アメナリーフ錠200 mg

第2部（モジュール2）
CTDの概要（サマリー）

2.4　非臨床試験の概括評価

マルホ株式会社

略号一覧

略号	省略していない表現又は説明
ASP2151	一般名：Amenamevir（アメナメビル）
^{14}C-ASP2151	Carbon 14で標識したASP2151
R5	AS1955888-00、AS1955888：ASP2151の代謝物
R1~R4、R6~R10	ASP2151の代謝物
＊物質A	ASP2151の分解生成物
ACV	Aciclovir：アシクロビル
ALP	Alkaline Phosphatase：アルカリホスファターゼ
ALT	Alanine aminotransferase：アラニンアミノトランスフェラーゼ
APD	Action potential duration：活動電位持続時間
APD_x	*x*%再分極時の APD
AST	Aspartate aminotransferase：アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
ATPase	Adenosine triphosphatase：アデノシン三リン酸分解酵素
AUC	Area under the concentration-time curve：濃度時間曲線下面積
AUC_{24h}、$AUC_{0\text{-}24h}$	Area under the plasma concentration-time curve：投与開始0～24時間後の血漿中濃度–時間曲線下面積
BALB/3T3細胞	マウス胎児由来線維芽細胞
BCRP	Breast cancer resistance protein：乳癌耐性たん白質
BSEP	Bile salt export pump：胆汁酸排泄トランスポーター
C_{max}	Maximal drug concentration：最高薬物濃度
CYP	Cytochrome P450：チトクロムP450
DNA	Deoxyribonucleic acid：デオキシリボ核酸
EC_{50}	50% effective concentration：50%有効濃度
$20EC_{50}$	20 × 50% effective concentration：50% 有効濃度の 20 倍濃度
ED_{50}	50% effective dose：50%有効用量
F	Bioavailability：生物学的利用能
GLP	Good Laboratory Practice：医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
γ-GTP	γ-glutamyl trans peptitase：γ-グルタミルトランスペプチダーゼ
HEK	Human embryonic kidney：ヒト胎児腎臓（細胞）
HepG2細胞	ヒト肝がん由来細胞株
hERG	human ether-a-go-go-related gene
HSV-1	Herpes simplex virus type 1：単純ヘルペスウイルス 1 型
HSV-2	Herpes simplex virus type 2：単純ヘルペスウイルス 2 型
IC_{50}	50% inhibitory concentration ：50% 阻害濃度
ICH	International Conference on Harmonization of Technical Requirement for Registration on Pharmaceuticals for Human Use：日米EU 医薬品規制調和国際会議
Ki	Inhibition constant：阻害定数

＊新薬承認情報提供時に置換えた

略号	省略していない表現又は説明
LC/MS/MS	Liquid chromatography / mass spectrometry / mass spectrometry : 液体クロマトグラフ/タンデム質量分析
LSC	Liquid scintillation counter：液体シンチレーションカウンタ
MATE	Multidrug and toxin extrusion protein ：多剤、毒物排出たん白質
MRP	Multidrug resistance-associated protein：多剤耐性関連たん白質
OAT	Organic anion transporter：有機アニオントランスポーター
OATP	Organic anion-transporting polypeptide：有機アニオン輸送ポリペプチド
OCT	Organic cation transporter：有機カチオントランスポーター
PEPT	Peptide transporter：ペプチドトランスポーター
Pgp	P-glycoprotein：P-糖たん白質
PK-PD	Pharmacokinetics-Pharmacodynamics：薬物動態的-薬力学的
$t_{1/2}$	Elimination half-life：消失半減期
Time above 100	100 ng/mL 以上の血漿中濃度を維持する 1 日内の時間
T_{max}	Time to reach Cmax：最高濃度到達時間
TK	Toxicokinetics：トキシコキネティクス
URAT	Urate transporter：尿酸トランスポーター
VACV	Valaciclovir：バラシクロビル
Vero	アフリカミドリザル腎臓細胞株
VZV	Varicella-zoster virus：水痘・帯状疱疹ウイルス

目次

頁
2.4 非臨床試験の概括評価 5
2.4.1 非臨床試験計画概略 5
2.4.1.1 薬理試験計画の概略 5
2.4.1.2 薬物動態試験計画の概略 5
2.4.1.3 毒性試験計画の概略 5
2.4.2 薬理試験 6
2.4.2.1 効力を裏付ける試験 6
2.4.2.2 副次的薬理試験 7
2.4.2.3 安全性薬理試験 7
2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用 7
2.4.3 薬物動態試験 7
2.4.3.1 分析法 7
2.4.3.2 吸収 8
2.4.3.3 分布 8
2.4.3.4 代謝 9
2.4.3.5 排泄 9
2.4.3.6 薬物動態学的相互作用 10
2.4.4 毒性試験 10
2.4.4.1 単回投与毒性試験 10
2.4.4.2 反復投与毒性試験 10
2.4.4.3 遺伝毒性試験 11
2.4.4.4 がん原性試験 11
2.4.4.5 生殖発生毒性試験 11
2.4.4.6 その他の毒性試験 12
2.4.5 総括及び結論 12
2.4.5.1 有効性に関する考察 12
2.4.5.2 薬物動態に関する考察 13
2.4.5.3 毒性に関する考察 14
2.4.5.4 結論 14

