

# ハーボニー<sup>®</sup>配合錠

第2部（モジュール2）：CTDの概要（サマリー）

2.6.1 緒言

ギリアド・サイエンシズ株式会社

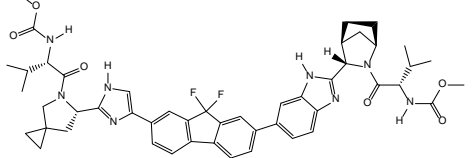
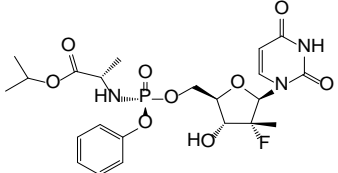
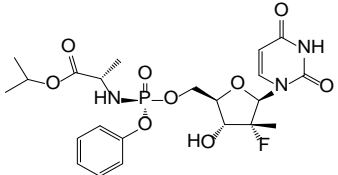
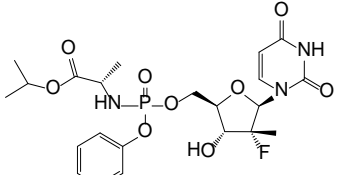
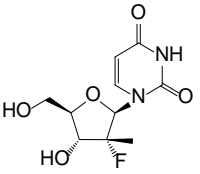
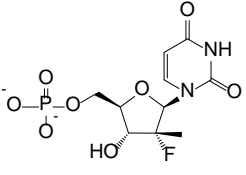
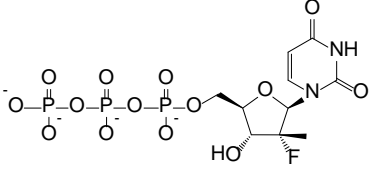
## 目次

1.	緒言.....	6
1.1.	医薬品の構造及び薬理学的特性に関する簡潔な情報.....	6
1.2.	効能・効果、用法・用量.....	7
1.3.	参考文献.....	7

## 図目次

図 2.6.1-1	ソホスブビルの構造式.....	6
図 2.6.1-2	レジパスビルの構造式.....	7

レジパスビル並びにソホスブビル、そのジアステレオマー及び代謝物の説明

開発番号 (旧開発番号) 一般名 略称	構造式	説明
GS-5885 レジパスビル LDV		有効成分 methyl [(2S)-1-{{(6S)-6-[5-(9,9-difluoro-7- {2-[(1R,3S,4S)-2-{{(2S)-2-[(meth oxycarbonyl)amino]-3-methylb utanoyl}-2-azabicyclo[2.2.1]hep t-3-yl]-1H-benzimidazol-6-yl}-9 H-fluoren-2-yl)-1H-imidazol-2- yl]-5-azaspiro[2.4]hept-5-yl}-3- methyl-1-oxobutan-2-yl]carbam ate
GS-7977 (PSI-7977) ソホスブビル SOF		有効成分 ヌクレオチドプロドラッグ
GS-491241 (PSI-7976)		ヌクレオチドプロドラッグ ジアステレオマー
GS-9851 (PSI-7851)		ヌクレオチドプロドラッグ：ソホ スブビル及びそのジアステレオマ ー (GS-491241) の混合物 (1 : 1)
GS-331007 (PSI-6206)		代謝物 ヌクレオシド誘導体
GS-606965 (PSI-7411)		代謝物 ヌクレオシド誘導体一リン酸
GS-461203 (PSI-7409)		活性代謝物 ヌクレオシド誘導体三リン酸

略号一覧

略号	日本語	英語
EC <sub>50</sub>	50%効果濃度	half maximal effective concentration or effective concentration of compound causing 50% of maximal inhibition
GT	ジェノタイプ	genotype
HCV	C型肝炎ウイルス	hepatitis C virus
IC <sub>50</sub>	50%阻害濃度	half maximal inhibitory concentration or concentration of compound causing 50% of maximal inhibition
NS	非構造タンパク質	nonstructural protein
RNA	リボ核酸	ribonucleic acid

## 1. 緒言

### 1.1. 医薬品の構造及び薬理学的特性に関する簡潔な情報

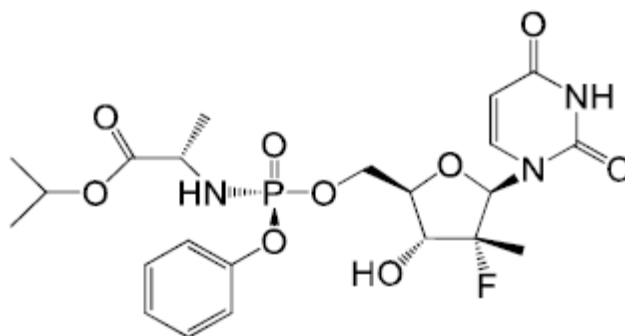
本剤は、1錠中にレジパスビル（GS-5885）90 mg 及びソホスブビル（GS-7977）400 mg を有効成分として含有する配合錠であり、C型肝炎ウイルス（HCV）感染症の治療薬として開発された。

ソホスブビルは、ソバルディ®錠 400 mg として平成 26 年 6 月 27 日に承認申請した。

ソホスブビルはHCV非構造タンパク質(NS)5Bに特異的な新規の直接阻害薬で、*in vitro*でHCVレプリコンリボ核酸(RNA)の複製に対し強い阻害作用を示す。ソホスブビルは、2'-デオキシ-2'-フルオロ-2'-C-メチルウリジン-リン酸（GS-606965）のヌクレオチドプロドラッグであり、肝細胞内で活性代謝物であるウリジン三リン酸体（GS-461203）に変換される。図 2.6.1-1 にソホスブビルの構造式を示す。

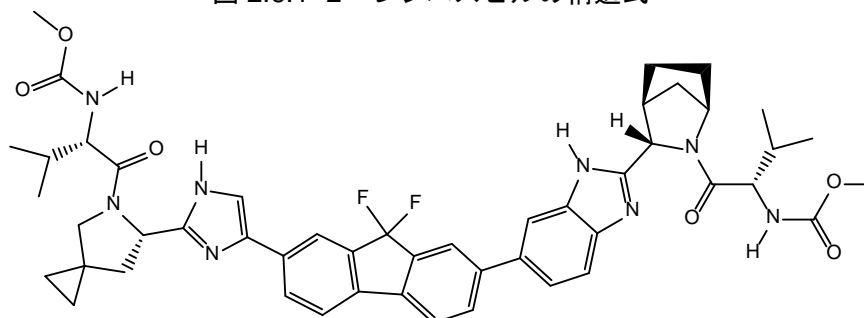
ソホスブビルは、全てのジェノタイプ（GT）を対象とする強力なHCV NS5Bポリメラーゼ阻害剤である。*In vitro*でのGT 1a、1b、2a、3a及び4a型HCVレプリコン細胞に対するソホスブビルの50%効果濃度（EC<sub>50</sub>値）は0.014～0.11 μmol/Lである。GS-461203は、*in vitro*において50%阻害濃度（IC<sub>50</sub>値）0.36～3.3 μmol/Lの範囲でGT 1b、2a、3a及び4a型NS5Bポリメラーゼ活性を直接阻害する。

図 2.6.1-1 ソホスブビルの構造式



レジパスビルはHCVの複製 [1] 及びHCV粒子の会合 [2、3] に必須であるNS5Aを標的とする新規のHCV阻害剤である。図 2.6.1-2 にレジパスビルの構造式を示す。レジパスビルはGT 1a型及び1b型レプリコン細胞に対して強い抗ウイルス活性を示し、EC<sub>50</sub>値はそれぞれ0.031及び0.004 nmol/Lである。また、GT 2～6型レプリコン細胞に対しても抗ウイルス活性を示し、そのEC<sub>50</sub>値は0.15～530 nmol/Lである。

図 2.6.1-2 レジパスビルの構造式



レジパスビル及びソホスブビルは、いずれも HCV GT 1a 型及び 1b 型レプリコン細胞に対し強い抗ウイルス活性を示す。レジパスビル/ソホスブビル併用によって相加的な抗ウイルス作用が認められ、拮抗作用は認められない。細胞毒性にレジパスビル/ソホスブビル併用による明らかな変化はみられない。レジパスビル及びソホスブビルに *in vitro* 交差耐性はない。

## 1.2. 効能・効果、用法・用量

<予定する効能・効果>

セログループ 1 (ジェノタイプ 1) の C 型慢性肝炎又は C 型代償性肝硬変におけるウイルス血症の改善

<予定する用法・用量>

通常、成人には 1 日 1 回 1 錠 (レジパスビルとして 90 mg 及びソホスブビルとして 400 mg) を 12 週間経口投与する。

## 1.3. 参考文献

- 1 Pietschmann T, Lohmann V, Rutter G, Kurpanek K, Bartenschlager R. Characterization of cell lines carrying self-replicating hepatitis C virus RNAs. *J Virol* 2001;75(3):1252-64. (4.3.6)
- 2 Tellinghuisen TL, Foss KL, Treadaway J. Regulation of hepatitis C virion production via phosphorylation of the NS5A protein. *PLoS pathogens* 2008;4(3):e1000032. (4.3.8)
- 3 Hughes M, Griffin S, Harris M. Domain III of NS5A contributes to both RNA replication and assembly of hepatitis C virus particles. *J Gen Virol* 2009;90(Pt 6):1329-34. (4.3.3)

# ハーボニー<sup>®</sup>配合錠

第2部（モジュール2）：CTDの概要（サマリー）

2.6.2 薬理試験の概要文

ギリアド・サイエンシズ株式会社

## 目次

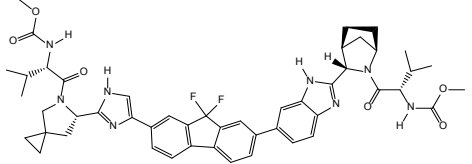
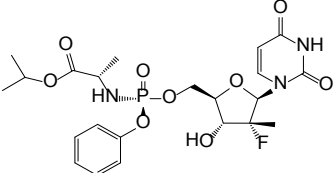
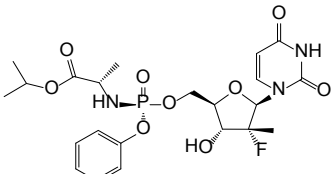
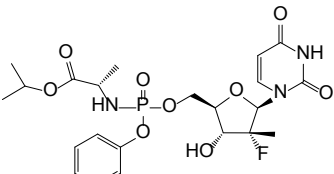
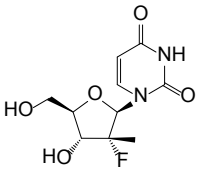
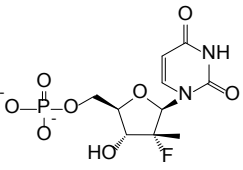
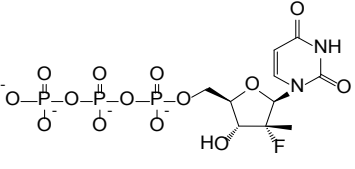
1.	まとめ.....	8
1.1	レジパスビル.....	8
1.1.1	効力を裏付ける試験.....	8
1.1.2	副次的薬理試験.....	9
1.1.3	安全性薬理試験.....	9
1.1.4	薬力学的薬物相互作用試験.....	10
1.2	レジパスビル／ソホスブビル.....	10
1.2.1	効力を裏付ける試験.....	10
1.2.2	副次的薬理試験.....	10
1.2.3	安全性薬理試験.....	10
1.2.4	薬力学的薬物相互作用試験.....	11
2.	効力を裏付ける試験.....	12
2.1	レジパスビル.....	12
2.1.1	HCV レプリコン細胞株に対する <i>in vitro</i> 活性.....	12
2.1.2	HCV 感染細胞に対する <i>in vitro</i> 活性.....	13
2.1.3	臨床分離株に対する <i>in vitro</i> 活性.....	13
2.1.4	<i>In vitro</i> 活性に対するヒト血清の影響.....	14
2.1.5	<i>In vitro</i> 耐性発現試験.....	14
2.1.6	他の抗 HCV 薬との交差耐性.....	16
2.2	レジパスビル／ソホスブビル.....	18
2.2.1	レプリコン細胞株に対する <i>in vitro</i> 活性.....	18
3.	副次的薬理試験.....	19
3.1	レジパスビル.....	19
3.1.1	HCV 以外のウイルスに対する活性.....	19
3.1.2	<i>In vitro</i> 細胞毒性.....	19
3.1.3	<i>In vitro</i> 受容体結合試験.....	20

