことから，一時的に申請を取り下げ，再申請することになった。なお，CPMP では申請に対する投票は行われておらず，欧州連合における販売承認可否の意見書は発行されていない。

また，A 型及び B 型インフルエンザウイルスの予防を適応とし，

米国において　年　月に承認申請している。更に

小児での PK 試験成績，治療治験と安全性成績をまとめ，米国において　年　月承認申請している。

現在 FDA において迅速審査対象として審査中である。

主要国における承認申請及び発売状況を表イ-3 に，また，承認取得内容及び承認申請内容を表イ-4 に示した。

表イ-3 治療適応の主要国における承認申請及び発売状況（2000 年 10 月 17 日調査）

国名	申請年月日	承認取得年月日	発売日
米国	年　月　日	1999 年 10 月 27 日	1999 年 11 月 15 日
欧州連合（15 ヵ国）	年　月　日	年　月取り下げ	—
スイス	年　月　日	1999 年 9 月 21 日	1999 年 10 月 4 日
カナダ	年　月　日	1999 年 12 月 23 日	2000 年 1 月
オーストラリア	年　月　日	2000 年 9 月 13 日	—
ニュージーランド	年　月　日	2000 年 1 月 27 日	2000 年 1 月 27 日

その他承認国（25 ヵ国）：メキシコ，ブラジル，ハンガリー，チリ，アルゼンチン，ペルー，ウルグアイ，イスラエル，韓国，フィリピン，ユーゴスラビア，パナマ，ジャマイカ，アルバ，グアテマラ，ホンジュラス，香港，クウェート，マルタ，ニカラグア，ロシア，トリニダードドバゴ，バングラデシュ，エルサルバドル，シンガポール

予防適応：　年　月　日米国にて承認申請

小児適応　：　年　月　日米国にて承認申請

表イ-4 主要国における承認取得内容（治療）

国名	販売名	剤型	効能・効果及び用法・用量
米国	Tamiflu™	75mg カプセル(オセルタミビルとして 75mg 含有, リン酸オセルタミビルとして 98.5mg 含有)	**効能・効果** （治療）成人における合併症を伴わないインフルエンザ感染による急性疾患で症状が発現してから 2 日以内の治療。本適応は主に A 型による，自然感染試験及び抗ウイルス活性が A 型及び B 型で認められた実験的感染試験の結果に基づいている。 **用法・用量（カプセル）** （治療）75mg 1 日 2 回を 5 日間。治療はインフルエンザの症状が発現してから 2 日以内に開始すること。食後あるいは空腹時のいずれでもよい。しかし食後投与の忍容性が増すことがある。
スイス	Tamiflu®	75mg カプセル	**効能・効果** 18 歳以上の成人における A 型及び B 型インフルエンザの治療。インフルエンザ B に対して有用性を示す臨床データはほとんどない。 **用法・用量** 75mg 1 日 2 回を 5 日間。治療はインフルエンザの症状が発現してから 1 日か 2 日以内（理想は 36 時間以内）に投与を開始する必要がある。食後投与は一部の患者で忍容性を増すことがある。

5. 一般的名称

(1) JAN

平成 11 年 6 月 11 日，同年 9 月 10 日の医薬品名称調査会で以下のように決定され，平成 11 年 11 月 4 日付医薬審 1630 号により通知された。

JAN:	（日本名）	リン酸オセルタミビル
	（英　名）	oseltamivir phosphate
化学名:	（日本名）	(-)-(3*R*,4*R*,5*S*)-4-アセトアミド-5-アミノ-3-(1-エチルプロポキシ)シクロヘキセ-1-エン-1-カルボン酸　エチルエステル　一リン酸塩
	（英　名）	(-)-ethyl (3*R*,4*R*,5*S*)-4-acetamido-5-amino-3-(1-ethylpropoxy) cyclohex-1-ene-1-carboxylate monophosphate

(2) INN

WHO Drug Information, 13(3), 1999, r-INN List42 に以下のように収載された。

r-INN : oseltamivir

6. 同種同効品

同種同効品は Ro64-0796 と同じ作用機序の薬剤であるザナミビル及び，他の作用機序をもつ抗 A 型インフルエンザウイルス剤を表イ-5 に示した。

表イ-5 同種同効薬比較一覧

ロ．物理的化学的性質並びに規格及び試験方法に関する資料

1. 製剤の組成

1カプセル中にリン酸オセルタミビル98.5mg(オセルタミビルとして75mg)を含有する。

2. 製剤の性状

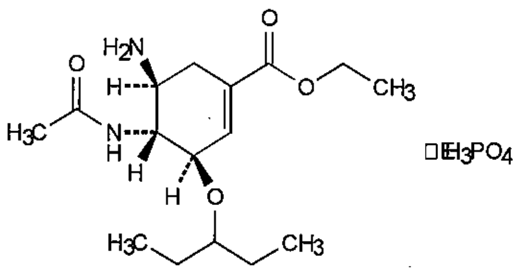
キャップが淡黄色，ボディが明るい灰色の不透明な硬カプセル剤で，内容物は白色～微黄白色の粉末又は塊のある粉末である。

3. 有効成分に関する理化学的知見

一般名：リン酸オセルタミビル

化学名：(－)-ethyl(3*R*,4*R*,5*S*)-4-acetamido-5-amino-3-(1-ethylpropoxy)cyclohex-1-ene-1-carboxylate monophosphate

構造式：



分子式：$C_{16}H_{28}N_2O_4 \cdot H_3PO_4$

分子量：410.40

性状：白色～微黄白色の結晶性の粉末である。

溶解性：水及びメタノールに溶けやすく，エタノール(95)にやや溶けやすく，*N,N*-ジメチルアセトアミドに溶けにくく，アセトニトリルにほとんど溶けない。

融点：192～195℃（分解）.

ハ. 安定性に関する資料

1. 製剤の安定性

長期保存試験(25℃/60%RH)，加速試験(40℃/75%RH)及び苛酷試験(温度，湿度，光)を実施した結果，全ての試験項目で変化が認められないか，あるいはほとんど変化が認められず，PTP 包装して室温に保存するとき，少なくとも 2 年間は安定な医薬品である。なお，苛酷試験の結果，極端な温度あるいは湿度条件下で経時的に性状の変化に伴う分解がわずかに認められた。

ニ. 急性毒性，亜急性毒性，慢性毒性，催奇形性，その他の毒性に関する資料

《要　約》

リン酸オセルタミビル（Ro64-0796/002）の前臨床における安全性を評価する目的で，単回投与試験，反復投与試験，生殖・発生毒性試験，遺伝毒性試験，抗原性試験，局所刺激性試験，光毒性試験，不純物の毒性試験ならびに本薬の活性代謝物であるRo64-0802の毒性試験を実施した。また，本薬の小児への適用を考慮して，幼若動物における毒性について検討した。なお，初期に実施されたマーモセットの7日間投与試験，細菌を用いた復帰突然変異試験では，被験薬物として塩酸オセルタミビル（Ro64-0796/001）を用いた。その要約を以下に示す。

依存性については，一般薬理試験及び他の毒性試験において中枢神経作用を示唆する所見が認められないことから依存性試験は実施していない。また，がん原性試験については実施中である。

毒性試験の一覧表を「表ニ-1a，b」に示す。また，主な毒性試験に用いた薬物のロット番号及び純度を「表ニ-1c」に示した。

単回投与毒性

リン酸オセルタミビルのマウス，ラットの経口単回投与試験　　　　　及びマウスの静脈内単回投与試験　　を実施した。マーモセットにおける単回経口投与での概略の致死量は反復投与試験成績より求めた。

マウス及びラットの単回経口投与での概略の致死量は2000mg/kg以上と推定された。雌マウスに体重増加抑制が2000mg/kgでみられた以外，一般症状，病理検査に薬物の影響はみられなかった。マウス単回静脈内投与での概略の致死量は，250mg/kgと推定された。

マーモセットの単回経口投与での概略の致死量は，7日間経口投与試験の成績より2000mg/kgと推定された。

反復投与毒性

リン酸オセルタミビルの反復経口投与試験としては，ラットの2週間（125，500，2000mg/kg/日）　　，4週間（50，250，1500mg/kg/日）　　，6ヵ月間（50，100，200，1000mg/kg/日）　　，マウスの4週間（50，250，500，1000，1500mg/kg/日）　　及びマーモセットの7日間（100，500，1000，2000mg/kg/日）　　，4週間（100，300，1000mg/kg/日）　　，9ヵ月間（50，200，1000mg/kg/日）　　の反復投与試験を実施した。また，本薬の活性体であるRo64-0802のラット（5，20，100mg/kg/日）　　，マーモセット（5，15，50mg/kg/日）　　における静脈内投与による2週間反復投与試験を実施した。

リン酸オセルタミビルのラットにおける反復投与試験において，2000mg/kg/日の2週間投与で死亡例がみられたが，1500mg/kg/日の4週間投与，1000mg/kg/日の6ヵ月間投与では薬物に起因する死亡例はみられなかった。一般症状としては，流涎，尿道口周囲（肛門周囲）の汚れが各試験の中・高用量群にみられた以外，特に著変はみられなかった。また，摂水量の増加が各試験の高用量群でみられた。臨床検査での主な変化は，血液学的検査における白血球の増加，血液生化学的検査における尿素窒素・Pの増加，Na・Cl・Kの減少，尿検査における尿量の増加，NAG/クレアチニン比の増加，尿pHの低下，各種電解質（P・Na・Cl等）の尿中排泄の増加及び腎臓，副腎，肝臓の絶対重量あるいは相対重量の増加であった。病理組織学的検査では腎臓にのみ異常所見がみられ，各試験の高用量群でみられた。6ヵ月間投与試験でのその主な病理組織学的変化は，雄では尿細管上皮・基底膜・ボーマン嚢の変性及び再生性変化，尿細管の空

胞化・鉱質沈着・硝子円柱，雌では尿細管の鉱質沈着であった。なお，2 週間試験の 2000mg/kg/日群では肺における肺胞マクロファージの集簇，死亡例（雌 1 例）で肺の充血・浮腫 がみられた。これらの変化は，腎臓の病理組織学的変化を除き，休薬により回復した。無毒性量は 2 週間試験では 500mg/kg/日，4 週間試験では 250mg/kg/日，6 ヵ月間試験では 100mg/kg/日と推定された。

リン酸オセルタミビルのマウスにおける反復投与試験において，1500mg/kg/日の 4 週間投与で死亡例がみられたが，1000mg/kg/日の 4 週間投与では薬物に起因する死亡例はみられなかった。1500mg/kg/日の 4 週間投与で血液学的及び血液生化学的検査パラメータの軽度の変化及び病理組織学検査で腎臓に異常所見がみられたが，1000mg/kg/日の 4 週間投与では何ら薬物の影響はみられなかった。4 週間試験での無毒性量は 1000mg/kg/日と推定された。

リン酸オセルタミビルのマーモセットにおける反復投与試験 において，7 日間投与試験の 2000mg/kg/日群（但し，塩酸オセルタミビルを 1 日 1 回投与）で投与直後の著しい嘔吐・流涎がみられ，投与 2 日目に死亡例が発現したことから，その後実施するマーモセットの反復経口投与試験の投与方法は，2 時間間隔で 1 日 2 回投与する 2 分割投与とした。

7 日間投与試験の 2000mg/kg/日群の 2 日目死亡例では，胃腸管に変化（粘膜の出血，糜爛，潰瘍あるいは萎縮）がみられた。1000mg/kg/日群（2 日目より 2 分割投与）では死亡例はみられなかった。

4 週間，9 ヵ月間投与試験では薬物に起因する死亡例はみられなかった。一般症状としては，流涎，嘔吐が各試験の中・高用量群にみられた以外，特に著変はみられなかった。9 ヵ月間試験の 1000mg/kg/日群のみで投与初期における体重減少（雄）と投与 13 週以降の体重増加抑制（雌），血液生化学的検査で総蛋白・アルブミン・K の減少（極く軽度）及び尿量の増加（軽度）がみられたが，ラットでみられたような腎臓の異常所見はマーモセットではみられなかった。これらの変化は，休薬により回復した。無毒性量は 4 週間試験では 1000mg/kg/日，9 ヵ月間試験では 200mg/kg/日と推定された。

Ro64-0802 のラットにおける静脈内投与による 2 週間反復投与試験において，100mg/kg/日の用量で 2 週間投与しても薬物に起因する死亡例はみられなかった。100mg/kg/日群の 1 例で喘鳴（急性出血性肺胞炎）がみられた。尿検査では 100mg/kg/日群で尿量の減少，尿中 NAG・クレアチニン・K の増加（極く軽度）及び Na の減少がみられた。病理組織学的検査では肺，腎臓にのみ異常所見がみられた。病理組織学的変化は，100 mg/kg/日群の 1 例における腎臓髄質の尿細管拡張（軽度）と 3 例における肺胞炎（喘鳴が観察された例を含む）であった。5, 20mg/kg/日群では異常所見はみられなかった。無毒性量は 20mg/kg/日と推定された。

Ro64-0802 のマーモセットにおける静脈内投与による 2 週間反復投与試験において，50mg/kg/日の用量で 2 週間投与しても薬物に起因する死亡例はみられなかった。また，一般症状，体重，摂餌量，摂水量及び病理組織学的検査を含む各臨床検査においても異常所見はみられなかった。無毒性量は 50mg/kg/日と推定された。

生殖・発生毒性

生殖・発生毒性試験としては，ラットの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（I 試験：50, 250, 1500mg/kg/日），ラットの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（II 試験：50, 250, 500, 1500mg/kg/日），ラット及びウサギの胚・胎児発生に関する試験（III 試験：ラット；50, 250, 1500mg/kg/日，ウサギ；50, 150, 500mg/kg/日）を実施した。

ラットのⅠ試験では，250mg/kg/日以上群の雌雄親動物に投与後の流涎がみられ，50mg/kg/日以上群の雄親動物に体重増加量抑制，1500mg/kg/日群の雌親動物に妊娠初期の体重増加量抑制及び摂餌量減少がみられた。しかし，投薬群の雌親動物の性周期，雌雄親動物の生殖能に影響はみられず，剖検所見に異常はなかった。その他，雄の精巣重量，雌の着床数，生存胚数などの子宮内検査パラメータに薬物関連の影響はみられなかった。無毒性量は雌雄親動物（生殖能に及ぼす影響として）及び胚ともに1500mg/kg/日と推定された。

ラットのⅡ試験では，1500mg/kg/日群の母動物で投与初期及び分娩後4日目まで体重増加量抑制，投与期間中の摂餌量の減少がみられ，母動物の死亡又は瀕死屠殺例発現（9/25例，妊娠末期または出産日），分娩時間延長，出生児生存率低下などの影響がみられたが，出生児の学習能及び生殖能に影響は認められなかった。本試験（初回試験）の 1500mg/kg/日群でみられた母動物死亡，分娩時間延長，出生児生存率低下などの影響の再現性の確認及びその作用メカニズムを調べる目的で実施された 2 つの追加試験（50，500，1500mg/kg/日）において，初回試験でみられたような母動物の死亡発現は再現されなかったが，分娩時間延長，出生児生存率低下などの影響は 1500mg/kg/日群で確認された。500 mg/kg/日群では母動物及び出生児に対する影響はみられなかった。無毒性量は母動物，出生児ともに500mg/kg/日と推定された。

ラットのⅢ試験 では，1500mg/kg/日群の母動物に投与期間中の体重増加量抑制，摂餌量減少がみられたが，子宮内検査パラメータ及び胎児に薬物関連の影響はみられず，催奇形性作用は認められなかった。無毒性量は母動物で250mg/kg/日，胎児で1500mg/kg/日と推定された。

ウサギのⅢ試験 では，母動物において，50mg/kg/日以上群に糞便量の減少，150mg/kg/日以上群に投与期間中の体重減少（500mg/kg/日群：特に投与初期に著しい体重減少）及び摂餌量減少がみられた。500mg/kg/日群では7/19例を一般状態の悪化あるいは流産の兆候のため屠殺し，子宮内検査を行った（屠殺例の子宮内は死亡胎児または吸収であった）。150mg/kg/日以下の群では流産兆候はみられず，子宮内検査パラメータに薬物関連の影響はみられなかった。胎児に関しては，500mg/kg/日群では左総頚動脈起始異常の増加，150mg/kg/日以上群で骨格変異(胸椎の増加，尾椎の減少，過剰13肋骨，13肋骨痕)の頻度増加がみられた。しかし，これらは母動物毒性に関連するもので，胎児の発達に及ぼす影響とは考えられず，催奇形性作用はないものと判断された。無毒性量は母動物で 50mg/kg/日，胎児で 150mg/kg/日と推定された。

遺伝毒性

塩酸オセルタミビルの細菌を用いた復帰突然変異試験（Ames試験）　　，リン酸オセルタミビルのヒトリンパ球を用いた染色体異常試験　　及びマウスを用いた小核試験　　を実施した。また，Ro64-0802の細菌を用いた復帰突然変異試験　　及びマウスリンパ腫細胞を用いた遺伝子突然変異試験　　を実施した。本薬及びRo64-0802に遺伝毒性はみられなかった。

がん原性

本薬のマウス及びラットにおけるがん原性試験は実施中である。

局所刺激性

リン酸オセルタミビルの原体取り扱い者に対する安全性を確保するために，リン酸オセルタミビルの原体（粉末）の局所刺激性について，ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験　　と眼粘膜一次刺激性試験

を実施し検討した。リン酸オセルタミビル（原体）に皮膚刺激性はなかったが，軽度の眼粘膜刺激性がみられた。従って，原体を直接取り扱う際には，眼を保護する器具の使用が望まれる。

マーモセットの反復投与毒性試験において，高投与用量であるが嘔吐，胃腸管障害がみられていることから，イヌにおける臨床に用いられるリン酸オセルタミビルの75mgカプセル剤の消化管に対する影響(刺激性)　　　　を検討した。その結果，リン酸オセルタミビルの75mgカプセル剤（臨床製剤）に食道を含む胃腸管に対する刺激性はみられなかった。

溶血性・適合性

毒性試験用に調製したRo64-0802の注射剤の溶血性・適合性　　　について，イヌの血液あるいは血漿を用いて，2mg/mLの濃度までの溶液について検討した。その結果，2mg/mLの濃度までのRo64-0802溶液に溶血作用及び凝固作用はみられなかった。

抗原性

モルモットを用いたMaximization Test法　　　によりリン酸オセルタミビルの皮膚感作性を検討した結果，皮膚感作性（抗原性）がみられた。しかし，アジュバント併用高用量免疫条件下（皮内投与，30mg/匹）でのリン酸オセルタミビル　　　及びその活性体であるRo64-0802　　　のモルモットを用いた能動全身アナフィラキシー（ASA）試験，同種受身皮膚アナフィラキシー（PCA）試験及び血清中の特異的IgG抗体測定を実施したが，いずれの試験項目においても陰性で，本薬及びRo64-0802に抗原性はみられなかった。このことから，臨床適用条件下（アジュバント併用なし，経口投与）で，リン酸オセルタミビルが抗原性を示す可能性は非常に低いと推察される。

光毒性

リン酸オセルタミビルの光毒性作用について，マウス線維芽細胞を用いニュートラルレッド取り込み法　　　により検討した。その結果，リン酸オセルタミビルに光毒性作用はみられなかった。

不純物の毒性

不純物（分解物/副生成物）の毒性試験として，リン酸オセルタミビル（原体）及び保存したカプセル剤に含まれると予測される5種類の不純物（Ro64-6661，Ro64-1634，Ro64-7943，Ro64-0952，Ro64-0951）を添加したリン酸オセルタミビルの細菌を用いた復帰突然変異試験（Ames試験）　　　及びヒトリンパ球を用いた染色体異常試験　　　　を実施したが，遺伝毒性はみられなかった。また，3種類の不純物（Ro64-0802，Ro64-0952，Ro64-0951）を添加したリン酸オセルタミビルのラット2週間経口投与試験　　　　　を実施したが，不純物を添加したことに起因すると考えられる変化はみられなかった。

初期に合成されたリン酸オセルタミビルのバッチから遺伝毒性（Ames試験陽性）を示す2-アジド化合物Ro64-1637が不純物(副生成物)として検出された　　　。一連の実験からバッチ中にRo64-1637が0.03%以上のレベルで存在すると，Ames試験が陽性になることが明らかとなった　　　。この結果より原体中のRo64-1637の許容濃度は最大0.01%と規定された。また，アジドイオンが細菌の代謝によってRo64-1637から遊離されることが判明した　　　。しかし，強力なアジド化合物による遺伝毒性は細菌及び下等な真核細胞に特有であり，哺乳類の細胞はアジド化合物を終局の変異原と考えられている物質に変換することはできないこと，ラットのがん原性試験（2年間投与）においてアジ化ナトリウムは陰性であることが知られている。従って、本薬に微量混在する2-アジド化合物であるRo64-1637による発がん及び遺伝毒性の可能性はないと推察される。

幼若動物における毒性

幼若ラット（14 日齢）の単回経口投与での概略の致死量は 2000mg/kg 以上と推定された　。

幼若ラットにおける反復投与試験において，7 日齢のラットに 500mg/kg/日の用量で 2 週間投与あるいは 21 日齢のラットに 500mg/kg/日の用量で 4 週間投与　しても薬物に起因する死亡例はみられなかった。

2 週間投与試験（投与開始時 7 日齢）では，一般症状，体重，尿検査，血液検査，血液生化学的検査，剖検，臓器重量，病理組織学的検査に何ら薬物関連の異常はなかった。4 週間の回復試験においても異常はみられなかった。

4 週間投与試験（投与開始時 21 日齢）では，一般症状，体重，摂餌量，血液検査，血液生化学的検査，剖検，臓器重量，病理組織学的検査に何ら薬物関連の異常はなかった。尿検査では，150 及び 500mg/kg/日群において尿量の増加，無機電解質（Ca, Mg, Na 等）の排泄量の増加がみられた。血液生化学的検査では，150 及び 500mg/kg/日群において無機電解質（P, Ca, Mg 等）の増加がみられた。これら変化は 4 週間の休薬により回復した。この 150 及び 500mg/kg/日群においてみられた変化は，本薬に含まれるリン酸塩の過剰摂取に伴う生理的変化と考えられた。

無毒性量は，2 週間試験及び 4 週間試験ともに 500mg/kg/日と推定された。

表二−1a　試験一覧表

試験項目		動物種	投与経路・期間 又は試験方法	投与量(mg/kg/日) 又は処置濃度	試験結果 (mg/kg/日)	実施施設
単回投与毒性					概略の致死量	
		マウス	経口・単回	0, 2000	2000 以上	
		ラット	経口・単回	0, 2000	2000 以上	
反復投与毒性					無毒性量	
		ラット	経口・4 週間	0, 50, 250, 1500	250	
		ラット	経口・6 ヵ月間	0, 50, 200, 1000	50	
		ラット	経口・6 ヵ月間	0, 100	100	
		マーモセット	経口・4 週間	0, 100, 300, 1000	1000	
		マーモセット	経口・9 ヵ月間	0, 50, 200, 1000	200	
		ラット	静脈内・2 週間	Ro64-0802： 0, 5, 20, 100	20	
		マーモセット	静脈内・2 週間	Ro64-0802： 0, 5, 15, 50	50	
生殖・発生毒性	I 試験 (受胎能及び初期胚発生)	ラット	経口	0, 50, 250, 1500	無毒性量 親動物(一般毒性) 雄:50, 雌:250 親動物(生殖能) 雌雄:1500 胚：1500	
	II 試験 (出生前及び出生後の発生・母体機能)	ラット	経口（初回試験）	0, 50, 250, 1500	母動物： 250(一般毒性) 250(生殖能) 出生児 F_1：250	
		ラット	経口（追加試験）	0, 50, 500, 1500 (連投及び周産期休薬)	母動物： 50(一般毒性) 500(生殖能) 出生児 F_1：500	
		ラット	経口（調査試験）	0, 500, 1500 (4 種の投与方法)	母動物： 500(一般毒性) 500(生殖能) 出生児 F_1：500	
	III 試験 (胚・胎児発生)	ラット	経口	0, 50, 250, 1500	母動物： 250(一般毒性) 250(生殖能) 胎　児：1500	
		ウサギ	経口	0, 50, 150, 500	母動物： 50 未満(一般毒性) 50(生殖能) 胎児　：150	
遺伝毒性	復帰突然変異試験	ネズミチフス菌	プレート法	100〜5000 μg/plate	陰性	
		大腸菌	プレート法 プレインキュベーション法	Ro64-0802： 50〜5000 μg/plate	陰性	
	染色体異常試験	ヒトリンパ球	直接法 代謝活性化法	250〜1500 μg/mL 1250〜4990 μg/mL	陰性	
	小核試験	マウス	経口，単回	0, 500, 1000, 2000	陰性	
	遺伝子突然変異試験	マウスリンパ腫細胞	直接法 代謝活性化法	Ro64-0802： 23.4〜3000 μg/mL	陰性	

表二-1a　試験一覧表　　　　　　　つづき

試験項目	動物種	投与経路・期間 又は試験方法	投与量(mg/kg/日) 又は処置濃度	試験結果 (mg/kg/日)	実施施設
抗原性	モルモット	抗原性試験*		陰性	
	モルモット	抗原性試験*	Ro64-0802	陰性	
	モルモット	皮膚感作性試験		陽性	
不純物の毒性	ラット・2週間・経口		不純物による新たな毒性発現なし		
	復帰突然変異試験			陰性	
	染色体異常試験			陰性	
幼若動物の毒性	ラット (14日齢)	経口・単回	0, 250, 500, 1000, 1500, 2000	概略の致死量 2000以上	
	ラット (7日齢)	経口・2週間	0, 50, 150, 500	無毒性量 500	
	ラット (21日齢)	経口・4週間	0, 50, 150, 500	500	

*：能動全身ｱﾅﾌｨﾗｷｼｰ試験(ASA)，受身皮膚ｱﾅﾌｨﾗｷｼｰ試験(PCA)，酵素免学的測定法による抗体測定(ELISA)を実施。

表二-1b　試験一覧表

試験項目	動物種	投与経路・期間 又は試験方法	投与量(mg/kg/日) 又は処置濃度	試験結果 (mg/kg/日)	実施施設
単回投与毒性				概略の致死量	
	マウス	静脈内･単回	5, 50, 100, 250	250	
反復投与毒性				無毒性量	
	ラット	経口・2週間（予備試験）	0, 40, 160, 800	800	
	ラット	経口・2週間	0, 125, 500, 2000	500	
	ﾏｰﾓｾｯﾄ	経口・1週間（予備試験）	0, 100, 500, 1000, 2000	500	
	マウス	経口・4週間（用量設定）	0, 50, 250, 500, 1000, 1500	1000	
生殖・発生毒性	ラット	経口（用量設定；妊娠動物）	0, 50, 250, 1500	50	
	ウサギ	経口（耐薬性）	0, 50, 250, 500, 750, 1500	250	
	ウサギ	経口（用量設定；妊娠動物）	0, 50, 250, 500	250	
局所刺激性 及び 溶血性･適合性	ウサギ	皮膚一次刺激性		陰性	
	ウサギ	眼粘膜一次刺激性		陽性	
	イヌ	経口・7日間	75 mg カプセル	陰性	
	イヌ血液	溶血性･適合性	Ro64-0802	陰性	
光毒性	マウス線維芽細胞（*in vitro*）			陰性	
不純物の毒性	復帰突然変異試験（各バッチ）		初期のバッチで陽性		
	復帰突然変異試験（2-ｱｼﾞﾄﾞ化合物）		0.03%未満の含有量では陰性		
	ラット・2週間・経口（Ro64-0952）		不純物による新たな毒性発現なし		
幼若動物の毒性	ラット経口・2週間（用量設定）		0, 50, 150, 500, 1000	500	
その他	ラット腎組織標本の評価（専門家）				