2.4 非臨床試験の概括評価

2.4.1 非臨床試験計画概略

アメナメビル（ASP2151）は、アステラス製薬株式会社で創製された非核酸構造の新規抗ヘルペスウイルス薬である。本薬は帯状疱疹及び単純疱疹を対象疾患に開発が進められてきた。非臨床試験としては薬理試験、薬物動態試験及び毒性試験を実施した。

2.4.1.1 薬理試験計画の概略

2.4.1.1.1 効力を裏付ける試験

水痘・帯状疱疹ウイルス（VZV）、単純ヘルペスウイルス1型（HSV-1）及び単純ヘルペスウイルス2型（HSV-2）に対するASP2151の抗ウイルス活性を*in vitro*及び*in vivo*で検討した。検討項目は、（1）*in vitro*抗ウイルス活性、（2）作用機序、（3）低感受性化、（4）*in vivo*抗ウイルス活性、並びに（5）Pharmacokinetics-Pharmacodynamics（PK-PD）について検討した。

2.4.1.1.2 副次的、安全性薬理試験及び薬力学的薬物相互作用

副次的薬理試験及び薬力学的薬物相互作用に関する検討は実施しなかった。

安全性薬理試験としては、マウスの中枢神経系に及ぼす作用、hERG電流に及ぼす作用、モルモット摘出乳頭筋の活動電位に対する作用、無麻酔イヌの心血管系及び呼吸器系に対する作用について検討した。これらの試験系・試験デザインは、ICHガイドラインに準拠し、GLP適合下で行った。

2.4.1.2 薬物動態試験計画の概略

*In vivo*試験の動物種としては、薬効薬理試験、安全性薬理試験及び毒性試験において選択されたマウス（ICR及びB6C3F1）、ラット（F344）、及びイヌ（ビーグル）を使用し、*in vitro*たん白結合、血球移行性及び代謝の評価においては、マウス、ラット、モルモット、ウサギ、イヌ及びヒト由来の組織を使用した。被験物質の主要な投与経路は、臨床投与経路である経口投与とし、一部の試験では主として生物学的利用率の評価のために静脈内投与、吸収部位の評価のために消化管内投与、腸肝循環の評価のために胆管内投与を設定した。

2.4.1.3 毒性試験計画の概略

単回投与毒性試験（マウス経口及びイヌ経口）、反復経口投与毒性試験（マウス経口26週間まで、イヌ経口52週間まで）、遺伝毒性試験（細菌を用いる復帰突然変異試験、ヒトリンパ球を用いる染色体異常試験、マウス骨髄小核試験）、がん原性試験（マウス経口93週間、ラット経口104週間）、生殖発生毒性試験（マウスを用いる受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験、マウス及びウサギを用いる胚・胎児発生に関する試験、マウスを用いる出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験）、光安全性試験（BALB/3T3細胞を用いる*in vitro*光毒性試験）及び劣化品（分解生成物 ＊物質A を含有）の毒性試験（細菌を用いる復帰突然変異試験、ヒトリンパ球を用いる染色体異常試験、イヌ4週間反復経口投与毒性試験）を実施した。また、イヌ反復投与試験で認められた肝臓の変化について、HepG2細胞を用いた細胞毒性試験及びイヌ4週間反復経口投与毒性試験で精査した。

これらの試験の試験系・試験デザインは、医薬品毒性試験法ガイドラインやICHガイドライン等各種毒性試験法ガイドラインに準じて実施し、主要な試験はGLP適合下で行った。

2.4.2 薬理試験

効力を裏付ける試験及び安全性薬理試験の一覧表を2.6.3.1に示す。

2.4.2.1 効力を裏付ける試験

2.4.2.1.1 *In vitro*抗ウイルス活性

ヒト胎児線維芽細胞株又はアフリカミドリザル腎臓細胞株(Vero細胞)に感染させたVZV、HSV-1及びHSV-2の実験室株、本邦臨床分離株及び米国臨床分離株のプラーク数を50%減少させるASP2151濃度（50% 有効濃度：EC_{50}）は、それぞれ0.038～0.10 μmol/L、0.016～0.042 μmol/L及び0.023～0.12 μmol/Lであった。ASP2151のVZV、HSV-1及びHSV-2に対するEC_{50}は同効類薬であるアシクロビル（ACV）のそれと比較してそれぞれ1/31～1/76、1/4～1/78及び1/3～1/76であり、ASP2151はACVよりも高い抗ウイルス活性を示した。また、ASP2151はACV低感受性VZV及びHSV-1に対しても高い抗ウイルス活性を示したが、RSウイルス、インフルエンザウイルス、ヒトサイトメガロウイルス及びヒト免疫不全ウイルス1型に対しては活性を示さなかった。なお、ヒト血漿中に検出されたASP2151主要代謝物であるAS1955888-00（R5）のVZV、HSV-1及びHSV-2に対するEC_{50}は、ASP2151のそれと比較してそれぞれ4、12及び8倍であった。

2.4.2.1.2 作用機序

ASP2151はHSV-1のヘリカーゼ・プライマーゼ複合体のデオキシリボ核酸（DNA）依存的アデノシン三リン酸分解酵素（ATPase）活性を濃度依存的に阻害し、その50%阻害濃度（IC_{50}）は0.078 μmol/Lであった。ASP2151はHSV-1ヘリカーゼ活性及びプライマーゼ活性に対してそれぞれ0.1 μmol/L及び0.03 μmol/L以上の濃度で阻害作用を示した。また、ASP2151はVZV、HSV-1及びHSV-2のDNA複製を0.03 μmol/L以上の濃度で阻害し、VZVのDNA複製に対するIC_{50}は0.057 μmol/Lであった。

