

イナビル吸入粉末剤 20 mg

2.6.1 緒言

第一三共株式会社

2.6.1 緒言

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

目次

1. 構造式及び主薬理作用.....	3
2. 承認申請の概要	3

図の目次

図 2.6.1.1-1 CS-8958 の構造式	3
--------------------------------	---

2.6.1 緒言

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

化合物一覧

化合物名(由来)	化学名	構造式
CS-8958 (未変化体)	(2R,3R,4S)-3-Acetamido-4-guanidino-2-[(1R,2R)-2-hydroxy-1-methoxy-3-(octanoyloxy)propyl]-3,4-dihydro-2H-pyran-6-carboxylic acid monohydrate (2R,3R,4S)-3-Acetamido-4-guanidino-2-[(1S,2R)-3-hydroxy-1-methoxy-2-(octanoyloxy)propyl]-3,4-dihydro-2H-pyran-6-carboxylic acid monohydrate	
■ (CS-8958 の 3-アシル体)	(2R,3R,4S)-3-Acetamido-4-guanidino-2-[(1R,2R)-2-hydroxy-1-methoxy-3-(octanoyloxy)propyl]-3,4-dihydro-2H-pyran-6-carboxylic acid monohydrate	
■ (CS-8958 の 2-アシル体)	(2R,3R,4S)-3-Acetamido-4-guanidino-2-[(1S,2R)-3-hydroxy-1-methoxy-2-(octanoyloxy)propyl]-3,4-dihydro-2H-pyran-6-carboxylic acid monohydrate	
R-125489 (活性代謝物)	(2R,3R,4S)-3-Acetamido-2-[(1R,2R)-2,3-dihydroxy-1-methoxypropyl]-4-guanidino-3,4-dihydro-2H-pyran-6-carboxylic acid	

2.6.1 緒言

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

1. 構造式及び主薬理作用

CS-8958（一般名：ラニナミビルオクタン酸エステル水和物）は、第一三共株式会社が創製した長時間作用型ノイラミニダーゼ（NA）阻害薬である。反復投与により治療効果を示す類薬オセルタミビルリン酸塩（経口剤）やザナミビル（吸入剤）とは異なり、CS-8958は単回吸入投与によりインフルエンザウイルス感染症に対する治療効果を得ることを企図して開発された。CS-8958の構造式を図2.6.1.1-1に示す。

CS-8958は、NA阻害作用により抗インフルエンザウイルス活性を示すシアル酸誘導体をリード化合物とし、標的器官である気管及び肺での貯留性を向上させるべくデザインされた。すなはち、CS-8958は、その活性代謝物R-125489の標的器官での高い貯留性を確保するため、直鎖アルキルエステルでプロドラッグ化されている。

CS-8958の活性代謝物であるR-125489は、類薬の耐性ウイルス株を含むすべてのNA亜型のウイルスに対してNA阻害作用を示し、その作用はインフルエンザウイルスのNAに選択性である。また、CS-8958及びR-125489の細胞障害活性は十分に低いことが確認されている。

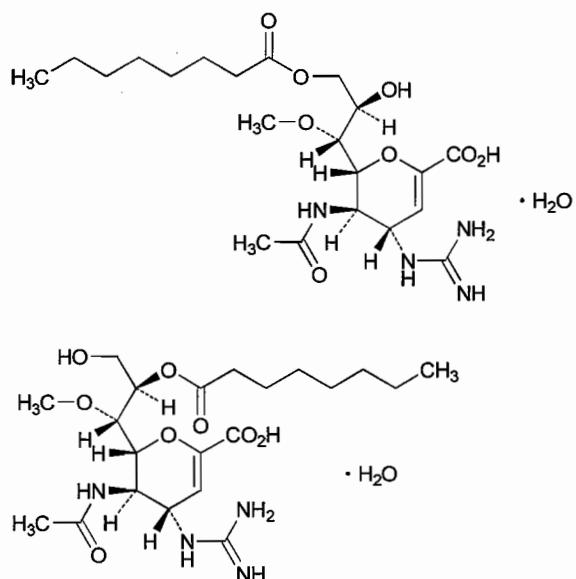


図2.6.1.1-1 CS-8958の構造式

なお、CS-8958は2-アシリル体と3-アシリル体の2種類の位置異性体の混合物であり、本資料概要中では両化合物の混合物をCS-8958として表記した。

2. 承認申請の概要

これまでに得られた非臨床試験成績及び臨床試験成績に基づき、以下の内容で製造販売承認申請することとした。なお、申請製剤は吸入粉末を吸入用容器（ツインキャップス）内に直接充てんしたキット製品であり、1容器中にラニナミビルオクタン酸エステルとして20mgを含有する。

2.6.1 緒言

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

申請品目 イナビル吸入粉末剤 20 mg

効能又は効果（案） A型又はB型インフルエンザウイルス感染症の治療

用法及び用量（案） 通常、成人及び小児には、ラニナミビルオクタン酸エステルとして 40 mg を単回吸入投与する。

イナビル吸入粉末剤 20 mg

2.6.2 薬理試験の概要文

第一三共株式会社

2.6.2 薬理試験の概要文

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

目次

1. まとめ	7
1.1 効力を裏付ける試験.....	7
1.2 安全性薬理試験	8
2. 効力を裏付ける試験	9
2.1 <i>In vitro</i> 抗ウイルス作用.....	9
2.2 動物感染モデルにおける <i>in vivo</i> 抗ウイルス作用	24
2.3 R-125489 に対する耐性インフルエンザウイルス	39
3. 副次的薬理試験	39
4. 安全性薬理試験	39
4.1 CS-8958 及び R-125489 の安全性薬理試験.....	39
5. 薬力学的薬物相互作用試験.....	39
6. 考察及び結論	39
7. 図表	39
8. 参考文献一覧	39

表の目次

表 2.6.2.2-1 ヒトイソフルエンザウイルス標準株及びワクチン株の NA 活性に対する各種被 験化合物の IC ₅₀	12
表 2.6.2.2-2 A型ヒトイソフルエンザウイルス臨床分離株の NA 活性に対する各種被験化合 物の IC ₅₀	13
表 2.6.2.2-3 B型ヒトイソフルエンザウイルス臨床分離株の NA 活性に対する各種被験化合 物の IC ₅₀	14
表 2.6.2.2-4 オセルタミビル及びザナミビル耐性ヒトイソフルエンザウイルスの NA 活性に に対する各種被験化合物の IC ₅₀	16
表 2.6.2.2-5 H1N1型ブタ由来新型ヒトイソフルエンザウイルス及び季節性インフルエンザ ウイルスの NA 活性に対する各種被験化合物の IC ₅₀	17
表 2.6.2.2-6 各種動物インフルエンザウイルス株の NA 活性に対する各種被験化合物の IC ₅₀	18
表 2.6.2.2-7 高病原性 H5N1型トリインフルエンザウイルスの NA 活性に対する各種被験化 合物の IC ₅₀	19
表 2.6.2.2-8 ヒトイソフルエンザウイルス標準株及びワクチン株の培養細胞での増殖活性に に対する各種被験化合物の IC ₅₀	21
表 2.6.2.2-9 H1N1型ブタ由来新型ヒトイソフルエンザウイルス及び季節性インフルエンザ ウイルスの培養細胞での増殖活性に対する 各種被験化合物の IC ₉₀	22

2.6.2 薬理試験の概要文

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

表 2.6.2.2-10 各種動物インフルエンザウイルス株の培養細胞での増殖活性に対する各種被 験化合物の IC ₅₀	22
表 2.6.2.2-11 CS-8958 の <i>in vivo</i> 薬理試験一覧	25
表 2.6.2.2-12 CS-8958 あるいはザナミビルを単回経鼻投与（感染 24 時間後）した A 型イン フルエンザウイルス（H1N1 型）感染マウスの肺中ウイルス力価の推移.....	26
表 2.6.2.2-13 CS-8958 あるいはザナミビルを単回経鼻投与（感染 7 日前）した A 型インフル エンザウイルス（H1N1 型）感染マウスの肺中ウイルス力価の推移	28
表 2.6.2.2-14 A 型インフルエンザウイルス（H1N1 型）感染マウスに CS-8958 又はザナミビ ルを単回経鼻投与（感染 1、4、7、10、あるいは 14 日前）時の延命作用	30
表 2.6.2.2-15 A 型インフルエンザウイルス（H1N1 型）感染マウスに CS-8958 を単回経鼻投 与又はオセルタミビルリン酸塩を単回経口投与（感染 12 時間、1 日、4 日、及 び 7 日前）時の延命作用	32
表 2.6.2.2-16 CS-8958 単回経鼻投与群と CS-8958 又はザナミビル反復経鼻投与群との薬効比 較.....	34
表 2.6.2.2-17 CS-8958 単回経鼻投与群とオセルタミビルリン酸塩反復経口投与群との薬効比 較.....	35
表 2.6.2.2-18 CS-8958 単回投与群と 2 回分割投与群との薬効比較	38
表 2.6.2.2-19 CS-8958 又はザナミビルを単回経鼻投与（感染 7 日前）した A 型インフルエン ザウイルス（H3N2 型）感染マウスの肺中ウイルス力価の推移	38
表 2.6.2.2-20 CS-8958 を単回経鼻投与又はオセルタミビルリン酸塩を 1 日 2 回 5 日間反復経 口投与（感染 2 時間後投与）した高病原性 H5N1 型トリインフルエンザウイル ス感染マウスの肺中及び脳内ウイルス力価の推移.....	39
表 2.6.2.2-21 オセルタミビルリン酸塩投与マウスから分離された耐性ウイルスの NA 活性に に対する R-125489 及びオセルタミビル活性体の IC ₅₀	39
表 2.6.2.2-22 <i>in vitro</i> で各種ノイラミニダーゼ阻害薬存在下に認められた NA 及び HA のア ミノ酸変異.....	39
表 2.6.2.4-1 CS-8958 及び R-125489 の安全性薬理試験成績	39

図の目次

図 2.6.2.2-1 インフルエンザウイルスの生活環（a）及び CS-8958 活性代謝物（R-125489）の 作用点（b）	10
図 2.6.2.2-2 A 型インフルエンザウイルス（H1N1 型）感染マウスに CS-8958（a）あるいは ザナミビル（b）を単回経鼻投与（感染 24 時間後）時の延命作用	27
図 2.6.2.2-3 CS-8958 あるいはザナミビルを単回経鼻投与（感染 7 日前）した A 型インフル エンザウイルス（H1N1 型）感染マウスの肺中ウイルス力価対数値の曲線下面 積の対照群に対する割合	28

2.6.2 薬理試験の概要文

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

図 2.6.2.2-4 A型インフルエンザウイルス (H1N1型) 感染マウスに CS-8958 (a) あるいは ザナミビル (b) を単回経鼻投与 (感染 7 日前) 時の延命作用.....	29
図 2.6.2.2-5 A型インフルエンザウイルス (H1N1型) 感染マウスに CS-8958 あるいはザナ ミビルを単回経鼻投与 (感染 1、4、7、10、又は 14 日前) 時の延命作用	31
図 2.6.2.2-6 A型インフルエンザウイルス (H1N1型) 感染マウスに CS-8958 (a) を単回経 鼻投与又はオセルタミビルリン酸塩 (b) を単回経口投与 (感染 12 時間、1 日、 4 日、及び 7 日前) 時の延命作用.....	33
図 2.6.2.2-7 A型インフルエンザウイルス (H1N1型) 感染マウスに CS-8958 又はザナミビ ルを単回経鼻投与及び反復経鼻投与時の肺中ウイルス力価減少作用.....	34
図 2.6.2.2-8 A型インフルエンザウイルス (H1N1型) 感染マウスに CS-8958 を単回経鼻投 与又はオセルタミビルリン酸塩を反復経口投与時の肺中ウイルス力価減少作用	35
図 2.6.2.2-9 A型インフルエンザウイルス (H1N1型) 感染マウスに CS-8958 (a) を単回経 鼻投与又はオセルタミビルリン酸塩 (b) を 1 日 2 回 5 日間反復経口投与時の 延 命作用 (感染 11 時間後投与)	36
図 2.6.2.2-10 A型インフルエンザウイルス (H1N1型) 感染マウスに CS-8958 を単回投与又 は分割投与時の肺中ウイルス力価減少作用	37
図 2.6.2.2-11 B型インフルエンザウイルス感染フェレットに CS-8958 又はザナミビルを単回 経鼻投与、オセルタミビルリン酸塩を 1 日 2 回 3 日間反復経口投与時の鼻洗浄 液中のウイルス力価減少作用 (感染 4 時間後投与)	39
図 2.6.2.2-12 B型インフルエンザウイルス感染マウスに CS-8958 (a) 又はザナミビル (b) を単回経鼻投与 (感染 7 日前) 時の延命作用	39
図 2.6.2.2-13 H1N1型ブタ由来新型ヒトインフルエンザウイルス感染マウスに CS-8958 単回 経鼻投与時の肺中ウイルス力価減少作用	39
図 2.6.2.2-14 オセルタミビル感受性 (a) 及びオセルタミビル耐性 (b、c) 高病原性 H5N1 型トリインフルエンザウイルス感染マウスに CS-8958 を単回経鼻投与又はオセ ルタミビルリン酸塩を 1 日 2 回 5 日間反復経口投与時の延命作用 (感染 2 時間 後投与)	39
図 2.6.2.2-15 A型インフルエンザウイルス (H1N1型) 感染マウスに CS-8958 単回吸入投与 (a) 及び単回経鼻投与 (b) 時の延命作用	39
図 2.6.2.2-16 野生株及び R15-4 株の各種 NA 阻害剤存在下のplaque 形成能	39

2.6.2 薬理試験の概要文

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

略号一覧

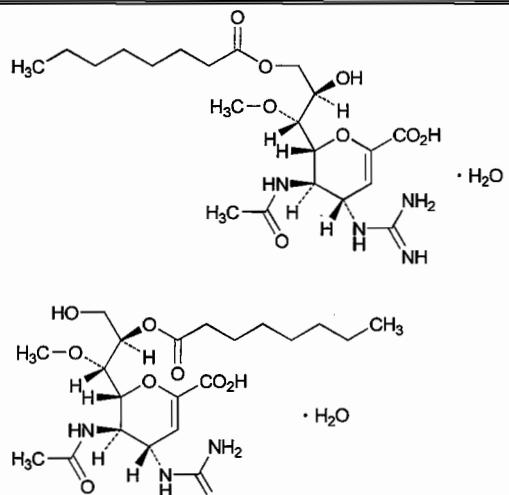
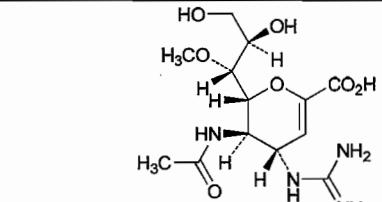
略号	略していない表現（英）	略していない表現（日）
CC ₅₀	50% cytotoxic concentration	50%細胞障害濃度
CHO 細胞	Chinese hamster ovary cell	チャイニーズハムスター卵巣細胞
HA	hemagglutinin	ヘマグルチニン、赤血球凝集素
hERG	human ether-a-go-go related gene	ヒト遅延整流性カリウムイオンチャネル遺伝子
IC ₅₀	50% inhibitory concentration	50%阻害濃度
IC ₉₀	90% inhibitory concentration	90%阻害濃度
MDCK	Madin-Darby canine kidney	メイディンダービーイヌ腎
MLD ₅₀	50% mouse lethal dose	50%マウス致死量
4MU	4-methylumbelliferon	4-メチルウンベリフェロン
4MU-NANA	4-methylumbelliferyl-N-acetyl- α -D-neuraminic acid	4-メチルウンベリフェリル-N-アセチル- α -D-ノイラミン酸
NA	neuraminidase	ノイラミニダーゼ
pfu	plaque-forming unit	pla-ーク形成単位
RNA	ribonucleic acid	リボ核酸
TCID ₅₀	50% tissue culture infectious dose	50%組織培養感染量

2.6.2 薬理試験の概要文

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

化合物一覧

化合物名(由来)	化学名	構造式
CS-8958 (未変化体)	(2 <i>R</i> ,3 <i>R</i> ,4 <i>S</i>)-3-Acetamido-4-guanidino-2-[(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-2-hydroxy-1-methoxy-3-(octanoyloxy)propyl]-3,4-dihydro-2 <i>H</i> -pyran-6-carboxylic acid monohydrate (2 <i>R</i> ,3 <i>R</i> ,4 <i>S</i>)-3-Acetamido-4-guanidino-2-[(1 <i>S</i> ,2 <i>R</i>)-3-hydroxy-1-methoxy-2-(octanoyloxy)propyl]-3,4-dihydro-2 <i>H</i> -pyran-6-carboxylic acid monohydrate	
R-125489 (活性代謝物)	(2 <i>R</i> ,3 <i>R</i> ,4 <i>S</i>)-3-Acetamido-2-[(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-2,3-dihydroxy-1-methoxypropyl]-4-guanidino-3,4-dihydro-2 <i>H</i> -pyran-6-carboxylic acid	

2.6.2 薬理試験の概要文

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

2.6.2 薬理試験の概要文

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

1. まとめ

CS-8958 の薬理試験では、効力を裏付ける試験として、活性代謝物 R-125489 を用いた *in vitro* 試験で A 型及び B 型ヒトインフルエンザウイルスをはじめとする各種インフルエンザウイルスに対するノイラミニダーゼ (NA) 阻害活性及びウイルス増殖阻害活性を検討した。また、*in vivo* 試験では、臨床適用経路である吸入投与の代替投与経路として主に経鼻投与を用いて、肺中又は脳内のウイルス力値と感染 20 日後までの生存時間を指標に、A 型又は B 型ヒトインフルエンザウイルス感染マウスにおける抗ウイルス作用をザナミビル及びオセルタミビルリン酸塩と比較検討した。さらに B 型ヒトインフルエンザウイルス感染モデルとしてフェレットを用いて、鼻洗浄液中のウイルス力値を指標に抗ウイルス作用を検討した。*In vitro* 及び *in vivo* での耐性ウイルスの出現についても検討した。なお、インフルエンザウイルス感染前に CS-8958 を投与した試験成績は CS-8958 の予防効果を評価したものであるが、CS-8958 単回投与後の抗ウイルス作用の持続性を間接的に示す成績であることから、本資料概要中に併せて提示した。

安全性薬理試験としては、*in vivo* にてマウス中枢神経系及び胃腸管系、ラット心血管系、呼吸系、及び腎／泌尿器系に及ぼす影響を、*in vitro* にてモルモット摘出心房の拍動数と収縮力に及ぼす影響を検討した。また、ヒト遲延整流性カリウムイオンチャネル遺伝子 (hERG) 導入チャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 細胞を用いて、CS-8958 と R-125489 の hERG 電流に及ぼす影響を検討した。

なお、CS-8958 の投与量は、効力を裏付ける試験及び hERG 試験では無水物換算で、その他の安全性薬理試験では水和物換算で表記した。

1.1 効力を裏付ける試験

1.1.1 *In vitro* 抗ウイルス作用

In vitro での抗ウイルス作用を検討するため、各種インフルエンザウイルスに対する NA 阻害活性及び MDCK 細胞培養系によるウイルス増殖阻害活性を評価した。

R-125489 は、A 型ヒトインフルエンザウイルス (H1N1 型、H2N2 型、及び H3N2 型) 及び B 型ヒトインフルエンザウイルスの NA を低濃度 (標準株及びワクチン株、IC₅₀ : 2.32 ~ 38.8 nM、臨床分離株 IC₅₀ : 1.29 ~ 26.5 nM) で阻害した。R-125489 は、インフルエンザウイルス感染患者から分離された A 型及び B 型のオセルタミビル耐性ウイルス並びに H1N1 型ブタ由来新型ヒトインフルエンザウイルスに対しても、NA 阻害活性を示した。さらに、R-125489 は、各種動物から分離された H5N1 型と N3~N9 の亜型の A 型動物インフルエンザウイルス、及び感染患者から分離した高病原性 H5N1 型トリインフルエンザウイルス (オセルタミビル感受性及び耐性株) に対しても、NA 阻害活性を示した。R-125489 は、インフルエンザウイルス以外の細菌やウイルスの NA に対しては阻害活性を示さず、インフルエンザウイルスの NA を選択的に阻害することが示唆された。

R-125489 は、A 型ヒトインフルエンザウイルス (H1N1 型、H2N2 型、及び H3N2 型) 及び B 型ヒトインフルエンザウイルスの増殖を低濃度 (標準株及びワクチン株、ただし

2.6.2 薬理試験の概要文

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

A/Wyoming/03/2003 を除く、 IC_{50} : 0.24~11 nM) で阻害した。さらに、R-125489 は、H1N1 型ブタ由来新型インフルエンザウイルス及び H5N1 型トリインフルエンザウイルスを含む各種動物インフルエンザウイルスに対してもウイルス増殖阻害活性を示した。一方、培養細胞に対する細胞障害性は低いことが確認された。

1.1.2 *In vivo* 抗ウイルス作用

In vivo 試験では、マウスの A 型及び B 型インフルエンザウイルス感染モデル、並びにフェレットの B 型インフルエンザウイルス感染モデルを用い、マウス肺中又は脳内ウイルス力価やフェレット鼻洗浄液中ウイルス力価、あるいはマウス生存時間を指標に、CS-8958 の抗ウイルス作用を検討した。

CS-8958 は、A 型インフルエンザウイルス感染マウスにおいて、同投与量の単回経鼻投与でザナミビルより有意に強い肺中ウイルス力価減少作用を示した。単回投与及び反復投与の検討では、A 型インフルエンザウイルス感染マウスにおける CS-8958 の単回経鼻投与とザナミビル（経鼻）やオセルタミビルリン酸塩（経口）の反復投与による抗ウイルス作用の比較から、CS-8958 は単回投与で薬効が期待できることが示唆された。総投与量を同一にした単回投与と 2 分割投与のそれぞれの CS-8958 経鼻投与で肺中ウイルス力価減少作用を比較したところ、両投与方法のウイルス力価減少作用は同等であり、臨床において CS-8958 は単回投与で十分な治療効果を示し得ると考えられた。また、ウイルス感染前に CS-8958 を単回経鼻投与、又はザナミビル（経鼻）やオセルタミビルリン酸塩（経口）を単回投与した時の抗ウイルス作用の比較から、CS-8958 は週に 1 回の経鼻投与でも薬効が期待できることが示唆された。

B 型インフルエンザ感染マウス及びフェレットにおいても、CS-8958 は単回経鼻投与で薬効が期待できることが示唆された。

CS-8958 は H1N1 型ブタ由来新型インフルエンザウイルスにも同様に薬効を示し、H5N1 型高病原性トリインフルエンザウイルスのマウス感染モデルではオセルタミビル耐性株に対しても薬効を示した。

なお、マウスへの経鼻投与時に認められた抗ウイルス作用は、吸入投与時にも認められた。

1.2 安全性薬理試験

安全性薬理試験では、*in vivo* 試験として、CS-8958 を用いてマウス中枢神経系（一般症状観察、運動活性、運動協調性、及びヘキソバルビタル麻酔時間）及び胃腸管系、ラット心血管系、呼吸系、及び腎／泌尿器系に及ぼす影響を検討した。*In vitro* 試験としては、CS-8958 及び R-125489 を用いて、モルモット摘出心房を用いた心拍動数と心筋収縮力に及ぼす影響、並びに hERG 導入 CHO 細胞における hERG 電流に及ぼす影響を検討した。

その結果、CS-8958 は臨床使用に際して問題となる薬理学的作用は持たないと考えられた。

2.6.2 薬理試験の概要文

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

2. 効力を裏付ける試験

2.1 *In vitro* 抗ウイルス作用

In vitro での抗ウイルス作用を検討するため、各種インフルエンザウイルスに対する NA 阻害活性及び MDCK 細胞培養系によるウイルス増殖阻害活性を評価した。

2.1.1 ノイラミニダーゼ阻害作用

インフルエンザウイルスの膜には 2 種類の糖タンパク質（ヘマグルチニン [HA] 及び NA）が発現しており、ウイルスの宿主細胞への結合及び子ウイルスの宿主細胞からの遊離に重要な役割を果たしている。

インフルエンザウイルスの感染は、HA と宿主の呼吸器上皮細胞の表面にある糖鎖の末端シアル酸残基との結合によって始まり、ウイルスは細胞内にエンドサイトーシスにより取り込まれる（1）。次いで、ウイルスを包含したエンドソームはライソゾームと融合することにより、エンドソーム内が酸性化する。そのことで HA は大きく構造変化を起こし、fusion peptide とよばれる領域が露出し、エンドソーム膜とウイルス膜が膜融合を起こす（2）。そのため、ウイルス内部の遺伝子複合体は細胞質に向け開放状態となる（3）。一方で、エンドソーム内の酸性化により、プロトンチャンネル活性を持つウイルス M2 タンパク質を通り、ウイルス内部にプロトンが流入する。このことでウイルス内部の遺伝子複合体はウイルス内部から遊離しやすくなり、遺伝子複合体は細胞質内へと出て行く（4）。放出された遺伝子複合体は核へ移行し、ウイルスゲノム RNA をもとに 2 種類の RNA が合成される。一つはウイルスタンパク質の基となる mRNA（5）で、もう一つが子ウイルス遺伝子複製の鑄型となる全長をカバーする + 鎌 RNA（6）である。mRNA からウイルス構成タンパク質（7）と + 鎌 RNA からゲノム RNA（8）が合成されると、ゲノム RNA のパッケージングが起り、細胞膜上で RNA とウイルスタンパク質が会合し、新しく子ウイルスが産生する（9）。子ウイルスは HA を有しているため、その HA を介してウイルスあるいは細胞上の糖鎖末端シアル酸残基に結合し凝集状態となり、このままでは次の感染へと進行することはできない。そこに NA が働きシアル酸の結合を切断（10）することで子ウイルスは凝集体から遊離（11）し、次の感染へと向かうことが可能となる。以上のステップが繰り返されることにより、ウイルスの爆発的な増殖が可能となる。このとき、NA 阻害剤が存在すると、子ウイルスはその凝集体から遊離することができなくなり、ウイルスの増殖が阻止される（図 2.6.2.2-1）。