3.1.4	HCV NS3 プロテアーゼ、NS3 ヘリカーゼ、NS5B ポリメラーゼ、HCV IRES 及び一連のキナーゼに対する活性.....	21
3.2	レジパスビル／ソホスブビル.....	21
3.2.1	<i>In vitro</i> 細胞毒性.....	21
4.	安全性薬理試験.....	22
4.1	レジパスビル.....	22
4.1.1	中枢神経系.....	22
4.1.2	心血管系.....	22
4.1.3	呼吸器系.....	23
4.2	レジパスビル／ソホスブビル.....	23
5.	薬力学的薬物相互作用.....	24
5.1	レジパスビル.....	24
5.1.1	他の抗 HCV 薬との併用効果.....	24
5.1.2	抗 HIV 薬との併用効果.....	24
5.2	レジパスビル／ソホスブビル.....	26
5.2.1	他の抗 HCV 薬との効果.....	26
5.2.2	抗 HIV 薬との効果.....	26
6.	考察及び結論.....	27
6.1	レジパスビル.....	27
6.2	レジパスビル／ソホスブビル.....	28
7.	表.....	29
8.	参考文献.....	30

### 表目次

表 2.6.2- 1	HCV GT 1a 型及び 1b 型レプリコン細胞に対するレジパスビルの抗ウイルス活性.....	12
表 2.6.2- 2	HCV GT 2~6 型レプリコン細胞に対するレジパスビルの抗ウイルス活性.....	13
表 2.6.2- 3	臨床分離株の NS5A 配列を含むキメラレプリコン細胞に対する レジパスビルの抗ウイルス活性.....	14
表 2.6.2- 4	一過性レプリコン複製試験におけるレジパスビルの NS5A/5B 耐性変異及び薬剤感受性.....	15
表 2.6.2- 5	レジパスビルに対する薬剤耐性と GT 1a 型及び 1b 型 NS5A 関連耐性変異.....	16
表 2.6.2- 6	レジパスビルに対する交差耐性を検討した NS3 及び NS5B 関連耐性変異.....	17
表 2.6.2- 7	GT 1a 型及び 1b 型レプリコン細胞でのレジパスビル/ソホスブビル併用による相互作用.....	18
表 2.6.2- 8	HCV 以外のウイルスに対するレジパスビルの抗ウイルス活性.....	19
表 2.6.2- 9	各種細胞株におけるレジパスビル 3 日間処理後の細胞毒性.....	20
表 2.6.2- 10	各種細胞株におけるレジパスビル 7 日間処理後の細胞毒性.....	20
表 2.6.2- 11	レジパスビルの各種イオンチャネル/受容体に対する結合能.....	21
表 2.6.2- 12	レジパスビルと他の抗 HCV 薬の相互作用.....	24
表 2.6.2- 13	GT 1a 型レプリコン細胞でのレジパスビルの活性に対する抗 HIV 薬の影響.....	25
表 2.6.2- 14	MT-4 細胞での抗 HIV 薬の活性に対するレジパスビルの影響.....	25

レジパスビル並びにソホスビル及びそのジアステレオマーの説明

開発番号 (旧開発番号) 一般名 略称	構造式	説明
GS-5885 レジパスビル LDV		有効成分 methyl [(2S)-1-{(6S)-6-[5-(9,9-difluoro-7-{2-[(1R,3S,4S)-2-{(2S)-2-[(methoxycarbonyl)amino]-3-methylbutanoyl}-2-azabicyclo[2.2.1]hept-3-yl]-1H-benzimidazol-6-yl}-9H-fluoren-2-yl)-1H-imidazol-2-yl]-5-azaspiro[2.4]hept-5-yl}-3-methyl-1-oxobutan-2-yl]carbamate
GS-7977 (PSI-7977) ソホスビル SOF		有効成分 ヌクレオチドプロドラッグ
GS-491241 (PSI-7976)		ヌクレオチドプロドラッグ ジアステレオマー
GS-9851 (PSI-7851)		ヌクレオチドプロドラッグ：ソホスビル及びそのジアステレオマー（GS-491241）の混合物（1：1）
GS-331007 (PSI-6206)		代謝物 ヌクレオシド誘導体
GS-606965 (PSI-7411)		代謝物 ヌクレオシド誘導体一リン酸
GS-461203 (PSI-7409)		活性代謝物 ヌクレオシド誘導体三リン酸

略号一覧

略号	日本語	英語
ATV	アタザナビル	Atazanavir
BVDV	牛ウイルス性下痢ウイルス	bovine viral diarrhea virus
CC <sub>50</sub>	50%細胞毒性濃度	drug concentration that results in a 50% reduction in cell viability
C <sub>max</sub>	最高血漿中濃度	maximum observed plasma concentration of drug
DMSO	ジメチルスルホキシド	dimethyl sulfoxide
DRV	ダルナビル	Darunavir
EC <sub>50</sub>	50%効果濃度	half maximal effective concentration or effective concentration of compound causing 50% of maximal inhibition
ECG	心電図	electrocardiogram
EFV	エファビレンツ	Efavirenz
EVG	エルビテグラビル	Elvitegravir
FTC	エムトリシタビン	emtricitabine
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準	Good Laboratory Practice
GT	ジェノタイプ	Genotype
HBV	B型肝炎ウイルス	hepatitis B virus
HCV	C型肝炎ウイルス	hepatitis C virus
HEK	ヒト胎児腎臓	human embryonic kidney
HepG2	ヒト肝がん細胞株	human hepatocarcinoma cell line
hERG	ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子	human ether-à-go-go related gene
HIV	ヒト免疫不全ウイルス	human immunodeficiency virus
HRV	ヒトライノウイルス	human rhinovirus
ICH	日米 EU 医薬品規制調和国際会議	International Conference on Harmonization
IC <sub>50</sub>	50%阻害濃度	half maximal inhibitory concentration or concentration of compound causing 50% of maximal inhibition
IFN	インターフェロン	Interferon
IRES	内部リボソーム進入部位	internal ribosome entry site

略号一覧（続き）

略号	日本語	英語
MT-4	ヒト T 細胞白血病細胞株	human T cell leukemia cell line
NOEL	無影響量	no observed effect level
NS	非構造タンパク質	nonstructural protein
PG	プロピレングリコール	propylene glycol
PI	プロテアーゼ阻害剤	protease inhibitor
RAL	ラルテグラビル	Raltegravir
RBV	リバビリン	Ribavirin
RO	逆浸透	reverse osmosis
RPV	リルピビリン	Rilpivirine
RSV	RS ウイルス	respiratory syncytial virus
Solutol® HS-15	ポリエチレングリコール(15)-ヒドロキシステアリン酸	polyethylene glycol 15-hydroxystearate
TFV	テノホビル	tenofovir

## 1. まとめ

本剤は1錠中にレジパスビル（GS-5885）90 mg及びソホスブビル（GS-7977）400 mgを有効成分として含有する配合錠であり、C型肝炎ウイルス（HCV）感染症の治療薬として開発された。

ソホスブビルは、ソバルディ®錠400 mgとして平成26年6月27日に承認申請した。

ソホスブビルの非臨床薬理試験に関する資料は、ソバルディ®錠400 mg申請時に提出済みであり、結果は既提出のソホスブビルのCTD 2.4及びCTD 2.6.2に要約した。本CTDでは、レジパスビル及びレジパスビル/ソホスブビル併用時の一連の薬理試験結果を記載し、レジパスビル/ソホスブビル併用時の影響について考察した。

レジパスビルの安全性薬理試験は、日米EU医薬品規制調和国際会議（ICH）が発行するガイドライン及び医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に準拠して実施した。予備試験及び探索的試験は、GLPに準拠した試験施設で実施するか、又は適切な試験計画書及び文書に従って実施することでデータの信頼性を確保した。

### 1.1 レジパスビル

レジパスビルはHCVの複製 [1] 及びHCV粒子の会合 [2、3] に必須である非構造タンパク質（NS）5Aを標的とする新規のHCV阻害剤である。NS5Aは多数の宿主タンパク質と相互作用し [4]、宿主の自然免疫応答を回避することで感染を促進すると考えられる [5]。

#### 1.1.1 効力を裏付ける試験

レジパスビルはジェノタイプ（GT）1a型及び1b型レプリコン細胞に対して強い抗ウイルス活性を示し、その50%効果濃度（EC<sub>50</sub>値）の平均値はそれぞれ0.031及び0.004 nmol/Lであった。GT 1a型及び1b型の臨床分離株のNS5A配列をコードするキメラレプリコン細胞に対するレジパスビルのEC<sub>50</sub>値の中央値は、それぞれ0.018 nmol/L（範囲：0.009～0.085 nmol/L、N=30）及び0.006 nmol/L（範囲：0.004～0.007 nmol/L、N=3）であった。また、レジパスビルはGT 2～6型レプリコン細胞に対しても抗ウイルス活性を示し、そのEC<sub>50</sub>値は0.15～530 nmol/Lであった。HCV GT 2a（J6/JFH-1）型感染細胞に対するレジパスビルのEC<sub>50</sub>値は3.2～8.5 nmol/Lであった。40%ヒト血清存在下で、GT 1a型レプリコン細胞に対するレジパスビルの活性は1/11.6に低下した。GT 1a型及び1b型のレプリコン細胞を用いたレジパスビルの*in vitro*耐性発現試験において、Y93Hが主な変異として検出され、レジパスビルに対する感受性低下（1000倍以上）を示した。GT 1a型ではQ30E変異も検出された。また、GT 1a型ではNS5Aアミノ酸24、28、30、31、32、38、58、92及び93位、GT 1b型ではNS5Aアミノ酸31、32、58、92及び93位の特定変異がレジパスビルに対する感受性の低下（EC<sub>50</sub>値が2.5倍以上）を示した。一方、ソホスブビルの主な耐性変異であるS282Tを含め、報告されているNS3プロテアーゼ阻害剤（PI）並びにNS5Bヌクレオシド及び非ヌクレオシド阻害剤関連耐性変異は、いずれもレジパスビルに対して交差耐性を

