CTD 第 2 部
2.6 非臨床試験の概要文及び概要表
2.6.1 緒言

MSD 株式会社

目次

頁
表一覧.....2
図一覧.....3
2.6.1　　緒言.....4

Confidential

表一覧

頁
表 2.6.1-1　　ポサコナゾールの効能・効果及び用法・用量 4

Confidential

図一覧

頁
図 2.6.1-1　　ポサコナゾールの構造式 4

Confidential

2.6.1　緒言

ポサコナゾール（MK-5592、SCH 5592及び SCH 56592）は、旧 Schering-Plough Corporation（現、Merck Sharp & Dohme Corp., a subsidiary of Merck & Co., Inc., N.J., U.S.A.）により創製された、幅広い抗真菌スペクトルを有するアゾール系抗真菌薬である。

ポサコナゾールの構造式を[図 2.6.1-1]に示す。

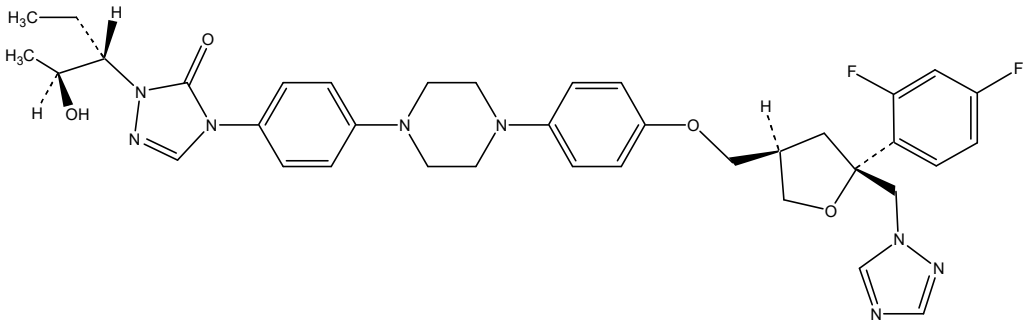


図 2.6.1-1　　ポサコナゾールの構造式

ポサコナゾールは、*in vitro* で *Aspergillus* 属、希少真菌であるムーコル目、クロモブラストミコーシス及び菌腫の原因真菌を含む各種糸状菌、並びに酵母様真菌に対して良好な抗真菌作用を示した。

また、ポサコナゾールは *Aspergillus* 属に対しては殺菌的に、*Candida* 属に対しては静菌的に作用した。さらに、ポサコナゾールは治療及び予防投与により、各種感染動物モデルで良好な抗真菌作用を示した。

ポサコナゾールは、他のアゾール系抗真菌薬と同様に、真菌細胞の細胞膜を構成するエルゴステロールの生合成に必須の酵素であるラノステロール14α-脱メチル酵素（CYP51）を阻害する。ポサコナゾールに対して感受性の低下を示す真菌細胞では、標的酵素である CYP51の特定のアミノ酸変異が認められた。

申請した効能・効果及び用法・用量を[表 2.6.1-1]に示す。

表 2.6.1-1　　ポサコナゾールの効能・効果及び用法・用量

効能・効果	○造血幹細胞移植患者又は好中球減少が予測される血液悪性腫瘍患者における深在性真菌症の予防 ○下記の真菌症の治療 フサリウム症、ムーコル症、コクシジオイデス症、クロモブラストミコーシス、菌腫
用法・用量	＜静脈内投与＞ 通常、成人にはポサコナゾールとして初日は1回300mg を1日2回、2日目以降は300mg を1日1回、中心静脈ラインから約90分間かけて緩徐に点滴静注する。 ＜経口投与＞ 通常、成人にはポサコナゾールとして初日は1回300mg を1日2回、2日目以降は300mg を1日1回経口投与する。

Confidential

CTD 第 2 部
2.6 非臨床試験の概要文及び概要表
2.6.2 薬理試験の概要文

MSD 株式会社

目次

頁
表一覧 3
図一覧 5
略号及び用語の定義 7
2.6.2　薬理試験の概要文 9
2.6.2.1　まとめ 9
2.6.2.1.1　効力を裏付ける試験 9
2.6.2.1.2　安全性薬理試験 10
2.6.2.2　効力を裏付ける試験 11
2.6.2.2.1　*In vitro* 抗真菌作用 11
2.6.2.2.1.1　国内臨床分離株の感受性 11
2.6.2.2.1.2　海外臨床分離株の感受性 17
2.6.2.2.1.3　各種抗真菌薬に耐性又は低感受性を示す真菌の感受性 20
2.6.2.2.1.4　殺真菌作用 22
2.6.2.2.1.5　持続的抗真菌作用（post-antifungal effect、PAFE） 27
2.6.2.2.1.6　抗真菌作用に及ぼす血清蛋白質の影響 28
2.6.2.2.2　*In vivo* 抗真菌作用 29
2.6.2.2.2.1　*Aspergillus* 属 29
2.6.2.2.2.2　*Fusarium* 属 40
2.6.2.2.2.3　ムーコル目 41
2.6.2.2.2.4　クロモブラストミコーシス及び菌腫の原因真菌 43
2.6.2.2.2.5　二形性真菌 48
2.6.2.2.2.6　*Candida* 属 51
2.6.2.2.2.7　*Cr. neoformans* 56
2.6.2.2.3　他剤との相互作用 58
2.6.2.2.3.1　*In vitro* 抗真菌作用 58
2.6.2.2.3.2　*In vivo* 抗真菌作用 60
2.6.2.2.4　抗真菌作用と相関する薬物動態パラメータ 65
2.6.2.2.5　作用機序 69
2.6.2.2.5.1　エルゴステロール合成阻害作用 69
2.6.2.2.5.2　CYP51酵素とアゾール系抗真菌薬との複合体の立体構造 71
2.6.2.2.6　薬剤耐性及びその機序 73
2.6.2.2.6.1　継代培養時の耐性発現 73
2.6.2.2.6.2　抗真菌薬長期投与時の *C. albicans* の耐性株の出現 75
2.6.2.2.6.3　アゾール系抗真菌薬に対する耐性を誘導する CYP51酵素のアミノ酸