2.4.2.1.3 低感受性化に関する検討

Vero細胞に感染させたHSV-1の1株及びHSV-2の3株にそれぞれの株に対するEC_{50}の20倍濃度（$20EC_{50}$）のASP2151を添加したとき、ASP2151に対する低感受性株出現頻度は1.30×10^{-6}～6.67×10^{-6}であり、$20EC_{50}$のACVを添加したときのそれよりも明らかに低かった。また、Vero細胞に感染させたHSV-1の4株及びHSV-2の4株にそれぞれの株に対する$20EC_{50}$のASP2151を添加した後のウイルス力価は1株を除き168時間まで検出限界以下であった。一方、$20EC_{50}$のACVを添加した後のウイルス力価はいずれの株においても168時間までに検出された。

2.4.2.1.4 *In vivo*抗ウイルス活性

帯状疱疹様の皮膚症状を有するマウスHSV-1皮膚感染モデルに対するASP2151の予防的投与の50%有効用量（ED_{50}）は、1.9 mg/kgであり、バラシクロビル（VACV）のそれと比較して14倍低かった。また、感染3及び4日後からのASP2151の治療的投与（50 mg/kg、1日2回、5日間）において、感染0～21日後までの皮膚病変スコア–日数曲線下面積は、プラセボ投与群のそれと比較して有意に低かった。

性器ヘルペス様の症状を有するモルモットHSV-2膣感染モデルに対するASP2151の予防的投与のED_{50}は0.37 mg/kgであり、VACVのそれと比較して184倍低かった。また、感染4日後からの

ASP2151の治療的投与（1～30 mg/kg、1日2回、5日間）において、3 mg/kg以上の投与群の膣病変スコア–日数曲線下面積は、プラセボ投与群のそれと比較して有意に低かった。更に、感染4日後からのASP2151の治療的投与（10及び30 mg/kg、1日2回、1日間）群の膣内HSV-2ウイルス力価は、プラセボ投与群のそれと比較して有意に低かった。

2.4.2.1.5 PK-PD解析

マウスHSV-1皮膚感染モデルの皮内ウイルス力価を検出限界以下まで減少させるASP2151の血漿中トラフ濃度は約100 ng/mLと推測された。また、皮内ウイルス力価の減少効果は、投与開始0～24時間後の血漿中濃度–時間曲線下面積（AUC_{24h}）及び100 ng/mL以上の血漿中濃度を維持する1日内の時間（Time above 100）と高い相関が認められ、ASP2151の経口投与時に皮内ウイルス力価がほぼ検出限界値になるAUC_{24h}は60 μg × h/mL、Time above 100は21～24時間と推定された。

2.4.2.2 副次的薬理試験

副次的薬理試験は実施しなかった。

2.4.2.3 安全性薬理試験

ASP2151は、マウスに単回経口投与した試験において250 mg/kgまで一般状態及び行動に影響を及ぼさなかった。HEK293細胞を用いたhERGチャネル電流に対する作用については、ASP2151は3 μmol/L（1.45 μg/mL）まで影響はなく、30 μmol/L（14.5 μg/mL）で軽度な抑制（対照群と比較して11.4%抑制）を示した。また、モルモット摘出乳頭筋標本を用いた活動電位持続時間（APD）に対する作用については、ASP2151は3 μmol/L（1.45 μg/mL）まで影響はなく、30 μmol/L（14.5 μg/mL）でAPDの軽度な延長（3.9-6.2%）を示したが、APD_{90}とAPD_{30}の差はなかったことから、遅延整流性カリウムチャネル電流への影響はないものと考えられた。無麻酔イヌに単回経口投与した試験において、ASP2151は250 mg/kgまで心血管系及び呼吸器系に影響はなかった。

2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用

薬力学的薬物相互作用は検討しなかった。

2.4.3 薬物動態試験

薬物動態試験の一覧表を2.6.5.1に示す。

2.4.3.1 分析法

2.4.3.1.1 ^{14}C-標識体

試料中の放射能は、試料を直接あるいは可溶化又は燃焼処理した後、LSCにより測定した。放射能の検出限界はバックグラウンド値の2倍とした。得られた放射能濃度はASP2151に換算して記載した。

2.4.3.1.2 非標識体

マウス、ラット、ウサギ及びイヌの血漿中のASP2151濃度はLC/MS/MSにより測定した。定量下限は、5 ng/mLであった。マウス、ラット及びイヌの血漿中代謝物（AS1955888）はLC/MS/MSにより測定し定量下限は6 ng/mLであった。ラット及びイヌの尿中ASP2151濃度はLC/MS/MSにより測定し定量下限は0.5 μg/mLであった。