示さなかった。

### 1.1.2 副次的薬理試験

HCV 以外のウイルス [フラビウイルス科牛ウイルス性下痢ウイルス (BVDV)、RS ウイルス (RSV)、B 型肝炎ウイルス (HBV)、1 型ヒト免疫不全ウイルス (HIV)、ヒトライノウイルス (HRV)、インフルエンザ A 及び B 並びに一連のフラビウイルス (ウエストナイルウイルス、黄熱ウイルス、2 型デングウイルス及びバンジウイルス)] に対するレジパスビルの抗ウイルス活性を検討した結果、レジパスビルは薬理学的作用濃度において、いずれのウイルスに対しても活性を示さなかったため、レジパスビルの抗ウイルス活性は HCV に対して高度な特異性を示すものと考えられた。レジパスビルの細胞毒性をレプリコン含有細胞 (1b-Rluc-2、Huh-luc、1a-HRlucP 及び SL-3) 及びヒト肝がん細胞株 (HepG2) など複数の細胞株を用いて検討した結果、いずれの細胞に対してもレジパスビルの細胞毒性は弱く、レジパスビル 3 日間及び 7 日間処理後の 50%細胞毒性濃度 (CC<sub>50</sub> 値) はそれぞれ 5.91~50 µmol/L 超及び 4.03~27.96 µmol/L であった。また、レジパスビル 5 日間処理後のヒト T 細胞白血病細胞株 (MT-4) に対する CC<sub>50</sub> 値は 2.79 µmol/L であった。一連のイオンチャネル及び受容体に対するレジパスビルの結合能を放射性リガンドを用いて評価したところ、10 µmol/L で 3 つのイオンチャネル及び 1 つの受容体に対して強い結合能を示したが、レジパスビルの抗ウイルス活性を示す濃度と受容体阻害作用を示す濃度に大きな開きがあることを考慮すると、これらのイオンチャネル及び受容体に対するレジパスビルの結合能の臨床上的意義は低いと考えられた。レジパスビルは、NS3/4A プロテアーゼ、NS3 ヘリカーゼ、NS5B ポリメラーゼ及び HCV 内部リボソーム進入部位 (IRES) 活性に対して明らかな阻害作用を示さなかった。また、HCV の複製には NS5A のリン酸化が重要であるため、一連のキナーゼに対するレジパスビルの作用を検討した結果、レジパスビルがキナーゼを阻害することによって NS5A 阻害作用を示す可能性は低いと考えられた。

### 1.1.3 安全性薬理試験

レジパスビルの中樞神経系、心血管系及び呼吸器系に対する影響を検討するため、安全性薬理コアバッテリー試験を実施した。ラットにレジパスビルを単回経口投与した時の中樞神経系に対する作用を Irwin 法により評価した結果、最高用量である 100 mg/kg まで影響は認められなかった。レジパスビル (0.25 及び 0.50 µmol/L) は溶媒対照と比較して、ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子 (hERG) カリウムチャネル電流を有意に阻害しなかった。レジパスビルの溶媒への溶解度が低いため 50%阻害濃度 (IC<sub>50</sub> 値) は算出できなかったが、0.50 µmol/L を超えると推定される。レジパスビル単回経口投与の心血管系に対する作用を、覚醒ビーグル犬を用いたテレメトリー法により評価した結果、最高用量である 30 mg/kg まで血行動態及び心電図 (ECG) パラメーターに影響は認められなかった。ラットを用いてレジパスビルの呼吸器系への作用をヘッドアウト式プレチスモグラフィにより評価した結果、最高用量である 100 mg/kg まで呼吸器系パラメーターに影響は認められなかった。

#### 1.1.4 薬力学的薬物相互作用試験

レジパスビルと他の抗 HCV 薬との併用による影響を *in vitro* で検討した。レジパスビルをソホスブビルと併用した時、相加的な抗ウイルス作用が示された。レジパスビルをインターフェロン (IFN) - $\alpha$  又はリバビリン (RBV) と併用した時、それぞれ弱い又は中等度の相乗的な抗ウイルス作用が認められた。また、レジパスビルを NS3 PI (boceprevir、シメプレビル及びテラプレビル) 又は NS5A 阻害剤ダクラタスビルと併用した時、相加的な抗ウイルス作用が認められた。レジパスビルと併用した薬剤との間にはいずれも有意な拮抗作用は認められなかった。

抗 HCV 薬は HIV に重複感染した患者の治療に使用される可能性があるため、レジパスビルの抗ウイルス活性に対する抗 HIV 薬の影響を検討した結果、レジパスビルの EC<sub>50</sub> 値は検討した濃度でのいずれの抗 HIV 薬の存在下でも同程度であり、検討した抗 HIV 薬はレジパスビルの抗ウイルス作用に拮抗しないことが示唆された。また、抗 HIV 薬の EC<sub>50</sub> 値はいずれもレジパスビルの存在下で同程度であり、レジパスビルは抗 HIV 薬の作用に拮抗しないことが示唆された。

### 1.2 レジパスビル／ソホスブビル

#### 1.2.1 効力を裏付ける試験

レジパスビル／ソホスブビル併用による GT 1a 型及び 1b 型レプリコン細胞に対する抗ウイルス作用を検討した結果、いずれの GT でも相加的な抗ウイルス作用が認められた。レジパスビル／ソホスブビル併用による拮抗作用は認められなかった。同様の結果が GT 2~4 型レプリコン細胞でも得られた。

*In vitro* 交差耐性試験では、レジパスビルとソホスブビルとの交差耐性を認めず、ソホスブビルに対する感受性低下を示す NS5B S282T 変異レプリコンは、レジパスビルに対し十分な感受性を示した。同様に、レジパスビルに対する感受性低下を示す一連の NS5A 変異体に対し、ソホスブビルは十分な活性を示した。

#### 1.2.2 副次的薬理試験

レジパスビル／ソホスブビル併用による細胞毒性を GT 1b 型、2a 型、3a 型及び 4a 型レプリコン細胞を用いて検討した結果、いずれも明らかな細胞毒性は認められなかった。

レジパスビル及びソホスブビルは標的外分子に対して作用する可能性は低いことから、レジパスビル／ソホスブビル併用でのさらなる他の副次的薬理試験は実施しなかった。

#### 1.2.3 安全性薬理試験

レジパスビル及びソホスブビルは、いずれも中枢神経系、心血管系及び呼吸器系に対して生物

学的意義のある作用を示さなかった。両剤で重複する安全性上の問題が認められないため、中枢神経系、心血管系及び呼吸器系に対して併用による著しい影響が認められる可能性は低いと考えられる。以上の理由から、レジパスビル／ソホスブビル併用による安全性薬理試験は実施しなかった。

#### 1.2.4 薬力学的薬物相互作用試験

レジパスビル又はソホスブビルをそれぞれ他の抗 HCV 薬と併用した時、いずれも拮抗作用を示さなかった。また、レジパスビル又は GS-9851（ソホスブビル及びそのジアステレオマーGS-491241 の混合物）と抗 HIV 薬との併用により、HCV レプリコン細胞に対する作用及び HIV 感染細胞に対する作用にいずれも影響は認められなかった。以上の理由から、レジパスビル／ソホスブビル併用による薬力学的薬物相互作用試験は実施しなかった。

## 2. 効力を裏付ける試験

### 2.1 レジパスビル

#### 2.1.1 HCV レプリコン細胞株に対する *in vitro* 活性

(試験番号 PC-256-2037、添付資料番号 4.2.1.1.1、評価資料)

##### 2.1.1.1 GT 1a 型及び 1b 型レプリコン細胞に対する抗ウイルス活性

GT 1a (H77) 型及び 1b (Con-1) 型の安定的発現サブゲノムレプリコン細胞に対するレジパスビルの *in vitro* 活性を評価した。抗ウイルス活性はルシフェラーゼレポーターアッセイ法を用いて測定した。

レジパスビルは GT 1a 型及び 1b 型に対して強い阻害作用を示し、EC<sub>50</sub> 値 (平均値) はそれぞれ 0.031 及び 0.004 nmol/L であった (表 2.6.2-1)。

表 2.6.2-1 HCV GT 1a 型及び 1b 型レプリコン細胞に対するレジパスビルの抗ウイルス活性

	Genotype (replicon strain)	
	Genotype 1a (H77) <sup>a,b</sup>	Genotype 1b (Con-1) <sup>a,b</sup>
LDV EC <sub>50</sub> (nmol/L)	0.031	0.004

LDV = ledipasvir

a: Values represent the geometric mean from at least 3 independent experiments in 384-well assays.

b: Activity of LDV was determined in stable subgenomic replicon cells.

Source: Study No. PC-256-2037 Table 1

##### 2.1.1.2 GT 2~6 型レプリコン細胞に対する抗ウイルス活性

GT 2~6 型の安定的発現サブゲノムレプリコン細胞又は一過性発現キメラレプリコン細胞に対するレジパスビルの *in vitro* 活性を評価した。抗ウイルス活性はルシフェラーゼレポーターアッセイ法を用いて測定した。

レジパスビルは、GT 2~6 型に対し様々なレベルの抗ウイルス活性を示し、EC<sub>50</sub> 値 (平均値) の範囲は 0.15~530 nmol/L であった (表 2.6.2-2)。

NS5A の 31 位アミノ酸がロイシン (L31) である GT 2a (JFH-1) 型レプリコン細胞に対するレジパスビルの EC<sub>50</sub> 値は 21 nmol/L であったが、NS5A の 31 位アミノ酸がメチオニン (M31) である GT 2a (J6) 型に対しては活性が低下した (EC<sub>50</sub> 値 : 249 nmol/L)。同様に、レジパスビルは NS5A に L31 又は M31 を有する GT 2b 型レプリコン細胞に対しても異なる活性を示し、EC<sub>50</sub> 値はそれぞれ 16 及び 530 nmol/L であった。GT 4a 型、5a 型及び 6a 型に対するレジパスビルの活性は GT 1 型に対する作用より弱い、比較的強い作用を示し、EC<sub>50</sub> 値はそれぞれ 0.39、0.15 及び 1.1 nmol/L であった。GT 3a 型及び 6e 型に対するレジパスビルの活性はさらに弱かった (EC<sub>50</sub> 値 : それぞれ 168 及び 264 nmol/L)。

以上、レジパスビルは GT 1 型だけでなく、他の GT に対しても明らかな抗ウイルス活性を示

すことが明らかとなった。

表 2.6.2- 2 HCV GT 2~6 型レプリコン細胞に対するレジパスビルの抗ウイルス活性

Genotype	HCV Replicon Strain	EC <sub>50</sub> nmol/L <sup>a</sup>
2a <sup>b,c</sup>	JFH-1 (L31 in NS5A)	21
2a <sup>d,f</sup>	J6 (M31 in NS5A)	249
2b <sup>d,f</sup>	MD2b8-2 (L31 in NS5A)	16
2b <sup>d,f</sup>	MD2b-1 (M31 in NS5A)	530
3a <sup>d,e</sup>	S52	168
4a <sup>b</sup>	ED43	0.39
5a <sup>d,f</sup>	SA13	0.15
6a <sup>b</sup>	HK6a Consensus	1.1
6e <sup>d,f</sup>	D88	264

a: Values represent the geometric mean from at least 2 independent experiments.

b: Stable subgenomic replicon cell lines assayed in HTS 384-well format.

c: Transiently transfected JFH-1 (L31 in NS5A) yielded an EC<sub>50</sub> of 6.8 nmol/L.

d: Transiently transfected replicons in 1C cells assayed in either 96-well (2a, 2b and 3a) or 384-well (5a and 6e) format.

e: Subgenomic Renilla luciferase-encoding replicon.

f: NS5A chimeric replicons either encoding full-length NS5A (2a and 2b) or NS5A amino acids 9–184 (5a and 6e).

