ソホスブビル／ベルパタスビル

第 2 部 CTD の概要

2.4 非臨床試験の概括評価

ギリアド・サイエンシズ株式会社

目次

頁
略号一覧表 7
略号一覧表（続き） 8
略号一覧表（続き） 9
1 非臨床試験の概括評価 10
1.1 非臨床試験計画概要 10
1.1.1 ベルパタスビル 10
1.1.2 ソホスブビル／ベルパタスビル 11
2 薬理試験 13
2.1 効力を裏付ける試験 13
2.1.1 ベルパタスビル 13
2.1.2 ソホスブビル／ベルパタスビル 13
2.2 副次的薬理試験 13
2.2.1 ベルパタスビル 14
2.2.1.1 *In Vitro* 細胞毒性 14
2.2.1.2 *In Vitro* 受容体結合試験 14
2.2.2 ソホスブビル／ベルパタスビル 14
2.2.2.1 *In Vitro* 細胞毒性 14
2.3 安全性薬理試験 14
2.3.1 ベルパタスビル 14
2.3.2 ソホスブビル／ベルパタスビル 15
2.4 まとめ 15
3 薬物動態試験 16
3.1 分析法 16
3.2 吸収及び単回投与後の薬物動態 16
3.2.1 ベルパタスビル 16
3.2.2 ソホスブビル／ベルパタスビル 16
3.3 反復投与後の薬物動態 17
3.3.1 ベルパタスビル 17
3.4 分布 17
3.4.1 タンパク結合率 17
3.4.1.1 ベルパタスビル 17
3.4.2 組織内分布 17
3.4.2.1 ベルパタスビル 17
3.4.2.2 ソホスブビル／ベルパタスビル 17
3.4.3 妊娠及び授乳中動物での分布 18
3.4.3.1 ベルパタスビル 18
3.5 代謝 18

3.5.1 *In vitro* 代謝 18
3.5.1.1 ベルパタスビル 18
3.5.1.2 ソホスブビル／ベルパタスビル 18
3.5.2 *In vivo* 代謝 19
3.5.2.1 ベルパタスビル 19
3.5.2.2 ソホスブビル／ベルパタスビル 20
3.6 排泄 20
3.6.1 尿・糞・胆汁中排泄 20
3.6.1.1 ベルパタスビル 20
3.6.1.2 ソホスブビル／ベルパタスビル 20
3.6.2 乳汁中排泄 20
3.6.2.1 ベルパタスビル 20
3.7 薬物相互作用 21
3.7.1 ベルパタスビル 21
3.7.1.1 CYP 及び UGT1A1 に対する阻害 21
3.7.1.2 誘導作用 21
3.7.1.3 トランスポーターを介した相互作用 21
3.7.2 ソホスブビル／ベルパタスビル 22
3.7.2.1 CYP 及び UGT1A1 に対する阻害 22
3.7.2.2 細胞内活性化 22
3.7.2.3 誘導作用 22
3.7.2.4 トランスポーターを介した相互作用 23
3.8 まとめ 23
4 毒性試験 25
4.1 概略 25
4.2 単回投与毒性 27
4.2.1 ベルパタスビル 27
4.3 反復投与毒性 27
4.3.1 ベルパタスビル 27
4.4 遺伝毒性 28
4.4.1 ベルパタスビル 28
4.5 がん原性 29
4.5.1 ベルパタスビル 29
4.5.2 ソホスブビル／ベルパタスビル 29
4.6 生殖発生毒性 29
4.6.1 ベルパタスビル 29
4.6.2 ソホスブビル／ベルパタスビル 30
4.7 幼若動物を用いた試験 30
4.8 局所刺激性 30
4.8.1 ベルパタスビル 30

4.8.2 ソホスブビル／ベルパタスビル 30
4.9 その他の毒性試験 30
4.9.1 抗原性試験 30
4.9.2 免疫毒性試験 31
4.9.3 毒性発現の機序に関する試験 31
4.9.4 依存性試験 31
4.9.5 代謝物の毒性試験 31
4.9.6 不純物及び分解生成物の毒性試験 31
4.9.6.1 ベルパタスビル 31
4.9.6.2 ソホスブビル／ベルパタスビル 32
4.9.7 その他の試験 32
4.9.7.1 ベルパタスビル 32
4.10 重要な所見に関する曝露量比 32
4.11 標的臓器毒性 40
4.11.1 ベルパタスビル 40
4.11.2 ソホスブビル／ベルパタスビル 41
5 総括及び結論 42
5.1 添付文書案の妥当性 42
5.2 全体のまとめ及び結論 43
6 参考文献 46

表目次

頁
表 1　ベルパタスビルの毒性試験プログラム.....25
表 2　ベルパタスビルの遺伝毒性試験の要約.....28
表 3　GS-9851 及びソホスブビルの試験でみられた重要な所見に関する曝露量比 33
表 4　ベルパタスビルの試験でみられた重要な所見に関する曝露量比.....38

図目次

頁

図 1　[^{14}C]ベルパタスビルを経口投与したときの血漿、尿、胆汁及び糞中で同定された代謝物に基づくベルパタスビルの推定代謝経路.....19

略号一覧表

略号	英語	日本語
AhR	aryl hydrocarbon receptor	芳香族炭化水素受容体
AUC	the area under the concentration versus time curve	濃度－時間曲線下面積
AUC_{0-t}	the area under the concentration versus time curve from time zero to the last quantifiable concentration	0 時間から定量可能時間までの濃度－時間曲線下面積
AUC_{tau}	the area under the concentration versus time curve over the dosing interval	投与間隔間での濃度－時間曲線下面積
BCOP	bovine corneal opacity permeability	ウシ角膜混濁度及び透過性
BCRP	breast cancer resistance protein	乳癌耐性タンパク質
Caco-2	human colonic adenocarcinoma cell line	ヒト結腸癌由来の細胞株
CC_{50}	drug concentration that results in a 50% reduction in cell viability	50%細胞毒性濃度
C_{max}	the maximum observed concentration of drug	最高濃度
CsA	cyclosporine A	シクロスポリン
CYP	cytochrome P450	シトクロム P450
DNA	deoxyribonucleic acid	デオキシリボ核酸
EC_{50}	half-maximal effective concentration or effective concentration of compound causing 50% of maximal inhibition	50%効果濃度
F	estimated oral bioavailability of the drug (%), calculated as $100 \times (AUC_{PO} \times Dose_{IV}) / (AUC_{IV} \times Dose_{PO})$	絶対的経口バイオアベイラビリティ
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
GMP	Good Manufacturing Practice	医薬品の製造管理及び品質管理規則
GS-5816	velpatasvir	ベルパタスビル
GS-9851	isomeric mixture at phosphorous containing sofosbuvir and GS-491241; nucleotide prodrug	ソホスブビル及びそのジアステレオマーである GS-491241 の混合物；ヌクレオチドプロドラッグ
GS-491241	diastereomer of sofosbuvir; nucleotide prodrug	ソホスブビルのジアステレオマー；ヌクレオチドプロドラッグ

略号一覧表（続き）

略号	英語	日本語
GS-331007	metabolite of sofosbuvir; nucleoside analog	ソホスブビルの代謝物；ヌクレオシド誘導体
GS-461203	pharmacologically active metabolite of sofosbuvir; nucleoside analog triphosphate	ソホスブビルの活性代謝物；ヌクレオシド誘導体三リン酸
HCV	hepatitis C virus	C 型肝炎ウイルス
HepG2	human hepatocellular carcinoma cell line	ヒト肝細胞癌由来細胞株
hERG	human ether-à-go-go-related gene	ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子
HIV	human immunodeficiency virus	ヒト免疫不全ウイルス
HPMC	hydroxypropyl methylcellulose	ヒドロキシプロピルメチルセルロース
Huh-7	human hepatocellular carcinoma cell line	ヒト肝細胞癌由来細胞株
ICH	International Conference on Harmonization	医薬品規制調和国際会議
IC_{50}	half maximal inhibitory concentration or concentration of compound causing 50% of maximal inhibition	50%阻害濃度
IRES	internal ribosome entry site	内部リボソーム進入部位
MATE1	multidrug and toxin extrusion 1	－
MT4	human T cell leukemia cell line	成人 T 細胞白血病由来細胞株
mRNA	messenger ribonucleic acid	メッセンジャーリボ核酸
MRP	multidrug resistance related protein	多剤耐性関連蛋白質
NOAEL	no observed adverse effect level	無毒性量
NOEL	no observed effect level	無影響量
NS	nonstructural protein	非構造タンパク質
NTCP	Na^+ taurocholate cotransporting polypeptide	Na^+タウロコール酸共輸送ポリペプチド
OAT	organic anion transporter	有機アニオントランスポーター
OATP	organic anion transporting polypeptide	－
OCT	organic cation transporter	－
PC-3	human metastatic prostate carcinoma cells	ヒト前立腺癌由来細胞株
P-gp	P-glycoprotein	P 糖蛋白質

略号一覧表（続き）

略号	英語	日本語
PK	pharmacokinetic(s)	薬物動態
PXR	pregnane X receptor	プレグナン X 受容体
RO	reverse osmosis	逆浸透
SIF	simulate intestinal fluid	人工腸液
TK	toxicokinetics	トキシコキネティクス
TTC	threshold of toxicological concern	毒性学的懸念の閾値
UGT	uridine diphosphate-glucuronosyltransferase	ウリジン 5'-二リン酸-グルクロン酸転移酵素
V_{ss}	volume of distribution at steady state	分布容積

ベルパタスビルの換算係数は以下を使用した。

1 μmol/L = 0.883 μg/mL

1 非臨床試験の概括評価

本剤はソホスブビル及びベルパタスビル（GS-5816）を有効成分として含有する配合錠であり、本申請資料は慢性 C 型肝炎ウイルス（HCV）感染症の治療に対する本剤の製造販売承認申請の根拠として提出する。

ソホスブビルは、ソバルディ®錠 400 mg として平成 27 年 3 月 26 日に国内で承認された。また、平成 29 年 3 月 24 日に効能追加に係る一部変更承認申請（以下、「一変申請」）が承認された。

レジパスビル／ソホスブビル配合剤は、ハーボニー®配合錠（レジパスビル 90 mg 及びソホスブビル 400 mg）として平成 27 年 7 月 3 日に国内で承認された。また、平成 30 年 2 月 16 日に効能追加に係る一変申請が承認された。

ソホスブビルの非臨床試験データは、ソバルディ®錠及びハーボニー®配合錠の承認及び一変申請時に提出済みであり、CTD 2.4 及び CTD 2.6 に要約した。本申請資料では、ソホスブビル、ベルパタスビル、ソホスブビルとベルパタスビルの併用投与、及び本剤を用いた新規の非臨床試験については詳述し、関連する既提出のソホスブビル非臨床試験については必要に応じて再提出する。

ソホスブビルは、核酸系の HCV の非構造タンパク質（NS）5B ポリメラーゼ阻害剤であり、*in vitro* で HCV レプリコンリボ核酸（RNA）の複製に強い阻害作用を示す。ベルパタスビルは新規の HCV NS5A 阻害剤で *in vitro* でジェノタイプ 1～6 型 HCV RNA 複製を強力に阻害する。ソホスブビルとベルパタスビルの併用により *in vitro* 相加的相互作用が認められること及び交差耐性を示さないことから、両剤の併用投与により強力な抗ウイルス作用と望ましい耐性プロファイルが得られることが示唆される。

本概括評価には、本剤の評価に関連する非臨床試験の情報を全て記載している。ベルパタスビルの非臨床データを 2.6 項に、非臨床試験の報告書を 4 及び 5 項に示す。ベルパタスビル及びソホスブビルとベルパタスビルの併用による非臨床ウイルス学的試験については、詳細を 2.7.2.4 項に、要約を 2.5 項に示す。

主要な安全性薬理試験、毒性試験及びトキシコキネティクス（TK）試験は、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、探索的試験及び作用機序を検討した試験は、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 非臨床試験計画概要

1.1.1 ベルパタスビル

ベルパタスビル（{(2*S*)-1-[(2*S*,5*S*)-2-(9-{2-[(2*S*,4*S*)-1-{(2*R*)-2-[(メトキシカルボニル)アミノ]-2-フェニルアセチル}-4-(メトキシメチル)ピロリジン-2-イル]-1*H*-イミダゾール-4-イル}-1,11-ジヒドロ[2]ベンゾピラノ[4',3':6,7]ナフト[1,2-*d*]イミダゾール-2-イル)-5-メチルピロリジン-1-イル]-3-メチル-1-オキソブタン-2-イル}カルバミン酸メチル）は、*in vitro* において HCV RNA 複製を強力に阻

害する新規の HCV NS5A 阻害剤である。複数のレプリコン細胞にベルパタスビルは選択的に作用し、ジェノタイプ 1～6 に対して有効性を示した。また、他のウイルスと比較して HCV 選択的に作用する。HCV レプリコン細胞を用いた試験で、ベルパタスビルは HCV ジェノタイプ 1～6 に対して強い抗ウイルス活性を示し、その平均 50%効果濃度（EC_{50}）値は 0.002～0.13 nmol/L の範囲であった。交差耐性及び *in vitro* 耐性発現試験結果、*in vivo* 耐性プロファイル並びに HCV 関連酵素に対して阻害作用を示さないことから、ベルパタスビルはその作用機序として NS5A を標的とすることが裏付けられた。

ベルパタスビルの臨床使用を裏付けるために必要な非臨床試験は全て完了している。これらの非臨床試験には、一連の効力を裏付ける試験及び副次的薬理試験、安全性薬理コアバッテリー試験、薬物動態（PK）試験、遺伝毒性試験、マウス及びラットがん原性試験、ラット及びイヌ反復投与毒性試験を含む。ラット生殖発生毒性試験には、受胎能、胚・胎児発生並びに出生前及び出生後の発生に関する評価を含む。ウサギを用いた胚・胎児発生毒性試験では十分な曝露量が得られなかったため、マウスでの胚・胎児発生毒性も評価した。ベルパタスビルは紫外線を吸収すること及び有色組織に結合することを考慮し、光毒性試験を実施した。また、皮膚感作性試験、皮膚及び眼刺激性試験及び不純物に関する毒性試験の評価を実施した。