Confidential

変異 77
2.6.2.2.6.4　薬剤排出ポンプの関与 80
2.6.2.3　副次的薬理試験 80
2.6.2.4　安全性薬理試験 81
2.6.2.4.1　中枢神経系 81
2.6.2.4.2　心血管系 81
2.6.2.4.2.1　*In vitro* 81
2.6.2.4.2.2　*In vivo* 82
2.6.2.4.3　呼吸系 83
2.6.2.4.4　腎/泌尿器系 84
2.6.2.4.5　胃腸管系 84
2.6.2.5　薬力学的薬物相互作用試験 84
2.6.2.6　考察及び結論 85
2.6.2.6.1　国内外の臨床分離株のポサコナゾールに対する感受性の比較 85
2.6.2.6.2　*In vitro* でのポサコナゾールの作用濃度及び類薬との抗真菌作用の比較 88
2.6.2.6.3　感染動物モデルでのポサコナゾールの作用用量及び類薬との抗真菌作用の比較 90
2.6.2.6.4　作用機序について 93
2.6.2.6.5　耐性機序について 94
2.6.2.7　図表 96
2.6.2.8　参考文献 96

C Confidential

表一覧

頁

表 2.6.2-1　国内臨床分離株（*Aspergillus* 属）の感受性 13
表 2.6.2-2　国内臨床分離株（*Fusarium* 属及びムーコル目）の感受性 14
表 2.6.2-3　国内臨床分離株（クロモブラストミコーシス及び菌腫の原因真菌）の感受性 15
表 2.6.2-4　国内臨床分離株（*Candida* 属及び *Cr. neoformans*）の感受性 16
表 2.6.2-5　海外臨床分離株（糸状菌）の感受性 18
表 2.6.2-6　海外臨床分離株（皮膚糸状菌）の感受性 19
表 2.6.2-7　海外臨床分離株（酵母様真菌）の感受性 19
表 2.6.2-8　抗真菌薬に耐性の *A. fumigatus* の感受性 21
表 2.6.2-9　抗真菌薬に耐性又は低感受性の海外臨床分離 *Candida* 属の感受性 21
表 2.6.2-10　*A. fumigatus* に対する抗真菌薬の MIC 及び MFC 値 22
表 2.6.2-11　*Candida* 属に対するポサコナゾールの MIC 及び MFC 値 25
表 2.6.2-12　*A. fumigatus* 及び *C. albicans* に対する抗真菌薬の PAFE 27
表 2.6.2-13　抗真菌作用に及ぼす血清蛋白質の影響 28
表 2.6.2-14　免疫抑制マウスの肺アスペルギルス症モデルでの治療効果（作用用量） 30
表 2.6.2-15　免疫正常マウスのフサリウム症モデルでの治療効果（生存期間） 40
表 2.6.2-16　免疫正常マウスのフサリウム症モデルでの治療効果（臓器内生菌数） 41
表 2.6.2-17　免疫抑制マウスのムーコル症モデルでの治療効果（生存期間） 42
表 2.6.2-18　免疫抑制マウスのムーコル症モデルでの治療効果（臓器内生菌数） 42
表 2.6.2-19　免疫抑制マウスの *F. pedrosoi* による深部皮膚真菌感染症モデルでの治療効果（皮膚病変の面積及び培養陽性率） 44
表 2.6.2-20　免疫抑制マウスのシュードアレシェリア症モデルでの治療効果（臓器内生菌数） 47
表 2.6.2-21　免疫正常マウスのコクシジオイデス症モデルでの治療効果（臓器内生菌数） 50
表 2.6.2-22　免疫正常又は抑制マウスの播種性カンジダ症モデルでの治療効果（作用用量） 52
表 2.6.2-23　免疫正常マウスの肺クリプトコックス症モデルでの治療効果（臓器内生菌数） 57
表 2.6.2-24　糸状菌に対する他剤との相互作用（*in vitro*） 58
表 2.6.2-25　酵母様真菌に対する他剤との相互作用（*in vitro*） 59
表 2.6.2-26　免疫正常マウスの *A. fumigatus*（ND158株）による播種性アスペルギルス症モデルでの CPFG との相互作用（生存率） 61
表 2.6.2-27　免疫正常マウスの *A. fumigatus*（ND231株）による播種性アスペルギルス症

Confidential

モデルでの CPFG との相互作用（生存率）.....62
表 2.6.2-28　免疫正常マウスの *A. flavus*（ND83株）による播種性アスペルギルス症モデルでの CPFG との相互作用（生存率）.....62
表 2.6.2-29　免疫正常マウスの *C. albicans*（C375株）による播種性カンジダ症モデルでの4日間投与時の CPFG との相互作用（生存率）.....64
表 2.6.2-30　免疫正常マウスの *C. albicans*（C375株）による播種性カンジダ症モデルでの8日間投与時の CPFG との相互作用（生存率）.....64
表 2.6.2-31　免疫抑制マウスの *C. albicans* 12株による播種性カンジダ症モデルでのポサコナゾールの抗真菌作用と $AUC_{0\text{-}24\ hr}$/MIC.....68
表 2.6.2-32　各種真菌細胞株でのエルゴステロール合成阻害作用及び抗真菌作用（*in vitro*）.....71
表 2.6.2-33　*A. fumigatus* をポサコナゾール存在下で継代培養したときの耐性発現.....74
表 2.6.2-34　*C. albicans* を被験薬物の存在下又は非存在下で培養したときの耐性発現.....75
表 2.6.2-35　抗真菌薬を長期投与した患者から分離された *C. albicans* の感受性.....76
表 2.6.2-36　抗真菌薬を長期投与した患者から分離された *C. albicans* の CYP51蛋白質のアミノ酸変異.....76
表 2.6.2-37　アゾール系抗真菌薬に対する耐性を誘導する *A. fumigatus* の CYP51A のアミノ酸変異.....77
表 2.6.2-38　アゾール系抗真菌薬に対する耐性を誘導する *C. albicans* の CYP51のアミノ酸変異.....79
表 2.6.2-39　真菌の各種薬剤排出ポンプ遺伝子を欠損させた *C. glabrata* の抗真菌薬に対する感受性.....80
表 2.6.2-40　糸状菌及び酵母様真菌に対する CLSI の感受性測定法の概要（アゾール系抗真菌薬）.....86
表 2.6.2-41　国内外の臨床分離株のポサコナゾールに対する感受性.....87
表 2.6.2-42　国内臨床分離株に対するポサコナゾールの MIC 値及び ECV.....89
表 2.6.2-43　国内臨床分離株に対する抗真菌薬の抗真菌作用の比較.....90
表 2.6.2-44　感染動物モデルでの抗真菌薬の反復投与時の作用用量.....92
表 2.6.2-45　抗真菌薬の作用機序及び耐性機序.....96