Source: Study No. PC-256-2037 Table 1

## 2.1.2 HCV 感染細胞に対する *in vitro* 活性

(試験番号 PC-281-2007、添付資料番号 4.2.1.1.2、参考資料)

(試験番号 PC-256-2014、添付資料番号 4.2.1.1.3、評価資料)

HCV GT 2a (J6/JFH-1) 型感染細胞に対するレジパスビルの抗ウイルス活性を検討した。GT 2a (J6/JFH-1) 型ウイルスに感染させた CD81-Lunet 細胞に対するレジパスビルの EC<sub>50</sub> 値は 3.2 nmol/L であった (試験番号 PC-256-2014)。

この結果は、別試験で得られた HCV GT 2a (J6/JFH-1) 型感染細胞に対する EC<sub>50</sub> 値 (8.5 nmol/L) と類似していた (試験番号 PC-281-2007)。

## 2.1.3 臨床分離株に対する *in vitro* 活性

(試験番号 PC-256-2032、添付資料番号 4.2.1.1.4、評価資料)

臨床分離株に対するレジパスビルの活性を、一過性キメラレプリコンアッセイを用いて検討した。第 II 相及び第 III 相臨床試験で未治療の慢性 HCV 患者のベースライン時に検出されたウイルス準種の NS5A 配列をコードするレプリコン細胞に対するレジパスビルの活性を評価した。ベースライン時に耐性変異のない GT 1a 型 30 例と GT 1b 型 3 例に由来するキメラレプリコン細胞を解析に用いた。

GT 1a 型及び 1b 型の臨床分離株に対するレジパスビルの平均 EC<sub>50</sub> 値はそれぞれ 0.022 及び 0.006 nmol/L であり、非臨床試験で使用した実験レプリコン細胞と同様の結果となった (表

2.6.2- 3)。また、その EC<sub>50</sub> 値の中央値はそれぞれ 0.0176 nmol/L（範囲：0.009～0.085 nmol/L、N=30）及び 0.0057 nmol/L（範囲：0.004～0.007 nmol/L、N=3）であった。

表 2.6.2- 3 臨床分離株の NS5A 配列を含むキメラレプリコン細胞に対する  
レジパスビルの抗ウイルス活性

	LDV	
	Genotype 1a (n = 30)	Genotype 1b (n = 3)
Mean EC <sub>50</sub> ± SD (nmol/L)	0.022 ± 0.014	0.006 ± 0.001
Range (Min, Max)	(0.009, 0.085)	(0.004, 0.007)
Median	0.0176	0.0057
5th Percentile EC <sub>50</sub> (nmol/L)	0.009	0.004
95th Percentile EC <sub>50</sub> (nmol/L)	0.059	0.007
Fold Change in the 95th Percentile and the 5th Percentile	65.56	1.75

LDV = ledipasvir

Source: Study No. PC-256-2032 Table 1

#### 2.1.4 *In vitro* 活性に対するヒト血清の影響

(試験番号 PC-281-2007、添付資料番号 4.2.1.1.2、参考資料)

レジパスビルの活性に対する血漿タンパク結合の影響を検討するため、10%ウシ胎児血清を含む培地に 40%ヒト血清を加え、安定的発現 GT 1a 型レプリコン細胞に対するレジパスビルの活性を評価した。

GT 1a 型レプリコン細胞に対するレジパスビルの活性は、40%ヒト血清存在下で 1/11.6 に低下した。

#### 2.1.5 *In vitro* 耐性発現試験

(試験番号 PC-256-2029、添付資料番号 4.2.1.1.5、評価資料)

(試験番号 PC-256-2016、添付資料番号 4.2.1.1.6、評価資料)

(試験番号 PC-256-2031、添付資料番号 4.2.1.1.7、評価資料)

開発中の他の NS5A 阻害薬を用いた試験で、レプリコン細胞を用いた *in vitro* 耐性発現試験及び慢性 HCV 感染患者の単剤治療期間中に NS5A 耐性変異が発現することが報告されている。

第 1b 相臨床試験でのレジパスビル単剤による 3 日間投与により、NS5A アミノ酸 28、30、31 及び 93 位に関連した同様の主な NS5A 耐性変異が複数検出された (試験番号 PC-256-2029)。レジパスビルの *in vitro* 耐性変異プロファイルを明らかにするために、GT 1a 型及び 1b 型レプリコン細胞を用いた *in vitro* 耐性発現試験を実施した。

GT 1b 型レプリコン細胞 1b-Rluc-2 をレジパスビル 0.3125、0.625 及び 1.25 nmol/L (それぞれ EC<sub>50</sub> 値の 75、150 及び 300 倍) で 3 週間処理後、耐性コロニーが得られた (試験番号

PC-256-2016)。全てのレジパスビル耐性コロニー (n=15/15) 及び残りのプールした耐性レプリコン細胞で NS5A に Y93H 変異が検出された。また Y93H に加えて、Q54H 及び P299T/Q 変異がそれぞれ 2 クローン (n=2/15) で検出された。それ以外の変異はいずれも Y93H 変異との組み合わせで 1 クローン (n=1/15) のみに検出された。

レジパスビル耐性変異の中で、薬剤耐性に関与している変異を明らかにするため、2 回以上検出された変異 (Y93H、Q54H、P299T、P299Q) を野生型レプリコン細胞 (PI-HRluc) に導入した。C446R 及び M2I 変異が検出されたのは 1 回のみであったが、両変異とも NS5A-5B 接合部に位置しており、耐性に関与している可能性が考えられるため、これらも導入した。

表 2.6.2-4 に示す一過性レプリコン複製試験結果は、Y93H 変異によりレジパスビルに対する強い耐性が生じることを示している。また、Y93H 変異は NS5A 阻害剤であるダクラタスビルに対して交差耐性を示したが、NS5B ヌクレオシド阻害剤 2'-C-Methyl-Adenosine に対しては十分な感受性を示した。一方、P299T、P299Q 及び M2I (NS5B 領域) の単一変異はレジパスビルに対する有意な耐性を示さなかった。Q54H 又は C446R を有するレプリコンは複製できなかった。

表 2.6.2-4 一過性 GT 1b 型レプリコン複製試験におけるレジパスビルの NS5A/5B 耐性変異に対する薬剤感受性

Compound	EC <sub>50</sub> (nmol/L) <sup>a</sup>	Fold Resistance <sup>a,b</sup>			
	Wild Type	Y93H	P299Q	P299T	M2I <sup>c</sup>
LDV	0.001	3310	3.6	2.2	2.0
DCV	0.003	44	2.4	1.3	1.6
2'-C-Me-A	120	1.5	1.5	1.6	1.3

LDV = ledipasvir; DCV = daclatasvir; 2'-C-Me-A = 2'-C-Methyl-Adenosine

a: Values represent the arithmetic mean of 2 or more independent experiments using 96-well assays.

b: Fold resistance is calculated as the ratio of mutant EC<sub>50</sub> to wild-type EC<sub>50</sub>.

c: M2I was a mutation identified in the N-terminus of NS5B.

Source: Study No. PC-256-2016 Table 4

GT 1b 型と同様に、GT 1a 型レプリコン細胞 GT 1a-HRlucP をレジパスビル 10、20 及び 40 nmol/L (それぞれ EC<sub>50</sub> 値の 50、100 及び 200 倍) で 3 週間処理した (試験番号 PC-256-2031)。レジパスビル耐性コロニー (20 及び 40 nmol/L 群) 又はプールした耐性レプリコン細胞 (10 nmol/L 群) で主な変異として Y93H 及び Q30E が検出された。

以上の結果から、これらの試験において GT 1a 型及び 1b 型の両レプリコン細胞で Y93H が主な変異として検出され、GT 1a 型では Q30E 変異も検出された。両アミノ酸残基は NS5A 阻害剤の単剤療法における主な耐性変異発現に関与することが示唆される。

## 2.1.6 他の抗 HCV 薬との交差耐性

### 2.1.6.1 NS5A 阻害剤

(試験番号 PC-256-2017、添付資料番号 4.2.1.1.8、評価資料)

(試験番号 PC-281-2023、添付資料番号 4.2.1.1.9、参考資料)

(試験番号 PC-337-2005、添付資料番号 5.3.5.3.4、評価資料)

レジパスビル耐性に関連する NS5A アミノ酸変異は、HCV サブゲノムレプリコン細胞を用いたレジパスビル及び他の NS5A 阻害剤の *in vitro* 耐性発現試験、並びにレジパスビルを投与した被験者で検出されている。これらの変異に加えて、同じアミノ酸位における他の変異を評価するため、GT 1a 型 (試験番号 PC-281-2023 及び PC-337-2005) 又は GT 1b 型 (試験番号 PC-256-2017 及び PC-337-2005) の変異レプリコン細胞に対するレジパスビルの抗ウイルス活性を検討した。

GT 1a 型では、NS5A アミノ酸 24、28、30、31、32、38、58、92 及び 93 位の変異全てがレジパスビル耐性 (EC<sub>50</sub> 値が 2.5 倍以上) を示した。M28A/G、Q30E/G/H/K/R、L31I/M/V、P32L 及び Y93C/H/N/S 変異では、いずれも野生型 GT 1a 型レプリコン細胞と比較して EC<sub>50</sub> 値が 100 倍を超えた。

GT 1b 型では、NS5A アミノ酸 31、32、58、92、93 位の変異がレジパスビルに対する感受性の低下を示し (EC<sub>50</sub> 値が 2.5 倍以上)、P58D、A92K 及び Y93H 変異では野生型 GT 1b 型レプリコン細胞と比較して EC<sub>50</sub> 値が 100 倍を超えた。これらの変異をレジパスビルに対する薬剤耐性のレベルごと (GT 1a 型又は 1b 型の野生型と比較した際の EC<sub>50</sub> 値の増加倍率) に表 2.6.2-5 に示す。

表 2.6.2-5 レジパスビルに対する薬剤耐性と GT 1a 型及び 1b 型 NS5A 関連耐性変異

Fold Resistance to LDV <sup>a</sup>	Genotype 1a NS5A RAVs	Genotype 1b NS5A RAVs
2.5–10.0 Fold	K24R, Q30L, Q30T	L31M, P32L
10.0–50.0 Fold	K24G, K24N, A92T, Y93F	L31I, L31V
50.0–100 Fold	M28T, S38F	None
100–1000 Fold	Q30H, Q30G, Q30R, L31I, L31M, L31V, P32L	P58D
> 1000 Fold	M28A, M28G, Q30E, Q30K, H58D, Y93C, Y93H, Y93N, Y93S	A92K, Y93H

LDV = ledipasvir

a: Fold resistance compared to the subtype-specific replicon wild-type control

RAV: Resistance-Associated Variant

Source: Study No. PC-337-2005 Table 4 and 5

### 2.1.6.2 NS3 プロテアーゼ阻害剤、NS5B ポリメラーゼ阻害剤

(試験番号 PC-256-2017、添付資料番号 4.2.1.1.8、評価資料)

(試験番号 PC-256-2033、添付資料番号 4.2.1.1.10、評価資料)

(試験番号 PC-334-2010、添付資料番号 4.2.1.1.11、評価資料)

(試験番号 PC-334-2006、添付資料番号 4.2.1.1.12、評価資料)

GT 1a 型及び 1b 型レプリコン細胞において一連の NS3 及び NS5B 変異体に対するレジパスビルの活性を評価した。

GT 1a 型で 17 個及び GT 1b 型で 23 個の NS3 PI 関連耐性変異を検討した（試験番号 PC-256-2033）（表 2.6.2- 6）。検討した全ての NS3 PI 関連耐性変異に対してレジパスビルは十分な活性を保持していた（野生型と比較して変異型での EC<sub>50</sub> 値は 2 倍未満）。野生型及び変異型に対する NS3 PI の EC<sub>50</sub> 値は予想通りであった。

同様に、GT 1a 型で 10 個及び 1b 型で 14 個の NS5B ポリメラーゼ阻害剤関連耐性変異を検討した（試験番号 PC-256-2017 及び PC-256-2033）（表 2.6.2- 6）。また、報告されている二重変異 Y448H/Y452H 及び三重変異 C316Y/C445F/Y452H も検討に含めた。いずれの変異に対してもレジパスビルは十分な活性を保持していた。

NS5B ヌクレオシド阻害剤関連耐性変異 S282T（ソホスブビルに対する主な耐性変異）[6] に対するレジパスビルの活性を評価するため、GT 1a 型、1b 型、2a 型、3a 型及び 4a 型サブゲノムレプリコン細胞並びに GT 2b 型、5a 型、又は 6a 型由来の NS5B 配列をコードする GT 1b 型キメラレプリコン細胞に S282T 変異を導入した（試験番号 PC-334-2006 及び PC-334-2010）。

S282T 変異を含むレプリコン細胞はソホスブビルに対する感受性が低下し、野生型と比較して EC<sub>50</sub> 値が 2.4～18.1 倍増加した。一方、レジパスビルは S282T 変異型に対して野生型と同様の感受性を示したことから、S282T 変異はレジパスビルに対する感受性を変化させないことが示された。