表二-1c　主な毒性試験に用いた薬物のロット番号及び純度

試験項目	動物種	投与経路・期間 又は試験方法	原体の ロット番号	純度(%)
単回投与毒性	マウス	経口・単回	71121003	
	ラット	経口・単回	71121003	
反復投与毒性	ラット	経口・4週間	4104-02-B-4	
	ラット	経口・6ヵ月間	4104-02-F-2 GPM0176 71121001 71121002 71121003	
	ラット	経口・6ヵ月間	4104-02-F-2 71121003	
	マーモセット	経口・4週間	1132-5-14	
	マーモセット	経口・9ヵ月間	4104-02-F-2 GPM0189	
	ラット	静脈内・2週間 (Ro64-0802)	4071-01-A-1	
	マーモセット	静脈内・2週間 (Ro64-0802)	4071-01-A-1	
生殖・発生毒性	ラット	生殖能：経口	4104-02-F-1	
	ラット	周産期及び授乳期：経口 (初回試験)	GPM0176	
	ラット	周産期及び授乳期：経口 (追加試験)	GPM0192	
	ラット	周産期及び授乳期：経口 (調査試験)	80302643	
	ラット	胚・胎児発生：経口	4104-02-E-3	
	ウサギ	胚・胎児発生：経口	4104-02-E-3	
遺伝毒性	復帰突然変異試験		1029-78	
	復帰突然変異試験 (Ro64-0802)		1163-85-36	
	染色体異常試験		1132-5-14	
	小核試験		1132-5-14	
	遺伝子突然変異試験 (Ro64-0802)		1163-85-36	
抗原性	モルモット，抗原性試験		4104-02-D-1	
	モルモット，抗原性試験 (Ro64-0802)		1163-85-36	
	モルモット，皮膚感作性試験		4104-02-D-1	
幼若動物の毒性	ラット	経口・単回	80202143	
	ラット	経口・2週間	80202143	
	ラット	経口・4週間	80202143	

1. 単回投与毒性

リン酸オセルタミビルの急性毒性を確認するため，マウス，ラットの単回経口投与毒性試験及びマウスの単回静脈内投与毒性試験を実施した。マーモセットにおける単回経口投与毒性試験は実施されていないが，7日間経口投与毒性試験の成績よりマーモセットにおける概略の致死量を求めた。

なお，幼若ラットの単回経口投与毒性試験については，「10. 幼若動物における毒性」の項で述べる。

1-1. マウスにおける単回経口投与毒性試験

1群雌雄各5匹のCD-1マウスにリン酸オセルタミビルを0，2000mg/kgの用量で単回経口投与した。試験方法及び成績は「表ニ-2」に示す。

死亡例はみられなかった。体重増加抑制が2000mg/kg群の雌にみられた以外，一般症状，病理検査に薬物の影響はみられなかった。概略の致死量は2000mg/kg以上と推定された。

1-2. ラットにおける単回経口投与毒性試験

1群雌雄各5匹のWistarラットにリン酸オセルタミビルを0，2000mg/kgの用量で単回経口投与した。試験方法及び成績は「表ニ-3」に示す。

死亡例はみられなかった。一般症状，体重，病理検査に薬物の影響はみられなかった。概略の致死量は2000mg/kg以上と推定された。

1-3. マウスにおける単回静脈内投与毒性試験

1群雌雄各 1匹のCD-1マウスにリン酸オセルタミビルを5，50，100，250mg/kgの用量で単回静脈内投与した。さらに，100mg/kgが致死量でないことを確認するため，100mg/kg群のみ雌雄各5匹のマウスを追加した。試験方法及び成績は「表ニ-4」に示す。

250mg/kg群（雌雄各 1例）では投与直後に雌雄に痙攣がみられ，雄は死亡したが，雌は浅速呼吸・歩行異常・間歇的な振戦を示したが，投与後40分以内に回復した。100mg/kg群（雌雄各6例）では雄1例に投与後1時間まで立毛が観察された以外，全身性症状はみられなかった。100mg/kg群の雌2例に尾(投与部位)の黒色化･痂皮形成がみられた。概略の致死量は250mg/kgと推定された。

1-4. マーモセットにおける単回経口投与毒性

マーモセットの7日間経口投与毒性試験（予備試験，最高用量：2000mg/kg/日，表ニ-10）の成績を基に，マーモセットの単回経口投与での概略の致死量を推定した。

1 群雌雄各 2 頭のマーモセット（1000mg/kg/日群は雄のみ 4 頭使用）に塩酸オセルタミビルを0,100,500,1000mg/kg/日の用量で7日間，2000mg/kg/日の用量で2日間経口投与した。0,100,500mg/kg/日群の最初の4日間と1000mg/kg/日群の初日及び2000mg/kg/日群の投与は1日1回投与とし，それ以後の投与は2分割投与（2時間間隔）とした。

2000mg/kg/日群では，投与直後に著しい嘔吐・流涎がみられ，雌1例は2日目に衰弱が激しく瀕死屠殺され，残り 3 例は 4 日目に屠殺された。2000mg/kg/日群の病理組織学的検査では，全例の胃に変化（粘膜の出血,糜爛,潰瘍あるいは萎縮）がみられ，軽微な炎症を伴っていた。2日目の屠殺例では十二指腸から空腸にまで及んでいた。500，1000mg/kg/日群で投与直後に嘔吐（軽度～中等度）がみられたが，2分割投与により嘔吐の程度と頻度は減少した。病理組織学的には1000mg/kg/日群の雄 1 例に胃粘膜の萎縮が認められたのみであった。

上述の 7 日間経口投与試験において，1000mg/kg/日群で死亡例がみられなかったことから，マーモセットにおける単回経口投与での概略の致死量は 2000mg/kg と推定された。

表二-2 マウスにおける単回経口投与毒性試験

報告者（実施施設）		（アメリカ・　　　）	
試験方法	動物	CD-1 マウス，6 週齢，体重：雄 25～30g，雌 23～26g，1 群雌雄各 5 匹	
	薬物	リン酸オセルタミビル（溶媒：酢酸緩衝液，pH 4）	
	投与経路・方法	経口投与（強制）	
	投与量	0（溶媒），2000 mg/kg，投与容量：20 mL/kg	
	観察期間	14 日間	
試験成績	投与量（mg/kg）	0	2000
	死亡数	0	0
	一般症状		
	体重[a]	—	体重増加抑制（♀）
	剖検		
概略の致死量		2000 mg/kg 以上	

—：特記すべき所見なし

統計学的処理：a; F 検定＋Standard t 検定/Modified t 検定

表二-3 ラットにおける単回経口投与毒性試験

報告者（実施施設）		（アメリカ・　　　）	
試験方法	動物	Wistar ラット，6 週齢，体重：雄 122～141g，雌 101～120g，1 群雌雄各 5 匹	
	薬物	リン酸オセルタミビル（溶媒：酢酸緩衝液，pH 4）	
	投与経路・方法	経口投与（強制）	
	投与量	0（溶媒），2000 mg/kg，投与容量：20 mL/kg	
	観察期間	14 日間	
試験成績	投与量（mg/kg）	0	2000
	死亡数	0	0
	一般症状		
	体重[a]		
	剖検	—	—
概略の致死量		2000 mg/kg 以上	

—：特記すべき所見なし

統計学的処理：a; F 検定＋Standard t 検定/Modified t 検定

表ニ-4 マウスにおける単回静脈内投与毒性試験

<table>
<tr><td colspan="2">報告者（実施施設）</td><td colspan="5">（イギリス・　　　）</td></tr>
<tr><td rowspan="6">試験方法</td><td>動物</td><td colspan="5">CD-1 マウス，6 週齢，体重：雄 22.1～28.5g，雌 25.4～32.5g，
1 群雌雄各 1 匹（100 mg/kg 群は雌雄各 5 匹を追加し，試験 2 を実施）</td></tr>
<tr><td>薬物</td><td colspan="5">リン酸オセルタミビル（溶媒：酢酸緩衝液，pH 4）</td></tr>
<tr><td>投与経路・方法</td><td colspan="5">静脈内投与</td></tr>
<tr><td>投与量</td><td colspan="5">5，50，100，250 mg/kg，投与容量：10 mL/kg</td></tr>
<tr><td>観察期間</td><td colspan="5">14 日間</td></tr>
<tr><td></td><td colspan="5"></td></tr>
<tr><td rowspan="7">試験成績</td><td>試験</td><td colspan="4">試験 1
（雌雄各群 1 匹）</td><td>試験 2
（雌雄各 5 匹）</td></tr>
<tr><td>投与量(mg/kg)</td><td>5</td><td>50</td><td>100</td><td>250</td><td>100</td></tr>
<tr><td>死亡数</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>♂1 例(投与直後)</td><td>0</td></tr>
<tr><td>一般症状</td><td>—</td><td>—</td><td>♂1 例:立毛（軽度）（投与 1 時間後には回復）</td><td>死亡例:痙攣
生存例:
痙攣，浅速呼吸，歩行異常，間歇的な振戦
（投与 40 分後には回復）</td><td>♀2 例:尾の黒色化・痂皮形成（投与 1～2 週間後）</td></tr>
<tr><td>体重</td><td>—</td><td>—</td><td>—</td><td>—</td><td>—</td></tr>
<tr><td>剖検</td><td>—</td><td>—</td><td>—</td><td>—</td><td>—</td></tr>
<tr><td>病理組織学的検査</td><td>／</td><td>／</td><td>／</td><td>／</td><td>♀1 例:壊死性皮膚炎，血栓，血管周囲の炎症・出血</td></tr>
<tr><td colspan="2">概略の致死量</td><td colspan="5">250 mg/kg</td></tr>
</table>

—：特記すべき所見なし，／：実施せず

統計学的処理：実施せず

2. 反復投与毒性

リン酸オセルタミビルの反復投与毒性を確認するため，マウスは4週間まで，ラットは6ヵ月間まで，マーモセットは 9 ヵ月間までの反復経口（強制）投与毒性試験を実施した。また，本薬の活性体である Ro64-0802 のラット，マーモセットにおける静脈内投与による2週間反復投与毒性試験を実施した。なお，幼若ラットの反復投与毒性試験については，「10. 幼若動物における毒性」の項で述べる。

2-1. ラットにおける2週間経口投与毒性試験

1群雌雄各10匹のラットにリン酸オセルタミビルを0，125，500，2000mg/kg/日の用量で週7回，2週間経口投与を行なった。TK試験群を別途設けた。試験方法及び成績は「表ニ-5」に示す。

用量設定は，ラットにおけるリン酸オセルタミビルの予備試験（40，160，800mg/kg/日；週7回，2週間経口投与）の結果　　　，800mg/kg/日まで薬物関連の毒性が示唆されなかったため，最高用量を物理的に投与可能な2000mg/kg/日とし，以下公比4で500，125mg/kg/日を設定した。

2000mg/kg/日群で死亡例（雌 1 例：肺の充血・浮腫）がみられた。500mg/kg/日以上群に流涎，2000 mg/kg/日群で尿道口周囲の汚れ，体重増加量の抑制（雄）がみられた。血液学的及び血液生化学的検査では 500mg/kg/日群で白血球数の増加傾向（雄），2000mg/kg/日群で白血球数・赤血球数・血色素量・血球容積の増加，尿素窒素・グルコース・Ca・P・総蛋白・グロブリンの増加及びNa・K・Clの減少がみられたが，いずれも極く軽度ないし軽度の変化で生理的変動内であった。また，500，2000mg/kg/日群で軽度の肝臓相対重量の増加（雌），2000mg/kg/日群で腎臓相対重量の増加，腎臓尿細管における鉱質沈着（軽～中等度）及び肺における肺胞マクロファージの集簇（軽～中等度）がみられた。

500mg/kg/日群の変化はいずれも極く軽度で病理組織学的にも変化がないことから，無毒性量は500mg/kg/日と推定された。

2-2. ラットにおける4週間経口投与毒性試験

1群雌雄各10匹のラットにリン酸オセルタミビルを0，50，250，1500mg/kg/日の用量で週7回，4週間経口投与を行なった。各群の雌雄各2匹は2週間の回復試験に供した。TK試験群を別途設けた。試験方法及び成績は「表ニ-6」に示す。

用量設定は，ラットにおけるリン酸オセルタミビルの2週間経口投与試験　　　で2000mg/kg/日群の雌1例に死亡がみられ，500mg/kg/日では何ら毒性がみられなかったため，本試験の最高用量は1500mg/kg/日とし，以下公比5で250，50mg/kg/日を設定した。

投薬に起因する死亡例はみられなかった。250mg/kg/日以上群に流涎，1500mg/kg/日群で軽度の摂水量の増加がみられた。血液学的及び血液生化学的検査では 1500mg/kg/日群で軽度の白血球数・尿素の増加（雄），尿検査では軽度のNAG・蛋白の増加及びpHの低下がみられた。また，1500mg/kg/日群で軽度の腎臓相対重量の増加，腎尿細管における鉱質沈着・好塩基性変化・拡張・顆粒円柱がみられた。上記変化は2週間の休薬により1500mg/kg/日群の腎尿細管の鉱質沈着を除き回復又は回復傾向を示した。

250mg/kg/日を投与した雄ラットでは対照群の雄と比較して好塩基性尿細管の発現率が軽度に増加していた。しかし，この病変は片側性であり，1病巣だけであり，鉱質沈着，尿細管の拡張または尿細管の円柱形成がないことから投与との関係はないものと思われた。従って，無毒性量は250mg/kg/日と推定された。

2-3. ラットにおける6ヵ月間経口投与毒性試験

1群雌雄各20匹のラットにリン酸オセルタミビルを0, 50, 200, 1000mg/kg/日の用量で週7回，6ヵ月間（27週間）経口投与を行なった。各群の雌雄各5匹は8週間の回復試験に供した。TK試験群を別途設けた。試験方法及び成績は「表ニ-7」に示す。

用量設定は，ラットにおけるリン酸オセルタミビルの2週間経口投与試験　　の結果をもとに，高用量には死亡例が発現しないと推定される1000mg/kg/日，中間用量はごく軽度の毒性が推定される200mg/kg/日，低用量には無毒性量と推定される50mg/kg/日を設定した。50, 200, 1000mg/kg/日はヒトで効果が期待される本薬の血中曝露量（AUC）のそれぞれ2, 8, 40倍の曝露量が期待される投与用量である。

投薬に起因する死亡例はみられなかった。1000mg/kg/日群で肛門周囲の汚れ，摂水量の増加がみられた。血液学的検査では50mg/kg/日以上群で極く軽度の白血球数の増加（雄）がみられた。血液生化学的検査では1000mg/kg/日群で尿素窒素・総蛋白・アルブミン・ALP・ビリルビン・コレステロール・Mgの増加，Na·Clの減少がみられたが，50, 200mg/kg/日群ではみられなかった。尿検査では1000mg/kg/日群で尿量の増加，NAG/クレアチニン比の増加（極く軽度），pHの低下及び各種電解質（P, Na, Cl等）の尿中排泄の増加がみられたが，50, 200mg/kg/日群では電解質の数項目にのみ変化がみられた。1000mg/kg/日群で腎臓，副腎及び肝臓，200mg/kg/日群で腎臓及び肝臓の絶対重量あるいは相対重量の増加がみられたが，病理組織学的検査では腎臓にのみ異常所見がみられた。腎臓にみられた主な病理組織学的変化は，1000mg/kg/日群の雄では尿細管上皮・基底膜・ボーマン嚢の変性及び再生性変化，尿細管の空胞化・鉱質沈着・硝子円柱，雌では尿細管の空胞化・鉱質沈着であった。200mg/kg/日群で極く軽度の変化（腎臓尿細管の鉱質沈着，尿細管空胞化）がみられたが，50mg/kg/日群では異常所見はみられなかった。なお，雌の尿細管の空胞化については，その後の腎臓の精査において組織標本作製時におけるアーチファクトと評価された。上記変化は8週間の休薬により1000mg/kg/日群の腎臓における病理組織学的変化を除き回復した。

50mg/kg/日群の変化はいずれも極く軽度で病理組織学的にも変化がないことから，無毒性量は50mg/kg/日と推定された。

2-4. ラットにおける6ヵ月間経口投与毒性試験（追加試験）

前述のラット6ヵ月間経口投与試験（0, 50, 200, 1000mg/kg/日）の追加試験として，1群雌雄各20匹のラットにリン酸オセルタミビルを0, 100mg/kg/日の用量で週7回，6ヵ月間（27週間）経口投与を行なった。各群の雌雄各5匹は8週間の回復試験に供した。TK試験群を別途設けた。試験方法及び成績は「表ニ-8」に示す。

投与用量は，ラットにおけるリン酸オセルタミビルの6ヵ月間経口投与試験　　における低用量50mg/kg/日と中間用量200mg/kg/日の対数比である100mg/kg/日と対照群を設定した。100mg/kg/日はヒトで効果が期待される本薬の血中曝露量（AUC）の約3倍の曝露量が期待される投与用量である。

投薬に起因する死亡例はみられなかった。尿検査において，電解質(Na, Cl, K)の可逆的な減少などの限られた軽度の変化がみられた以外，一般症状，体重，摂餌量，摂水量，眼検査，血液学的検査，血液生化学的検査等の臨床検査及び剖検，臓器重量，病理組織学的検査にも何ら薬物関連の変化はみられなかった。従って，無毒性量は100mg/kg/日と推定された。

2-5. マウスにおける4週間経口投与毒性試験（用量設定試験）

本試験は，マウスがん原性試験の用量設定のための13週間経口投与毒性試験のために実施された。

1群雌雄各12匹のマウスにリン酸オセルタミビルを0, 50, 250, 500, 1000, 1500mg/kg/日の用量で週7回，4週間経口投与を行なった。TK試験群を別途設けた。試験方法及び成績は「表ニ-9」に示す。

用量設定は，ラットにおけるリン酸オセルタミビルの4週間経口投与試験の成績　　　を参考に設定した。

投薬に起因する死亡例は1500mg/kg/日群の雌1例で，腎臓に変化（鉱質沈着，尿細管の拡張，乳頭壊死）がみられた。1500mg/kg/日群で血液学的及び血液生化学的検査パラメータの変化（雄の赤血球数・血色素量・血球容積の増加，Na・Cl の減少）及び病理組織学検査で腎臓及び脾臓に変化がみられたが，1000mg/kg/日以下の群では何ら薬物の影響はみられなかった。1500mg/kg/日群でみられた主な病理組織学所見は，腎皮質の変性及び再生性変化，尿細管の好塩基性変化を特徴とする腎臓病症の頻度と程度の増加（軽度）及び雄の脾臓における造血領域の増加（軽度）であった。無毒性量は1000mg/kg/日と推定された。

2-6. マーモセットにおける7日間経口投与毒性試験（予備試験）

本試験では塩酸オセルタミビルを被験薬物として用いた。最初に1群雌雄各2頭のマーモセットを用いて0, 100, 500, 2000mg/kg/日の用量で投与を開始した。しかし，500mg/kg/日以上群で嘔吐がみられ，2000mg/kg/日群では投与直後の著しい嘔吐，流涎がみられ，2日目の投与後に雌1例の瀕死屠殺例が発現したため，2000mg/kg/日の残り3例は投与を中止し，4日目に屠殺すると共に，0, 100, 500mg/kg/日群の投与は5日目より2分割投与（2時間間隔）とした。また，1000mg/kg/日群（雄のみ4頭）を追加し，初回投与を1日1回投与，それ以後の投与は2分割投与（2時間間隔）とした。試験方法及び成績は「表ニ-10」に示す。

2000mg/kg/日群（1日1回，最初の2日間のみ投与）では，投与直後に著しい嘔吐・流涎がみられ，雌1例は2日目に衰弱が激しく瀕死屠殺され，残り3例は4日目に屠殺された。この2日目の瀕死屠殺例には瀕死に関連した変化（総蛋白・アルブミン・Naの減少，GOT・ICDH・グルコース値の増加）がみられたが，残り3例の屠殺前（4日目）の臨床検査では異常はみられなかった。2000mg/kg/日群の病理組織学的検査では，全例の胃に変化（粘膜の出血,糜爛,潰瘍あるいは萎縮）がみられ，軽微な炎症を伴なっていた。2日目の屠殺例では十二指腸から空腸にまで及んでいた。100mg/kg/日群（5日目より2分割投与）では何ら変化はみられず，500mg/kg/日群（5日目より2分割投与）と1000mg/kg/日群（2日目より2分割投与）で投与直後に嘔吐（軽度～中等度）がみられたが，2分割投与により嘔吐の程度と頻度は減少した。病理組織学的には1000mg/kg/日群の雄1例に胃粘膜の萎縮が認められたのみであった。無毒性量は500mg/kg/日と推定された。

2-7. マーモセットにおける4週間経口投与毒性試験

1群雌雄各4～6頭のマーモセットにリン酸オセルタミビルを0, 100, 300, 1000mg/kg/日の用量で週7回，4週間経口投与を行なった(1日2回分割投与)。0及び1000mg/kg/日群の雌雄各2頭は2週間の回復試験に供した。TK試験群を別途設けた。試験方法及び成績は「表ニ-11」に示す。

投与用量は，マーモセットにおける7日間経口投与試験　　において，1000mg/kg/日の分割投与で忍容性が良かったこと，2000mg/kg/日で著しい嘔吐・流涎及び胃腸管障害がみられたことから，4週間投与には高用量を1000mg/kg/日とし，公比約3で中間量を300mg/kg/日，低用量を100mg/kg/日とし，嘔吐の頻度を減少すべく2分割投与とした。

死亡例はみられなかった。300mg/kg/日以上群に流涎，1000mg/kg/日群で嘔吐及び口角の発赤が散見さ

れたのみで，病理組織学的検査を含む各臨床検査において異常所見はみられなかった。上記変化は回復期間ではみられなかった。なお，ラットでみられたような腎臓の異常所見はマーモセットではみられなかった。無毒性量は1000mg/kg/日と推定された。

2-8. マーモセットにおける9ヵ月間経口投与毒性試験

1群雌雄各5頭のマーモセットにリン酸オセルタミビルを0，50，200，1000mg/kg/日の用量で週7回，9ヵ月間（39週間）経口投与を行なった(1日2回分割投与)。1群雌雄各2頭は9週間の回復試験に供した。試験方法及び成績は「表ニ-12a」に示す。

投与用量は，マーモセットにおける4週間経口投与試験　　において，高用量1000mg/kg/日が2分割投与により忍容性が良かったこと，7 日間経口投与試験　　では高用量群で投与後の嘔吐が著しかったことを考慮して高用量を設定した。低用量は臨床用量で十分な効果のある治療域以上の血中濃度（AUC)が得られる用量で，無毒性量を確立するべく設定した。中間用量は高用量と低用量の等比中項である。

低用量の雌1例，中間用量の雄2例を瀕死屠殺したが，投薬に起因する死亡例はみられなかった。瀕死屠殺例は歩行異常，後肢浮腫(1例には後肢骨折を含む)，体重減少がみられた。これらではALPの高値がみられ，同施設の通常よりCa値が低く，剖検で特に頭蓋骨の軟化が認められた。病理組織学的には大腿の皮質骨の厚み減少，種々の骨に線維性骨吸収がみられた。以上は飼料中のビタミンD_3及びCaの不足が考えられ，充分なCa維持及びその骨沈着のためにビタミンD_3の要求量が高いと知られる飼育されているマーモセットに時折みられる典型的な骨軟化症の所見[1,2]であった。用量相関性はなく，試験開始前からの骨軟化症の可能性がみられたことから，薬物投与による直接的な死亡ではないと考えられた。また，臨床試験（高齢者を含む）においてはALPの上昇はみられなかった。
1000mg/kg/日群で嘔吐，流涎，雄の投与初期における体重減少（投与 8 週目までに回復）と雌の投与 13週以降の体重増加抑制 ，血液生化学的検査で総蛋白・アルブミン・Kの減少（極く軽度）及び尿量の増加（軽度)がみられたが，ラットでみられたような腎臓の異常所見はマーモセットではみられなかった。50，200mg/kg/日群では，何ら異常所見はみられなかった。なお，心電図検査において，投薬群の投与25週及び38週に用量相関性のない心拍数の減少傾向がみられた。上記変化は回復期間ではみられなかった。
無毒性量は200mg/kg/日と推定された。

本試験の高用量群（1000mg/kg/日）でみられた尿量の増加（軽度)及び血液生化学的検査での総蛋白・アルブミン・Kの減少(極く軽度)は，本薬投与の影響ではないと考えられた。

本試験における尿検査は，投与前，投与8，13，19，25，38週目及び回復期間終了時（48週目）に行った（尿量の測定は19週目より実施）。これらの尿検査に際しては，マーモセットを代謝ケージに移し，採尿の間（Overnight；17時間），餌と水を与えなかった。投与16～17週目に18時間尿量とその間の摂水量を測定した。採尿の間，水を与えなかった投与 19，25，38 及び 48 週目の検査では，高用量群（1000mg/kg/日）で 19 週及び 25 週に統計学的に有意な尿増加がみられたが，浸透圧に減少はなく，腎臓の濃縮能に悪影響の徴候はなかった。また，水を与えて実施した投与16～17週目の検査（身体的により正常状態に近い条件下）では，対照群と高用量群の尿量に統計学的に有意な差はみられなかった（摂水量の増加もみられなかった）。さらに，ラットの 6 ヵ月間試験では，1000mg/kg/日の特に雄に尿量増加がみられ，摂水量の増加と関連していたが，マーモセットでは摂水量の増加は観察されなかった。これらのことからマーモセットにおける19週，25週の統計学的に有意な尿量の増加は，本薬投与の影響ではないと考えられた（表ニ-12b）。

血液生化学的検査における1000mg/kg/日群の19週以降の総蛋白，アルブミン量，カリウム量の減少と

投与後の嘔吐との関連の可能性があるが，いずれも施設の背景データ内の値であった（表ニ-12c）。これらの変化がみられた投与用量は，臨床用量 75mg b.i.d，5 日間投与レジメに比較して，Ro64-0802 の曝露量で 100 倍高い投与用量であった。また，これらの変化の発現時期は，臨床での治療投与期間の約 26 倍長い反復投与後であった。

2-9. Ro64-0802 のラットにおける 2 週間静脈内投与毒性試験

1 群雄各 6 匹のラットに Ro64-0802 を 0，5，20，100mg/kg/日（フリー体換算）の用量で週 7 回，2 週間静脈内投与を行なった。TK 試験群を別途設けた。試験方法及び成績は「表ニ-13」に示す。

投与用量は Ro64-0802 の 5 日間の静脈内投与予備試験の結果をもとに設定した。高用量 100mg/kg/日は投与部位の障害なしに投与でき，ヒト静脈内投与試験において期待される血漿中濃度の 10～15 倍に相当する量である。低用量 5mg/kg/日は無作用量を確立するべく設定し，中間用量 20mg/kg/日は高用量と低用量の等比中項である。

死亡例はみられなかった。100mg/kg/日群の 1 例で喘鳴（急性出血性肺胞炎）がみられた。尿検査では 100mg/kg/日群で尿量の減少，尿中 NAG・クレアチニン・K の増加（極く軽度）及び Na の減少がみられた。病理組織学的検査では肺，腎臓にのみ異常所見がみられた。病理組織学的変化は，100mg/kg/日群の 1 例における腎臓髄質尿細管拡張（軽度）と 3 例における肺胞炎（喘鳴が観察された例を含む）であった。5，20mg/kg/日群では異常所見はみられなかった。無毒性量は 20mg/kg/日と推定された。

本試験の高用量群（100mg/kg/日）の 3/6 例に肺胞炎がみられ，2 例ではほとんどがマクロファージとリンパ球細胞からなる小さな炎症巣 1 つがみられただけであったが，他の 1 例にはより広範囲で，急性の出血性炎症がみられ，常在細菌の感染が疑われた。この動物は屠殺前日には喘鳴があった。

これら病変の原因について明確には分かっていないが，静脈内投与に際して起こる小さな肺動脈栓塞が炎症を引き起こしたと考えられる。静脈内投与に際して，静脈内に被毛片や組織片が入り，そしてこれらの断片が肺血管に捕獲され，血栓，血管周囲の肉芽腫，間質性肺炎を起こす可能性があることが Gopinath らによって報告されている[7]ことから本病変の 1 つの原因として，静脈内投与に際して投与薬液に起因しない小さな肺動脈栓塞が考えられたが，以下の示すように投与薬液の局所刺激性の可能性も考えられる。