抗インフルエンザ薬として臨床現場に供されているザナミビル及びオセルタミビルリン酸塩の活性体は、その NA 阻害作用によりインフルエンザウイルスの増殖を抑制することが知られている¹⁾²⁾。シアル酸誘導体をリード化合物としてデザインされた CS-8958 の活性代謝物 R-125489 も同様に、NA 阻害作用により抗インフルエンザウイルス活性を示すと期待される。

CS-8958 の作用機序に関する検討として、各種ヒトインフルエンザウイルス株及び動物由来インフルエンザウイルス株を用いて、CS-8958 とその活性代謝物 R-125489、ザナミビ

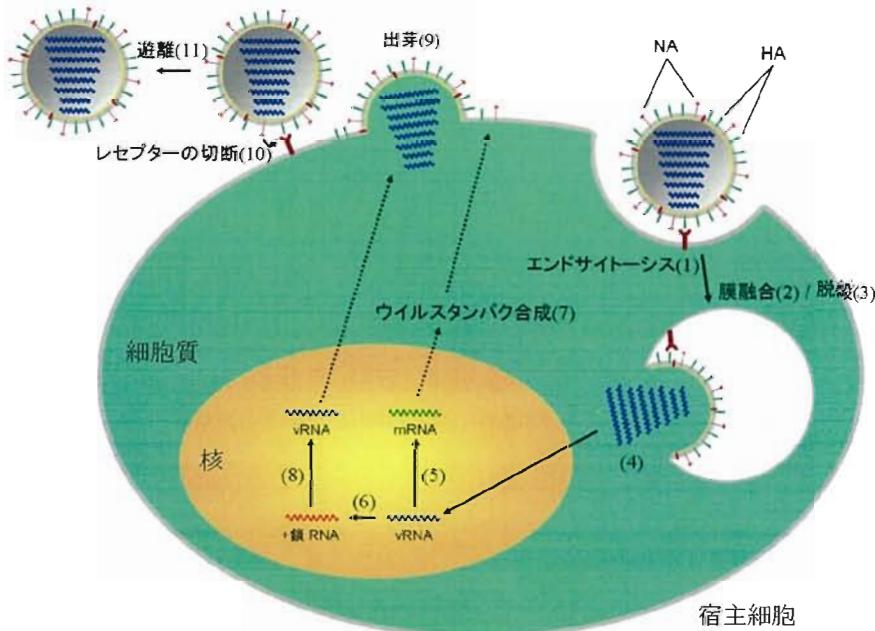
2.6.2 薬理試験の概要文

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

ル、及びオセルタミビル活性体の NA 阻害作用を検討した。また、R-125489 の NA 阻害作用の選択性を検討した。

a インフルエンザウイルスの生活環



b R-125489の作用点

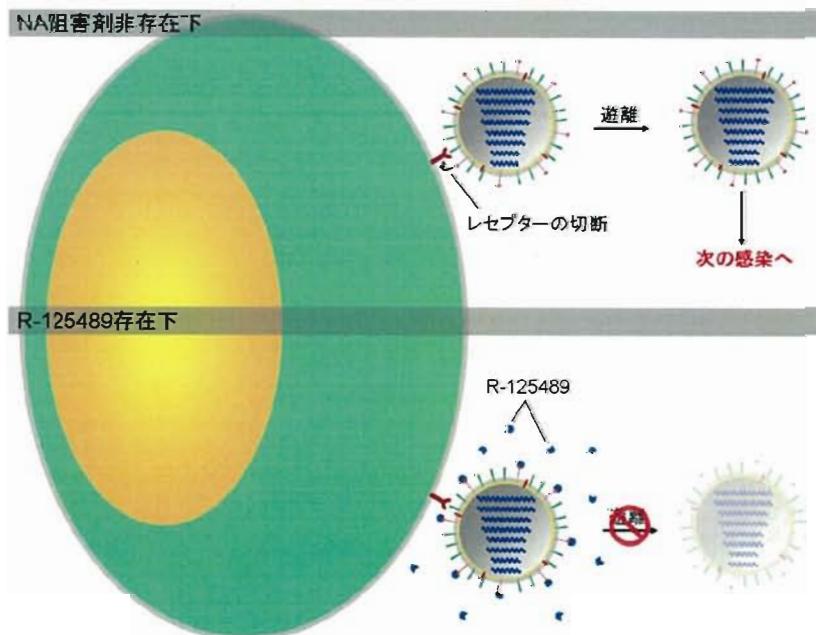


図 2.6.2.2-1 インフルエンザウイルスの生活環 (a) 及び CS-8958 活性代謝物 (R-125489) の作用点 (b)

2.6.2 薬理試験の概要文

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

2.1.1.1 ヒトインフルエンザウイルス NA に対する作用

標準株及びワクチン株、2002～2006 年の A 型（H1N1 及び H3N2 型）及び B 型ヒトインフルエンザウイルスの国内臨床分離株、インフルエンザウイルス感染患者より分離されたオセルタミビル耐性及びザナミビル耐性と報告のあるヒトインフルエンザウイルス、H1N1 型ブタ由来新型ヒトインフルエンザウイルスを用い、これらのウイルスに対する各種被験化合物の NA 阻害活性を検討した。

2.1.1.1.1 ヒトインフルエンザウイルス標準株及びワクチン株（4.2.1.1-1）

方法：受精卵あるいは MDCK 細胞で増殖させた各インフルエンザウイルス（NA 酵素源）に、種々濃度の各被験化合物を添加して室温で 10 分間反応後、基質である 4-methylumbelliferyl-N-acetyl- α -D-neuraminic acid (4MU-NANA) を添加し、さらに室温で 30 分間反応させた。NA が基質を切断して生じた 4-methylumbelliferone (4MU) の蛍光強度を励起波長 360 nm、蛍光波長 460 nm で測定することにより、酵素活性に対する各被験化合物の阻害作用を検討した。阻害活性は、被験化合物が非存在下での酵素活性を 100%とした時に、酵素活性を 50% 阻害するために必要な被験化合物濃度を 50% 阻害濃度 (IC_{50}) として表示した。

結果：ヒトインフルエンザウイルスの標準株（A 型）及びワクチン株（A 型及び B 型）の NA 活性に対する各種被験化合物の IC_{50} を表 2.6.2.2-1 に示す。 IC_{50} は、R-125489 が 2.32～38.8 nM、CS-8958 が 0.0691～12.8 μ M、ザナミビルが 2.05～14.2 nM、オセルタミビル活性体が 0.925～15.6 nM であった。このように、R-125489 はインフルエンザウイルス NA の強い阻害剤であることが示された。

2.6.2 薬理試験の概要文

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

表 2.6.2.2-1 ヒトインフルエンザウイルス標準株及びワクチン株の NA 活性に対する各種被験化合物の IC₅₀

ウイルス株	亜型	IC ₅₀ (nM)			
		R-125489	CS-8958 (μM)	ザナミビル	オセルタミビル活性体
標準株					
A/Puerto Rico/8/34	H1N1	5.97 [4.88～7.69]	0.931 [0.829～1.05]	3.62 [3.08～4.30]	2.39 [1.96～2.95]
A/Singapore/1/57	H2N2	11.4 [9.14～14.4]	0.128 [0.107～0.152]	3.66 [2.98～4.56]	0.925 [0.831～1.03]
A/Aichi/2/68	H3N2	16.8 [13.9～21.1]	0.164 [0.149～0.179]	7.33 [5.75～10.2]	2.39 [1.83～3.48]
ワクチン株					
A/Yamagata/32/89	H1N1	3.42 [2.94～4.01]	0.882 [0.776～0.998]	2.55 [1.96～3.67]	1.54 [1.28～1.91]
A/New Caledonia/20/99	H1N1	2.32 [1.85～2.95]	0.666 [0.589～0.756]	2.05 [1.68～2.65]	1.58 [1.35～1.90]
A/Kitakyushu/159/93	H3N2	23.5 [18.9～31.3]	0.221 [0.205～0.239]	9.30 [8.40～10.3]	1.60 [1.14～2.60]
A/Wyoming/03/2003	H3N2	22.2 [17.9～28.0]	0.114 [0.0995～0.129]	11.0 [9.50～12.9]	1.71 [1.34～2.34]
A/Wellington/1/2004	H3N2	26.8 [23.9～30.9]	0.157 [0.132～0.183]	8.74 [7.47～10.2]	1.99 [1.92～2.06]
A/California/07/2004	H3N2	19.4 [15.7～25.6]	0.135 [0.121～0.150]	8.21 [6.32～11.8]	1.90 [1.47～2.69]
A/New York/55/2004	H3N2	19.2 [15.3～25.9]	0.136 [0.125～0.147]	7.35 [5.68～10.5]	1.56 [1.18～2.28]
A/Hiroshima/52/2005	H3N2	12.7 [11.1～14.6]	0.0691 [0.0625～0.0767]	5.11 [4.32～6.24]	1.33 [1.18～1.51]
A/Wisconsin/67/2005	H3N2	38.8 [33.4～45.5]	0.187 [0.171～0.206]	14.2 [11.9～17.2]	3.44 [3.16～3.75]
B/Mie/1/93	B	31.3 [28.2～34.8]	6.85 [6.15～7.61]	12.0 [10.6～13.6]	15.6 [14.2～17.1]
B/Shanghai/361/2002	B	31.4 [28.6～34.6]	6.66 [5.92～7.47]	10.1 [7.76～13.9]	12.0 [10.5～13.6]
B/Brisbane/32/2002	B	30.5 [26.2～35.5]	9.89 [8.88～11.0]	7.78 [6.29～9.83]	13.6 [12.2～15.1]
B/Malaysia/2506/2004	B	31.3 [28.7～34.0]	11.1 [10.4～11.9]	8.66 [6.94～11.1]	15.1 [13.6～16.7]
B/Ohio/01/2005	B	30.0 [27.6～32.7]	12.8 [11.8～13.9]	7.86 [6.45～9.75]	13.6 [11.9～15.5]

[] : 95%信頼区間

2.6.2 薬理試験の概要文

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

2.1.1.1.2 ヒトインフルエンザウイルス臨床分離株 (4.2.1.1-2)

方法 : 2.1.1.1.1 項 (p.11) に示す方法に従い、NA 阻害活性を検討した。

結果 : 2002~2006 年の A 型 (H1N1 及び H3N2 型) 及び B 型ヒトインフルエンザウイルス国内臨床分離株の NA 活性に対する各種被験化合物の IC₅₀ を、表 2.6.2.2-2 (A 型) 及び表 2.6.2.2-3 (B 型) に示す。H1N1 型に対する IC₅₀ は、R-125489 が 1.29~2.63 nM、CS-8958 が 0.631~1.17 μM、ザナミビルが 0.751~1.68 nM、オセルタミビル活性体が 0.658~1.86 nM であった。H3N2 型に対する IC₅₀ は、R-125489 が 7.09~14.2 nM、CS-8958 が 0.0392~0.131 μM、ザナミビルが 3.42~7.58 nM、オセルタミビル活性体が 0.706~1.09 nM であった。B 型に対する IC₅₀ は、R-125489 が 10.4~26.5 nM、CS-8958 が 3.50~45.5 μM、ザナミビルが 3.55~7.59 nM、オセルタミビル活性体が 3.09~13.7 nM であった。これらの結果から、R-125489 は近年のヒトインフルエンザウイルス臨床分離株に対しても良好な NA 阻害活性を有していることが示された。

表 2.6.2.2-2 A 型ヒトインフルエンザウイルス臨床分離株の NA 活性に対する
各種被験化合物の IC₅₀

ウイルス株	亜型	IC ₅₀ (nM)			
		R-125489	CS-8958 (μM)	ザナミビル	オセルタミビル活性体
A/Shiga/1/2002	H1N1	2.09 [1.39~3.45]	0.733 [0.630~0.860]	1.63 [1.15~2.40]	1.34 [1.05~1.72]
A/Yamagata/3/2002	H1N1	2.57 [1.93~3.55]	0.709 [0.592~0.858]	1.68 [1.36~2.06]	1.08 [0.944~1.23]
A/Yamagata/57/2002	H1N1	1.65 [1.39~2.02]	1.17 [1.04~1.32]	1.14 [0.832~1.70]	0.658 [0.575~0.756]
A/Saitama/78/2003	H1N1	1.79 [1.26~2.55]	0.940 [0.756~1.17]	1.38 [1.03~1.99]	1.12 [0.775~1.71]
A/Aichi/193/2004	H1N1	2.63 [2.32~3.08]	0.983 [0.792~1.22]	1.17 [0.796~2.00]	1.26 [0.789~2.54]
A/Okinawa/42/2004	H1N1	2.07 [1.33~4.09]	0.631 [0.533~0.750]	0.751 [0.527~1.13]	1.86 [1.69~2.05]
A/Aichi/169/2005	H1N1	1.55 [1.06~2.38]	0.664 [0.545~0.817]	1.19 [0.798~2.06]	1.12 [0.780~1.81]
A/Yamagata/83/2006	H1N1	1.29 [0.910~2.06]	0.733 [0.668~0.808]	0.880 [0.686~1.17]	0.785 [0.660~0.945]
A/Shiga/5/2002	H3N2	10.1 [9.29~11.0]	0.0642 [0.0515~0.0789]	4.82 [4.06~5.88]	0.706 [0.597~0.843]
A/Yamagata/1/2002	H3N2	14.2 [12.2~16.6]	0.0566 [0.0455~0.0691]	7.58 [6.07~10.1]	1.09 [0.981~1.22]
A/Yamagata/2/2002	H3N2	7.09 [5.36~9.62]	0.0466 [0.0408~0.0530]	6.45 [5.08~8.87]	0.981 [0.880~1.09]
A/Saitama/80/2003	H3N2	10.4 [7.57~15.3]	0.0392 [0.0315~0.0480]	7.16 [4.86~13.8]	0.711 [0.550~0.940]
A/Osaka/56/2004	H3N2	8.72 [6.96~11.2]	0.129 [0.118~0.141]	4.84 [4.07~5.93]	1.08 [0.836~1.48]
A/Tokushima/1/2005	H3N2	7.54 [5.76~11.0]	0.131 [0.117~0.147]	3.42 [3.02~3.88]	0.925 [0.742~1.19]
A/Saitama/07/2006	H3N2	13.0 [11.2~15.3]	0.0633 [0.0528~0.0750]	6.04 [5.01~7.62]	0.885 [0.716~1.12]

[] : 95%信頼区間

2.6.2 薬理試験の概要文

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

表 2.6.2.2-3 B 型ヒトインフルエンザウイルス臨床分離株の NA 活性に対する各種被験化合物の IC₅₀

ウイルス株	IC ₅₀ (nM)			
	R-125489	CS-8958 (μM)	ザナミビル	オセルタミビル活性体
B/Shiga/17/2002	18.2 [16.9~19.6]	7.68 [6.98~8.49]	7.11 [5.45~10.3]	8.72 [5.99~11.8]
B/Yamagata/15/2002	15.9 [13.6~19.2]	6.98 [6.31~7.76]	5.68 [4.48~7.72]	7.25 [5.81~8.94]
B/Akita/9/2003	12.4 [10.8~14.5]	13.8 [12.4~15.6]	3.79 [3.35~4.33]	9.55 [8.04~11.3]
B/Tokushima/1/2003	11.4 [10.1~13.0]	13.8 [12.6~15.2]	3.55 [3.12~4.07]	9.26 [7.77~11.0]
B/Yamagata/145/2003	10.4 [7.86~14.7]	15.9 [13.9~18.3]	4.05 [3.44~4.84]	3.09 [2.83~3.37]
B/Yamagata/398/2003	12.5 [11.1~14.2]	12.4 [11.7~13.2]	3.78 [3.33~4.32]	10.1 [8.53~12.0]
B/Aichi/3/2006	19.3 [16.0~24.4]	13.8 [12.9~14.9]	4.85 [4.19~5.71]	12.4 [11.0~14.0]
B/Saitama/01/2006	26.5 [19.9~40.2]	45.5 [42.0~49.8]	6.41 [5.16~8.46]	13.7 [11.7~16.0]
B/Shiga/31/2002	14.0 [12.1~16.4]	10.5 [10.0~11.1]	4.90 [4.08~6.08]	9.16 [7.61~11.0]
B/Shizuoka/58/2004	16.0 [13.6~19.4]	7.53 [6.85~8.31]	5.67 [4.66~7.24]	8.34 [7.06~9.81]
B/Yamagata/85/2004	18.3 [15.4~22.7]	7.19 [6.61~7.83]	6.44 [5.25~8.33]	8.84 [7.51~10.4]
B/Yamagata/87/2004	16.7 [14.0~20.4]	7.79 [7.47~8.11]	5.82 [4.86~7.26]	8.26 [6.95~9.78]
B/Aichi/186/2005	15.0 [12.8~18.1]	3.55 [3.16~3.98]	6.72 [5.45~8.79]	9.21 [8.02~10.6]
B/Saitama/01/2005	15.0 [13.2~17.5]	3.61 [3.20~4.08]	6.89 [5.49~9.28]	10.6 [9.25~12.2]
B/Sapporo/29/2005	15.4 [13.3~18.2]	3.60 [3.14~4.12]	6.91 [5.40~9.64]	9.62 [8.27~11.2]
B/Tokushima/1/2005	14.2 [12.2~16.8]	3.71 [3.26~4.24]	6.30 [5.18~8.04]	8.35 [7.16~9.71]
B/Yamagata/1/2005	13.7 [11.9~16.2]	3.63 [3.19~4.14]	6.36 [5.11~8.45]	9.44 [7.86~11.3]
B/Yamagata/113/2005	15.8 [13.5~19.0]	3.50 [3.13~3.91]	7.59 [5.91~10.7]	10.6 [9.17~12.3]

[] : 95%信頼区間

2.6.2 薬理試験の概要文

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

2.1.1.1.3 オセルタミビル耐性及びザナミビル耐性ヒトインフルエンザウイルス (4.2.1.1-3)

方法：2.1.1.1 項 (p.11) に示す方法に従い、NA 阻害活性を検討した。

結果：インフルエンザウイルス感染患者より分離されたオセルタミビル耐性及びザナミビル耐性ウイルスの NA 活性に対する各種被験化合物の IC₅₀ を表 2.6.2.2-4 に示す。オセルタミビル感受性 H1N1 型ウイルス及び H274Y 変異オセルタミビル耐性 H1N1 型ウイルスに対するオセルタミビル活性体の IC₅₀ は 2.28 nM から 755 nM へと 330 倍増大するのに対し、R-125489 は 3.03 nM から 5.62 nM へとほとんど変化はなかった。3 種のオセルタミビル感受性 H3N2 型ウイルス及びそれぞれの R292K、E119V、N294S 変異オセルタミビル耐性 H3N2 型ウイルスに対するオセルタミビル活性体の IC₅₀ は 1.25 nM から 10400 nM へと 8400 倍、1.78 nM から 140 nM へと 79 倍、1.18 nM から 37.2 nM へと 32 倍増大するのに対し、R-125489 は 15.4 nM から 10.6 nM へと 0.69 倍、19.2 nM から 13.2 nM へと 0.69 倍、13.4 nM から 37.3 nM へと 2.8 倍の変化であり、R292K、E119V 変異にはほとんど変化はなく、N294S 変異に対してはやや交差耐性が見られた。

オセルタミビル感受性 B 型ウイルス及び G402S 変異オセルタミビル耐性 B 型ウイルス株に対する IC₅₀ は、オセルタミビル活性体で 13.2 nM から 19.6 nM へ 1.5 倍、R-125489 で 24.3 nM から 19.2 nM へ 0.79 倍の変化であり、両化合物とも大きな差はなかった。

B 型ウイルスの D198N、I222T、S250G の各変異体は、その親株の分離がないため、正確には耐性か否かは不明であるが、前 2 者がオセルタミビル耐性、S250G はザナミビル耐性と報告されている³⁾。B 型ウイルス臨床分離株の NA 活性に対する R-125489 の IC₅₀ は 10.4 ~ 26.5 nM であり（表 2.6.2.2-3）、D198N、I222T、S250G の各変異体に対する R-125489 の IC₅₀ はそれぞれ 48.9 nM、30.2 nM、25.6 nM であった。R-125489 に対して前 2 者の変異株は軽微な耐性を有するが、S250G 変異株は耐性ではないことが示唆された。

以上の結果から、R-125489 は既知の耐性ヒトインフルエンザウイルスの NA に対して概ね阻害活性を維持していることが示唆された。

2.6.2 薬理試験の概要文

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

表 2.6.2.2-4 オセルタミビル及びザナミビル耐性ヒトインフルエンザウイルスの NA 活性に対する各種被験化合物の IC₅₀

ウイルス株 (亜型)	アミノ酸 変異 ^{a)}	IC ₅₀ (nM)		
		R-125489	ザナミビル	オセルタミビル活性体
A/Yokohama/67/2006 clone-1 (H1N1)	WT H274Y	3.03 [2.75~3.35]	2.70 [2.53~2.90]	2.28 [2.12~2.43]
A/Yokohama/67/2006 clone-11 (H1N1) ^{b)}		5.62 [4.75~6.89]	3.05 [2.88~3.23]	755 [727~784]
A/Kawasaki/IMS22A-954/2003 (H3N2)	WT R292K	15.4 [13.4~18.0]	8.29 [7.87~8.72]	1.25 [1.09~1.45]
A/Kawasaki/IMS22B-955/2003 (H3N2) ^{b)}		10.6 [9.83~11.4]	11.2 [9.59~13.0]	10400 [9600~11400]
A/Yokohama/IMS9A-2029/2003 (H3N2)	WT E119V	19.2 [15.9~24.2]	10.7 [10.1~11.4]	1.78 [1.76~1.80]
A/Yokohama/IMS9B-2050/2003 (H3N2) ^{b)}		13.2 [11.7~15.0]	7.71 [7.58~7.85]	140 [120~165]
A/Kawasaki/MS31A-1030/2002 (H3N2)	WT N294S	13.4 [11.8~15.3]	7.82 [7.57~8.10]	1.18 [1.07~1.31]
A/Kawasaki/MS31B-1206/2002 (H3N2) ^{b)}		37.3 [33.9~41.2]	13.5 [12.0~15.4]	37.2 [34.7~39.7]
B/Yokohama/UT2167/2005	WT	24.3 [18.6~35.4]	11.8 [10.2~13.6]	13.2 [11.2~15.4]
B/Yokohama/UT2175/2005 ^{b)}	G402S	19.2 [15.9~24.3]	13.0 [11.5~14.7]	19.6 [17.4~21.9]
B/Yokohama/UT2203/2005 ^{c)}	D198N	48.9 [41.7~58.7]	33.6 [31.6~35.8]	40.5 [36.8~44.6]
B/Yokohama/UT3318/2005 ^{c)}	I222T	30.2 [27.6~33.0]	20.0 [16.2~26.4]	68.8 [63.8~74.1]
B/Yokohama/UT3081/2005 ^{d)}	S250G	25.6 [20.5~34.2]	16.6 [15.1~18.2]	6.83 [6.20~7.54]

WT：野生株、[]：95%信頼区間

a) アミノ酸の名称は一文字表記で記載し、アミノ酸番号は N2 型 NA を基準にした

b) オセルタミビル耐性株

c) 対応する野生株はなく、オセルタミビル耐性株と報告されている

d) 対応する野生株はなく、ザナミビル耐性株と報告されている

2.1.1.1.4 H1N1 型ブタ由来新型ヒトインフルエンザウイルス（参考資料：4.2.1.1-4）

2009 年 4 月にメキシコから多数の新型ヒトインフルエンザウイルス感染患者の発生が報告され、世界に流行が拡大した。国内においても 5 月には感染患者が発生し、全国に感染が拡大している^{注1)}。

そこで、新型ヒトインフルエンザウイルスに対する R-125489 の NA 阻害活性を検討した。

方法：各インフルエンザウイルス（NA 酵素源）に各種 NA 阻害剤を添加し、37°C で 30 分間反応後、基質である 4MU-NANA を添加して、さらに 37°C で 60 分間反応させた。反応停止液を加え、切断されて生じた 4MU の蛍光強度を測定した。酵素活性を 50% 阻害するために必要な被験化合物濃度を IC₅₀ として表示した。