2.4.3.2 吸収

非標識のASP2151をマウス及びイヌに、それぞれ1～10 mg/kg及び0.3～3 mg/kgの用量で単回経口投与したとき、C_{max}及びAUCはいずれの動物種においてもおおむね用量に比例して増加し、Fはマウスで約40～46%、イヌで約22～33%であった。T_{max}は用量に関わらず変化しなかった。マウス及びイヌを用いた反復投与毒性試験の一環として実施したトキシコキネティクス試験成績から、高投与量（マウスで250 mg/kg以上、イヌで30 mg/kg以上）の反復投与において血漿中未変化体濃度の減少が認められ、肝薬物代謝酵素の誘導が考えられた。また、ASP2151及び代謝物のC_{max}及び$AUC_{0\text{-}24h}$は、ともにほぼ用量に比例して増加したが、250 mg/kgでは投与量比よりも低い増加であった。

マウスに^{14}C-ASP2151の3 mg/kgを単回経口投与したときの血液及び血漿中放射能濃度は投与後1時間でC_{max}に達し、その後5.2（血液）及び2.5（血漿）時間の$t_{1/2}$で消失した。ラットに^{14}C-ASP2151の3 mg/kgを単回経口投与したときの血漿中放射能濃度は、投与後1時間でC_{max}に達した後、1.5時間の$t_{1/2}$で消失した。イヌに^{14}C-ASP2151の1 mg/kgを単回経口投与したときの血液及び血漿中放射能濃度は、投与後2.7～3.3時間でC_{max}に達し、その後87（血液）及び16（血漿）時間の$t_{1/2}$で消失した。

マウスに消化管ループを作製して^{14}C-ASP2151を0.03 mg/loopの割合で投与したとき、注入後1時間における胃、小腸上部、小腸中部及び小腸下部における消化管吸収率はそれぞれ4.36、32.05、21.29及び16.48%であり、大腸からは吸収されなかった。この結果から、ASP2151は主に小腸から吸収されると考えられた。

2.4.3.3 分布

マウスに^{14}C-ASP2151の3 mg/kgを単回経口投与したとき、放射能濃度は多くの組織において投与後1時間でC_{max}に達した。投与後1時間における組織内濃度は、肝臓、小腸、ハーダー腺、腎臓、大腸の順で高かった。その後消失し、投与後24時間までにすべての組織においてC_{max}の2%以下まで低下した。また、全身オートラジオルミノグラフィーからも投与後24時間において放射能は体内からほぼ消失することが示された。有色マウスに^{14}C-ASP2151の3 mg/kgを単回経口投与したとき、眼球中放射能の消失は他臓器に比べて緩徐であったことから、ASP2151のメラニン親和性が考えられたが、有色マウスの皮膚組織中放射能濃度は白色マウスのそれと大きな差はなかった。

マウスに^{14}C-ASP2151の3 mg/kgを1日1回21日間反復経口投与したときの放射能の組織内分布パターンは、薬物由来の放射能が各組織内へ長期間滞留することがないことを示した。

イヌに^{14}C-ASP2151の1 mg/kgを単回経口投与したとき、検討したすべての組織において放射能濃度は投与後4時間で最高値に達し、大腸、小腸、肝臓、腎臓、膵臓の順で高い濃度を示した。投与後24及び72時間の放射能の分布パターンは、投与後4時間と同様であり、多くの組織で血漿中濃度と同様に減少した。

マウス、ラット、モルモット、ウサギ、イヌ及びヒトの血漿に^{14}C-ASP2151を50～5000 ng/mLになるように添加したときの血漿たん白結合率は64.1～83.9%であり、種差は認められず、濃度上昇に伴う著しい変化はなかった。各種ヒト血漿たん白との結合率の結果から、ASP2151の主要結合たん白はヒト血清アルブミンであると推定された。

マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒトの血液に^{14}C-ASP2151を50～5000 ng/mLになるように添加したときの血球移行率は39.3～55.1%であり、種差は認められず、いずれの動物種の血球移行率

も薬物濃度に依存しなかった。

妊娠12日目のマウスに^{14}C-ASP2151の3 mg/kgを単回経口投与したとき、母体の血漿中濃度と同等以上の放射能が胎盤及び胎児に検出され、薬物由来の放射能が胎盤関門を通過して胎児に移行することが示された。

分娩後10日目のマウスに^{14}C-ASP2151の3 mg/kgを単回経口投与したとき、乳児の肝臓、腎臓、心臓、肺、脳及び胃内の乳塊に放射能が検出された。このことは、薬物由来物質が乳汁を介して乳児の組織に分布することを示唆した。

2.4.3.4 代謝

マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒト肝ミクロソーム及び肝細胞を用いて^{14}C-ASP2151の*in vitro*代謝実験を行った。検討した種を問わず、ASP2151の代謝プロファイルは1種の主代謝物と数種類の副代謝物が認められる単純なパターンを示し、極めて類似していた。なお、ヒト特異的な代謝物は認められなかった。

ヒト肝ミクロソームを用いた試験から、ASP2151の代謝にはCYP2B6、2C19及びCYP3A4が関与することが示された。その中でもテストステロン6β水酸化活性と最も強い相関を示したことから、CYP3A4が主にASP2151の代謝に関与していると予想された。