リン酸オセルタミビルのラット経口投与試験での Ro64-0802 の曝露量は，肺に異常所見がみられない最高投与用量で比較すると，2 週間投与試験の 500mg/kg/日群で本試験の約 2.5 倍，4 週間投与試験の 1500mg/kg/日群で本試験の約 10 倍，ラット 6 ヵ月間投与試験の 1000mg/kg/日群で本試験の約 5 倍であった。また，動物種は異なるが，本試験と同じ投与容量（10mL/kg），投与速度（約 2mL/分）で実施した Ro64-0802 のマーモセット 2 週間静脈内投与試験の最高用量 50mg/kg/日群において，Ro64-0802 の曝露量が本試験の約 1.5 倍であるが肺に異常所見はみられていない。このことから本試験でみられた肺の所見は Ro64-0802 の全身を介した作用（Systemic effect）でないと考えられ，本試験に用いられた最高投与用量の投与薬液の濃度がマーモセット 2 週間静脈内投与試験の最高用量の 2 倍の濃度であること，本試験の肺の異常所見は高用量のみにみられていることから推察すると，本試験でみられた肺の所見は，上述した被毛片や組織片の混入ばかりではなく，投与薬液の局所刺激性（投与部位での血餅形成＝血液成分の凝集塊形成）による可能性も考えられる。

2-10. Ro64-0802 のマーモセットにおける 2 週間静脈内投与毒性試験

1 群雄各 3 頭のマーモセットに Ro64-0802 を 0，5，15，50mg/kg/日（フリー体換算）の用量で週 7 回，2 週間静脈内投与を行なった。TK 試験群を別途設けた。試験方法及び成績は「表ニ-14」に示す。

本試験は，リン酸オセルタミビルのマーモセットの経口投与試験における Ro64-0802 の曝露量より，およその安全域（>100 倍）は得られていたが，Ro64-0802 の単回静脈内投与によるヒトにおける絶対バイオアベイラビリティーを求める試験（ヒト BA 試験）におけるヒトでの安全性を再確認するために計画した試験である。用量設定は，マーモセットにおける Ro64-0802 の 5 日間の静脈内投与用量設定試験の結果から投与部位の障害なしに投与できる投与量として，高用量を 50mg/kg/日を設定し，公比約 3 で中間用量 15mg/kg/日，低用量 5mg/kg/日を設定した。高用量 50mg/kg/日は，ヒト静脈内投与試験において期待される血漿中濃度の 10 倍に相当する量であり，本試験の実施目的より用量設定は妥当であると考える。

なお，Ro64-0802 のラット 2 週間静脈内投与試験　　も本試験と同じ目的のために実施した試験である。

死亡例はみられず，一般症状，体重，摂餌量及び病理組織学的検査を含む各臨床検査において異常所見はみられなかった。無毒性量は 50mg/kg/日と推定された。

≪反復投与毒性試験でみられた主要な毒性所見及びヒトでの安全性評価≫

リン酸オセルタミビルに関する一連の反復投与毒性試験においてみられた主要な毒性所見は，ラットにおける腎臓障害（腎皮質・髄質の鉱質沈着等），マーモセットにおける嘔吐及び胃腸管障害であった。これら所見は，申請用量（オセルタミビルとして 75mg を 1 日 2 回）を投与したヒトで測定されたオセルタミビル及びその活性体である Ro64-0802 の全身曝露量（AUC）　　より十分高いレベルで観察された。全身曝露量（AUC_{0-24h}）でいえば，ラットの 6 ヵ月間投与試験における腎臓障害は，オセルタミビルに関しては 520 倍，Ro64-0802 に関しては 70 倍の曝露量で発現した。また，マーモセットの 9 ヵ月間投与試験における嘔吐は，オセルタミビルに関しては 200 倍，Ro64-0802 に関しては 100 倍の曝露量で発現した。

また，ラット及びマーモセットの反復経口投与毒性試験において，両種で投与時に流涎がみられた。

ラット及びマーモセットの流涎は主に薬液の味（苦い）によるもの，マーモセットにおける嘔吐は薬液の局所刺激性によるものと考える。

ラットにおける腎臓障害（腎皮質・髄質の鉱質沈着等）

ラットの反復投与試験において，1000mg/kg/日以上の高用量では，本薬の投与形態であるリン酸塩の高用量投与に起因する腎臓の腎皮質及び髄質の鉱質沈着（中等度～重度）が誘発され，また，慢性進行性腎症（加齢性の糸球体と尿細管の病変）を増加した　　。特にラットは飼料中のカルシウム/リン比のアンバランスに敏感であり，飼料中のカルシウム/リン比の減少（比が 1 以下）により腎臓の鉱質沈着が誘発されることが報告されている[3,4]。慢性進行性腎症は，通常この種に見られる病変で，本薬の投与により引き起こされた鉱質沈着に続発した変化と考えられる。これらの変化はラットに種特異的な変化であり，マーモセットにおいてはみられなかった。 また，ラットにおいては，腎臓の鉱質沈着及び慢性進行性腎症の所見と並行して，腎機能に関する検査パラメータの変化がみられた。 しかし，臨床試験では腎機能に関する検査パラメータに影響は全くみられなかった。

ラットの 6 ヵ月間投与試験で腎臓障害がみられた 1000mg/kg/日群の曝露量（AUC）は，申請用量を投与したヒトでのオセルタミビル及び Ro64-0802 の曝露量（AUC）のそれぞれ 520 倍，70 倍であった。さらに，本剤の申請用量投与により摂取されるリンの増加は，成人でのリン 1 日需要量（1～1.5g＝リン酸塩として 3～4.5g）[5] の約 2～3%と見込まれ，特に問題になるとは考えられない。なお，リン酸（H_3PO_4）は医薬品添加剤として使用されており，経口投与での 1 日最大使用量の前例は 225mg であり[6]，本剤の申請用量投与により投与されるリン酸の量はその約 20%である。

マーモセットにおける嘔吐及び胃腸管障害

マーモセットにおける胃腸管障害は，塩酸オセルタミビルの7日間経口投与試験（予備試験）の2000 mg/kg/日群にみられ，投与1，2日の投与直後に激しい嘔吐がみられ，胃腸管障害と死亡を伴った。500, 1000mg/kg/日群でも用量相関的な頻度で嘔吐がみられたが，2分割投与（投与薬液濃度が半分）することにより頻度・程度は減少し，胃腸管障害はみられなかった。また，2分割投与で実施した4週間及び9ヵ月間経口投与試験の1000（2×500）mg/kg/日群においても胃腸管障害はみられなかった。

マーモセットにおける嘔吐は，リン酸オセルタミビルの経口投与の500（2×250）mg/kg/日以上群でみられたが，活性体であるRo64-0802の静脈内投与では50mg/kg/日群まで2週間投与しても嘔吐はみられなかった。投与薬液濃度との関連はあるとしても，分割投与にすることにより明らかに頻度，程度は軽減した。9ヵ月間経口投与試験の1000mg/kg/日群では総投与回数の22%に嘔吐がみられ，その半数は投与後20分以内に発現していたが，投与開始4週間での発現は少なかった(11/5460回)。投与4週以降に増加する理由は分かっていないが，リン酸オセルタミビル及びその活性体の蓄積性は認められず，4週間及び9ヵ月間試験ともに剖検及び病理組織学的検査において消化管に変化はみられなかった。

マーモセットでの作用機序は明らかでないが，本薬の刺激性によるものと考えられる。なお，マーモセットの9ヵ月間投与試験で嘔吐がみられた1000（2×500）mg/kg/日群の曝露量（AUC）は，申請用量（75mg bid）を投与したヒトでのオセルタミビル及びRo64-0802の曝露量（AUC）のそれぞれ200倍，100倍に相当する量であった。

臨床に用いられるリン酸オセルタミビルの75mgカプセルで臨床と同じ投与方法（75mg bid）で実施したイヌの7日間消化管耐薬性試験　　では，嘔吐の発現はなく，また，胃腸管に組織学的傷害もみられなかった。

ヒトでの消化管障害（嘔気，嘔吐）

ヒトでの消化管障害（嘔気，嘔吐）は，対照群を上回るが臨床試験で一貫してみられた有害所見であった。これらは初回投与後に短時間みられただけで，全試験を通して嘔気・嘔吐の発現の頻度は約9%であった　　。

臨床試験では対照群に比較して嘔気，嘔吐に発生頻度がわずかに増加したが，マーモセットとは異なり，しばしば投与初日にのみみられただけであった。おそらく，ヒトはリン酸オセルタミビルの嘔吐作用に対し，少なくとも一部には精神的要因があり，マーモセットより感受性が高いと考えられる。また，ヒトでは投与回数が増すにつれ，頻度は増加するというよりも，むしろ減少傾向があった。これらのマーモセット及びヒトでの違いは，種間の機序の差異があると考えられる。マーモセットでは試験していないが，ヒトにおいては投与前の食事により嘔気，嘔吐の緩和がみられた。さらに，食事による薬物血中濃度への影響はなかった。これらのことから，ヒトにおける嘔気，嘔吐は主に消化管での局所作用に関連したものと考えられた。しかしながら，臨床におけるこの副作用は強い影響ではなく，イヌにおける7日間消化管耐薬性試験　　で何も影響がなかったことを考慮すると，ヒトの消化管粘膜に影響を与えるとは考えられない。

ラットにおける流涎，マーモセットにおける流涎，嘔吐の発現機作

マーモセットの毒性試験（経口投与）での流涎（300mg/kg/日以上）は，主に投与中及び投与直後にみられた。時折り，味の悪い薬液の投与を予期しての反射的反応と考えられる投与直前の流涎が認められた。ラットにおける流涎（250mg/kg/日以上）もまた，投与時に関連していた。本薬は苦みを有することから，ラット及びマーモセットにおける流涎は主に薬液の味（苦い）によるものと考える。

マーモセットでみられた嘔吐(500mg/kg/日以上)は，マーモセットの7日間投与試験　　の2000mg/kg/

日群で胃腸管障害と関連して最も著しく，嘔吐の発生頻度及び程度の減少は 1000mg/kg/日を 500mg/kg/回の 2 回に分割投与し，かつ，その薬物濃度を半量にすることにより減少した（薬液濃度を 100mg/mL から 50mg/mL にした。投与容量は一定（10mL/kg）とした）。また，ウサギを用いたリン酸オセルタミビルの眼粘膜一次刺激性試験（原体 0.1g を適用）　　　において，角膜の障害（極く軽度），結膜の充血，浮腫，分泌物がみられ，本薬が粘膜に対して刺激性を示すことが明らかになっている。さらに，ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験　　　の用量設定試験において，5.01mg/mL の濃度で溶血がみられ，リンパ球の分裂像はみられなかった（薬物処理時間：21 時間）。これらのことから，マーモセットにおける嘔吐は主に薬液の局所刺激性によるものと考える。しかし，上述したように 9 ヵ月間経口投与試験において，嘔吐が投与 4 週以降に増加する理由は明らかではない。

安全域

ラットの 6 ヵ月間投与試験における毒性発現用量（200mg/kg/日）及びマーモセットの 9 ヵ月間投与試験における毒性発現用量（1000mg/kg/日）は本薬のヒトで予定されている投与用量（約 3.3mg/kg/日；ヒト体重 60 kg で計算）のそれぞれ約 60 倍，約 300 倍の投与用量であった。

また，これら毒性試験の毒性発現用量におけるオセルタミビル及び Ro64-0802 の曝露量（AUC_{0-24h}）は，本薬 98.5mg（オセルタミビルとして 75mg）を 1 日 2 回投与したヒトの曝露量（AUC_{0-24h}）のラットではそれぞれ 80 倍，11 倍，マーモセットではそれぞれ 200 倍，100 倍であった。

なお，上述したようにラットの 6 ヵ月間投与試験の毒性発現用量（200mg/kg/日）における Ro64-0802 の曝露量より求めた安全域は 11 倍であったが，この 200mg/kg/日群での毒性所見はいずれもごく軽度であり，明らかな毒性（腎臓障害）がみられた投与用量は 1000mg/kg/日であり，その投与用量での Ro64-0802 の曝露量（AUC_{0-24h}）は，ヒトの 70 倍であった。従って，ラットの 6 ヵ月間投与試験における Ro64-0802 の曝露量より求められる安全域は，実質的には 70 倍と考えられる。また，ラットにおける腎臓障害（腎皮質・髄質の鉱質沈着等）は，この種に特異的な変化であり，マーモセットのいずれの毒性試験においてもみられず，臨床試験においても腎機能に関する検査パラメータに影響は全くみられなかった。

<引用文献>

1) Hatt J-M and Sainsbury AW. : Unusual case of metabolic bone disease in a common marmoset (Callithrix Jacchus). Veterinary Record 1998;143:78-80
2) Yamaguchi A et al. Bone in the marmoset: A resemblance to vitamin D-dependent rickets, Type II. Calcif Tissue Int. 1986;39:22-27
3) Clapp MJL: The effect of diet on some parameters measured in toxicological studies in the rat, Lab. Animals 1982:14:253-261
4) Ritskes-Hoitinga J et al.: Nutrition and kidney calcification in rats, Lab. Animals 1989:23:313-318
5) 河合忠ら：LABORATORY MEDICINE 異常値の出るメカニズム ＜第 2 版＞，p 120，医学書院，1991
6) 日本医薬品添加剤協会 編：医薬品添加物事典，p149，薬事日報社，1994
7) Gopinath, Prentice & Lewis : Atlas of Experimental Toxicological Pathology (vol 13 of Current Histopathlology, ed G A Gresham), MTP Press, Lancaster, England, 1987

表ニ-5　ラットにおける2週間経口投与毒性試験

報告者（実施施設）		（　　　　　　，カナダ国）			
試験方法	動物	SD(CD)ラット，約7週齢，体重：雄184～233g，雌143～182g， 1群雌雄各10匹＋TK試験用動物として雄24匹(1群8匹)，雌8匹(高用量)			
	薬物	リン酸オセルタミビル（溶媒：滅菌水）			
	投与経路・方法	経口投与（強制）			
	投与量	0（溶媒），125，500，2000 mg/kg/日，　投与容量：10 mL/kg			
	投与期間	14日間（2週間）			
試験成績	投与量（mg/kg/日）	0	125	500	2000
	死亡数	0	0	♂1例 (採血過誤)	♂1例(採血過誤) ♀1例(投与3日目)
	一般症状	—	—	流涎#	流涎#，尿道口周囲の汚れ(投与8，9日より)
	体重a (g)	—	—	—	♂増加量↓
	♂ 1日	210.5	209.7	211.7	212.4
	♂14日	317.5	307.2	304.1	285.3**
	♀ 1日	159.5	159.1	162.1	160.2
	♀14日	198.1	197.4	204.5	193.0
	摂餌量a	—	—	—	↓(♀は投与1週のみ)
	血液学的検査a	—	—	♂白血球数・分葉核好中球数↑ (極軽度:生理的変動内)	♂白血球数・分葉核好中球↑，赤血球数・血色素量・血球容積・赤血球分布幅↑(軽度:生理的変動内)
	白血球数($10^3/\mu L$)♂	10.2±2.87	10.2±1.25	11.0±3.54	13.0±4.22
	♀	6.4±2.35	7.6±1.66	7.5±3.12	8.2±1.96
	血液生化学的検査a	—	—	—	尿素窒素(BUN)・ｸﾞﾙｺｰｽ・総蛋白・Ca・P・ｸﾞﾛﾌﾞﾘﾝ・ｺﾚｽﾃﾛｰﾙ↑(軽度)，Na・K・Cl↓(軽度:生理的変動内)
	BUN値(mg/dL)♂	12.2±1.51	12.2±1.84	13.8±1.79	18.1±3.27**
	♀	14.1±1.92	15.5±2.55	14.6±2.15	19.2±4.56**
	P値(mg/dL)♂	9.87±0.618	9.93±0.436	10.17±0.786	10.65±0.722*
	♀	8.96±0.719	9.47±0.990	9.45±0.680	10.69±1.871**
	剖検	—	—	—	—
	臓器重量a	—	—	♀肝臓↑(軽度；相対重量)	♀肝臓↑(軽度;相対重量)， 腎臓↑(軽度;相対重量)
	病理組織学的検査	—	—	—	死亡例：肺充血・浮腫 腎臓：♂8/10例で髄質尿細管鉱質沈着（軽～中等度），肺：肺胞マクロファージ集簇（軽～中等度）
	TK試験				
	Ro64-0802 Cmax（μg/mL）	1日目	5.03	21.9	39.9(♂55.9，♀23.9)
		14日目	6.15	21.7	62.7(♂74.5，♀50.7)
	Ro64-0802 AUC_{0-24h}（μg.h/mL）	1日目	25.2	135	526(♂642，♀398)
		14日目	37.2	168	731(♂843，♀615)
無毒性量		500 mg/kg/日			

—：特記すべき所見なし，↑：増加，↓：減少　　　　　　　　　　　　　　　　　　（平均値±S.D.）
#：投与薬液の刺激性によるものと考えられる。
統計学的処理；a:Bartlett検定，ANOVA＋Dunnett検定/Kruskal-Wallis検定＋Dunn検定
*:$p<0.05$　**:$p<0.01$

表二-6　ラットにおける4週間経口投与毒性試験

	報告者（実施施設）	（イギリス・　　　　）			
試験方法	動物	SD（CD)ラット，7～8週齢，体重：雄248～292g，雌182～224g， 1群雌雄各12匹（1群雌雄各2匹のTK試験動物を含む）			
	薬物	リン酸オセルタミビル（溶媒：酢酸緩衝液，pH 4）			
	投与経路・方法	経口投与（強制）			
	投与量	0（溶媒），50，250，1500 mg/kg/日，投与容量：10 mL/kg			
	投与期間	4週間，回復試験：2週間（1群雌雄各2匹）			
試験成績	投与量（mg/kg/日）	0	50	250	1500
	死亡数	♂1例 （誤投与）	0	0	♀1例 （誤投与）
	一般症状	—	—	流涎#	流涎#，立毛(♂2例)
	体重 [a]				
	摂餌量 [a]				
	摂水量 [a]	—	—	—	↑（軽度）
	眼検査	—	—	—	—
	血液学的検査 [b]				♂白血球数↑ （軽度：リンパ球・好中球・単球↑）
	血液生化学的検査 [b]	—	—	—	♂尿素↑
	尿素値(mM/L)♂	5.1±0.67	5.6±0.64	5.2±0.68	7.2±1.04***
	♀	7.8±3.39	5.9±1.02	5.7±0.75	6.2±0.86
	尿検査 [b]				NAG↑，pH↓，蛋白↑ （いずれも軽度）
	NAG値(IU/mL)♂	1406±373.9	1477±313.7	1420±503.9	2160±568.6***
	♀	1376±244.9	1306±290.6	1407±308.5	2182±399.4***
	剖検	—	—	—	—
	臓器重量 [b]	—	—	—	腎臓相対重量↑（軽度） ♂22%増加，♀14%増加
	病理組織学的検査			腎臓尿細管：好塩基性変化（♂5/8例，一側性，限局性で対照群と区別しにくい程度）	腎臓尿細管：鉱質沈着（♂7/8例，♀8/8例），好塩基性変化（♂♀各8/8例），拡張，顆粒円柱（両側性で多巣性の変化）
	回復試験	—	—	—	腎臓尿細管の鉱質沈着は同様にみられたが，好塩基性変化は回復傾向，拡張，顆粒円柱は完全に回復。
	ＴＫ試験				
	Ro64-0802 Cmax (ng/mL)	1日目 29日目	3150 4720	17300 14400	48700 54000
	Ro64-0802 AUC_{0-24h} (μg.h/mL)	1日目 29日目	10.3 13.2	94.4 106	544 603
無毒性量		250 mg/kg/日			

—：特記すべき所見なし，↑：増加，↓：減少，NAG：N-acetyl-β-D-glucosaminidase　　（平均値±S.D.）
#：投与薬液の刺激性によるものと考えられる。
統計学的処理；a: Student t検定
b: Bartlett検定，ANOVA＋Student t検定/Kruskal-Wallis検定＋Dunn検定
***:p<0.001

表ニ-7　ラットにおける6ヵ月間経口投与毒性試験

報告者（実施施設）		（アメリカ・　　）			
試験方法	動物	SD（CD）ラット，6週齢，体重（平均）：雄 205g，雌 144g， 1群雌雄各20匹 + TK 試験動物として1群雌雄各8匹			
	薬物	リン酸オセルタミビル（溶媒：酢酸緩衝液，pH 4）			
	投与経路・方法	経口投与（強制）			
	投与量	0（溶媒），50，200，1000 mg/kg/日，　投与容量：10 mL/kg			
	投与期間	27週間，回復試験：8週間（1群雌雄各5匹）			
試験成績	投与量（mg/kg/日）	0	50	200	1000
	死亡数	薬物関連なし（薬物の誤投与）			
		0	♂1例，♀1例	♂3例	♂3例，♀1例
	一般症状	黄色または茶褐色の肛門周囲の汚れ（投与6週以降の投与期間中）			
		♀1例	—	♂2例	♂17例，♀15例
	体重 [a]				
	摂餌量 [a]				
	摂水量 [c] (g)	—	—	—	↑（特に♂）
	26週（172日）♂	41.23±14.04	35.72±17.85	35.15±9.83	54.27±13.70**
	♀	46.34±12.25	47.15±11.37	43.92±16.82	43.40±9.47
	眼検査	—	—	—	—
	神経学的検査	—	—	—	—
	血液学的検査 [b]	—	いずれもごく軽度～軽度な変化		
			♂白血球数↑	♂白血球数↑	♂白血球数↑，♂血小板数・赤血球分布幅↑（軽度;14・26週）
	白血球数（$10^3/\mu L$）♂	7.9±1.6	10.0±2.2*	9.5±2.1	10.9±2.6**
	（182日）♀	5.6±1.2	5.4±1.3	5.5±1.4	6.6±2.3
	血液生化学的検査 [b]	—	いずれもごく軽度～軽度な変化		
			♀グロブリン↑・A/G比↓	♀グロブリン↑・A/G比↓	コレステロール・総蛋白・Mg・グロブリン↑，Cl↓ ♂：ビリルビン・尿素窒素（BUN）・クレアチニン・アルブミン↑，Na↓ ♀：ALP・P↑，A/G比↓
	グロブリン（g/dL）♂	2.5±0.2	2.6±0.3	2.5±0.2	2.8±0.3**
	（182日）♀	1.9±0.3	2.2±0.3**	2.5±0.3**	2.5±0.3**
	BUN値（mg/dL）♂	14.4±3.3	14.5±3.5	14.7±3.3	24.5±6.5**
	（182日）♀	11.9±1.3	11.8±1.8	12.4±1.5	16.9±3.3**
	P値（mg/dL）♂	5.8±0.5	5.6±0.4	5.6±0.4	5.7±0.6
	（182日）♀	4.0±0.8	4.3±0.5	4.3±0.5	4.8±0.7**
	尿検査 [b, c]	—	—	♂P・Ca・Mg↑（7・14週）	pH↓，尿量↑，クレアチニン↓，P・Na・Cl↑，NAG/クレアチニン比↑ ♂：Ca・Mg↑　♀：K↑
	尿量（mL）♂	16.4±8.8	22.4±14.1	17.8±7.6	27.8±8.7*
	（182日）♀	18.3±9.2	16.6±9.0	14.8±6.4	22.2±11.2
	P値（mg/dL）♂	138.3±74.2	129.5±111.1	141.2±69.3	183.9±60.0
	（182日）♀	96.6±58.6	88.7±42.9	115.6±54.0	183.5±74.3**
	NAG/クレアチニン比♂	85.7±24.2	82.6±31.4	97.4±26.3	122.1±30.6**
	（182日）♀	122.0±34.2	122.1±24.0	110.3±28.7	176.2±42.9**

—：特記すべき所見なし，↑：増加，↓：減少，　NAG：N-acetyl-β-D-glucosaminidase　　（平均値±S.D.）

次ページにつづく

(つづき)

	投与量（mg/kg/日）	0	50	200	1000
試験成績	剖検	—	—	—	—
	臓器重量[a]			腎臓（相対重量）↑，♂腎臓（絶対重量）↑，♂肝臓(相対重量)↑	肝臓・腎臓・副腎（相対重量）↑，♂腎臓・副腎（絶対重量）↑
	病理組織学的検査	—	—	♀尿細管空胞化[#]	腎臓：♂尿細管上皮・基底膜・ボーマン嚢の変性および再生性変化，尿細管の空胞化・鉱質沈着(数例)，硝子円柱，♀尿細管の空胞化[#]・鉱質沈着(数例)
	回復試験	—	—	—	腎の病理組織変化は残存していたが，その他の変化は回復
	ＴＫ試験				
	Ro64-0802 Cmax（ng/mL）	0日 27週	2410 5480	10300 18800	27800 64700
	Ro64-0802 AUC_{0-24h}（μg.h/mL）	0日 27週	8.95 14.0	48.5 85.2	258 600
無毒性量		50 mg/kg/日			

—：特記すべき所見なし，↑：増加 (平均値)

#：尿細管の空胞化は，組織標本作製過程のアーチファクトと評価された。

統計学的処理；a:F検定 + standard t検定/Modified t検定

b:Levence検定，ANOVA + Dunnett検定/Kruskal-Wallis検定

c:Student t検定 *:p<0.05 **:p<0.01

表二-8　ラットにおける6ヵ月間経口投与毒性試験（追加試験）

報告者（実施施設）		（アメリカ・　　　）	
試験方法	動物	SD(CD)ラット，約6週齢，体重(平均)：雄 199g，雌 148g， 1群雌雄各20匹 + TK試験動物として1群雌雄各8匹	
試験方法	薬物	リン酸オセルタミビル（溶媒：酢酸緩衝液，pH 4）	
試験方法	投与経路・方法	経口投与（強制）	
試験方法	投与量	0（溶媒），100 mg/kg/日，投与容量：10 mL/kg	
試験方法	投与期間	27週間，回復試験：8週間（1群雌雄各5匹）	
試験成績	投与量（mg/kg/日）	0	100
試験成績	死亡数	♂2例(誤投与)	0
試験成績	一般症状	—	—
試験成績	体重[a]		
試験成績	摂餌量[a]		
試験成績	摂水量[c]		
試験成績	眼検査	—	—
試験成績	神経学的検査	—	—
試験成績	血液学的検査[b]		
試験成績	血液生化学的検査[b]		
試験成績	尿検査[b,c]		Na・Cl↓，K↓(♀)
試験成績	Na(mM/L) ♂ (182日) ♀	32±13 34±18	22±12* 20±7*
試験成績	Cl(mM/L) ♂ (182日) ♀	22±11 27±14	14±7* 16±7*
試験成績	K(mM/L) ♂ (182日) ♀	107.2±43.4 104.2±40.3	102.1±39.6 91.5±45.7
試験成績	剖検	—	—
試験成績	臓器重量[a]		
試験成績	病理組織学的検査	—	—
試験成績	回復試験	—	—
試験成績	ＴＫ試験		
試験成績	R64-0802 Cmax (ng/mL)	0日 189日	5640 11400
試験成績	R64-0802 AUC_{0-24h} (μg.h/mL)	0日 189日	20.0 37.1
無毒性量		100 mg/kg/日	

—：特記すべき所見なし，　↓：減少，　　　　　　　　　　　　　　　　（平均値±S.D.）

統計学的処理；a:F検定 + standard t検定/Modified t検定

b:Levence検定，ANOVA + Dunnett検定/Kruskal-Wallis検定

c:Student t検定　　　　　*:p<0.05

表ニ-9 マウスにおける4週間経口投与毒性試験（用量設定試験）

報告者（実施施設）		(，イギリス国)					
試験方法	動物	CD-1マウス，6週齢，体重：雄 約32.5g，雌 約25.5g，1群雌雄各12匹 （別途，TK試験群を設定）					
	薬物	リン酸オセルタミビル（溶媒：酢酸緩衝液，pH 4）					
	投与経路・方法	経口投与（強制）					
	投与量	0（溶媒），50，250，500，1000，1500 mg/kg/日， 投与容量：10 mL/kg					
	投与期間	4週間					
試験成績	投与量（mg/kg/日）	0	50	250	500	1000	1500
	死亡数	♀1例	0	♂5例 ♀1例	0	♂2例 ♀1例	♂1例 ♀2例
		薬物に起因した死亡例は1500mg/kg/日群の雌1例（腎臓病変）のみ （誤投与：7例，死因不明：4例，皮膚病変：1例）					
	一般症状	—	—	—	—	—	—
	体重 [a]						
	摂餌量 [a]						
	血液学的検査 [a]						♂赤血球数・血色素量・血球容積↑（軽度）
	血液生化学的検査 [a]						♂ Na・Cl↓
	尿検査 [a]						
	剖検	—	—	—	—	—	—
	臓器重量 [b]						
	病理組織学的検査	1000 mg/kg/日以下群：— 1500 mg/kg/日群： 死亡例（薬物死の雌1例）：皮質・髄質の鉱質沈着，尿細管の拡張，乳頭壊死 生存例：腎臓病症（腎皮質の変性および再生性変化，尿細管の好塩基性変化）の頻度・程度の増加（軽度），♂脾臓の造血領域の増加（軽度）					
	TK試験(28日目，平均値)						
	Ro64-0802 Cmax（ng/mL）	♂ ♀	14270 13350	40270 54310	48460 63810	82310 79100	118700 175700
	Ro64-0802 $AUC_{0\text{-}24h}$（μg. h/mL）	♂ ♀	25.25 13.09	119.5 94.54	210.9 192.1	567.4 436.1	945.7 747.7
無毒性量		1000 mg/kg/日					