以上の結果より、ソホスブビルの主な耐性変異 S282T を含め、報告されている NS3 PI 及び NS5B（ヌクレオシド及び非ヌクレオシド）阻害剤関連耐性変異は、いずれもレジパスビルに交差耐性を示さなかった。

表 2.6.2- 6 レジパスビルに対する交差耐性を検討した NS3 及び NS5B 関連耐性変異

HCV Target Gene	HCV Genotype	RAVs Tested
NS3	1a	Q80K, R155G, R155I, R155K, R155M, R155S, R155T, R155W, A156T, D168A, D168E, D168G, D168H, D168N, D168V, D168Y, I170T,
	1b	V36A, V36M, T54A, T54S, R155C, R155G, R155K, R155L, R155Q, R155W, A156D, A156G, A156S, A156T, A156V, D168A, D168E, D168G, D168H, D168N, D168T, D168V, D168Y,
NS5B	1a	S282T, L419M, L419S, R422K, M423I, M423T, M423V, I482L, A486V, V494A
	1b	S282T, M414T, L419M, L419S, R422K, M423I, M423T, M423V, Y448H, I482L, A486T, A486V, A486I, V494A, Y448H/Y452H, C316Y/C445F/Y452H

RAV: Resistance-Associated Variant

Source: Study No. PC-256-2017 Table 2 and PC-256-2033 Table 1-4

## 2.2 レジパスビル／ソホスブビル

### 2.2.1 レプリコン細胞株に対する *in vitro* 活性

(試験番号 PC-334-2004、添付資料番号 4.2.1.1.13、評価資料)

(試験番号 PC-334-2014、添付資料番号 4.2.1.1.14、評価資料)

レジパスビル／ソホスブビル併用による GT 1a 型 (試験番号 PC-334-2004) 及び 1b 型 (試験番号 PC-334-2014) レプリコン細胞に対する抗ウイルス作用を検討した。

解析には、薬物相互作用を定量化する MacSynergy II [7] を使用した。ソホスブビルとレジパスビルの併用効果は、相加作用との差異から算出した相乗及び拮抗作用量  $[(\mu\text{mol/L})^2\%]$  として次のように定義した；

- ・ 強い相乗作用： $>100 (\mu\text{mol/L})^2\%$
- ・ 中程度の相乗作用： $> 50 \sim \leq 100 (\mu\text{mol/L})^2\%$
- ・ 弱い相乗作用： $> 25 \sim \leq 50 (\mu\text{mol/L})^2\%$
- ・ 相加作用： $\leq 25 \sim > -25 (\mu\text{mol/L})^2\%$
- ・ 弱い拮抗作用： $\leq -25 \sim > -50 (\mu\text{mol/L})^2\%$
- ・ 中程度の拮抗作用： $\leq -50 \sim > -100 (\mu\text{mol/L})^2\%$
- ・ 強い拮抗作用： $\leq -100 (\mu\text{mol/L})^2\%$

いずれの GT でも相加的な抗ウイルス作用が認められた (表 2.6.2- 7)。レジパスビル／ソホスブビル併用による拮抗的な作用は認められなかった。レジパスビル又はレジパスビル／ソホスブビル併用による明らかな *in vitro* 細胞毒性は認められなかった。また、同様の結果が GT 2～4 型レプリコン細胞でも得られた (試験番号 PC-334-2014)。

表 2.6.2- 7 GT 1a 型及び 1b 型レプリコン細胞でのレジパスビル／ソホスブビル併用による相互作用

Replicon Subtype	Synergy Volume $[(\mu\text{mol/L})^2\%]^a$	Antagonism Volume $[(\mu\text{mol/L})^2\%]^a$	Interaction
Genotype 1a	$3.3 \pm 4.2$	$-7.7 \pm 13.3$	Additive
Genotype 1b	$9.25 \pm 6.02$	$-2.90 \pm 3.29$	Additive

a: Values represent the mean  $\pm$  SD of 3 independent experiments performed in 4 replicates.  
Source: Study No. PC-334-2004 Table 2 and Study No. PC-334-2014 Table 1

### 3. 副次的薬理試験

#### 3.1 レジパスビル

##### 3.1.1 HCV 以外のウイルスに対する活性

(試験番号 PC-256-2018、添付資料番号 4.2.1.2.1、評価資料)

(試験番号 PC-256-2036、添付資料番号 4.2.1.2.2、評価資料)

HCV 以外のウイルス [BVDV、RSV、HBV、HIV-1、HRV、インフルエンザ A 及び B 並びに一連のフラビウイルス (ウエストナイルウイルス、黄熱ウイルス、2 型 Dengue ウイルス及びバンジウイルス)] に対するレジパスビルの抗ウイルス活性を細胞ベースアッセイで検討した。

レジパスビルは HCV に対する強力な抗ウイルス活性とは対照的に、BVDV に対する選択的抗ウイルス活性はなく (EC<sub>50</sub> 値 : 19.3 µmol/L)、また他のウイルスに対しては検討した最高濃度又は細胞毒性を示さない最高濃度において抗ウイルス活性を示さなかった (表 2.6.2- 8)。

表 2.6.2- 8 HCV 以外のウイルスに対するレジパスビルの抗ウイルス活性

Virus	LDV EC <sub>50</sub> <sup>a</sup> (µmol/L)
HRV <sup>b</sup>	> 50
Influenza A PC/1/73	> 100
Influenza B LEE/40	> 100
West Nile virus Kern 2002	> 100
Yellow Fever virus 17D	> 100
Dengue type 2	> 41
Banji virus	> 100
BVDV	19.3
RSV	> 10
HBV	> 10
HIV-1	> 2.8

HRV = human rhinovirus; BVDV = bovine viral diarrhea virus; RSV = respiratory syncytial virus; HBV = hepatitis B virus; HIV-1 = human immunodeficiency virus type 1, LDV: ledipasvir

a: All values based on 2 or more independent experiments.

b: Infectious mixture of HRV1A, HRV16, and HRV14

Top concentration tested 10 µmol/L for HBV, 40 µmol/L for RSV, 50 µmol/L for HRV and BVDV, and 100 µmol/L for all other viruses tested

Source: Study No. PC-256-2018 Table 1 and Study No. PC-256-2036 Table 1

##### 3.1.2 *In vitro* 細胞毒性

(試験番号 PC-256-2013、添付資料番号 4.2.1.2.3、評価資料)

(試験番号 PC-256-2018、添付資料番号 4.2.1.2.1、評価資料)

レジパスビルの細胞毒性をレプリコン細胞 (1b-Rluc-2、Huh-luc、1a-HRlucP、SL-3) 及び HepG2 など複数の細胞株を用いて検討した。各細胞はレジパスビルで 3 日間又は 7 日間処理した。

GT 1b-Rluc-2 及び 1a-HRlucP レプリコン細胞を用いた 3 日間処理でのレジパスビルの抗ウイルス活性の EC<sub>50</sub> 値はそれぞれ 0.004 及び 0.053 nmol/L、細胞毒性は最高濃度でも認められず (CC<sub>50</sub> > 44,400 nmol/L)、レジパスビルは高い選択性 [選択指数 (CC<sub>50</sub>/EC<sub>50</sub>) >837,000 倍] を有することが示された。また、いずれの細胞に対してもレジパスビルの細胞毒性は弱く、レジパスビル 3 日間及び 7 日間処理後の CC<sub>50</sub> 値は、それぞれ 5.91~50 µmol/L 超 (表 2.6.2- 9) 及び 4.03~27.96 µmol/L (表 2.6.2- 10) であった (試験番号 PC-256-2013)。

レジパスビル 5 日間処理後の MT-4 細胞に対する CC<sub>50</sub> 値は 2.79 µmol/L であった (試験番号 PC-256-2018)。

表 2.6.2- 9 各種細胞株におけるレジパスビル 3 日間処理後の細胞毒性

Compound	CC <sub>50</sub> (µmol/L) <sup>a</sup>				
	1b-Rluc-2	Huh-luc	1a-HRlucP	HepG2	SL-3
LDV	36.65	> 50.00	16.17	5.91	> 50.00

LDV = ledipasvir

a: Values represent the arithmetic mean of 2 or more independent experiments, and were generated using 96-well assays.

Source: Study No. PC-256-2013 Table 5

表 2.6.2- 10 各種細胞株におけるレジパスビル 7 日間処理後の細胞毒性

Compound	CC <sub>50</sub> (µmol/L) <sup>a</sup>			
	1b-Rluc-2	Huh-luc	1a-RlucP	HepG2
LDV	19.75	27.96	6.31	4.03

LDV = ledipasvir

a: Values represent the arithmetic mean of 2 or more independent experiments, and were generated using 96-well assays.

Source: Study No. PC-256-2013 Table 6

### 3.1.3 *In vitro* 受容体結合試験

(試験番号 PC-256-2020、添付資料番号 4.2.1.2.4、評価資料)

68 種の哺乳類イオンチャネル及び受容体に対するレジパスビルの結合能を、放射性リガンドを用いた受容体結合試験にて評価した。

レジパスビルは 10 µmol/L で、3 つのイオンチャネル及び 1 つの受容体に対して強い結合能を示した (表 2.6.2- 11)。レジパスビルの強力な抗ウイルス活性、高いタンパク結合率 (99.9%以上、2.6.4.4.1.2 項) 及び臨床曝露量での非結合型の最高血漿中濃度 (C<sub>max</sub>) が低いこと [臨床曝露量 C<sub>max</sub> = 0.364 µg/mL = 0.41 µmol/L (2.7.2.3.4.8 項)、タンパク非結合型 C<sub>max</sub> = 1 nmol/L 未満] から、レジパスビルの抗ウイルス活性を示す濃度と受容体阻害作用を示す濃度に大きな開きがあることを考慮すると、これらのイオンチャネル及び受容体に対するレジパスビルの結合能の臨床上的意義は低いと考えられる。

表 2.6.2- 11 レジパスビルの各種イオンチャネル／受容体に対する結合能

Channel or Receptor	IC <sub>50</sub> or % Inhibition at 10 μmol/L
Sodium channel, site 2	0.21 μmol/L
Calcium channel, L-type dihydropyridine	3.47 μmol/L
Calcium channel, L-type benzothiazepine	50%
Androgen receptor	50%

Source: Study No. PC-256-2020

### 3.1.4 HCV NS3 プロテアーゼ、NS3 ヘリカーゼ、NS5B ポリメラーゼ、HCV IRES 及び一連のキナーゼに対する活性

(試験番号 PC-256-2019、添付資料番号 4.2.1.2.5、評価資料)

(試験番号 PC-256-2011、添付資料番号 4.2.1.2.6、評価資料)

遺伝子組換えにより作製した HCV 関連酵素及び HCV IRES に対するレジパスビルの阻害作用を生化学アッセイにより評価した (試験番号 PC-256-2019)。

レジパスビルは、NS3/4A プロテアーゼ、NS3 ヘリカーゼ、NS5B ポリメラーゼ及び HCV IRES 活性に対して明らかな阻害作用を示さなかった。一方、各対照化合物はこれまでの報告と一致した濃度での阻害作用を示した。以上、レジパスビルは NS3 及び NS5B タンパク質並びに HCV IRES には作用せず、NS5A を介した作用機序により HCV を阻害するという仮説と一致した結果が得られた。

NS5A のリン酸化状態が HCV 複製に強い影響を及ぼすことが報告されていることから [8]、一連のキナーゼに対するレジパスビルの作用を定量的ポリメラーゼ連鎖反応法を用いた競合結合アッセイにより評価した (試験番号 PC-256-2011)。