ベルパタスビルの水に対する溶解度は低く（pH 8.2 で約 3 μg/mL）、絶食及び摂食状態を模倣した人工腸液（SIF）に対する溶解度はやや高くなるが（それぞれ 28 及び 210 μg/mL）、毒性試験での曝露量が制限される。非臨床毒性試験でベルパタスビルの最大経口曝露量を得るために、ラット及びウサギで 4 種類、イヌで 2 種類の溶媒を検討した。その結果、ラット及びイヌでは 60%の有機溶媒ベースの溶媒［45%（v/v）プロピレングリコール及び 15%（v/v）Kolliphor® HS-15 を含む逆浸透（RO）水（pH 2.0±0.1）］を選択した。用量設定試験の結果から、反復投与毒性試験での最高用量（ラット及びイヌでそれぞれ 200 及び 100 mg/kg）は、経口投与において適切な最高用量と判断される。ベルパタスビル 1000 又は 300 mg/kg を水性懸濁液としてそれぞれマウス又はウサギに経口投与したとき、最大の曝露量が得られた。水に対する非常に低い溶解性及び投与容量の制限により、他の投与経路では投与できるベルパタスビルの量は制限される。全ての試験で、溶媒を対照として用いた。

毒性試験では、ベルパタスビルはラットでは 6 ヵ月まで、イヌでは 9 ヵ月まで忍容性は良好であった。ベルパタスビルは各動物種及びヒト血漿中では主として未変化体で存在したため、各動物種におけるベルパタスビル曝露量と本剤投与時のベルパタスビル臨床曝露量を比較し、曝露量比を算出した。ベルパタスビルはいずれの動物種でも同程度の高いタンパク結合（99.5%超）を示したため、曝露量比は総薬物濃度に基づいて算出した。

1.1.2 ソホスブビル／ベルパタスビル

ソホスブビルとベルパタスビルの併用投与は、強力な抗ウイルス作用及び両薬剤間に交差耐性のない望ましい耐性プロファイルを示した。PK 試験は、ソホスブビル及びベルパタスビルの毒性試験で使用する動物種選択の裏付けとなる。動物でのソホスブビル及びベルパタスビルの吸収、分布、代謝及び排泄プロファイルは臨床試験で観察されたヒトでのプロファイルと同様であった。ソホスブビル及びベルパタスビルはいずれも、消化管の排出トランスポーターである P 糖蛋白質（P-gp）及び乳癌耐性タンパク質（BCRP）の基質であるため、その吸収はこれらトランスポーターの阻害剤との併用で増加し、誘導剤との併用で低下する。ベルパタスビルは、吸収過程での消

化管内濃度で P-gp 及び BCRP を阻害することが示唆されるため、ソホスブビル又はこれらトランスポーターの基質となる薬剤の吸収及び血漿中曝露量を増加させる可能性がある。一方、ソホスブビル及びベルパタスビルは、両薬剤の代謝及び排泄プロファイルが明確に異なるため、肝臓又は全身循環におけるトランスポーターを介した薬物相互作用の可能性は少ないと考えられる。

ソホスブビル及びベルパタスビルは、それぞれ単剤での毒性プロファイルが明らかにされており、両剤の併用は既知の毒性を悪化させることなく、新たな毒性を生じることもないと予想されるため、ソホスブビルとベルパタスビル併用投与による毒性試験は実施しなかった。予定されている本剤の臨床用量（ソホスブビル 400 mg 及びベルパタスビル 100 mg）において、ソホスブビル及びベルパタスビルを単剤又は配合剤として投与した時の臨床安全性プロファイルに、これまで安全性及び忍容性の懸念は認められていない。

本 CTD で考察する非臨床試験結果は、成人の HCV 感染症治療薬として本剤の有益なベネフィット／リスクプロファイルを裏付けるものである。用法、用量及び投与期間に関する詳細は 2.5 項に示す。

2 薬理試験

2.1 効力を裏付ける試験

ベルパタスビルを用いた非臨床ウイルス学的試験は、臨床ウイルス学的試験の結果とともにその詳細を 2.7.2.4 項に示す。効力を裏付ける試験及び副次的薬理試験の結果を以下にまとめる。

2.1.1 ベルパタスビル

ベルパタスビルは、HCV NS5A 活性を抑制して HCV 複製を阻害する。HCV レプリコン細胞を用いた試験で、ベルパタスビルは HCV ジェノタイプ 1～6 に対して強い抗ウイルス活性を示し、その平均 EC_{50} 値は 0.002～0.13 nmol/L の範囲であった。NS5A の酵素機能は不明であるため、現時点では、ベルパタスビルによる NS5A 阻害を生化学的に確認することはできない。しかし、第 1 世代の NS5A 阻害剤に対する耐性変異をもつレプリコンがベルパタスビルに対して交差耐性を示すこと、レプリコン耐性選択試験で NS5A 遺伝子にベルパタスビル耐性変異が同定されたこと、並びに生化学的試験でベルパタスビルは NS3/4A プロテアーゼ、NS5B ポリメラーゼ及び HCV 内部リボソーム進入部位（IRES）活性に対して阻害作用を示さないことなど、複数の試験結果によってベルパタスビルが NS5A を標的とすることが裏付けられた。さらに、臨床試験でベルパタスビルの単剤治療期間中に NS5A 耐性変異の発現が認められた。試験の詳細は 2.7.2.4.1 項に示す。

2.1.2 ソホスブビル／ベルパタスビル

ソホスブビルとベルパタスビルの併用により相加的な *in vitro* 抗ウイルス活性を示した。ソホスブビルとベルパタスビルの併用試験において、抗ウイルス作用に対する拮抗作用は認められず、細胞生存率にも有意な変化は認められなかった。*In vitro* 交差耐性試験において、それぞれ単剤として検討した時、他のクラスの抗 HCV 薬の耐性変異はソホスブビル及びベルパタスビルの単剤に対していずれも交差耐性を示さなかった。ソホスブビルに対する感受性低下を示す NS5B S282T 変異レプリコンはベルパタスビルに対して十分な感受性を示した。同様に、ベルパタスビルに対して感受性低下を示した一連の NS5A 変異体に対してソホスブビルは十分な活性を示した。また、二重変異（NS5B S282T＋NS5A 関連耐性変異）では、レプリコンの野生型又は単一変異（NS5A 耐性関連変異）に比べて複製能が有意に低下した。以上より、ソホスブビル及びベルパタスビルの両薬剤間に *in vitro* 抗ウイルス活性に対する相加的な相互作用があること及び *in vitro* 交差耐性がないことから、本剤は臨床で強力な抗 HCV 活性及び有益な耐性プロファイルを示すことが期待される。試験の詳細は 2.7.2.4.1 項に示す。

2.2 副次的薬理試験

HCV 以外のウイルスに対するベルパタスビルの抗ウイルス活性を検討した試験及び他の抗 HCV 薬又は抗ヒト免疫不全ウイルス（HIV）薬の抗ウイルス作用に与えるベルパタスビルの影響を検討した試験の詳細は 2.7.2.4.1 項に示す。

2.2.1 ベルパタスビル

2.2.1.1 *In Vitro* 細胞毒性

複数の細胞株（ヒト肝細胞癌由来細胞株 Huh-7 及び HepG2、ヒト前立腺癌由来細胞株 PC-3、成人 T 細胞白血病由来細胞株 MT-4 並びにヒト肺線維芽細胞由来株 MRC-5）を用いて、ベルパタスビルの *in vitro* 細胞毒性を評価した（2.6.3.1.3 項；PC-281-2014）。ベルパタスビルを 5 日間処理したときの 50%細胞毒性濃度（CC_{50} 値）は、5 種中 4 種の細胞株で 44,444 nmol/L を上回り、PC-3 細胞では 4,028 nmol/L であった。これらの値から、HCV ジェノタイプ 1（ジェノタイプ 1a 及び 1b レプリコン細胞に対する平均 EC_{50} 値はそれぞれ 0.012 及び 0.015 nmol/L）に対する選択指数は 270,000～3,000,000 超と算出された。

2.2.1.2 *In Vitro* 受容体結合試験

哺乳類の酵素、イオンチャネル及び受容体の標準パネルを用いて、ベルパタスビルのオフターゲット活性を評価した結果、ベルパタスビル（10 µmol/L）はいずれの標的に対しても明らかな作用を示さなかった（2.6.3.1.3 項；PC-281-2001）。

2.2.2 ソホスブビル／ベルパタスビル

2.2.2.1 *In Vitro* 細胞毒性

ソホスブビルとベルパタスビルの併用による *in vitro* 細胞毒性をジェノタイプ 1a、1b、2a、3a 及び 4a のレプリコン細胞を用いて検討した。ソホスブビルの最高濃度を 320 nmol/L とし、ベルパタスビルの最高濃度を 0.08 nmol/L（ジェノタイプ 1a）又は 0.064 nmol/L（ジェノタイプ 1b、2a、3a 及び 4a）として併用し、細胞生存率から細胞毒性を評価した。検討したいずれのレプリコン細胞においてもソホスブビルとベルパタスビル併用による細胞生存率の有意な変化は認められなかった（2.6.3.1.2 項；PC-334-2004 及び PC-334-2014）。ソホスブビル及びベルパタスビルによるオフターゲット活性の可能性が低いことから、ソホスブビルとベルパタスビル併用による追加の副次的薬理試験は必要ないと判断した。

2.3 安全性薬理試験

2.3.1 ベルパタスビル

GLP 安全性薬理コアバッテリー試験において、*in vitro* ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子（hERG）カリウムチャネル電流並びに *in vivo* 心血管系、呼吸器系及び中枢神経系に対するベルパタスビルの影響を評価した。ラットの中枢神経系（2.6.3.4.2 項；PC-281-2004）及び呼吸器系（2.6.3.4.2 項；PC-281-2005）に対して、最高用量の 200 mg/kg までベルパタスビルの単回経口投与による影響はいずれも認められなかった。

hERG カリウム電流に対するベルパタスビルの 50%阻害濃度（IC_{50}）は 6.5 µmol/L を上回ると推定された（2.6.3.4.1 項；PC-281-2006）。覚醒雄性ビーグル犬を用いて、ベルパタスビル単回経口投与の心血管系に対する影響をテレメトリー法により評価した。心電図及び血行動態パラメータ

ーに対するベルパタスビル投与の影響はいずれも認められず、無影響量（NOEL）は最高用量である 100 mg/kg であった（2.6.3.4.2 項；PC-281-2003）。NOEL における曝露量［最高濃度（C_{max}）= 1.27 µg/mL］は、本剤を HCV 患者に投与したとき臨床曝露量（C_{max} = 0.259 µg/mL）の約 5 倍であった。

2.3.2 ソホスブビル／ベルパタスビル

ソホスブビルとベルパタスビル併用による安全性薬理試験は実施していない。単剤としてソホスブビル及びベルパタスビルは、安全性薬理試験においていずれも生命維持に重要な器官系に対して生物学的に意義のある影響を示さなかった。ソホスブビル及びベルパタスビルでは重複する所見は認められなかったことから、併用によって中枢神経系、心血管系及び呼吸器系に対する明らかな影響が認められることは考えにくい。

2.4 まとめ

単剤としてのベルパタスビルは、HCV ジェノタイプ 1～6 のレプリコン細胞に対して強い阻害作用を示した。ソホスブビルとベルパタスビルの併用により相加的な *in vitro* 抗ウイルス活性を示した。ソホスブビルとベルパタスビルの併用試験において、抗ウイルス作用に対する拮抗作用は認められず、細胞生存率にも有意な変化は認められなかった。*In vitro* 交差耐性試験において、ソホスブビルとベルパタスビルの間に交差耐性は認められなかった。両薬剤間に抗ウイルス活性に対する相加的な相互作用があること及び交差耐性がないことから、ソホスブビルとベルパタスビルの併用投与により、強力な抗 HCV 活性及び有益な耐性プロファイルを示すことが期待される。

多様な細胞種を含む包括的な細胞株パネルに対して、ベルパタスビルは明らかな細胞毒性を示さなかった。

ベルパタスビルは臨床的に意味のあるオフターゲット作用を示さず、安全性薬理試験では心血管系、呼吸器系及び中枢神経系に対するベルパタスビルの影響は認められなかった。単剤としてのソホスブビル及びベルパタスビルは、いずれも生命維持に重要な器官系に対して明らかな影響を示さなかったことから、ソホスブビルとベルパタスビル併用による追加の安全性薬理試験は必要ないと判断した。

3 薬物動態試験

ベルパタスビルの吸収、分布、代謝及び排泄プロファイルはヒト生体試料及び動物を用いた非臨床試験で評価した。さらにベルパタスビルとソホスブビルとの薬物相互作用は適切な評価系で評価した。なお、ベルパタスビルの PK は単一製剤で評価した。

3.1 分析法

GLP 下で実施した TK 試験ではバリデートした分析法を用いた。その他の分析法については、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（2.6.5.2 項；BA-281-2007、BA-280-2002、BA-281-2004、BA-281-2003 及び 2.6.4.2 項）。

3.2 吸収及び単回投与後の薬物動態

3.2.1 ベルパタスビル

ベルパタスビルを単回投与したときの PK プロファイルは、マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びサルで検討した（2.6.5.3.1 項；AD-281-2028、2.6.5.3.3 項；AD-281-2002、2.6.5.3.6 項；AD-281-2032、2.6.5.3.9 項；AD-281-2003 及び 2.6.5.3.11 項；AD-281-2004）。ラット、イヌ及びサルでのベルパタスビルの絶対的経口バイオアベイラビリティ（F）は 25%～30%と中程度であった。