Confidential

図一覧

頁

図 2.6.2-1　*A. fumigatus*（ATCC 208996株）に対する殺真菌作用の濃度及び時間依存性（*in vitro*）.....23
図 2.6.2-2　*C. albicans*（C294株）に対する殺真菌作用の濃度及び時間依存性（*in vitro*）.....26
図 2.6.2-3　免疫抑制マウスの肺アスペルギルス症モデルでの治療効果（生存率）.....30
図 2.6.2-4　免疫抑制マウスの肺アスペルギルス症モデルでの予防効果（生存率）.....31
図 2.6.2-5　免疫抑制マウスの吸入感染肺アスペルギルス症モデルでのポサコナゾールの静脈内投与時の予防効果（生存率及び臓器内生菌数）.....33
図 2.6.2-6　免疫抑制マウスの鼻腔内感染肺アスペルギルス症モデルでのポサコナゾールの静脈内投与時の予防効果（生存率及び臓器内生菌数）.....33
図 2.6.2-7　免疫抑制マウスの肺アスペルギルス症モデルでの治療効果に及ぼす1日投与回数の影響（生存率）.....34
図 2.6.2-8　免疫抑制マウスの肺アスペルギルス症モデルでの治療効果に及ぼす投与期間の影響（生存率）.....35
図 2.6.2-9　免疫抑制マウスの肺アスペルギルス症モデルでの治療効果に及ぼす遅延投与の影響（生存率）.....36
図 2.6.2-10　免疫抑制モルモットの肺アスペルギルス症モデルでの治療効果（生存率）.....37
図 2.6.2-11　免疫正常マウスの播種性アスペルギルス症モデルでの治療効果（生存率）.....38
図 2.6.2-12　免疫抑制モルモットの播種性アスペルギルス症モデルでの治療効果（生存率）.....39
図 2.6.2-13　免疫正常又は抑制マウスの *E. dermatitidis* による播種性真菌感染症モデルでの治療効果（生存率）.....45
図 2.6.2-14　免疫抑制マウスのシュードアレシェリア症モデルでの治療効果（生存率）.....47
図 2.6.2-15　免疫正常マウスのコクシジオイデス症モデルでの治療効果（生存率）.....49
図 2.6.2-16　免疫正常マウスの *C. albicans*（C288株、FLCZ 耐性）による播種性カンジダ症モデルでの治療効果（生存率及び腎臓内生菌数）.....52
図 2.6.2-17　免疫抑制マウスの *C. albicans*（C72株、FLCZ 感受性）による播種性カンジダ症モデルでの治療効果（生存率及び腎臓内生菌数）.....53
図 2.6.2-18　免疫正常マウスの播種性カンジダ症モデルでの予防効果（生存率）.....54
図 2.6.2-19　免疫正常モルモットの播種性カンジダ症モデルでの治療効果（生存率）.....55
図 2.6.2-20　免疫抑制モルモットの播種性カンジダ症モデルでの治療効果（生存率）.....56
図 2.6.2-21　免疫正常マウスの肺クリプトコックス症モデルでの治療効果（生存率）.....57
図 2.6.2-22　免疫抑制マウスの肺アスペルギルス症モデルでの AMPH-B との相互作用（生存率）.....60
図 2.6.2-23　免疫正常マウスの播種性カンジダ症モデルでの AMPH-B との相互作用（生

Confidential

存率）.....63
図 2.6.2-24　免疫抑制マウスの播種性カンジダ症モデルでのポサコナゾールの総投与量及び投与間隔と抗真菌作用（腎臓内生菌数の減少）との相関性.....66
図 2.6.2-25　免疫抑制マウスの播種性カンジダ症モデルでのポサコナゾールの $fAUC_{0\text{-}24\ hr}$/MIC、fC_{max}/MIC 及び%T>MIC と抗真菌作用（腎臓内生菌数の減少）との相関性.....67
図 2.6.2-26　免疫抑制マウスの *C. albicans* 12株による播種性カンジダ症モデルでのポサコナゾールの $fAUC_{0\text{-}24\ hr}$/MIC と抗真菌作用（腎臓内生菌数の減少）との相関性.....67
図 2.6.2-27　エルゴステロール生合成経路（一部）及びアゾール系抗真菌薬の作用点.....69
図 2.6.2-28　*C. albicans* のステロール合成に及ぼす影響.....70
図 2.6.2-29　*A. fumigatus* 及び *C. albicans* 由来 CYP51とアゾール系抗真菌薬との複合体の結合部位の構造.....72
図 2.6.2-30　*A. fumigatus* の CYP51A とポサコナゾール又は VRCZ との複合体の構造及び耐性変異を誘導するアミノ酸部位.....78
図 2.6.2-31　*C. albicans* の CYP51とポサコナゾールとの複合体の構造及び耐性変異を誘導するアミノ酸部位.....79
図 2.6.2-32　アゾール系抗真菌薬の構造.....94

Confidential

略号及び用語の定義

略号	定義	
AMPH-B	Amphotericin B	アムホテリシン B
AUC	Area under the concentration-time curve	濃度－時間曲線下面積
BSA	Bovine serum albumin	ウシ血清アルブミン
CDR	Candida drug resistance	
CFU	Colony forming unit	コロニー形成単位
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute	臨床・検査標準委員会
C_{max}	Maximum drug concentration	最高血中薬物濃度
CPFG	Caspofungin	カスポファンギン
CYP	Cytochrome P450	シトクロム P450
DMSO	Dimethyl sulfoxide	ジメチルスルホキシド
ED_{50}	50% effective dose	50%有効用量
ECV	Epidemiological cutoff value	
fAUC	Area under the free drug concentration-time curve	遊離薬物濃度－時間曲線下面積
5-FC	5-Fluorocytosine	フルシトシン
fC_{max}	Maximum free drug concentration	遊離最高血中薬物濃度
FLCZ	Fluconazole	フルコナゾール
GM	Geometric mean	幾何平均
hERG	Human ether-á-go-go-related gene	ヒト ether-á-go-go 関連遺伝子
HPBCD	Hydroxypropyl-beta-cyclodextrin	ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン
IC_{50}	50% inhibition concentration	50%阻害濃度
ITCZ	Itraconazole	イトラコナゾール
MCFG	Micafungin	ミカファンギン
MDR	Multidrug resistance	多剤耐性輸送体
ME	Malt extract	麦芽エキス
MEC	Minimum effective concentration	最小作用濃度
MFC	Minimum fungicidal concentration	最小殺真菌濃度
MIC	Minimum inhibitory concentration	最小発育阻止濃度
MIC_{50}	Minimum inhibitory concentration 50	50%以上の株の発育を阻止する濃度
MIC_{90}	Minimum inhibitory concentration 90	90%以上の株の発育を阻止する濃度
OPC	Oropharyngeal candidiasis	口腔咽頭カンジダ症
PAFE	Post-antifungal effect	持続的抗真菌作用
PBS	Phosphate-buffered saline	リン酸緩衝生理食塩液
PDA	Potato dextrose agar	ポテトデキストロース寒天
PSCZ、MK-5592、SCH 56592	Posaconazole	ポサコナゾール
PYG	Peptone-yeast-glucose	ペプトン-酵母エキス-ブドウ糖
RT-PCR	Reverse transcription-polymerase chain reaction	逆転写ポリメラーゼ連鎖反応
RVCZ	Ravuconazole	ラブコナゾール
SBECD	Sulfobutylether beta-cyclodextrin sodium	スルホブチルエーテル β-シクロデキストリンナトリウム