結果：米国で分離された H1N1 型ブタ由来新型ヒトインフルエンザウイルス

注1) http://idsc.nih.go.jp/disease/swine_influenza/2009idsc/09idsc9.html

2.6.2 薬理試験の概要文

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

A/California/04/09 及び季節性インフルエンザウイルスの NA 活性に対する各種被験化合物の IC₅₀ を表 2.6.2.2-5 に示す。R-125489 の新型ウイルス NA 阻害活性は IC₅₀ が 0.41 nM であり、ザナミビル、オセルタミビル活性体（IC₅₀ がそれぞれ 0.32 nM、0.96 nM）と同様に強い阻害活性を有していた。なお、表中 A/Kawasaki/UTK-23/08 及び A/Kawasaki/UTK-04/09 は国内で分離された H1N1 型季節性インフルエンザウイルスで、前者はオセルタミビル感受性、後者は耐性ウイルスである。

表 2.6.2.2-5 H1N1 型ブタ由来新型ヒトインフルエンザウイルス及び季節性
インフルエンザウイルスの NA 活性に対する各種被験化合物の IC₅₀

ウイルス株	IC ₅₀ (nM)		
	R-125489	ザナミビル	オセルタミビル活性体
H1N1 型ブタ由来新型ヒトインフルエンザウイルス			
A/California/04/09	0.41	0.32	0.96
H1N1 型季節性インフルエンザウイルス			
A/Kawasaki/UTK-23/08 ^{a)}	0.20	0.36	1.88
A/Kawasaki/UTK-04/09 ^{b)}	0.34	0.79	1313

a) オセルタミビル感受性株

b) オセルタミビル耐性株

2.1.1.2 動物インフルエンザウイルス NA に対する作用

A 型インフルエンザウイルスは、これまでに 9 種類の NA 亜型 (N1～N9) と 16 種類の HA 亜型 (H1～H16) が報告されている。現在、ヒトで感染が知られている NA の亜型は N1 及び N2 であり、N3～N9 亜型は動物でのみ感染が確認されている。しかし、新型インフルエンザウイルスはヒトやトリ、ブタのインフルエンザウイルスの遺伝子交雑や動物からヒトへの直接の感染の結果生じると考えられており、N3～N9 亜型を有するインフルエンザウイルス感染がヒトにおいても今後発生する可能性が考えられる。例えば、動物由来インフルエンザウイルスのヒトへの感染事例として、H7N3、H7N7、H9N2 型のヒトへの感染が報告されている^{注1)}。また、N1 型としては、1997 年以降の H5N1 型トリインフルエンザウイルスのトリからヒトへの感染例、2009 年にはブタからヒトへの感染例が多数報告されている。

R-125489 は N1 及び N2 亜型のヒトインフルエンザウイルスに対して強い NA 阻害活性を示した（2.1.1.1 項）が、このように、動物にのみ存在している N3～N9 亜型をもつウイルスのヒトへの感染にも対応できることが重要である。

本項では、動物から分離された H5N1 型及び N3～N9 亜型を有するウイルス株、並びに高病原性 H5N1 型トリインフルエンザウイルスに感染した患者から分離したオセルタミビル感受性及び耐性ウイルスの NA 阻害活性を検討した。

注1) http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/avianinfluenza_factsheetJan2006/en/index.html#humans

2.6.2 薬理試験の概要文

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

2.1.1.2.1 各種動物インフルエンザウイルス (4.2.1.1-5)

方法 : 2.1.1.1.1 項 (p.11) に示す方法に従い、NA 阻害活性を検討した。

結果 : 各種動物インフルエンザウイルス H5N1 株及び N3～N9 株の NA 活性に対する各種被験化合物の IC₅₀ を表 2.6.2.2-6 に示す。NA 活性に対する R-125489 の IC₅₀ は、1.81～27.9 nM であった。R-125489 は H5N1 型インフルエンザウイルスや N3～N9 株ウイルスに対しても強い NA 阻害活性を有していることが確認された。表 2.6.2.2-1 に示したように、R-125489 は H2N2 株に対しても強い NA 阻害活性を示すことから、R-125489 は既知のすべての NA の亜型に有効であることが示された。

表 2.6.2.2-6 各種動物インフルエンザウイルス株の NA 活性に対する各種被験化合物の

IC₅₀

ウイルス株	亜型	IC ₅₀ (nM)			
		R-125489	CS-8958 (μM)	ザナミビル	オセルタミビル 活性体
A/R(duck/Mongolia/54/01-duck/Mongolia/47/01)	H5N1	4.54 [3.91～5.37]	0.276 [0.254～0.300]	2.99 [2.25～4.20]	2.17 [1.94～2.43]
A/duck/Hokkaido/84/2002	H5N3	13.3 [11.6～15.6]	0.456 [0.413～0.502]	3.65 [2.63～5.57]	2.94 [2.80～3.10]
A/turkey/Ontario/6118/68	H8N4	7.08 [6.55～7.71]	0.420 [0.378～0.471]	5.58 [4.35～7.71]	3.65 [2.99～4.37]
A/duck/Alberta/60/76	H12N5	2.34 [2.24～2.44]	1.14 [1.02～1.27]	1.83 [1.49～2.35]	1.43 [1.31～1.55]
A/duck/England/1/56	H11N6	25.5 [24.9～26.3]	0.262 [0.242～0.282]	8.57 [8.11～9.06]	2.81 [2.70～2.92]
A/seal/Massachusetts/1/80	H7N7	27.9 [25.9～30.1]	0.142 [0.121～0.165]	11.5 [10.5～12.6]	2.56 [2.42～2.72]
A/duck/Ukraine/1/63	H3N8	1.81 [1.77～1.84]	1.05 [1.01～1.09]	1.40 [1.24～1.61]	2.12 [1.93～2.34]
A/duck/Memphis/546/74	H11N9	6.81 [6.51～7.14]	0.356 [0.313～0.403]	3.31 [3.11～3.53]	1.70 [1.66～1.73]

[] : 95%信頼区間

2.1.1.2.2 高病原性 H5N1 型トリインフルエンザウイルス感染患者から分離したウイルス (参考資料 : 4.2.1.1-6)

方法 : 2.1.1.1.4 項 (p.16) に示す方法に従い、NA 阻害活性を検討した。

結果 : 高病原性 H5N1 型トリインフルエンザウイルス感染患者から分離されたオセルタミビル感受性、耐性ウイルスを使用した結果を表 2.6.2.2-7 に示す。R-125489 はいずれの野性株（オセルタミビル感受性）に対しても強い阻害活性を有していた。また、R-125489 は、H274Y 変異を持つオセルタミビル耐性の A/Hanoi/30408/05 (clone 9)、A/Vietnam/1203/04、N294S 変異を持つオセルタミビル耐性の A/Vietnam/1203/04 に対してもほぼ阻害活性を維持していた。

以上の結果から、R-125489 はオセルタミビル感受性及び耐性の高病原性 H5N1 型トリインフルエンザウイルスに対しても強い NA 阻害活性を有していることが確認された。

2.6.2 薬理試験の概要文

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

表 2.6.2.2-7 高病原性 H5N1 型トリインフルエンザウイルスの NA 活性に対する各種被験化合物の IC₅₀

ウイルス株	アミノ酸変異 ^{a)} (クローン番号)	IC ₅₀ (nM)		
		R-125489	ザナミビル	オセルタミビル活性体
A/Hanoi/30408/05	WT (Clone 7)	0.32	0.72	0.35
	H274Y (Clone 9)	1.1	0.68	430
	N294S (Clone 3)	1.6	0.57	1.6
A/Vietnam/1203/04	WT	0.28	0.15	0.31
	H274Y	2.1	0.22	1100
	N294S	1.4	0.48	28
A/Indonesia/UT3006/05	WT	0.29	0.07	10

WT：野生株

a) アミノ酸の名称は一文字表記で記載し、アミノ酸番号は N2 型 NA を基準にした。

2.1.1.3 NA に対する阻害作用の選択性 (4.2.1.1-7)

NA はインフルエンザウイルス以外のウイルスや細菌にも存在している。R-125489 の NA 阻害作用の選択性を確認するため、コレラ菌、ウエルシュ菌、及びニューキャッスル病ウイルスの NA に対する R-125489 の阻害活性を評価した。

方法：コレラ菌、ウエルシュ菌、及びニューキャッスル病ウイルスの NA を酵素源とし、2.1.1.1 項 (p.11) に記載と同様の方法で NA 阻害活性を測定し、IC₅₀を求めた。なお、反応時間は 20 分間とした。

結果：コレラ菌、ウエルシュ菌、及びニューキャッスル病ウイルスの NA 活性に対する R-125489 の IC₅₀ はいずれも 100 μM より大きく、R-125489 がインフルエンザウイルスの NA に選択的な阻害剤であることが示唆された。

2.6.2 薬理試験の概要文

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

2.1.2 *In vitro* ウィルス増殖阻害作用

各種インフルエンザウィルスに対する CS-8958 及び活性代謝物 R-125489 のウィルス増殖阻害作用を、MDCK 細胞培養系におけるプラーク減少法により検討した。また、同試験系から得られた試験成績を適切に評価するため、各種培養細胞に対する CS-8958 及び R-125489 の細胞障害性を検討した。

2.1.2.1 ヒトインフルエンザウィルス増殖に対する作用

2.1.2.1.1 ヒトインフルエンザウィルス標準株及びワクチン株 (4.2.1.1-8)

方法：MDCK 細胞に各インフルエンザウィルス液を添加し、5% CO₂、37°C で 1 時間感染させた。ウィルス液を除去し、洗浄後、寒天培地を添加して 5% CO₂、37°C で 30～45 時間培養した。培養後、寒天培地を除去し、メタノールに溶解したクリスタルバイオレットを添加して生細胞を固定染色後、ウィルス感染による細胞死で形成されたプラーク数を数えた。その際、寒天培地中に種々濃度の被験化合物を含有させ、各被験化合物のウィルス増殖阻害によるプラークの減少作用を検討した。阻害活性は、被験化合物非存在下のプラーク数を 100%としたときにプラーク数を 50%に減少させるのに必要な被験化合物濃度を IC₅₀ として表示した。

結果：ヒトインフルエンザウィルスの標準株（A 型）及びワクチン株（A 型及び B 型）の増殖に対する各種被験化合物の IC₅₀ を表 2.6.2.2-8 に示す。IC₅₀ は、A/Wyoming/03/2003 株を除き R-125489 が 0.24～11 nM、CS-8958 が 6.2～200 nM、ザナミビルが 0.57～22 nM、オセルタミビル活性体が 0.11～120 nM であった。A/Wyoming/03/2003 株に対しては、R-125489 が 230 nM、CS-8958 が > 10000 nM、ザナミビルが 360 nM、オセルタミビル活性体が 80 nM と高い IC₅₀ を示したが、このウィルスの NA 活性に対する IC₅₀ はそれぞれ 22.2 nM、0.114 μM、11.0 nM、1.71 nM であり、他のウィルス株と同様に良好な阻害活性を示した（表 2.6.2.2-1）。なお、NA 阻害活性とウィルス増殖阻害活性が乖離する原因として、ウィルスのレセプター認識特異性の違いが考えられる。すなわち、ヒトのインフルエンザウィルスは HA を介して、気道上皮細胞上で発現している α2,6 型シアル酸レセプターを認識し結合するが、MDCK 細胞では主に α2,3 型のシアル酸が発現している。そのためヒトから分離された後の継代歴の短いウィルス株の中には、このレセプター認識の違いによりウィルスの MDCK 細胞への結合が弱く、容易にウィルスが遊離し感染拡大が起きる。その結果、NA 阻害薬剤の存在下でもプラークの減少作用が観察されにくくなる⁴⁾。したがって、MDCK 細胞を用いて種々の継代歴をもつヒト臨床分離株に対する NA 阻害剤の増殖阻害活性を検討する場合、阻害活性が正しく評価できない可能性があると考えられ、結果の解釈には留意が必要である。

2.6.2 薬理試験の概要文

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

表 2.6.2.2-8 ヒトインフルエンザウイルス標準株及びワクチン株の培養細胞での増殖活性に対する各種被験化合物の IC₅₀

ウイルス株	亜型	IC ₅₀ (nM)			
		R-125489	CS-8958	ザナミビル	オセルタミビル活性体
標準株					
A/Puerto Rico/8/34	H1N1	2.2 [0.58~8.4]	76 [18~320]	11 [7.1~17]	13 [0.33~500]
A/Singapore/1/57	H2N2	0.43 [0.26~0.71]	16 [11~22]	0.79 [0.49~1.3]	0.11 [0.061~0.21]
A/Aichi/2/68	H3N2	1.3 [0.59~2.7]	29 [18~48]	1.6 [1.2~2.2]	0.26 [0.16~0.45]
ワクチン株					
A/Yamagata/32/89	H1N1	2.4 [1.8~3.3]	51 [31~85]	10 [5.9~18]	7.5 [4.8~12]
A/New Caledonia/20/99	H1N1	0.24 [0.16~0.35]	6.2 [4.2~9.2]	0.57 [0.39~0.84]	0.49 [0.38~0.63]
A/Kitakyushu/159/93	H3N2	1.7 [0.65~4.2]	45 [35~57]	3.3 [2.1~5.3]	0.37 [0.26~0.54]
A/Wyoming/03/2003	H3N2	230 [130~390]	> 10000 [ND]	360 [180~720]	80 [54~120]
A/Wisconsin/67/2005	H3N2	2.7 [2.3~3.3]	43 [24~75]	2.1 [1.3~3.5]	0.95 [0.73~1.2]
B/Mie/1/93	B	4.2 [3.0~6.0]	110 [68~170]	9.2 [5.3~16]	21 [14~30]
B/Shanghai/361/2002	B	4.1 [2.6~6.3]	74 [52~110]	7.0 [4.6~11]	15 [9.3~23]
B/Brisbane/32/2002	B	5.8 [3.9~8.6]	100 [78~140]	6.4 [4.0~10]	28 [17~48]
B/Malaysia/2506/2004	B	9.9 [6.9~14]	200 [46~870]	22 [14~35]	120 [73~180]
B/Ohio/01/2005	B	11 [1.8~62]	150 [39~610]	15 [7.1~32]	42 [19~89]

[] : 95%信頼区間

ND : 算出不可

2.1.2.1.2 H1N1 型ブタ由来新型ヒトインフルエンザウイルス (参考資料 : 4.2.1.1-4)

方法 : β-galactoside α2,6-sialyltransferase I 遺伝子を発現させた MDCK 細胞に各種インフルエンザウイルスを 37°C で 60 分間接触させ、種々濃度の各種被験化合物を加えた培地で 24 時間培養後、培養上清の 50%組織培養感染量 (TCID₅₀) を求めた。その値をもとにウイルス力値を 90%に減少させる被験化合物濃度を IC₉₀ として表示した。

結果 : H1N1 型ブタ由来新型ヒトインフルエンザウイルスとして米国で分離された

A/California/04/09 (H1N1) 及び季節性インフルエンザウイルスの増殖に対する各種被験化合物の IC₉₀ を表 2.6.2.2-9 に示す。R-125489 のウイルス増殖阻害活性は IC₉₀ が 4.24 nM であり、オセルタミビル活性体、ザナミビル (IC₉₀ がそれぞれ 10.56 nM、17.67 nM) と比較して強い阻害活性を有していた。なお、表中 A/Kawasaki/UTK-23/08 及び

A/Kawasaki/UTK-04/09 は、国内で分離された H1N1 型季節性インフルエンザウイルスで、前者はオセルタミビル感受性、後者は耐性ウイルスである。

2.6.2 薬理試験の概要文

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

表 2.6.2.2-9 H1N1 型ブタ由来新型ヒトインフルエンザウイルス及び季節性インフルエンザウイルスの培養細胞での増殖活性に対する各種被験化合物の IC₉₀

ウイルス株 (亜型)	IC ₉₀ (nM)		
	R-125489	ザナミビル	オセルタミビル活性体
H1N1 型ブタ由来新型ヒトインフルエンザウイルス			
A/California/04/09	4.24	17.67	10.56
H1N1 型季節性インフルエンザウイルス			
A/Kawasaki/UTK-23/08 ^{a)}	10.17	21.93	5.58
A/Kawasaki/UTK-04/09 ^{b)}	11.70	42.33	2971.30

a) オセルタミビル感受性株

b) オセルタミビル耐性株

2.1.2.2 動物インフルエンザウイルス増殖に対する作用 (4.2.1.1-9)

方法 : 2.1.2.1.1 項 (p.20) に示す方法に従い、ウイルス増殖阻害活性を検討した。ただし、培養時間は 42~67 時間培養とした。

結果 : 各種動物インフルエンザウイルス H5N1 株及び N3~N9 株のウイルス増殖活性に対する各種被験化合物の IC₅₀ を表 2.6.2.2-10 に示す。R-125489 の IC₅₀ は 0.26~2.5 nM であり、H5N1 型インフルエンザウイルスや N3~N9 株ウイルスに対しても強いウイルス増殖阻害活性を有していることが確認された。表 2.6.2.2-8 に示したように、R-125489 は H2N2 株に対しても強いウイルス増殖阻害活性を示すことから、R-125489 は既知のすべての NA の亜型に有効であることが示された。

表 2.6.2.2-10 各種動物インフルエンザウイルス株の培養細胞での増殖活性に対する各種被験化合物の IC₅₀

ウイルス株	亜型	IC ₅₀ (nM)			
		R-125489	CS-8958	ザナミビル	オセルタミビル活性体
A/R(duck/Mongolia/54/01-duck/Mongolia/47/01)	H5N1	0.34 [0.27~0.44]	5.4 [3.7~7.9]	0.79 [0.65~0.94]	0.88 [0.60~1.3]
A/duck/Hokkaido/84/2002	H5N3	0.97 [0.67~1.4]	7.4 [6.1~9.0]	1.1 [0.73~1.7]	0.40 [0.34~0.48]
A/turkey/Ontario/6118/68	H8N4	0.26 [0.21~0.33]	4.3 [3.5~5.2]	0.58 [0.45~0.75]	0.87 [0.74~1.0]
A/duck/Alberta/60/76	H12N5	0.75 [0.61~0.93]	28 [26~31]	1.6 [1.0~2.5]	0.30 [0.24~0.38]
A/duck/England/1/56	H11N6	0.83 [0.55~1.3]	16 [13~18]	2.0 [1.6~2.6]	0.45 [0.35~0.58]
A/seal/Massachusetts/1/80	H7N7	2.5 [1.9~3.1]	38 [32~46]	3.6 [2.8~4.8]	0.54 [0.45~0.64]
A/duck/Ukraine/1/63	H3N8	1.1 [0.89~1.3]	18 [15~21]	1.5 [1.2~1.8]	0.64 [0.50~0.82]
A/duck/Memphis/546/74	H11N9	0.66 [0.54~0.82]	12 [9.1~15]	0.77 [0.54~1.1]	0.093 [0.065~0.13]

[] : 95%信頼区間

2.6.2 薬理試験の概要文

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

2.1.2.3 各種培養細胞に対する細胞障害活性（4.2.1.1-10）

各種培養細胞に対する CS-8958 と R-125489 の細胞障害活性を検討した。

方法：接着性細胞株 HeLa 細胞、MDCK 細胞、及び非接着性細胞株 MOLT-4 細胞に最終濃度が 100 µg/mL となるように CS-8958 あるいは R-125489 を添加し、5% CO₂、37°C で 3 日間培養した。培養後、2,3-bis[2-Methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl]-2*H*-tetrazolium-5-carboxanilide sodium salt と phenazine methosulfate の混合液を添加してさらに 60 分間培養し、450 nm における吸光度を測定した。細胞障害活性は、被験化合物非存在下における吸光度を 100%としたときにそれが 50%となる被験化合物濃度を 50%細胞障害濃度 (CC₅₀) として表示した。

結果：HeLa 細胞、MDCK 細胞、及び MOLT-4 細胞に対する両被験化合物の CC₅₀ は、いずれも 100 µg/mL より高く、細胞障害性は低いことが示された。なお、R-125489 と CS-8958 の 100 µg/mL は、それぞれ 290 µM と 210 µM に相当する。

培養細胞でのヒトインフルエンザウイルス増殖活性に対する両被験化合物の IC₅₀ は、ウイルス増殖阻害活性が正しく評価できなかったと考えられる A/Wyoming/03/2003 株を除き R-125489 が 0.24～11 nM、CS-8958 が 6.2～200 nM であった（表 2.6.2.2-8）。したがって、ウイルス増殖阻害の IC₅₀ と CC₅₀との間には R-125489 で数万倍、CS-8958 で千倍以上の開きがあり、両被験化合物ともウイルス増殖阻害と細胞障害を示す濃度には十分に大きな差が認められた。

2.6.2 薬理試験の概要文

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

2.2 動物感染モデルにおける *in vivo* 抗ウイルス作用

In vivo における薬剤の抗インフルエンザウイルス作用の検討には、マウス及びフェレット感染モデルが汎用される。マウス感染モデルは主として肺組織におけるウイルス増殖の追跡が可能で、ウイルス株によっては致死的な感染を引き起こす感染モデルである。フェレット感染モデルは鼻腔における増殖が追跡可能な感染モデルである。

A型及びB型インフルエンザウイルス感染前あるいは後にCS-8958を経鼻投与した時の*in vivo* 抗ウイルス作用を、肺中や鼻腔洗浄液中のウイルス力価、及びウイルス感染動物の感染20日後までの生存時間を指標に検討した（表2.6.2.2-11）。評価にあたっては、非臨床試験開始当初はCS-8958と同じ投与経路である類薬ザナミビルと、非臨床試験後期では臨床試験の対照薬として設定したオセルタミビルリン酸塩との薬効比較も試みた。また、薬効評価の一環として、ウイルス感染前でのCS-8958投与による抗ウイルス作用の持続性も検討した。さらに、動物感染モデルではヒト吸入投与の代替投与経路として経鼻投与が用いられるが、CS-8958の*in vivo* 薬理試験では、吸入投与によるマウス感染モデルも作成し、*in vivo* 抗ウイルス作用を検討した。

なお、インフルエンザウイルス感染前にCS-8958を投与した試験成績はCS-8958の予防効果を評価したものであるが、CS-8958単回投与後の抗ウイルス作用の持続性を示す成績であることから、本項で併せて提示した。

2.6.2 薬理試験の概要文

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

表 2.6.2.2-11 CS-8958 の *in vivo* 薬理試験一覧

目的	動物感染モデル	被験物質投与時期	被験物質	投与方法	評価項目	資料番号
A型 ^{a)} に対する抗ウイルス作用	A型 ^{a)} (H1N1) 感染マウス	感染 24 h 後	CS-8958	単回経鼻	肺中 ウイルス力値	4.2.1.1-11
			ザナミビル			
			CS-8958	単回経鼻	感染後 20 日 生存時間	4.2.1.1-12
			ザナミビル			
		感染 7 日前	CS-8958	単回経鼻	肺中 ウイルス力値	4.2.1.1-13
			ザナミビル			
			CS-8958	単回経鼻	感染後 20 日 生存時間	4.2.1.1-14
			ザナミビル			
		感染 2 日前	CS-8958	単回吸入・ 単回経鼻	感染後 20 日 生存時間	4.2.1.1-24 4.2.1.1-25
			ザナミビル			
		感染 1, 4, 7, 10, 14 日前	CS-8958	単回経鼻	感染後 20 日 生存時間	4.2.1.1-15
			ザナミビル			
		感染 12 h, 1, 4, 7 日前	CS-8958	単回経鼻	感染後 20 日 生存時間	4.2.1.1-16
			オセルタミビル ^{b)}	単回経口		
		感染 11 h 後	CS-8958	単回経鼻・ 反復経鼻	肺中 ウイルス力値	4.2.1.1-17
			ザナミビル			
			CS-8958	単回経鼻	肺中 ウイルス力値	4.2.1.1-18
			オセルタミビル ^{b)}	反復経口		
			CS-8958	単回経鼻	感染後 20 日 生存時間	4.2.1.1-19
			オセルタミビル ^{b)}	反復経口		
			CS-8958	単回経鼻・ 分割経鼻	肺中 ウイルス力値	4.2.1.1-20
	A型 ^{a)} (H3N2) 感染マウス	感染 7 日前	CS-8958	単回経鼻	肺中 ウイルス力値	4.2.1.1-21
			ザナミビル			
B型 ^{c)} に対する抗ウイルス作用	B型 ^{c)} 感染 フェレット	感染 4 h 後	CS-8958	単回経鼻	鼻腔洗浄液 ウイルス力値	4.2.1.1-22
			ザナミビル			
	B型 ^{c)} 感染 マウス	感染 7 日前	オセルタミビル ^{b)}	反復経口		
			CS-8958	単回経鼻	感染後 20 日 生存時間	4.2.1.1-23
			ザナミビル			
ブタ由来新 型ウイルス ^{d)} に対する 抗ウイルス作用	ブタ由来新 型ウイルス ^{d)} 感染マウス	感染 1 h 後	CS-8958	単回経鼻	肺中 ウイルス力値	4.2.1.1-4
			ザナミビル	反復経鼻		
			オセルタミビル ^{b)}	反復経口		
高病原性ト リウイルス ^{e)} に対する 抗ウイルス作用	高病原性ト リウイルス ^{e)} 感染マウス	感染 2 h 後	CS-8958	単回経鼻	肺中及び脳内 ウイルス力値/ 感染後 21 日 生存例数	4.2.1.1-6
			オセルタミビル ^{b)}	反復経口		

a) A型インフルエンザウイルス、b) オセルタミビルリン酸塩、c) B型インフルエンザウイルス

d) H1N1型ブタ由来新型ヒトインフルエンザウイルス、e) 高病原性 H5N1型トリインフルエンザウイルス

2.6.2 薬理試験の概要文

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

2.2.1 A型インフルエンザウイルスに対する抗ウイルス作用

2.2.1.1 H1N1型ウイルス感染マウスにおけるCS-8958とザナミビルとの抗ウイルス作用の比較（感染24時間後投与） - ウィルス力値 - (4.2.1.1-11)

方法：マウス（BALB/c、specific pathogen free、雌6～7週齢、各群3例）にインフルエンザウイルスA/PR/8/34（H1N1）を経鼻的に50 pfu 感染させた。感染24時間後に0.0014、0.014、0.15、又は1.4 μmol/kg（それぞれ0.66、6.6、71、又は660 μg/kg相当）のCS-8958、あるいは0.014、0.15、1.4、又は14 μmol/kg（それぞれ4.7、50、470、又は4700 μg/kg相当）のザナミビルを単回経鼻投与した。感染2、3、及び4日後にマウスを断頭により放血し、肺を採取してホモジネートを調製した。そのホモジネートを適宜希釈し、MDCK細胞に37°Cで1時間感染させ、洗浄後、寒天培地を添加した。2日間培養し、メタノールに溶解したクリスタルバイオレットで細胞を固定染色した後、観察されるplaquesを計数し、肺中のウイルス力値を算出した。