ベルパタスビル（非イオン化型）の水に対する溶解度は低く（pH 8.2 で約 3 µg/mL）、絶食状態及び食後状態をシミュレーションした腸液（SIF）ではやや高くなる（pH 6.5 で 28 µg/mL 及び pH 5.0 で 210 µg/mL）。しかし、この低い溶解度及び吸収の飽和により、毒性試験で得られる曝露量に限界があった。毒性試験でベルパタスビルを経口投与したときの曝露量を最大にするために、ラット及びウサギで 4 種類、イヌで 2 種類の投与媒体を検討した（2.6.5.3.3 項；AD-281-2002、2.6.5.3.5 項；AD-281-2020、2.6.5.3.7 項；AD-281-2035、2.6.5.3.8 項；AD-281-2036、2.6.5.3.9 項；AD-281-2003 及び 2.6.5.3.10 項；AD-281-2013）。その結果、ラット及びイヌでは 60%の有機溶媒ベースの溶媒［45%（v/v）プロピレングリコール及び 15%（v/v）Kolliphor® HS-15 を含む RO 水、pH 2.0±0.1］が最適であることが示された。また、ウサギでは、水性懸濁液［0.5%（w/v）ヒドロキシプロピルメチルセルロース（HPMC）、0.1%（v/v）ポリソルベート 20 及び 0.9%（v/v）ベンジルアルコールを含む RO 水］を用いたときに有機溶媒ベースの溶媒よりも高い曝露量が得られた。マウスでは水性懸濁液［0.2%（w/v）HPMC、0.2%（v/v）ポリソルベート 20 及び 99.6%（v/v）水］を用いることによって 1000 mg/kg 投与後まで曝露量は増加した（2.6.5.3.1 項；AD-281-2028）。

3.2.2 ソホスブビル／ベルパタスビル

ヒト結腸癌由来の細胞株（Caco-2）の単層膜細胞を用いた *in vitro* 試験で、ベルパタスビルによる排泄トランスポーターの阻害で、ソホスブビルの forward 方向の透過性が増加した（2.6.5.15.1.1 項；AD-334-2002）。この結果は、臨床でベルパタスビルとの併用によりソホスブビルの曝露量が増加したという結果と一致する。

3.3 反復投与後の薬物動態

3.3.1 ベルパタスビル

マウス、ラット、ウサギ及びイヌにベルパタスビルを経口投与した毒性試験で、ベルパタスビルの TK プロファイルを検討した。ベルパタスビルの血漿中 C_{max} 及び濃度－時間曲線下面積（AUC）の増加率は概して用量比を下回った。また、特に高用量では曝露量がプラトーに達し、最適溶媒を用いてもそれ以上の曝露量が得られなかった。曝露量には顕著な性差は認められなかった（2 倍未満）。ベルパタスビルを反復投与したときの血漿中曝露量は、マウス、ラット及びイヌでは初回投与時と同様であったが、ウサギでは初回投与時より高い値を示した。これらの試験の結果は 2.6.6.3 及び 2.6.6.6 項に要約した。

3.4 分布

3.4.1 タンパク結合率

3.4.1.1 ベルパタスビル

ベルパタスビルは、試験に用いた全ての動物種（マウス、ラット、イヌ、サル及びヒト）で高い血漿タンパク結合率（99.5%超）を示した（2.6.5.6.1 項；AD-281-2037 及び 2.6.5.6.2 項；AD-281-2001）。また、ベルパタスビルの濃度依存的なヒト血漿タンパク結合率も平衡透析法を用いて検討した（2.6.5.6.3 項；AD-281-2029）。臨床で認められたベルパタスビルの C_{max}（259 ng/mL すなわち 0.293 µmol/L、2.7.2.3.2.1.3.1 項）を含む 0.1～2 µmol/L の濃度範囲では、ベルパタスビルのヒト血漿中タンパク結合率に顕著な変化は認められなかった。

3.4.2 組織内分布

3.4.2.1 ベルパタスビル

検討した全ての動物種において血漿タンパク結合率は高かった（99.5%超）が、ラット、イヌ及びサルにおける組織分布は良好で、分布容積（V_{ss}）は 1.5～1.6 L/kg であった（2.6.5.3.3 項；AD-281-2002、2.6.5.3.9 項；AD-281-2003 及び 2.6.5.3.11 項；AD-281-2004）。

マウス並びに有色及び白色ラットに[^{14}C]ベルパタスビルを経口投与したとき、放射能は多くの組織、特に肝臓に速やかに分布した（2.6.5.5.1 項；AD-281-2021、2.6.5.5.2 及び 2.6.5.5.3 項；AD-281-2018）。ベルパタスビルはメラニンに結合すると考えられるが、有色皮膚からの消失は速やかであった。マウスの脳並びにマウス及びラットの精巣では低濃度の放射能が一過性に検出されたのみであることから、放射能はマウスの血液－脳関門並びにマウス及びラットの血液－精巣関門をほとんど通過しないことが示唆された。これは、ベルパタスビルが排出トランスポーターの基質であることと一致する。

3.4.2.2 ソホスブビル／ベルパタスビル

ソホスブビルとベルパタスビルの併用による分布試験は行わなかった。ソホスブビルとベルパ

タスビルの併用投与によって、各薬剤の分布プロファイルが変化することは考えにくい。

3.4.3 妊娠及び授乳中動物での分布

3.4.3.1 ベルパタスビル

妊娠 13 日又は 18 日の妊娠ラットに[^{14}C]ベルパタスビルを単回経口投与したとき、放射能は母動物の組織に広く分布したが（2.6.5.7.1 項；AD-281-2031）、放射能が胎盤を通過することはなく、胎児の血液及び全身には放射能は検出されなかった。

妊娠マウス（2.6.7.13.1 項；TX-281-2032）、ラット（2.6.7.11 項；TX-281-2009 及び 2.6.7.13.2 項；TX-281-2013）及びウサギ（2.6.7.11 項；TX-281-2010 及び 2.6.7.13.3 項；TX-281-2014）を用いてベルパタスビルの TK パラメーターを検討したところ、妊娠動物と非妊娠動物での曝露量は概ね同様であった。

授乳中の児動物におけるベルパタスビルの血漿中曝露量は、ラット経口投与出生前及び出生後の発生並びに母体機能に関する試験の一部として検討した（2.6.7.14.1 項；TX-281-2027）。児動物の血漿中にベルパタスビルが検出され、曝露の増加率は母動物での用量比を上回った。母動物での血漿中曝露量（AUC）は、児動物での曝露量の 20 倍超であった。

3.5 代謝

3.5.1 *In vitro* 代謝

3.5.1.1 ベルパタスビル

In vitro 試験におけるベルパタスビルの代謝安定性の結果は、非臨床試験での各動物種でベルパタスビルの全身クリアランス（肝血流量の 14%～25%）が低値であったことと一致している。ベルパタスビルを種々の動物の肝ミクロソーム及びヒト肝細胞とインキュベートしたとき、ベルパタスビルが代謝される割合は低かった（2.6.5.9.1 項；AD-281-2039 及び 2.6.5.9.2 項；AD-281-2006）。なお、ベルパタスビルの代謝にはシトクロム P450（CYP）2B6、CYP2C8 及び CYP3A4 が関与している（2.6.5.9.3 項；AD-281-2007）。

3.5.1.2 ソホスブビル／ベルパタスビル

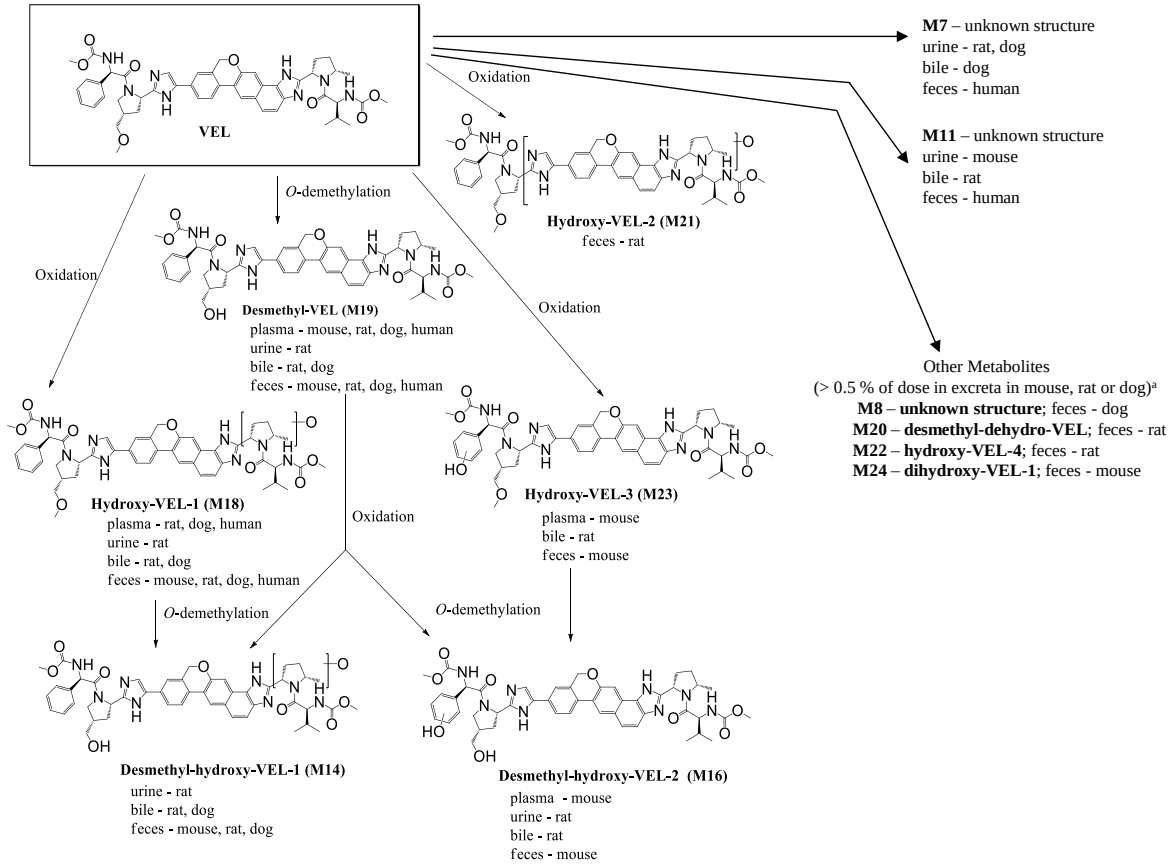
HCV レプリコン細胞においてソホスブビルとベルパタスビルの併用による相加的なウイルス作用がみられたことと一致して（2.7.2.4.1 項；PC-334-2004）、ベルパタスビルはヒト初代培養肝細胞でソホスブビルの細胞内活性化に顕著な影響を及ぼさなかった（2.6.5.12.1.1 項；AD-334-2010）。

3.5.2 *In vivo* 代謝

3.5.2.1 ベルパタスビル

マウス、ラット、イヌ及びヒトに[^{14}C]ベルパタスビルを経口投与したとき、循環血中には未変化体が最も多く認められ、血漿中総放射能の 71%超を占めていた（2.6.5.10.1 項；AD-281-2022、2.6.5.10.3 項；AD-281-2019、2.6.5.10.5 項；AD-281-2024 及び 2.7.2.2.2.2.3 項；GS-US-281-1055）。ヒト血漿中には主要な代謝物は認められなかった。全動物種（マウス、ラット、イヌ及びヒト）の糞中に最も多く認められたのは未変化体であり（投与量の 63%超）、本剤が消化管から吸収されにくいこと、及び吸収されたベルパタスビルは胆汁中に排泄されることが示唆された。また、胆管カニューレ（BDC）処置ラット及びイヌの胆汁中に回収された放射能のうち、未変化体の割合はそれぞれ 11.7%及び 55.5%であった。同定された代謝物のうち、主なものは酸化及び／又は *O*-脱メチル化によって生成された数種の代謝物であった。ヒトに特有の代謝物は認められなかった。推定代謝経路を図 1 に示す。

図 1 [^{14}C]ベルパタスビルを経口投与したときの血漿、尿、胆汁及び糞中で同定された代謝物に基づくベルパタスビルの推定代謝経路



a. Not observed in human excreta; also not observed in nonclinical or human plasma
b. Other metabolites with ≤ 0.5 % of dose in excreta in mouse, rat or dog with quantifiable peak in radiochromatogram include M12 – desmethyl-dihydroxy-VEL-1; M13 – desmethyl-dihydroxy-VEL-2/desmethyl-dihydroxy-VEL-3; M15 – dihydroxy-VEL-2; M17 – dihydroxy-VEL-3, M25 – hydroxy-VEL-glucuronide. M1, M2, M3, M4, M5, M6, M9, and M10 were also observed; their structures are unknown
Note: The metabolites and pathways are proposed based on general knowledge of metabolism and do not imply definitive

pathways. Direct experimentation has not been performed.
Source: AD-281-2022, AD-281-2019, AD-281-2024, and GS-US-281-1055

3.5.2.2 ソホスブビル／ベルパタスビル

ソホスブビルとベルパタスビル併用による *in vivo* 代謝試験は実施していない。ソホスブビルとベルパタスビルの代謝経路が異なること、*in vitro* 試験でヒト初代培養肝細胞におけるソホスブビルの細胞内代謝にベルパタスビルの影響が認められなかったこと（2.6.5.12.1.1 項；AD-334-2010）を考慮すると、ソホスブビルとベルパタスビルの併用投与によって各々の薬剤の代謝が変化することはないと考えられる。

3.6 排泄

3.6.1 尿・糞・胆汁中排泄

3.6.1.1 ベルパタスビル

マウス、ラット及びイヌに[^{14}C]ベルパタスビルを経口投与したとき（2.6.5.13.1 項；AD-281-2021、2.6.5.13.2 項；AD-281-2018 及び 2.6.5.13.3 項；AD-281-2023）、投与放射能の 93.6%～96.9%が糞中に排泄され、本剤が消化管から吸収されにくいこと、及び吸収されたベルパタスビルは胆汁中に排泄されることが示唆された。放射能の尿中排泄率は、投与量の 0.27%未満であった。BDC 処置ラット及びイヌでの結果から、吸収された放射能の 98%超が胆汁中に排泄されると推定された。BDC 処置ラットにベルパタスビルを静脈内投与したとき、投与量の約 16%が未変化体として胆汁中に回収された（2.6.5.13.4 項；AD-281-2005）。以上の結果から、未変化体及び代謝物の胆汁中への排泄がベルパタスビルの主要排泄経路であると考えられる。