レジパスビルは、Bruton's チロシンキナーゼ及びホメオドメイン相互作用プロテインキナーゼ-1 にそれぞれ 0.1 及び 1 μmol/L で競合的に結合した。いずれのキナーゼも NS5A リン酸化には関与しないことから、レジパスビルがキナーゼを阻害することによって NS5A 阻害作用を示す可能性は低いと考えられる。

## 3.2 レジパスビル／ソホスブビル

### 3.2.1 *In vitro* 細胞毒性

(試験番号 PC-334-2014、添付資料番号 4.2.1.1.14、評価資料)

レジパスビル／ソホスブビル併用による細胞毒性を GT 1b 型、2a 型、3a 型及び 4a 型レプリコン細胞を用いて検討した。ソホスブビル (320 nmol/L) にレジパスビル (0.014~1760 nmol/L) を併用した際の生存細胞数を測定し、細胞毒性を評価した結果、いずれの配合濃度でも生存細胞数に著しい影響は認められなかった。

## 4. 安全性薬理試験

### 4.1 レジパスビル

中枢神経系、心血管系及び呼吸器系に対するレジパスビルの影響を、安全性薬理コアバッテリー試験で評価した。hERG カリウムチャンネル電流に対する作用を、ヒト胎児腎臓 (HEK) -293 細胞を用いた *in vitro* 試験で評価した。中枢神経系及び呼吸器系に対する作用はラットを用いて、また心血管系に対する作用はイヌを用いて評価した。ラット及びイヌを用いたレジパスビル反復投与毒性試験で性差が認められなかったため、一連の安全性薬理試験では雄動物のみを使用した。ヒトへの予定投与経路を考慮し、投与経路は全て経口投与とした。

全ての安全性薬理試験は、GLP に準拠し、ICH S7A (安全性薬理試験ガイドライン) に従って実施した。

#### 4.1.1 中枢神経系

(試験番号 PC-256-2007、添付資料番号 4.2.1.3.1、評価資料)

レジパスビルのラットにおける中枢神経系に対する作用を、Irwin 法を用いた行動観察により評価した。雄 Sprague-Dawley ラット (試験開始時 7~8 週齢、6 匹/群) に、溶媒 [45%プロピレングリコール (PG) /15% Solutol® HS-15/40%逆浸透 (RO) 水 (pH2.5)] 又はレジパスビル 10、30 及び 100 mg/kg を投与容量 5 mL/kg で単回経口投与した。投与前並びに投与約 1、2、4、6 及び 24 時間後に行動観察を実施した。また、動物は 1 日 2 回一般症状 (死亡、行動異常及び苦痛の徴候) を観察した。

いずれの用量でも中枢神経系に関する一般症状及び行動に投与 24 時間後まで影響はなく、無影響量 (NOEL) は最高用量である 100 mg/kg であった。

#### 4.1.2 心血管系

##### 4.1.2.1 *In vitro* 試験

(試験番号 PC-256-2008、添付資料番号 4.2.1.3.2、評価資料)

hERG を発現させた HEK-293 細胞を用いて、カリウムチャンネル電流に対するレジパスビルの作用をホールセルパッチクランプ法で評価した。レジパスビルの溶媒 [0.3% DriSolv®ジメチルスルホキシド (DMSO) 添加 HEPES 緩衝生理食塩水] への溶解度を考慮し、最高濃度を 0.6 µmol/L とした。しかし、試料分析において 0.3 及び 0.6 µmol/L に設定した試料濃度の実測値が±10%以内に収まらず (それぞれ設定濃度の 82.9%及び 84.1%)、許容基準を満たさなかったため、実測濃度 (0.25 及び 0.50 µmol/L) での結果を示す。

レジパスビルは 0.25 及び 0.50 µmol/L の濃度で hERG カリウムチャンネル電流をそれぞれ 0.3±0.2% (平均値±標準誤差、n=3) 及び 0.8±0.2% (n=3) 阻害したが、溶媒対照 (0.5±0.2%、n=3)

と比較して有意差はなかった ( $P < 0.05$ )。レジパスビルの溶媒への溶解度が低いため  $IC_{50}$  値は算出できなかったが、 $0.50 \mu\text{mol/L}$  を超えることが推定される。

#### 4.1.2.2 *In vivo* 試験

(試験番号 PC-256-2005、添付資料番号 4.2.1.3.3、評価資料)

覚醒ビーグル犬を用いてレジパスビルの心血管系に対する作用をテレメトリー法により評価した。覚醒雄ビーグル犬 4 匹 (試験開始時 1~2 ヶ年齢) に溶媒 [45% PG/15% Solutol® HS-15/40% RO 水 (pH2.5)] 又はレジパスビル 3、10 及び 30 mg/kg を、投与容量 2.0 mL/kg で経口投与した。試験には投与間隔を 3 日間としたラテン方格配置によるクロスオーバー法を用いた。ECG パラメーター [PR 間隔、QRS 幅、QT 及び QTc 間隔 (Fridericia 補正法を使用)] 並びに血行動態 (心拍数、収縮期血圧、拡張期血圧、平均動脈圧、平均脈圧、変力作用及び左室拡張終期圧) を投与 1.5 時間前から投与 25 時間後まで測定した。また、一般毒性 (死亡、一般状態及び腹腔内体温) も評価した。各投与日の投与 4.5~5 時間後に全動物から採血した。

レジパスビル単回経口投与は、いずれの用量でも心血管系パラメーターに投与 25 時間後まで影響を及ぼさず、NOEL は最高用量である 30 mg/kg であった。

#### 4.1.3 呼吸器系

(試験番号 PC-256-2006、添付資料番号 4.2.1.3.4、評価資料)

ラットを用いてレジパスビルの呼吸器系への作用をヘッドアウト式プレチスモグラフィーにより評価した。雄 Sprague-Dawley ラット (試験開始時 13 週齢、8 匹/群) に、溶媒 [45% PG/15% Solutol® HS-15/40% RO 水 (pH2.5)] 又はレジパスビル 10、30 及び 100 mg/kg を、投与容量 5.0 mL/kg で単回経口投与した。呼吸器系パラメーター (1 回換気量、呼吸数及び分時換気量) は、投与 6 時間後まで継続的に、また投与約 24 時間後に 30 分間平均値として測定した。また、一般症状 (死亡及び一般状態) も観察した。

レジパスビル投与に関連する死亡又は一般状態の変化は認められなかった。レジパスビル 10 mg/kg 群の 1 例が投与約 6 時間後に死亡したが、レジパスビル投与に起因するものではないと考えられた。レジパスビル単回経口投与は、いずれの用量でも呼吸器系パラメーターに投与 24 時間後まで影響を及ぼさず、NOEL は最高用量である 100 mg/kg であった。

## 4.2 レジパスビル/ソホスブビル

レジパスビル (4.1 項) 及びソホスブビルの試験では、いずれも中枢神経系、心血管系及び呼吸器系に対して生物学的に意義ある作用を示さなかった。両剤で重複する安全性上の問題が認められないため、これらの器官系に対して併用による著しい影響が認められる可能性は低いと考えられる。以上の理由から、レジパスビル/ソホスブビル併用による追加の安全性薬理試験は実施しなかった。

## 5. 薬力学的薬物相互作用試験

### 5.1 レジパスビル

#### 5.1.1 他の抗 HCV 薬との併用効果

(試験番号 PC-334-2004、添付資料番号 4.2.1.1.13、評価資料)

(試験番号 PC-256-2015、添付資料番号 4.2.1.4.1、評価資料)

(試験番号 PC-256-2035、添付資料番号 4.2.1.4.2、評価資料)

レジパスビルと他の抗 HCV 薬を併用した際の抗ウイルス活性を検討した。解析には、薬物相互作用を定量化する MacSynergy II [7] を使用した (2.2.1 項)。

レジパスビルをソホスブビルと併用した時、相加的な抗ウイルス作用が示された (試験番号 PC-334-2004)。レジパスビルを IFN- $\alpha$  又は RBV と併用した時、それぞれ弱い又は中等度の相乗的な抗ウイルス作用が認められた (試験番号 PC-256-2015)。また、レジパスビルを NS3 PI (boceprevir、シメプレビル及びテラプレビル) 又は NS5A 阻害剤ダクラタスビルと併用した時、相加的な抗ウイルス作用が認められた (試験番号 PC-256-2035)。レジパスビルと併用した薬剤との間にはいずれも有意な拮抗作用は認められなかった。結果を表 2.6.2- 12 に示す。また、レジパスビル又はこれらの化合物と併用した時、明らかな細胞毒性は認められなかった。

表 2.6.2- 12 レジパスビルと他の抗 HCV 薬の相互作用

Compound Used in Combination with LDV	Class	Synergy Volume [( $\mu\text{mol/L}$ ) <sup>2</sup> %]	Antagonism Volume [( $\mu\text{mol/L}$ ) <sup>2</sup> %]	Interaction
SOF	NS5B NI	3.3 $\pm$ 4.2	-7.7 $\pm$ 13.3	Additive
IFN- $\alpha$	Immune Modulator	32 $\pm$ 1.4	0.0 $\pm$ 0.0	Minor Synergy
RBV	Nucleoside Analog	61 $\pm$ 0.5	-0.5 $\pm$ 0.1	Moderate Synergy
Boceprevir	NS3 Protease Inhibitor	2.3 $\pm$ 2.3	-19.6 $\pm$ 5.4	Additive
Simeprevir	NS3 Protease Inhibitor	3.7 $\pm$ 3.8	-11.5 $\pm$ 10.2	Additive
Telaprevir	NS3 Protease Inhibitor	0.7 $\pm$ 1.2	-7.9 $\pm$ 12.9	Additive
Daclatasvir	NS5A Inhibitor	4.3 $\pm$ 6.7	-11.5 $\pm$ 5.1	Additive

LDV = ledipasvir; SOF = sofosbuvir; IFN = interferon; RBV = ribavirin

Source: Study No. PC-334-2004 Table 2, Study No. PC-256-2015 Table 2 and Study No. PC-256-2035 Table 1

#### 5.1.2 抗 HIV 薬との併用効果

(試験番号 PC-256-2034、添付資料番号 4.2.1.4.3、評価資料)

レジパスビルの抗ウイルス活性に対する抗 HIV 薬の影響を検討した。各濃度のエファビレンツ (EFV)、エルビテグラビル (EVG)、テノホビル (TFV)、ダルナビル (DRV)、エムトリシタビン (FTC)、アタザナビル (ATV)、リルピビリン (RPV) 及びラルテグラビル (RAL) 存在下、GT 1a 型レプリコン細胞を段階希釈したレジパスビルで処理した。抗 HIV 薬の濃度は、患者の血

中濃度と同等又はそれ以上である 0.15~15 µmol/L とした。

レジパスビルの EC<sub>50</sub> 値は、いずれの濃度の抗 HIV 薬の存在下でも同程度であったことから (表 2.6.2- 13)、検討した抗 HIV 薬はレジパスビルの抗ウイルス作用に対して拮抗しないことが示唆された。

表 2.6.2- 13 GT 1a 型レプリコン細胞でのレジパスビルの活性に対する抗 HIV 薬の影響

HIV Inhibitor Concentration	LDV EC <sub>50</sub> (nmol/L)							
	EFV	EVG	TFV	DRV	FTC	ATV	RPV	RAL
15 µmol/L	0.055 ± 0.029	0.046 ± 0.007	0.035 ± 0.002	0.085 ± 0.029	0.019 ± 0.002	0.007 ± 0.0004	0.009 ± 0.003	0.014 ± 0.005
1.5 µmol/L	0.030 ± 0.008	0.04 ± 0.007	0.03 ± 0.007	0.046 ± 0.022	0.024 ± 0.007	0.015 ± 0.003	0.01 ± 0.001	0.019 ± 0.002
0.15 µmol/L	0.032 ± 0.011	0.046 ± 0.018	0.029 ± 0.005	0.04 ± 0.013	0.02 ± 0.005	0.017 ± 0.001	0.015 ± 0.001	0.017 ± 0.003
0 µmol/L	0.038 ± 0.013	0.09 ± 0.014	0.031 ± 0.007	0.04 ± 0.011	0.015 ± 0.002	0.017 ± 0.003	0.014 ± 0.004	0.018 ± 0.002

LDV = ledipasvir; EFV = efavirenz; EVG = elvitegravir; TFV = tenofovir; DRV = darunavir; FTC = emtricitabine; ATV = atazanavir; RPV = rilpivirine; RAL = raltegravir

Data represent the mean ± SD of at least 3 independent experiments.