結果：ウイルス力値対数値の時間推移を表2.6.2.2-12に示す。同投与量のCS-8958投与群とザナミビル投与群のウイルス力値対数値の最小2乗推定量をそれぞれ2元配置分散分析で比較解析したところ、0.15及び1.4 μmol/kgの投与量でCS-8958投与群がいずれも有意にその値が低かった。このことから同投与量でCS-8958はザナミビルより強い薬効を示すことが示唆された。

表2.6.2.2-12 CS-8958あるいはザナミビルを単回経鼻投与（感染24時間後）したA型インフルエンザウイルス（H1N1型）感染マウスの肺中ウイルス力値の推移

被験物質	投与量 (μmol/kg)	ウイルス力値 (\log_{10} pfu/lungs)			検定	
		感染後2日目	感染後3日目	感染後4日目	vs 溶媒対照群 ^{a)}	CS-8958 vs ザナミビル ^{b)}
対照群		7.99 ± 0.06	7.92 ± 0.04	7.97 ± 0.04	—	
CS-8958	0.0014	7.99 ± 0.08	8.10 ± 0.07	7.95 ± 0.08	N.S.	
	0.014	7.71 ± 0.04	7.89 ± 0.07	7.71 ± 0.06	P < 0.05	N.S.
	0.15	7.22 ± 0.11	7.43 ± 0.12	7.52 ± 0.10	P < 0.01	P < 0.05
	1.4	7.20 ± 0.01	7.25 ± 0.09	7.16 ± 0.09	P < 0.01	P < 0.01
ザナミビル	0.014	7.91 ± 0.02	7.90 ± 0.08	7.71 ± 0.11	N.S.	
	0.15	7.47 ± 0.08	7.71 ± 0.07	7.65 ± 0.10	P < 0.01	
	1.4	7.29 ± 0.08	7.55 ± 0.09	7.72 ± 0.00	P < 0.01	
	14	7.09 ± 0.07	7.38 ± 0.11	7.41 ± 0.07	P < 0.01	

平均値±標準誤差、N = 3、- : not applicable、N.S. : not significant

a) 測定日と投与量を説明変数とした2元配置分散分析

b) 測定日と薬剤を説明変数とした2元配置分散分析

2.6.2 薬理試験の概要文

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

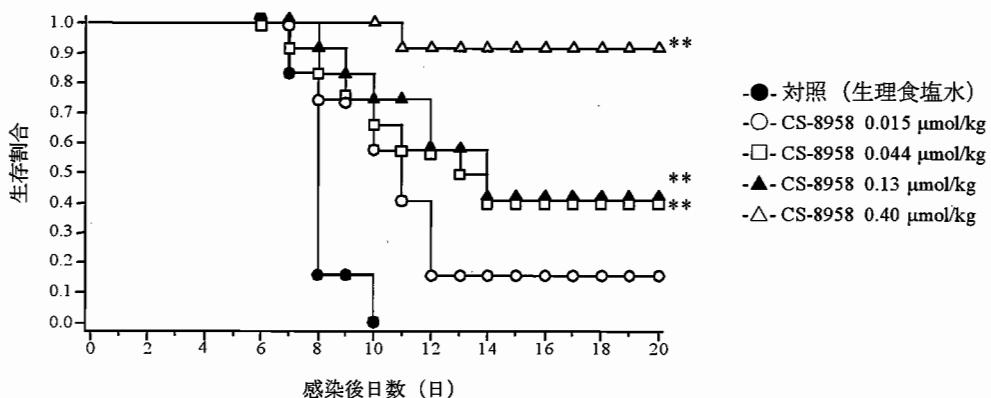
イナビル吸入粉末剤 20 mg

2.2.1.2 H1N1型ウイルス感染マウスにおけるCS-8958とザナミビルとの抗ウイルス作用の比較（感染24時間後投与）-延命作用-（4.2.1.1-12）

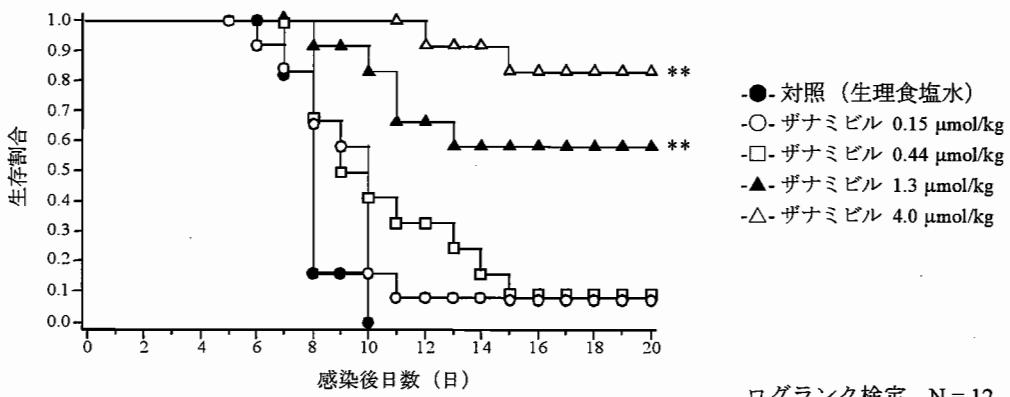
方法：マウス（BALB/c、specific pathogen free、雌6～7週齢、各群12例）にインフルエンザウイルスA/PR/8/34(H1N1)を経鼻的に50 pfu感染させた。感染24時間後に0.015、0.044、0.13、又は0.40 μmol/kg（それぞれ7.1、21、61、又は190 μg/kg相当）のCS-8958、あるいは0.15、0.44、1.3、又は4.0 μmol/kg（それぞれ50、150、430、又は1300 μg/kg相当）のザナミビルを単回経鼻投与し、感染20日後まで生存例数を観察した。

結果：CS-8958投与群及びザナミビル投与群の生存曲線を、図2.6.2.2-2(a)及び図2.6.2.2-2(b)に示す。ログランク検定により、CS-8958は0.044 μmol/kg(21 μg/kg相当)以上の投与量で、ザナミビルは1.3 μmol/kg(430 μg/kg相当)以上の投与量で有意な延命作用を示した。

(a) CS-8958



(b) ザナミビル



ログランク検定, N = 12
[vs 対照群] ** : P < 0.01

図2.6.2.2-2 A型インフルエンザウイルス(H1N1型)感染マウスにCS-8958(a)あるいはザナミビル(b)を単回経鼻投与(感染24時間後)時の延命作用

2.6.2 薬理試験の概要文

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

2.2.1.3 H1N1型ウイルス感染マウスにおけるCS-8958とザナミビルの抗ウイルス作用の比較（感染7日前投与） - ウイルス力価 - (4.2.1.1-13)

方法：マウス (BALB/c, specific pathogen free、雌6~7週齢、各群3例) にインフルエンザウイルス A/PR/8/34 (H1N1) を経鼻的に 500 pfu 感染させる7日前に、0.18、0.53、又は 1.6 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ (それぞれ 85、250、又は 760 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 相当) の CS-8958、あるいは 4.8、14、又は 43 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ (それぞれ 1600、4700、又は 14000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 相当) のザナミビルを単回経鼻投与した。感染1、2、3、及び4日後の肺中のウイルス力価を測定した (詳細は 2.2.1.1 項参照)。

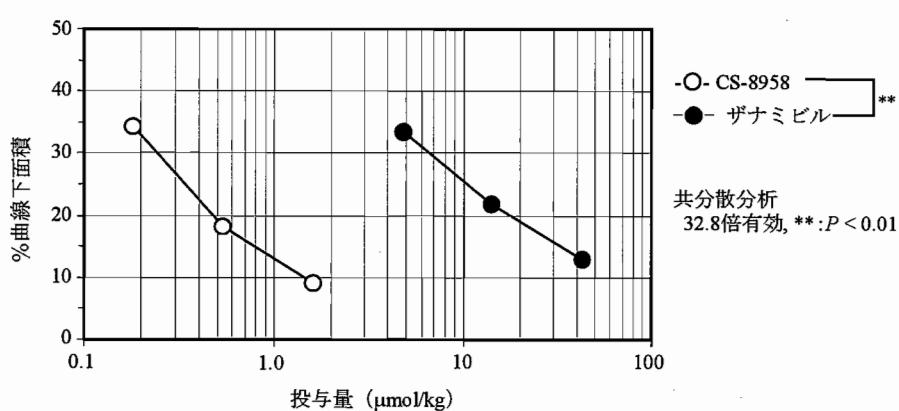
結果：ウイルス力価対数値の時間推移を表 2.6.2.2-13 に示す。また、ウイルス力価対数値の曲線下面積を共分散分析で比較解析したところ、CS-8958 はザナミビルより相対効果で 32.8 倍効果が強かった (図 2.6.2.2-3)。このことから CS-8958 は、H1N1 型ウイルスに対してザナミビルより強い薬効を示すことが示唆された。

表 2.6.2.2-13 CS-8958 あるいはザナミビルを単回経鼻投与 (感染7日前) した A 型インフルエンザウイルス (H1N1 型) 感染マウスの肺中ウイルス力価の推移

被験物質	投与量 ($\mu\text{mol}/\text{kg}$)	ウイルス力価 ($\log_{10} (\text{pfu/lungs})$) N = 3				検定 ^{a)}
		感染後1日目	感染後2日目	感染後3日目	感染後4日目	
対照群		6.67 ± 0.08	8.02 ± 0.04	7.61 ± 0.18	7.64 ± 0.02	—
CS-8958	0.18	5.70 ± 0.05	7.44 ± 0.11	7.37 ± 0.08	7.13 ± 0.07	P < 0.01
	0.53	5.11 ± 0.13	6.93 ± 0.06	7.19 ± 0.08	7.08 ± 0.20	P < 0.01
	1.6	4.89 ± 0.25	6.55 ± 0.14	6.95 ± 0.05	6.79 ± 0.05	P < 0.01
ザナミビル	4.8	5.81 ± 0.09	7.37 ± 0.06	7.46 ± 0.07	7.03 ± 0.01	P < 0.01
	14	5.42 ± 0.12	7.16 ± 0.11	7.22 ± 0.11	7.02 ± 0.03	P < 0.01
	43	4.96 ± 0.18	7.08 ± 0.02	6.88 ± 0.06	6.71 ± 0.21	P < 0.01

平均値±標準誤差、— : not applicable

a) 測定日と投与量を説明変数とした 2 元配置分散分析



%曲線下面積：感染1~4日の肺中ウイルス力価対数値の曲線下面積の、対照群に対する割合 (%)

図 2.6.2.2-3 CS-8958 あるいはザナミビルを単回経鼻投与 (感染7日前) した A 型インフルエンザウイルス (H1N1 型) 感染マウスの肺中ウイルス力価対数値の曲線下面積の対照群に対する割合

2.6.2 薬理試験の概要文

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

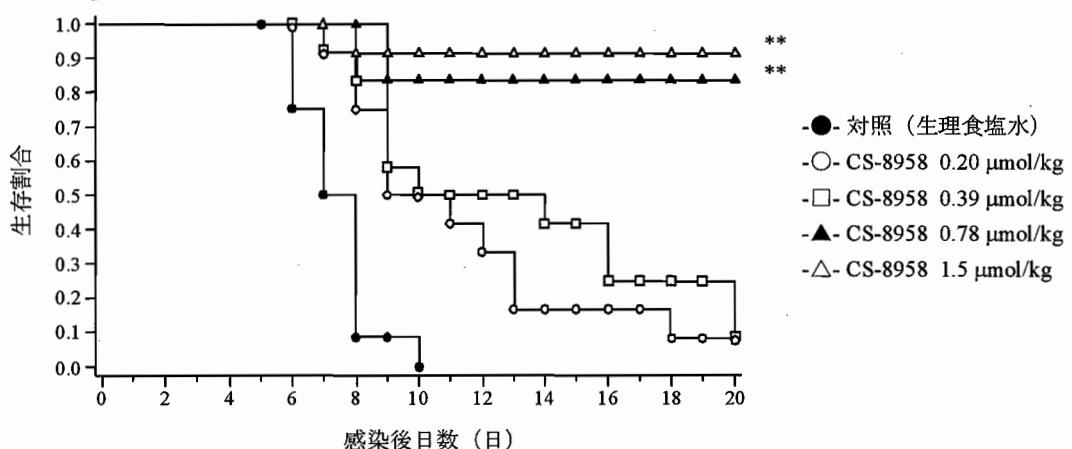
イナビル吸入粉末剤 20 mg

2.2.1.4 H1N1型ウイルス感染マウスにおけるCS-8958とザナミビルの抗ウイルス作用の比較（感染7日前投与） - 延命作用 - (4.2.1.1-14)

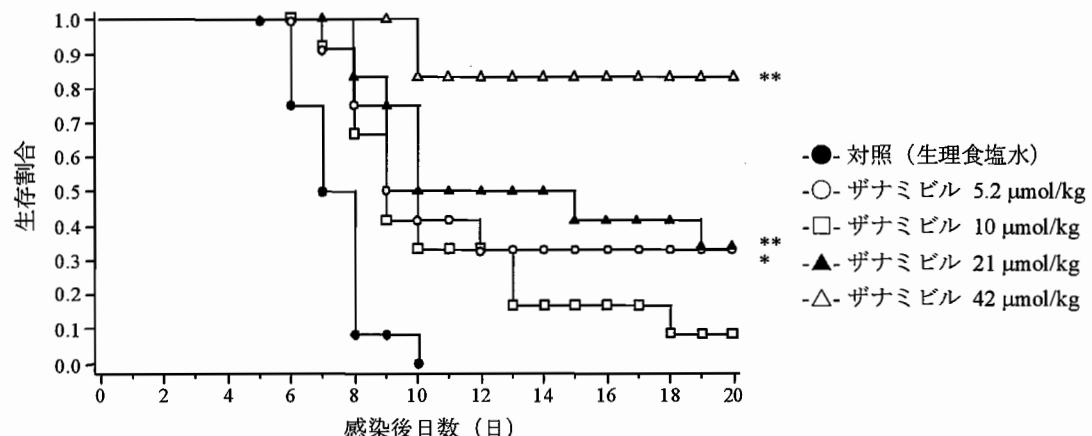
方法：マウス (BALB/c, specific pathogen free、雌6~7週齢、各群12例) にインフルエンザウイルス A/PR/8/34 (H1N1) を経鼻的に 500 pfu 感染させる7日前に、0.20、0.39、0.78、又は 1.5 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ (それぞれ 95、180、370、又は 710 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 相当) の CS-8958、あるいは 5.2、10、21、又は 42 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ (それぞれ 1700、3300、7000、又は 14000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 相当) のザナミビルを単回経鼻投与した。感染20日後まで生存例数を観察した。

結果：CS-8958 投与群及びザナミビル投与群の生存曲線を、図 2.6.2.2-4 (a) 及び図 2.6.2.2-4 (b) に示す。ログランク検定により、CS-8958 は 0.78 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ (370 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 相当) 以上の投与量で、ザナミビルは 5.2、21、及び 42 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ (それぞれ 1700、7000、及び 14000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 相当) の投与量で有意な延命作用を示した。

(a) CS-8958



(b) ザナミビル



ログランク検定, N = 12
[vs 対照群] * : P < 0.05, ** : P < 0.01

図 2.6.2.2-4 A型インフルエンザウイルス (H1N1型) 感染マウスに CS-8958 (a) あるいはザナミビル (b) を単回経鼻投与 (感染7日前) 時の延命作用

2.6.2 薬理試験の概要文

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

2.2.1.5 H1N1型ウイルス感染マウスにおけるCS-8958とザナミビルの抗ウイルス作用の比較（感染1～14日前投与）- 延命作用 - (4.2.1.1-15)

方法：マウス（BALB/c、specific pathogen free、雌5～6週齢、各群10例）にインフルエンザウイルス A/PR/8/34 (H1N1) を経鼻的に500 pfu 感染させる1、4、7、10、又は14日前に、0.5 μmol/kg (240 μg/kg相当) のCS-8958、あるいは0.5 μmol/kg (170 μg/kg相当) のザナミビルを単回経鼻投与した。感染20日後まで生存例数を観察した。

結果：CS-8958及びザナミビルの感染1、4、7、10、あるいは14日前投与群の生存曲線を図2.6.2.2-5に示す。ログランク検定により、CS-8958は感染1、4、7、及び10日前投与で、ザナミビルは感染1日前投与のみで有意な延命作用を示した。また、同検定により、CS-8958は感染1、4、7、及び10日前投与でザナミビルより有意な延命作用を示した(表2.6.2.2-14)。このことから、CS-8958はザナミビルより抗ウイルス作用が長く持続することが示された。

表2.6.2.2-14 A型インフルエンザウイルス (H1N1型) 感染マウスにCS-8958又はザナミビルを単回経鼻投与（感染1、4、7、10、あるいは14日前）時の延命作用

比較群	ログランク検定による延命作用の判定				
	感染 1日前	感染 4日前	感染 7日前	感染 10日前	感染 14日前
CS-8958 vs 生理食塩水	++	++	++	+	N.S.
ザナミビル vs 生理食塩水	+	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
CS-8958 vs ザナミビル	+	++	++	++	N.S.

++ : $P < 0.01$ 、+ : $P < 0.05$ 、N.S. : not significant

2.6.2 薬理試験の概要文

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

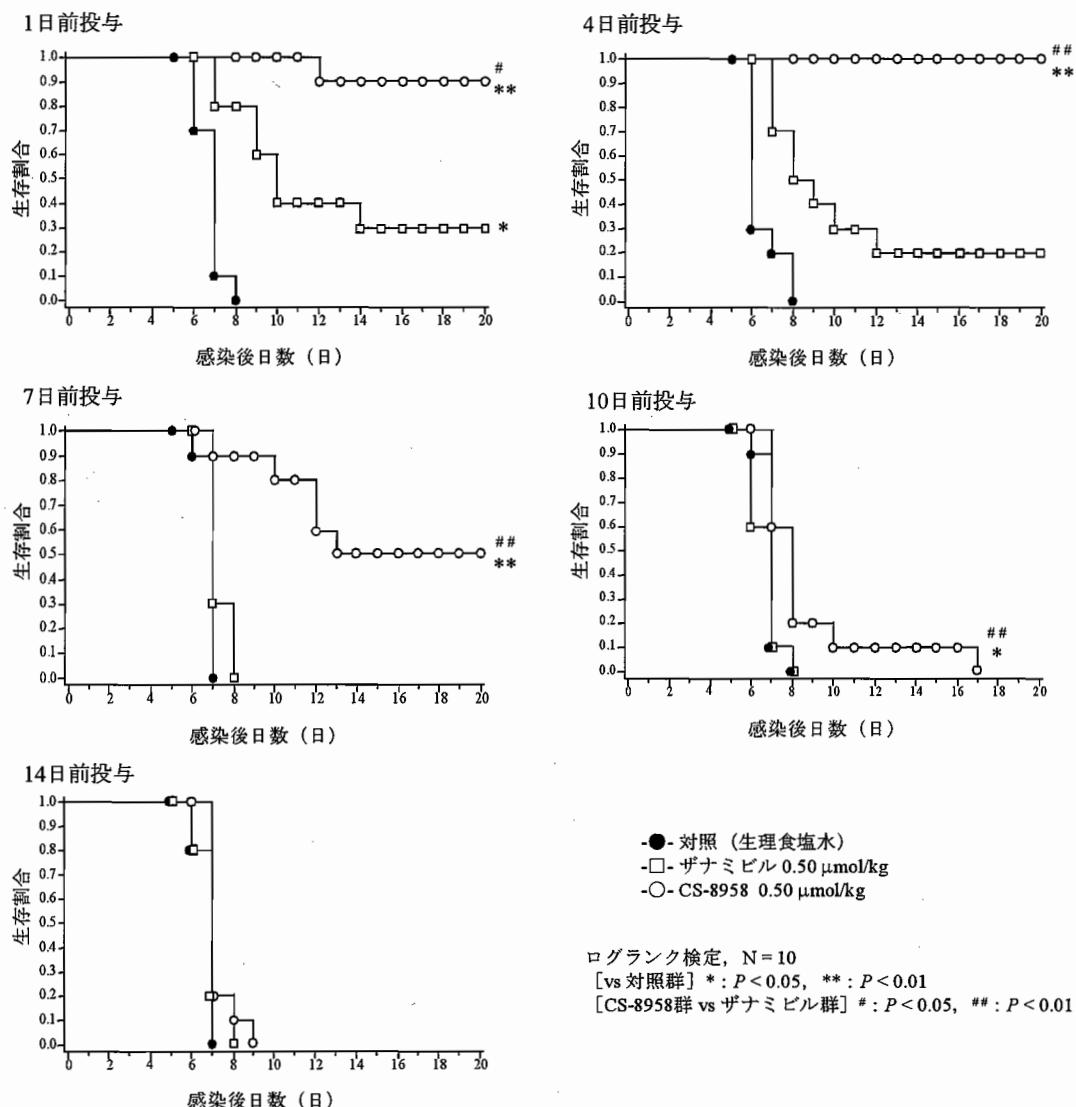


図 2.6.2.5 A 型インフルエンザウイルス (H1N1 型) 感染マウスに CS-8958 あるいはザナミビルを単回経鼻投与 (感染 1、4、7、10、又は 14 日前) 時の延命作用

2.6.2 薬理試験の概要文

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

2.2.1.6 H1N1型ウイルス感染マウスにおけるCS-8958とオセルタミビルリン酸塩の抗ウイルス作用の比較（感染12時間～7日前投与） - 延命作用 - (4.2.1.1-16)

方法：マウス（BALB/c、specific pathogen free、雌6週齢、各群8例）にインフルエンザウイルス A/PR/8/34 (H1N1) を経鼻的に 100 pfu 感染させる 12 時間、1 日、4 日、又は 7 日前に、0.037、0.37、又は 1.5 μmol/kg（それぞれ 17、170、又は 710 μg/kg 相当）の CS-8958 を単回経鼻投与、あるいは 1.1、11、又は 110 mg/kg のオセルタミビルリン酸塩を単回経口投与した。感染 20 日後まで生存例数を観察した。

結果：CS-8958 及びオセルタミビルリン酸塩の感染 12 時間、1 日、4 日、及び 7 日前投与群の生存曲線を、図 2.6.2.2-6 (a) 及び図 2.6.2.2-6 (b) にそれぞれ示す。ログランク検定により、CS-8958 は感染 1 日前の投与では 0.037 μmol/kg (17 μg/kg 相当) 以上の投与量で、感染 12 時間前、4 日前、及び 7 日前の投与では 0.37 μmol/kg (170 μg/kg 相当) 以上の投与量で有意な延命作用を示した。これに対し、オセルタミビルリン酸塩は感染 12 時間及び 1 日前の 110 mg/kg での投与量で有意な延命作用を示したのみで、11 mg/kg 以下の投与量ではいずれの投与でも有意な延命作用はみられなかった（表 2.6.2.2-15）。このことから、CS-8958 はオセルタミビルリン酸塩より抗ウイルス作用が長く持続することが示された。

表 2.6.2.2-15 A型インフルエンザウイルス (H1N1型) 感染マウスに CS-8958 を単回経鼻投与又はオセルタミビルリン酸塩を単回経口投与（感染 12 時間、1 日、4 日、及び 7 日前）時の延命作用

被験物質	投与方法	投与量	ログランク検定による延命作用の判定			
			感染 12 時間前	感染 1 日前	感染 4 日前	感染 7 日前
CS-8958	単回経鼻	0.037 μmol/kg	N.S.	++	N.S.	N.S.
		0.37 μmol/kg	++	++	++	+
		1.5 μmol/kg	++	++	++	++
オセルタミビル リン酸塩	単回経口	1.1 mg/kg	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
		11 mg/kg	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
		110 mg/kg	++	+	N.S.	N.S.