3.6.1.2 ソホスブビル／ベルパタスビル

ソホスブビルとベルパタスビルの併用による排泄試験は行わなかった。ソホスブビルは主要代謝物である GS-331007 への代謝を経て腎から排泄されるのに対し、ベルパタスビルの主要排泄経路は未変化体及び代謝物の胆汁中への排泄である。両薬剤の排泄経路が異なることから、ソホスブビルとベルパタスビルの併用によって各々の薬剤の排泄が変化することはないと考えられる。

3.6.2 乳汁中排泄

3.6.2.1 ベルパタスビル

授乳ラットに[^{14}C]ベルパタスビルを経口投与したとき、乳汁中放射能の最高濃度到達時間（T_{max}）は 4 時間であり、投与後 24 時間までに検出されなくなった（2.6.5.7.1 項；AD-281-2031）。平均乳汁中／血漿中曝露（AUC）比は 1.74 であった。

3.7 薬物相互作用

3.7.1 ベルパタスビル

3.7.1.1 CYP 及び UGT1A1 に対する阻害

ベルパタスビルは CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 又は CYP3A4 など、検討したいずれの CYP も阻害しなかった（IC_{50} > 25 µmo/L、2.6.5.12.2.1 項；AD-281-2008）。そのため、ベルパタスビルがこれら CYP によって代謝される薬物の代謝クリアランスを阻害するとは考えにくい。ベルパタスビルは、*in vitro* でウリジン 5'-二リン酸-グルクロン酸転移酵素（UGT）1A1 に対して阻害作用を示し、IC_{50} 値は 1.56 µmol/L であった（2.6.5.12.2.2 項；AD-281-2016）。しかし、IC_{50} 値がヒト血漿中非結合型濃度の C_{max}（3 nmol/L 未満）を大幅に上回っていることから、ベルパタスビルが UGT1A1 に対して臨床的に重要な阻害作用を示す可能性は低いと考えられる。

3.7.1.2 誘導作用

異なる 3 名のドナー由来のヒト培養肝細胞を用いた評価では、ベルパタスビルによる CYP の活性又はメッセンジャーリボ核酸（mRNA）発現量に対する誘導作用はほとんど又は全く認められなかった（2.6.5.12.2.4 項；AD-281-2025）。検討した最高濃度の 10 µmol/L で、CYP2B6 及び CYP3A4 の活性並びに mRNA 発現量のわずかな上昇が認められたが、これは陽性対照によって誘導される程度の 20%未満であった。CYP2C9、P-gp 又は UGT1A1 については、濃度依存的な mRNA 発現量の増加は認められなかった。これらの結果は、ベルパタスビルが芳香族炭化水素受容体（AhR）及びプレグナン X 受容体（PXR）を活性化させる可能性はごくわずかであることを示したデータと一致している（2.6.5.12.2.3 項；AD-281-2009）。以上の結果から、ベルパタスビルが PXR、恒常的活性化アンドロスタン受容体又は AhR 介在経路を介して臨床的に問題となる誘導剤として作用する可能性は低い。

3.7.1.3 トランスポーターを介した相互作用

ベルパタスビルは P-gp 及び BCRP の基質であり、その吸収は P-gp 及び BCRP の誘導剤との併用によって低下し、その阻害剤との併用で上昇する可能性がある（2.6.5.15.2.4 項；AD-281-2041）。ベルパタスビルの吸収増加が認められたトランスポーター阻害剤であるシクロスポリン A（CsA）を用いた臨床薬物相互作用試験で、ベルパタスビルの吸収過程における P-gp 及び／又は BCRP の寄与を確認した（2.7.2.2.5.2.1 項；GS-US-281-0115）。なお、*in vitro* 試験では、ベルパタスビルが OATP1B1、OATP1B3 又は OCT1 の基質であることを裏付ける明白な結果は得られなかった（2.6.5.15.2.3 項；AD-281-2011 及び 2.6.5.15.2.7 項；AD-281-2026）が、相互作用薬であるリファンピシンを単回投与した臨床試験で、ベルパタスビルの PK が OATP1B1 及び／又は OATP1B3 阻害によって弱い影響を受けることが示された（2.7.2.2.5.2.1 項；GS-US-281-0115）。

ベルパタスビルは *in vitro* 試験で多くのトランスポーターの阻害剤となることが示唆されたが、血漿タンパク結合率が高いこと及び血中濃度が低いことから、全身的な薬物相互作用を引き起こす可能性は低いと考えられる。P-gp、多剤耐性関連蛋白質（MRP）2、Na^+タウロコール酸共輸送ポリペプチド（NTCP）、OATP1B1、OATP1A2、OATP2B1、OCT1、OCT2、有機アニオントランスポーター（OAT）1、OAT3 及び MATE1 に対するベルパタスビルの IC_{50} 値は血漿中非結合型濃

度の C_{max}（2.93 nmol/L、タンパク非結合率 1%と仮定）の 500 倍超であり、これらトランスポーターを介した全身的な薬物相互作用の可能性はないことが示唆された。OATP1B3（0.26 µmol/L）及び BCRP（0.30 µmol/L）に対する IC_{50} 値は非結合型濃度の C_{max} の 80 倍超であり、これらトランスポーターを介した全身的な薬物相互作用の可能性は低いことが示された。

消化管内の最高濃度が 453 µmol/L と推定されることから、ベルパタスビルは消化管に発現する P-gp、BCRP 及び OATP2B1 を阻害する可能性がある。*In vitro* 試験の結果と一致して、BCRP の典型的基質であるロスバスタチン及び P-gp の典型的基質であるジゴキシンを併用投与したところ、ベルパタスビルはこれら薬剤の曝露量を増加させた（2.7.2.2.5.2.1 項；GS-US-281-0115）。

門脈での非結合型濃度が 0.305 µmol/L（血漿タンパク非結合率を 1%と仮定）と推定されることから、ベルパタスビルが初回通過過程で肝取り込みトランスポーターである OATP1B1（IC_{50} = 1.5 µmol/L）及び OATP1B3（IC_{50} = 0.26 µmol/L）をやや阻害する可能性も示された。これらの *in vitro* 試験での所見はベルパタスビルが OATP の基質であるプラバスタチン投与後の曝露をやや上昇（40%未満）させた臨床薬物相互作用試験の根拠となる（2.7.2.2.5.2.1 項；GS-US-281-0115）。また、OATP の阻害は同試験で認められたロスバスタチンの顕著な曝露量増加の原因となった可能性がある。

3.7.2 ソホスブビル／ベルパタスビル

3.7.2.1 CYP 及び UGT1A1 に対する阻害

非臨床試験の結果から、ソホスブビル及びベルパタスビルは従来の薬物代謝酵素の臨床的に意義ある阻害剤でも誘導剤でもないことが示唆され、ソホスブビルとベルパタスビルの併用により、CYP 又は UGT1A1 を介した薬物相互作用を引き起こす可能性は低いと考えられた。臨床薬物相互作用試験で UGT1A1 の基質であるドルテグラビルの PK はソホスブビル／ベルパタスビル配合錠の投与により影響を受けなかった（2.7.2.2.5.1.1 項；GS-US-342-1167）。

ソホスブビルは酸化代謝を受けないが、ベルパタスビルは CYP3A4、CYP2B6 及び CYP2C8 により酸化代謝される。臨床試験において、ベルパタスビルの曝露量はこれら代謝酵素の誘導剤によって減少し、阻害剤によって上昇することが示された（2.7.2.2.5.2.1 項；GS-US-281-0115）。

3.7.2.2 細胞内活性化

ソホスブビルの細胞内活性化経路は活性が高く、通常の併用投与薬によって細胞内活性化が阻害される可能性は低い。*In vitro* 試験でソホスブビル及びベルパタスビルをヒト初代培養肝細胞とインキュベーションしたところ、ソホスブビルの活性代謝物である GS-461203 の生成に顕著な影響はなかった（2.6.5.12.1.1 項；AD-334-2010）。これらのヒト初代培養肝細胞における結果と一致して、HCV ジェノタイプ 1a、2a、3a 及び 4a レプリコン細胞においてソホスブビルとベルパタスビルの併用によって相加的からわずかに相乗的な抗ウイルス活性が認められた（2.7.2.4.1 項；PC-334-2004 及び PC-334-2014）。

3.7.2.3 誘導作用

ヒト培養肝細胞を用いたソホスブビル又はベルパタスビルの誘導試験で、臨床的に重要な誘導作用が起こる可能性は極めて低いことが示された。検討したソホスブビル及びベルパタスビルの

最高濃度で、CYP2B6 及び CYP3A4 の活性及び／又は mRNA 発現量のわずかな上昇が認められたが、これは各陽性対照薬物によって誘導される程度の 20%未満であった。従って、ソホスブビルとベルパタスビルの併用により臨床的に問題となる誘導作用が生じることはないと考える。*In vitro* 試験の結果と一致して、臨床薬物相互作用試験で誘導作用を裏付けるエビデンスは認められなかった。例えば、ソホスブビル／ベルパタスビル配合錠の投与により、併用投与した非ヌクレオシド阻害剤（エファビレンツ及びリルピビリン）、インテグラーゼ阻害剤（ラルテグラビル、ドルテグラビル及びエルビテグラビル）又はブーストで用いられるプロテアーゼ阻害剤（アタザナビル、ロピナビル又はダルナビル）などの抗レトロウイルス薬濃度に臨床的に意味のある減少は認められなかった（2.7.2.2.5.1.1 項；GS-US-342-1167 及び 2.7.2.2.5.1.2 項；GS-US-342-1326）。同様に、併用投与したトランスポーター阻害剤 CsA に対するベルパタスビルの影響は非常に軽微であった（2.7.2.2.5.2.1 項；GS-US-281-0115）。

3.7.2.4 トランスポーターを介した相互作用

ソホスブビルとベルパタスビルはいずれも吸収過程でトランスポーターを介した薬物相互作用を生じる可能性がある。ソホスブビル及びベルパタスビルはいずれも消化管の排出トランスポーターの基質であり、その吸収はこれらトランスポーターの阻害剤との併用投与により上昇し、その誘導剤によって減少する可能性がある。ソホスブビルは P-gp 及び BCRP の基質であるが、これらトランスポーターの阻害剤ではない。ベルパタスビルは、P-gp 及び BCRP の基質である。ベルパタスビルは吸収過程での消化管内濃度で P-gp、BCRP 及び OATP2B1 を阻害する可能性がある。*In vitro* 試験での Caco-2 単層膜細胞に対するソホスブビルの膜透過性はベルパタスビルなどのトランスポーター阻害剤の存在下で上昇し（2.6.5.15.1.1 項；AD-334-2002）、これに一致して、ソホスブビルとベルパタスビルの併用投与後にソホスブビルの血漿中曝露量の増加が認められている（2.7.2.2.2.2.1 項；GS-US-281-0101）。

血漿中濃度に基づくと、ソホスブビルとベルパタスビルの併用によって全身循環中でトランスポーターが阻害される可能性は認められなかった。ベルパタスビルは、臨床試験で OATP の基質であるプラバスタチンの濃度をやや上昇させたことから示されるとおり、OATP1B1 及び OATP1B3 の阻害剤となる。ソホスブビル及びその主要代謝物である GS-331007 は OATP1B1、OATP1B3 又は OCT1 の基質でも阻害剤でもない。

ソホスブビル、GS-331007 及びベルパタスビルは、臨床濃度で腎トランスポーターである OCT2、OAT1、OAT3 又は MATE1 を阻害しなかった。GS-331007 は糸球体ろ過及び尿細管分泌によって腎臓から排泄されるが、これら腎トランスポーターの基質ではない。ソホスブビルとベルパタスビルの併用により、これら腎トランスポーターの阻害を介して薬物相互作用が生じる可能性はない。

3.8 まとめ

ベルパタスビルは、中程度のバイオアベイラビリティを有し、全身クリアランスは小さい。ベルパタスビル及びソホスブビルを配合錠として投与したときに生じる相互作用は、ベルパタスビルによって消化管の P-gp 及び BCRP が阻害された結果、ソホスブビルの吸収が増加することのみである。なお、ベルパタスビルの血漿タンパク結合率は高い。ベルパタスビルの主要消失経路は、

未変化体及び代謝物としての胆汁中排泄である。

非臨床試験の結果から、ベルパタスビルは主要な薬物代謝酵素に対する阻害剤でも誘導剤でもなく、ベルパタスビルが CYP 又は UGT1A1 を介した薬物相互作用を引き起こす可能性は低いことが示唆された。ベルパタスビルは CYP3A4、CYP2B6 及び CYP2C8 による酸化代謝を受ける。ソホスブビルの細胞内活性化経路は活性が高く、通常の併用投与薬によって細胞内活性化が阻害される可能性は低い。ベルパタスビルは消化管の排出トランスポーターの基質であり、その吸収はこれらトランスポーターの阻害剤との併用投与により上昇し、その誘導剤によって減少する可能性がある。ベルパタスビルは吸収過程での消化管内濃度で P-gp、BCRP 及び OATP2B1 を阻害することが示唆されるため、これらトランスポーターの基質を併用投与した場合、その吸収に影響を及ぼす可能性が考えられる。ベルパタスビルは肝トランスポーターである MRP2、NTCP、OCT1 及び OATP1A2 の臨床的に意義ある阻害剤ではなかった。ベルパタスビルは *in vivo* で OATP1B1 及び OATP1B3 の阻害剤であることが明らかにされ、臨床薬物相互作用試験ではプラバスタチン濃度をわずかに上昇させた。

4 毒性試験

4.1 概略

ソホスブビル及びベルパタスビルの包括的な非臨床毒性試験プログラムは完了している。これらの試験により、ソホスブビルの単回投与、及びソホスブビルとベルパタスビルの反復投与毒性、遺伝毒性、がん原性、並びに生殖発生毒性の特性が明らかにされた。完了したベルパタスビルの試験の詳細を 2.6.6 項に、一覧を表 1 及び表 2 に示した。本項に記載する非臨床毒性試験によってベルパタスビルの毒性は十分に評価されており、臨床試験結果との比較及び解釈が可能である。