Confidential

略号	定義	
SD	Standard deviation	標準偏差
SDA	Sabouraud dextrose agar	サブローデキストロース寒天
SDB	Sabouraud dextrose broth	サブローデキストロース液体
SEM	Standard error of the mean	標準誤差
TRB	Terbinafine	テルビナフィン
VRCZ	Voriconazole	ボリコナゾール
YNB	Yeast nitrogen base	酵母ニトロゲンベース

Confidential

2.6.2　薬理試験の概要文

2.6.2.1　まとめ

2.6.2.1.1　効力を裏付ける試験

ポサコナゾールは広域スペクトルを有するアゾール系抗真菌薬である。以下にポサコナゾールの効力を裏付ける試験の要約を示す。

臨床的に重要な国内外の糸状菌及び酵母様真菌の各種臨床分離株、19000株に対する *in vitro* 抗真菌作用を検討した。その結果、ポサコナゾールはボリコナゾール（VRCZ）、イトラコナゾール（ITCZ）、フルコナゾール（FLCZ）又はアムホテリシン B（AMPH-B）と比較して、*Aspergillus* 属（*A. fumigatus*、*A. flavus*、*A. niger*、*A. terreus* 等）、*Fusarium* 属、ムーコル目（*Mucor* 属、*Rhizopus* 属、*Cunninghamella* 属、*Rhizomucor* 属、*Lichtheimia* 属、*Apophysomyces* 属、*Saksenaea* 属、*Cokeromyces* 属）、クロモブラストミコーシス及び菌腫の原因真菌（*Fonsecaea* 属、*Scedosporium* 属、*Pseudallescheria* 属、*Exophiala* 属、*Phialophora* 属、*Cladosporium* 属、*Cladophialophora* 属、*Alternaria* 属、*Bipolaris* 属、*Aspergillus nidulans* 等）、二形性真菌（*Histoplasma* 属、*Blastomyces* 属、*Coccidioides* 属、*Paracoccidioides* 属、*Penicillium marneffei*、*Sporothrix* 属）、皮膚糸状菌（*Trichophyton* 属、*Microsporum* 属等）、*Candida* 属（*C. albicans*、*C. glabrata*、*C. parapsilosis*、*C. tropicalis*、*C. krusei*、*C. lusitaniae*、*C. guilliermondii*、*C. dubliniensis* 等）及び *Cryptococcus neoformans* の大部分に対して優れた抗真菌作用を示した。さらに、各種抗真菌薬に耐性又は低感受性の *A. fumigatus* 又は *Candida* 属に対してポサコナゾールは優れた抗真菌作用を示した。ポサコナゾールは他のアゾール系抗真菌薬と同様に *Aspergillus* 属に対しては殺菌的に作用したが、*Candida* 属に対しては一部の菌種を除き静菌的であった。また、AMPH-B 及びカスポファンギン（CPFG）は *in vitro* で持続的な抗真菌作用（PAFE）を示したのに対して、ポサコナゾールは他のアゾール系抗真菌薬と同様に、PAFE を示さなかった。さらに、ポサコナゾールは高い蛋白結合率を示し、血清蛋白質の添加によりポサコナゾールの抗真菌作用が減弱した。

各種感染動物モデルを用いて、ポサコナゾールの抗真菌作用を検討した。ポサコナゾールの治療又は予防投与により、*Aspergillus* 属、*Fusarium solani*、ムーコル目（*Mucor* 属）、クロモブラストミコーシス及び菌腫の原因真菌（*Fonsecaea pedrosoi*、*Exophiala dermatitidis*、*Pseudallescheria boydii*）、二形性真菌（*C. immitis*）、*Candida* 属及び *Cr. neoformans* による感染症に対して良好な抗真菌作用を示した。

ポサコナゾールと他の抗真菌薬（VRCZ、ITCZ、FLCZ、AMPH-B、CPFG、フルシトシン又はテルビナフィン）との併用により、*in vitro* 及び *in vivo* での各種糸状菌又は酵母様真菌に対する抗真菌作用に明らかな拮抗作用は認められず、一部の菌種で CPFG 又は AMPH-B との間で抗真菌作用の増強が認められた。

ポサコナゾールの抗真菌作用と相関する薬物動態パラメータは、他のアゾール系抗真菌薬と同様に血中薬物濃度－時間曲線下面積（AUC）/最小発育阻止濃度（MIC）であると考えられた。

ポサコナゾールは他のアゾール系抗真菌薬と同様に、真菌細胞の細胞膜を構成するエルゴステ

C Confidential

ロールの生合成に必須の酵素であるラノステロール14α-脱メチル酵素（CYP51）を阻害し、その阻害作用と抗真菌作用に相関傾向が認められた。CYP51の阻害の結果、細胞膜でのエルゴステロールの減少により、細胞膜の脆弱化及び膜蛋白質の機能の低下が誘導される。ポサコナゾールとの継代培養により、*Aspergillus* 属で耐性発現が認められたが、*Candida* 属では耐性株は誘導されなかった。一方、ポサコナゾールを含む抗真菌薬を投与した患者ではポサコナゾールに対する感受性が低下した *C. albicans* の株が分離された。それらポサコナゾールに対する真菌の感受性低下には、標的分子である CYP51のアミノ酸変異が関与しており、ポサコナゾールの CYP51への結合が阻害される。また、真菌の薬剤排出ポンプである Candida drug resistance 1（CDR1）がポサコナゾールに対する感受性の低下に関与するが、多剤耐性輸送体1（MDR1）は関与しなかった。