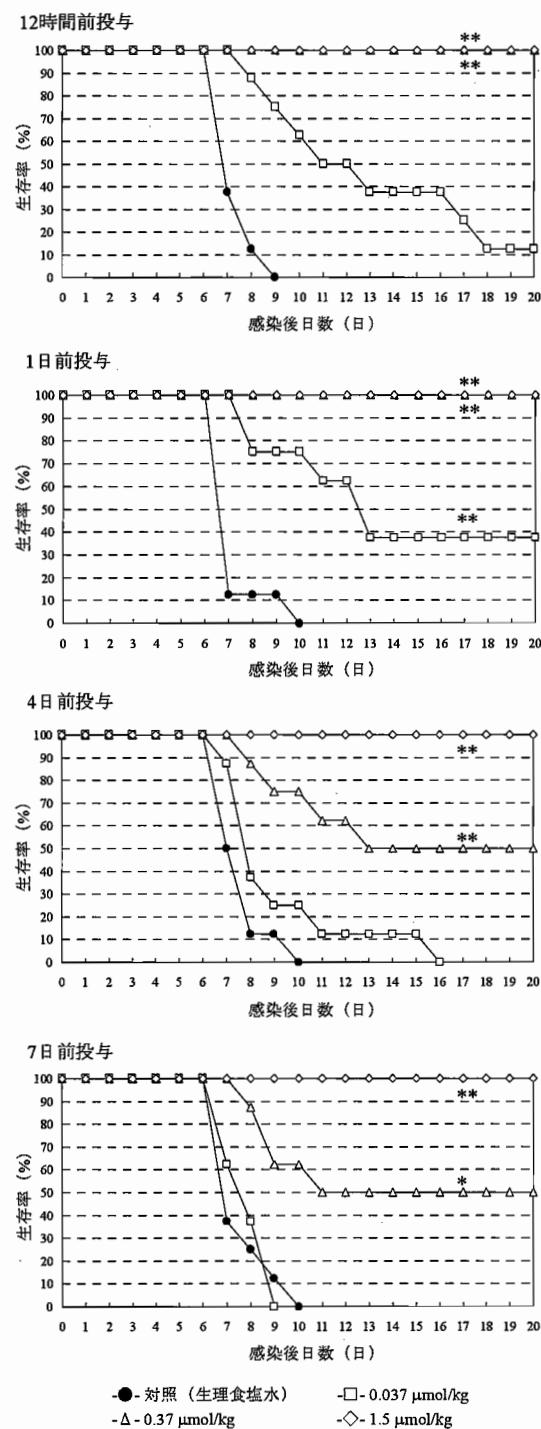
++ : $P < 0.01$ 、+ : $P < 0.05$ 、N.S. : not significant

2.6.2 薬理試験の概要文

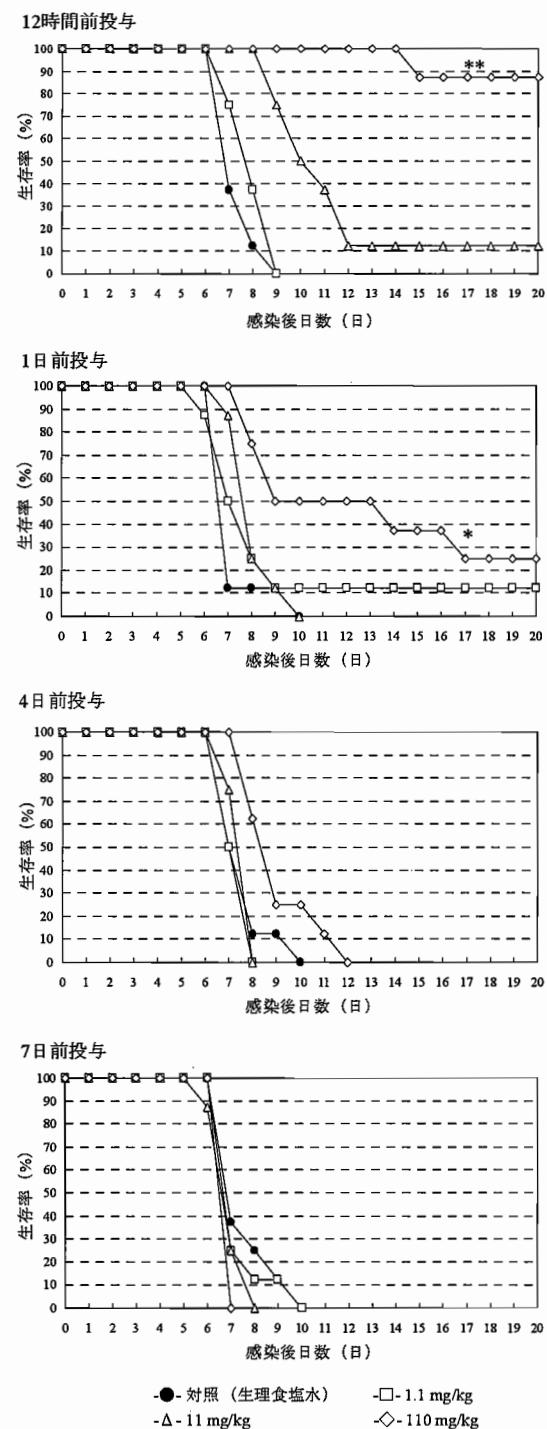
ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

(a) CS-8958



(b) オセルタミビルリン酸塩



ログランク検定, N = 8 [vs 対照群] * : P < 0.05, ** : P < 0.01

図 2.6.2.2-6 A型インフルエンザウイルス (H1N1型) 感染マウスに CS-8958 (a) を単回経鼻投与又はオセルタミビルリン酸塩 (b) を単回経口投与 (感染 12 時間、1 日、4 日、及び 7 日前) 時の延命作用

2.6.2 薬理試験の概要文

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

2.2.1.7 H1N1型ウイルス感染マウスにおけるCS-8958 単回投与とザナミビル反復投与の抗ウイルス作用の比較（感染 11 時間後投与） - ウィルス力値 - (4.2.1.1-17)

方法：マウス (BALB/c, specific pathogen free、雌 5~6 週齢、各群 3 例) にインフルエンザウイルス A/PR/8/34 (H1N1) を経鼻的に 30 pfu 感染させた。感染 11 時間に 0.50 μmol/kg (240 μg/kg 相当) の CS-8958 を単回経鼻投与、あるいは感染 11 時間後から 1 日 2 回最大 3 日間反復経鼻投与した。対照として生理食塩水あるいは 0.50 μmol/kg (170 μg/kg 相当) のザナミビルを同様に単回、あるいは反復経鼻投与した。感染 35、59、83 時間後の肺中のウィルス力値を測定した (詳細は 2.2.1.1 項参照)。

結果：ウイルス力値対数値の時間推移を図 2.6.2.2-7 に示す。CS-8958 単回投与群と CS-8958 又はザナミビルの反復投与群のウイルス力値対数値の最小 2 乗推定量を 2 元配置分散分析で比較解析したところ、両群間に有意な差はなかった (図 2.6.2.2-7 及び表 2.6.2.2-16)。このことから単回経鼻投与の CS-8958 は反復経鼻投与のザナミビルと同程度の薬効を示すことが示唆された。

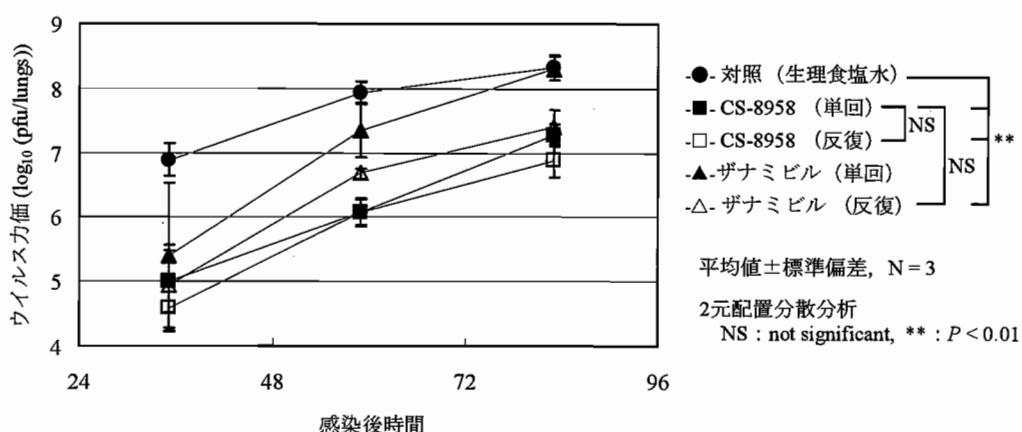


図 2.6.2.2-7 A 型インフルエンザウイルス (H1N1 型) 感染マウスに CS-8958 又はザナミビルを単回経鼻投与及び反復経鼻投与時の肺中ウイルス力値減少作用

表 2.6.2.2-16 CS-8958 単回経鼻投与群と CS-8958 又はザナミビル反復経鼻投与群との薬効比較

被験物質	投与方法	最小 2 乗推定量 $\log_{10}(\text{pfu/lungs})$	最小 2 乗推定量 の群間差	P 値 ^{a)}
CS-8958	単回	6.12	—	—
CS-8958	反復	5.85	-0.27 [-0.58~0.05]	0.0877
ザナミビル	反復	6.34	0.22 [-0.15~0.60]	0.2184

— : not applicable

[] : 95%信頼区間

a) 最小 2 乗推定量の群間差を 2 元配置分散分析で解析

2.6.2 薬理試験の概要文

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

2.2.1.8 H1N1 型ウイルス感染マウスにおける CS-8958 単回投与とオセルタミビルリン酸塩反復投与の抗ウイルス作用の比較（感染 11 時間後投与） - ウイルス力価 - (4.2.1.1-18)

方法：マウス (BALB/c, specific pathogen free、雌 6 週齢、各群 3 例) にインフルエンザウイルス A/PR/8/34 (H1N1) を経鼻的に 30 pfu 感染させた。感染 11 時間後に 0.057 又は 0.17 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ (それぞれ 27 又は 80 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 相当) の CS-8958 を単回経鼻投与した。対照として生理食塩水あるいは 1.0 又は 10 mg/kg のオセルタミビルリン酸塩を感染 11 時間後から 1 日 2 回最大 3 日間反復経口投与した。感染 35、59、83 時間後の肺中のウイルス力価を測定した (詳細は 2.2.1.1 項参照)。

結果：ウイルス力価対数値の時間推移を図 2.6.2.2-8 に示す。CS-8958 投与群とオセルタミビルリン酸塩 1.0 mg/kg 投与群のウイルス力価対数値の最小 2 乗推定量を 2 元配置分散分析で比較解析したところ、CS-8958 投与の両群とも有意にその値が低かった (図 2.6.2.2-8 及び表 2.6.2.2-17)。このことから CS-8958 の 0.057 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ (27 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 相当) の単回経鼻投与は、オセルタミビルリン酸塩 1.0 mg/kg の反復経口投与より強い薬効を示すことが示唆された。

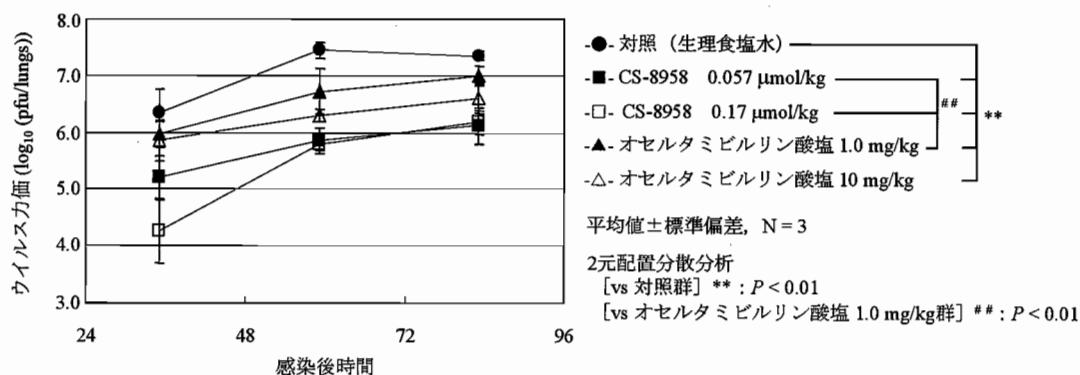


図 2.6.2.2-8 A 型インフルエンザウイルス (H1N1 型) 感染マウスに CS-8958 を単回経鼻投与又はオセルタミビルリン酸塩を反復経口投与時の肺中ウイルス力価減少作用

表 2.6.2.2-17 CS-8958 単回経鼻投与群とオセルタミビルリン酸塩反復経口投与群との薬効比較

被験物質	投与量	最小 2 乗推定量 $\log_{10}(\text{pfu/lungs})$	最小 2 乗推定量 の群間差	P 値 a)
CS-8958	0.057 $\mu\text{mol}/\text{kg}$	5.72	-0.84 [-1.19～-0.48]	< 0.0001
CS-8958	0.17 $\mu\text{mol}/\text{kg}$	5.41	-1.15 [-1.50～-0.79]	< 0.0001
オセルタミビル リン酸塩	1.0 mg/kg	6.56	-	-

— : not applicable、[] : 95%信頼区間

a) 最小 2 乗推定量の群間差を 2 元配置分散分析で解析

2.6.2 薬理試験の概要文

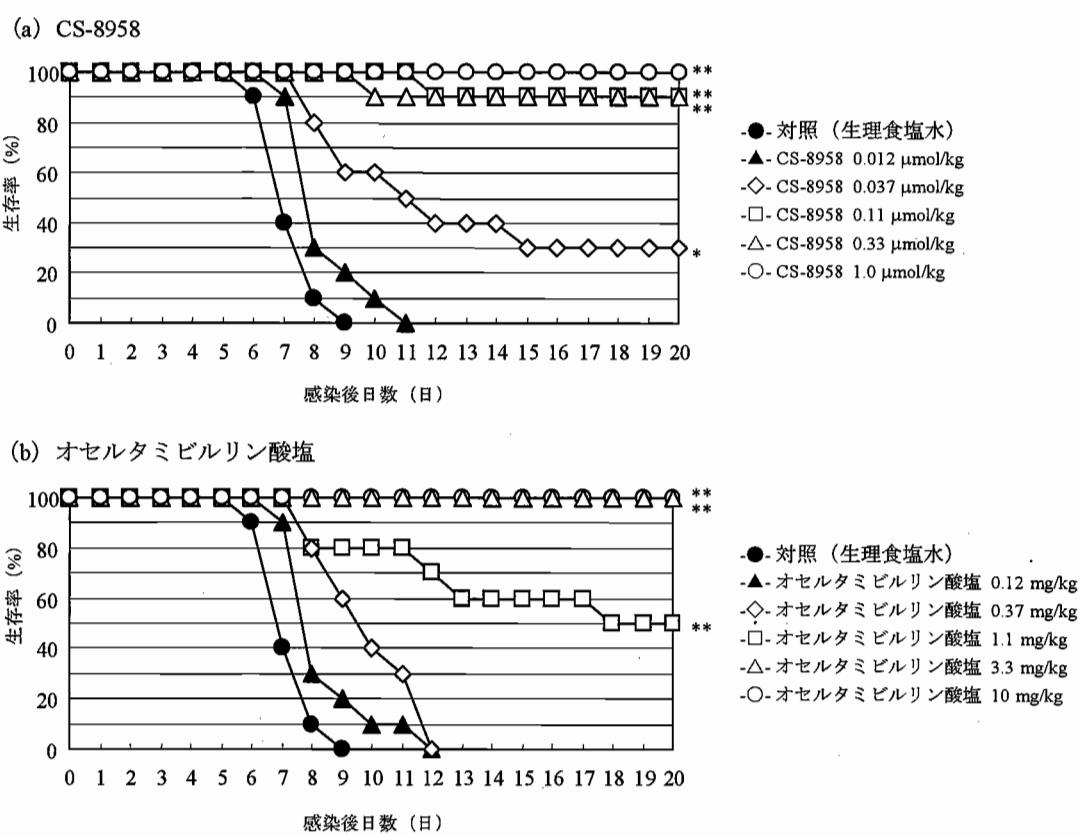
ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

2.2.1.9 H1N1型ウイルス感染マウスにおけるCS-8958 単回投与とオセルタミビルリン酸塩反復投与の抗ウイルス作用の比較（感染 11 時間後投与） - 延命作用 - (4.2.1.1-19)

方法：マウス (BALB/c, specific pathogen free、雌 6~7 週齢、各群 10 例) にインフルエンザウイルス A/PR/8/34 (H1N1) を経鼻的に 100 pfu 感染させた。感染 11 時間後に 0.012、0.037、0.11、0.33、又は 1.0 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ (それぞれ 5.7、17、52、160 又は 470 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 相当) の CS-8958 を単回経鼻投与、あるいは 0.12、0.37、1.1、3.3、又は 10 mg/kg のオセルタミビルリン酸塩を感染 11 時間後から 1 日 2 回 5 日間 (計 10 回) 反復経口投与し、感染 20 日後まで生存例数を観察した。

結果：CS-8958 投与群及びオセルタミビルリン酸塩投与群の生存曲線を、図 2.6.2.2-9 (a) 及び図 2.6.2.2-9 (b) に示す。ログランク検定により、CS-8958 は 0.037 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ (17 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 相当) 以上の投与量で、オセルタミビルリン酸塩は 1.1 mg/kg 以上の投与量で有意な延命作用を示した。プロビット法で求めた感染後 20 日で 50% のマウスが生存する投与量は CS-8958 が 0.059 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ (28 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 相当)、オセルタミビルリン酸塩が 1.1 mg/kg であった。



ログランク検定, N = 10
[vs 対照群] * : P < 0.05, ** : P < 0.01

図 2.6.2.2-9 A 型インフルエンザウイルス (H1N1 型) 感染マウスに CS-8958 (a) を単回経鼻投与又はオセルタミビルリン酸塩 (b) を 1 日 2 回 5 日間反復経口投与時の延命作用 (感染 11 時間後投与)

2.6.2 薬理試験の概要文

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

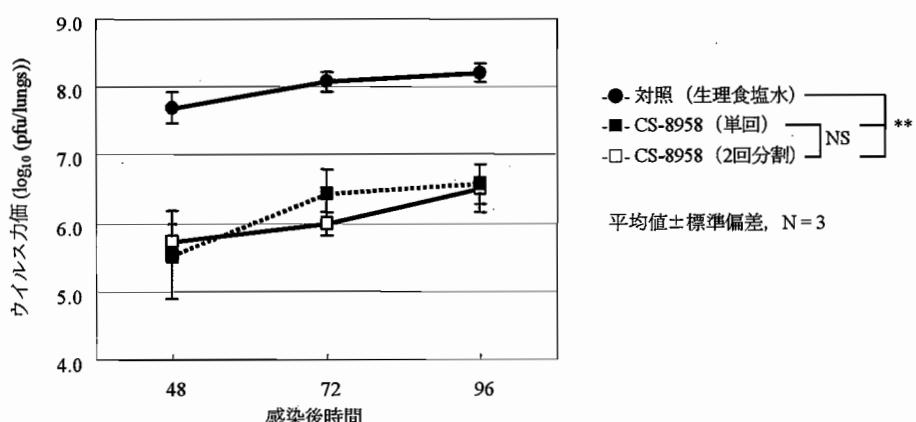
2.2.1.10 H1N1型感染マウスにおける総投与量を一定にした時のCS-8958の単回投与と分割投与の抗ウイルス作用の比較（感染11時間後投与） - ウイルス力価 - (4.2.1.1-20)

方法：マウス (BALB/c、specific pathogen free、雌5～6週齢、各群3例) にインフルエンザウイルス A/PR/8/34 (H1N1) を経鼻的に 10 pfu 感染させた。感染11時間後に 0.11 μmol/kg (52 μg/kg 相当) の CS-8958 を単回経鼻投与、あるいは感染11時間後から 0.055 μmol/kg (26 μg/kg 相当) の CS-8958 を2回 (13時間と24時間間隔の2群) 経鼻投与した。感染48、72、96時間後の肺中のウイルス力価を測定した (詳細は 2.2.1.1 項参照)。

結果：投与間隔が13時間及び24時間のウイルス力価対数値の時間推移を、図 2.6.2.2-10

(a) 及び図 2.6.2.2-10 (b) に示す。CS-8958 単回投与群と分割投与群のウイルス力価対数値の最小2乗推定量を2元配置分散分析で比較解析したところ、いずれの投与間隔においても両群に有意な差は認められなかった (表 2.6.2.2-18)。このことから、総投与量を一定にした時の単回投与と2回分割投与で効果に差はないことが示唆された。

(a) 単回投与及び2回分割投与 (投与間隔13時間)



(b) 単回投与及び2回分割投与 (投与間隔24時間)

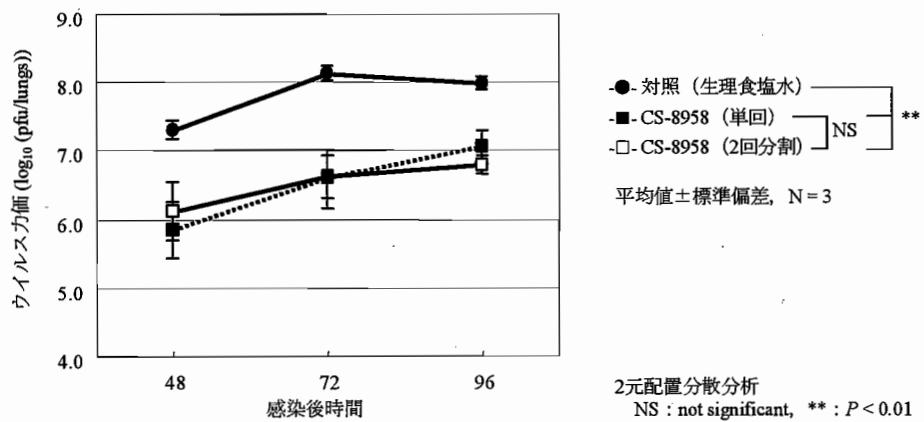


図 2.6.2.2-10 A型インフルエンザウイルス (H1N1型) 感染マウスに CS-8958 を単回投与又は分割投与時の肺中ウイルス力価減少作用

2.6.2 薬理試験の概要文

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

表 2.6.2.2-18 CS-8958 単回投与群と 2 回分割投与群との薬効比較

被験物質	投与方法	投与間隔 (時間)	最小 2 乗推定量 $\log_{10}(\text{pfu/lungs})$	最小 2 乗推定量 の群間差	P 値 ^{a)}
CS-8958	単回	—	6.18	—	—
	2 回分割	13	6.07	-0.11 [-0.50~0.28]	0.5529
CS-8958	単回	—	6.50	—	—
	2 回分割	24	6.51	0.02 [-0.34~0.38]	0.9129

— : not applicable

[] : 95%信頼区間

a) 最小 2 乗推定量の群間差を 2 元配置分散分析で解析

2.2.1.11 H3N2型ウイルス感染マウスにおけるCS-8958とザナミビルの抗ウイルス作用の比較（感染 7 日前投与） - ウイルス力価 - (4.2.1.1-21)

方法：マウス（BALB/c、specific pathogen free、雌 6～7 週齢、各群 5 例）にインフルエンザウイルス A/Aichi/2/68 (H3N2) を経鼻的に 1000 pfu 感染させる 7 日前に、0.48 又は 1.4 $\mu\text{mol/kg}$ (それぞれ 230 又は 660 $\mu\text{g/kg}$ 相当) の CS-8958、あるいは 0.48 又は 1.4 $\mu\text{mol/kg}$ (それぞれ 160 又は 470 $\mu\text{g/kg}$ 相当) のザナミビルを単回経鼻投与した。感染 1 及び 2 日後の肺中のウイルス力価を測定した（詳細は 2.2.1.1 項参照）。

結果：ウイルス力価対数値の時間推移を表 2.6.2.2-19 に示す。CS-8958 投与群とザナミビル投与群のウイルス力価対数値の最小 2 乗推定値を 3 元配置分散分析で比較解析したところ、CS-8958 投与群の方が有意に低かった。このことから、H3N2 型ウイルスに対してもザナミビルより強い薬効を示すことが示唆された。

表 2.6.2.2-19 CS-8958 又はザナミビルを単回経鼻投与（感染 7 日前）した A 型インフルエンザウイルス (H3N2 型) 感染マウスの肺中ウイルス力価の推移

被験物質	投与量 ($\mu\text{mol/kg}$)	ウイルス力価($\log_{10} \text{pfu/lungs}$) N = 5		検定	
		感染後 1 日目	感染後 2 日目	vs 溶媒対照群 ^{a)}	CS-8958 vs ザナミビル ^{b)}
対照群		5.57 ± 0.09	6.91 ± 0.06	—	
CS-8958	0.48	5.05 ± 0.11	6.65 ± 0.07	$P < 0.01$	$P < 0.05$
	1.4	4.59 ± 0.12	6.59 ± 0.08	$P < 0.01$	
ザナミビル	0.48	5.02 ± 0.12	6.90 ± 0.09	$P < 0.05$	
	1.4	4.87 ± 0.13	6.78 ± 0.12	$P < 0.01$	