ヒトの主代謝物は、未変化体におけるジメチルベンゼン基のメチル基が水酸化されたR5であった。ヒト尿及び糞中には、未変化体におけるジメチルベンゼン基のメチル基が2つ水酸化されたR1、R5のグルクロン酸抱合体であるR3、未変化体のジメチルベンゼン基が水酸化されたR6、R5の水酸基がホルミル化したR8及び未変化体のオキサジアゾール基がアミジノ化したR10が認められた。ラットの胆汁中には、ヒトで認められた代謝物に加え、R1の水酸基がホルミル化されたR2、R5のチアンスルホン基が水酸化されたR4、R4の水酸基がホルミル化されたR7及びR8のホルミル基が酸化されカルボン酸に置換したR9が認められた。マウスではR6のグルクロン酸抱合体が認められ、イヌでは未変化体の水酸化体及びR10の水酸化体が認められた。

2.4.3.5 排泄

マウスに^{14}C-ASP2151の3 mg/kgを単回経口投与したとき、尿及び糞中にはそれぞれ投与量の10.1及び90.5%の放射能が排泄された。胆管カニューレ処置したマウスに^{14}C-ASP2151の3 mg/kgを単回経口投与したとき、尿及び胆汁中にはそれぞれ投与量の11.8及び32.0%の放射能が排泄された。^{14}C-ASP2151を単回経口投与したドナーマウスの胆汁を別個体のマウスに十二指腸内投与し、腸肝循環を検討した結果、投与後0～48時間における尿及び胆汁中排泄率はそれぞれ4.2及び17.9%であり、胆汁中に排泄された^{14}C-ASP2151の再吸収率は22.1%であると推定された。

胆管カニューレ処置したラットに^{14}C-ASP2151の3 mg/kgを単回経口投与したとき、胆汁及び尿中にはそれぞれ投与量の26.32及び2.77%の放射能が排泄されたことから、約30%が消化管から吸収されることが示された。

イヌに^{14}C-ASP2151の1 mg/kgを単回経口投与したとき、尿及び糞中にはそれぞれ投与量の7.7及び87.6%の放射能が排泄された。胆管カニューレ処置したイヌに^{14}C-ASP2151の1 mg/kgを単回経口投与したとき、尿、胆汁及び糞中にはそれぞれ投与量の13.8、19.1及び55.6%の放射能が排泄された。尿及び胆汁中排泄の結果より、経口投与された^{14}C-ASP2151の約30%が消化管から吸収されることが示された。非標識のASP2151をイヌに単回静脈内投与したとき、未変化体の尿中排泄率は0.08であり、腎クリアランスは0.01 L/h/kgであった。

分娩後10日目の哺乳マウスに^{14}C-ASP2151の3 mg/kgを単回経口投与したとき、ASP2151の乳汁への移行が認められたが、投与後24時間までに極めて低いレベルまで減少し、乳汁中に蓄積しなかった。

2.4.3.6 薬物動態学的相互作用

ASP2151のヒトCYP分子種に対する酵素誘導能をヒト肝細胞を用いて調べた。ヒト肝細胞にASP2151を添加した結果、CYP2B6、2C9、2C19及び3A4の誘導が示唆された。CYP1A2の誘導はないと考えられた。

ヒト肝ミクロソームを用い、ASP2151のCYP分子種に対する阻害活性を検討したところ、各分子種に対するIC_{50}は、CYP2C8に対しては69 μmol/L、その他は100 μmol/L以上で直接阻害作用を示した。また、時間依存的な阻害はなかった。IC_{50}が算出されたCYP2C8に対するK_i値は約32 μmol/Lであった。

ASP2151はPgpの基質ではあるが、Pgpに対して阻害作用は示さなかった。ASP2151はBCRP、MRP2、OATP1B1、OATP1B3、OCT2、OAT1、OAT3、BSEP、MATE1及びMATE2-Kの基質ではないことが示されたが、BCRP、MATE1及びMATE2-Kに対する阻害作用を示し、IC_{50}はそれぞれ94.6、39.1及び47.0 μmol/Lであった。ASP2151はURAT1を用量依存的に阻害したが、100 μmol/Lにおいても50%阻害には達しなかった。ASP2151はPEPT1、PEPT2及びMRP2への阻害作用を示さなかった。

2.4.4 毒性試験

毒性試験の一覧表を2.6.7.1に示す。

2.4.4.1 単回投与毒性試験

マウス及びイヌを用いて単回経口投与毒性試験を実施した。投与量は、マウスは500 mg/kg、イヌは375及び750 mg/kgとした。マウス及びイヌともに死亡は認められず、いずれの検査項目においてもASP2151投与の影響は認められなかった。概略の致死量は、マウスは500 mg/kgを、イヌは750 mg/kgを上回ると判断した。

2.4.4.2 反復投与毒性試験

2.4.4.2.1 マウス反復経口投与毒性試験

マウスを用いて、1週間反復投与予備試験（投与量：100、250及び500 mg/kg、TKサテライト群は3、30、100、250及び500 mg/kg）、4週間反復投与試験（投与量：15、60、250及び500 mg/kg）13及び26週間反復投与試験（投与量：15、60及び250 mg/kg）を実施した。

1、4及び26週間試験では、それぞれ500、250及び60 mg/kg以上で肝臓重量の増加が共通してみられた。ただし、肝臓の病理組織学的検査において変化は観察されなかったため、毒性学的意義は低いと判断した。13週間試験ではいずれの投与群においてもASP2151投与の影響はみられなかった。無毒性量は、4週間試験では雌雄ともに500 mg/kg、13及び26週間試験では雌雄ともに250 mg/kgと判断した。