2.6.2.1.2　　安全性薬理試験

安全性薬理試験の結果から、ポサコナゾールには、中枢神経系、呼吸系、腎／泌尿器系及び胃腸管系に臨床的に意味のある影響を及ぼさないことが示唆された。遺伝子組換え型ヒト ether-á-go-go 関連遺伝子（hERG）チャネル及び摘出 Purkinje 線維では、変化が認められたが、その程度が軽度（10%未満）であることから、*in vivo* で QT 間隔の延長を引き起こす可能性は低いと考えられた。このことと一致して、サルに40 mg/kg を投与しても QT 又は QTc 間隔に変化はみられず、安全性薬理試験の成績からは、ポサコナゾールは QT 又は QTc 間隔の延長作用を有する可能性は低いことが示唆された。ラットの高用量（90 mg/kg、経口）及びサルの高用量（40 mg/kg、静脈内）で血圧の上昇が認められた。ラットでは、その血圧の変化は血管抵抗の増加（後負荷の増加）に対する反応の可能性が高いが、心筋に対する直接的な陽性変力作用の関与を除外することはできなかった。また、ラットでは、ポサコナゾールによる心収縮能の低下、又は心代償不全を示唆する徴候はなかった。

C Confidential

2.6.2.2　効力を裏付ける試験

2.6.2.2.1　*In vitro* 抗真菌作用

2.6.2.2.1.1　国内臨床分離株の感受性

20[redacted]～20[redacted]年に臨床検体から分離された、糸状菌（*Aspergillus* 属50株、*Fusarium* 属10株、ムーコル目30株、クロモブラストミコーシス及び菌腫の原因真菌53株、並びに酵母様真菌（*Candida* 属85株及び *Cryptococcus neoformans* 10株）、計238株の各種抗真菌薬に対する感受性を検討した。なお、多くの菌種は20[redacted]～20[redacted]年に収集したが、収集が困難であった一部の希少真菌については、[redacted]から臨床分離株28株の分与を受けた。分与を受けた株の分離年は、20[redacted]～20[redacted]年であった。試験に用いた抗真菌薬は、アゾール系抗真菌薬［ポサコナゾール、ボリコナゾール（VRCZ）、イトラコナゾール（ITCZ）及びフルコナゾール（FLCZ）］、アンホテリシン B（AMPH-B）、キャンディン系抗真菌薬［カスポファンギン（CPFG）及びミカファンギン（MCFG）］、フルシトシン（5-FC）であった。

方法

最小発育阻止濃度（MIC）の測定（糸状菌）：臨床・検査標準委員会（Clinical and Laboratory Standards Institute、CLSI）の M38-A2法[資料4.3: PD1]に基づき、検討した。マイクロタイタープレートに、0.165 M 3-(*N*-morpholino)propanesulfonic acid（MOPS）添加 RPMI-1640培地（測定用培地）にて調製した被験薬物を添加した。予め培養した糸状菌（分生子）を測定用培地にて調整後、プレートに4.0×10^3～5.0×10^4コロニー形成単位（CFU）/mL の濃度で添加し、35℃で培養した。最長7日間培養しても発育しない菌株については、30℃で最長5日間培養した。ポサコナゾール、VRCZ、ITCZ 及び AMPH-B では、目視により菌の完全な発育阻止がみられる最小濃度、また FLCZ 及び5-FC では、目視により約50%の発育阻止がみられる最小濃度を、それぞれ MIC とした。CPFG 及び MCFG では、目視及び顕微鏡により小さく、丸くコンパクトな形状を示す最小濃度を最小作用濃度（MEC）とした。

MIC の測定（酵母様真菌）：CLSI M27-A3法[資料4.3: PD2]に基づき、検討した。マイクロタイタープレートに、0.165 M MOPS 添加 RPMI-1640培地（測定用培地）にて調製した被験薬物を添加した。予め培養した酵母様真菌を測定用培地にて調整後、プレートに5.0×10^2～2.5×10^3 CFU/mL の濃度で添加し、35℃で *Candida* 属は24～48時間、*Cryptococcus neoformans*（*Cr. neoformans*）は72時間培養した。AMPH-B では、目視により菌の完全な発育阻止がみられる濃度、それ以外の薬物では明らかな発育阻止がみられる最小濃度を、それぞれ MIC とした。

10株以上の菌株では被験薬物の MIC/MEC 値より、50%及び90%以上の株の発育を阻止する濃度（それぞれ、MIC_{50}/MEC_{50}及び MIC_{90}/MEC_{90}値）を算出した。また、MIC/MEC の幾何平均値を算出した。

成績

Aspergillus 属の4菌種に対する成績を[表 2.6.2-1]に示す。

Aspergillus 属に対するポサコナゾールの MIC_{90}値又は MIC の最高値（*A. terreus*、n=5）は、いずれも0.5 µg/mL 以下であり、MCFG を除き、他の抗真菌薬と同等か低値であった。

Fusarium 属及びムーコル目の感受性の成績を[表 2.6.2-2]に示す。

C Confidential

Fusarium 属に対するポサコナゾールの MIC_{90}値は、>8 µg/mL であり、4 µg/mL の AMPH-B を除き、他の抗真菌薬と同様に高値を示した。

ムーコル症の原因真菌である *Mucor* 属、*Rhizopus* 属、*Cunninghamella* 属、*Rhizomucor* 属及び *Lichtheimia* 属（*Absidia* 属）に対するポサコナゾールの MIC_{90}値又は10株未満の菌種に対する MIC の最高値は、*Mucor* 属では8 µg/mL、それ以外では1 µg/mL 以下であり、ITCZ 及び AMPH-B とほぼ同等、その他の抗真菌薬よりも低値であった。

クロモブラストミコーシス及び菌腫の原因真菌の感受性の成績を[表 2.6.2-3]に示す。

Fonsecaea 属、*Scedosporium apiospermum*（*Pseudallescheria boydii*）、*Exophiala* 属（*Wangiella* 属）、*Phialophora* 属、*Cladosporium* 属、*Cladophialophora* 属及び *Alternaria* 属に対するポサコナゾールの MIC_{90}値又は10株未満の菌種に対する MIC の最高値は、*S. apiospermum* では2 µg/mL、それ以外では0.25 µg/mL 以下であり、MCFG を除く他の抗真菌薬と同等か、低値であった。