—：特記すべき所見なし，↑：増加，↓：減少

統計学的処理；a: Levence検定，ANOVA + Dunnett検定

b: Levence検定，ANCOVA＋Dunnett検定

表ニ-10　マーモセットにおける7日間経口投与試験(予備試験)

報告者(実施施設)		(イギリス・　　　　)				
試験方法	動物	マーモセット，16～23ヵ月齢，体重：318～469 g， 1群雌雄各2頭(1000 mg/kg/日は雄4頭)				
	薬物	塩酸オセルタミビル (溶媒：CMC/Tween 80 水溶液)				
	投与経路・方法	経口投与(強制：1日1回投与および1日2回投与) 1日1回投与：0，100，500 mg/kg/日群は最初の4日間，1000 mg/kg/日は初日のみ，2000 mg/kg/日群は最初の2日間，その後，2時間間隔で2分割投与。但し，2000 mg/kg/日群は最初の2日間のみ投与				
	投与量	0 (溶媒)，100，500，1000，2000 mg/kg/日，　投与容量：10 mL/kg				
	投与期間	7日間				
試験成績	投与量(mg/kg/日)	0	100	500	1000	2000
	死亡数	0	0	0	0	♀1例：死亡 (瀕死屠殺) (2日目，投与後1時間) 他の生存例：4日目に屠殺解剖
	一般症状	—	—	嘔吐(軽度～中等度)# 2分割投与により嘔吐 (投与後30分～2時間) の頻度・程度ともに軽減		嘔吐(強度)#，流涎# 2日死亡例： 虚脱，睡眠，行動低下
	体重[a]	↓ (対照群を含む)				
	平均値(g) 1日	374	381	363	369	366
	2日	/	/	/	/	361
	4日	/	/	/	/	354
	8日	355	366	352	347	/
	摂餌量[b]	—	—	—	—	—
	摂水量[b]					
	血液学的検査[b]	軽度の貧血(赤血球・血色素量・血球容積↓)が全群でみられたが，対照群と投薬群間で大差なく，頻回のTK採血によるものと推定される。				
	血液生化学的検査[b]					2日死亡例:GOT・ICDH・ｸﾞﾙｺｰｽ ↑，総蛋白・ｱﾙﾌﾞﾐﾝ・Na↓ 4日解剖例：—
	尿検査[b]					
	剖検	—	—	—	♂1例：胃粘膜表面赤色化	2 日死亡例：胃粘膜表面赤色化，粘調・澄明液を含む小腸の膨張 4日解剖例：胃粘膜の赤色化
	臓器重量[a]	—	—	—	—	—
	病理組織学的検査	—	—	—	♂1例：胃粘膜萎縮	胃粘膜に亜急性炎症を伴なう変性性変化(粘膜出血・糜爛・潰瘍・萎縮)，2 日死亡例ではさらに十二指腸～空腸まで変化
	血中濃度 (1日目と7日目)	・オセルタミビルとRo 64-0802の曝露量に雌雄差はみられなかった。 ・1000 mg/kg/日群では，オセルタミビルとRo 64-0802の曝露量は7日目に比較して1日目が低かった。 ・1日目のRo 64-0802の曝露量は用量比より低かった。 ・7日目のオセルタミビルの曝露量は用量にほぼ比例した増加を示した。 ・7日目のRo 64-0802の曝露量は用量比より高かった。				
結論		本剤の経口投与による唯一の毒性は，1000および2000 mg/kg/日でみられた胃腸管の変化であった。この変化は嘔吐により増強され，薬物の直接作用と考えられる。				
無毒性量		500 mg/kg/日				

—：特記すべき所見なし　↑：増加　↓：減少　/：測定せず　　ICDH: イソクエン酸脱水素酵素
#：投与薬液の刺激性によるものと考えられる。
統計学的処理；a: Student t 検定
b: Bartlett 検定，ANOVA＋Student t 検定/Kruskal-Wallis 検定＋Dunn 検定

表二-11　マーモセットにおける4週間経口投与毒性試験

報告者（実施施設）		（　　　　　　　　　　　　，ドイツ国）				
試験方法	動物	マーモセット，約1～5才，体重：雄310～470g，雌230～440g， 1群雌雄各6頭（100及び300 mg/kg/日群は1群雌雄各4頭）＋ TK試験用動物（100，300 mg/kg/日群は雄各2頭，1000 mg/kg/日群は雌雄各2頭）				
	薬物	リン酸オセルタミビル（溶媒：滅菌水）				
	投与経路・方法	経口投与（強制；嘔吐の発現を少なくするために2時間間隔で2分割投与）				
	投与量	0（溶媒），100（2×50），300（2×150），1000（2×500）mg/kg/日， 投与容量：10 mL/kg				
	投与期間	4週間　　回復試験：2週間（対照群及び高用量群；1群雌雄各2頭）				
試験成績	投与量（mg/kg/日）	0	100（2×50）	300（2×150）	1000（2×500）	
	死亡数	0	0	0	0	
	一般症状	—	—	流涎#散見	流涎#・嘔吐#，口角の発赤§	
	体重[a]					
	摂餌量[a]					
	心電図[b]					
	血液学的検査[b]					
	血液生化学的検査[b]					
	剖検	—	—	—	—	
	臓器重量[a]					
	病理組織学的検査	—	—	—	—	
	回　復　試　験	—	／	／	—	
	TK試験（平均値）		♂	♂	♂	♀
	オセルタミビル Cmax（ng/mL）	1日 28日	2870 2620	13200 4020	10100 14100	13100 10500
	オセルタミビル AUC_{0-24h}（μg.h/mL）	1日 28日	11.4 8.33	55.8 26.6	83.8 69.7	97.3 89.3
	Ro 64-0802 Cmax（ng/mL）	1日 28日	9730 8280	26400 27000	86800 125000	60200 75400
	Ro 64-0802 AUC_{0-24h}（μg.h/mL）	1日 28日	40.3 47.0	176 212	614 765	456 920
無毒性量		1000 mg/kg/日				

—:特記すべき所見なし　　　　　／：実施せず
#：投与薬液の刺激性によるものと考えられる。
§：薬物の直接的な局所刺激性ではなく，かゆい，引掻くなどによる二次的なもの。
統計学的処理；a; Bartlett検定，ANOVA＋Dunnett検定/Kruskal-Wallis検定＋Wilcoxonの順位和検定
　　　　　　b; 順位変換＋aの検定

表ニ-12a　マーモセットにおける9ヵ月間経口投与毒性試験

報告者（実施施設）		（イギリス・　　　　）			
試験方法	動物	マーモセット，19〜24ヵ月齢，体重：雌雄286〜479g，1群雌雄各5頭			
	薬物	リン酸オセルタミビル　（溶媒：酢酸緩衝液，pH 4）			
	投与経路・方法	経口投与（強制；嘔吐の発現を少なくするために2時間間隔で2分割投与）			
	投与量	0（溶媒），50（2×25），200（2×100），1000（2×500）mg/kg/日， 投与容量：10 mL/kg			
	投与期間	39週間 回復試験：9週間（1群雌雄各1〜2頭；200 mg/kg/日群の雄は除く）			
試験成績	投与量（mg/kg/日）	0	50(2×25)	200(2×100)	1000(2×500)
	死亡数	薬物関連の死亡なし			
		0	♀1例 (117日瀕死屠殺)@	♂2例 (各114，180日瀕死屠殺)@	0
	一般症状	—	—	—	流涎#，嘔吐#
	体重 a	—	—	—	♂↓（投与初期；投与8週までに回復） ♀増加量↓（13週以降）
	摂餌量	—	—	—	—
	摂水量	—	—	—	—
	心電図 a				
	心拍数(回/分)		心拍数↓(25週，38週；用量相関性のない軽度の変化)		
	投与前	410.6	410.8	397.8	416.3
	8週	360.1	/	/	364.0
	13週	358.4	/	/	353.9
	25週	366.3	331.4	343.9	328.9
	38週	351.7	322.6	313.0	328.1
	48週(回復試験)	360.5	390.0	359.0	376.8
	眼検査	—	—	—	—
	血液学的検査 b				
	血液生化学的検査 b (雌雄の平均値)	—	—	—	総蛋白・ｱﾙﾌﾞﾐﾝ・K↓ (極く軽度；19週，25週，38週)
	総蛋白(g/L)38週	75	75	78	71*
	ｱﾙﾌﾞﾐﾝ(g/L)38週	60	58	61	53**
	K(mM/L)38週	5.2	4.7	4.8	4.4*
	尿検査 b	—	—	—	尿量↑(軽度；19・25・38週)
	尿量(mL) 19週	2.4	2.3	3.2	5.5**
	剖検	—	—	—	—
	臓器重量 a				
	病理組織学的検査	—	—	—	—
	回　復　試　験	—	—	—	—
	ＴＫ試験				
	オセルタミビル Cmax (ng/mL)	1日 267日	1280 1590	2980 2980	9290 10900
	オセルタミビル $AUC_{0\text{-}24h}$ (μg.h/mL)	1日 267日	3.85 3.03	10.5 7.06	49.1 71.2
	Ro64-0802 Cmax (ng/mL)	1日 267日	7970 7050	25600 27700	79300 103000
	Ro64-0802 $AUC_{0\text{-}24h}$ (μg.h/mL)	1日 267日	28.4 25.6	111 105	525 801
無毒性量		200 mg/kg/日			

—：特記すべき所見なし　↑：増加，↓：減少　/：実施せず　　　　(平均値)

@：飼育されている新世界ザルに時折みられる骨軟化症による瀕死

#：投与薬液の刺激性によるものと考えられる。

統計学的処理；　a: Student t 検定

b: Bartlett 検定，ANOVA＋Student t 検定/Kruskal-Wallis 検定＋Dunn 検定

*:P<0.05　**:P<0.01

表ニ-12b　マーモセットにおける9ヵ月間経口投与毒性試験
ー 尿量の経時的変化（mL）ー

投与量（mg/kg/日）	0	50(2×25)	200(2×100)	1000(2×500)
19週[a]	2.4±1.82 (0.5−7.0)	2.3±1.80 (0.5−5.0)	3.2±2.28 (1.0−8.0)	5.5±3.03** (2.0−12.0)
25週[a]	2.7±1.87 (1.0　7.0)	3.8±1.32 (2.0　6.0)	5.1±2.94* (2.0−11.0)	5.4±1.86** (2.0　7.0)
38週[a]	3.9±2.45 (0.5−8.0)	3.4±3.48 (0.5−5.0)	4.6±3.68 (0.5−10.0)	6.5±3.66 (2.0−13.0)
48週[a]	4.0±1.83 (2.0−6.0)	3.0±1.00 (2.0−4.0)	4.5±0.71 (4.0−5.0)	5.8±1.71 (4.0−8.0)
16/17週[b]	12.25±0.19 (1.5　37)	/	/	17.5±10.96 (4　38)

/：実施せず　　　　平均値±S.D.（最小値 − 最大値）

a：19，25，38，48週は17時間尿量，採尿の間，水を与えなかった。

b：16/17週は18時間尿量，採尿の間，水を与えた。

*:P<0.05　*:P<0.01

表ニ-12c　マーモセットにおける9ヵ月間経口投与毒性試験
ー英国　　施設内未処置マーモセットの血液生化学的検査背景値との比較ー

パラメータ	動物数	平均±S.D.（95%範囲）	マーモセット9ヵ月試験(38週)
総蛋白 g/L	403	78.85±5.50（67.85〜89.85）	71
アルブミン g/L	584	47.39±5.47（36.45〜58.33）	53
カリウム mmol/L	717	4.22 ±0.65（2.92〜5.53）	4.4

表ニ-13　Ro64-0802 のラットにおける 2 週間静脈内投与毒性試験

報告者（実施施設）		（イギリス・　　　　）			
試験方法	動物	雄 SD ラット，6 週齢，体重：202～241g，1 群各 6 匹 ＋TK 試験用動物（各 4 匹）			
	薬物	Ro64-0802（溶媒：生理食塩液，pH 5）			
	投与経路・方法	静脈内投与			
	投与量	0（溶媒），5，20，100 mg/kg/日（フリー体換算）　　投与容量：10 mL/kg			
	投与期間	2 週間			
試験成績	投与量(mg/kg/日)	0	5	20	100
	死亡数	0	0	0	0
	一般症状	—	—	—	1 例：喘鳴（14 日目；急性出血性肺胞炎）
	体重[a]				
	摂餌量	—	—	—	—
	摂水量	—	—	—	—
	血液学的検査[b]				
	血液生化学的検査[b]				
	尿検査[b]	—	—	—	尿量↓，NAG･クレアチニン･K↑ （極軽度；いずれも有意差なし） Na↓（特に 1 例）
	尿量(mL)	7.0	7.2	7.9	5.9
	NAG(IU/mL)	711	643	783	928
	クレアチニン(mM/L)	6.20	6.82	6.26	7.55
	K(mM/L)	160	156	164	186
	Na(mM/L)	54	65	67	47
	剖検	—	—	—	—
	臓器重量[b]				
	病理組織学的検査	—	／	／	3 例：肺胞炎（喘鳴が観察された例を含む） 1 例：腎臓髄質尿細管拡張（軽度）
	血中濃度(平均値) $AUC_{0-\infty}$ (μg･h/mL)	1 日目	1.84	8.55	53.9
無毒性量		20 mg/kg/日			

:特記すべき所見なし，　↑：増加，↓：減少，　／:実施せず　　　　　　　　　　　　　（平均値）

NAG：N-acetyl-beta-D-glucosaminidase

統計学的処理：a; Student t 検定

　　　　　　　b; Bartlett 検定，ANOVA＋Student t 検定

表ニ-14　Ro64-0802 のマーモセットにおける 2 週間静脈内投与毒性試験

報告者（実施施設）		（　　　　　）			
試験方法	動物	雄マーモセット，16～26 ヵ月齢，体重：276～372g，1 群各 3 頭 ＋ TK 試験用動物（各 2 頭）			
	薬物	Ro64-0802（溶媒：生理食塩液，pH 5）			
	投与経路・方法	静脈内投与			
	投与量	0（溶媒），5，15，50 mg/kg/日（フリー体換算）　　投与容量：10 mL/kg			
	投与期間	2 週間			
試験成績	投与量(mg/kg/日)	0	5	15	50
	死亡数	0	0	0	0
	一般症状	—	—	—	—
	体重	—	—	—	—
	摂餌量	—	—	—	—
	摂水量	—	—	—	—
	血液学的検査	—	—	—	—
	血液生化学的検査	—	—	—	—
	尿検査	—	—	—	—
	剖検	—	—	—	—
	臓器重量	—	—	—	—
	病理組織学的検査	—	—	—	—
	血中濃度(平均値) $AUC_{0-\infty}$ (μg·h/mL)	1 日目	5.39	16.5	84.0
無毒性量		50 mg/kg/日			

:特記すべき所見なし

統計学的検査：動物数が少ないことから実施せず

3. 生殖・発生毒性

リン酸オセルタミビルの生殖・発生毒性を確認するため，ICHガイドラインを基に，ラットの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（I試験），ラットの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（II試験），ラット及びウサギの胚・胎児発生に関する試験（III試験）を実施した。

3-1. ラットの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

1群雌雄各20匹のCDラットに，リン酸オセルタミビルを0（溶媒），50，250，1500mg/kg/日の用量で，雄については交配前28日間，交配期間中，交配期間終了後2週間まで，雌については交配前14日間，交配期間中，妊娠8日まで経口投与し，妊娠13日に帝王切開した。試験方法及び成績は「表ニ-15」に示す。

用量設定は，それまでに得られていたラットの毒性試験を基に，ラットの妊娠6～17日まで経口投与による生殖試験の用量設定試験（50，250，1500mg/kg/日）　　を実施し，母動物の250mg/kg/日以上群で体重増加量・摂餌量の軽度の減少がみられた以外に変化はみられず，妊娠パラメータ，胎児の外形に薬物関連の作用はみられなかったことから，本試験に用量設定試験と同用量を設定した。

本試験では，1500mg/kg/日群で投与後の流涎が顕著に増加し，被毛の粗剛，着色がみられた。250mg/kg/日群は投与後の流涎が軽度に増加した。1500mg/kg/日群では，雄の投与期間中に体重増加量の減少，雌の妊娠初期の体重増加量及び摂餌量の減少が認められた。雄には50，250mg/kg/日群でも投与5週以降に体重増加量の減少が認められた。投薬群では雌の交配前の性周期，雌雄の生殖能に影響はみられず，剖検所見に異常はなかった。その他，雄の精巣重量，雌の黄体数，着床数，胚の着床前・後損失率，生存胚数などの子宮内検査に薬物関連の影響はみられなかった。

以上より，親動物の一般毒性の無毒性量は雄で50mg/kg/日，雌で250mg/kg/日と推定された。雄50mg/kg/日では体重が軽度に減少したが，統計学的に有意差のみられたのは最終週のみであり，ラットの6ヵ月間反復投与試験における体重では最高用量1000mg/kg/日まで影響を受けておらず，無毒性量は50mg/kg/日と評価された結果を考慮し，本生殖試験の雄の一般毒性としての無毒性量は50mg/kg/日としても問題ないものと判断した。

なお，生殖能に対する雌雄親動物の無毒性量は1500mg/kg/日，胚の無毒性量は1500mg/kg/日と推定された。

3-2. ラットの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

ラットの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については，以下に詳述する3試験を総合して考察し，無毒性量は母動物・出生児ともに500mg/kg/日と評価した。

3-2-1. ラットの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

1群23～25匹のCDラットの妊娠雌に，リン酸オセルタミビルを0（溶媒），50，250，1500mg/kg/日の用量で，妊娠6日～分娩後20日まで経口投与した。試験方法及び成績は「表ニ-16」に示す。

用量設定は，ラットの妊娠6～17日まで経口投与による生殖試験の用量設定試験（50，250，1500mg/kg/日）　　を実施し，母動物の250mg/kg/日以上群で体重増加量・摂餌量の軽度の減少がみられた以外に変化はみられず，妊娠パラメータ，胎児の外形に薬物関連の作用はみられなかったことから，本試験に用量設定試験と同用量を設定した。

本試験では，1500mg/kg/日で妊娠末期または出産日（分娩中）に母動物25例中の3例が死亡，6例が瀕死屠殺された。1500mg/kg/日群の母動物では投与初期及び分娩後から4日目まで体重増加量が減少し，

投与期間中に摂餌量の減少がみられ，妊娠期間に影響はないものの，分娩時間の延長が明らかであった。1500mg/kg/日の出生児では 4 日までの生存率及び哺育率が減少し，離乳以降の体重増加量も軽度に抑制された。250mg/kg/日群では，分娩時間の延長(有意ではない)が認められたが，その他のパラメータに悪影響はみられなかった。

母動物の一般毒性に対する無毒性量は 250mg/kg/日と推定された。
生殖能に対する母動物の無毒性量は 250mg/kg/日，出生児の無毒性量は 250mg/kg/日と推定された。

3-2-2. ラットの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(追加試験)

1 群 12～16 匹の Wistar 系ラットの妊娠雌に，リン酸オセルタミビルを 0 (溶媒)，50，500，1500mg/kg/日の用量で妊娠 6 日～分娩後 21 日まで経口投与した。TK 試験群等を別途設けた。この試験の目的は，ラットの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(初回試験)における母動物死亡，分娩時間延長，出生児生存率低下などの影響の再現性の有無，及び生化学的検査，尿検査，病理組織学的検査を加えることにより，考えられる作用メカニズムを調べることである。試験方法及び成績は「表ニ-17」に示す。

用量設定は，高用量及び低用量は前述試験と同様各々1500mg/kg/日，50mg/kg/日を設定し，中間用量は初回試験の 2 倍の 500mg/kg/日を設定した。なお，1500mg/kg/日群については，妊娠 6 日～分娩後 21 日まで連日投与する群と，周産期の影響を考慮して妊娠 6～19 日までの投与群との 2 群を設けた。

高用量の 1500mg/kg/日群(連日投与)では，初回試験でみられたような母動物の死亡は再現されなかったが，分娩時間の軽度延長，親動物の哺育状態悪化で出生児生存率減少，出生児体重増加量の減少，発育分化の軽度遅延が認められた。この群では母動物の腎所見(尿細管の髄外鉱質化，塩基性尿細管の増加)を伴なっていた。なお， 1500mg/kg/日群で妊娠末期投与を中止した群では，ほとんどの毒性がみられなかった。生化学的検査では分娩や出生児生存率に影響するような明確な変化はなかった。初回試験と追加試験では，ラットの系統と一腹児数に差(追加；7 例，初回；12 例)があるが，追加試験では分娩末期の負荷が少なかったものと考えられた。500mg/kg/日では尿 Na，Cl の増加以外に特記すべき毒性はみられなかった。

以上より，母動物の一般毒性に対する無毒性量は 50mg/kg/日と推定された。
生殖能に対する母動物の無毒性量は 500mg/kg/日，出生児の無毒性量は 500mg/kg/日と推定された。

3-2-3. ラットの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(確認調査試験)

1 群 18～20 匹 (対照群は 30 匹) の CD ラットの妊娠雌に，リン酸オセルタミビルを 0 (溶媒)，500，1500-A,B,C,D(投与期間または方法が異なる) mg/kg/日の用量で基本的に妊娠 6 日～分娩後 21 日まで経口投与した。TK 試験群等を別途設けた。この試験の目的は，初回試験の母動物死亡を追加試験で確認できなかったため計画された。試験方法及び成績は「表ニ-18」に示す。

用量設定は，上記 2 試験を基に，高用量には母動物毒性の更なる確認調査のために 1500mg/kg/日を，追加試験の中間量として使用された 500mg/kg/日を本試験の安全域を増すために設定した。なお，高用量は母動物死亡を想定し，操作上の構成要素を考慮した試験を計画した。すなわち，1500-Amg/kg/日は妊娠 6 日～分娩後 21 日まで最新体重換算(C, D も同様)で投与，1500-Bmg/kg/日群は妊娠 6 日～分娩後 21 日までの投与のうち妊娠 14～21 日の期間を妊娠 14 日の体重で投与，1500-Cmg/kg/日群は妊娠 6 日から分娩後 21 日の投薬に加え，妊娠 21 日の午後 2 時に 10%グルコン酸カルシウム溶液を 1mL 静脈内注射，1500-Dmg/kg/日群は妊娠 6～17 日までの投与とした。

本試験は，初回試験と同施設で，同系ラットを用いたが，初回試験に使用した飼料(齧歯類用固形飼料 SQC Rat and Mouse No.3；Special Diet Services 社製)が同腹児損失総数の多くの例に関連 (1 腹児数が 10～60%減少) することが，同時期の多くの英国の試験施設で報告されたため，安全を見込んで動物生産所(齧歯類用固形飼料 UAR CRUK/VRF1；Charles River 社製)と同様の飼料を使用して実施した。

1500mg/kg/日の A,B,C,D の 4 群では，母動物の体重減少が投与開始初期に摂餌量抑制を伴なってみられた。母動物の 1 例に分娩後死亡がみられたが，初回試験でみられたような分娩の前日または分娩中の母動物死亡(9/25 例；3 例死亡，6 例瀕死屠殺)は認められなかった。これは，初回試験の飼育環境の疫学的調査から飼料に関連することが示唆された。また，1500-A,B,Cmg/kg/日群に分娩時間の延長は認められたが，出生児の生存率や体重に影響はみられなかった。1500-Dmg/kg/日群は妊娠 17 日に投与終了のため分娩時間に影響なく対照群と同様であった。1500-Cmg/kg/日群のグルコン酸カルシウム注射は分娩時間に影響しなかった。従って，グルコン酸カルシウム注射の効果はなかった。血漿中及び尿中の P 値増加は投与薬物の高い P 含有量(P イオン 24%)のためと考えられる。腎臓の Ca 維持・再吸収の増加は，胎児の骨格発達で要求の高い母体レベル維持のための妊娠動物に関連した正常な作用と考えられる。500mg/kg/日群では哺育率の低下がみられた以外に，対照群と差はみられなかった。一般毒性に対する無毒性量は 500mg/kg/日と推定された。また，哺育率の低下については，2 例の母動物で出生後 1 日までの全児損失が，数値に影響したものと考えられ，さらに背景値データの範囲であったことから 500mg/kg/日は生殖能に対して毒性はないものと考えられた。

生殖能に対する母動物の無毒性量は 500mg/kg/日，出生児の無毒性量は 500mg/kg/日と推定された。

以上 3 試験の結果より，ラットにおける本薬 1500mg/kg/日投与は初回試験の死亡の原因ではないが，分娩時間の延長に影響したと考えられた。なお，1500mg/kg/日はその血中濃度(AUC) から，活性体として臨床用量 (1 日 2 回 75mg) の 150 倍，本薬として 1000 倍の高用量に相当する。さらに 500mg/kg/日群はその血中濃度(AUC) から，活性体として臨床用量の 30～40 倍に相当するが，追加試験，確認調査試験の 2 試験において死亡例は認められなかった。

分娩時間の延長については，カルシウム拮抗剤，非ステロイド抗炎症剤，イミダゾール系抗真菌剤でも知られている作用であり，これらの薬物はプロスタグランディン合成の抑制による分娩困難によるもので，動物実験では難産による母動物死亡，分娩所要時間の延長，妊娠期間の延長，出産率の減少，出生児の哺育低下などが報告されている。本薬では 500mg/kg/日 (AUC で臨床用量の 30～40 倍) まで投与しても分娩時間の延長はみられず，妊娠期間にも影響なく，1500mg/kg/日(AUC で臨床用量の 150 倍)でみられた分娩時間の延長も，妊娠期間には影響を来すほどの作用はなく，毒作用の程度は低いものと推察された。

1500mg/kg/日群の F1 出生児の 4 日生存率及び哺育率の減少は，母動物の分娩時間の延長により状態が悪化したため，母動物の哺育行動の欠如したことによる二次的作用と考えられる。確認のために続いて実施された追加試験及び確認調査試験 におけるトキシコキネティクスにおいて母動物を介してみられたこの 4 日生存率及び哺育率の低下は，リン酸オセルタミビルの活性体 Ro64-0802 の臨床用量でみられた曝露量の 100 倍以上であった。

高用量 1500mg/kg/日群では F1 出生児の離乳後の体重に低値が認められ，発育の遅れ (雄での陰茎亀頭と包皮の分離が軽度遅延) がみられたが，通常，低体重の動物に陰茎亀頭と包皮の分離の遅延，または膣開口遅延は良くみられるものであることから，母動物の哺育行動が悪かったための二次的作用と考えられた。

ラット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　　　における1500mg/kg/日のF1出生児（少なくとも12週齢）の雄動物の腎臓重量の低値は，離乳後の体重に顕著な低値がみられたことによる。絶対重量に低値がみられたが，相対%（体重に対する腎臓重量）では有意でなかった。追加試験　　においては1500mg/kg/日の連投群に出生児F1（22日齢）の絶対重量低値がみられたが，相対%では有意差はみられなかった。従って，母動物への毒性（分娩延長による哺育状態の悪化）の二次的影響による出生児F1の体重低値が原因で腎臓絶対重量の低値を及ぼしたと考えられた。1500mg/kg/日であっても分娩から授乳期投与を休薬した群では，出生児F1の体重に影響はなかったため，腎臓重量に対照群と大差なかったものと考えられる。

3-3. 胚・胎児発生に関する試験

3-3-1. ラットの胚・胎児発生に関する試験

1群20～22匹のCDラットの妊娠雌に，リン酸オセルタミビルを0（溶媒），50，250，1500mg/kg/日の用量で，胎児の器官形成期（妊娠6～17日）に経口投与し，妊娠20日に帝王切開した。試験方法及び成績は「表ニ-19」に示す。