平均値±標準誤差、— : not applicable

a) 測定日と投与量を説明変数とした 2 元配置分散分析

b) 測定日、投与量、薬剤を説明変数とした 3 元配置分散分析

2.6.2 薬理試験の概要文

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

2.2.2 B 型インフルエンザウイルスに対する抗ウイルス作用

2.2.2.1 B 型インフルエンザウイルス感染フェレットにおける CS-8958 単回経鼻投与の抗ウイルス作用（感染 4 時間後投与） - ウイルス力価 - (4.2.1.1-22)

方法：フェレット（Marshall ferret、雄 10～11 週齢、各群 5 例）に B/Malaysia/2506/2004 を経鼻的に 1200 pfu 感染させた。感染 4 時間に 0.05 又は 0.5 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ (それぞれ 24 又は 240 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 相当) の CS-8958、0.5 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ (170 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 相当) のザナミビルを単回経鼻投与、あるいは 25 mg/kg のオセルタミビルリン酸塩を感染 4 時間後から 1 日 2 回 3 日間経口投与し、感染 24、48、72 時間後の鼻洗浄液中のウイルス力価を測定した (2.2.1.1 項のマウス肺中ウイルス力価測定法に準じて測定)。

結果：ウイルス力価対数値の時間推移を図 2.6.2.2-11 に示す。いずれの薬剤もウイルス力価を減少させる傾向があった。特に 0.5 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ (240 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 相当) の CS-8958 の効果は顕著であり、同投与量のザナミビル及び 25 mg/kg のオセルタミビルリン酸塩よりもウイルス力価減少作用は大きかった。このことから、CS-8958 単回経鼻投与は、フェレットの B 型インフルエンザウイルス感染モデルでも有効であることが示唆された。

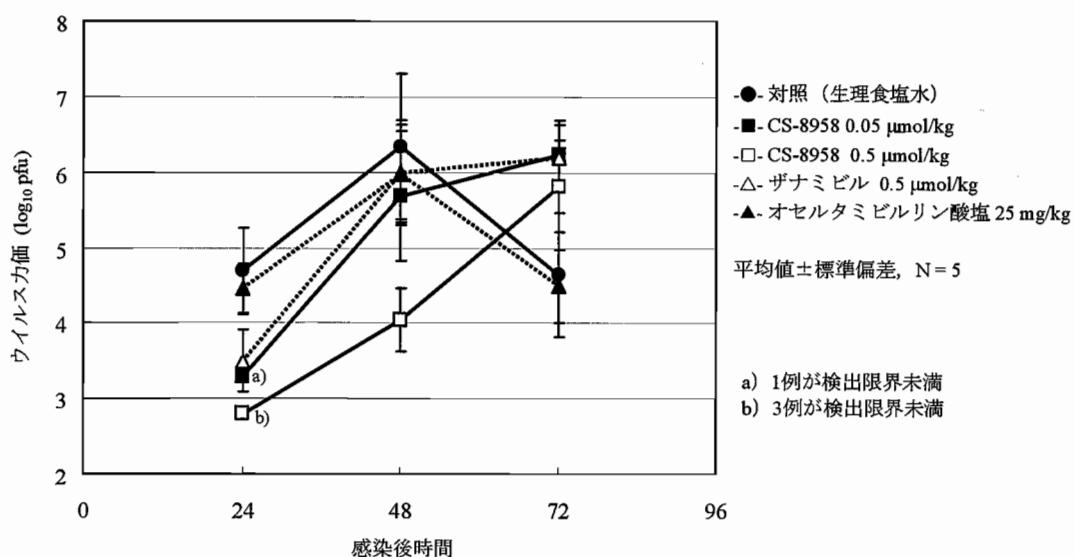


図 2.6.2.2-11 B 型インフルエンザウイルス感染フェレットに CS-8958 又はザナミビルを単回経鼻投与、オセルタミビルリン酸塩を 1 日 2 回 3 日間反復経口投与時の鼻洗浄液中のウイルス力価減少作用（感染 4 時間後投与）

2.6.2 薬理試験の概要文

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

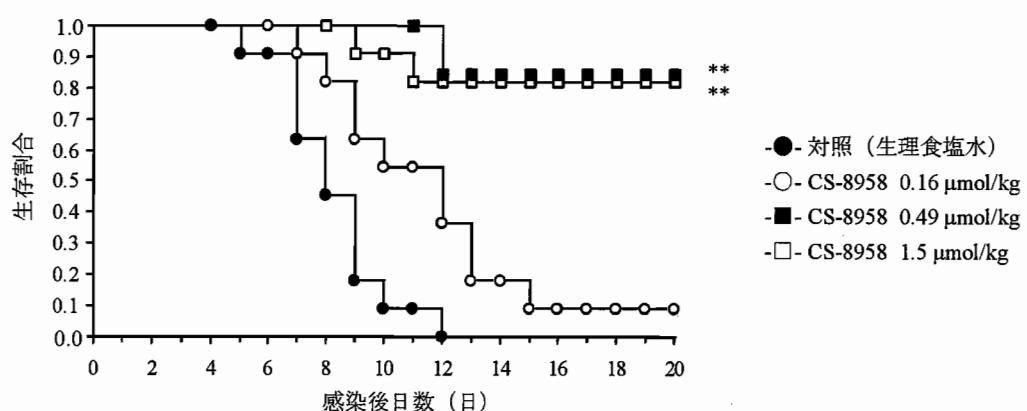
イナビル吸入粉末剤 20 mg

2.2.2.2 B型インフルエンザウイルス感染マウスにおける CS-8958 とザナミビルの抗ウイルス作用の比較（感染 7 日前投与） - 延命作用 - (4.2.1.1-23)

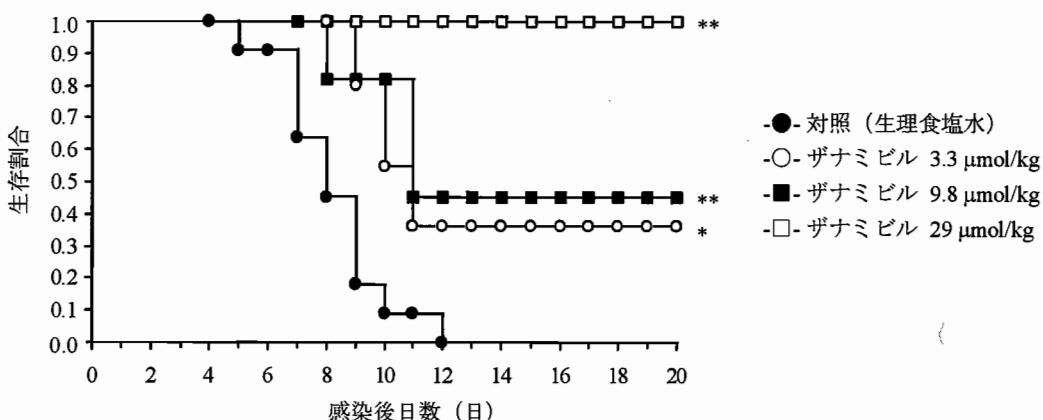
方法：マウス (BALB/c, specific pathogen free、雌 6~7 週齢、各群 11 例) にインフルエンザウイルス B/Hong Kong/5/72 を経鼻的に 1500 pfu 感染させる 7 日前に、0.16、0.49、又は 1.5 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ (それぞれ 76、230、又は 710 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 相当) の CS-8958、あるいは 3.3、9.8、又は 29 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ (それぞれ 1100、3300、又は 9600 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 相当) のザナミビルを単回経鼻投与した。感染 20 日後まで生存例数を観察した。

結果：CS-8958 投与群及びザナミビル投与群の生存曲線を、図 2.6.2.2-12(a) 及び図 2.6.2.2-12(b) に示す。ログランク検定により、CS-8958 は 0.49 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ (230 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 相当) 以上の投与量で、ザナミビルは今回試験に用いた 3.3 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ (1100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 相当) 以上の投与量で有意な延命作用を示すことが明らかになった。

(a) CS-8958



(b) ザナミビル



ログランク検定, N = 11
[vs 対照群] * : $P < 0.05$, ** : $P < 0.01$

図 2.6.2.2-12 B型インフルエンザウイルス感染マウスに CS-8958 (a) 又はザナミビル (b) を単回経鼻投与 (感染 7 日前) 時の延命作用

2.6.2 薬理試験の概要文

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

2.2.3 新型ヒトインフルエンザウイルスに対する抗ウイルス作用

2.2.3.1 H1N1 型ブタ由来新型ヒトインフルエンザウイルス感染マウスにおける

CS-8958 単回経鼻投与の抗ウイルス作用（感染 1 時間後投与） - ウィルス力
価 - （参考資料：4.2.1.1-4）

方法：マウス（Balb/c、雌 5 週齢、各群 3 例）に新型ヒトインフルエンザウイルス A/California/04/09 (H1N1) を経鼻的に 10000 pfu 感染させた。感染 1 時間後に 700 µg/kg の CS-8958 を単回経鼻投与、8 又は 80 mg/kg/day のオセルタミビルリン酸塩を感染 1 時間後から 1 日 2 回 5 日間経口投与、あるいは 0.8 又は 8 mg/kg/day のザナミビルを感染 1 時間後から 1 日 1 回 5 日間経鼻投与し、感染 3 日及び 6 日後の肺中のウィルス力価を測定した。

結果：結果を図 2.6.2.2-13 に示す。CS-8958 単回経鼻投与は他剤の反復投与群のいずれよりもウィルス力価が減少しており、H1N1 型ブタ由来新型ヒトインフルエンザウイルスにも薬効を示すことが示唆された。

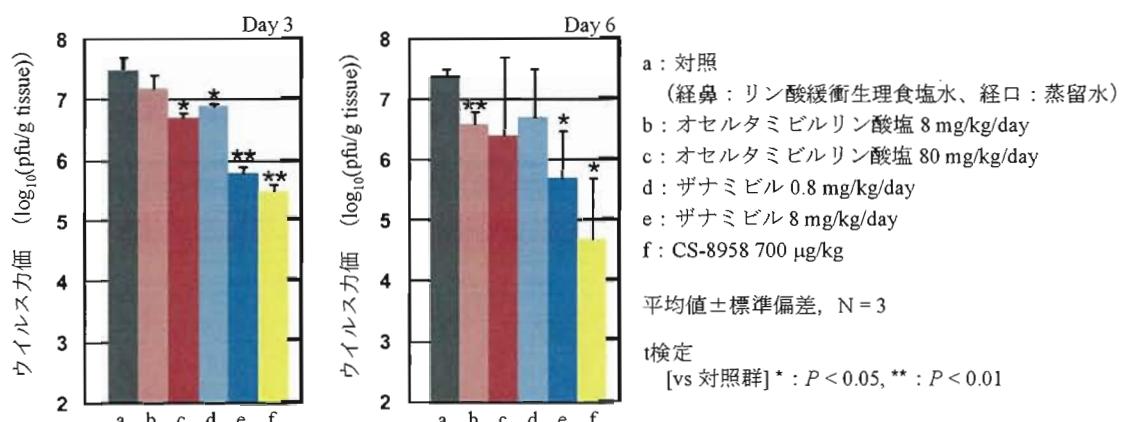


図 2.6.2.2-13 H1N1 型ブタ由来新型ヒトインフルエンザウイルス感染マウスに CS-8958
単回経鼻投与時の肺中ウィルス力価減少作用

2.6.2 薬理試験の概要文

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

2.2.4 高病原性 H5N1 型トリインフルエンザウイルスに対する抗ウイルス作用

2.2.4.1 高病原性 H5N1 型トリインフルエンザウイルス感染マウスにおける CS-8958

単回経鼻投与の抗ウイルス作用(感染 2 時間後投与) - ウイルス力価 - (参考資料 : 4.2.1.1-6)

方法 : マウス (Balb/c、雌 6 週齢、各群 3 例) に高病原性 H5N1 型トリインフルエンザウイルス A/Hanoi/30408/05 clone7 又は A/Indonesia/UT3006/05 を経鼻的に 50% マウス致死量 (MLD₅₀) の 4 倍量感染させた。感染 2 時間後に 75、750、又は 1500 µg/kg の CS-8958 を単回経鼻投与、あるいは 5 又は 50 mg/kg のオセルタミビルリン酸塩を感染 2 時間後から 1 日 2 回 5 日間経口投与し、感染 3、6、及び 9 日後の肺中及び脳内のウイルス力価を測定した。

結果 : 結果を表 2.6.2.2-20 に示す。CS-8958 の単回経鼻投与は、いずれのウイルス株に対しても 75 µg/kg 以上の投与量で感染 3 日後の、750 µg/kg 以上の投与量で感染 6 日後までの肺中ウイルス力価を減少させた。さらに、750 µg/kg 以上の CS-8958 の投与では、感染 9 日後までの脳内ウイルス力価を検出限界未満に抑制した。オセルタミビルリン酸塩の反復経口投与は、A/Hanoi/30408/05 clone7 に対して 50 mg/kg で肺中ウイルス力価を減少させ、脳内ウイルス力価を感染 6 日後まで検出限界未満に抑制したが、A/Indonesia/UT3006/05 に対しては投与量に依存した薬効は示さなかった。

表 2.6.2.2-20 CS-8958 を単回経鼻投与又はオセルタミビルリン酸塩を 1 日 2 回 5 日間反復経口投与(感染 2 時間後投与)した高病原性 H5N1 型トリインフルエンザウイルス感染マウスの肺中及び脳内ウイルス力価の推移

ウイルス株	被験物質	投与量	ウイルス力価 (\log_{10} (pfu/g 細胞))					
			感染 3 日後		感染 6 日後		感染 9 日後	
			肺	脳	肺	脳	肺	脳
HN30408Cl7 ^{a)}	対照群 ^{b)}	—	5.9 ± 0.4	< 1.6	5.8 ± 1.1	4.6, 4.7 ^{c)}	N.D.	N.D.
	CS-8958	75 µg/kg	4.1, 5.0 ^{c)}	< 1.6	5.1 ± 0.3	2.0 ± 0.3	5.9 ± 1.1	5.5 ± 0.4
		750 µg/kg	4.1, 4.5 ^{c)}	< 1.6	4.0, 4.3 ^{c)}	< 1.6	2.7 ± 1.5	< 1.6
		1500 µg/kg	2.0 ^{c)}	< 1.6	< 1.7	< 1.6	3.0, 3.5 ^{c)}	< 1.6
	オセルタミビル ^{d)}	5 mg/kg	5.0 ± 0.6	< 1.6	5.5 ± 0.4	2.9 ± 0.4	4.7 ± 0.6	4.7 ± 0.4
		50 mg/kg	5.0, 5.3 ^{c)}	< 1.6	3.8 ± 0.5	< 1.6	4.7 ± 1.4	3.7 ^{c)}
Ind3006 ^{e)}	対照群 ^{b)}	—	7.2 ± 0.1	< 1.6	7.3 ± 0.2	3.7 ± 0.3	N.D.	N.D.
	CS-8958	75 µg/kg	6.4 ± 0.2	< 1.6	7.2 ± 0.1	< 1.6	< 1.7	< 1.6
		750 µg/kg	6.0, 6.0 ^{c)}	< 1.6	6.0, 6.9 ^{c)}	< 1.6	< 1.7	< 1.6
		1500 µg/kg	2.4, 4.8 ^{c)}	< 1.6	4.5 ± 1.4	< 1.6	< 1.7	< 1.6
	オセルタミビル ^{d)}	5 mg/kg	6.5, 7.2 ^{c)}	< 1.6	7.4 ± 0.1	3.2 ± 1.2	< 1.7	< 1.6
		50 mg/kg	7.1 ± 0.2	< 1.6	7.2 ± 0.1	3.3 ± 0.9	< 1.7	< 1.6

平均値±標準偏差、N = 3、— : not applicable、N.D. : no data

a) A/Hanoi/30408/05 Clone7

b) 経鼻 : 生理食塩水、経口 : 蒸留水

c) 検出限界未満の個体があった場合は各個体のウイルス力価を表示した。

d) オセルタミビルリン酸塩

e) A/Indonesia/UT3006/05

2.6.2 薬理試験の概要文

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

2.2.4.2 高病原性 H5N1 型トリインフルエンザウイルス感染マウスにおける CS-8958

単回経鼻投与の抗ウイルス作用（感染 2 時間後投与） - 延命作用 - （参考

資料 : 4.2.1.1-6)

方法：マウス（Balb/c、雌 6 週齢、各群 8~10 例）に高病原性 H5N1 型トリインフルエンザウイルスのオセルタミビル感受性株 A/Vietnam/1203/04（野生型）又はオセルタミビル耐性株 A/Vietnam/1203/04-H274Y 及び A/Vietnam/1203/04-N294S を経鼻的に MLD₅₀ の 4 倍量（順に 18.8、8.4、18.8 pfu）感染させた。感染 2 時間後に 75、750、又は 1500 μg/kg の CS-8958 を単回経鼻投与、あるいは 5 又は 50 mg/kg のオセルタミビルリン酸塩を感染 2 時間後から 1 日 2 回 5 日間経口投与し、感染 21 日後まで生存例数を観察した。

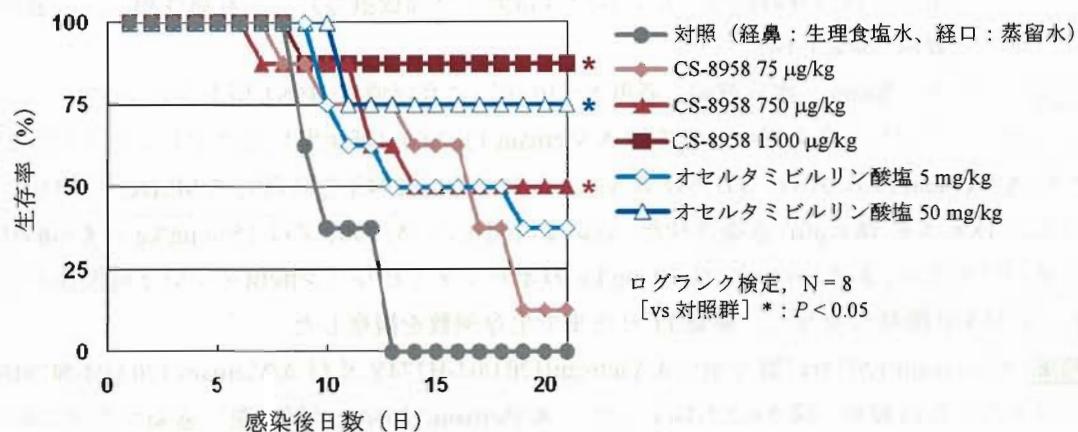
結果：A/Vietnam/1203/04（野生型）、A/Vietnam/1203/04-H274Y 及び A/Vietnam/1203/04-N294S に対する生存曲線を、図 2.6.2.2-14 に示す。A/Vietnam/1203/04（野生型）感染マウスにおいて、対照群は感染 13 日後までに全例死亡したが、CS-8958 投与群では 75 μg/kg の投与量で 12.5% の、750 μg/kg の投与量で 50% の、1500 μg/kg の投与量で 87.5% のマウスが生存し、750 μg/kg 以上の投与量で有意な延命作用を示したが、オセルタミビルリン酸塩投与群では 5 mg/kg 及び 50 mg/kg の投与量でそれぞれ 37.5% 及び 75% のマウスが生存し、50 mg/kg の投与量で有意であった。一方、A/Vietnam/1203/04-H274Y 感染マウスにおいて、対照群は感染 11 日後までに全例死亡したが、CS-8958 投与群では 75 μg/kg の投与量で 50% の、750 μg/kg の投与量で 87.5% の、1500 μg/kg の投与量で全例のマウスが生存し、全投与量で有意な延命作用を示したが、オセルタミビルリン酸塩投与群では 50 mg/kg の投与量でも 50% のマウスが有意に生存するにとどまった。また、A/Vietnam/1203/04-N294S 感染マウスにおいて、対照群は感染 14 日後までに全例死亡したが、CS-8958 投与群では 75 μg/kg の投与量で 19 日までに全例死亡、750 μg/kg の投与量で 60% の、1500 μg/kg の投与量で 80% のマウスが生存し、750 μg/kg 以上の投与量群で有意な延命作用を示したが、オセルタミビルリン酸塩投与群では 5 mg/kg の投与量で 10% の、50 mg/kg の投与量で 50% のマウスが生存し、50 mg/kg の投与量で有意であった。このことから、CS-8958 は野生型の高病原性 H5N1 型トリインフルエンザウイルスに対して薬効を示すだけでなく、オセルタミビル耐性の高病原性 H5N1 型トリインフルエンザウイルスに対しても薬効を示すことが確認された。

2.6.2 薬理試験の概要文

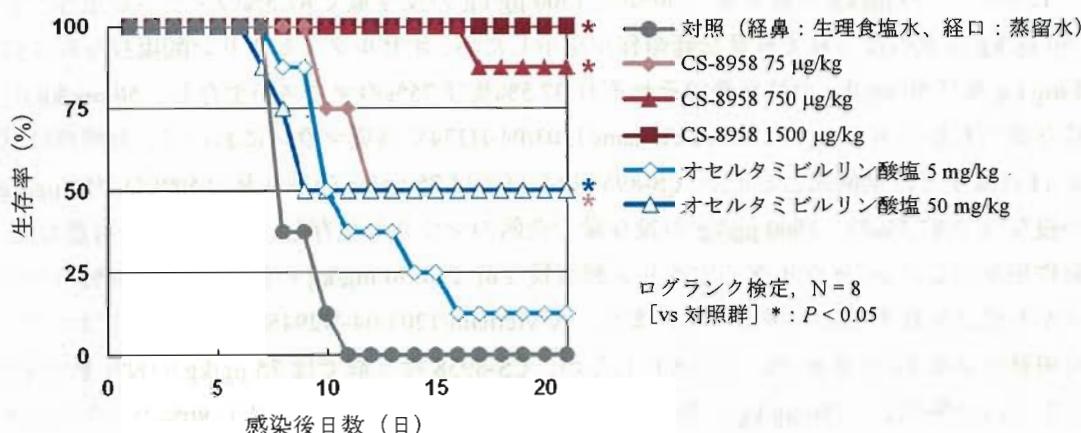
ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

(a) A/Vietnam/1203/04 (野生型)



(b) A/Vietnam/1203/04-H274Y



(c) A/Vietnam/1203/04-N294S

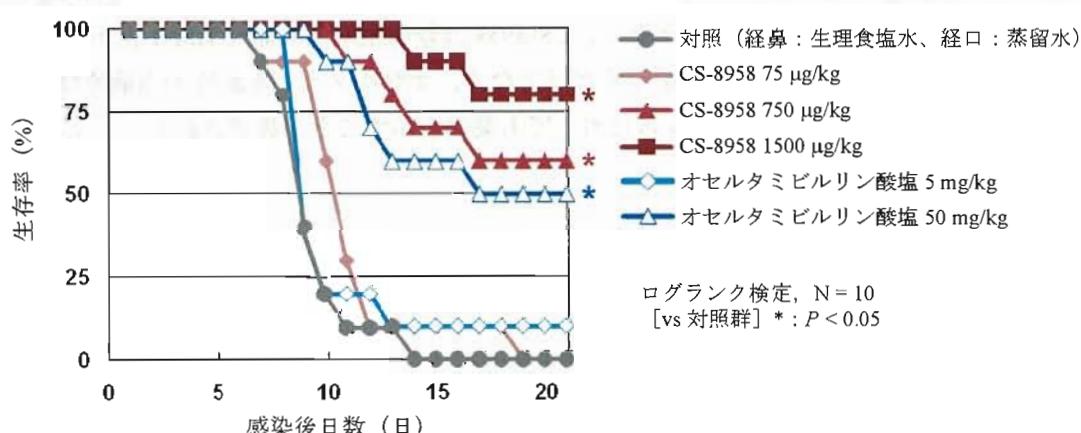


図 2.6.2.2-14 オセルタミビル感受性 (a) 及びオセルタミビル耐性 (b, c) 高病原性 H5N1 型トリインフルエンザウイルス感染マウスに CS-8958 を単回経鼻投与又はオセルタミビルリン酸塩を 1 日 2 回 5 日間反復経口投与時の延命作用 (感染 2 時間後投与)

2.6.2 薬理試験の概要文

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

2.2.5 H1N1 型ウイルス感染マウスにおける CS-8958 の吸入投与による抗ウイルス作用（感染 2 日前投与） - 延命作用 - (4.2.1.1-24・4.2.1.1-25)

CS-8958 の臨床適用経路は吸入投与であるが、非臨床薬理試験においては簡便な経鼻投与での評価を行ってきた。ここでは、吸入投与の代替投与経路として経鼻投与を適用し得ることを確認するため、A 型インフルエンザウイルス感染マウスを用いて CS-8958 の吸入投与時と経鼻投与時の薬効を比較検討した。

方法：マウス（BALB/c、specific pathogen free、雌 6 週齢、各群 8 例）にインフルエンザウイルス A/PR/8/34 (H1N1) を経鼻的に 500 pfu 感染させる 2 日前に、CS-8958 を 0.24 又は 0.91 nmol/lungs の投与量で単回吸入、あるいは 0.30、0.60、1.2、2.0、又は 4.0 nmol/body で単回経鼻投与した。感染 20 日後まで生存例数を観察した。なお、吸入投与量は投与直後の肺中の薬剤濃度を定量し、CS-8958 と R-125489 の和で示した。経鼻投与量は投与溶液濃度と投与容量から算出した。