個々の薬剤について明確にされた毒性プロファイルに基づくと、ソホスブビルとベルパタスビルの併用投与によって既知の毒性が高まること又は新たな毒性が発現することはないと予測される。このため、ソホスブビルとベルパタスビルの併用投与による毒性試験は実施しなかった。本剤の予定臨床用量（ソホスブビル 400 mg 及びベルパタスビル 100 mg）においては、単剤として又は本剤として投与したときの両化合物の臨床的安全性プロファイルにより、現在まで安全性又は忍容性に関する問題はないことが示されている。

表 1 ベルパタスビルの毒性試験プログラム

試験	試験番号	投与量又は濃度	概要表
反復投与毒性			
主要な試験			
トランスジェニックマウス 4 週間経口投与毒性試験	TX-281-2028	0、100、300、1500 mg/kg/日	2.6.7.7.1
ラット 2 週間経口投与毒性試験	TX-281-2003	0、20、60、200 mg/kg/日	2.6.7.7.2
ラット 26 週間経口投与毒性試験	TX-281-2007	0、20、60、200 mg/kg/日	2.6.7.7.3
イヌ 2 週間経口投与毒性試験	TX-281-2004	0、5、20、100 mg/kg/日	2.6.7.7.4
イヌ 39 週間経口投与毒性試験	TX-281-2008	0、5、20、100 mg/kg/日	2.6.7.7.5

表 1　ベルパタスビルの毒性試験プログラム（続き）

試験	試験番号	投与量又は濃度	概要表
遺伝毒性			
***In vitro* 試験**			
細菌を用いた復帰突然変異試験	TX-281-2005	16～5000 µg/plate（代謝活性化あり／なし）	2.6.7.8.1
In vitro 染色体異常試験	TX-281-2006	代謝活性化あり：3 時間 代謝活性化なし：3 及び 24 時間、84～500 µg/mL	2.6.7.8.2
***In vivo* 試験**			
ラット骨髄小核試験	TX-281-2003	0、20、60、200 mg/kg	2.6.7.9.1
がん原性			
トランスジェニックマウス 26 週間経口投与がん原性試験	TX-281-2043	30、100、1000 mg/kg/日	2.6.7.10.1
ラット 24 ヵ月間経口投与がん原性試験	TX-281-2030	20、60、200 mg/kg/日	2.6.7.10.2
生殖発生毒性			
主要な試験以外の試験			
妊娠ラット経口投与用量設定試験	TX-281-2009	0、20、60、200 mg/kg/日	2.6.7.11
妊娠ウサギ経口投与用量設定試験	TX-281-2010	0、100、300、600 mg/kg/日	2.6.7.11
主要な試験			
ラット経口投与受胎能及び初期胚発生試験	TX-281-2012	0、20、60、200 mg/kg/日	2.6.7.12.1
マウス経口投与胚・胎児試験	TX-281-2032	0、10、30、100、1000 mg/kg/日	2.6.7.13.1
ラット経口投与胚・胎児試験	TX-281-2013	0、20、60、200 mg/kg/日	2.6.7.13.2
ウサギ経口投与胚・胎児試験	TX-281-2014	0、30、100、300 mg/kg/日	2.6.7.13.3
ラット経口投与出生前及び出生後の発生並びに母体機能に関する試験	TX-281-2027	0、20、60、200 mg/kg/日	2.6.7.14.1
局所刺激性			
ウシ角膜濁度及び透過性試験（BCOP）	TX-281-2039	20% w/w（濁度= 4 時間、透過性= 90 分間）	2.6.7.16
ウサギ皮膚刺激性試験	TX-281-2040	0.5 g（4 時間）	2.6.7.16

表 1　ベルパタスビルの毒性試験プログラム（続き）

試験	試験番号	投与量又は濃度	概要表
その他の毒性試験			
ラット 5 日間経口投与毒性試験	TX-281-2001	0、50、150、450 mg/kg/日	2.6.7.17.2
マウス局所リンパ節を用いた皮膚感作性試験	TX-281-2041	10、25、50% w/v	2.6.7.17.2
不純物39* の細菌を用いた復帰突然変異試験	TX-281-2033	0.016～5000 µg/plate（代謝活性化あり／なし）	2.6.7.17.1
ラット 14 日間経口投与不純物安全性確認試験	TX-281-2042	0、60、200 mg/kg/日	2.6.7.17.2
Balb/c 3T3 細胞ニュートラルレッド取り込み光毒性試験	TX-281-2015	0.013～40.3 mg/L	2.6.7.17.1
In vivo 光毒性試験	TX-281-2016	0、20、60、200 mg/kg/日	2.6.7.17.2

4.2　単回投与毒性

4.2.1　ベルパタスビル

ベルパタスビルを用いた単回投与毒性試験は実施していない。しかし、PK 試験において、ラットへの 600 mg/kg まで及びイヌへの 200 mg/kg までの単回投与は忍容性良好であった（2.6.5.3.4 項；AD-281-2014 及び 2.6.5.3.10 項；AD-281-2013）。

4.3　反復投与毒性

4.3.1　ベルパタスビル

強制経口投与によるマウス 4 週間（2.6.7.7.1 項；TX-281-2028）、ラット及びイヌ 2 週間（2.6.7.7.2 項；TX-281-2003 及び 2.6.7.7.4 項；TX-281-2004）短期反復投与試験並びにラット 26 週間（2.6.7.7.3 項；TX-281-2007）、イヌ 39 週間（2.6.7.7.5 項；TX-281-2008）長期毒性試験では、ベルパタスビルに関連した明らかな標的臓器毒性は認められなかった。ラット及びイヌでは最適溶媒を用いてもベルパタスビル吸収の飽和が起こったため、高用量をそれぞれ 200 及び 100 mg/kg/日としたが、マウスではこれより高い曝露量を得ることができた。ベルパタスビルに関連した所見は、マウスでは 1500 mg/kg/日を投与された雄で観察された白血球数、好中球絶対数及びリンパ球絶対数の有害ではない軽度の減少に限られた。ラットでは、第 13 週の中間剖検時に 1 匹で乳腺がんが認められたが、13 週間及び 26 週間のベルパタスビル投与後に高用量群のその他の雌雄ラットの乳腺には増殖性変化が認められなかったこと及び同様の週齢の雌性ラットで報告されている乳腺がんの発生頻度と同程度であったことから、ベルパタスビル投与と関連しない自然発生腫瘍であると考えられた［1、2］。イヌを用いた長期投与毒性試験では、100 mg/kg/日群の雌雄で嘔吐の発生頻度

* 新薬承認情報提供時に置き換え

の軽度増加、100 mg/kg/日群の雌で中等度の摂餌量低下が認められたが、いずれも有害な反応ではないと判断された。39 週間投与後に 100 mg/kg/日群の雌で観察されたフィブリノゲン及びグロブリン濃度の軽度低下並びにアルブミン：グロブリン比の軽度上昇も有害な反応ではないと判断された。また、同試験で第 13 週の中間評価時に前立腺重量の増加がみられたが、39 週間投与後には前立腺重量への影響はなく、13 週間及び 39 週間投与後の前立腺に病理組織学的検査所見は認められなかったことから、ベルパタスビルとの関連はないと判断し、有害とはみなさなかった。マウスにおける無毒性量（NOAEL）は 1500 mg/kg/日であった［第 4 週の 0 時間から定量可能時間までの AUC（AUC_{0-t}）は 220 µg·h/mL、雌雄合算値］。長期投与毒性試験で得られたラット及びイヌにおける NOEL/NOAEL はそれぞれの動物種で試験に用いた最高用量であり、ラットで 200 mg/kg/日（第 26 週の AUC_{0-t} は 12.2 µg·h/mL、雌雄合算値）、イヌでは 100 mg/kg/日（第 39 週の AUC_{0-t} は 27.8 µg·h/mL、雌雄合算値）であった。最長期間の試験における NOEL/NOAEL 用量での血漿中ベルパタスビル濃度の AUC に基づいたそれぞれの動物種の曝露量は、本剤を 1 日 1 回投与された被験者における全身曝露量の約 74 倍（マウス）、5 倍（ラット）及び 10 倍（イヌ）であった。

4.4 遺伝毒性

4.4.1 ベルパタスビル

ベルパタスビルは、細菌を用いる復帰突然変異試験で陰性であり（2.6.7.8.1 項；TX-281-2005）、染色体異常誘発性も認められなかった（2.6.7.8.2 項；TX-281-2006）。ベルパタスビルは、200 mg/kg/日までの用量を 14 日間経口投与したラットの骨髄を用いた小核試験でも陰性を示した（2.6.7.9.1 項；TX-281-2003）。

表 2　ベルパタスビルの遺伝毒性試験の要約

Type of test	Test System	Metabolic Activation [a]	Dose/ Concentration	Results
Microbial reverse mutation assay	*S. typhimurium* and *E. coli*	Without and With	16-5000 µg/plate	(–)
In vitro chromosome aberration test	Human peripheral lymphocytes			
	3-hour	Without	172-500 µg/mL	(–)
	24-hour	Without	172-500 µg/mL	(–)
	3-hour	With	172-500 µg/mL	(–)
In vivo micronucleus test	Sprague-Dawley Rat[b]	N/A	0, 20, 60, 200 mg/kg	(–)

N/A = Not applicable. (-) = not genotoxic
a Aroclor-induced rat liver S-9 fraction from male Sprague-Dawley rats.
b Mean velpatasvir AUC_{0-t} (area under the concentration versus time curve from time zero to the last quantifiable concentration) on Day 14 in male rats administered 200 mg/kg/day was 21.396 µg·h/mL

4.5 がん原性

4.5.1 ベルパタスビル

rasH2 トランスジェニックマウスを用いた 6 ヵ月間投与試験（2.6.7.10.1 項；TX-281-2043）及びラット 2 年間投与試験（2.6.7.10.2 項；TX-281-2030）を実施し、ベルパタスビルのがん原性を検討した。ベルパタスビルは rasH2 トランスジェニックマウスへの 1000 mg/kg/日までの投与及びラットへの 200 mg/kg/日までの投与でがん原性を示さなかった。このときの曝露量は本剤の臨床曝露量のマウスで最大 91 倍［マウス 4 週間反復投与試験（2.6.7.7.1 項；TX-281-2028）のデータより推定］、ラットで最大 7 倍であった。

4.5.2 ソホスブビル／ベルパタスビル

ソホスブビル及びベルパタスビルはいずれも本剤の臨床曝露量を上回る曝露量でラット及びマウスにおいてがん原性を示さなかった。したがって、ソホスブビルとベルパタスビルの併用によるがん原性試験は必要ないと判断される。

4.6 生殖発生毒性

4.6.1 ベルパタスビル

ラットを用いて交配前から剖検時（雄）又は妊娠初期（雌）までベルパタスビルを 1 日 1 回経口投与したとき、一般状態、体重、摂餌量及び親動物毒性への影響は認められなかった（2.6.7.12.1 項；TX-281-2012）。雄又は雌の生殖能に、ベルパタスビルによる影響は認められなかった。性周期には生物学的に意義のある影響は認められず、胚・胎児の生存にもベルパタスビルの影響はみられなかった。また、評価対象としたいずれの精子パラメーターも、ベルパタスビルの影響を受けなかった。ラットにおける受胎能及び着床までの初期胚発生に対する NOEL は、試験に用いた最高用量の 200 mg/kg/日であった。NOEL でのベルパタスビル曝露量は本剤投与後の臨床曝露量（AUC）の約 6 倍［雌雄合算値、ラット 2 週間投与試験（2.6.7.7.2 項；TX-281-2003）の第 14 日におけるベルパタスビル曝露量に基づく］であった。

胚・胎児発生毒性試験は、マウス（2.6.7.13.1 項；TX-281-2032）、ラット（2.6.7.13.2 項；TX-281-2013）及びウサギ（2.6.7.13.3 項；TX-281-2014）を用いて実施した。マウス及びラットでは、母動物又は胚・胎児毒性への影響はみられず、NOEL は試験に用いたベルパタスビルの最高用量であり、マウスで 1000 mg/kg/日（妊娠 15 日における $AUC_{0\text{-}t}$ は 93 μg·h/mL）、ラットでは 200 mg/kg/日（妊娠 17 日における $AUC_{0\text{-}t}$ は 17.1 μg·h/mL、2.6.7.11 項；TX-281-2009）であった。ウサギでは、300 mg/kg/日の高用量群の 1 匹で被験物質に関連した死亡が認められ、母動物毒性に対する NOEL は 100 mg/kg/日、胚・胎児発生に対する NOEL は 300 mg/kg/日であった（妊娠 20 日における $AUC_{0\text{-}t}$ は、それぞれ 1.94 μg·h/mL 及び 2.06 μg·h/mL）。この胚・胎児発生毒性試験の NOEL におけるマウス、ラット及びウサギのベルパタスビル曝露量は、本剤投与後の臨床曝露量と比較して約 31 倍、6 倍及び 0.7 倍であった。

ラットを用いた出生前及び出生後の発生試験（2.6.7.14.1 項；TX-281-2027）では、最高用量 200 mg/kg/日までのベルパタスビルで母動物への影響並びに児動物の行動、生殖能力又は発育に

対する影響は認められなかった。この試験で得られた母動物及び F1 児動物に対する NOEL における母動物（F0）のベルパタスビル曝露量（授乳 10 日における AUC_{0-t} は 13.9 μg·h/mL）は、本剤投与後の臨床曝露量の約 5 倍であった。

4.6.2 ソホスブビル／ベルパタスビル

ソホスブビル及びベルパタスビルの単独投与では、生殖能又は発生に対する影響は認められなかった。個々の薬剤の生殖能又は発生に対する NOEL/NOAEL での曝露量は、ヒトにおける曝露量を上回っていた。ソホスブビルとベルパタスビルの併用によって個々の薬剤の生殖発生毒性プロファイルが変化するとは考えられないため、これらを併用するさらなる試験は不要であると考えられる。