用量設定は，ラットの妊娠6～17日まで経口投与による生殖試験の用量設定試験（50, 250, 1500mg/kg/日）　　を実施し，母動物の250mg/kg/日以上群で体重増加量・摂餌量の軽度の減少がみられた以外に変化はみられず，妊娠パラメータ，胎児の外形に薬物関連の作用はみられなかったことから，本試験に用量設定試験と同用量を設定した。

本試験では，死亡例はみられなかった。1500mg/kg/日群で投与期間中に母動物の体重増加量・摂餌量が減少した。また，1500mg/kg/日群では胎児の第3胸骨骨化遅延が有意に増加したが，同腹児で他の骨化遅延のみられた例であり，この第3胸骨骨化遅延については毒性学的有意性と判断しがたい。その他，薬物に関連すると考えられる影響は見られなかった。

母動物の一般毒性に対する無毒性量は250mg/kg/日と推察された。

生殖能に対する母動物の無毒性量は250mg/kg/日，胎児の無毒性量は1500mg/kg/日と推定された。

3-3-2. ウサギの胚・胎児発生に関する試験

1群19～23匹のニュージーランド白色ウサギの妊娠雌に，リン酸オセルタミビルを0（溶媒），50，150，500mg/kg/日の用量で，器官形成期（妊娠6～18日）に経口投与した。TK試験群を別途設けた。試験方法及び成績は「表ニ-20」に示す。

用量設定は，以下の2試験を基に設定した　　　。

① 1群3匹を用いた非妊娠雌ウサギの10日間経口投与試験（耐薬性試験；0，50，250，1500mg/kg/日）において，1500mg/kg/日群で毒性が強かったため，さらに500，750mg/kg/日（7日間投与）を追加した結果，750mg/kg/日以上群で死亡が発現，用量相関性の体重・摂餌量減少，1500mg/kg/日群では胃腸障害がみられた。

② ①の結果を基に，胚・胎児発生に関する試験の予備試験として，1群6匹を用いた妊娠雌ウサギの胚・胎児発生に関する試験（0，50，250，500mg/kg/日；TK測定用に投薬群に1群各2匹を追加）を実施した。500mg/kg/日群で投与初期の体重増加量・摂餌量減少及び糞便の減少がみられた他には，500mg/kg/日群の1例に流産がみられ屠殺した例があったのみであり，帝王切開所見（着床前・後損失率，着床数，生存胎児数）及び胎児所見（体重，胎盤重量，性比，奇形）に薬物関連の作用は認められなかった。従って，発生毒性試験の高用量には，親動物に死亡はないが毒性の明らかな量として500mg/kg/日を設定し，以下公比約3で150，50mg/kg/日を設定した。

本試験では，投薬群に糞便量の減少が用量相関性にみられた。高用量500mg/kg/日群で2例に一般状態の悪化がみられ，瀕死屠殺(妊娠19，20日)した。この2例は妊娠していたが，胎児は全吸収であった。さらに500mg/kg/日群では5例を流産兆候後に屠殺したが，子宮内は死亡胎児または吸収であった。500mg/kg/日群には投与期間中の特に投与初期に著しい体重減少がみられ，摂餌量も投薬期間中は低下し，着床後損失率の増加がみられた。150mg/kg/日以下の群では流産兆候はみられず，150mg/kg/日群で投与期間中に体重増加量の抑制，軽度の摂餌量減少がみられたのみであった。また，胎児に関しては重大な奇形はみられなかったが，軽度な内臓異常として500mg/kg/日では左総頚動脈の無名動脈（腕頭動脈）からの起始異常が増加（正常の場合，右総頚動脈及び右鎖骨下動脈は大動脈から無名動脈を介して分岐し，左総頚動脈及び左鎖骨下動脈は大動脈から直接分岐しているが，本異常は，左総頚動脈が無名動脈を介して分岐している。），150mg/kg/日以上群で骨格変異(胸椎の増加，尾椎の減少，過剰13肋骨，13肋骨痕)の頻度増加がみられた。しかし，これらは母動物毒性に関連するもので，本薬の胎児に対する直接作用ではないと考えられ，催奇形性はないものと判断された。なお，これらの変化は，胎児発育に対して薬物の一時的な（短期間の）作用があったことを示唆していると考えられる。

母動物の一般毒性に対する無毒性量は50mg/kg/日未満と推定された。

生殖能に対する母動物の無毒性量は50mg/kg/日，胎児の無毒性量は150mg/kg/日と推定された。

なお，本試験で軽度な内臓異常としてとられた「左総頚動脈の無名動脈（腕頭動脈）からの起始異常」に関しては，本邦の教科書的な成書（毒性試験講座11;地人書館，家畜比較解剖図説;養賢堂，實験用動物解剖学－兎編;金原出版）を参照すると正常と記載されている。一方，本試験の実施施設である英国　　　　社(GLP 適合施設))におけるウサギ胎児の左総頚動脈の無名動脈からの分岐の背景値データは1.9～40.5%であることから，当施設では1999年1月まで異常として評価してきた。その後は，左総頚動脈の無名動脈からの分岐を変異として評価している。

表二-15　ラットの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

報告者（実施施設）		（　　　　, イギリス国）			
試験方法	動物	CD ラット，雄 9 週齢，雌 7 週齢，体重：雄 301～325 g，雌 176～200 g			
	薬物	リン酸オセルタミビル（溶媒：酢酸緩衝液，pH 4.0）			
	投与経路・期間	経口投与（強制） 雄：交配前 28 日，交配期間（最長 10 日），交配期間終了後 2 週間まで 雌：交配前 14 日，交配期間（最長 10 日），妊娠 8 日まで 帝王切開日：妊娠 13 日（交配確認日：妊娠 0 日）			
	投与量	0（溶媒），50，250，1500 mg/kg/日，投与容量 10 mL/kg			
親動物雄	投与量(mg/kg/日)	0	50	250	1500
	動物数	20	20	20	20
	死亡	1 例(投与 20 日;投与時の外傷による死亡)	0	0	1 例(投与 24 日;投与時の外傷による死亡)
	一般症状	－	－	投与後の流涎（低頻度）	投与後の流涎，被毛の着色(茶)及び粗剛
	体重（g）		増加量↓(最終週のみ)	増加量↓(5 週より)	増加量↓(1 週より)
	1 日	372±11	367±12	370±11	369±11
	29 日	471±30	459±20	459±23	452±23*
	57 日	541±36	522±26*	522±30*	504±29***
	摂餌量	－	－	－	－
	交尾率（%）	100	100	100	100
	授精率（%）	100	90	95	100
	剖検	－	－	－	－
	精巣重量	－	－	－	－
親動物雌	動物数	20	20	20	20
	妊娠雌数	20	18	19	20
	死亡	－	－	－	－
	一般症状	－	－	－	－
	体重（交配前）	－	－	－	－
	体重（g;妊娠中）	－	－	－	増加量↓(妊娠初期)
	0 日	256±15	261±16	262±16	260±19
	10 日	304±19	305±21	307±19	297±24
	摂餌量	－	－	－	↓(妊娠初期のみ)
	性周期	－	－	－	－
	交尾率（%）	100	100	100	100
	妊娠率（%）	100	90	95	100
	黄体数	16.9±3.7	16.0±1.5	15.9±1.8	16.1±3.0
	着床数	15.6±2.4	14.6±3.9	14.8±2.4	15.1±4.2
	生存胚数	15.0±2.7	13.8±3.7	14.2±2.2	14.2±3.9
	早期死亡胚数	12	13	11	18
	着床率（%）	95.8	95.4	96.4	94.6
	着床前損失率（%）	6.2	9.7	7.0	8.1
	着床後損失率（%）	4.2	4.6	3.6	5.4
	剖検	－	－	－	－
	無毒性量	一般毒性に対する無毒性量：親動物雄 50 mg/kg/日，親動物雌 250 mg/kg/日 生殖能に対する雌雄親動物の無毒性量：1500 mg/kg/日， 胚の無毒性量：1500 mg/kg/日			

－：特記すべき所見なし　↓：減少　（平均値±S.D.）

統計学的処理：ANOVA＋Levene 検定，Williams 検定または Kruskal-Wallis-ANOVA 検定，Williams-Shirley 検定（体重，体重増加量，摂餌量，性周期，交配期間，黄体数，生存胚数，着床数，着床前損失率，着床後損失率，精巣重量），Cochran-Armitage 検定＋Fisher's exact 検定（交尾率，生殖指数）＊：p<0.05，＊＊：p<0.01，＊＊＊：p<0.001

表ニ-16 ラットの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

報告者（実施施設）			（ , イギリス国）			
試験方法	動物		CD ラット，雌 8～10 週齢，体重：201～225g，1 群各 25 匹			
	薬物		リン酸オセルタミビル（溶媒：酢酸緩衝液，pH 4.0）			
	投与経路・期間		経口投与（強制） 妊娠 6 日～分娩後 20 日（剖検：分娩後 21 日）			
	投与量		0（溶媒），50，250，1500 mg/kg/日，投与容量 10 mL/kg			
	飼料		齧歯類用固形飼料；SQC Rat and Mouse No.3(Special Diet Services 社製)			
母動物	投与量（mg/kg/日）		0	50	250	1500
	交尾確認動物数		25	25	25	25
	妊娠動物数		24	23	23	25
	分娩動物数		24	23	23	16
	死亡		0	0	0	9 例（周産期の死亡 3 例，屠殺 6 例）
	一般症状		—	—	—	投与後の流涎，瀕死例 8 例に痙攣，自発運動低下，呼吸異常，体温低下，眼瞼一部閉鎖
	体重（g）		—	—	—	増加量↓（投与初期，分娩後 1～4 日）
		妊娠 6 日	254±16	251±21	255±15	249±16
		妊娠 20 日	369±26	368±31	381±33	362±31
		分娩 1 日	256±27	258±25	265±23	261±26
		分娩 4 日	286±22	287±27	296±22	277±32
		分娩 21 日	321±19	317±22	328±22	325±28
	摂餌量		—	—	—	↓（投与期間中）
	妊娠期間（日）		21.7±0.4	21.6±0.2	21.8±0.4	21.8±0.4
	分娩時間（分）		125.2±44.1	125.7±64.8	153.1±74.0	181.7±86.9*
	剖検		—	—	—	瀕死屠殺または死亡例の 4/9 例に胃腸管にガス膨満
	腎臓重量（g）		—	—	—	↑
			2.53±0.18 (24)	2.59±0.22 (22)	2.56±0.22 (21)	2.76±0.29** (15)
出生児 F_1	出生児数		12.6±2.3	13.3±1.8	13.1±2.6	12.5±2.3
	出生日生存率（%）		97.6	96.1	96.2	93.5
	4 日生存率（%）		98.7	94.0	90.9	86.0
	哺育率 a)（%）		95.8	89.6	87.2	81.4*
	性比(%)（雄：雌）		48.3：51.7	51.3：48.7	49.3：50.7	54.0：46.0
	体重（g） 0 日	雄	6.1±0.5	5.9±0.4	6.3±0.7	6.1±0.6
		雌	5.8±0.5	5.6±0.4	6.0±0.7	5.7±0.5
	4 日	雄	9.0±1.6	8.7±0.9	9.4±1.4	8.4±1.5
		雌	8.5±1.4	8.2±1.1	8.9±1.2	7.9±1.5
	21 日	雄	49.0±4.9	48.4±4.1	51.5±5.3	44.9±5.9*
		雌	47.3±5.2	46.0±4.1	49.3±5.5	44.1±5.8
	発育分化		—	—	—	— 陰茎亀頭と包皮の分離軽度遅延傾向（低体重の雄）

—：特記すべき所見なし　a)：出生時からの哺育率　↑：増加　↓：減少　（平均値±S. D.）

次ページにつづく

(つづき)

	投与量 (mg/kg/日)		0	50	250	1500
出生児F₁	外形・内臓検査		—	—	—	—
	腎盂拡張		7/148	10/134	10/124	2/80
	精巣縮小		2/148	0/134	0/124	0/80
	横隔膜ヘルニア		1/148	3/134	0/124	0/80
	離乳後体重 (g)		—	—	—	↓(♂顕著)
	4週齢	雄	74±10	77±8	79±11	68±10*
		雌	71±10	69±9	70±10	64±9*
	9週齢	雄	356±38	346±32	358±40	322±39**
		雌	228±24	216±23	225±23	224±22
	学習試験 (28日齢)					
	眼検査 (35日齢)		—	—	—	—
	聴覚検査 (36日齢)		—	—	—	—
	生殖能試験		—	—	—	—
	交尾率 (%)(雄/雌)		100/95	100/100	95/100	95/95.0
	授精率 (%)		94.7	90.0	94.7	100
	妊娠率 (%)		94.7	90.0	95.0	100
	黄体数		15.4±1.8	15.2±1.6	15.0±2.2	15.5±2.1
	着床数		14.8±1.8	14.2±2.6	13.6±3.4	14.2±1.8
	生存胎児数		14.6±1.9	13.2±3.0	13.2±3.3	13.8±2.0
	着床前損失率 (%)		3.5	6.9	9.6	7.5
	着床後損失率 (%)		1.9	7.6	2.8	2.8
	剖検		—	—	—	—
	腎臓重量 (g)		—	—	—	♂:↓
		雄	3.75±0.55	3.49±0.40	3.62±0.45	3.38±0.46*
		雌	2.44±0.36	2.39±0.28	2.44±0.32	2.45±0.28
無毒性量			母動物の一般毒性に対する無毒性量:250 mg/kg/日 生殖能に対する母動物の無毒性量:250 mg/kg/日, 出生児の無毒性量:250 mg/kg/日			

—:特記すべき所見なし ↑:増加 ↓:減少 (平均値±S.D.)

統計学的処理:ANOVA+Levene検定, Williams検定 (母動物体重・増加量, 摂餌量, 黄体数, 着床数, 生存胎児数, 生存児数, 生存児体重・増加量, 分娩時間, 妊娠率, 雄胎児率, 着床前損失率, 学習試験, 腎臓重量), Kruskal-Wallis検定+Shirley検定 (着床後損失率, 生後発達観察, 生存率, 妊娠期間), Dunnett's multiple comparison検定 (E-maze走行時間, 聴覚機能検査), Fisher's exact検定 (生殖指数, 交尾指数), Cochran Armitage検定 (生殖指数, 交尾指数, E-maze評価) *:p<0.05, **:p<0.01

表二-17　ラットの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（追加試験）

報告者（実施施設）		（スイス・　　）				
試験方法	動物	Wistar(RORO)ラット，体重：178～252g，1群21匹(他の検査用[a]に8匹追加)				
	薬物	リン酸オセルタミビル（溶媒：酢酸緩衝液，pH 4.0）				
	投与経路・期間	経口投与（強制） 妊娠6日～分娩後21日（剖検：分娩後22日）， 周産期以降休薬高用量群：妊娠6日～妊娠19日				
	投与量	0(溶媒)，50，500，1500，1500(妊娠19日まで投与) mg/kg/日，投与容量10 mL/kg				
母動物	投与量（mg/kg/日）	0	50	500	1500(連投)	1500(休薬)
	使用雌動物数	21	21	21	21	21
	不妊動物数	9	5	8	8	9
	妊娠動物数	12	16	13	13	12
	全吸収#	1	1	2	1	0
	生存胎児なし	1	2	0	0	3
	分娩母動物数	10	13	10	12	8
	死亡	薬物関連の死亡なし				
	妊娠期間中	0	0	1例(投与過誤)	0	1例(投与過誤：不妊例)
	分娩中	0	0	0	0	1例(多胎児による分娩困難で屠殺)
	一般症状	—	—	投与後の流涎（用量相関性）		
	体重（g）				増加量↓(妊娠期間中)	
	妊娠0日	199±9.3	205±11.4	209±14.6	203±11.9	206±8.4
	妊娠21日	283±29.6	284±19.5	299±17.6	280±23.1	271±19.5
	分娩1日	247±9.8	243±13.0	247±18.7	228±23.5	237±9.7
	分娩22日	236±10.8	238±10.1	241±17.2	227±13.0	245±6.2
	摂餌量	—	—	—	↓(投与期間中)	
	血液生化学的検査	薬物関連なし：Ca・P↓(妊娠21日，分娩1日)，Na・Cl↑(分娩1日)，尿素↑(妊娠21日，分娩1日)				
	尿検査	—	—	Na・Cl↑	尿量↑，クレアチニン・Ca・Mg↓，P・Na・Cl・Mg排泄↑	
	臓器重量	—	/	/	腎↑，心臓↓(軽度)，副腎↑	—
	病理組織学的検査	—	—	—	腎尿細管鉱質化・好塩基性変化に増加傾向	
	腎尿細管好塩基性(強度)[c]	14/21(1.1)	13/21(1.1)	20/22(1.1)	18/21(1.6)	17/21(1.5)
	腎尿細管鉱質化(強度)[c]	21/21(1.3)	14/21(1.4)	20/22(1.4)	19/21(1.8)	18/21(1.5)
	妊娠期間（日）	22.3±0.6	22.2±0.6	22.3±0.4	22.3±0.4	22.3±0.4
	分娩時間（分）	119±47	151±64	133±63	188±90↑(軽度)	135±83
	着床痕数	8.2±4.39	8.2±4.06	8.8±2.78	10.2±3.41	8.4±4.27
	剖検	—	—	—	—	—
	出産率（%）	75	81.3	76.9	92.3	66.7
出生児 F1	出生児数	6.2±3.68	6.7±4.03	7.4±2.63	7.5±3.53	6.1±3.09
	出生日生存率（%）	98.4	100.0	100.0	100.0	91.8
	4日生存率（%）	100.0	97.7	95.9	57.8***	84.4**
	哺育率[b]（%）	96.7	96.6	94.6	56.7***	71.1***
	性比(%)(雄：雌)22日	59.3：40.7	52.4：47.6	50.0：50.0	51.0：49.0	53.1：46.9

—：特記すべき所見なし　↑：増加　↓：減少　#：子宮染色により妊娠判定　（平均値±S.D.）
a)：血液生化学的検査，尿検査，臓器重量，病理組織学的検査，薬物血中濃度測定(TK)
b)：出生時からの哺育率　c)：グレード1(軽微)，2(軽度)，3(中等度)，4(重度)の変化の平均値　次ページにつづく

（つづき）

	投与量（mg/kg/日）		0	50	500	1500（連投）	1500（休薬）
出生児F$_1$	体重(g) 0日	雄＋雌	6.1±0.46	6.0±0.61	6.0±0.45	5.8±0.66	6.2±0.44
	4日	雄＋雌	8.4±0.62	7.7±1.08	7.7±0.84	7.1±0.81**	7.5±1.68
	22日	雄＋雌	41.9±4.07	38.1±4.03	38.1±5.28	32.6±9.16*	37.7±4.54
	発育分化		検査初日に投薬群で遅延傾向がみられるが，それ以降全て達成した。検査時の体重も小さいので薬物の影響とは考えがたい。				
	剖検		−	−	−	−	−
	腎臓重量	絶対(g)	0.48±0.05	0.43±0.04	0.44±0.06	0.38±0.09**	0.44±0.04
		相対(%)	1.15±0.05	1.13±0.05	1.15±0.04	1.21±0.14	1.17±0.07
母動物	TK試験		活性体（Ro64-0802）の血中濃度				
	AUC$_{0-21h}$（μg・h/mL）		妊娠6日	11	212	855	/
			妊娠21日	16	171	637	/
			授乳21日	12	186	1110	/
無毒性量			母動物の一般毒性に対する無毒性量：50 mg/kg/日 生殖能に対する母動物の無毒性量：500 mg/kg/日， 出生児の無毒性量：500 mg/kg/日				

−：特記すべき所見なし　/：実施せず　（平均値±S.D.）

統計学的処理：ANOVA＋Dunnett検定（母動物体重・増加量，摂餌量，出生児数，着床数，生存児体重・増加量），Chi-square検定＋Fisher's exact検定（生殖指数，交尾指数，黄体数，着床数，生存児数，死亡児数，妊娠率，性比，生後発達観察，学習試験，腎臓重量），Jonkheere検定，U検定（臨床検査，妊娠期間，分娩時間，臓器重量）

*：p<0.05，**：p<0.01，***：p<0.001

表二-18 ラットの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（確認調査試験）

報告者（実施施設）	（ ，イギリス国）
試験方法	
動物	CD ラット，雌 8～10 週齢，体重：201～225g 1 群交尾雌各 20 匹(対照群 30 匹)，他の検査用 a)に 1 群 25 匹追加(1500-C 群のみ 10 匹)
薬物	リン酸オセルタミビル（溶媒：酢酸緩衝液，pH 4.0）
投与経路・期間	経口投与（強制） 0 mg/kg 群：妊娠 6 日～分娩後 21 日;追加 10 例に妊娠 21 日にグルコン酸カルシウム b)静注 500 mg/kg 群：妊娠 6 日～分娩後 21 日 1500 mg/kg A 群：妊娠 6 日～分娩後 21 日 B 群：妊娠 6 日～分娩後 21 日(妊娠 14～21 日のみ妊娠 14 日の体重を基に一定量投与) C 群：妊娠 6 日～分娩後 21 日；妊娠 21 日にグルコン酸カルシウム b)静脈内注射 D 群：妊娠 6～17 日
投与量	0（溶媒），500，1500 mg/kg/日（1500 mg/kg/日には A, B, C, D の 4 群），投与容量 10 mL/kg
飼料	齧歯類用固形飼料；UAR CRUK/VRF1（Charles River 社製）

	投与量(mg/kg/日)	0	500	1500-A	1500-B	1500-C	1500-D
母動物	妊娠動物数	30	18	19	20	18	19
	分娩動物数	30	18	19	20	18	19
	死亡	0	0	1 例：分娩後 2 日(投与過誤)	0	1 例:分娩後 2 日，1 例:分娩後 17 日屠殺(投与過誤)	0
	一般症状	—	—	投与後の流涎(投与期間中)			
	体重（g）	—	—	体重増加量↓(妊娠 6～9 日)			
	妊娠 6 日	257±20	267±15	266±16	267±17	265±14	266±15
	妊娠 9 日	272±21	282±15	273±16	273±19	275±16	273±14
	妊娠 20 日	381±35	388±24	379±25	379±35	383±20	382±26
	分娩後 1 日	300±23	309±20	295±20	294±30	296±17	302±23
	分娩後 21 日	308±24	317±21	314±19	316±26	314±22	309±23
	摂餌量	—	—	↓(妊娠 6～12 日)			
	妊娠期間（日）	21.8±0.4	21.8±0.6	21.9±0.5	21.9±0.3	21.9±0.3	21.8±0.4
	分娩時間（分）	128.3±48.2	121.4±62.5	170.8±46.3**	165.3±61.9*	186.1±74.6**	137.1±43.7
	剖検	—	—	—	—	—	—
	血液生化学的検査	—	—	P↑，K↓(軽度；妊娠期間の妊娠期間中～分娩直後まで)，1500-A, B 群では分娩後 21 日で P↑(軽度)			
	尿検査	—	—	尿 Ca クリアランス↓・尿 P クリアランス↑(妊娠期間中のみ)，尿量↑			
出生児 F1	出生児数	12.5±3.0	10.5±3.7	12.5±3.1	12.1±2.8	13.3±1.6	12.4±2.0
	出生日生存率（%）	99.5	95.9	99.3	95.8	100.0	98.7
	4 日生存率（%）	99.1	92.2	90.1	84.9+	91.9	97.1
	哺育率 c)	97.8	85.3+	90.3	81.5+	85.2+	95.3
	性比(%)(雄:雌)	48.1:51.9	49.5:50.5	53.8:46.2	47.5:52.5	53.6:46.4	46.4:53.6
	発育分化	—	—	—	—	—	—
	体重（g）	—	—	—	—	—	—
	0 日 雄	6.5±0.7	6.7±0.8	6.4±0.3	6.6±0.5	6.3±0.4	6.6±0.6
	0 日 雌	6.1±0.6	6.3±0.8	6.1±0.5	6.2±0.5	6.1±0.3	6.3±0.5
	21 日 雄	39.7±6.7	43.2±5.6	37.1±6.2	37.7±4.9	37.1±5.3	40.9±6.5
	21 日 雌	38.1±6.4	41.7±6.3	35.9±6.5	36.0±4.3	36.0±5.9	40.1±6.7
母動物	TK 試験 Ro64-0802:AUC_{0-24h}（μg·h/mL） 妊娠 6 日		186	630	572	/	524
	妊娠 21 日		240	1040	975	/	779(妊娠 17 日)
	授乳 21 日		338	763	485	/	/
無毒性量	母動物の一般毒性に対する無毒性量：500 mg/kg/日 生殖能に対する母動物の無毒性量：500 mg/kg/日，出生児の無毒性量：500 mg/kg/日						

—：特記すべき所見なし　↑：増加　↓：減少　/：測定せず　(平均値±S.D.)

a)：血液生化学的検査，尿検査に 10 匹，TK 測定に 15 匹使用　b)：10%(w/v)液 1mL を午後 2 時に 2 分以上かけて静脈内注射

c)：出生時からの哺育率

統計学的処理：ANOVA＋Levene 検定，Williams 検定(母動物体重・増加量，摂餌量，出生児数，生存児体重，妊娠期間，分娩時間，妊娠率，血液生化学的検査，尿検査)，Kruskal-Wallis 検定＋Shirley 検定（生存率），Fisher's exact 検定(生殖指数，交尾指数)，Cochran Armitage 検定(生殖指数，交尾指数，E-maze 評価)　*：p<0.05，**：p<0.01，+：Shirley 検定，p<0.05

表ニ-19　ラットの胚・胎児発生に関する試験

報告者（実施施設）		（　　　　　　　　，イギリス国）			
試験方法	動物	CDラット，妊娠雌10～12週齢，体重：201～287g（妊娠5日），1群交尾雌各22匹（TK用に投薬群のみ3匹追加）			
	薬物	リン酸オセルタミビル（溶媒：酢酸緩衝液，pH 4.0）			
	投与経路・期間	経口投与（強制），妊娠6～17日（交配確認日：妊娠0日），帝王切開：妊娠20日			
	投与量	0（溶媒），50，250，1500 mg/kg/日，投与容量10 mL/kg			
母動物	投与量(mg/kg/日)	0	50	250	1500
	妊娠動物数	22	20	21	21
	死亡	0	0	0	0
	一般症状	－	－	－	－
	体重（g;妊娠中）	－	－	－	増加量↓(投与期間)
	5日	245±19	245±13	245±14	249±17
	6日	247±19	249±15	248±15	251±15
	17日	328±28	327±22	329±24	323±21
	20日	362±31	365±29	367±28	367±22
	摂餌量	－	－	－	↓（投与期間）
	黄体数	14.0±2.3	15.0±2.1	14.0±2.1	14.6±2.5
	着床数	13.5±1.9	14.0±1.3	13.0±1.6	13.6±1.7
	着床率（%）	95.3	97.2	97.0	94.7
	剖検	－	－	－	－
胎児	生存胎児数	13.0±2.2	13.6±1.4	12.6±1.8	12.9±1.9
	死亡胎児数	0	0	0	0
	早期死亡胚数	13	8	8	15
	着床前損失率（%）	2.9	5.9	7.2	5.7
	着床後損失率（%）	4.7	2.8	3.0	5.3
	性比（雄/雌）	145/140	143/128	134/130	131/139
	体重（g）　雄	3.68±0.28	3.61±0.20	3.79±0.24	3.72±0.24
	体重（g）　雌	3.46±0.27	3.44±0.25	3.55±0.23	3.56±0.19
	胎盤重量（g）	0.57±0.14	0.55±0.04	0.57±0.06	0.54±0.06
	外形及び内臓検査	薬物関連の異常は認められなかった			
	無眼球症	0/285	0/271	0/264	1/270
	胸腔無名動脈欠損	0/285	1/271	0/264	0/270
	腹部出血	1/285	1/271	0/264	0/270
	骨格検査	薬物関連の異常は認められなかった			
	頬弓骨化遅延	1/147	3/141	2/137	1/138
	側頭鱗骨化遅延	14/147	6/141	3/137	6/138
	胸椎骨中心未骨化	1/147	0/141	2/137	1/138
	胸椎骨中心二分	1/147	7/141	4/137	0/138
	第7腰椎骨	0/147	0/141	1/137	0/138
	仙椎骨神経弓未骨化	0/147	0/141	2/137	1/138
	仙椎骨神経弓骨化遅延	34/147	47/141	28/137	26/138
	14肋骨	0/147	1/141	0/137	0/138
	14肋骨痕	17/147	15/141	9/137	14/138
	第3胸骨骨化遅延	0/147	0/141	3/137	8/138* D**
母動物	TK試験	活性体（Ro64-0802）は用量相関性の増加を示し，ラット1ヵ月試験結果と相関した			
	Cmax（ng/mL）	妊娠17日	3770	13300	63600
	AUC_{0-24h}（μg.h/mL）	妊娠17日	13.4	101	825
無毒性量		母動物の一般毒性に対する無毒性量:250 mg/kg/日 生殖能に対する母動物の無毒性量:250 mg/kg/日，胎児の無毒性量:1500 mg/kg/日			