Candida 属及び *Cr. neoformans* の感受性の成績を[表 2.6.2-4]に示す。FLCZ に対して自然耐性を示す[資料4.3: PD3] [資料4.3: PD4]、*C. glabrata* 及び *C. krusei* に対するポサコナゾールの MIC_{90}値は、それぞれ4及び0.12 µg/mL であり、FLCZ 以外の他のアゾール系抗真菌薬とほぼ同等であった。その他の菌種に対するポサコナゾールの MIC_{90}値又は10株未満の菌種の MIC の最高値は、0.12 µg/mL 以下であり、他の抗真菌薬と同等か低値であった。

Confidential

表 2.6.2-1　　国内臨床分離株（*Aspergillus* 属）の感受性

菌名	株数	被験薬物	MIC/MEC 値（μg/mL）			
			範囲	50%	90%	幾何平均値
A. fumigatus	25	ポサコナゾール	0.06-0.12	0.06	0.12	0.085
		VRCZ	0.25-0.5	0.25	0.5	0.34
		ITCZ	0.25-0.5	0.25	0.5	0.29
		FLCZ	>64	>64	>64	>64
		AMPH-B	0.25-0.5	0.25	0.5	0.33
		CPFG	0.12-0.5	0.12	0.25	0.18
		MCFG	≤0.002-0.008	0.004	0.008	0.0045
		5-FC	32->64	>64	>64	>64
A. flavus	10	ポサコナゾール	0.25-0.5	0.25	0.5	0.29
		VRCZ	0.5-2	0.5	1	0.76
		ITCZ	0.25-1	0.5	0.5	0.50
		FLCZ	64->64	>64	>64	>64
		AMPH-B	0.5-1	1	1	0.93
		CPFG	0.12-0.5	0.25	0.25	0.22
		MCFG	0.004-0.008	0.008	0.008	0.0063
		5-FC	16-64	32	32	30
A. niger	10	ポサコナゾール	0.25-0.5	0.5	0.5	0.38
		VRCZ	0.5-2	1	2	1.1
		ITCZ	0.5-4	1	4	1.4
		FLCZ	64->64	>64	>64	>64
		AMPH-B	0.25-1	0.25	1	0.44
		CPFG	0.12-0.25	0.25	0.25	0.22
		MCFG	≤0.002-0.004	0.004	0.004	0.0032
		5-FC	0.5-4	4	4	2.8
A. terreus	5	ポサコナゾール	0.12-0.25	－	－	0.14
		VRCZ	0.25-0.5	－	－	0.29
		ITCZ	0.25-0.5	－	－	0.29
		FLCZ	32->64	－	－	56
		AMPH-B	1-2	－	－	1.1
		CPFG	0.25	－	－	0.25
		MCFG	0.004	－	－	0.0039
		5-FC	1-64	－	－	3.5

－：10株未満の場合、算出せず
[資料 4.2.1.1.1: PD101]（評価資料）、33 頁の表 32 を変更して示した。

C Confidential

表 2.6.2-2　　国内臨床分離株（*Fusarium* 属及びムーコル目）の感受性

菌名	株数	被験薬物	MIC/MEC 値（μg/mL）			
			範囲	50%	90%	幾何平均値
Fusarium 属	10	ポサコナゾール	2->8	>8	>8	>8
		VRCZ	4->8	8	>8	8.0
		ITCZ	>8	>8	>8	>8
		FLCZ	>64	>64	>64	>64
		AMPH-B	2-8	2	4	3.0
		CPFG	>16	>16	>16	>16
		MCFG	>16	>16	>16	>16
		5-FC	>64	>64	>64	>64
Mucor 属	10	ポサコナゾール	0.25->8	1	8	2.1
		VRCZ	>8	>8	>8	>8
		ITCZ	1->8	>8	>8	6.5
		FLCZ	>64	>64	>64	>64
		AMPH-B	0.25-1	0.25	0.5	0.33
		CPFG	4->16	>16	>16	>16
		MCFG	>16	>16	>16	>16
		5-FC	>64	>64	>64	>64
Rhizopus 属	7	ポサコナゾール	0.25-1	−	−	0.45
		VRCZ	4->8	−	−	>8
		ITCZ	0.25-2	−	−	0.61
		FLCZ	>64	−	−	>64
		AMPH-B	0.25-1	−	−	0.45
		CPFG	>16	−	−	>16
		MCFG	>16	−	−	>16
		5-FC	>64	−	−	>64
Cunninghamella 属	10	ポサコナゾール	0.5-1	0.5	1	0.57
		VRCZ	>8	>8	>8	>8
		ITCZ	1-4	4	4	2.8
		FLCZ	>64	>64	>64	>64
		AMPH-B	4-8	4	4	4.3
		CPFG	>16	>16	>16	>16
		MCFG	>16	>16	>16	>16
		5-FC	>64	>64	>64	>64
Rhizomucor 属	2	ポサコナゾール	0.5	−	−	0.50
		VRCZ	>8	−	−	>8
		ITCZ	0.5-1	−	−	0.71
		FLCZ	>64	−	−	>64
		AMPH-B	1	−	−	1.0
		CPFG	>16	−	−	>16
		MCFG	>16	−	−	>16
		5-FC	>64	−	−	>64
Lichtheimia 属（*Absidia* 属）	1	ポサコナゾール	0.5	−	−	−
		VRCZ	>8	−	−	−
		ITCZ	1	−	−	−
		FLCZ	>64	−	−	−
		AMPH-B	1	−	−	−
		CPFG	>16	−	−	−
		MCFG	>16	−	−	−
		5-FC	>64	−	−	−