4.7 幼若動物を用いた試験

幼若動物に対するベルパタスビルの毒性を評価するための独立した試験は実施していない。ソホスブビル及びベルパタスビルの毒性は、反復投与毒性試験及び生殖発生毒性試験によって十分に明らかにされており、小児集団において発生する可能性のあるような組織への有害作用は観察されていない。

4.8 局所刺激性

4.8.1 ベルパタスビル

ラット及びイヌを用いた長期反復経口投与試験において消化管に対する局所刺激性を評価した結果、特記すべき消化管への影響は認められなかった。

ベルパタスビルは、皮膚に対して非刺激性と分類され（2.6.7.16 項；TX-281-2040）、眼に対しても強度の刺激性は認められなかった（2.6.7.16 項；TX-281-2039）。

4.8.2 ソホスブビル／ベルパタスビル

本剤は経口投与することが想定されている。ソホスブビル及びベルパタスビルの単独投与時に臨床的に重要な所見が認められなかったことに基づくと、ソホスブビルとベルパタスビルの併用投与によって既知の毒性が高まること又は新たな毒性が発現することはないと予測される。このため、ソホスブビル／ベルパタスビル配合単一錠での局所刺激性試験は実施しなかった。

4.9 その他の毒性試験

4.9.1 抗原性試験

ベルパタスビルは抗原性を示唆する毒性所見が認められなかったため、抗原性試験は実施していない。マウスを用いた局所リンパ節試験ではベルパタスビル（2.6.7.17.2 項；TX-281-2041）に感作性は認められなかった。

4.9.2 免疫毒性試験

ベルパタスビルの免疫毒性について、独立した試験は実施していない。一般毒性試験の評価項目によって免疫毒性の可能性を評価できると考えられた。反復投与毒性試験において、ベルパタスビルは免疫に関する懸念があることを示す結果は得られていない。このため、ベルパタスビルの免疫毒性を評価するための独立した試験は不要であると考えられる。

4.9.3 毒性発現の機序に関する試験

ベルパタスビルについて、毒性発現の機序に関する独立した試験は実施していない。

4.9.4 依存性試験

ベルパタスビルについて、独立した依存性試験は実施していない。マウス及びラットにおける放射性標識したベルパタスビルの組織内分布試験（2.6.4.4.1.2 項）において、中枢神経系における放射能濃度の C_{max} は非常に低いことが示されている。

4.9.5 代謝物の毒性試験

ベルパタスビルの代謝物に関する独立した試験は実施していない。ベルパタスビル経口投与後、ヒト血漿中に主要な代謝物又はヒト特異的な代謝物は存在しない（2.6.4.6.1 項）。

4.9.6 不純物及び分解生成物の毒性試験

原薬又は製剤のロットで、ベルパタスビルに関連する不純物及び分解生成物が同定されている。非臨床毒性試験で使用した原薬又は製剤ロットにおける不純物プロファイルは、2.6.7.4 項に示している。本剤の出発物質、工程中間体、実際に存在する不純物及び存在することが予測される不純物の *in silico* 評価並びに専門家による評価の結果、1 種のベルパタスビル出発物質、3 種の出発物質不純物、1 種の工程中間体及び 3 種の工程不純物が変異原性を示す可能性が予測されたが（3.2.S.2.6.1.3.3.5 項）、開発及び工程バリデーションの段階での試験により、これらの不純物が毒性学的懸念の閾値（TTC）未満の濃度にまで制御されていることが示された。

4.9.6.1 ベルパタスビル

ベルパタスビルの製造工程の出発物質である [redacted] は、細菌を用いる復帰突然変異試験において S9 mix の存在下又は非存在下で TA98 株及び TA100 株に対して陽性を示した（2.6.7.17.1 項；TX-281-2033）。

ラットを用いた 2 週間経口投与毒性試験を実施し、ベルパタスビル関連工程不純物の毒性を検討した結果（2.6.7.17.2 項；TX-281-2042）、投薬に関連した有害作用は認められず、ベルパタスビル関連工程不純物を含有するロットを投与された動物における所見には、これまでの試験で観察された所見又は対照ロットを投与された動物における所見との差は認められなかった。GLP 毒性試験で検討されたベルパタスビルの複数のロットの不純物プロファイルに基づくと、これらのロットは合成物として医薬品の製造管理及び品質管理規則（GMP）準拠品を代表しており、市販品で予定される不純物の規格限度値（原薬：3.2.S.4.5 項）及び分解生成物の規格限度値（製剤：3.2.P.5.6 項）の設定の妥当性を支持するものと考えられる。

4.9.6.2 ソホスブビル／ベルパタスビル

本剤に新規の不純物及び分解生成物は生じなかった。検出された不純物及び分解生成物は単剤による毒性試験で十分に評価することができ、確認試験を追加実施する必要はないと考えられた。

4.9.7 その他の試験

4.9.7.1 ベルパタスビル

最高用量を 450 mg/kg/日とした雄性ラットにおける 5 日間反復投与予備試験（非 GLP）では、有害な所見は認められなかった（2.6.7.17.2 項；TX-281-2001）。

ベルパタスビルは、Balb/c 3T3 細胞を用いたニュートラルレッド取り込み法による光毒性試験で陽性を示したが（2.6.7.17.1 項；TX-281-2015）、Long-Evans 有色ラットを用いたベルパタスビルの反復投与光毒性試験では 200 mg/kg/日（C_{max} は臨床曝露量の約 5 倍）までの用量で、光毒性を示す反応は認められなかったことから（2.6.7.17.2 項；TX-281-2016）、光毒性はないものと判断された。

4.10 重要な所見に関する曝露量比

重要な所見に関連するソホスブビル、GS-331007（ソホスブビル代謝物）及びベルパタスビルの血漿中濃度、並びにこれに関連する曝露量比を表 3 及び表 4 に示す。GS-9851（ソホスブビル及びそのジアステレオマーである GS-491241 の混合物）並びにソホスブビルはエステラーゼ活性の高いマウス及びラットの血漿中では不安定であるため、げっ歯類でのこれらの薬物の曝露量比は算出できなかった。また、ウサギ及びイヌにおけるソホスブビルの曝露量比は、一部の試験において算出した。循環血中の主要代謝物である GS-331007 を全試験で測定し、この曝露量比を算出している。ベルパタスビルについては、動物又はヒトにおける主要な代謝物が存在しないため、ベルパタスビルの曝露量比を示している。提示した曝露量比は、毒性試験で得られた AUC と、本剤としてそれぞれ 400 mg 及び 100 mg のソホスブビル及びベルパタスビルを 1 日 1 回投与された HCV 患者における臨床曝露量［ソホスブビル、GS-331007 及びベルパタスビルの投与間隔間での AUC（AUC_{tau}）に基づいた曝露量（それぞれ 1.262、13.967 及び 2.967 μg·h/mL）、2.7.2.3.2.1.3 項］との比較に基づいたものである。

表 3　GS-9851 及びソホスブビルの試験でみられた重要な所見に関する曝露量比

Key Response(s)	Dose (mg/kg)	Analyte[a]	C_{max}[b] (µg/mL) (M / F)	AUC_{0-t}[b] (µg•h/mL) (M / F)	Exposure Margin[c] (M / F)
Single Dose Toxicity Studies					
Single Dose Toxicity Study in Rats (3/sex/dose)[f]					
	50	GS-331007	0.922 / 0.467	8.11 / 3.72	0.6/0.3
	300	GS-331007	4.80 / 4.96	51.0 / 35.5	4/3
No noteworthy findings	1800 (NOAEL)	GS-331007	15.0 / 15.2	205 / 176	15/13
Repeat Dose Toxicity Studies					
14-Day Toxicity Study in Mice (10/sex/dose)					
	50	ND	ND	ND	ND
	150	ND	ND	ND	ND
	500 (NOAEL ♂)	ND	ND	ND	ND
Early mortality 1 ♂; ↓ body weight ♂	1500 (NOAEL ♀)	ND	ND	ND	ND
13-Week Toxicity Study in Mice (10/sex/dose)					
	100 (NOAEL ♂)	GS-331007	3.59 / 9.93	23.7 / 84.9	2/6
↓ body weight ♂	300 (NOAEL ♀)	GS-331007	15.0 / 16.1	81.5 / 161	6/12
↓ body weight and food consumption	1000	GS-331007	21.9 / 31.9	224 / 361	16/26

表 3　GS-9851 及びソホスブビルの試験でみられた重要な所見に関する曝露量比（続き）

Key Response(s)	Dose (mg/kg)	Analyte[a]	C_{max}[b] (µg/mL) (M / F)	AUC_{0-t}[b] (µg•h/mL) (M / F)	Exposure Margin[c] (M / F)
7-Day Toxicity Study in Rats with 28-day Recovery (10/sex/dose [main study]; 5/sex/dose [recovery])					
	1000	GS-331007	8.52 / 8.10	134 / 116	10/8
	2000 (NOAEL)	GS-331007	11.0 / 12.8	193 / 223	14/16
7-Day Toxicity Study in Rats with 14-day Recovery (10/sex/dose [main study]; 3/sex/dose [recovery])[f]					
	30	GS-331007	0.282 / 0.252	5.06 / 2.92	0.4/0.2
	250 (NOAEL)	GS-331007	2.74 / 1.35	41.4 / 20.9	3/2
Early mortality; multifocal cardiac myofiber degeneration	2000	GS-331007[d]	ND	219/193	16/14
28-Day Toxicity Study in Rats with 14-day Recovery (10/sex/dose [main study]; 5/sex/dose [recovery])[f]					
	20	GS-331007	0.283 / 0.155	3.52 / 1.47	0.3/0.1
	100	GS-331007	1.02 / 1.09	16.3 / 8.06	1/0.6
No noteworthy findings	500 (NOAEL)	GS-9851	0.008 / 0.030	0.007 / 0.068	ND
		GS-331007	3.94 / 3.91	55.0 / 59.3	4/4
13-Week Toxicity Study in Rats with 4-Week Recovery (15/sex/dose [main study]; 5/sex/dose [recovery])					
	20	GS-331007	0.350 / 0.321	4.05 / 2.60	0.3/0.2
	100	GS-331007	1.44 / 1.39	17.9 / 19.2	1/1
No noteworthy findings	500 (NOAEL)	GS-331007	4.30 / 5.05	74.1 / 62.0	5/4
26-Week Toxicity Study in Rats with 4-Week Recovery (15/sex/dose [main study]; 5/sex/dose [recovery])					
No noteworthy findings	20	GS-331007	0.274 / 0.403	3.94 / 3.50	0.3/0.3
	100	GS-331007	1.23 / 1.19	18.7 / 13.1	1/0.9
	500 (NOAEL)	GS-331007	3.79 / 4.73	66.5 / 65.5	5/5

表 3　GS-9851 及びソホスブビルの試験でみられた重要な所見に関する曝露量比（続き）

Key Response(s)	Dose (mg/kg)	Analyte[a]	C_{max}[b] (µg/mL) (M / F)	AUC_{0-t}[b] (µg•h/mL) (M / F)	Exposure Margin[c] (M / F)
7-Day Toxicity Study in Dogs with 14-day Recovery (3/sex/dose [main study]; 1/sex/dose [recovery])[f]					
	30	GS-9851	0.680 / 0.260	0.570 / 1.26	ND
		GS-331007	1.57 / 1.86	20.1 / 26.7	1/2
	150 (NOAEL)	GS-9851	4.59 / 5.04	9.88 / 13.7	ND
		GS-331007	8.99 / 5.79	120 / 91.6	9/7
↓ body weight and food consumption; GI observations; QTc prolongation ♂; ↑ mean serum ALT, AST, and bilirubin levels; hepatocellular hypertrophy, glycogen depletion, microvesiculation, and apoptosis	1500	GS-9851	75.1 / 105	815 / 865	ND
		GS-331007	53.8 / 51.1	871 / 893	62/64
28-Day Toxicity Study in Dogs with 14-day Recovery (3/sex/dose [main study]; 2/sex/dose [recovery])[f]					
	20	GS-9851	1.87 / 2.00	2.58 / 2.41	ND
		GS-331007	1.17 / 1.51	14.4 / 13.9	1/1
	100 (NOAEL)	GS-9851	4.48 / 10.4	14.0 / 22.4	ND
		GS-331007	3.54 / 6.01	39.7 / 68.6	3/5
Slight ↓ body weight; slight ↓ in circulating red cell indices suggesting reduced marrow erythropoiesis	500	GS-9851	49.6 / 39.8	124 / 113	ND
		GS-331007	26.5 / 20.2	291 / 266	21/19
13-Week Toxicity Study in Dogs with 4-Week Recovery (4/sex/dose [main study]; 2/sex/dose [recovery])					
	20	GS-7977	0.648 / 0.549	0.949 / 1.07	0.8/0.9
		GS-331007	1.81 / 2.29	17.1 / 20.8	1/2
↑ soft stool, emesis ♂♀; slight ↓ body weight gain in ♂♀	100 (NOAEL)	GS-7977	12.3 / 8.98	24.4 / 19.9	19/16
		GS-331007	6.83 / 8.32	86.8 / 90.2	6/7
↓ body weight in 2 ♂; slight ↓ presence of erythroid precursors, individual bone marrow cytology; minor thyroid/parathyroid weight changes in ♂; black foci on stomach mucosa with microscopic correlates in 1 ♂	500	GS-7977	34.5 / 43.0	99.7 / 153	79/121
		GS-331007	23.2 / 29.3	278 / 349	20/25