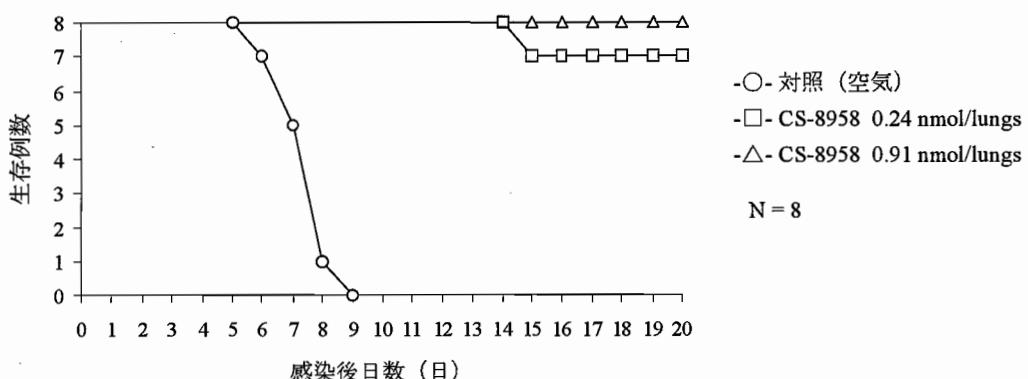
結果：吸入投与時及び経鼻投与時の生存曲線を、図 2.6.2.2-15 (a) 及び図 2.6.2.2-15 (b) に示す。対照群（吸入及び経鼻）は感染 9 日後までに全例死亡したが、CS-8958 吸入投与群では 0.24 nmol/lungs の投与量で 8 例中 7 例が、0.91 nmol/lungs の投与量で 8 例全例が生存し、また、経鼻投与群では 0.30 nmol/body の投与量で 8 例中 4 例、0.60 nmol/body の投与量で 8 例中 7 例、1.2、2.0、及び 4.0 nmol/body の投与量で 8 例全例が生存した。このことから、CS-8958 は吸入投与によっても経鼻投与と同様に延命作用を示すことが明らかとなった。

2.6.2 薬理試験の概要文

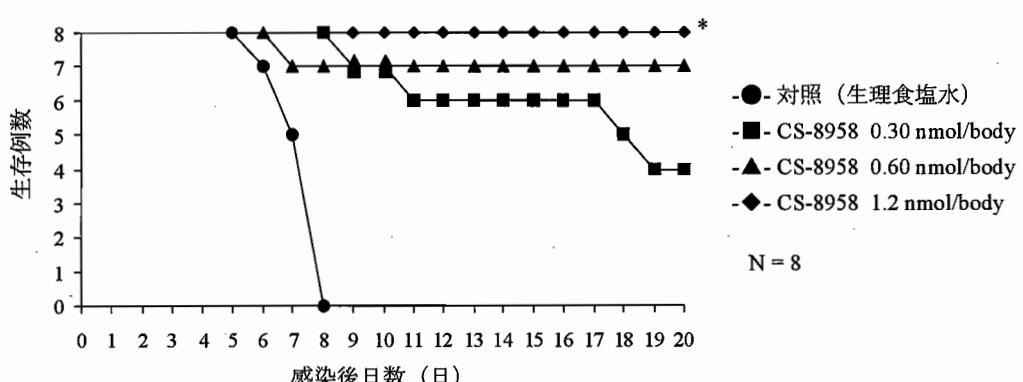
ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

(a) 吸入投与



(b) 経鼻投与



* : 2.0及び4.0 nmol/bodyでも実施し、1.2 nmol/bodyと同様に全例生存

図 2.6.2.2-15 A型インフルエンザウイルス (H1N1型) 感染マウスに CS-8958 単回吸入投与 (a) 及び単回経鼻投与 (b) 時の延命作用

2.6.2 薬理試験の概要文

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

2.3 R-125489 に対する耐性インフルエンザウイルス

抗ウイルス剤では耐性化が重要な問題となる。事実、H1N1 型ウイルスで H274Y 変異を持つオセルタミビルリン酸塩の耐性ウイルスの蔓延^{注1)} や H3N2 型ウイルス⁵⁾ 及び B 型ウイルス³⁾ でオセルタミビルリン酸塩投与患者やザナミビル投与免疫不全患者⁶⁾ からの耐性ウイルスの分離が報告されている。

R-125489 耐性インフルエンザウイルス株の発現について、*in vivo* 及び *in vitro* で検討した。なお、これまでに実施された CS-8958 の臨床試験で得られた臨床分離株の CS-8958 感受性のモニタリング結果については、「2.7.2 臨床薬理の概要」中に示す。

2.3.1 *In vivo* における検討（参考資料：4.2.1.1-26）

方法：マウス（BALB/c、specific pathogen free、雌 5～6 週齢、各群 2 例）にインフルエンザウイルス A/PR/8/34 (H1N1) を経鼻的に ■ pfu 感染させた。感染 ■ 時間後に ■ μg/kg の CS-8958 を単回経鼻投与、あるいは感染 ■ 時間後から ■ mg/kg のオセルタミビルリン酸塩を 1 日 2 回 5 日間反復経口投与した。両群のマウスの肺中ウイルス力価はほぼ同様の推移を示し、翌日の肺中ウイルス力価が検出限界以下となる感染 ■ 日後の肺のホモジネートを用いて、CS-8958 あるいはオセルタミビルリン酸塩投与群のそれぞれ 2 例から ■ 株あるいは ■ 株のウイルスをプラーク法で分離後、それらの NA 阻害活性を測定した。

結果：CS-8958 投与マウスからは耐性ウイルスは分離されなかつたが、オセルタミビルリン酸塩投与マウスからは、■ 株の耐性ウイルスが分離され、それらは ■ の変異を有していた。このうち ■ は既報告⁷⁾ の耐性変異であった。上記 ■ 株の変異株及び野生株の NA 活性に対する R-125489 及びオセルタミビル活性体の IC₅₀ を表 2.6.2.2-21 に示す。オセルタミビル活性体の、各変異株と野生株の IC₅₀ 比は ■～■ であったが、R-125489 の IC₅₀ 比は、■ 以外では ■～■ と阻害活性を維持していた。■ では、R-125489 の IC₅₀ 比は ■ と交差耐性を示した。オセルタミビルリン酸塩投与マウスからは IC₅₀ 比が 2.0 以上の耐性ウイルス ■ 株を取得できたが、CS-8958 投与マウスからは、R-125489 が交差耐性を示す ■ (IC₅₀ 比：■) を含め、1 つの耐性株も取得できなかつたことから、A/PR/8/34 ウィルス感染マウスでは、CS-8958 投与による耐性化が起こりにくくと考えられた。

注1) http://www.who.int/csr/disease/influenza/H1N1webupdate20090318%20ed_ns.pdf

2.6.2 薬理試験の概要文

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

表 2.6.2.2-21 オセルタミビルリン酸塩投与マウスから分離された耐性ウイルスの NA 活性に対する R-125489 及びオセルタミビル活性体の IC₅₀

A/PR/8/34 変異ウイルス株のアミノ酸変異 ^{a)}	IC ₅₀ (nM)	
	R-125489	オセルタミビル活性体
WT	0.779 [—]	1.82 [—]
[]	[]	[]
[]	[]	[]
[]	[]	[]
[]	[]	[]

a) アミノ酸の名称は一文字表記で記載し、アミノ酸番号は N2 型 NA を基準にした。

WT : 野生株、[] : 変異株と野生株の IC₅₀ 比、— : not applicable

2.3.2 *In vitro* における検討（参考資料：4.2.1.1-27）

方法：MDCK 細胞に段階希釈したインフルエンザウイルス A/Yokohama/67/2006 (H1N1) を添加し、5% CO₂、37°C で [] ~ [] 分間感染させた。ウイルス液を除去し、洗浄後、NA 阻害剤を含有する培地を添加して 5% CO₂、37°C で [] ~ [] 日間培養した。細胞変性効果(CPE) を示した細胞のうち、最も低濃度のウイルス液を感染させた細胞の培養液を回収し、次への継代ウイルスとした。同様の方法で、継代ウイルスを新しい MDCK 細胞に感染させ、徐々に被験化合物 (R-125489、ザナミビル、オセルタミビル活性体) 濃度を上げながら継代する操作を繰返した。R-125489 は [] nM から [] nM まで、ザナミビルは [] nM から [] nM まで、オセルタミビル活性体は [] nM の濃度で継代した。R-125489 は [] 継代 ([] nM) から [] 継代 ([] nM) までの各継代の、ザナミビルは [] 継代 ([] nM) から [] 継代 ([] nM) までの各継代の、オセルタミビル活性体は [] 継代 ([] nM) までの培養液中のウイルスの NA 及び／又は HA の塩基配列を決定し、それらのアミノ酸配列を推定した。R-125489 存在下、[] 継代目 ([] nM) の継代ウイルスはプラーク法によりウイルスクローニングを行い、単離ウイルスにつき NA と HA の遺伝子解析、NA 阻害活性、及びウイルス増殖阻害活性を検討した。

結果：各継代歴のウイルスにつき、野生株である A/Yokohama/67/2006 と異なるアミノ酸を表 2.6.2.2-22 に示した。R-125489 存在下では、[] 継代目まで NA に変異は認められなかった。HA については、[] 継代目 ([] nM) で [] カ所の変異 ([]) が認められた。[] 継代目のウイルスを単離して得られた R15-4 株では、NA に変異はなく、HA に [] カ所の変異 ([]) が認められた。ザナミビル存在下でも、[] 継代目 ([] nM) まで NA 変異は認められず、HA には [] カ所 ([]) の変異が認められた。また、オセルタミビル活性体存在下では、[] 継代目 ([] nM) で既知のオセルタミビル耐性の NA 変異 ([]) が認められ、HA にも [] カ所 ([]) の変異が認められた。なお、野生株は [] 位が [] と [] の混合

2.6.2 薬理試験の概要文

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

であり、継代ウイルスでこのアミノ酸位が混合のものは変異無し (NM)とした。

R15-4 株の NA 活性に対する R-125489、ザナミビル、オセルタミビル活性体の IC₅₀ はそれぞれ 0.58 nM、0.93 nM、1.23 nM で、野生株に対する IC₅₀（それぞれ 0.63 nM、1.00 nM、1.46 nM）と同様であり、R15-4 株はいずれの NA 阻害剤に対しても感受性を維持していた。

R15-4 株の *in vitro* ウィルス増殖能（plaques forming ability）に対する R-125489、ザナミビル、オセルタミビル活性体（いずれも [] μM）の作用（図 2.6.2.2-16）については、これらの NA 阻害剤処置により野生株 A/Yokohama/67/2006 ではplaques formingが抑制されたが、R15-4 株ではplaques formingが観察された。しかし、NA 阻害剤非処置群（対照群）と比較し、NA 阻害剤存在下で観察された R15-4 株のplaques [] し、plaques [] していた。このような現象は、NA 阻害剤存在下での *in vitro* 繼代時によく認められることであり、HA 変異によりウイルスレセプター（シアル酸）への結合が弱くなったために、NA に完全には依存せずに子ウイルスの遊離が可能となり、NA 阻害剤存在下でもウイルスが増殖可能になると考えられている⁸⁾。

表 2.6.2.2-22 *in vitro* で各種 NA 阻害薬存在下に認められた NA 及び HA のアミノ酸変異

- : 未検討。NM : 野生株と比較してアミノ酸変異が認められない。

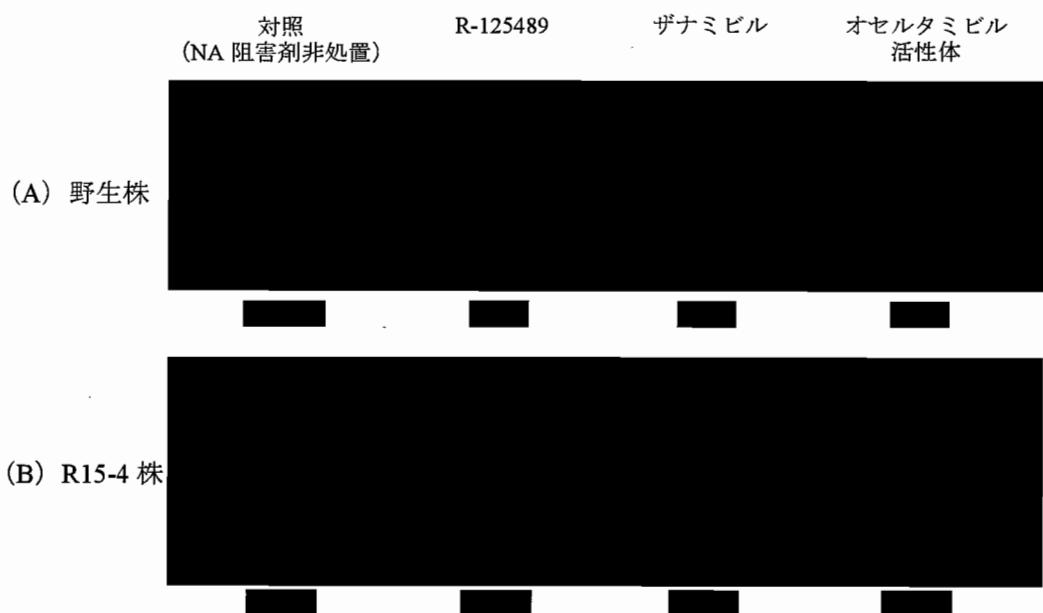
a) N2 ナンバリングを基に記載。

b) 繼代目のウイルスをプラーカ法により単離したウイルス。

2.6.2 薬理試験の概要文

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg



各種 NA 阻害剤 (■ μ M) 存在下と非存在下における野生株と R15-4 株 (R-125489 存在下に ■ 繼代目で確認された HA 変異ウイルス) のプラークを示した。() 内はプラーク数を示す。

図 2.6.2.2-16 野生株及び R15-4 株の各種 NA 阻害剤存在下のプラーク形成能

3. 副次的薬理試験

該当する試験は実施していない。

2.6.2 薬理試験の概要文

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

4. 安全性薬理試験

In vivo 試験として、CS-8958 を用いてマウス中枢神経系及び胃腸管系、ラット心血管系、呼吸系、及び腎／泌尿器系に及ぼす影響を、*in vitro* 試験として CS-8958 及び R-125489 を用いてモルモット摘出心房の拍動数と収縮力に及ぼす影響について検討した。また、hERG 導入 CHO 細胞を用いて、CS-8958 と R-125489 の hERG 電流に及ぼす影響についても検討した。

4.1 CS-8958 及び R-125489 の安全性薬理試験(4.2.1.3-1、4.2.1.3-2、4.2.1.3-3、4.2.1.3-4)

CS-8958 の安全性薬理試験の結果を表 2.6.2.4-1 に示す。中枢神経系への作用については、CS-8958 の 69.7 mg/kg 吸入投与群で警戒性の上昇、疼痛に対する反応性の上昇、体姿勢の異常（うずくまり）、歩行異常（つま先歩き）、探索行動のわずかな増加、攻撃的行動が認められたが、統計学的に有意な変化ではなかった。また、用量依存性が不明確かつ一時的で、投与との関連は明らかではないが、0.7、9.0、及び 85.6 mg/kg 投与群で Static activity にわずかな増加が認められた。心血管系への作用としては、CS-8958 の 30 mg/kg 経気管投与 10 分後に麻酔ラットの心拍数が一過性に減少した。腎／泌尿器系への作用については、CS-8958 の 84.3 mg/kg 吸入投与の 6 時間後に尿中リンがわずかに上昇したのみであった。なお、*in vivo* における運動協調性、ヘキソバルビタール麻酔時間、呼吸系、及び胃腸管系への CS-8958 の影響、摘出心房を用いた *in vitro* における心拍動数、心筋収縮力及び hERG 電流への CS-8958 及び R-125489 の影響はみられなかった。

表 2.6.2.4-1 CS-8958 及び R-125489 の安全性薬理試験成績 (1/2)

試験項目	動物・系統・性	投与経路	投与量 (mg/kg)	例数	試験成績
中枢神経系					
一般状態・行動	マウス・NMRI・雄	吸入	0.9 6.1 69.7	3	0.9, 6.1 mg/kg : 無影響 69.7 mg/kg : 警戒性の上昇 : 2/3 例 疼痛に対する反応性上昇 : 2/3 例 体姿勢の異常（うずくまり）: 2/3 例 歩行異常（つま先歩き）: 2/3 例 探索行動のわずかな増加 : 3/3 例 攻撃的行動 : 2/3 例
運動能	マウス・NMRI・雄	吸入	0.7 9.0 85.6	6	Static activity : 0.7, 9.0, 85.6 mg/kg で わずかに増加 ^{a)} [一時的]。用量非 依存性 Mobile and rearing activity : 無影響 Mobile time : 無影響
運動協調性	マウス・NMRI・雄	吸入	0.7 9.0 85.6	6	無影響
ヘキソバルビタール 麻酔時間	マウス・NMRI・雄	吸入	0.9 6.1 69.7	6	無影響

a) $P < 0.05$ (vs 対照群、Dunnett 検定)

2.6.2 薬理試験の概要文

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

表 2.6.2.4-1 CS-8958 及び R-125489 の安全性薬理試験成績 (2/2)

試験項目	動物・系統・性	投与経路	投与量 (mg/kg)	例数	試験成績
心血管系					
収縮期血圧	ラット ^{a)} ・HW・雄	経気管	3 10 30	4	収縮期血圧：無影響 拡張期血圧：無影響 平均血圧：無影響 心拍数：30 mg/kg で一過性の減少 ^{b)} ECG：無影響
拡張期血圧					
平均血圧					
心拍数					
ECG					
摘出心房 拍動数 (右房、自動能性 調律)	モルモット・GOHI Albino ・雄	<i>in vitro</i>	0.3 ^{c)} 1 ^{c)} 3 ^{c)}	8	心拍動数：無影響 心筋収縮力：無影響
収縮力 (左房、電気的調 律)					
hERG 電流	hERG 導入 CHO 細胞	<i>in vitro</i>	3 ^{e)} 10 ^{e)} 30 ^{e)}	5 ^{d)}	無影響
呼吸系					
呼吸数	ラット ^{a)} ・HW・雄	経気管	3 10 30	4	呼吸数：無影響 1回換気量：無影響 分時換気量：無影響
1回換気量					
分時換気量					
胃腸管系					
腸運動性	マウス・NMRI・雄	吸入	0.7 9.0 85.6	6	無影響
腎／泌尿器系					
尿量	ラット・HW・雄	吸入	1.4 9.2 84.3	6	尿量：無影響 尿比重：無影響 尿浸透圧：無影響 ナトリウム、カリウム、クロール、カルシウム リン
尿比重					
尿浸透圧					
ナトリウム、カリウム、クロール、カルシウム					
リン					
総蛋白質					
尿中クレアチニン					
クレアチニンクリ アランス					
a) ウレタン麻酔下における評価 b) $P < 0.05$ (vs 対照群、Dunnett 検定) c) CS-8958 及び R-125489、 $\mu\text{g}/\text{mL}$ d) 細胞数／群 e) CS-8958 及び R-125489、 $\mu\text{mol}/\text{L}$ HW : Han Wistar					
リン：84.3 mg/kg で投与 6 時間後にわずかな上昇 ^{b)} 総蛋白質：無影響 尿中クレアチニン：無影響 クレアチニンクリアランス：無影響					

5. 薬力学的薬物相互作用試験

該当する試験は実施していない。

2.6.2 薬理試験の概要文

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

6. 考察及び結論

CS-8958 はプロドラッグであり、活性代謝物 R-125489 に変換された後、抗ウイルス作用を示す。薬理試験では、*in vitro* で酵素反応系及び細胞培養系を用いて R-125489 の NA 阻害作用とウイルス増殖阻害作用を、また A 型及び B 型インフルエンザ感染動物モデルを用いて CS-8958 の *in vivo* 抗ウイルス作用を検討した。また、臨床使用上懸念される CS-8958 及び R-125489 の薬理学的作用についても標準的な試験系を用いて検討した。

In vitro 抗ウイルス作用

近年（2002～2006 年）の臨床分離株を含む A 型及び B 型ヒトインフルエンザウイルスに対する R-125489 の NA 阻害活性は、IC₅₀ で 1.29～38.8 nM であり、ザナミビルやオセルタミビル活性体と同程度であった。また、ヒトインフルエンザウイルスの培養細胞での増殖活性に対する R-125489 の IC₅₀ は、A/Wyoming/03/2003 株を除き 0.24～11 nM であり、ザナミビルやオセルタミビル活性体と同程度であった。R-125489 のコレラ菌、ウエルシュ菌、及びニューキャッスル病ウイルスの NA に対する阻害活性の IC₅₀ は、いずれも 100 μM より大きかった。これらのことから、R-125489 はザナミビル及びオセルタミビル活性体と同等の NA 阻害活性を有し、CS-8958 の抗ウイルス活性の作用機序が、R-125489 によるインフルエンザウイルス NA の選択的阻害であることが示された。一方、HeLa、MDCK、及び MOLT-4 細胞に対する R-125489 及び CS-8958 の CC₅₀ はいずれも 100 μg/mL（それぞれ 290 及び 210 μM 相当）以上であり、ウイルス増殖阻害活性と細胞障害活性を示す濃度には十分な差があることが確認された。

さらに、季節性インフルエンザウイルス感染患者から分離した A 型及び B 型のオセルタミビル耐性ウイルスに対するオセルタミビル活性体の NA 阻害活性は、野生型ウイルスに対する NA 阻害活性と比較し、IC₅₀ で 1.5～8400 倍低下していたが、R-125489 では 0.69～2.8 倍の低下であった。また、ザナミビル耐性と報告されている B 型ヒトインフルエンザウイルスに対しても R-125489 は良好な NA 阻害活性を示し、R-125489 は既知の NA 阻害剤耐性ヒトインフルエンザウイルスに対して概ね阻害活性を維持していると考えられる。

H1N1 型ブタ由来新型ヒトインフルエンザウイルス株 A/California/04/09 の NA 活性に対する R-125489 の IC₅₀ 及びウイルス増殖活性に対するその IC₉₀ は、それぞれ 0.41 及び 4.24 nM と強い阻害作用を有していた。また、R-125489 は、オセルタミビル感受性及び耐性の高病原性 H5N1 型トリインフルエンザウイルスに対しても強い NA 阻害活性を有していた。

各種動物から分離された H5N1 型及び N3～N9 型の A 型動物インフルエンザウイルスの NA 活性に対する R-125489 の IC₅₀ は 1.81～27.9 nM、培養細胞でのウイルス増殖活性に対する IC₅₀ は 0.26～2.5 nM と強い阻害作用を示した。さらに、ヒトインフルエンザウイルス H1N1 型及び H2N2 型に対しても強い酵素阻害活性とウイルス増殖阻害活性を有することが示されている。すなわち、R-125489 は、現在知られているすべての NA 亜型のインフルエンザウイルスの NA を阻害することから、CS-8958 は、将来的に発生が懸念される新型

2.6.2 薬理試験の概要文

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

インフルエンザウイルスに対しても十分なポテンシャルを有している薬剤と考えられた。

In vivo 抗ウイルス作用

CS-8958 の A 型インフルエンザウイルスに対する *in vivo* 抗ウイルス作用は以下の薬理試験結果から確認された。A 型インフルエンザウイルスを感染させたマウスに CS-8958 又はザナミビルを単回経鼻投与すると、同投与量では CS-8958 の肺中ウイルス力価減少作用はザナミビルと比較し有意に高かった。また、A 型インフルエンザウイルス感染マウスにおいて、CS-8958 は $0.044 \mu\text{mol/kg}$ (21 $\mu\text{g/kg}$ 相当) 以上の、ザナミビルは $1.3 \mu\text{mol/kg}$ (430 $\mu\text{g/kg}$ 相当) 以上の単回経鼻投与で有意な延命作用を示した。マウスに A 型インフルエンザウイルスを感染させる 7 日前に種々の投与量で CS-8958 又はザナミビルを単回経鼻投与すると、H1N1 型感染マウスにおける肺中ウイルス力価減少作用は、CS-8958 がザナミビルより相対効果で 32.8 倍強く、H3N2 型感染マウスでもザナミビルより強い薬効が認められた。また、CS-8958 は $0.78 \mu\text{mol/kg}$ (370 $\mu\text{g/kg}$ 相当) 以上の、ザナミビルは $5.2 \mu\text{mol/kg}$ (1700 $\mu\text{g/kg}$ 相当) 以上の単回経鼻投与で有意な延命作用を示し得た。また、マウスに A 型インフルエンザウイルスを感染させる 1~14 日前に CS-8958 又はザナミビルを単回経鼻投与 ($0.5 \mu\text{mol/kg}$) すると、CS-8958 は感染 10 日前投与で延命作用を示したが、ザナミビルは 1 日前投与でのみ有効だった。一方、オセルタミビルリン酸塩との比較では、CS-8958 は感染 7 日前の $0.37 \mu\text{mol/kg}$ (170 $\mu\text{g/kg}$ 相当) の単回経鼻投与で、オセルタミビルリン酸塩は感染 1 日前の 110 mg/kg の単回経口投与で延命作用を示した。これらのことから、CS-8958 は、標的器官に長期間貯留する (2.6.4 薬物動態試験の概要文「2.6.4.4 分布」参照) ことにより、ザナミビル及びオセルタミビルリン酸塩よりも抗ウイルス作用が長時間持続することが示唆された。