Source: Study No. PC-256-2034 Table 1

次に、抗 HIV 薬の抗 HIV 作用に対するレジパスビルの影響を検討するため、各濃度のレジパスビル存在下、HIV 感染 MT-4 細胞を段階希釈した EFV、EVG、TFV、DRV、FTC、ATV、RPV 及び RAL で処理した。レジパスビルの濃度は、GT 1a 型レプリコン細胞での EC<sub>50</sub> 値の 1、5 及び 20 倍とした。

抗 HIV 薬の EC<sub>50</sub> 値は、いずれもレジパスビルの存在下で同程度であったことから (表 2.6.2- 14)、レジパスビルは抗 HIV 薬の抗 HIV 作用に対して拮抗しないことが示唆された。

表 2.6.2- 14 MT-4 細胞での抗 HIV 薬の活性に対するレジパスビルの影響

LDV (EC <sub>50</sub> )	EC <sub>50</sub> (nmol/L)							
	EFV	EVG	TFV	DRV	FTC	ATV	RPV	RAL
20×	1.97 ± 0.05	3.27 ± 0.37	8137 ± 1142	7.35 ± 0.12	1262.9 ± 200.6	9.90 ± 0.82	0.13 ± 0.003	10.79 ± 0.69
5×	2.02 ± 0.16	3.42 ± 0.13	9819 ± 1490	6.79 ± 0.56	1173.9 ± 107.0	9.57 ± 0.47	0.14 ± 0.02	8.88 ± 1.38
1×	1.92 ± 0.12	3.11 ± 0.07	10220 ± 636	7.32 ± 0.28	1186.6 ± 169.2	10.30 ± 0.40	0.12 ± 0.007	9.45 ± 1.30
None	1.21 ± 0.15	1.70 ± 0.15	7246 ± 292	6.31 ± 0.23	614.7 ± 189.6	8.18 ± 0.16	0.07 ± 0.012	7.26 ± 1.88

LDV = ledipasvir; EFV = efavirenz; EVG = elvitegravir; TFV = tenofovir; DRV = darunavir; FTC = emtricitabine; ATV = atazanavir; RPV = rilpivirine; RAL = raltegravir

Data represent mean ± SD.

Source: Study No. PC-256-2034 Table 4

## 5.2 レジパスビル／ソホスブビル

### 5.2.1 他の抗 HCV 薬との効果

レジパスビル（5.1.1 項）又はソホスブビルを他の抗 HCV 薬と併用した時、拮抗作用を示さなかったため、レジパスビル／ソホスブビル併用の追加試験は実施しなかった。

### 5.2.2 抗 HIV 薬との効果

レジパスビル（5.1.2 項）又は GS-9851（ソホスブビル及びそのジアステレオマーGS-491241 の混合物）と抗 HIV 薬との併用により、HCV レプリコン細胞に対する作用及び HIV 感染細胞に対する作用にいずれも影響が認められなかったことから、レジパスビル／ソホスブビル併用の追加試験は実施しなかった。

## 6. 考察及び結論

### 6.1 レジパスビル

レジパスビルは GT 1a 型及び 1b 型レプリコン細胞に対して強い抗ウイルス活性を示し、その EC<sub>50</sub> 値の平均値はそれぞれ 0.031 及び 0.004 nmol/L であった。また、GT 1a 型及び 1b 型の臨床分離株から得た NS5A 含有キメラレプリコン細胞に対するレジパスビルの EC<sub>50</sub> 値の中央値はそれぞれ 0.018 及び 0.006 nmol/L であり、非臨床試験で使用した実験レプリコン細胞と同様の活性を示した。また、レジパスビルは GT 2~6 型レプリコン細胞に対しても抗ウイルス活性を示し、その EC<sub>50</sub> 値は 0.15~530 nmol/L であった。HCV GT 2a (J6/JFH-1) 型感染細胞に対するレジパスビルの EC<sub>50</sub> 値は 3.2~8.5 nmol/L であった。

GT 1a 型及び 1b 型のレプリコン細胞を用いたレジパスビルの *in vitro* 耐性発現試験において、主な変異として Y93H が検出され、レジパスビルに対する強い耐性を示した。GT 1a 型では Q30E 変異も検出された。一方、ソホスブビルの NS5B S282T 変異を含め、検討した NS3 PI 並びに NS5B ヌクレオシド及び非ヌクレオシド阻害剤関連耐性変異は、いずれもレジパスビルに対して交差耐性を示さなかった。

薬力学的薬物相互作用試験では、レジパスビルをソホスブビルと併用した時、相加的な抗ウイルス作用が示された。レジパスビルを IFN- $\alpha$  又は RBV と併用した時、それぞれ弱い又は中等度の相乗的な抗ウイルス作用が認められた。また、レジパスビルを NS3 PI (boceprevir、シメプレビル及びテラプレビル) 又は NS5A 阻害剤ダクラタスビルと併用した時、相加的な抗ウイルス作用が認められた。レジパスビルと併用した薬剤との間にはいずれも有意な拮抗作用は認められなかった。また、代表的な抗 HIV 薬の併用はレジパスビルの活性を変化させず、レジパスビルも抗 HIV 薬の活性に対して拮抗作用を示さなかった。以上の交差耐性及び薬力学的薬物相互作用試験の結果は、HCV の治療に対するレジパスビルと他の抗 HCV 薬との併用療法、及び HCV/HIV 重複感染患者に対するレジパスビルの使用を支持するものである。

HCV 以外のウイルス (BVDV、RSV、HBV、HIV-1、HRV、インフルエンザ A 及び B 並びに一連のフラビウイルス) に対して、レジパスビルは薬理学的作用濃度において抗ウイルス活性を示さなかった。レプリコン細胞、HepG2 及び MT-4 など複数の主要細胞株に対するレジパスビルの細胞毒性は弱く (CC<sub>50</sub> : 2.79  $\mu$ mol/L~50  $\mu$ mol/L 超)、レジパスビルのレプリコン細胞系での選択指数 (CC<sub>50</sub>/EC<sub>50</sub>) は 837,000 倍超で、高い選択性を示した。68 種の哺乳類イオンチャネル及び受容体に対するレジパスビルの結合能を評価した結果、レジパスビルは 10  $\mu$ mol/L で 3 つのイオンチャネル及び 1 つの受容体に対して強い結合能を示した。しかし、レジパスビルの抗ウイルス活性濃度と受容体阻害濃度に大きな開きがあることを考慮すると、これらのイオンチャネル及び受容体に対するレジパスビルの結合能の臨床上的意義は低いと考えられた。レジパスビルは NS3/4A プロテアーゼ、NS3 ヘリカーゼ、NS5B ポリメラーゼ及び HCV IRES 活性に対して明らかな阻害作用を示さなかった。また、一連のキナーゼに対するレジパスビルの作用を検討した結果、レジパスビルがキナーゼを阻害することによって NS5A 阻害作用を示す可能性は低いと考えられた。

ラットを用いてレジパスビルの中枢神経系及び呼吸器系に対する作用を評価した結果、いずれも最高用量である 100 mg/kg まで影響は認められなかった。hERG カリウムチャンネル電流に対して、レジパスビル (0.25 及び 0.50  $\mu\text{mol/L}$ ) は溶媒対照と比較して有意な阻害作用を示さなかった。レジパスビルの溶媒への溶解度が低いため  $\text{IC}_{50}$  値は算出できなかったが、0.50  $\mu\text{mol/L}$  を超えると推定された。覚醒ビーグル犬にレジパスビルを単回経口投与し、テレメトリー法により心血管系に対する作用を評価した結果、最高用量である 30 mg/kg まで血行動態及び ECG パラメーターに影響は認められなかった。

以上、一連のレジパスビルを用いた薬力学的及び安全性薬理試験結果は、HCV 治療におけるレジパスビルの使用を支持するものである。

## 6.2 レジパスビル／ソホスブビル

NS5A を標的とするレジパスビル及び NS5B を標的とするソホスブビルは、いずれも HCV GT 1a 型及び 1b 型レプリコン細胞に対して強力な抗ウイルス活性を示した。また、*in vitro* においてレジパスビル／ソホスブビル併用により相加的な抗ウイルス活性が認められ、併用による拮抗作用や細胞毒性は認められなかった。*In vitro* 耐性発現試験において、ソホスブビル及びレジパスビルに交差耐性は認められなかった。

レジパスビル及びソホスブビルは、いずれも標的外分子に対して作用する可能性は低いことから、レジパスビル／ソホスブビル併用での追加の副次的薬理試験は実施しなかった。また、レジパスビル及びソホスブビルは、いずれも中枢神経系、心血管系及び呼吸器系に対して生物学的に意義のある作用を示さなかったことから、レジパスビル／ソホスブビル併用による追加の安全性薬理試験は実施しなかった。

薬力学的薬物相互作用試験において、レジパスビル又はソホスブビルをそれぞれ他の抗 HCV 薬と併用した時、いずれも拮抗作用を示さなかった。また、レジパスビル又は GS-9851 (ソホスブビル及びそのジアステレオマーGS-491241 の混合物) と抗 HIV 薬との併用により、HCV レプリコン細胞及び HIV 感染細胞に対する作用にいずれも影響は認められなかった。以上の理由から、レジパスビル／ソホスブビル併用による追加の薬力学的薬物相互作用試験は実施しなかった。

以上、レジパスビル／ソホスブビル併用により相加的な抗ウイルス作用が認められたこと及び両剤間で交差耐性がみられないことから、配合錠としてのレジパスビル／ソホスブビル併用投与は、相加的な抗ウイルス活性を示し、好ましい耐性プロファイルを示すことが期待される。

## 7. 表

表は本文中の適切な場所に記載した。

## 8. 参考文献

- 1 Pietschmann T, Lohmann V, Rutter G, Kurpanek K, Bartenschlager R. Characterization of cell lines carrying self-replicating hepatitis C virus RNAs. *J Virol* 2001;75(3):1252-64. (4.3.6)
- 2 Tellinghuisen TL, Foss KL, Treadaway J. Regulation of hepatitis C virion production via phosphorylation of the NS5A protein. *PLoS pathogens* 2008;4(3):e1000032. (4.3.8)
- 3 Hughes M, Griffin S, Harris M. Domain III of NS5A contributes to both RNA replication and assembly of hepatitis C virus particles. *J Gen Virol* 2009;90(Pt 6):1329-34. (4.3.3)
- 4 Macdonald A, Harris M. Hepatitis C virus NS5A: tales of a promiscuous protein. *J Gen Virol* 2004;85(Pt 9):2485-502. (4.3.5)
- 5 Freundt EC, Lenardo MJ. Interfering with interferons: Hepatitis C virus counters innate immunity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102(49):17539-40. (4.3.1)
- 6 Lam AM, Espiritu C, Bansal S, Micolochick Steuer HM, Niu C, Zennou V, et al. Genotype and subtype profiling of PSI-7977 as a nucleotide inhibitor of hepatitis C virus. *Antimicrob Agents Chemother* 2012;56(6):3359-68. (4.3.4)
- 7 Prichard MN, Shipman C, Jr. Analysis of combinations of antiviral drugs and design of effective multidrug therapies. *Antivir Ther* 1996;1(1):9-20. (4.3.7)
- 8 Huang Y, Staschke K, De Francesco R, Tan SL. Phosphorylation of hepatitis C virus NS5A nonstructural protein: a new paradigm for phosphorylation-dependent viral RNA replication? *Virology* 2007;364(1):1-9. (4.3.2)