表 3　GS-9851 及びソホスブビルの試験でみられた重要な所見に関する曝露量比（続き）

Key Response(s)	Dose (mg/kg)	Analyte[a]	C_{max}[b] (µg/mL) (M / F)	AUC_{0-t}[b] (µg•h/mL) (M / F)	Exposure Margin[c] (M / F)
39-Week Toxicity Study in Dogs with 26-Week Interim Analysis and 4-Week Recovery (4/sex/dose [main study]; 2/sex/dose [recovery])					
	20	GS-331007	3.76 / 2.72	26.6 / 27.0	2/2
	100 (NOAEL)	GS-331007	6.60 / 9.89	76.3 / 104	6/8
1 ♂ euthanized moribund with intestinal hemorrhage of undetermined relationship to GS-7977; ↑ soft stool, emesis ♂♀	500	GS-331007	15.1 / 20.1	175 / 215	13/15
2-Year Mouse Carcinogenicity (60/sex/dose)					
	20/60	GS-331007	1.01/4.00	7.91/43.5	0.6/3
	60/200	GS-331007	2.19/9.28	19.9/100	1/7
Not carcinogenic	200/600	GS-331007	5.15/30.5	48.0/214	3/15
2-Year Rat Carcinogenicity (55/sex/dose)					
	75	GS-331007	0.978/0.790	12.9/8.27	0.9/0.6
	250	GS-331007	2.54/2.63	38.4/27.1	3/2
Not carcinogenic	750	GS-331007	7.60/9.32	96.6/125	7/9
Developmental and Reproductive Toxicity Studies					
Fertility and Early Embryonic Development Study in Rats (22/sex/dose)[e]					
	20	GS-331007	0.283/0.155	3.52/1.47	0.3/0.1
	100	GS-331007	1.02/1.09	16.3/8.06	1/0.6
No noteworthy findings	500 (NOAEL)	GS-331007	3.94/3.91	55.0/59.3	4/4
Embryo-Fetal Development Study in Female Rats (25 females/dose)					
	20	GS-331007	0.187	3.26	0.2
	100	GS-331007	0.684	9.56	0.7
No noteworthy findings	500 (NOAEL-M, NOAEL-D)	GS-331007	3.50	72.1	5

表 3　GS-9851 及びソホスブビルの試験でみられた重要な所見に関する曝露量比（続き）

Key Response(s)	Dose (mg/kg)	Analyte[a]	C_{max}[b] (µg/mL) (M / F)	AUC_{0-t}[b] (µg•h/mL) (M / F)	Exposure Margin[c] (M / F)
Embryo-Fetal Developmental Toxicity Study in Female Rabbits (20 females/dose)					
	30	GS-7977	0.133	0.590	0.5
		GS-331007	0.637	8.09	0.6
	90	GS-7977	0.817	2.10	2
		GS-331007	3.89	54.5	4
No noteworthy findings	300 (NOAEL-M, NOAEL-D)	GS-7977	1.89	8.66	7
		GS-331007	22.2	200	14
Prenatal and Postnatal Developmental Toxicity Including Maternal Function in Rats (25 females/dose)					
	50	GS-331007	0.573	6.67	0.5
	250	GS-331007	2.16	33.8	2
No noteworthy findings	500 (NOAEL)	GS-331007	4.75	83.3	6

ALT = alanine aminotransferase, AST = aspartate aminotransferase, AUC_{0-t} = the area under the concentration versus time curve from time zero to the last quantifiable concentration, C_{max} = maximum observed concentration of drug, GI = gastrointestinal, QTc = QT interval corrected for heart rate, NOAEL = no observed adverse effect level; NOAEL-D = no observed adverse effect level for developmental toxicity; NOAEL-M = no observed adverse effect level for maternal toxicity; ND = not determined; M, ♂ = male; F, ♀ = female; ↑ = increase; ↓ = decrease

a GS-9851 and/or sofosbuvir toxicokinetics were not determined for most rodent studies due to instability in rodent plasma

b Reported values were obtained at steady state, or as specified.

c Based on sofosbuvir and GS-331007 clinical AUC_{tau} (area under the plasma concentration versus time curve over the dosing interval) at 400 mg (sofosbuvir = 1.262 µg·h/mL; GS-331007 = 13.967 µg·h/mL)

d Based on Day 1 exposures

e Toxicokinetics data (Day 24) from SA-PSI-7851-09-0003

f Studies dosed with the diastereomer mixture GS-9851

表 4　ベルパタスビルの試験でみられた重要な所見に関する曝露量比

Key Response(s)	Dose (mg/kg)	Analyte	C_{max} (µg/mL) (M / F)	AUC_{0-t} [a] (µg•h/mL) (M / F)	Exposure Margin[b] (M / F)
Repeat Dose Toxicity Studies					
4-Week Toxicity Study in Transgenic Mice (10/sex/dose)					
	100	VEL	8.56/8.02	83.3/64.9	28/22
	300	VEL	7.72/11.7	86.7/82.3	29/28
No noteworthy findings.	1500 (NOAEL)	VEL	14.2/18.3	170/269	57/91
2-Week Toxicity Study in Rats with a 1-Week Recovery (10/sex/dose [main] 5/sex/control and high dose [recovery])					
	20	VEL	0.8/0.578	5.569/3.193[e]	2/1
	60	VEL	1.323/1.018	14.529/8.364	5/3
No noteworthy findings	200 (NOEL)	VEL	1.607/1.041	21.396/12.865	7/4
26-Week Toxicity Study in Rats with 13-Week Interim Sacrifice and a 4-Week Recovery (10/sex/dose [Week 26]; 10/sex/dose [Week 13] and 5/sex/control and high dose [recovery])					
	20	VEL	0.499/0.800	3.13/3.87	1/1
	60	VEL	0.852/1.16	6.69/6.72	2/2
No noteworthy findings	200 (NOEL)	VEL	1.11/1.23	11/13.4	4/5
2-Week Toxicity Study in Dogs with a 1-Week Recovery (3/sex/dose [Week 2] 2/sex/control and high dose [recovery])					
	5	VEL	0.228/0.401	1.528/2.23	0.5/0.8
	20	VEL	0.950/0.996	10.761/9.648	4/3
No noteworthy findings	100 (NOEL)	VEL	2.006/1.426	26.167/18.853	9/6
39-Week Toxicity Study in Dogs with 13-Week Interim Sacrifice and a 4-Week Recovery (4/sex/dose [Week 39]; 3/sex/dose [Week 13]; 2/sex/control and high dose [recovery])					
	5	VEL	0.273/0.356	1.5/1.95	0.5/0.7
	20	VEL	0.859/1.05	6.38/7.03	2/2
Emesis high dose ♂♀; slight ↓ food consumption high dose ♀	100 (NOAEL)	VEL	1.94/2.17	25.5/29.8	9/10

表 4　ベルパタスビルの試験でみられた重要な所見に関する曝露量比（続き）

Key Response(s)	Dose (mg/kg)	Analyte	C_{max} (µg/mL) (M / F)	AUC_{0-t} [a] (µg•h/mL) (M / F)	Exposure Margin[b] (M / F)
Carcinogenicity					
26-Week Transgenic Mouse Carcinogenicity (25/sex/dose)[f]					
	30	VEL	8.56/8.02	83.3/64.9	28/22
	100	VEL	7.72/11.7	86.7/82.3	29/28
Not carcinogenic	1000	VEL	14.2/18.3	170/269	57/91
2-Year Rat Carcinogenicity (60/sex/dose)					
	20	VEL	0.41/0.65	3.26/4.88	1/2
	60	VEL	0.85/1.11	10.7/11.8	4/4
Not carcinogenic	200	VEL	1.13/2.09	15.0/20.2	5/7
Developmental and Reproductive Toxicity Studies					
Fertility and Early Embryonic Development Study in Rats (22/sex/dose)[c]					
	20	VEL	0.8/0.578	5.569/3.193[e]	2/1
	60	VEL	1.323/1.018	14.529/8.364	5/3
No noteworthy findings	200 (NOEL)	VEL	1.607/1.041	21.396/12.865	7/4
Embryo-Fetal Development Study in Female mice (25 females/dose)					
	10	VEL	1.73	6.82	2
	30	VEL	4.07	22.1	8
	100	VEL	6.56	43.7	15
No noteworthy findings	1000 (NOEL-M, NOEL-D)	VEL	10.3	93	31
Embryo-Fetal Development Study in Female Rats (22 females/dose)[d]					
	20	VEL	0.55	3.83	1
	60	VEL	1.12	9.3	3
No noteworthy findings	200 (NOEL-M, NOEL-D)	VEL	1.75	17.1	6

表 4　ベルパタスビルの試験でみられた重要な所見に関する曝露量比（続き）

Key Response(s)	Dose (mg/kg)	Analyte	C_{max} (µg/mL) (M / F)	AUC_{0-t} [a] (µg•h/mL) (M / F)	Exposure Margin[b] (M / F)
Embryo-Fetal Developmental Toxicity Study in Female Rabbits (25 females/dose)					
	30	VEL	ND	ND	ND
	100 (NOAEL-M)	VEL	0.258	1.94	0.7
Early mortality 1♀	300 (NOEL-D)	VEL	0.218	2.06	0.7
Prenatal and Postnatal Development Toxicity Study Including Maternal Function in Rats (25 females/dose)					
	20	VEL	0.402	2.54[e]	0.9
	60	VEL	0.97	7.94	3
No noteworthy findings	200 (NOEL: F_0 , F_1, and F_2)	VEL	1.67	13.9	5

AUC_{0-t} = the area under the concentration versus time curve from time zero to the last quantifiable concentration, C_{max} = maximum observed concentration of drug, F_0 = dam, F_1 = first generation, F_2 = second generation, NOAEL = no observed adverse effect level; NOAEL-M = no observed adverse effect level for maternal toxicity; NOEL = no observed effect level; NOEL-D = no observed effect level for developmental toxicity; NOEL-M = no observed effect level for maternal toxicity; ND = not determined; M, ♂ = male; F, ♀ = female, VEL = velpatasvir; ↓ = decrease

a last time point = 24 h unless noted
b Based on VEL clinical AUC_{tau} (area under the plasma concentration versus time curve over the dosing interval) at 100 mg (VEL = 2.967 µg·h/mL)
c toxicokinetics data (week 26) from TX-281-2003
d toxicokinetics data from TX-281-2009
e last time point = 12 h
f C_{max} and AUC were based on 4-week transgenic mouse study at doses of 100, 300, and 1500 mg/kg/day (TX-281-2028), and saturation of exposure observed at 1000 mg/kg/day in single-dose pharmacokinetics (AD-281-2028 and AD-281-2034).

4.11　標的臓器毒性

4.11.1　ベルパタスビル

ベルパタスビルの毒性試験プログラムでは、いかなる標的臓器毒性も認められていない。マウスで最長 4 週間、ラットで最長 26 週間、イヌでは最長 39 週間の反復投与試験で、いかなる標的臓器も特定されておらず、各試験で用いた最高用量が NOEL/NOAEL であった。ベルパタスビルに関連した所見は、マウスでは 1500 mg/kg/日を投与した雄で白血球数、好中球絶対数及びリンパ球絶対数の軽度な低下のみ観察されたが、有害とはみなさなかった。ラットを用いた長期投与試験では、第 13 週の中間評価時に 1 匹で乳腺がんが認められたが、13 週間及び 26 週間のベルパタスビル投与後に高用量群の雌雄ラットの乳腺には増殖性変化が認められなかったこと及び同様の週齢の雌の Sprague-Dawley ラットで報告されている乳腺がんの発生頻度と同程度であったことから、ベルパタスビル投与と関連しない自然発生腫瘍であると考えられた［1、2］。イヌを用いた長

期投与試験では、100 mg/kg/日群の雌雄で嘔吐の発生頻度の軽度増加、100 mg/kg/日群の雌で中等度の摂餌量低下が認められたが、いずれも有害な反応ではないと判断した。39 週間投与後に100 mg/kg/日群の雌で観察されたフィブリノゲン及びグロブリン濃度の軽度低下並びにアルブミン：グロブリン比の軽度上昇も有害な反応ではないと判断した。イヌの試験で、13 週間投与後の中間評価時に前立腺重量の増加がみられたが、39 週間投与後には前立腺重量への影響はなく、13 週間及び 39 週間投与後の前立腺に病理組織学的検査所見が認められなかったことから、中間評価時にみられた前立腺重量の軽微な変化は投薬に関連しないと判断した。マウス、ラット及びイヌを用いた長期反復投与毒性試験で得られた NOEL/NOAEL におけるベルパタスビルの曝露量（雌雄合算値）は、本剤投与後の臨床曝露量と比較して、それぞれ約 74 倍、5 倍及び 10 倍高値であった。

4.11.2 ソホスブビル／ベルパタスビル

ソホスブビルとベルパタスビル併用投与による反復投与試験は実施していない。ラット及びイヌに反復投与したときの標的臓器毒性パターンは、ソホスブビルとベルパタスビルとで異なっていた。ソホスブビルでは、臨床的に重要な標的臓器毒性は認められなかった。イヌで認められた消化管に対する影響（嘔吐、軟便）及び赤血球パラメーター低下は軽微であった。ラット及びイヌ長期投与毒性試験で得られた NOAEL における GS-331007 曝露量は、臨床曝露量のそれぞれ約 5 倍及び 6 倍高かった（雌雄合算値）。ベルパタスビル投与に関連した標的臓器毒性も認められなかった。ラット及びイヌの長期反復投与毒性試験で得られた NOEL/NOAEL におけるベルパタスビルの曝露量は、臨床曝露量と比較して、それぞれ約 5 倍及び 10 倍高かった（雌雄合算値）。

ソホスブビル及びベルパタスビルの間には臨床的に問題となる薬物動態学的相互作用がないこと及び標的臓器が異なることを考慮すると、ソホスブビルとベルパタスビルの併用投与によって個々の薬剤の既知の毒性が悪化するとは考えられない。

5　総括及び結論

5.1　添付文書案の妥当性

本剤の添付文書案には、非臨床安全性に関する重要な所見を全て記載している。非臨床試験の結果から、ソホスブビル及びベルパタスビルに関連した安全性上考慮すべき重要な点として、消化管の P-gp 又は BCRP に対する阻害剤、強力な誘導剤又は基質との薬物間相互作用の可能性、妊娠の可能性がある女性及び妊婦並びに授乳婦による使用が挙げられる。これらの懸念事項に関して以下を考慮する必要がある。