2.4.4.2.2 イヌ反復経口投与毒性試験

イヌを用いて、1週間反復投与予備試験（投与量：10、30及び100 mg/kg）、4及び13週間反復投与試験（投与量：3、10、30及び250 mg/kg）、52週間反復投与試験（投与量：3、10、30及び60 mg/kg）

を実施した。その結果、4、13及び52週間試験において共通した毒性所見が肝臓に認められた。

4週間試験では、30 mg/kg以上で肝由来ALPの増加及び肝臓重量の増加、250 mg/kgでALT及びASTの増加がみられたほか、病理組織学的検査で小葉中心性の肝細胞肥大及び単細胞壊死が観察された。これらの所見は休薬により回復した。4週間試験の無毒性量は雌雄ともに10 mg/kgと判断した。

13週間試験では250 mg/kg群の雄1例が死亡し、雌1例が瀕死となり途中解剖となった。また、これとは別に雌1例が瀕死状態であったため投与を中止した。本試験における主な毒性所見は肝臓パラメーターの変化であった。すなわち、ALP、AST及びALTの増加と肝臓重量の増加、更に、病理組織学的検査では小葉中心性の肝細胞肥大並びに肝細胞の変性及び壊死が認められた。追加実施した肝臓の電子顕微鏡検査では、肝薬物代謝酵素誘導時に特徴的である小葉中心帯におけるグリコーゲン顆粒の増加及び滑面小胞体の増生が観察された。これらの変化は休薬期間中に回復又は回復傾向を示した。13週間試験の無毒性量は雄で30 mg/kg及び雌で10 mg/kgと判断した。

52週間試験で認められた特徴的な所見は、肝由来ALP及びALTの増加、肝臓重量の増加、並びに病理組織学的検査において観察された小葉中心性の肝細胞肥大及び滑面小胞体の増生であった。52週間反復投与試験の無毒性量は雌雄ともに3 mg/kgと判断した。

2.4.4.3 遺伝毒性試験

細菌を用いる復帰突然変異試験、ヒトリンパ球を用いる染色体異常試験及びマウスin vivo骨髄小核試験を実施した。その結果、いずれの試験においても結果は陰性であった。したがって、ASP2151が生体内で遺伝毒性を示す可能性は低いと考えられた。

2.4.4.4 がん原性試験

マウス及びラットを用いて、それぞれ93及び104週間の経口投与によるがん原性試験を実施した。その結果、マウス及びラットのいずれにおいてもASP2151投与による腫瘍発現頻度の増加はなく、ASP2151のがん原性は陰性と判断した。

2.4.4.5 生殖発生毒性試験

マウスを用いて受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験、マウス及びウサギを用いて胚・胎児発生への影響に関する試験、マウスを用いて出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験を実施した。

マウスの受胎能及び着床までの初期胚発生、胚・胎児発生、及び出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能において、ASP2151投与の影響は認められなかった。マウスにおける無毒性量は、親動物（雌雄）の生殖能、初期胚発生、胚・胎児発生及び出生児のいずれに対しても500 mg/kgと判断した。

ウサギの胚・胎児発生への影響に関する試験では、ASP2151投与による影響として、250 mg/kg群の母動物で体重増加抑制及び摂餌量の減少、並びに栄養不良に起因すると考えられる早産及び流産がみられた。ウサギにおける無毒性量は、母動物の生殖能に対しては100 mg/kg、胚・胎児発生に対しては250 mg/kgと判断した。

2.4.4.6 その他の毒性試験

2.4.4.6.1 光安全性試験

ASP2151は光安全性の評価対象となり得る波長領域である290～700 nm範囲内に光吸収を示すことから、光毒性の有無を検討するため、BALB/3T3を用いた*in vitro*光毒性試験を実施した。その結果、ASP2151の光毒性は陰性であった。

2.4.4.6.2 不純物の毒性試験

本剤において、ICHガイドラインQ3B 「製剤中の不純物に関するガイドライン」の安全性の確認が必要な閾値を超える分解生成物 ＊物質A が検出された。このことから、 ＊物質A の安全性を確認するため、 ＊物質A を1.23%含有するASP2151劣化品を用いて細菌を用いる復帰突然変異試験及びヒトリンパ球を用いる染色体異常試験を、 ＊物質A を2.51%含有するASP2151劣化品を用いてイヌを用いた4週間反復経口投与毒性試験を実施した。

細菌を用いる復帰突然変異試験及びヒトリンパ球を用いる染色体異常試験は陰性であった。また、イヌを用いた4週間反復投与試験では、ASP2151劣化品投与による影響は認められず、その無毒性量は10 mg/kgと判断した。

2.4.4.6.3 肝毒性に関する検討

イヌ反復経口投与毒性試験で認められた肝臓の変化を精査する目的で、HepG2細胞を用いた細胞毒性試験及びイヌを用いた4週間反復経口投与による肝毒性に関する検討を実施した。イヌ4週間試験では、通常の毒性試験の血液生化学的検査項目に加え、肝胆道系の障害を反映する項目である胆汁酸、乳酸、γ-GTP及びGLDHを測定したほか、電子顕微鏡検査及び肝チトクロムP450活性測定等を実施した。

HepG2細胞を用いた細胞毒性試験の結果、イヌの代謝活性化系存在下又は非存在下のいずれにおいてもASP2151の細胞毒性ポテンシャルは低く、また、ASP2151の肝毒性発現機序にミトコンドリアが関与する可能性は低いと考えられた。