－：10 株未満の場合、算出せず
[資料 4.2.1.1.1: PD101]（評価資料）、35～37 頁の表 34 及び 35 を変更して示した。

Confidential

表 2.6.2-3　　国内臨床分離株（クロモブラストミコーシス及び菌腫の原因真菌）の感受性

菌名	株数	被験薬物	MIC/MEC 値（μg/mL）			
			範囲	50%	90%	幾何平均値
Fonsecaea 属	5	ポサコナゾール	0.03-0.06	−	−	0.036
		VRCZ	0.06	−	−	0.063
		ITCZ	0.12-0.25	−	−	0.14
		FLCZ	16-32	−	−	18
		AMPH-B	1-4	−	−	2.0
		CPFG	2-4	−	−	2.3
		MCFG	1-2	−	−	1.1
		5-FC	4-64	−	−	14
Scedosporium apiospermum（*Pseudallescheria boydii*）	10	ポサコナゾール	0.5-2	1	2	1.2
		VRCZ	0.5-1	0.5	1	0.71
		ITCZ	1->8	2	>8	4.9
		FLCZ	64->64	64	64	>64
		AMPH-B	4->16	8	16	11
		CPFG	0.25-2	1	1	0.93
		MCFG	0.06-0.25	0.12	0.12	0.11
		5-FC	>64	>64	>64	>64
Exophiala 属（*Wangiella* 属）	10	ポサコナゾール	0.008-0.25	0.06	0.25	0.063
		VRCZ	0.03-0.5	0.12	0.25	0.12
		ITCZ	0.06-0.5	0.12	0.5	0.19
		FLCZ	4->64	16	32	16
		AMPH-B	0.12-2	1	2	0.81
		CPFG	0.25-4	1	2	1.1
		MCFG	0.03-2	0.12	2	0.23
		5-FC	1->64	>64	>64	32
Phialophora 属	4	ポサコナゾール	0.03-0.25	−	−	0.053
		VRCZ	0.06-0.5	−	−	0.15
		ITCZ	0.12-0.5	−	−	0.25
		FLCZ	16-64	−	−	32
		AMPH-B	2	−	−	2.0
		CPFG	0.5-1	−	−	0.84
		MCFG	0.03-0.12	−	−	0.063
		5-FC	2-64	−	−	27
Cladosporium 属	10	ポサコナゾール	0.03-0.25	0.25	0.25	0.16
		VRCZ	0.25-2	1	2	1.1
		ITCZ	0.06-0.5	0.5	0.5	0.33
		FLCZ	32->64	>64	>64	>64
		AMPH-B	0.25-4	2	4	2.1
		CPFG	0.25-4	0.5	4	0.87
		MCFG	0.015-0.25	0.06	0.25	0.058
		5-FC	1-64	8	32	7.5
Cladophialophora 属	4	ポサコナゾール	0.03-0.25	−	−	0.063
		VRCZ	0.12-0.5	−	−	0.25
		ITCZ	0.12-0.5	−	−	0.25
		FLCZ	32->64	−	−	54
		AMPH-B	2	−	−	2.0
		CPFG	0.5-1	−	−	0.59
		MCFG	0.03-0.06	−	−	0.037
		5-FC	>64	−	−	>64
Alternaria 属	10	ポサコナゾール	0.03-0.25	0.12	0.25	0.13
		VRCZ	0.5-2	1	2	1.1
		ITCZ	0.12-0.5	0.25	0.5	0.27
		FLCZ	16->64	32	64	42
		AMPH-B	0.25-1	0.5	1	0.50
		CPFG	0.25-0.5	0.25	0.5	0.29
		MCFG	0.015-0.03	0.03	0.03	0.027
		5-FC	>64	>64	>64	>64

−：10 株未満の場合、算出せず
[資料 4.2.1.1.1: PD101]（評価資料）、35～37 頁の表 34 及び 35 を変更して示した。

C Confidential

表 2.6.2-4　　国内臨床分離株（*Candida* 属及び *Cr. neoformans*）の感受性

菌名	株数	被験薬物	MIC/MEC 値（μg/mL）			
			範囲	50%	90%	幾何平均値
C. albicans	25	ポサコナゾール	0.004-0.015	0.008	0.015	0.010
		VRCZ	≤0.002-0.015	0.008	0.015	0.0074
		ITCZ	≤0.015-0.06	≤0.015	0.03	0.020
		FLCZ	≤0.12-0.5	0.25	0.25	0.21
		AMPH-B	0.25-1	0.5	0.5	0.41
		CPFG	0.12-0.25	0.25	0.25	0.18
		MCFG	≤0.002-0.008	0.004	0.008	0.0050
		5-FC	≤0.12-0.5	≤0.12	≤0.12	0.14
C. glabrata	15	ポサコナゾール	0.06-4	1	4	0.91
		VRCZ	0.06-4	0.5	4	0.48
		ITCZ	0.12->8	1	4	1.1
		FLCZ	4->64	16	>64	18
		AMPH-B	0.25-1	1	1	0.66
		CPFG	0.25-0.5	0.25	0.5	0.33
		MCFG	0.008-0.015	0.008	0.008	0.0082
		5-FC	≤0.12	≤0.12	≤0.12	0.13
C. parapsilosis	15	ポサコナゾール	0.015-0.12	0.03	0.12	0.031
		VRCZ	0.004-0.06	0.015	0.03	0.016
		ITCZ	≤0.015-0.12	0.06	0.12	0.045
		FLCZ	≤0.12-1	0.5	1	0.42
		AMPH-B	0.5-1	1	1	0.76
		CPFG	1-4	1	1	1.1
		MCFG	0.25-1	0.5	1	0.55
		5-FC	≤0.12-0.5	≤0.12	0.25	0.16
C. tropicalis	15	ポサコナゾール	0.004-0.06	0.03	0.06	0.026
		VRCZ	0.004-0.06	0.03	0.06	0.026
		ITCZ	≤0.015-0.25	0.06	0.12	0.063
		FLCZ	0.25-1	0.5	0.5	0.42
		AMPH-B	0.25-1	0.5	1	0.57
		CPFG	0.12-0.5	0.25	0.25	0.21
		MCFG	0.004-0.03	0.008	0.015	0.0098
		5-FC	≤0.12	≤0.12	≤0.12	0.13
C. krusei	10	ポサコナゾール	0.06-0.25	0.12	0.12	0.12
		VRCZ	0.06-0.25	0.12	0.25	0.13
		ITCZ	0.06-0.5	0.25	0.25	0.22
		FLCZ	8-32	16	32	20
		AMPH-B	1	1	1	1.0
		CPFG	1-2	1	2	1.1
		MCFG	0.03-0.12	0.06	0.06	0.063
		5-FC	2-32	8	16	9.8
C. guilliermondii	5	ポサコナゾール	0.12	－	－	0.13
		VRCZ	0.03-0.12	－	－	0.072
		ITCZ	0.25-0.5	－	－	0.38
		FLCZ	2-8	－	－	3.0
		AMPH-B	0.25-0.5	－	－	0.38
		CPFG	1	－	－	1.0
		MCFG	0.12-0.5	－	－	0.19
		5-FC	≤0.12-0.25	－	－	0.16
Cr. neoformans	10	ポサコナゾール	0.06-0.12	0.12	0.12	0.10
		VRCZ	0.03-0.12	0.12	0.12	0.095
		ITCZ	0.12-0.25	0.12	0.25	0.16
		FLCZ	1-4	4	4	3.0
		AMPH-B	0.25-0.5	0.5	0.5	0.44
		CPFG	16	16	16	16
		MCFG	>16	>16	>16	>16
		5-FC	2-8	4	8	4.3