また、CS-8958 の単回投与によって、類薬を含む反復投与時と同程度の抗ウイルス作用が得られることが以下の薬理試験から確認された。A 型インフルエンザウイルス感染マウスにおいて、CS-8958 の単回経鼻投与 ($0.5 \mu\text{mol/kg}$; $240 \mu\text{g/kg}$ 相当) は、同投与量のザナミビル反復経鼻投与と同等の肺中ウイルス力価減少作用を示した。また、同様のモデルで、CS-8958 の単回経鼻投与 ($0.057 \mu\text{mol/kg}$; $27 \mu\text{g/kg}$ 相当) は、オセルタミビルリン酸塩の反復経口投与 (1.0 mg/kg) より高い肺中ウイルス力価減少作用を示した。また、A 型インフルエンザウイルス感染マウスにおける延命作用の比較では、オセルタミビルリン酸塩が 1.1 mg/kg 以上の反復経口投与で有意な延命作用を示すのに対し、CS-8958 は $0.037 \mu\text{mol/kg}$ ($17 \mu\text{g/kg}$ 相当) 以上の単回経鼻投与で有意な延命作用を示した。さらに、総投与量を $0.11 \mu\text{mol/kg}$ とした CS-8958 の単回経鼻投与と分割経鼻投与による肺中ウイルス力価の減少作用は同程度であった。これらのことから、CS-8958 は単回投与でザナミビルやオセルタミビルリン酸塩の反復投与に匹敵する抗ウイルス作用を示し、分割投与の必要はないことが示唆された。

CS-8958 の B 型インフルエンザウイルスに対する *in vivo* 抗ウイルス作用は以下の薬理試験結果から確認された。B 型インフルエンザウイルスを感染させたフェレットに

2.6.2 薬理試験の概要文

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

0.5 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ の CS-8958 を単回経鼻投与すると、同投与量のザナミビルの単回経鼻投与及び 25 mg/kg のオセルタミビルリン酸塩の反復経口投与と比較し、CS-8958 の鼻洗浄液中ウイルス力値の減少作用は顕著であり、B 型インフルエンザ感染モデルにおいても CS-8958 は有効であった。また、B 型インフルエンザウイルスをマウスに感染させる 7 日前に投与した場合、CS-8958 は 0.49 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ (230 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 相当) 以上の、ザナミビルは 3.3 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ (1100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 相当) 以上の単回経鼻投与で有意な延命作用を示した。

さらに、H1N1 型ブタ由来新型ヒトインフルエンザウイルスを感染させたマウスに 700 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の CS-8958 を単回経鼻投与すると、肺中ウイルス力値の減少作用を示した。このことから、CS-8958 は H1N1 型ブタ由来新型ヒトインフルエンザウイルスに対して抗ウイルス作用を示すものと考えられる。また、オセルタミビル感受性及び耐性の高病原性 H5N1 型トリインフルエンザウイルスを感染させたマウスに CS-8958 を単回投与しても同様に延命作用を示し、さらには、肺中での増殖だけでなく脳への伝播も抑制することが示唆された。このことから、CS-8958 はオセルタミビル感受性の高病原性 H5N1 型トリインフルエンザウイルスに対してだけでなく、オセルタミビル耐性の高病原性 H5N1 型トリインフルエンザウイルスにも抗ウイルス作用を示すものと考えられる。

なお、CS-8958 は *in vivo* において、吸入投与とその代替投与経路として用いた経鼻投与で同様の薬効を示すことが確認されている。

R-125489 に対する耐性ウイルス

A 型インフルエンザウイルス (H1N1 型) を感染させたマウスにオセルタミビルリン酸塩を 1 日 2 回 5 日間反復経口投与すると、感染 ■ 日後の肺から分離した ■ 株中から ■ 株の耐性ウイルスが分離されたが、CS-8958 を 1 回経鼻投与した同感染マウスでは、分離した ■ 株から耐性ウイルスは分離されなかった。このことから、R-125489 に対する耐性化は生じにくいことが示唆された。

また、A 型インフルエンザウイルス (H1N1 型) を R-125489 存在下で培養細胞を用いて継代すると、耐性ウイルスとして、オセルタミビル活性体やザナミビル存在下と同様に HA 変異株が分離された。しかし、NA 変異株は、オセルタミビル活性体存在下では ■ 継代目で分離されたのに対し、R-125489 存在下では ■ 継代目でも分離されなかった。このことから、R-125489 存在下では NA 変異による耐性ウイルスが生じにくいものと考えられた。

以上の薬効評価により、*in vitro* の検討では、R-125489 は既存薬に対する耐性ウイルス株を含むすべての NA 亜型のウイルスに対して低濃度で NA 阻害作用及びウイルス増殖阻害作用を示すこと、その作用がインフルエンザウイルスの NA に選択性のこと、細胞障害活性が十分に低いことが示された。さらに *in vivo* 動物感染モデルでの検討では、CS-8958 は A 型及び B 型インフルエンザウイルスに対して単回経鼻投与でザナミビルやオセルタミビルリン酸塩の反復投与に匹敵する抗ウイルス作用を示すこと、H1N1 型ブタ由来新型ヒトインフルエンザウイルス及び高病原性 H5N1 型トリインフルエンザウイルスに対しても薬

2.6.2 薬理試験の概要文

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

効を示し得ることが明らかになった。また、CS-8958 を投与したマウスでは R-125489 に対する耐性ウイルスが生じにくいくこと、及び *in vitro* において R-125489 は NA 変異による耐性ウイルスを生じにくいくことが示唆された。

安全性薬理

安全性薬理試験では、*in vivo* 試験として CS-8958 を用いてマウス中枢神経系（一般症状観察、運動活性、運動協調性、及びヘキソバルビタール麻酔時間）及び胃腸管系、ラット心血管系、呼吸系、及び腎／泌尿器系に及ぼす影響を、*in vitro* 試験として CS-8958 及び R-125489 を用いてモルモット摘出心房の心拍動数と心筋収縮力に及ぼす影響並びに hERG 導入 CHO 細胞における hERG 電流に及ぼす影響について検討した。中枢神経系の実験では、CS-8958 の 69.7 mg/kg（最高投与量）の吸入投与で警戒性の上昇、疼痛に対する反応性の上昇、体姿勢の異常（うずくまり）、歩行異常（つま先歩き）、探索行動のわずかな増加あるいは攻撃的行動が観察された。また、全投与群で活動量及び活動時間のわずかな増加が観察されたが、用量に依存した作用ではなかった。運動協調性及びヘキソバルビタール麻酔時間には影響を認めなかった。心血管系の実験では、CS-8958 の 30 mg/kg（最高投与量）経気管投与により麻酔ラットの心拍数の一過性の低下が観察されたが、摘出心房あるいは hERG 電流には CS-8958 及び R-125489 による影響を認めなかった。腎／泌尿器系への影響としては、CS-8958 の 84.3 mg/kg（最高投与量）吸入投与により、6 時間後に尿中リン濃度のわずかな増加を認めた。CS-8958 の投与による呼吸系あるいは胃腸管系に対する影響は認めなかった。

以上のことから、CS-8958 は臨床使用に際して問題となる薬理学的作用は持たないと考えられた。

以上の薬理試験の検討結果より、CS-8958 は、その薬効量の範囲において、単回吸入投与により抗ウイルス作用を発揮する A 型及び B 型インフルエンザウイルス感染症治療薬として、臨床的有用性が期待できるものと考える。

7. 図表

本文中の該当箇所に挿入した。

8. 参考文献一覧

- 1) von Itzstein M, Wu WY, Kok GB, et al. Rational design of potent sialidase-based inhibitors of influenza virus replication. *Nature*. 1993;363(6428):418-23.
- 2) Kim CU, Lew W, Williams MA, et al. Influenza neuraminidase inhibitors possessing a novel hydrophobic interaction in the enzyme active site: design, synthesis, and structural analysis

2.6.2 薬理試験の概要文

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

- of carbocyclic sialic acid analogues with potent anti-influenza activity. J Am Chem Soc. 1997;119(4):681-90.
- 3) Hatakeyama S, Sugaya N, Ito M, et al. Emergence of influenza B viruses with reduced sensitivity to neuraminidase inhibitors. JAMA. 2007;297(13):1435-42.
 - 4) Hatakeyama S, Sakai-Tagawa Y, Kiso M, et al. Enhanced expression of an alpha2,6-linked sialic acid on MDCK cells improves isolation of human influenza viruses and evaluation of their sensitivity to a neuraminidase inhibitor. J Clin Microbiol. 2005;43(8):4139-46.
 - 5) Kiso M, Mitamura K, Sakai-Tagawa Y, et al. Resistant influenza A viruses in children treated with oseltamivir: descriptive study. Lancet. 2004;364(9436):759-65.
 - 6) Gubareva LV, Matrosova MN, Brenner MK, et al. Evidence for zanamivir resistance in an immunocompromised child infected with influenza B virus. J Infect Dis. 1998;178(5):1257-62.
 - 7) Lackenby A, Thompson CI, Democratis J. The potential impact of neuraminidase inhibitor resistant influenza. Curr Opin Infect Dis. 2008;21(6):626-38.
 - 8) McKimm-Breschkin JL. Resistance of influenza viruses to neuraminidase inhibitors--a review. Antiviral Res. 2000;47(1):1-17.

イナビル吸入粉末剤 20 mg

2.6.3 薬理試験概要表

第一三共株式会社

2.6.3 薬理試験概要表

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

目次

1. 薬理試験：一覧表	3
2. 効力を裏付ける試験	7
3. 副次的薬理試験	7
4. 安全性薬理試験	8
5. 薬力学的薬物相互作用試験	10

2.6.3 薬理試験概要表

ラニナミビルオクタノ酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

略号一覧

略号	略していない表現（英）	略していない表現（日）
CHO 細胞	Chinese hamster ovary cell	チャイニーズハムスター卵巣細胞
hERG	human ether-a-go-go related gene	ヒト遅延整流性カリウムイオンチャネル遺伝子
NA	neuraminidase	ノイラミニダーゼ

化合物一覧

化合物名（由来）	化学名	構造式
CS-8958 (未変化体)	(2R,3R,4S)-3-Acetamido-4-guanidino-2-[(1R,2R)-2-hydroxy-1-methoxy-3-(octanoyloxy)propyl]-3,4-dihydro-2H-pyran-6-carboxylic acid monohydrate (2R,3R,4S)-3-Acetamido-4-guanidino-2-[(1S,2R)-3-hydroxy-1-methoxy-2-(octanoyloxy)propyl]-3,4-dihydro-2H-pyran-6-carboxylic acid monohydrate	
R-125489 (活性代謝物)	(2R,3R,4S)-3-Acetamido-2-[(1R,2R)-2,3-dihydroxy-1-methoxypropyl]-4-guanidino-3,4-dihydro-2H-pyran-6-carboxylic acid	

1. 薬理試験：一覧表 (1/4)

被験物質：CS-8958, R-125489, ザナミビル, オセルタミビル活性体

2.6.3 薬理試験概要表

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物 イナビル吸入粉末剤 20 mg

試験の種類	試験系	被験物質	投与方法	実施施設	資料番号	記載箇所
効力を裏付ける試験						
NA阻害作用：ヒトインフルエンザウイルス標準株及びワクチン株	酵素反応系	CS-8958, R-125489, ザナミビル, オセルタミビル活性体	<i>in vitro</i>	三共	4.2.1.1-1	4.2.1.1
NA阻害作用：ヒトインフルエンザウイルス臨床分離株	酵素反応系	CS-8958, R-125489, ザナミビル, オセルタミビル活性体	<i>in vitro</i>	三共	4.2.1.1-2	4.2.1.1
NA阻害作用：オセルタミビル耐性及びザナミビル耐性ヒトインフルエンザウイルス	酵素反応系	R-125489, ザナミビル, オセルタミビル活性体	<i>in vitro</i>	第一三共	4.2.1.1-3	4.2.1.1
NA阻害作用：H1N1型ブタ由来新型インフルエンザウイルス	酵素反応系	R-125489, ザナミビル, オセルタミビル活性体	<i>in vitro</i>	東京大学医学研究所	4.2.1.1-4	4.2.1.1
NA阻害作用：各種動物インフルエンザウイルス	酵素反応系	CS-8958, R-125489, ザナミビル, オセルタミビル活性体	<i>in vitro</i>	第一三共	4.2.1.1-5	4.2.1.1
NA阻害作用：高病原性H5N1型トリインフルエンザウイルス	酵素反応系	R-125489, ザナミビル, オセルタミビル活性体	<i>in vitro</i>	東京大学医学研究所	4.2.1.1-6	4.2.1.1
NAに対する阻害選択性	酵素反応系	R-125489	<i>in vitro</i>	三共	4.2.1.1-7	4.2.1.1
ウイルス増殖阻害作用：ヒトインフルエンザウイルス標準株及びワクチン株	培養細胞系	CS-8958, R-125489, ザナミビル, オセルタミビル活性体	<i>in vitro</i>	第一三共	4.2.1.1-8	4.2.1.1
ウイルス増殖阻害作用：H1N1型ブタ由来新規型インフルエンザウイルス	培養細胞系	R-125489, ザナミビル, オセルタミビル活性体	<i>in vitro</i>	東京大学医学研究所	4.2.1.1-4	4.2.1.1
ウイルス増殖阻害作用：各種動物インフルエンザウイルス	培養細胞系	CS-8958, R-125489, ザナミビル, オセルタミビル活性体	<i>in vitro</i>	第一三共	4.2.1.1-9	4.2.1.1
各種培養細胞に対する細胞障害性	培養細胞系	CS-8958, R-125489	<i>in vitro</i>	三共	4.2.1.1-10	4.2.1.1

1. 薬理試験：一覧表 (2/4)

被験物質：CS-8958, R-125489, ザナミビル, オセルタミビルリン酸塩 ラニナミビルオクタン酸エステル水和物						
試験の種類	試験系	被験物質	投与方法	実施施設	資料番号	記載箇所
効力を裏付ける試験（続き）						
<i>In vivo</i> 抗ウイルス作用比較（ウイルス力価）：vs. ザナミビル	マウス感染モデル A/PR/8/34 (H1N1)	CS-8958, ザナミビル	経鼻	三共	4.2.1.1-11	4.2.1.1
<i>In vivo</i> 抗ウイルス作用比較（延命作用）：vs. ザナミビル	マウス感染モデル A/PR/8/34 (H1N1)	CS-8958, ザナミビル	経鼻	三共	4.2.1.1-12	4.2.1.1
<i>In vivo</i> 抗ウイルス作用比較（ウイルス力価）：感染7日前投与 vs. ザナミビル	マウス感染モデル A/PR/8/34 (H1N1)	CS-8958, ザナミビル	経鼻	三共	4.2.1.1-13	4.2.1.1
<i>In vivo</i> 抗ウイルス作用比較（延命作用）：感染7日前投与 vs. ザナミビル	マウス感染モデル A/PR/8/34 (H1N1)	CS-8958, ザナミビル	経鼻	三共	4.2.1.1-14	4.2.1.1
<i>In vivo</i> 抗ウイルス作用比較（延命作用）：感染前投与時期による比較 vs. ザナミビル	マウス感染モデル A/PR/8/34 (H1N1)	CS-8958, ザナミビル	経鼻	三共	4.2.1.1-15	4.2.1.1
<i>In vivo</i> 抗ウイルス作用比較（延命作用）：感染前投与時期による比較 vs. オセルタミビルリン酸塩	マウス感染モデル A/PR/8/34 (H1N1)	CS-8958, オセルタミビルリン酸塩	経鼻 経口	第一三共	4.2.1.1-16	4.2.1.1
<i>In vivo</i> 抗ウイルス作用比較（ウイルス力価）：単回／反復投与 vs. ザナミビル	マウス感染モデル A/PR/8/34 (H1N1)	CS-8958, ザナミビル	経鼻	三共	4.2.1.1-17	4.2.1.1
<i>In vivo</i> 抗ウイルス作用比較（ウイルス力価）：vs. オセルタミビルリン酸塩反復投与	マウス感染モデル A/PR/8/34 (H1N1)	CS-8958, オセルタミビルリン酸塩	経鼻 経口	三共	4.2.1.1-18	4.2.1.1
<i>In vivo</i> 抗ウイルス作用比較（延命作用）：vs. オセルタミビルリン酸塩反復投与	マウス感染モデル A/PR/8/34 (H1N1)	CS-8958, オセルタミビルリン酸塩	経鼻 経口	三共	4.2.1.1-19	4.2.1.1
<i>In vivo</i> 抗ウイルス作用比較（ウイルス力価）：単回投与 vs. 分割投与	マウス感染モデル A/PR/8/34 (H1N1)	CS-8958	経鼻	第一三共	4.2.1.1-20	4.2.1.1

2.6.3 薬理試験概要表

2.6.3 薬理試験概要表

ラニナミビルオクタノ酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

1. 薬理試験 : 一覧表 (3/4)

被験物質 : CS-8958, R-125489, ザナミビル, オセルタミビルリン酸塩, オセルタミビル活性体

試験の種類	試験系	被験物質	投与方法	実施施設	資料番号	記載箇所
効力を裏付ける試験 (続き)						
<i>In vivo</i> 抗ウイルス作用比較 (ウイルス力値) : 感染 7 日前投与 vs. ザナミビル	マウス感染モデル A/Aichi/2/68 (H3N2)	CS-8958, ザナミビル	経鼻 経口	三共	4.2.1.1-21	4.2.1.1
<i>In vivo</i> 抗ウイルス作用比較 (ウイルス力値) : vs. ザナミビル単回投与／オセルタミビルリン酸塩反復投与	フェレット 感染モデル B/Malaysia/2506/2004	CS-8958, ザナミビル, オセルタミビルリン酸塩	経鼻 経口	第一三共	4.2.1.1-22	4.2.1.1
<i>In vivo</i> 抗ウイルス作用比較 (延命作用) : 感染 7 日前投与 vs. ザナミビル	マウス感染モデル B/Hong Kong/5/72	CS-8958, ザナミビル	経鼻 経口	三共	4.2.1.1-23	4.2.1.1
<i>In vivo</i> 抗ウイルス作用比較 (ウイルス力値) : vs. ザナミビル反復投与／オセルタミビルリン酸塩反復投与	マウス感染モデル H1N1型ブタ由来新型ヒトインフルエンザウイルス	CS-8958, ザナミビル, オセルタミビルリン酸塩	経鼻 経口	東京大学医科学研究所	4.2.1.1-4	4.2.1.1
<i>In vivo</i> 抗ウイルス作用比較 (ウイルス力値) : vs. オセルタミビルリン酸塩反復投与	マウス感染モデル 高病原性 H5N1型トリインフルエンザウイルス	CS-8958, オセルタミビルリン酸塩	経鼻 経口	東京大学医科学研究所	4.2.1.1-6	4.2.1.1
<i>In vivo</i> 抗ウイルス作用比較 (延命作用) : vs. オセルタミビルリン酸塩反復投与	マウス感染モデル 高病原性 H5N1型トリインフルエンザウイルス	CS-8958, オセルタミビルリン酸塩	経鼻 経口	東京大学医科学研究所	4.2.1.1-6	4.2.1.1
<i>In vivo</i> 抗ウイルス作用比較 (延命作用) : 感染 2 日前の吸入投与 vs. 経鼻投与	マウス感染モデル A/PR/8/34 (H1N1)	CS-8958	吸入 経鼻	三共, [REDACTED]	4.2.1.1-24, 4.2.1.1-25	4.2.1.1
<i>In vivo</i> 耐性インフルエンザウイルス発現	マウス感染モデル A/PR/8/34 (H1N1)	CS-8958, オセルタミビルリン酸塩	経鼻 経口	第一三共	4.2.1.1-26	4.2.1.1
<i>In vitro</i> 耐性インフルエンザウイルス発現	培養細胞系	R-125489, ザナミビル, オセルタミビル活性体	<i>in vitro</i>	第一三共	4.2.1.1-27	4.2.1.1

1. 薬理試験：一覧表 (4/4)

2.6.3 薬理試験概要表
ラニナミビルオクタン酸エステル水和物 イナビル吸入粉末剤 20 mg

試験の種類		試験系	被験物質	投与方法	実施施設	資料番号	記載箇所
副次的薬理試験							
該当する試験は実施していない							
安全性薬理試験							
マウス中枢神経系及び胃腸管系、ラット心血管系、呼吸系及び腎／泌尿器系に及ぼす影響	マウス、ラット	CS-8958		吸入 経気管		4.2.1.3-1	4.2.1.3
モルモット摘出心房の拍動数と収縮力に及ぼす影響	モルモット摘出心房	CS-8958, R-125489	<i>in vitro</i>			4.2.1.3-2	4.2.1.3
CS-8958 の hERG 電流に及ぼす影響	hERG 導入 CHO 細胞	CS-8958	<i>in vitro</i>			4.2.1.3-3	4.2.1.3
R-125489 の hERG 電流に及ぼす影響	hERG 導入 CHO 細胞	R-125489	<i>in vitro</i>			4.2.1.3-4	4.2.1.3
薬力学的薬物相互作用試験							
該当する試験は実施していない							

2.6.3 薬理試験概要表

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

2. 効力を裏付ける試験
関連する図表は「2.6.2 薬理試験の概要文」中に記載した。
3. 副次的薬理試験
該当する試験は実施していない。

4. 安全性薬理試験 (1/2)

2.6.3 薬理試験概要表
ラニナミビルオクタン酸エステル水和物 イナビル吸入粉末剤 20 mg

被験物質：CS-8958, R-125489

試験項目	動物・系統・性	投与経路	投与量 (mg/kg)	例数	試験成績
中枢神経系					
一般状態・行動	マウス・NMRI・雄	吸入	CS-8958 : 0.9, 6.1, 69.7	3	0.9, 6.1 mg/kg : 無影響 69.7 mg/kg : 警戒性的上昇 (2/3 例) ; 痛痛に対する反応性上昇 (2/3 例) ; 体姿勢の異常 (うずくまり) (2/3 例) ; 歩行異常 (つま先歩き) (2/3 例) ; 探索行動のわずかな増加 (3/3 例) ; 攻撃的行動 (2/3 例)
運動能	マウス・NMRI・雄	吸入	CS-8958 : 0.7, 9.0, 85.6	6	Static activity : 0.7, 9.0, 85.6 mg/kg でわずかな影響あり ^{b)} [一時的]。用量非依存性 Mobile and rearing activity : 無影響
運動協調性					
ヘキソバルビタール麻酔時間	マウス・NMRI・雄 マウス・NMRI・雄	吸入 吸入	CS-8958 : 0.7, 9.0, 85.6 CS-8958 : 0.9, 6.1, 69.7	6 6	無影響 無影響
心血管系					
収縮期血圧 拡張期血圧 平均血圧 心拍数 ECG	ラット ^{a)} ・HW・雄	経気管	CS-8958 : 3, 10, 30	4	収縮期血圧 : 無影響 拡張期血圧 : 無影響 平均血圧 : 無影響 心拍数 : 30 mg/kg で一過性の減少 ^{b)} ECG : 無影響
摘出心房 拍動数 (右房, 自動能性調律) 収縮力 (左房, 電気的調律)	モルモット・GOHI Albino・雄	in vitro	CS-8958 : 0.3, 1, 3 (μg/mL) R-125489 : 0.3, 1, 3 (μg/mL)	8	心拍動数 : 無影響 心筋収縮力 : 無影響
hERG 電流	hERG 導入 CHO 細胞	in vitro	CS-8958 : 3, 10, 30 (μmol/L) R-125489 : 3, 10, 30 (μmol/L)	5 ^{c)}	無影響

a) ヴレタン麻酔下における評価

b) $P < 0.05$ (vs 対照群, Dunnett 検定)

c) 細胞数/群
HW : Han Wistar

4. 安全性薬理試験 (2/2)

2.6.3 薬理試験概要表
ラニナミビルオクタン酸エステル水和物 イナビル吸入粉末剤 20 mg

被験物質 : CS-8958

試験項目	動物・系統・性	投与経路	投与量 (mg/kg)	例数	試験成績
呼吸系					
呼吸数	ラット ^{a)} ・HW・雄	経気管	CS-8958 : 3, 10, 30	4	呼吸数：無影響
1回換気量					1回換気量：無影響
分時換気量					分時換気量：無影響
胃腸管系					
腸運動性	マウス・NMRI・雄	吸入	CS-8958 : 0.7, 9.0, 85.6	6	無影響
腎／泌尿器系					
尿量	ラット・HW・雄	吸入	CS-8958 : 1.4, 9.2, 84.3	6	尿量：無影響
尿比重					尿比重：無影響
尿浸透圧	ナトリウム、カリウム、クロール、カルシウム				尿浸透圧：無影響
リソーム					ナトリウム、カリウム、クロール、カルシウム：無影響
総蛋白質					リソーム : 84.3 mg/kg で投与 6 時間後にわずかかな上昇 ^{b)}
尿中クレアチニン					総蛋白質：無影響
クレアチニンクリアランス					尿中クレアチニン : 無影響
					クレアチニンクリアランス : 無影響

a) ヴレタサン麻酔下における評価

b) $P < 0.05$ (vs 対照群, Dunnett 検定)

HW : Han Wistar

2.6.3 薬理試験概要表

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg

5. 薬力学的薬物相互作用試験
該当する試験は実施していない。

2.6.3 薬理試験概要表

ラニナミビルオクタン酸エステル水和物

イナビル吸入粉末剤 20 mg