－：特記すべき所見なし　D:用量相関性　↓：減少　　　　　　　　　　　　　（平均値±S.D.）
統計学的処理：ANOVA＋Levene検定，Williams検定（体重，体重増加量，摂餌量，黄体数，着床数，生存胎児数，胎児体重），Kruskal-Wallis検定＋Shirley検定（着床前・後損失率，雄胎児率），Kruskal-Wallis検定＋Fisher's exact検定（胎児の奇形），＊：p<0.05，＊＊：p<0.01

表二-20　ウサギの胚・胎児発生に関する試験

報告者（実施施設）		（　　　　，イギリス国）			
試験方法	動物	ニュージーランド白色ウサギ，雌 4 ヵ月齢，体重：3～4 kg， 1 群交尾雌各 23 匹（TK 用に投薬群のみ 3 匹追加）			
	薬物	リン酸オセルタミビル（溶媒：酢酸緩衝液，pH 4.0）			
	投与経路・期間	経口投与（強制） 妊娠 6～18 日，帝王切開：妊娠 28 日			
	投与量	0（溶媒），50，150，500 mg/kg/日，投与容量 10 mL/kg			
母動物	投与量（mg/kg/日）	0	50	150	500
	妊娠動物数	23	20	21	19
	評価妊娠動物数	23	20	21	12
	死亡	―	―	―	2 例：妊娠 19，20 日に瀕死屠殺[a)]， 5 例：流産兆候後に屠殺
	一般症状	―	糞便↓（用量相関性）		瀕死屠殺例：蒼白，浅薄・不整呼吸
	体重（kg）	―	―	増加量↓（投与期間中；軽度）	↓（投与期間中）
	妊娠 6 日	3.50±0.32	3.48±0.37	3.56±0.34	3.53±0.29
	妊娠 18 日	3.72±0.32	3.71±0.31	3.71±0.33	3.26±0.38***
	妊娠 28 日	3.88±0.34	3.86±0.32	3.89±0.33	3.68±0.27
	摂餌量	―	―	↓（投与期間中）	↓（妊娠 6～22 日）
	黄体数	10.6±2.5	9.7±2.2	10.0±2.6	9.9±2.0
	着床数	8.7±3.6	8.8±2.7	9.6±2.8	8.8±2.4
胎児	生存胎児数	7.9±3.4	8.4±2.6	8.9±2.5	7.7±2.9
	早期胚死亡	6	2	7	3
	後期胚死亡	10	6	8	10
	死亡胎児数	1	0	0	1
	着床前損失率（%）	18.0	11.0	4.4	12.2
	着床後損失率（%）	7.9	4.8	6.6	14.1
	性比（雄/雌）	92/90	78/89	96/91	58/34
	体重（g）　雄	36.7±5.9	36.3±3.4	34.9±4.1	35.2±3.3
	体重（g）　雌	35.0±4.7	36.6±4.2	34.7±5.1	35.2±4.8
	胎盤重量（g）	4.35±1.30	4.17±0.77	3.95±0.56	4.28±0.69
	外形及び内臓検査	―	―	―	―
	外脳症	1/182	0/167	0/187	0/92
	左総頚動脈起始異常[#] （無名動脈より分岐）	25/182	30/167	30/187	33/92 *　D* （背景データ範囲内）
	臍ヘルニア	0/182	0/167	1/187	0/92
	骨格検査　異常	―	―	―	―
	骨格検査　変異	―	―	↑傾向（一過性の変化）	
	胸椎 13	71/182	77/167	101/187	53/92
	尾椎≦14	5/182	9/167	5/187	11/92 *　D*
	過剰 13 肋骨	71/182	77/167	101/187	53/92
	13 肋骨痕	18/182	30/167	24/187	14/92
母動物	TK 試験				
	オセルタミビル Cmax（ng/mL）	妊娠 18 日	5750	9310	27900
	オセルタミビル AUC_{0-24h}（μg.h/mL）		9.62	20.2	109
	Ro64-0802 Cmax（ng/mL）		7240	17500	73200
	Ro64-0802 AUC_{0-24h}（μg.h/mL）		17.0	45.8	306
無毒性量		母動物の一般毒性に対する無毒性量：50 mg/kg/日未満 生殖能に対する母動物の無毒性量：50 mg/kg/日，胎児の無毒性量：150 mg/kg/日			

―：特記すべき所見なし　↑：増加　↓：減少　/：実施せず　　　　　（平均値±S.D.）
a)：妊娠 20 日屠殺例は流産も推定された　　TK 測定：妊娠 18 日
[#]：左総頚動脈起始異常（左総頚動脈の無名動脈からの分岐）の実施施設の背景データは 1.9～40.5%である。
統計学的処理：ANOVA＋Levene 検定，Williams 検定（体重，体重増加量，摂餌量，黄体数，着床数，生存胎児数，胎児体重），Kruskal-Wallis 検定＋Shirley 検定（着床前・後損失率，雄胎児率），Kruskal-Wallis 検定＋Fisher's exact 検定（胎児の奇形），D：Cochran Armitage 検定　　＊：p<0.05，＊＊＊：p<0.001

4. 遺伝毒性

遺伝毒性試験として，塩酸オセルタミビルの細菌（ネズミチフス菌，大腸菌）を用いた復帰突然変異試験（Ames 試験），リン酸オセルタミビルのヒトリンパ球を用いた染色体異常試験及びマウスを用いた小核試験を実施した。Ro64-0802 の遺伝毒性試験として，細菌（ネズミチフス菌）を用いた復帰突然変異試験（Ames 試験）及びマウスリンパ腫細胞を用いた遺伝子突然変異試験を実施した。

4-1. 塩酸オセルタミビルの細菌を用いた復帰突然変異試験

ネズミチフス菌（TA98, TA100, TA1535, TA1537）及び大腸菌（WP2 uvrA）を用いてプレート法にて実施した。

試験用量は用量設定試験の結果を基に設定した。用量設定試験は TA100 及び WP2 uvrA を用い，代謝活性化非存在下及び存在下で実施した。5000 μg/plate まで抗菌活性が認められなかったことから 5000 μg/plate を最高用量にして 100 μg/plate までの 6 段階の用量を設定した。試験方法及び成績は「表ニ-21」に示す。

TA98, TA1535, TA1537 では 100～5000 μg/plate の用量において復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。WP2uvrA は代謝活性化非存在下の 100 及び 330 μg/plate で対照群に比べ 1.9 倍のコロニー数の増加がみられたため，また，TA100 も雑菌の混入によりコロニーの計測が出来なかったため，同じ用量段階で再試験を実施した。再試験では WP2uvrA 及び TA100 で復帰変異コロニー数の増加はみられなかった。

なお，リン酸オセルタミビル（原体）及び保存したリン酸オセルタミビルカプセル剤に含まれると予測される 5 種類の不純物を添加したリン酸オセルタミビルの細菌を用いた復帰突然変異試験　　の結果は陰性であった。すなわち，リン酸オセルタミビル自身も復帰変異コロニー数の増加を示さなかった。

4-2. リン酸オセルタミビルのヒトリンパ球を用いた染色体異常試験

ヒト末梢血リンパ球を用い，直接法（S-9 mix 非添加）及び代謝活性化法（S-9 mix 添加）にて試験を実施した。

用量は用量設定試験（0.167～5010 μg/mL）の結果に基づき設定した。すなわち，直接法では 167, 501, 1670, 5010 μg/mL で溶媒対照群に対する分裂指数の減少が各々32, 48, 90 100%であったことから 2000 μg/mL を最高用量とし， 62.5～2000 μg/mL までの 7 用量を設定した。2000 μg/mL では分裂指数の減少が対照群の 90%であったため染色体異常の評価は 250～1500 μg/mL で実施した。代謝活性化法では 167, 501, 1670, 5010 μg/mL で溶媒対照群に対する分裂指数の減少が各々33, 36, 40, 62%であったことから 4990 μg/mL を最高用量とし，500～4990 μg/mL までの 6 用量を設定した。染色体異常の評価は 1250～4990 μg/mL で行なった。試験方法及び成績は「表ニ-22」に示す。

直接法及び代謝活性化法において，染色体の構造異常の増加は認められなかった。

4-3. リン酸オセルタミビルのマウスを用いた小核試験

1 群雌雄各 5 匹のマウスにリン酸オセルタミビルを 500, 1000, 2000 mg/kg の用量で単回経口投与を行ない，投与後 24, 48, 72 時間に動物を屠殺して骨髄塗沫標本を作製し，多染性赤血球中の小核を有する細胞数を計測した。また，骨髄毒性の指標として多染性赤血球（PCE）と正染性赤血球（NCE）比を求めた。

最高用量は単回投与毒性試験の最高用量に準じ 2000mg/kg とし，以下公比 2 で 3 段階の用量を設定した。試験方法及び成績は「表ニ-23」に示す。

いずれの用量においても小核を有する多染性赤血球の増加は認められず，骨髄毒性も観察されなかった。

4-4. Ro64-0802 の細菌を用いた復帰突然変異試験

ネズミチフス菌（TA97, TA98, TA100, TA1535, TA102）を用いてプレート法及びプレインキュベーション法にて試験を実施した。

用量は用量設定試験を基に設定した。用量設定試験では TA100 を用いて代謝活性化非存在下及び存在下で実施した。5000μg/plate まで抗菌活性が認められなかったことから 5000μg/plate を最高用量にして 50μg/plate までの 5 段階の用量を設定した。試験方法及び成績は「表ニ-24」に示す。

代謝活性化非存在下及び存在下において，いずれの用量においても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

4-5. Ro64-0802 のマウスリンパ腫細胞を用いた遺伝子突然変異試験

マウスリンパ腫細胞を用い，代謝活性化非存在下及び存在下にて試験を実施した。

用量は用量設定試験を基に設定した。すなわち，細胞毒性を示さない化合物で推奨される最高用量 10 mM（約 3000μg/mL）を上限として 11.7μg/mL までの用量で細胞を処理し相対生存率を調べたところ，3000μg/mL まで細胞毒性がみられなかったことから，3000μg/mL を最高用量とする用量段階を設定した。実験は 2 回行ない，実験 1 は 23.4～3000μg/mL の範囲で 8 用量（公比 2）にて，実験 2 は 514～3000μg/mL の範囲で 4 用量（公比 1.8）にて実施した。試験方法及び成績は「表ニ-25」に示す。

代謝活性化非存在下及び存在下ともに 23.4～3000μg/mL の用量範囲で突然変異頻度の上昇は認められなかった。

以上の各種遺伝毒性試験において，リン酸オセルタミビル及びその活性体 Ro64-0802 に，遺伝毒性は認められなかった。

表ニ-21　塩酸オセルタミビルの細菌を用いた復帰突然変異試験

報告者（実施施設）			(　　　　　　　　　　　　, アメリカ国)	
用量設定試験				
試験系	プレート法			
試験物質	代謝活性化	用量 (μg/plate)	復帰変異コロニー数/plate	
			TA100	WP2 uvrA
溶媒対照	－	0	84	28
塩酸オセルタミビル	－	6.67	112	24
		10.0	101	29
		33.3	88	28
		66.7	95	24
		100	86	26
		333	92	24
		667	103	23
		1000	112	20
		3330	87	34
		5000	102	21
溶媒対照	＋	0	101	19
塩酸オセルタミビル	＋	6.67	108	18
		10.0	81	29
		33.3	115	19
		66.7	97	24
		100	108	24
		333	95	18
		667	76	21
		1000	97	29
		3330	99	28
		5000	69	20

溶媒：塩酸オセルタミビルは脱イオン水
プレート数：1枚／用量

次ページにつづく

(つづき)

本試験：実験 1							
試験系	プレート法						
試験物質	代謝活性化	用量 (μg/plate)	復帰変異コロニー数/plate(平均値±標準偏差)				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2 uvrA
溶媒対照	−	0	11±4	c	10±4	4±3	7±4
塩酸オセルタミビル	−	100	12±6	c	10±1	4±1	13±0
		333	16±2	c	18±5	8±4	13±4
		667	14±3	c	13±3	5±3	11±6
		1000	14±5	c	12±3	4±1	9±1
		3330	12±5	c	14±2	4±2	9±3
		5000	10±2	c	12±7	6±3	6±3
陽性対照							
2-NF	−	1.0	108±6	／	／	／	／
sodium azide		2.0	／	c	／	／	／
sodium azide		2.0	／	／	470±36	／	／
ICR-191		2.0	／	／	／	393±94	／
4-NQO		1.0	／	／	／	／	141±3
溶媒対照	+	0	22±1	c	11±5	9±4	16±1
塩酸オセルタミビル	+	100	27±2	c	11±1	10±1	19±4
		333	24±3	c	12±1	5±1	19±7
		667	24±6	c	10±2	7±4	20±9
		1000	24±4	c	8±2	9±3	14±6
		3330	26±4	c	11±3	6±4	12±5
		5000	22±1	c	9±4	12±4	14±6
陽性対照							
2-AA	+	2.5	1122±66	c	157±20	200±7	／
		25	／	／	／	／	106±5

溶媒：塩酸オセルタミビルは脱イオン水

プレート数：3 枚／用量，　／：実施せず，　c：雑菌混入により計測不可

2-NF:2-nitrofluorene, 4-NQO:4-nitroquinoline-N-oxide, 2-AA:2-aminoanthracene

統計学的処理：実施せず

次ページにつづく

（つづき）

本試験：実験 2				
試験系	プレート法			
試験物質	代謝活性化	用量 (μg/plate)	復帰変異コロニー数/plate（平均値±標準偏差）	
			TA100	WP2 uvrA
溶媒対照	−	0	93±2	14±5
塩酸オセルタミビル	−	100	79±4	11±3
		333	86±9	13±4
		667	86±9	11±3
		1000	80±4	20±3
		3330	66±5	14±2
		5000	65±17	9±3
陽性対照				
sodium azide	−	2.0	847±34	／
4-NQO		1.0	／	220±5
溶媒対照	+	0	84±3	／
塩酸オセルタミビル	+	100	95±7	／
		333	87±10	／
		667	91±3	／
		1000	74±13	／
		3330	77±10	／
		5000	86±5	／
陽性対照				
2-AA	+	2.5	1051±128	／
結論			本条件下で遺伝子突然変異誘発性なし	

溶媒：塩酸オセルタミビルは脱イオン水

プレート数：3 枚／用量，／：実施せず

4-NQO:4-nitroquinoline-N-oxide, 2-AA:2-aminoanthracene

統計学的処理：実施せず

表二-22　リン酸オセルタミビルのヒトリンパ球を用いた染色体異常試験

報告者(実施施設)		(　　　　　　　　, アメリカ国)				
処理時間-回復時間(h)	試験物質	代謝活性化	用量(μg/mL)	分析細胞数	分裂指数(%)	構造異常を有する細胞(%)
21-3	無処置対照	－	0	200	2.9	0.5
	溶媒対照	－	0	200	4.2	0.0
	リン酸オセルタミビル	－	250	200	2.9	0.0
			500	200	1.7	0.0
			1000	200	1.7	0.5
			1500	200	1.0	3.5
	陽性対照：mitomycin C	－	0.3	50	／	34.0*
3-21	無処置対照	+	0	200	3.9	0.5
	溶媒対照	+	0	200	3.8	0.0
	リン酸オセルタミビル	+	1250	200	3.2	1.5
			2500	200	2.4	0.0
			3740	200	2.9	0.0
			4990	200	1.3	2.0
	陽性対照：cyclophosphamide	+	50	79	／	35.4*
結　論		本条件下で染色体異常誘発性なし				

溶媒：リン酸オセルタミビルは脱イオン水，陽性対照は水。

／：実施せず

統計学的処理：Fisherの直接確率法＋Cochran-Armitage検定，＊：$p<0.01$

表ニ-23　リン酸オセルタミビルのマウスを用いた小核試験

報告者(実施施設)			(　　　　　　　　　　　　　　　, アメリカ国)				
動物			CD-1 マウス, 約 9 週齢, 体重：雄 28.5～37.3g, 雌 22.9～28.9g 1 群雌雄各 5 匹 (観察時間当たり) ＋ TK 試験用動物 (測定ポイント当たり雄 2 匹)				
薬物			リン酸オセルタミビル (溶媒：脱イオン水)				
陽性対照			cyclophosphamide (溶媒：脱イオン水)				
投与経路･方法			単回経口投与 (強制), 投与容量； 10 mL/kg				
標本作製時期			投与後 24, 48, 72 時間目に動物を屠殺して骨髄標本作成				
標本染色方法			May-Grünwald-Giemsa 染色				
試験群			溶媒対照	cyclophosphamide	リン酸オセルタミビル		
投与量(mg/kg)			0	80	500	1000	2000
試験成績	MNPCE 出現頻度(%) (雌＋雄)	24 時間	0.04±0.02	3.76±0.37*	0.04±0.02	0.05±0.02	0.05±0.03
		48 時間	／	／	0.02±0.01	0.03±0.02	0.07±0.03
		72 時間	／	／	0.07±0.02	0.04±0.03	0.10±0.03
	PCE:NCE 比	24 時間	♂0.69±0.08 ♀0.72±0.07	♂0.46±0.07 ♀0.72±0.05	♂0.73±0.07 ♀0.84±0.04	♂0.59±0.09 ♀0.88±0.11	♂0.60±0.07 ♀1.03±0.10
		48 時間	／	／	♂0.58±0.04 ♀0.91±0.10	♂0.55±0.06 ♀0.62±0.07	♂0.58±0.08 ♀0.70±0.05
		72 時間	／	／	♂0.57±0.12 ♀0.64±0.11	♂0.71±0.07 ♀0.68±0.11	♂0.81±0.07 ♀0.72±0.10
	TK試験 (平均値)						
	Ro64-0802 AUC$_{0-8h}$ (μg.h/mL)		1 日目	／	／	213	330
結　論			本条件下で染色体異常誘発性なし				

／：実施せず　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　(平均±標準偏差)

MNPCE：小核を有する多染性赤血球, PCE：多染性赤血球, NCE：正染性赤血球

統計学的処理：ANOVA＋Dunnett t 検定, ＊：p<0.01

表ニ-24　Ro64-0802 の細菌を用いた復帰突然変異試験

報告者（実施施設）		（スイス・　　　）	
用量設定試験			
試験系	プレート法：TA100		
試験物質	用量 (μg/plate)	復帰変異コロニー数/plate（平均値） 代謝活性化 −	代謝活性化 ＋
溶媒対照	0	131	185
Ro64-0802	50	127	173
	158	142	152
	500	149	174
	1580	153	162
	5000	164	164

溶媒：Ro64-0802 は脱イオン水
プレート数：2 枚／用量

本試験							
試験系	プレート法						
試験物質	代謝活性化	用量 (μg/plate)	復帰変異コロニー数/plate（平均値±標準偏差） TA1535	TA97	TA98	TA100	TA102
溶媒対照	−	0	16±3	301±16	24±4	133±2	305±12
Ro64-0802	−	50	11±2	295±35	19±1	137±22	309±5
		158	17±3	300±29	20±6	145±17	324±10
		500	21±6	317±3	18±7	143±14	322±19
		1580	16±4	310±19	19±4	142±9	312±22
		5000	20±5	323±16	24±9	155±18	332±31
陽性対照							
2-NF	−	0.5	／	／	234±20	／	／
sodium azide		1	974±76	／	／	650±6	／
ICR-191		1	／	1443±30	／	／	／
MMC		0.4	／	／	／	／	1032±19
溶媒対照	＋	0	6±2	346±4	28±7	159±15	338±21
Ro64-0802	＋	50	6±3	357±10	23±4	154±6	341±13
		158	8±4	358±9	23±1	151±18	366±21
		500	8±3	346±6	22±7	150±5	377±10
		1580	7±2	334±44	22±2	155±8	352±31
		5000	6±1	357±28	18±4	154±7	361±7
陽性対照							
2-AA	−	4	24±3	316±7	26±8	160±6	336±13
	＋	4	365±23	3096±100	3392±221	4253±5	1363±146

溶媒：Ro64-0802 は脱イオン水，陽性対照 MMC は脱イオン水，その他は DMSO（ｼﾞﾒﾁﾙｽﾙﾎｷｼﾄﾞ）。
プレート数：3 枚／用量，　　／：実施せず
2-NF:2-nitrofluorene, MMC：mitomycin C, 2-AA:2-aminoanthracene
統計学的処理：実施せず

次ページにつづく

（つづき）

本試験							
試験系	プレインキュベーション法						
試験物質	代謝活性化	用量 (μg/plate)	復帰変異コロニー数/plate(平均値±標準偏差)				
			TA1535	TA97	TA98	TA100	TA102
溶媒対照	－	0	20±2	218±17	22±4	195±15	327±28
Ro64-0802	－	50	27±8	198±20	27±3	189±10	305±7
		158	23±6	183±6	24±5	200±13	318±21
		500	20±5	184±10	24±6	205±4	342±16
		1580	23±3	198±17	19±3	206±13	305±8
		5000	23±3	219±16	26±7	225±14	295±6
陽性対照							
2-NF	－	0.5	／	／	283±12	／	／
sodium azide		1	877±53	／	／	609±34	／
ICR-191		1	／	3391±196	／	／	／
MMC		0.4	／	／	／	／	1226±44
溶媒対照	＋	0	6±2	247±28	24±5	231±8	386±48
Ro64-0802	＋	50	9±4	244±26	28±10	229±12	434±6
		158	5±3	251±31	29±4	227±16	438±28
		500	8±2	230±38	29±8	224±14	469±19
		1580	9±1	228±23	27±1	225±24	395±30
		5000	11±3	253±12	23±8	208±11	404±37
陽性対照							
2-AA	－	4	28±2	276±42	58±0	289±12	320±11
	＋	4	445±8	2115±14	3043±50	4373±39	778±103
結論			本条件下で遺伝子突然変異誘発性なし				

溶媒：Ro64-0802 は脱イオン水，陽性対照 MMC は脱イオン水，その他は DMSO（ｼﾞﾒﾁﾙｽﾙﾎｷｼﾄﾞ）。
プレート数：3 枚／用量，　／：実施せず
2-NF:2-nitrofluorene, MMC：mitomycin C, 2-AA:2-aminoanthracene
統計学的処理：実施せず

表二-25　Ro64-0802 のマウスリンパ腫細胞を用いた遺伝子突然変異試験

報告者（実施施設）	（スイス・　　　）
被験細胞	L5178Y（マウスリンパ腫細胞）
試験系	マイクロウエル法： 代謝活性化(±)とも薬物処理を3時間を行ない，細胞生存率（細胞毒性）及び選択培地での増殖（遺伝毒性）を調べた。

	被験物質	代謝活性化	用量 (μg/mL)	細胞生存率（%）		突然変異頻度/10^6細胞			大ｺﾛﾆｰに対する小ｺﾛﾆｰの割合
				相対生存率 (0日目)	播種効果 (2日目)	小ｺﾛﾆｰ	大ｺﾛﾆｰ	総ｺﾛﾆｰ	
実験I	溶媒	−	0	106	105	38	68	112	0.56
			0	95	98	22	59	82	0.37
	Ro64-0802	−	23.4	78	88	56	71	133	0.79
			46.9	111	98	19	73	90	0.26
			93.8	98	114	31	75	110	0.41
			187.5	95	110	28	54	84	0.52
			375	78	74	51	79	130	0.65
			750	83	91	33	59	95	0.56
			1500	101	71	24	64	90	0.38
			3000	109	108	25	55	83	0.45
	4-NQO	−	0.2	49	50	404	452	930	0.89
	溶媒	＋	0	99	114	17	76	97	0.22
			0	101	110	28	73	103	0.38
	Ro64-0802	＋	23.4	134	96	21	72	94	0.29
			46.9	95	108	17	52	70	0.33
			93.8	102	101	16	60	78	0.27
			187.5	114	82	33	66	97	0.50
			375	74	92	26	55	84	0.47
			750	119	91	20	51	74	0.39
			1500	109	98	18	71	90	0.25
			3000	109	76	35	82	122	0.43
	BP	＋	2	73	75	240	174	439	1.38

溶媒：Ro64-0802 は蒸留水，4-NQO(4-nitroquinoline 1-oxide)，BP(benzo(a)pyrene)は DMSO（ｼﾞﾒﾁﾙｽﾙﾎｷｼﾄﾞ）。
統計学的処理；Dunnet t 検定＋χ^2検定（陽性対照群は実施せず）

次ページにつづく

（つづき）

	被験物質	代謝活性化	用量 (μg/mL)	細胞生存率（%）		突然変異頻度/10^6細胞			大ｺﾛﾆｰに対する小ｺﾛﾆｰの割合
				相対生存率（0日目）	播種効果（2日目）	小ｺﾛﾆｰ	大ｺﾛﾆｰ	総ｺﾛﾆｰ	
実験2	溶媒	−	0	95	138	20	93	114	0.22
			0	106	95	33	114	155	0.29
	Ro64-0802	−	514	106	116	27	95	128	0.28
			514	109	108	23	48	73	0.48
			926	127	112	35	116	159	0.30
			926	118	96	38	91	130	0.42
			1667	118	125	23	86	111	0.27
			1667	120	96	21	111	135	0.19
			3000	113	103	23	133	160	0.17
			3000	99	88	30	105	140	0.29
	4-NQO	−	0.2	65	60	343	560	1034	0.61
	溶媒	＋	0	90	89	28	122	157	0.23
			0	111	70	42	96	142	0.44
	Ro64-0802	＋	514	113	75	49	122	178	0.40
			514	105	94	43	104	156	0.41
			926	100	84	27	92	123	0.29
			926	106	85	33	96	135	0.34
			1667	97	83	46	104	155	0.44
			1667	102	91	36	104	147	0.35
			3000	123	77	35	104	143	0.34
			3000	121	76	26	118	150	0.22
	BP	＋	2	93	33#	368	424	847	0.87
結論				本条件下で遺伝子突然変異誘発性なし					

溶媒：Ro64-0802は蒸留水，4-NQO(4-nitroquinoline 1-oxide)，BP(benzo(a)pyrene)はDMSO。

#：この低値は測定ミスによるものと考えられる。

統計学的処理；Dunnet t検定＋χ^2検定（陽性対照群は実施せず）

5. がん原性

本薬のマウス及びラットにおけるがん原性試験は実施中である。

本剤の承認申請におけるヒトでの投与期間は，インフルエンザの治療では5日間，インフルエンザの予防では 6 週間である。カイドライン上，本薬のがん原性試験の実施は，本薬の化学構造又は薬理作用，反復投与毒性試験又はその他の毒性試験の結果，及びヒトでの投与期間が短期間であることから必要ないと判断された。しかし，インフルエンザの予防におけるヒトでの投与期間は 6 週間と治療での投与期間に比べて長く，かつ，毎年繰り返し服用されることを考慮して，本薬のマウス及びラットでのがん原性試験の実施を決定した。なお、マウス及びラットがん原性試験の試験終了（最終報告書作成を含む）は，ラットは　　年　月，マウスは　　年　月である。

6. 局所刺激性及び溶血性

リン酸オセルタミビルの原体取り扱い者に対する安全性を確保するために，リン酸オセルタミビルの原体（粉末状）の局所刺激性について，ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験と眼粘膜一次刺激性試験を実施し検討した。マーモセットの反復投与毒性試験において，高投与用量であるが嘔吐，胃腸管障害がみられていることから，臨床に用いられるリン酸オセルタミビルの 75mg カプセルの消化管に対する影響(刺激性）を検討した。また，毒性試験用に調製された Ro64-0802 注射剤の溶血性及び適合性をイヌの血液を用いて検討した。