# ハーボニー<sup>®</sup>配合錠

第2部（モジュール2）：CTDの概要（サマリー）

2.6.3 薬理試験概要表

ギリアド・サイエンシズ株式会社

## 目次

2.6.3.1	薬理試験：一覧表.....	3
2.6.3.1.1	レジパスビル.....	3
2.6.3.1.2	レジパスビル／ソホスブビル.....	7
2.6.3.2	効力を裏付ける試験.....	8
2.6.3.3	副次的薬理試験.....	9
2.6.3.4	安全性薬理試験.....	10
2.6.3.5	薬力学的薬物相互作用試験.....	11

2.6.3 薬理試験概要表  
ハーボニー®配合錠

2.6.3.1 薬理試験：一覧表

2.6.3.1.1 レジパスビル

Type of Study/Description	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Gilead Study No.	Location in CTD
Primary Pharmacodynamics					
Antiviral Activity of GS-5885 Against Genotype 1 to 6 HCV	Replicon Cell Lines	<i>In vitro</i>	Gilead Sciences Foster City, CA, US	PC-256-2037	<a href="#">4.2.1.1.1</a>
Antiviral Activity and Selectivity of GS-5816 Against HCV Genotypes 1 to 6	Replicon Cell Lines	<i>In vitro</i>	Gilead Sciences Foster City, CA, US	PC-281-2007	<a href="#">4.2.1.1.2</a>
Antiviral Activity of GS-5885 Against Genotype 2a Infectious Hepatitis C Virus	Huh-7 Cells	<i>In vitro</i>	Gilead Sciences Foster City, CA, US	PC-256-2014	<a href="#">4.2.1.1.3</a>
Susceptibility of Treatment-naïve HCV Genotype 1 Clinical Isolates to Ledipasvir and GS-5816	Replicon Cell Lines	<i>In vitro</i>	Gilead Sciences Foster City, CA, US ██████████ US	PC-256-2032	<a href="#">4.2.1.1.4</a>
Virology Study Report for GS-US-256-0102	Replicon Cell Lines and HCV RNA Sequencing	<i>In vitro</i>	██████████ Belgium and Gilead Sciences Foster City, CA, US	PC-256-2029	<a href="#">4.2.1.1.5</a>
In Vitro Selection of Resistance to GS-5885 and Genotypic and Phenotypic Analyses of GS-5885 Resistance Mutations	GT 1b Replicon Cells	<i>In vitro</i>	Gilead Sciences Foster City, CA, US	PC-256-2016	<a href="#">4.2.1.1.6</a>
In Vitro Selection of Resistance to GS-5885 and Genotypic and Phenotypic Analyses of GS-5885 Resistance Mutations in Genotype 1a Replicons	GT 1a Replicon Cells	<i>In vitro</i>	Gilead Sciences Foster City, CA, US	PC-256-2031	<a href="#">4.2.1.1.7</a>
Cross Resistance Profile of GS-5885 Against Known HCV Drug-Resistance Mutations	Lunet Cells	<i>In vitro</i>	Gilead Sciences Foster City, CA, US	PC-256-2017	<a href="#">4.2.1.1.8</a>

2.6.3 薬理試験概要表  
ハーボニー®配合錠

2.6.3.1.1 レジパスビル (続き)

Type of Study/Description	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Gilead Study No.	Location in CTD
Primary Pharmacodynamics (continued)					
In Vitro Potency of GS-5816 against Genotype 1a NS5A Resistance Associated Variants	Replicon Cell Lines	<i>In vitro</i>	Gilead Sciences Foster City, CA, US	PC-281-2023	<a href="#">4.2.1.1.9</a>
Cross-Resistance and Fitness of HCV NS3, NS5A, and NS5B Single, Double, and Triple Class Mutants with Sofosbuvir and other anti-HCV Agents	Lunet Cells	<i>In vitro</i>	Gilead Sciences Foster City, CA, US	PC-256-2033	<a href="#">4.2.1.1.10</a>
In Vitro Selection of Resistance to Sofosbuvir in Genotype 1b, 2a, 2b, 3a, 4a, 5a and 6a Replicons	Replicon cells lines and 1C cells (human hepatoma cells derived from the Huh-7 cell line)	<i>In vitro</i>	Gilead Sciences Foster City, CA, US	PC-334-2010	<a href="#">4.2.1.1.11</a>
Activity of GS-7977 against NS5A and NS5B Mutant Replicons	Mutant replicons and Huh-lunet cells	<i>In vitro</i>	Gilead Sciences Foster City, CA, US	PC-334-2006	<a href="#">4.2.1.1.12</a>

2.6.3 薬理試験概要表  
ハーボニー®配合錠

2.6.3.1.1 レジパスビル (続き)

Type of Study/Description	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Gilead Study No.	Location in CTD
Secondary Pharmacodynamics					
Antiviral Selectivity of GS-5885	1b-Rluc-2, Huh-7, Hep-2, AD-38 and MT4 Cells	<i>In vitro</i>	Gilead Sciences Foster City, CA, US	PC-256-2018	<a href="#">4.2.1.2.1</a>
In Vitro Specificity of Ledvipasvir	HeLa, NHBE, Vero, and Vero 76 cells	<i>In vitro</i>	Gilead Sciences Foster City, CA, US	PC-256-2036	<a href="#">4.2.1.2.2</a>
Antiviral Activity and Cytotoxicity of GS-5885 in Genotype 1a, 1b and 2a HCV Replicon Cell Lines	Replicon Cell Lines	<i>In vitro</i>	Gilead Sciences Foster City, CA, US	PC-256-2013	<a href="#">4.2.1.2.3</a>
Molecular Target Screen Data Report for GS-5885	A panel of 68 mammalian ion channels and receptors.	<i>In vitro</i>	██████████, Taiwan	PC-256-2020	<a href="#">4.2.1.2.4</a>
Activity of GS-5885 Against Recombinant HCV Enzymes and the HCV IRES in Biochemical Assays	HCV NS3 Protease, NS3 Helicase, NS5B Polymerase, and the HCV IRES	<i>In vitro</i>	Gilead Sciences Foster City, CA, US	PC-256-2019	<a href="#">4.2.1.2.5</a>
Ambit Kinase Screening Report for GS-5885	A broad array of Kinases	<i>In vitro</i>	██████████, US	PC-256-2011	<a href="#">4.2.1.2.6</a>

2.6.3 薬理試験概要表  
ハーボニー®配合錠

2.6.3.1.1 レジパスビル (続き)

Type of Study/Description	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Gilead Study No.	Location in CTD
<b>Safety Pharmacology</b>					
Central Nervous System Safety Pharmacology Evaluation of GS-5885 following Oral Gavage Administration to Male Rats	Rat/Sprague Dawley	Oral Gavage	[REDACTED], [REDACTED], US	PC-256-2007	<a href="#">4.2.1.3.1</a>
Effects of GS-5885 on Cloned hERG Potassium Channels Expressed in Human Embryonic Kidney Cells	Human embryonic kidney cells (HEK293)	<i>In vitro</i>	[REDACTED], [REDACTED], US	PC-256-2008	<a href="#">4.2.1.3.2</a>
Cardiovascular Safety Pharmacology Evaluation of GS-5885 Administered by Oral Gavage to Male Telemetry-Instrumented Conscious Dogs	Dog/Beagle	Oral Gavage	[REDACTED], [REDACTED], US	PC-256-2005	<a href="#">4.2.1.3.3</a>
Respiratory Safety Pharmacology Evaluation of GS-5885 Using Head-Out Plethysmography following Oral Gavage Administration to Male Rats	Rat/Sprague Dawley	Oral Gavage	[REDACTED], [REDACTED], US	PC-256-2006	<a href="#">4.2.1.3.4</a>
<b>Pharmacodynamic Drug Interactions</b>					
In Vitro Antiviral Activity and Cytotoxicity of GS-5885 in Combination with Other Classes of HCV Inhibitors	GT 1b Replicon Cells	<i>In vitro</i>	Gilead Sciences Foster City, CA, US	PC-256-2015	<a href="#">4.2.1.4.1</a>
In Vitro Combination Activity of Ledipasvir with other HCV Inhibitors	GT 1a Replicon Cells	<i>In vitro</i>	Gilead Sciences Foster City, CA, US	PC-256-2035	<a href="#">4.2.1.4.2</a>
In Vitro Combination Activity of Ledipasvir with Common HIV Inhibitors	GT 1a Replicon and MT-4 Cells	<i>In vitro</i>	Gilead Sciences Foster City, CA, US	PC-256-2034	<a href="#">4.2.1.4.3</a>

2.6.3 薬理試験概要表  
ハーボニー®配合錠

2.6.3.1.2 レジパスビル／ソホスブビル

Type of Study/Description	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Gilead Study No.	Location in CTD
Primary Pharmacodynamics					
Combination Activity of GS-7977 and GS-5885, GS-5816, GS-9190, GS-9669, GS-9451, or Ribavirin In Vitro	GT 1a Replicon Cells	<i>In vitro</i>	Gilead Sciences Foster City, CA, US	PC-334-2004	<a href="#">4.2.1.1.13</a>
Combination Activity of Sofosbuvir and GS-5885 or GS-5816 In Vitro in Genotype 1-4 Replicons	Replicon Cell Lines	<i>In vitro</i>	Gilead Sciences Foster City, CA, US	PC-334-2014	<a href="#">4.2.1.1.14</a>
Pharmacodynamic Drug Interactions					
None					

2.6.3 薬理試験概要表  
ハーボニー®配合錠

---

2.6.3.2 効力を裏付ける試験

[2.6.2.2](#) を参照

2.6.3 薬理試験概要表  
ハーボニー®配合錠

---

2.6.3.3 副次的薬理試験

[2.6.2.3](#) を参照

2.6.3 薬理試験概要表  
ハーボニー®配合錠

2.6.3.4 安全性薬理試験

Test Articles: Ledipasvir

Organ Systems Evaluated	Test System	Method of Administration	Dose	No. per Group	Noteworthy Findings	GLP <sup>a</sup>	Gilead Study Number / Location
Central Nervous System	Rat/Sprague Dawley	Oral Gavage	0, 10, 30, 100 mg/kg	6 Males/group	No noteworthy neurological or body temperature changes. NOEL 100 mg/kg.	Yes	PC-256-2007 / <a href="#">4.2.1.3.1</a>
Cardiovascular (hERG Inhibition)	Human embryonic kidney cells (HEK293)	<i>In vitro</i>	0.25, 0.50 μmol/L	3 cells per concentration	IC <sub>50</sub> > 0.5 μmol/L	Yes	PC-256-2008 / <a href="#">4.2.1.3.2</a>
Cardiovascular	Dog/Beagle	Oral Gavage	0, 3, 10, 30 mg/kg	4 Males Latin Square Design	No effects on electrocardiographic, hemodynamic or intra-abdominal temperature parameters. NOEL 30 mg/kg.	Yes	PC-256-2005 / <a href="#">4.2.1.3.3</a>
Respiratory	Rat/Sprague Dawley	Oral Gavage	0, 10, 30, 100 mg/kg	8 Males/group	No noteworthy effects on respiratory function. NOEL 100 mg/kg.	Yes	PC-256-2006 / <a href="#">4.2.1.3.4</a>

GLP = Good Laboratory Practice; hERG = human ether-a-go-go related gene; NOEL = no observed effect level

a: An entry of "Yes" indicates that the study includes a GLP compliance statement.

Conversion: Ledipasvir: 1 μmol/L = 0.889 μg/mL

2.6.3 薬理試験概要表  
ハーボニー®配合錠

---

2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験

[2.6.2.5](#) を参照