イヌを用いた4週間反復経口投与による肝毒性に関する検討（投与量：3、10、60及び250 mg/kg）では、3 mg/kg以上で肝チトクロムP450含量の増加がみられ、ASP2151は肝薬物代謝酵素の誘導作用を有することが確認された。また、60 mg/kg以上でALPの増加及び肝重量の増加、250 mg/kgで滑面小胞体の増生を伴う小葉中心性の肝細胞肥大が認められ、これらは肝薬物代謝酵素の誘導に付随した変化と考えられた。一方で、250 mg/kgでみられたALT及びGLDHの増加は、ASP2151の肝毒性による変化であると判断した。

2.4.5 総括及び結論

2.4.5.1 有効性に関する考察

ASP2151は、VZV、HSV-1及びHSV-2に対して高い*in vitro*抗ウイルス活性を示し、その活性はいずれのウイルスに対してもACVのそれよりも高かった。また、ASP2151はACV低感受性VZV及びHSV-1に対しても高い抗ウイルス活性を示した。なお、ヒト血漿中に検出されたASP2151主要代謝物であるR5にも*in vitro*抗ウイルス活性が認められたが、VZV、HSV-1及びHSV-2に対する活性はASP2151と比較して低かった。ASP2151はHSV-1ヘリカーゼ・プライマーゼ複合体のDNA依存的ATPase活性、ヘリカーゼ活性及びプライマーゼ活性を阻害した。また、ASP2151はVZV、HSV-1及びHSV-2のDNA複製を阻害した。これらの結果より、ASP2151はヘリカーゼ・プライマーゼ複

合体の酵素活性を阻害することにより抗ウイルス活性を示すことが示唆された。

HSV-1及びHSV-2のASP2151に対する低感受性ウイルスの出現頻度は、ACVに対するそれよりも明らかに低かった。また、HSV-1及びHSV-2のASP2151に対する低感受性ウイルスが出現するまでの時間もACVに対するそれよりも明らかに長かった。

マウスHSV-1皮膚感染モデル及びモルモットHSV-2膣感染モデルに対して、ASP2151はVACVよりも優れる予防及び治療効果を示した。これらの感染モデルに対するASP2151の予防的投与のED_{50}はそれぞれ1.9 mg/kg及び0.37 mg/kgであり、VACVのそれと比較してそれぞれ1/14及び1/184であった。

マウスHSV-1皮膚感染モデルにおいて皮内ウイルス力価をほぼ検出限界値まで減少させる血漿中ASP2151濃度（トラフ値）は約100 ng/mLと推測された。本モデルにおけるASP2151の皮内ウイルス力価減少効果はAUC_{24h}及びTime above 100と高い相関が認められ、本剤の経口投与時に皮内ウイルス力価がほぼ検出限界値になるAUC_{24h}は60 μg × h/mL、Time above 100は21～24時間と推定された。

以上、ASP2151はヘリカーゼ・プライマーゼ複合体の酵素活性を阻害する新規作用機序を有し、ACV低感受性株を含むVZV、HSV-1及びHSV-2に対して高い抗ウイルス活性を示し、本薬低感受性化の可能性も低く、帯状疱疹及び単純疱疹に対する有効性が示唆された。

2.4.5.2 薬物動態に関する考察

マウス及びイヌにASP2151を経口投与した際、ASP2151は消化管から吸収され、生物学的利用能はそれぞれ約40～46%及び約22～33%であった。ASP2151は主に肝臓で代謝され、胆汁を介して糞中に排泄されると考えられた。マウスにASP2151を21日間反復経口投与したときの放射能の組織内分布パターンは、薬物由来の放射能が特定の組織に長期間滞留することがないことを示した。妊娠マウスに^{14}C-ASP2151を経口投与した際には、胎盤及び胎児にも母体の血漿中濃度と同等以上の放射能が検出され、ASP2151は胎盤関門を介し胎児に移行することが示された。授乳期のマウスに^{14}C-ASP2151を経口投与した際の乳児組織における放射能はASP2151が乳汁を介して乳児に移行することを示唆した。マウス及びイヌのトキシコキネティクス試験成績からは、高投与量でのC_{max}及びAUCの非線形性及び反復投与による肝薬物代謝酵素の誘導が考えられた。

ヒト血漿にASP2151を添加した際のたん白結合率は約75%であり、主にアルブミンと結合した。

*In vitro*代謝実験の結果から、ASP2151は主にCYP3A4により代謝されることが示された。マウス及びラットの代謝物プロファイルはヒトの代謝プロファイルと類似しており、これらの動物種はASP2151の有効性及び安全性を評価するのに適切な動物種であると考えられた。

ASP2151の薬物代謝における薬物相互作用に関しては、*in vitro*試験の結果から、ASP2151はCYP2B6、CYP2C9、CYP2C19及びCYP3A4に対する誘導能があり、一方、ASP2151はCYP2C8を阻害することが示された。そのため、臨床試験において薬物相互作用試験を実施した（5.3.3.4-1～5.3.3.4-9）。トランスポーターを介した薬物相互作用に関しては、ASP2151はPgpの基質であったが、200 μmol/Lまでの濃度でPgpに対する阻害作用を示さなかった。ASP2151はBCRP、MRP2、OATP1B1、OATP1B3、OCT2、OAT1、OAT3、BSEP、MATE1及びMATE2-Kの基質ではないことが示されたが、BCRP、MATE1、MATE2-Kに対する阻害作用を示し、IC_{50}はそれぞれ94.6、39.1、47.0 μmol/Lであった。肝臓等とともに消化管にも発現しているBCRPに関しては、臨床投与量である400 mgを投与した際の平均C_{max}はIC_{50}の1/100以下と考えられ、また、溶解度を考慮した消化管内のASP2151濃度もIC_{50}の約1/100程度と考えられたことから、臨床試験は不要と判断した。主に腎臓に発現してい