6-1. ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

リン酸オセルタミビル（原体）の皮膚一次刺激性をウサギを用いてパッチテスト（0.5g/6cm^2，4 時間貼付）により検討した（表ニ-26）。

貼付終了後 1，24，48，72 時間まで肉眼的に観察したが，貼付部位に紅斑・浮腫などの皮膚反応はみられず，リン酸オセルタミビル（原体）に皮膚刺激性は認められなかった。

6-2. ウサギを用いた眼粘膜一次刺激性試験

リン酸オセルタミビル（原体）の眼粘膜一次刺激性をウサギを用いて検討した（表ニ-27）。

リン酸オセルタミビル（原体）0.1g を点眼し，点眼後 1，24，48，72 時間及び 7，14 日に角膜，虹彩，結膜を肉眼的に観察した。角膜においては，極く軽度の混濁が 1 時間と 72 時間に各 1 例にみられた。虹彩においては，極く軽度の充血が 24 時間と 48 時間に各 1 例にみられた。結膜については，軽度から強度の充血，浮腫，分泌物が 1 時間から 72 時間まで各 3 例にみられた。本薬（原体）が誤って眼に入った場合に刺激性を示す可能性が示唆され，原体を直接取り扱う際には，眼を保護する器具の使用が望まれる。

6-3. イヌを用いた７日間経口投与による消化管耐薬性試験

臨床に用いられるリン酸オセルタミビルの 75mg カプセルの消化管に対する影響（刺激性）を検討した（表ニ-28）。

イヌにリン酸オセルタミビルの 75mg カプセル（臨床製剤）を 12 時間間隔で 1 日 2 回，7 日間反復経口投与し，消化管に対する刺激性を検討した結果、リン酸オセルタミビルの 75mg カプセル（臨床製剤）に食道を含む胃腸管に対する刺激性はみられなかった。

6-4. Ro64-0802 のイヌ血液を用いた溶血性・適合性試験

Ro 64-0802 の溶血性・適合性について、イヌの血液あるいは血漿を用いて検討した（表ニ-29）。

イヌのヘパリン処理血液（全血）0.5mL に 0.03～2mg/mL の Ro64-0802 溶液 0.5mL を添加し，37℃で 10

分間加温後遠心分離し，上清中のヘモグロビン量を測定して溶血性を調べた。また，イヌ血漿 0.5mL に 0.25～2mg/mL の Ro64-0802 溶液 0.5mL を添加し，37℃で 10 分間加温後，混濁及び沈澱（凝固作用）の有無を観察した。その結果，2mg/mL の濃度までの Ro64-0802 溶液に溶血作用及び凝固作用は認められなかった。

表ニ-26　ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

報告者（実施施設）		（　　　　　　　　　，スイス国）
試験方法	動物	ニュージーランド白色ウサギ，雄1羽と雌2羽（計3羽），15週齢，体重：2.9～3.1 kg
	薬物	リン酸オセルタミビル（粉末）
	投与方法・経路	背部皮膚，半閉塞貼付（パッチ），4時間
	投与量	0.5 g/6 cm^2（薬物 0.5 gに蒸留水を加えペースト状にして貼付，pH 5）
	観察方法	貼付終了後1，24，48，72時間まで肉眼的に観察。
結果	肉眼的観察	貼付部位に紅斑・浮腫などの皮膚反応はみられなかった。
結　論		本薬に皮膚一次刺激性なし

表ニ-27 ウサギを用いた眼粘膜一次刺激性試験

報告者（実施施設）		（　　　　　　　　　，スイス国）
試験方法	動物	ニュージーランド白色ウサギ，雄1羽と雌2羽（計3羽），15週齢，体重：2.9～3.2 kg
	薬物	リン酸オセルタミビル（粉末）
	投与方法・経路	点眼
	投与量	0.1 g/左眼（薬物 0.1 gを左眼の結膜嚢に入れ，約1秒間閉眼）
	観察方法	点眼後1，24，48，72時間及び7，14日後に角膜，虹彩，結膜を肉眼的に観察した。
結果	肉眼的観察	角膜：極く軽度の混濁（1，72時間に各1例） 虹彩：極く軽度の充血（24，48時間に各1例） 結膜：軽度から強度の充血，浮腫，分泌物（1時間～72時間まで各3例）
		一次刺激性スコアー：4.11（可能最高得点は13.0）
結　論		本薬に眼粘膜一次刺激性なし* （但し，本薬の原体が誤って眼に入った場合に刺激性を示す可能性があるので，原体を直接取り扱う際には，眼を保護する器具の使用が望まれる。）

＊EECガイドラインによる眼粘膜一次刺激性の等級分類基準による。

表二-28　イヌを用いた７日間経口投与による消化管耐薬性試験

報告者（実施施設）		（　　　　　　　　　　，イギリス国）	
試験方法	動物	Beagle イヌ，約５ヵ月齢，体重：6～9 kg，雌雄各２頭	
	薬物	リン酸オセルタミビル製剤　75 mg カプセル	
	投与量	0 x 2(空カプセル)，75 mg x 2（約 12 時間間隔で２回投与）	
	投与経路・方法	経口投与（強制），投与約 30 分前に給餌	
	投与期間	７日間	
試験成績	投与量（mg/日）	0（0 x 2 回）	150（75 x 2 回）
	死亡数	0	0
	一般症状	—	—
	体重	—	—
	摂餌量	—	—
	剖検	—	—
	病理組織学的検査（食道，胃腸管）		
結　論		リン酸オセルタミビル製剤に胃腸管に対する局所刺激性なし	

:特記すべき所見なし

表二-29　Ro64-0802 のイヌ血液を用いた溶血性・適合性試験

報告者（実施施設）		（スイス・　　　　）
試験方法	被験材料	溶血性試験：イヌ全血（ヘパリン処理血液） 適合性試験：イヌ血漿（ヘパリン処理）
	薬物	Ro64-0802 注射剤*（生理食塩液で希釈して使用） *注射剤 1 mL 中に Ro64-0802 27.1 mg，NaCl 4.5 mg を含む水溶液（pH 5.0）
	適用濃度	溶血性試験：0(生理食塩液)，0.03，0.06，0.12，0.25，0.5，1，1.2，1.6，2 mg/mL 適合性試験：0(生理食塩液)，0.25，0.5，1，2 mg/mL
	方法	溶血性試験： 被験液 0.5 mL と血液 0.5 mL を混和し，37℃で 10 分間加温後遠心分離し，上清中のヘモグロビン量を吸光度計で測定した。 適合性試験： 被験液 0.5 mL と血漿 0.5 mL を混和し，37℃で 10 分間加温後，混濁の有無を肉眼的に観察し，更に，遠心分離後，沈澱の有無を肉眼的に観察した。
試験成績		溶血性試験：Ro64-0802 は溶血を引き起こさなかった。 適合性試験：Ro64-0802 処理の血漿に混濁，沈澱は認められなかった。
結　論		Ro64-0802（2 mg/mL 溶液）は溶血作用及びイヌ血漿に対する凝固作用を有しなかった。

7. 抗原性

リン酸オセルタミビル及びその活性体である Ro64-0802 のモルモットを用いた抗原性試験を実施した。また，リン酸オセルタミビルのモルモットを用いた皮膚感作性試験を実施した。

7-1. リン酸オセルタミビルのモルモットにおける抗原性試験

Hartley 系雄性モルモットにリン酸オセルタミビル単独（30mg/匹）又はリン酸オセルタミビル-蛋白質結合物（1mg/匹）を Fruend's adjuvant と共に皮内注射し，2 週間後及び 4 週間後に追加免疫した。最終免疫より 8 日目に能動全身アナフィラキシー（ASA）試験を行なった。また，ASA 試験実施の 2 日前に採血して得た血清を用いて同種受身皮膚アナフィラキシー（PCA）試験と酵素免疫学的測定法で血清中の特異的 IgG 抗体測定を行なった。試験方法及び成績を「表ニ-30」に示す。

リン酸オセルタミビル単独免疫群ではいずれの試験も陰性で，リン酸オセルタミビルに抗原性（免疫原性）はみられなかった。リン酸オセルタミビル単独を惹起抗原（30mg/匹，静脈内投与）として行ったリン酸オセルタミビル-蛋白質結合物免疫群の ASA 試験は陰性であったが，PCA 試験は陽性でリン酸オセルタミビルに弱いアレルギー誘発原性が認められた。しかし，アジュバント併用リン酸オセルタミビル単独免疫条件下で抗原性（免疫原性）が認められなかったこと，後述する本薬の活性体である Ro64-0802 のモルモットを用いた抗原性試験において，Ro64-0802 に抗原性（免疫原性）はみられなかったこと，及びリン酸オセルタミビル単独惹起（静脈内投与）による ASA 試験は陰性であったことから，臨床適用条件下（アジュバント併用なし，経口投与）で，リン酸オセルタミビルが抗原性を示す可能性はないと推察される。

7-2. Ro64-0802 のモルモットにおける抗原性試験

Hartley 系雄性モルモットに Ro64-0802 単独（30mg/匹）又は Ro64-0802-蛋白質結合物（1mg/匹）をアジュバント（Fruend's adjuvant）と共に皮内注射し，2 週間後及び 4 週間後に追加免疫した。最終免疫より 8 日目に能動全身アナフィラキシー（ASA）試験を行なった。また，ASA 試験実施の 2 日前に採血して得た血清を用いて同種受身皮膚アナフィラキシー（PCA）試験と酵素免疫学的測定法で血清中の特異的 IgG 抗体測定を行なった。試験方法及び成績を「表ニ-31」に示す。

Ro64-0802 単独免疫群ではいずれの試験も陰性で，Ro64-0802 に抗原性（免疫原性）はみられなかった。Ro64-0802 単独を惹起抗原（30mg/匹，静脈内投与）として行った Ro64-0802-蛋白質結合物免疫群の ASA 試験は陰性であったが，PCA 試験は陽性で Ro64-0802 に弱いアレルギー誘発原性が認められた。しかし，アジュバント併用 Ro64-0802 単独免疫条件下で抗原性（免疫原性）が認められなかったこと，及び Ro64-0802 単独惹起（静脈内投与）による ASA 試験は陰性であったことから，臨床適用条件下で，Ro64-0802 が抗原性を示す可能性はないと推察される。

7-3. リン酸オセルタミビルのモルモットにおける皮膚感作性試験（Maximization Test）

モルモットを用いた皮膚感作性試験（Maximization Test 法）を実施した。試験方法及び成績は「表ニ-32」に示す。

リン酸オセルタミビルの 5%溶液（1 日目；皮内注射）及び 30%溶液（8 日目；塗布）で感作した Hartley 系モルモットに，感作後 14 日目と 23 日目にリン酸オセルタミビルの 30%溶液を惹起塗布した。惹起後 24, 48 時間ともに皮膚反応（軽度の紅斑）がみられ，リン酸オセルタミビルに皮膚感作性が認められた。従って，原体を直接取り扱う際には直接皮膚に触れない様に手袋等の使用が望まれる。

以上の抗原性試験成績より，臨床においてリン酸オセルタミビルが抗原性を示す可能性は非常に低いと推察される。

表ニ-30　リン酸オセルタミビルのモルモットにおける抗原性試験

報告者（実施施設）		（　　　　　　　　）
試験項目		能動全身アナフィラキシー（ASA）試験 受身皮膚アナフィラキシー（PCA）試験 血中の特異的 IgG 抗体の測定（ELISA）
試験方法	動物	Hartley 系モルモット，5 週齢，体重 340～390 g，1 群 10 匹（D，E 群は 5 匹）
	薬物	被験薬物：リン酸オセルタミビル　　陽性対照薬物：PCG（ペニシリン G-K）
	投与量（免疫量）	A，B 群　：リン酸オセルタミビル　；30 mg/匹 C，D 群　：リン酸オセルタミビル-GPSA 結合物　；1 mg/匹 E 群　：PCG　；30 mg/匹
	投与方法（免疫方法）	各薬物をアジュバント（Freund's adjuvant）と共に 2 週間間隔で 3 回皮内注射。
	ASA 試験	最終免疫より 8 日目に各惹起抗原液を静脈内注射し，アナフィラキシー症状の発現の有無を観察。 惹起抗原量：A，C 群　：薬物　；30 mg/匹 B，D，E 群　：薬物-OVA 結合物　；1 mg/匹
	PCA 試験	最終免疫より 6 日目に A 群～E 群のモルモットより得た血清を無処置モルモットに皮内注射し，2 日後に Evans blue 含有各惹起抗原液（薬物 30 mg/匹又は薬物-OVA 結合物 1 mg/匹）をモルモットに静脈内注射して"Blue spot"の発現を観察。
	ELISA	最終免疫より 6 日目に得た血清中の特異的 IgG 抗体を酵素免疫学的方法で測定。
試験成績	ASA 試験	A 群　リン酸オセルタミビル免疫－リン酸オセルタミビル惹起　：陰性 B 群　リン酸オセルタミビル免疫－リン酸オセルタミビル-OVA 結合物惹起　：陰性 C 群　リン酸オセルタミビル-GPSA 結合物免疫－リン酸オセルタミビル惹起　：陰性 D 群　リン酸オセルタミビル-GPSA 結合物免疫－リン酸オセルタミビル-OVA 結合物惹起　：陽性（3/5 例） E 群　PCG 免疫－PCG-OVA 結合物惹起　：陽性（5/5 例）
	PCA 試験	A，B 群　リン酸オセルタミビル免疫－リン酸オセルタミビル惹起　：陰性 A，B 群　リン酸オセルタミビル免疫－リン酸オセルタミビル-OVA 結合物惹起　：陰性 C，D 群　リン酸オセルタミビル-GPSA 結合物免疫－リン酸オセルタミビル惹起　：陽性（4/15 例） C，D 群　リン酸オセルタミビル-GPSA 結合物免疫－リン酸オセルタミビル-OVA 結合物惹起　：陽性（12/15 例） E 群　PCG 免疫－PCG 惹起　：陽性（2/5 例） E 群　PCG 免疫－PCG-OVA 結合物惹起　：陽性（5/5 例）
	ELISA	A，B 群　：陰性 C，D 群　：陽性（15/15 例） E 群　：陽性（5/5 例）
結論		リン酸オセルタミビルに免疫原性は認められなかった。静脈内投与条件下で弱いアレルギー誘発性が認められたが，臨床適用経路が経口であることから，臨床においてリン酸オセルタミビルが誘発原性を示す可能性はないと推察される。

GPSA：モルモット血清アルブミン，　OVA　：卵白アルブミン

表ニ−31　Ro64−0802 のモルモットにおける抗原性試験

報告者（実施施設）		（　　　　　　　）
試験項目		能動全身アナフィラキシー（ASA）試験 受身皮膚アナフィラキシー（PCA）試験 血中の特異的 IgG 抗体の測定（ELISA）
試験方法	動物	Hartley 系モルモット，5 週齢，体重 340～385 g，1 群 10 匹（D，E 群は 5 匹）
	薬物	被験薬物：Ro64-0802　　陽性対照薬物：PCG（ペニシリン G-K）
	投与量（免疫量）	A，B 群　：Ro64-0802　；30 mg/匹 C，D 群　：Ro64-0802-GPSA 結合物　；1 mg/匹 E 群　：PCG　；30 mg/匹
	投与方法（免疫方法）	各薬物をアジュバント（Freund's adjuvant）と共に 2 週間間隔で 3 回皮内注射。
	ASA 試験	最終免疫より 8 日目に各惹起抗原液を静脈内注射し，アナフィラキシー症状の発現の有無を観察。 惹起抗原量：A，C 群　：薬物　；30 mg/匹 B，D，E 群　：薬物-OVA 結合物　；1 mg/匹
	PCA 試験	最終免疫より 6 日目に A 群～E 群のモルモットより得た血清を無処置モルモットに皮内注射し，2 日後に Evans blue 含有各惹起抗原液（薬物 30 mg/匹又は薬物-OVA 結合物 1 mg/匹）をモルモットに静脈内注射して"Blue spot"の発現を観察。
	ELISA	最終免疫より 6 日目に得た血清中の特異的 IgG 抗体を酵素免疫学的方法で測定。
試験成績	ASA 試験	A 群　Ro64-0802 免疫−Ro64-0802 惹起　：陰性 B 群　Ro64-0802 免疫−Ro64-0802-OVA 結合物惹起　：陰性 C 群　Ro64-0802-GPSA 結合物免疫−Ro64-0802 惹起　：陰性 D 群　Ro64-0802-GPSA 結合物免疫−Ro64-0802-OVA 結合物惹起　：陽性（2/5 例） E 群　PCG 免疫−PCG-OVA 結合物惹起　：陽性（4/4 例）
	PCA 試験	A，B 群　Ro64-0802 免疫−Ro64-0802 惹起　：陰性 A，B 群　Ro64-0802 免疫−Ro64-0802-OVA 結合物惹起　：陰性 C，D 群　Ro64-0802-GPSA 結合物免疫−Ro64-0802 惹起　：陽性（1/15 例） C，D 群　Ro64-0802-GPSA 結合物免疫−Ro64-0802-OVA 結合物惹起　：陽性（2/15 例） E 群　PCG 免疫−PCG 惹起　：陽性（4/4 例） E 群　PCG 免疫−PCG-OVA 結合物惹起　：陽性（4/4 例）
	ELISA	A，B 群　：陰性 C，D 群　：陽性（14/15 例） E 群　：陽性（4/4 例）
結論		Ro64-0802 に免疫原性は認められなかった。静脈内投与条件下で弱いアレルギー誘発性が認められたが，臨床適用経路が経口であることから，臨床において Ro64-0802 が誘発原性を示す可能性はないと推察される。

GPSA：モルモット血清アルブミン，　OVA　：卵白アルブミン

表ニ-32　リン酸オセルタミビルのモルモットにおける皮膚感作性試験（Maximization Test 法）

報告者（実施施設）		（　　　　, スイス国）				
試験方法	動物	Hartley 系雌モルモット，5～7 週齢，体重：404～461g 対照群：1 群 5 匹，リン酸オセルタミビル群：1 群 10 匹				
	薬物	リン酸オセルタミビル（溶媒：PEG400）				
	投与	投与方法	対照群		投薬群	
	感作（肩甲骨付近）					
	1 回目（1 日）	皮内注射 [a]	1～3 の溶液	0.1 mL x 2	1～3 の溶液	0.1 mL x 2
	2 回目（8 日）	塗布 [b]	PEG400	0.3 mL	30 %溶液	0.3 g
	惹起（背中）					
	1 回目（22 日）	塗布 [c]　左	30 %溶液	0.2 g	30 %溶液	0.2 g
		右	PEG400	0.2 mL	PEG400	0.2 mL
	2 回目（31 日）	塗布 [c]　右	／	／	30 %溶液	0.2 g

a：感作 1 回目；2 回目塗布部位の両側の各 3 ヵ所に以下の各液を皮内注射

対照群
1. FCA：生理食塩液 = 1：1
2. PEG400
3. PEG400：FCA：生理食塩液 = 2：1:1

投薬群
1. FCA：生理食塩液 = 1：1
2. 5%溶液
3. 10%溶液：FCA：生理食塩液 = 2：1:1

b：感作 2 回目；48 時間閉塞塗布（パッチ；2 x 4 cm）
c：惹　　起；24 時間閉塞塗布（パッチ；2 x 2 cm）

試験成績	皮膚反応陽性例	対照群	投薬群
	1 回目：24 時間　左	0/5	5/9*
	右	0/5	0/9
	1 回目：48 時間　左	0/5	7/9
	右	0/5	0/9
	2 回目：24 時間　右	／	4/9
	2 回目：48 時間　右	／	5/9
結　論		皮膚感作性あり	

FCA：Freund's Complete Adjuvant　　　PEG400：polyethylene glycol 400

*：1 例は 7 日目に死亡

／：実施せず

8. **光毒性**

リン酸オセルタミビルの光毒性作用について，マウス線維芽細胞を用いニュートラルレッド取り込み法により検討した（表ニ-33）。その結果，リン酸オセルタミビルに光毒性作用はみられなかった。

表ニ-33　リン酸オセルタミビルのマウス線維芽細胞を用いた光毒性試験

報告者（実施施設）		（スイス・　　　）			
被験細胞		Balb/c 3T3 細胞　（マウス由来線維芽細胞）			
薬物		リン酸オセルタミビル（溶媒：リン酸緩衝生理食塩液）			
陽性対照		Chlorpromazine hydrochloride（溶媒：リン酸緩衝生理食塩液/3% DMSO）			
適用用量		リン酸オセルタミビル: UV 照射群；0(溶媒)，390.6，781.2，1562.5，3125，6250，12500，25000，50000 μg/mL UV 非照射群；0(溶媒)，390.6，781.2，1562.5，3125，6250，12500，25000，50000 μg/mL 陽性対照： UV 照射群；0(溶媒)，0.05，0.12，0.31，0.77，1.92，4.8，12，30 μg/mL UV 非照射群；0(溶媒)，0.5，1.2，3.1，7.7，19.2，48，120，300 μg/mL			
試験系		試験法：ニュートラルレッド取り込み法 光源：UV-A（波長域 350～400 nm），照射量：約 10 J/ cm²（約 2.77 mW/cm²） 薬物処理：1 時間の薬物処理後，UV-A 照射又は非照射条件下で更に約 50 分薬物処理。 生存率測定：薬物除去後 24 時間培養し，ニュートラルレッドを添加して 3 時間培養。 細胞に取り込まれたニュートラルレッド量を測定し，細胞生存率を求め，細胞の 50% が生存している薬物濃度（IC_{50}）を求めた。			
結果	薬物	リン酸オセルタミビル		陽性対照	
	UV-A	非照射	照射	非照射	照射
	IC_{50}（μg/mL）	3832.2	2214.2	15.6	0.3
	IC_{50} 比*	1.7		52	
結論		光毒性なし			

*：IC_{50} 比 ＝ IC_{50}（-UV）/ IC_{50}（+UV），IC_{50} 比が 5 以上の時に光毒性ありと判定。

9. 不純物の毒性

不純物（分解物，副生成物）の毒性試験として，リン酸オセルタミビル（原体）及び保存したリン酸オセルタミビルカプセル剤に含まれると予測される5種類の不純物（Ro64-6661，Ro64-0952，Ro64-0951，Ro64-1634，Ro64-7943）を添加したリン酸オセルタミビルの細菌を用いた復帰突然変異試験（Ames試験）　及びヒトリンパ球を用いた染色体異常試験　　を実施した。また，3 種類の不純物（Ro64-0802，Ro64-0952，Ro64-0951）を添加したリン酸オセルタミビルのラット 2 週間経口投与試験　　を実施した。更に，不純物 Ro64-0952 のみを添加したリン酸オセルタミビルのラット2週間経口投与試験　　を実施した。各試験の試験方法及び成績を「表ニ-34，35，36，37」に示した。

これらの不純物に関する毒性試験成績及びマーモセットの 9 ヵ月間経口投与試験成績　　を基にリン酸オセルタミビルカプセル剤に 0.1%以上含まれる可能性のある 3 種類の不純物/分解物（Ro64-0802，Ro64-6661，Ro64-0952）の一般毒性及び遺伝毒性の評価を行った。

また，初期に合成されたバッチから遺伝毒性（Ames 試験陽性）を有する 2-アジド化合物 Ro64-1637 が不純物/副生成物として検出されたため，その後合成された多くのバッチについて Ames 試験が行われ，各バッチに含まれる Ro64-1637 量と Ames 試験陽性との関連性が検討された　　。リン酸オセルタミビルに微量混在する Ro64-1637（規格：0.01%以下）による発がん及び遺伝毒性の可能性についても文献的に考察を行なった。

Ro64-0802

本剤に含まれる Ro64-0802 の規格値は 1.0%以下に設定されている。ヒトにおけるオセルタミビルの 75mg の 1 日 2 回投与は体重 60kg 換算で 2.5mg/kg/日投与に相当し，規格値を考慮した場合，ヒトでの Ro64-0802 の最大投与量は 0.025mg/kg/日と計算される。Ro64-0802 はリン酸オセルタミビルの活性体であることから，動物実験及び臨床試験で曝露量が調べられている。不純物のラット 2 週間経口投与試験　　では Ro64-0802 を 0.5%含むリン酸オセルタミビル（バッチ：BS98073444）で実施され，50mg/kg/日の投与（Ro64-0802 の 0.25mg/kg/日投与に相当）で Ro64-0802 添加に起因する新たな毒性の発現は認められず，消化管に対する影響も認められなかった。不純物のラット 2 週間経口投与試験における Ro64-0802 の投与量 0.25mg/kg/日（リン酸オセルタミビルで 50mg/kg/日）はヒトでの Ro64-0802 の最大投与量 0.025mg/kg/日の 10 倍に相当する。また，リン酸オセルタミビル及び Ro64-0802 では一連の遺伝毒性試験が実施されており，いずれの試験においても，遺伝毒性は認められなかった　　。

Ro64-6661

本剤に含まれる Ro64-6661 の規格値が 0.3%以下に設定されていることから，ヒトにおける最大投与量は 0.0075mg/kg/日と計算される。マーモセットの 9 ヵ月間（39 週間）経口投与試験（最高用量：1000mg/kg/日）では Ro64-6661 を 0.05%含むバッチ（4104-02-F-2）にて最初の 26 週間の投与が行われた。1000mg/kg/日の用量まで，本薬に微量含まれる不純物 Ro64-6661 に起因すると考えられる新たな毒性の発現はなかった。1000mg/kg/日投与は Ro64-6661 の 0.5mg/kg/日投与にあたるが，これは規格値と臨床用量（75mg の 1 日 2 回投与）を考慮した場合の Ro64-6661 の最大投与量（0.0075mg/kg/日）の約 67 倍に相当する。リン酸オセルタミビルに Ro64-6661 を 1.0%含有となるように添加して実施した遺伝毒性試験では遺伝毒性は認められなかった　　。

Ro64-0952

本剤に含まれる Ro64-0952 の規格値が 0.2%に設定されていることから，ヒトにおける最大投与量は 0.005mg/kg/日と計算される。Ro64-0802（0.5%），Ro64-0952（0.15%），Ro64-0951（0.15%）を添加したリン酸オセルタミビル で実施されたラット 2 週間経口投与試験　　では，25mg/kg/日投与で薬物に

関連した所見は認められなかったが，50mg/kg/日投与で雄ラットの2/5例に精巣上体の肉芽腫様変化（片側性）が認められた（投与薬液中のRo64-0952の濃度は，50mg/kg薬液では0.13%，25mg/kg薬液では0.11%であった）。しかし，Ro64-0952を0.15%あるいは0.75%の濃度に添加したリン酸オセルタミビルで実施されたラット2週間経口投与試験（投与用量：50mg/kg/日）　　　では，Ro64-0952添加に起因する新たな毒性の発現は認められず，先の試験　　　で認められたラット精巣上体の肉芽腫様変化は偶発的なものと結論された（投与薬液中のRo64-0952の濃度は，0.12%と0.68%であった）。なお，これらのラット2週間経口投与試験で投与されたRo64-0952の最高投与用量は0.34mg/kg/日であったことから，Ro64-0952の規格値とリン酸オセルタミビルの臨床用量（オセルタミビルとして75mgの1日2回投与）を考慮した場合のRo64-0952の安全域は68倍と推定された。

また，リン酸オセルタミビルにRo64-0952を1.0%含有となるように添加して実施した一連の遺伝毒性試験で遺伝毒性は認められなかった　　　。

Ro64-1637

Ro64-1637は2-アジド化合物である。この不純物の遺伝毒性についての検討がAmes試験にて行われ，その結果を基にバルク中の規格値が0.01%に設定された　　　。Ro64-1637の遺伝毒性はリン酸オセルタミビルのバッチに0.03%以上含まれる場合に認められ，ネズミチフス菌のTA1535で陽性反応がみられた。実験より，Ro64-1637中に含まれるアジドイオンが細菌の代謝により遊離されることが明らかになった　　　。アジドに関連した遺伝毒性は細菌及び下等真核生物に特徴的な現象である。哺乳類細胞ではアジドの推定される変異原物質への変換はみられず[1,2]，アジ化ナトリウムのラットにおける2年間のがん原性試験結果は陰性であった[3]。以上のことから，本薬に微量混在する2-アジド化合物であるRo64-1637による発がん及び遺伝毒性の可能性はないと推察される。