(1) 非臨床及び臨床データにより、ソホスブビル及びベルパタスビルが P-gp 及び BCRP の基質であること、並びにこれらのトランスポーターを阻害する薬物との併用投与によってソホスブビル及びベルパタスビルの血漿中濃度が上昇する可能性があることが示されている。例えば、既知のトランスポーター阻害剤である CsA は排泄トランスポーターを完全に阻害し、その結果、Caco-2 単層膜細胞でソホスブビルの apical 側から basolateral 側の膜透過性を上昇させ、臨床薬物相互作用試験ではソホスブビルの曝露量の増加が認められた。P-gp 及び／又は BCRP の阻害剤との併用投与によって、ソホスブビル及びベルパタスビルの濃度が影響を受ける可能性はあるが、これらのトランスポーターの基質ではない GS-331007（ソホスブビルの主代謝物）の濃度は影響を受けない。このため、強力な阻害剤である CsA の存在下で起こるソホスブビル及びベルパタスビル濃度の変化は、臨床的に重要ではないと判断された。従って、ソホスブビル及びベルパタスビルは、P-gp 及び／又は BCRP の阻害剤と併用投与することができる。

(2) P-gp 及び BCRP の発現細胞を用いた *in vitro* 試験では、ソホスブビルの見かけの膜透過性が低下し、ベルパタスビルの細胞内蓄積量が減少した。従って、P-gp 又は BCRP の誘導剤は、ソホスブビル及びベルパタスビルの血漿中濃度を低下させ、それぞれの薬理活性薬物の肝臓への分布を減少させる可能性がある。重要なことは、ソホスブビル及びベルパタスビルと誘導作用の弱い消化管トランスポーター誘導剤との併用投与では、ソホスブビル又はベルパタスビル濃度に影響を及ぼす可能性は低いということである。ソホスブビル及びベルパタスビルは P-gp の強力な阻害剤（例えば、フェニトイン、セイヨウオトギリソウ、リファンピシン）と併用投与しないことが推奨される。

(3) ベルパタスビルは、吸収過程での消化管内濃度で P-gp 及び BCRP の阻害剤として、これらトランスポーター基質の吸収を増加させ、血漿中曝露量を増加させる可能性がある。例えば、Caco-2 単層膜細胞を用いた *in vitro* 試験及び臨床試験で、ベルパタスビルによるソホスブビルの吸収増加がみられた。*In vitro* 試験の結果と一致して、ベルパタスビルは BCRP の典型的基質であるロスバスタチン及び P-gp の典型的基質であるジゴキシンと併用投与した臨床試験で、これら薬剤の曝露量を増加させた。ソホスブビル及びベルパタスビルをこれらの排出トランスポーターの基質となる治療係数の小さい薬剤（P-gp の基質であるジゴキシンなど）と併用投与する場合には注意が必要であり、可能であれば血中濃度の監視を行うことが勧められる。

(4) ベルパタスビルは主要なヒト CYP の阻害剤ではなく、CYP 阻害による薬物相互作用の惹起

物質となる可能性は低い。ベルパタスビルの代謝にはCYP（CYP2B6、CYP2C8及びCYP3A4）が関与していることから、ベルパタスビルの全身曝露量はこれらのCYPの誘導剤によって減少し、阻害剤によって増大する可能性がある。CYP2B6、CYP2C8及びCYP3A4の強力な誘導剤（例えば、リファンピシン、セイヨウオトギリソウ）は、ベルパタスビルと併用してはならない。

(5) 動物データでは、ソホスブビル及びベルパタスビルは生殖毒性又は胎児毒性を起こさないことが示されている。妊婦におけるソホスブビル及びベルパタスビルの各単剤又はその配合剤の使用に関するデータはない。

(6) ソホスブビルの主要な血中代謝物であるGS-331007は、授乳ラットの乳汁中にも最も多く認められ、投与1時間後の乳汁：血漿比は0.1であった。妊娠ラットに[^{14}C]ベルパタスビルを経口投与したとき、ベルパタスビルは胎盤を通過せず、胎児の血液又は全身にベルパタスビルは検出されなかった。授乳ラットに経口投与したとき、ベルタスビルは乳汁中に移行し児動物に検出され、母動物／児動物比は24であった。本剤の添付文書案には、ソホスブビル及びその代謝物並びにベルパタスビルがヒト母乳中に排泄されるかどうかは不明であるため、本剤の投与を開始する前に授乳を中止するべきであることを記載している。

5.2 全体のまとめ及び結論

本概括評価に示したように、非臨床 *in vitro* 及び *in vivo* 試験で得られた成績から、HCV感染症の治療薬としてソホスブビル及びベルパタスビルを配合錠として開発する薬理学的根拠は科学的に妥当であると考えられた。ソホスブビル及びベルパタスビルのPK及び毒性学的プロファイルは、複数の動物種でその特性が確認されている。本剤は、その臨床試験並びにソホスブビル及びベルパタスビルのそれぞれ単一製剤での臨床試験により十分な忍容性及び安全性プロファイルが示され、成人HCV感染患者に対する投与を支持するものと考えられた。本概括評価に示した総括的な非臨床プログラムは、以下の点で本剤の有効性及び安全性を十分に支持するものと考えられる。

ソホスブビルは、HCVレプリコン細胞及び感染性ウイルス系に対する *in vitro* 活性によって示されたように、広範囲のジェノタイプのHCV複製を強力に阻害する。NS5Bポリメラーゼに対する直接阻害作用は、ソホスブビルの活性代謝物GS-461203で認められた。これはソホスブビルのHCV複製阻害機構が、NS5Bポリメラーゼの阻害であることを示している。ベルパタスビルは、*in vitro* でHCVジェノタイプ1～6のRNA複製を強力に阻害する新規のHCV NS5A阻害剤である。ソホスブビルとベルパタスビルの併用により相加的な *in vitro* 抗ウイルス活性を示し、拮抗作用は認められなかった。これらのデータ及び両薬剤間に交差耐性は認められなかったことから、ソホスブビルとベルパタスビルの併用投与により、強力な抗ウイルス作用と望ましい耐性プロファイルが得られることが示唆される。

ソホスブビルは *in vitro* 試験で各種細胞型において明らかな細胞毒性を示さなかった。また、ミトコンドリア毒性を示す可能性も低く、ソホスブビルの活性代謝物GS-461203を用いた *in vitro* 試験で、ヒトのデオキシリボ核酸（DNA）、RNA及びミトコンドリアポリメラーゼに対する明らかな阻害も認められなかった。ソホスブビル及び主要代謝物GS-331007のイオンチャネルや受容体に対する結合親和性は低く、オフターゲット作用を示す可能性は低いことが示された。ベルパ

タスビルも細胞毒性は低く、選択指数は高かった。ベルパタスビルが酵素、イオンチャネル及び受容体に対してオフターゲット作用を示す可能性は低いことが示された。ソホスブビル及びベルパタスビルは、安全性薬理試験において生命維持に重要な器官系に対して臨床的に意味のある影響を及ぼさなかった。

配合剤として投与した場合、ベルパタスビルが消化管の P-gp 及び BCRP を阻害する結果、主要な血漿中代謝物である GS-331007 の濃度に影響を及ぼすことはないが、ソホスブビルの血漿中曝露量が増加する（2.7.2.3.2.1.1.2 項；GS-US-334-0101）。ソホスブビルとベルパタスビルの代謝及び排泄プロファイルが異なるため、消化管からの吸収後にはこれら 2 剤の併用投与による影響はみられないと予想される。ベルパタスビルは、*in vitro* 試験で、ヒト初代肝細胞においてソホスブビルから活性代謝物である GS-461203 への細胞内活性化に影響を及ぼさなかった。ソホスブビルは GS-331007 として腎臓から排泄される。BDC 処置マウス、ラット及びイヌにおける試験結果から、ベルパタスビルの消失経路は未変化体及び代謝物の胆汁中排泄であることが示唆された。

非臨床試験の結果により、ソホスブビル及びベルパタスビルは従来の薬物代謝酵素に対する阻害剤でも誘導剤でもなく、ソホスブビル及びベルパタスビルが CYP 又は UGT1A1 を介した薬物相互作用を引き起こす可能性は低いことが示唆される。ベルパタスビルは *in vitro* で UGT1A1 の阻害剤として作用するが、臨床薬物相互作用試験では、UGT1A1 の基質であるドルテグラビルの PK にソホスブビル又はベルパタスビルとの併用による影響は認められなかった。臨床薬物相互作用試験では、ソホスブビル又はベルパタスビル併用による誘導作用を裏付けるエビデンスも認められなかった。ソホスブビルは酸化代謝を受けないが、ベルパタスビルは CYP3A4、CYP2B6 及び CYP2C8 による代謝を受ける。ベルパタスビルの曝露量はこれらの代謝酵素の誘導剤によって減少し、阻害剤によって増加する可能性がある。ソホスブビルの細胞内活性化経路は活性が高く、通常の併用投与薬によって細胞内活性化が阻害される可能性は低い。ソホスブビルとベルパタスビルは吸収過程でトランスポーターを介した薬物相互作用を受ける可能性がある。ソホスブビル及びベルパタスビルは P-gp 及び BCRP の基質であり、その吸収は、P-gp 及び BCRP の阻害剤との併用によって増加し、P-gp 誘導剤との併用によって減少する可能性がある。ベルパタスビルは P-gp 及び BCRP の阻害剤でもあるため、併用投与されたこれらのトランスポーターの基質の吸収を増加させる可能性がある。ソホスブビル及びベルパタスビルが肝臓又は全身循環中でトランスポーターを介した薬物相互作用をもたらす可能性はさらに限定的である。ソホスブビルは *in vitro* で肝取り込みトランスポーターの基質ではなかった。臨床試験では、ベルパタスビルは肝臓に発現する取り込みトランスポーターである OATP1B1 及び／又は OATP1B3 の弱い基質であることが示唆されている。*In vitro* 試験では、ベルパタスビルが OCT1 の基質であるというエビデンスは認められなかった。ソホスブビル、GS-331007 及びベルパタスビルは、臨床濃度では検討対象とした肝及び腎トランスポーターを阻害しなかった。臨床試験でベルパタスビルが OATP の基質であるプラバスタチン濃度をやや上昇させたことから示されるとおり、ベルパタスビルは OATP1B1 及び OATP1B3 の阻害剤である。GS-331007 の腎排泄の一部をなす尿細管分泌には、腎臓における薬物相互作用に関与するトランスポーターは関与していない。

ソホスブビルの毒性プロファイルを広範囲にわたって評価した結果、マウスで 3 ヵ月まで、ラットで 6 ヵ月まで、イヌでは 9 ヵ月までソホスブビルの忍容性は良好であり、臨床的に重要な標的臓器毒性は認められなかった。各試験の NOAEL における GS-331007 の全身曝露量は、マウス、ラット及びイヌで、本剤投与後の臨床曝露量のそれぞれ約 2/12 倍（雄/雌）、5 倍（雄雌合算値）

及び 6 倍（雄雌合算値）であった。ベルパタスビルについては、マウス、ラット及びイヌにおいて有害な標的臓器毒性は特定されていない。マウスを用いた 4 週間毒性試験並びにラット及びイヌを用いた長期反復投与毒性試験で得られた NOEL/NOAEL におけるベルパタスビルの曝露量は、本剤投与後の臨床曝露量のそれぞれ約 74 倍、5 倍及び 10 倍であった（雌雄合算値）。個々の薬剤における曝露量比及び両剤で重複する毒性は認められなかったことから、ソホスブビルとベルパタスビルの併用投与により既知の毒性が高まること又は新たな毒性が発現することはないと予測される。

ソホスブビル及びベルパタスビルは、細菌を用いた復帰突然変異試験で変異原性陰性を示し、ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験及び *in vivo* 小核試験でも陰性であった。したがって、ソホスブビル及びベルパタスビルは遺伝毒性を有しないと判断される。また、両化合物を併用することによって個々の薬剤の遺伝毒性プロファイルが変化することはないと考えられる。

ソホスブビルは、マウスで 15 倍、ラットで 9 倍の本剤投与後の臨床曝露量に対する曝露量比までがん原性を示さなかった。ベルパタスビルはマウスで 91 倍、ラットで 7 倍の本剤投与後の臨床曝露量に対する曝露量比までがん原性を示さなかった。したがって、ソホスブビルとベルパタスビルの併用投与により、がん原性が認められることはないと考えられる。

ラット受胎能、マウス、ラット及びウサギの胚・胎児発生、ラットの出生前／出生後の発生に関して、ソホスブビル及びベルパタスビル投与による有害な影響は認められなかった。したがって、ソホスブビルとベルパタスビルの併用投与により個々の薬剤の生殖毒性プロファイルが変化することはないと考えられる。

ソホスブビル及びベルパタスビルは皮膚に対して非刺激性と考えられ、眼に対しても強い刺激物質ではなく、皮膚感作性試験で陰性であった。さらに、ベルパタスビルは光毒性を示さない。ソホスブビルとベルパタスビル併用投与によって、各薬剤の刺激性は変化しないと考えられる。同定された不純物及び分解生成物の評価は、ソホスブビル及びベルパタスビルの通常の毒性試験又は確認試験の一部として行った。潜在的変異原性不純物は、製造工程によって TTC 未満の濃度にまで制御されている。

以上の結果より、ソホスブビル及びベルパタスビルの非臨床試験成績は、一連の *in vitro* 試験及び複数の動物種（げっ歯類及び非げっ歯類）における *in vivo* 試験において、その特性が十分に確認されている。得られた結果は、HCV 感染症の治療に使用する本剤の好ましいベネフィットーリスクプロファイルを裏付けるものである。非臨床試験から得られた処方医師に提供すべきと考えられる全ての情報は添付文書案に含まれる。

6 参考文献

1 Brix AE, Nyska A, Haseman JK, Sells DM, Jokinen MP, Walker NJ. Incidences of selected lesions in control female Harlan Sprague-Dawley rats from two-year studies performed by the National Toxicology Program. Toxicol Pathol 2005;33 (4):477-83.

2 Oishi Y, Yoshizawa K, Suzuki J, Makino N, Hase K, Yamauchi K, et al. Spontaneously occurring mammary adenocarcinoma in a 10-wk-old female rat. Toxicol Pathol 1995;23 (6):696-700.