るMATE1、MATE2-Kに関しては、臨床投与量である400 mgを投与した際の平均C_{max}はIC_{50}よりも小さいと考えられたことから、臨床試験は不要と判断した。

2.4.5.3 毒性に関する考察

反復投与毒性試験の結果から、ASP2151の毒性学的標的臓器は肝臓であると考えられた。その所見は、げっ歯類を用いた反復投与試験では肝臓重量の増加に限られていたが、イヌを用いた反復投与試験では血液生化学的検査、器官重量及び病理組織検査において肝パラメーターの変化・異常が共通して認められた。このことから、ヒトに対するリスク評価は、イヌの毒性試験成績のうち、イヌの肝毒性に焦点をあて実施することが適切であると考えた。

イヌの反復投与試験で肝臓に認められた共通の所見は、肝酵素の増加、肝臓重量の増加及び小葉中心性の肝細胞肥大であった。肝CYP活性測定及び電子顕微鏡検査の結果から、これらの毒性所見がASP2151による肝薬物代謝酵素誘導に起因していることが示唆された。

肝薬物代謝酵素の誘導に基づく肝臓の変化は、生体の恒常性を維持するための適応性反応であり、毒性学的な意義は低いと考えられている。イヌの反復投与試験におけるALP増加や肝臓重量の増加、小葉中心性肝細胞肥大、滑面小胞体の増生、肝ミクロソームのCYP含量の増加がこれに相当する。一方で、肝薬物代謝酵素誘導を介する生体の恒常性維持機能には限界があり、限界を越えた場合には恒常性が破たんし、肝細胞の変性や壊死、増殖などの肝毒性を引き起こすとされている。このことがイヌの反復投与試験におけるAST、ALT及びGLDHの増加、肝細胞の変性及び単細胞壊死などの肝細胞傷害性を示唆する所見につながったと考えられた。なお、いずれの所見も投薬を中止することにより回復する可逆性の変化であった。

以上の所見を踏まえ、ヒトの肝臓に対するリスクアセスメントについて、イヌ反復投与試験の無毒性量における曝露量とヒト臨床試験における曝露量とを比較することにより考察した。なお、本剤の用法・用量は、1日1回400 mg、7日間投与である。このことから、イヌについてはGLP適合の反復投与試験としてヒトの投与期間に最も近く、かつ肝臓への影響を精査した試験である4週間反復経口投与による肝毒性に関する検討（試験番号：15L-TX-[redacted]）を選択した。その試験において肝細胞傷害（ALT及びGLDH増加）がみられた用量は250 mg/kgであり、60 mg/kgでは肝臓重量の増加などの肝薬物酵素誘導を介した適応性変化による所見に限られていたことから、無毒性量は60 mg/kgと判断し、そのAUC（Day1：326024 ng・hr/mL、Day14：192414 ng・hr/mL）を採用した。一方、ヒトは日本人健康成人における400 mg単回投与時（試験番号：M522101-J22）のAUC（20140 ng･hr/mL）、並びに日本人高齢者における600 mg反復経口投与時（試験番号:15L-CL-003）のAUC（Day1：28491 ng・hr/mL、Day7：23566 ng・hr/mL）を採用した。これらの値を用いて安全域を算出した結果、イヌの無毒性量の曝露量は、ヒトに臨床用量（400 mg）を単回投与した場合の曝露量と比較して10倍以上、日本人高齢者に600 mgを反復投与した場合の曝露量と比較して8倍以上であった。

2.4.5.4 結論

以上、ASP2151は、VZV、HSV-1及びHSV-2に対してACV又はVACVよりも強い抗ウイルス活性を示した。また、ASP2151はACV低感受性VZV及びHSV-1に対しても高い抗ウイルス活性を示した。主な薬物動態学的特性として、経口投与されたASP2151は消化管から吸収され、肝臓で代謝を受けた後、胆汁を介して主に糞に排泄されることが示された。また、ASP2151はCYP2B6、CYP2C9、CYP2C19及びCYP3A4を誘導し、CYP2C8を阻害することが示された。ASP2151の毒性試験では、

イヌにおいて肝薬物代謝酵素誘導を介する適応性変化、及びそれが破たんした結果引き起こされた肝細胞傷害が観察された。しかし、イヌと比べてヒトでは8倍以上の安全域が存在すること、本剤のヒトにおける投与期間は7日であり、通常繰り返し間歇的に投与されることは想定されないことに加え、イヌで認められた肝臓の変化は休薬により回復したことを考慮すると、本剤の臨床使用によりヒトで重篤な肝毒性が発現する可能性は低いものと考えられた。

これら非臨床試験の成績は、有効性及び安全性の両面から、ASP2151が帯状疱疹の治療に用いる経口抗ウイルス薬として有用であることを示唆している。