<引用文献>

1) Owais WM. The lack of L-azidoalanine interaction with DNA. In vitro studies. Mutation Res. 1993;302:147-151.
2) Mangold JB et al. Effects of deuterium labeling on azide amino acid mutagenicity in salmonella typhimurium. Mutation Res. 1994;308:33-42
3) National Toxicology Program. Toxicology and carcinogenesis studies of sodium azide (CAS No. 26628-22-8) in F344/N rats (gavage studies). NTP TR 389. 1991

表二-34 不純物のラットにおける 2 週間経口投与毒性試験

報告者（実施施設）		（イギリス・　　　）
試験方法	動物	SD(CD)ラット，約 8 週齢，体重：雄 291～316g，雌 190～236g， 1 群雌雄各 5 匹
	薬物	・リン酸オセルタミビル ・3 種の不純物を添加したリン酸オセルタミビル 添加不純物の濃度（調製薬液中の濃度）： Ro64-0802：0.5%　(25，50 mg/kg 群：0.5%) Ro64-0952：0.15%（25 mg/kg 群：0.11%，50 mg/kg 群：0.13%） Ro64-0951：0.15%（25，50 mg/kg 群：0.08%） #ヒトに投与される可能性のある最大量より少なくとも 5 倍から 10 倍の投与用量になるように各不純物を添加。 溶媒：0.05 M 酢酸緩衝液（pH 4.0）
	投与経路・方法	経口投与（強制）
	投与量	0（溶媒），50，25，50 mg/kg/日(フリー体換算)，投与容量：10 mL/kg
	投与期間	14 日間（2 週間）

試験成績	投与群	溶媒	リン酸オセルタミビル	不純物を含むリン酸オセルタミビル	
	投与量（mg/kg/日）	0	50	25	50
	死亡数	0	0	0	0
	一般症状	—	—	—	—
	体重 [a]				
	尿検査 [b]				
	血液学的検査 [b]		PT・APTT↓(軽度)		PT・APTT↓(軽度)
	血液生化学的検査 [b]	—	ｸﾞﾙｺｰｽ↑	♂ P↑，ｸﾞﾙｺｰｽ↑	♂ P↑，ｸﾞﾙｺｰｽ↑
			極く軽度の変化		
	剖検	—	—	—	—
	臓器重量 [a]				
	病理組織学的検査	—	—	—	精巣上体の肉芽腫様変化(雄 2/5 例，片方のみ)
結　論		不純物を含むリン酸オセルタミビルの 50 mg/kg/日群の精巣上体の変化を除外すると，これらの不純物に起因すると考えられる有意な毒性変化はなかった。 明らかに不純物による毒性変化のない投与用量は，25 mg/kg/日群であり，予測される最高臨床用量に対して，Ro64-0952 の安全域は 5.5～13 倍，Ro64-0951 の安全域は 4～8 倍であった。			

—：特記すべき所見なし，↑：増加，↓：減少

統計学的処理；a: Student t 検定

b: Bartlett 検定，ANOVA＋Student t 検定/Kruskal-Wallis 検定＋Dunn 検定

表ニ-35 不純物のラットにおける2週間経口投与毒性試験（Ro64-0952）

報告者（実施施設）		（イギリス・　　　）			
試験方法	動物	SD(CD)ラット，約8週齢，体重：雄255～275g，雌185～209g， 1群雌雄各5匹			
	薬物	・リン酸オセルタミビル：Ro64-0952 と Ro64-0802 を含まない。 ・リン酸オセルタミビル：0.15% Ro64-0952＋0.56% Ro64-0802 ・リン酸オセルタミビル：0.75% Ro64-0952＋0.56% Ro64-0802 # オセルタミビルフリー体換算での添加量。 溶調製薬液中の Ro64-0952 の濃度は，0.12%と 0.68%であった。 溶媒：0.05M 酢酸緩衝液（pH 4.0）			
	投与経路・方法	経口投与（強制）			
	投与量	0（溶媒），50mg/kg/日（フリー体換算），　投与容量：10 mL/kg			
	投与期間	14 日間（2 週間）			
試験成績	投与群	溶媒	リン酸オセルタミビル	不純物を含むリン酸オセルタミビル	
			Ro64-0952 無添加	Ro64-0952（0.15%添加）	Ro64-0952（0.75%添加）
	投与量（mg/kg/日）	0	50	50	50
	死亡数	0	0	0	0
	一般症状	—	—	—	—
	体重[a]				
	尿検査[b]				
	血液学的検査[b]	—	♂ PT・APTT↓（軽度）		
	血液生化学的検査[b]				
	剖検	—	—	—	—
	臓器重量[a]				
	病理組織学的検査	—	—	—	—
結　論		不純物 Ro64-0952 に起因すると考えられる新たな毒性の発現はなかった。 前回の試験　　　で 0.13% Ro64-0952 を含むリン酸オセルタミビル 50mg/kg/日群で 2/5 例のラットに精巣上体の肉芽腫様変化（片側性）が認められたが，本試験の 0.15% Ro64-0952 及び 0.75% Ro64-0952 を含むリン酸オセルタミビル 50mg/kg/日群では，このような変化はみられなかった。従って，前回のラット精巣上体にみられた変化は偶発的なものと結論された。 予測される最高臨床用量に対して，Ro64-0952 の安全域は 68 倍であった。			

—：特記すべき所見なし，　↓：減少

統計学的処理；a: Student t 検定

b: Bartlett 検定，ANOVA＋Student t 検定/Kruskal-Wallis 検定＋Dunn 検定

表二-36 不純物の細菌を用いた復帰突然変異試験

報告者(実施施設)	(スイス・　　　)
被験菌	ネズミチフス菌：TA97, TA98, TA100, TA1535, TA102
薬物	5種の不純物を添加したリン酸オセルタミビル（溶媒：DMSO/水 (1:1)） 添加不純物の濃度： Ro64-6661：1.0% Ro64-1634：0.2% Ro64-7943：0.2% Ro64-0952：1.0% Ro64-0951：0.5% *試験実施時（1998年10月），リン酸オセルタミビル及び保存したリン酸オセルタミビルカプセル剤に含まれる可能性があると考えられる最高濃度の各不純物を添加。
適用用量	代謝活性化(-)： 0(溶媒), 50, 158, 500, 1580, 5000 μg/plate 代謝活性化(+)： 0(溶媒), 50, 158, 500, 1580, 5000 μg/plate
陽性対照	代謝活性化(-)： 2-nitrofluorene; 0.5 μg/plate, sodium azide; 1.0 μg/plate, ICR-191; 1.0 μg/plate, mitomycin C; 0.4 μg/plate 代謝活性化(+)： 2-aminoanthracene; 4.0 μg/plate
試験系	プレート法
結果	抗菌活性：なし 遺伝毒性：復帰突然変異体の増加なし
結論	主成分（リン酸オセルタミビル），添加した不純物のいずれも，本試験条件下で遺伝毒性（遺伝子突然変異誘発性）なし

DMSO：ジメチルスルホキシド

表二-37 不純物のヒトリンパ球を用いた染色体異常試験

報告者(実施施設)	(スイス・　　　)
被験細胞	ヒト末梢血リンパ球
薬物	5種の不純物を添加したリン酸オセルタミビル（溶媒：5%DMSO-培養液） 添加不純物の濃度： Ro64-6661：1.0% Ro64-1634：0.2% Ro64-7943：0.2% Ro64-0952：1.0% Ro64-0951：0.5% *試験実施時（1998年10月），リン酸オセルタミビル及び保存したリン酸オセルタミビルカプセル剤に含まれる可能性があると考えられる最高濃度の各不純物を添加。
適用用量	代謝活性化 (-)： 0(溶媒), 105, 262, 656 μg/mL 代謝活性化 (+)： 0(溶媒), 262, 656, 1640 μg/mL
陽性対照	代謝活性化 (-)：Bleomycin sulfate; 3 μg/mL 代謝活性化 (+)：Cyclophosphamide ;10 μg/mL
試験系	代謝活性化 (-)：薬物添加後24時間培養し，標本作製 代謝活性化 (+)：S-9 mix及び薬物添加後5時間培養し，薬物除去後約19時間培養して標本作製
結果	細胞毒性：代謝活性化(-)(+)で濃度依存的に分裂指数の減少 遺伝毒性：代謝活性化(-)(+)ともに染色体異常を有する細胞の増加なし
結論	主成分（リン酸オセルタミビル），添加した不純物のいずれも，本試験条件下で遺伝毒性（染色体異常誘発性）なし

DMSO：ジメチルスルホキシド

10. 幼若動物における毒性

10-1. 幼若ラットにおける単回経口投与毒性試験（投与時：14 日齢）

1群雌雄各5匹の14日齢のSDラットにリン酸オセルタミビルを 0, 250, 500, 1000, 1500, 2000mg/kg の用量で単回経口投与した。試験方法及び成績は「表ニ-38」に示す。

一般症状，体重に薬物関連の影響はみられなかった。2000mg/kg 群の雌1例は投与後4時間で瀕死屠殺したが，剖検で肺に蒼白・浮腫がみられ投与過誤と判断された。投与後2週の生後28日齢での剖検では何ら異常はみられなかった。従って，概略の致死量は 2000mg/kg 以上と推定された。

なお，本試験より幼若な7日齢のラットを用いた用量設定のための2週間経口投与毒性試験　　　　において，1000mg/kg/日群で初回投与後に死亡例がみられていることから，幼若ラットほど感受性が高いと考えられる。 500mg/kg/日群以下では死亡例はみられなかった。

10-2. 幼若ラットにおける2週間経口投与毒性試験（投与期間：7-20 日齢）

1群雌雄各20～24匹の7日齢のラットにリン酸オセルタミビルを 0, 50, 150, 500mg/kg/日の用量で週7回，2週間経口投与を行なった。0及び500mg/kg/日群の雌雄各4匹は4週間の回復試験に供した。TK 試験群を別途設けた。試験方法及び成績は「表ニ-39」に示す。

用量設定は，幼若ラットにおける用量設定2週間経口投与毒性試験　　　　(0, 50, 150, 500, 1000mg/kg/日，投与開始時：7日齢)において，1000mg/kg/日群で24例中18例(雄8例，雌10例)の幼若ラットが死亡し，雄2例を除き，初回投与後7時間以内に死亡した。雌雄各3例には死亡前にチアノーゼがみられたが，剖検では異常はみられなかった。病理組織学的において，肝細胞の空胞化(全ての死亡児)と肺の浮腫(雄の 4/8 例，雌 5/10 例)がみられた。500mg/kg/日群以下では死亡例はみられなかった。このことから，本試験の最高用量を 500mg/kg/日とし，以下公比3で 150, 50mg/kg/日を設定した。

母動物（無処置）の妊娠期間，授乳期間中の一般症状，体重，摂餌量に何ら異常はなかった。幼若ラットに死亡例はみられず，一般症状，体重，尿検査，血液検査，血液生化学的検査，剖検，臓器重量，病理組織学的検査に何ら薬物関連の異常はなかった。4週間の回復試験においても異常はみられなかった。

無毒性量は 500mg/kg/日と推定された。

10-3. 幼若ラットにおける4週間経口投与毒性試験（投与期間：21-49 日齢）

1群雌雄各20～24匹の21日齢のラットにリン酸オセルタミビルを 0, 50, 150, 500mg/kg/日の用量で週7回，4週間経口投与を行なった。0及び500mg/kg/日の各群雌雄各4匹は4週間の回復試験に供した。TK 試験群を別途設けた。試験方法及び成績は「表ニ-40」に示す。

用量設定は，幼若ラットにおける用量設定2週間経口投与毒性試験　　　　において，500mg/kg/日が幼若ラットの無毒性量であり，1000mg/kg/日ではほとんどの動物(18/24 例)が死亡したことから，本試験の最高用量を 500mg/kg/日とし，以下公比3で 150, 50mg/kg/日を設定した。

幼若ラットに死亡例はみられず，一般症状，体重，摂餌量，血液検査，血液生化学的検査，剖検，臓器重量，病理組織学的検査に何ら薬物関連の異常はなかった。尿検査では，150及び500mg/kg/日群において尿量の増加，無機電解質（Ca, Mg, Na 等）の排泄量の増加がみられた。血液生化学的検査では，150及び500mg/kg/日群において無機電解質（P, Ca, Mg 等）の増加がみられた。上記変化は4週間の休薬により回復した。この150及び500mg/kg/日群においてみられた変化は，本薬に含まれるリン酸塩の過剰摂取に伴う生理的変化と考えられ，一般症状，体重，摂餌量及び病理組織学的検査を含むその他の臨床検査において異常所見がみられなかったことから，無毒性量は 500mg/kg/日と推定された。

以上の様に幼若動物における毒性試験としては，経口投与による幼若ラットでの単回投与試験及び 4 週間までの反復投与試験が行われた（投与時 1，2 あるいは 3 週齢）。

幼若ラット（投与時 1，2 週齢）の単回投与での致死量は，成熟ラット（6 週齢）での 2000mg/kg 以上に対し，1 週齢ラットで 1000mg/kg，2 週齢ラットでは 2000mg/kg 以上で，幼若な動物ほど成熟動物に比較して感受性が強くなることが示唆された。

しかし，最高用量 500mg/kg/日で実施された 2 週間（投与時 2 週齢）及び 4 週間投与試験（投与時 3 週齢）において，500mg/kg/日までの投与で死亡例はみられず，また，血液生化学的検査・尿検査パラメータに変化がみられたものの，成熟ラットの 4 週間投与試験（投与時 7～8 週齢）の 250mg/kg/日以上群でみられた腎臓の異常所見はみられず，2 週齢を過ぎた幼若ラットでの本薬に対する忍容性は良好で，成熟ラットとほぼ同じと推察された。

表ニ-38　幼若ラットにおける単回経口投与毒性試験（投与時：14日齢）

報告者（実施施設）		（　　　　　　　　，イギリス国）					
試験方法	動物	SD ラット，14日齢，体重：雄 22.6～32.3g，雌 20.7～30.0g，1群雌雄各5匹					
	薬物	リン酸オセルタミビル（溶媒：酢酸緩衝液，pH 4）					
	投与経路・方法	経口投与（強制）					
	投与量	0（溶媒），250，500，1000，1500，2000 mg/kg，投与容量：10 mL/kg					
	観察期間	14日間					
試験成績	投与量（mg/kg）	0	250	500	1000	1500	2000
	死亡数	0	0	0	0	0	♀1例（誤投与）
	一般症状	—	—	—	—	—	—
	体重	—	—	—	—	—	—
	剖検	—	—	—	—	—	—
概略の致死量		2000 mg/kg 以上					

—：特記すべき所見なし

統計学的処理：実施せず

表ニ-39　幼若ラットにおける2週間経口投与毒性試験（投与期間：7-20日齢）

報告者（実施施設）		(　　　)			
試験方法	動物	SDラット，7日齢，体重：雄 12.2～18.9g，雌 11.5～18.0g，1群雌雄各24匹（低用量と中間用量は1群雌雄各20匹）＋ TK試験用1群雌雄各24匹			
	薬物	リン酸オセルタミビル（溶媒：滅菌水）			
	投与経路・方法	経口投与（強制）			
	投与量	0（溶媒），50，150，500 mg/kg/日，投与容量：10 mL/kg			
	投与期間	2週間，回復試験：4週間（対照群と高用量群の各群雌雄各4匹）			
試験成績	投与量（mg/kg/日）	0	50	150	500
	死亡数	0	0	0	0
	一般症状	—	—	—	—
	体重[a]				
	血液学的検査[a]				
	血液生化学的検査[a]				
	尿検査[a,b]				
	剖検	—	—	—	—
	臓器重量[a]				
	病理組織学的検査	—	—	—	—
	回 復 試 験	—	／	／	—
	TK試験（平均値）				
	オセルタミビル Cmax（ng/mL）	0日 13日	5440 1340	14000 8290	49200 16600
	オセルタミビル $AUC_{0\text{-}24h}$（μg.h/mL）	0日 13日	21.6 3.4	71.4 19.3	335 59.0
	Ro64-0802 Cmax（ng/mL）	0日 13日	1520 1180	5710 4650	16500 10100
	Ro64-0802 $AUC_{0\text{-}24h}$ （μg.h/mL）	0日 13日	15.2 7.15	52.5 26.3	199 71.2
無毒性量		500 mg/kg/日			

:特記すべき所見なし，　／：実施せず

統計学的処理；a: Bartlett検定，ANOVA + Dunnet検定/Kruskal-Wallis検定＋Dunnet検定

b: Exact rank sum検定

表二-40　幼若ラットにおける4週間経口投与毒性試験（投与期間：21-49日齢）

報告者（実施施設）		(　　　　)			
試験方法	動物	SDラット，21日齢，体重：雄 43～57g，雌40～60g，1群雌雄各24匹（低用量と中間用量は1群雌雄各20匹）＋ TK試験用1群雌雄各18匹			
	薬物	リン酸オセルタミビル(溶媒：滅菌水)			
	投与経路・方法	経口投与（強制）			
	投与量	0（溶媒），50，150，500 mg/kg/日，投与容量：10 mL/kg			
	投与期間	4週間，回復試験：4週間（対照群と高用量群の各群雌雄各4匹）			
試験成績	投与量（mg/kg/日）	0	50	150	500
	死亡数	0	0	0	0
	一般症状	—	—	—	—
	体重[a]				
	摂餌量[a]				
	血液学的検査[a]				
	血液生化学的検査[a]	毒性学的に問題となる変化なし（150，500 mg/kg/日群で電解質(P・Ca・Mg・Na・K↑)			
	P（mg/dL）♂	9.963±0.539	10.609±1.941	10.553±0.981*	10.609±0.975*
	♀	8.898±0.992	8.746±0.789	9.520±0.706*	9.649±0.530**
	Ca(mg/dL)♂	9.48±0.35	9.76±0.55	9.88±0.45*	9.99±0.31**
	♀	9.61±0.47	9.59±0.36	9.99±0.35**	9.90±0.26*
	尿検査[a,b]	毒性学的に問題となる変化なし（150，500 mg/kg/日群で尿量↑，電解質(Ca・Mg・Na・K・Cl)の排泄量↑）			
	尿量(ml)♂	2.93±0.84	3.21±1.14	3.71±1.36	5.89±2.33**
	♀	2.45±0.84	3.11±0.80	3.68±1.21*	5.62±1.85**
	剖検	—	—	—	—
	臓器重量[a]				
	病理組織学的検査	—	—	—	—
	回　復　試　験	—	／	／	—
					（平均値±S.D.）
	ＴＫ試験（平均値）				
	オセルタミビル Cmax（ng/mL）	4日	437	2230	5910
		28日	887	3330	6880
	オセルタミビル AUC_{0-24h}（μg.h/mL）	4日	1.37	4.85	20.3
		28日	2.69	8.42	37.9
	Ro64-0802 Cmax（ng/mL）	4日	966	4060	11600
		28日	1480	5910	15400
	Ro64-0802 AUC_{0-24h}（μg.h/mL）	4日	4.84	18.4	66.9
		28日	8.34	27.0	103
無毒性量		500 mg/kg/日			

:特記すべき所見なし，　　↑：増加，　　／：実施せず

統計学的処理；a: Bartlett検定，ANOVA + Dunnet検定/Kruskal-Wallis検定＋Dunnet検定

b: Exact rank sum検定　　*: p<0.05　　**: p<0.01

11. 類薬との毒性の比較

リン酸オセルタミビルと他のインフルエンザ治療薬（塩酸アマンタジン，ザナミビル水和物）の動物実験における毒性発現量と臨床用量との関係を単回投与毒性試験結果及び反復投与毒性試験結果で比較した。他剤については，塩酸アマンタジンは文献[1]より，ザナミビル水和物（以降ザナミビルと略）は公開されている申請資料[2]より抜粋した。

11-1. 単回投与毒性の比較

単回経口投与毒性試験結果の比較では，リン酸オセルタミビルの致死量が塩酸アマンタジンの致死量より高いことが示された。なお，ザナミビルについては投与可能な最大量を吸入または静脈内投与しても死亡例はなく，致死量は投与可能最大量以上となり，致死量は求められていない（表ニ-41）。

主な急性毒性所見は，リン酸オセルタミビル（経口投与）では，サル（マーモセット）における500mg/kg以上群の嘔吐，2000 mg/kg 群の流涎，胃腸管障害（粘膜の出血，糜爛，潰瘍あるいは萎縮）及び死亡発現であった。塩酸アマンタジン（経口投与）では，サル（アカゲザル）における150mg/kg以上群の散瞳，間代性痙攣，200mg/kg以上群の嘔吐であった。また，イヌにおける62mg/kg以上群の中枢神経毒性(振戦，筋攣縮，間代性痙攣，流涎，散瞳，瞳孔反射の消失などの中枢神経毒性(24 時間後には消失)，93mg/kg 以上群の嘔吐であった。ザナミビル（吸入，静脈内投与）では，投与可能最大量を投与しても薬物投与によると考えられる毒性所見はなかった。

表ニ-41 類薬との比較：単回投与毒性成績と臨床用量との比

動物	投与経路	概略の致死量(又は LD_{50})と臨床用量との比(括弧内)		
		リン酸オセルタミビル	塩酸アマンタジン	ザナミビル
マウス	経口	2000 mg/kg 以上 (606 倍以上)	LD_{50}：♀700 mg/kg (412 倍)	／
	静脈内	250 mg/kg (76 倍)	LD_{50}：♀97 mg/kg (57 倍)	／
ラット	経口	2000 mg/kg 以上 (606 倍以上)	LD_{50}：♂1275 mg/kg，♀890 mg/kg (524～750 倍)	／
	静脈内	／	／	90 mg/kg 以上 (273 倍以上)
	吸入	／	／	♂49.7 mg/kg 以上， ♀56.3 mg/kg 以上 (151～171 倍以上)
イヌ	経口	／	372 mg/kg 以上 (219 倍以上)	／
	静脈内	／	37 mg/kg 以上 (22 倍以上)	36 mg/kg 以上 (109 倍以上)
	吸入	／	／	28.4 mg/kg 以上 (86 倍以上)
サル	経口	2000 mg/kg (606 倍)	♂500 mg/kg 以上 (294 倍以上)	／
臨床用量 (体重 60 kg 換算)		内服 3.3 mg/kg 1 日 197 mg を 2 回に分割して投与*	内服 1.7 mg/kg 1 日 100 mg を 1～2 回に分割して投与	吸入 0.33 mg/kg 1 日 20 mg を 2 回に分割して投与

／：検索データなし，（ ）：臨床適用経路における概略の致死量の臨床用量に対する倍率
*：オセルタミビルとして，1 日 150 mg を 2 回に分割して投与

11-2. 反復投与毒性の比較

反復投与毒性試験結果の比較では，リン酸オセルタミビルの毒性発現量は塩酸アマンタジンの毒性発現量より低いことが示された。なお，ザナミビルについては投与可能な最大量を吸入または静脈内投与しても毒性の発現はみられていない（表ニ-42）。

リン酸オセルタミビルの反復投与毒性試験の各動物における毒性発現量（経口投与；亜急性・慢性毒性試験より）は，ラットで200〜1500mg/kg/日，サルで1000mg/kg/日で，これは臨床用量 3.3 mg/kg/日（197mg/日，体重 60 kg 換算）のラットで約 60〜450 倍，サルで約 300 倍であった。塩酸アマンタジンの毒性発現量（経口投与；慢性毒性試験より）は，ラットでは臨床用量の 47 倍，イヌとサルでは 23 倍であった。ザナミビルの毒性は吸入，静脈内投与とも設定した最高用量が無毒性量であり，吸入での毒性発現量は臨床用量のラットで 112〜135 倍以上，イヌで 26〜32 倍以上，静脈内投与ではラットで 273 倍以上，イヌで 109 倍以上であった。

表ニ-42 類薬との比較：亜急性・慢性毒性試験における毒性発現量と臨床用量との比較

動物	投与経路	毒性発現量と臨床用量との比（括弧内） リン酸オセルタミビル	塩酸アマンタジン	ザナミビル
ラット	経口	4 週間；1500 mg/kg 6 ヵ月：200 mg/kg （61〜455 倍）	2 年間：80 mg/kg （47 倍）	／
	静脈内	／	／	5 週間：90 mg/kg 以上 （273 倍以上）
	吸入	／	／	5 週間：37.1 mg/kg 以上 6 ヵ月：44.5 mg/kg 以上 （112〜135 倍以上）
イヌ	経口	／	6 ヵ月：30 mg/kg 以上 2 年間：40 mg/kg （18〜23 倍）	／
	静脈内	／	／	5 週間：36 mg/kg 以上 （109 倍以上）
	吸入	／	／	5 週間：8.7 mg/kg 以上 6 ヵ月：10.5 mg/kg 以上 （26〜32 倍以上）
サル	経口	4 週間；1000 mg/kg 以上 9 ヵ月：1000 mg/kg （303 倍）	6 ヵ月：40 mg/kg （23 倍）	／
臨床用量 （体重60kg換算）		内服 3.3 mg/kg 1 日 197 mg を 2 回に分割して投与*	内服 1.7 mg/kg 1 日 100 mg を 1〜2 回に分割して投与	吸入 0.33 mg/kg 1 日 20mg を 2 回に分割して投与

／：検索データなし，（ ）：臨床適用経路における概略の致死量の臨床用量に対する倍率

*：オセルタミビルとして，1 日 150 mg を 2 回に分割して投与

主な亜急性・慢性毒性所見は，リン酸オセルタミビルでは，ラットにおける1000mg/kg/日以上の高用量での腎臓障害（腎皮質・髄質の鉱質沈着等）とサルにおける1000mg/kg/日群（2分割投与）での嘔吐であった。塩酸アマンタジンでは，ラットにおける100mg/kg/日以上での中枢神経毒性(投与1～6時間後から発現；3ヵ月目以降，頻度・程度は減弱)・死亡発現とイヌ・サルにおける40mg/kg以上での中枢神経毒性とイヌにおける死亡発現であった。ザナミビルでは設定した最高用量まで薬物関連と考えられる所見はみられていない（表ニ-43）。

表ニ-43　類薬との比較：亜急性・慢性毒性試験における主な毒性所見

動物	投与経路	概略の致死量（又はLD_{50}）と臨床用量との比（括弧内） リン酸オセルタミビル	 塩酸アマンタジン	 ザナミビル
ラット	経口	4週間 250 mg/kg以上：流涎 1500 mg/kg：摂水量↑，腎相対重量↑(軽度)，腎尿細管の鉱質沈着 6ヵ月 200 mg/kg以上：腎相対・肝相対重量↑，尿細管空胞化 1000 mg/kg：摂水量↑	2年間（週5回投与） 80mg/kg以上：体重増加量・摂餌量↓ 100～160 mg/kg（漸増投与）： 死亡数↑，中枢神経毒性(振戦，痙攣；3ヵ月目以降 頻度・程度減少)	／
	静脈内	／	／	5週間 90 mg/kgまで著変なし
	吸入	／	／	5週間，6ヵ月 37.1又は44.5 mg/kgまで著変なし
イヌ	経口	／	6ヵ月（6時間間隔で2分割投与） 30 mg/kg：著変なし 2年間（週5回投与） 40 mg/kg以上：摂餌量・体重増加量↓ 40～80 mg/kg（漸増投与）： 死亡(30-68週)，嘔吐，中枢神経毒性[a]	／
	静脈内	／	／	5週間 36 mg/kgまで著変なし
	吸入	／	／	5週間，6ヵ月 8.7又は10.5 mg/kgまで著変なし
サル	経口	4週間（2時間間隔で2分割投与）： 300 mg/kg以上：流涎散見 1000 mg/kg：嘔吐 9ヵ月（2時間間隔で2分割投与）： 1000 mg/kg：嘔吐，体重↓，尿量↑	6ヵ月（幼若，週5回投与） 40 mg/kg：中枢神経毒性（興奮） 100 mg/kg：中枢神経毒性(興奮，痙攣)，肝臓相対重量↓	／

／：検索データなし，　↑：増加，　↓：減少

a：イヌにおける中枢神経毒性：振戦，痙攣，興奮，散瞳，外敵的刺激に対して過敏（投与後1～6時間），その後，抑鬱，昏迷，歩行失調，18時間後には回復

引用文献

1) Vernon G. Vernier et al.: The Toxicologic and Pharmacologic Properties of Amantadine Hydrochloride. Toxicology and Applied Pharmacology 1969; 15: 642-665

2) 医薬品情報提供ホームページ；新薬の承認に関する情報（平成11年，12月承認分），リレンザ（ザナミビル水和物）の項