－：10株未満の場合、算出せず
[資料 4.2.1.1.1: PD101]（評価資料）、31 頁の表 31 及び 34 頁の表 33 を変更して示した。

C Confidential

2.6.2.2.1.2　　海外臨床分離株の感受性

海外の200施設で1990年半ばから約10年間に収集された臨床的に重要な糸状菌及び酵母様真菌の臨床分離株約19000株のポサコナゾールを含む各種抗真菌薬に対する感受性試験が、45施設（国内1施設を含む）で実施された。その成績を集計した。

方法

MIC の測定：各施設では糸状菌及び酵母様真菌の感受性試験が、[2.6.2.2.1.1 項]（11頁）に記載した、それぞれ CLSI の M38-A2[資料4.3: PD1]及び M27-A3法[資料4.3: PD2]と類似した M38-A[資料4.3: PD5]及び M27-A2法[資料4.3: PD6]に基づき実施された。*Cryptococcus* 属、*Histoplasma* 属等の発育の遅い菌種については、発育がみられるまで培養時間を延長した。集計に際しては、試験実施者から個別に報告をうけた各菌株に対する MIC 値を基に、各被験薬物の MIC_{50}及び MIC_{90}値を算出した。また、同一株について複数回感受性試験を実施した場合があるため、表中の n 数は菌株数ではなく、測定された MIC 値の個数を記載した。

成績

各種糸状菌に対する成績を[表 2.6.2-5]に示す。

Aspergillus 属に対するポサコナゾールの MIC_{90}値は1.0 μg/mL 以下であり、他の抗真菌薬と同等か低値を示した。

Fusarium 属に対するポサコナゾールの MIC 値は菌種により差があり、その MIC_{90}値は1.0～32.0 μg/mL であった。この菌種間での MIC 値の差は他の抗真菌薬でも同様の傾向を示していた。

ムーコル症の原因真菌に対するポサコナゾールの MIC_{90}値又は10株未満の菌種に対する MIC の最高値は0.25～16.0 μg/mL であり、AMPH-B よりも大きく、ITCZ とほぼ同等、VRCZ よりも低値であった。

クロモブラストミコーシス及び菌腫の原因真菌に対するポサコナゾールの MIC_{90}値は0.125～32.0 μg/mL であり、測定されていた ITCZ 及び AMPH-B とほぼ同等か低値であった。

二形性真菌に対するポサコナゾールの MIC_{90}値は1.0 μg/mL 以下であり、測定されていた ITCZ 及び AMPH-B とほぼ同等か低値であった。

皮膚糸状菌に対する成績を[表 2.6.2-6]に示す。

Trichophyton 属、*Microsporum* 属、*Epidermophyton floccosum* を含む皮膚糸状菌に対するポサコナゾールの MIC_{90}値又は10株未満の菌種に対する MIC の最高値は0.5 μg/mL 以下であり、ITCZ と同等、FLCZ よりも低値であった。

酵母様真菌に対する成績を[表 2.6.2-7]に示す。

Candida 属のうち FLCZ に自然耐性を示す *C. glabrata* 及び *C. krusei* に対するポサコナゾールの MIC_{90}値は、それぞれ2.0及び1.0 μg/mL であり、VRCZ 及び ITCZ とほぼ同等の値を示した。また、AMPH-B に対して低感受性を示す[資料4.3: PD7] *C. lusitaniae* に対するポサコナゾールの MIC_{90}値は0.25 μg/mL であり、AMPH-B、ITCZ 及び FLCZ よりも低値を示し、VRCZ よりも大きかった。*C. albicans* を含むその他の分離頻度の高い *Candida* 属に対するポサコナゾールの MIC_{90}値は0.063～1.0 μg/mL であり、他の抗真菌薬と比較してほぼ同等か低値であった。

Cryptococcus 属に対するポサコナゾールの MIC_{90}値は0.25 μg/mL であり、他の抗真菌薬とほぼ

C Confidential

同等か低値であった。

表 2.6.2-5　　海外臨床分離株（糸状菌）の感受性

菌名	MIC 数	MIC（μg/mL）							
		ポサコナゾール		VRCZ		ITCZ		AMPH-B	
		50%	90%	50%	90%	50%	90%	50%	90%
全ての *Aspergillus* 属	1423	0.125	0.5	0.25	0.5	0.5	2.0	0.5	1.0
A. fumigatus	1119	0.125	0.5	0.25	0.5	0.5	1.0	0.5	1.0
A. flavus	89	0.25	0.5	0.5	1.0	0.5	1.0	1.0	2.0
A. niger	101	0.25	0.5	0.5	2.0	1.0	2.0	0.125	1.0
A. terreus	22	0.25	0.25	0.25	0.5	0.5	0.5	2.0	2.0
他の *Aspergillus* 属†	92	0.125	1.0	0.25	1.0	0.5	2.0	1.0	2.0
全ての *Fusarium* 属	67	16.0	32.0	16.0	32.0	16.0‡	32.0‡	8.0	32.0
F. solani	39	32.0	32.0	16.0	32.0	ND	ND	16.0	32.0
F. oxysporum	12	2.0	4.0	4.0	32.0	ND	ND	8.0	16.0
F. moniliforme	2	1.0		1.0		ND		1.0-4.0	
他の *Fusarium* 属	14	16.0	16.0	4.0	16.0	ND	ND	1.0	2.0
全てのムーコル目	86	0.5	4.0	16.0	128.0	1.0	32.0	0.25	2.0
Mucor 属	18	1.0	16.0	64.0	128.0	2.0	32.0	0.25	1.0
Rhizopus 属	32	1.0	8.0	16.0	128.0	4.0	32.0	1.0	2.0
Cunninghamella 属	6	0.031-1.0		8.0-128.0		0.125-2.0		0.125-2.0	
Rhizomucor 属	3	0.016-0.25		2.0-16.0		0.016-0.25		0.063-0.125	
Lichtheimia 属	16	0.125	0.25	16.0	128.0	0.125	0.5	0.25	0.5
Apophysomyces 属	5	0.031-4.0		16.0-128.0		0.031-8.0		0.031-4.0	
Saksenaea 属	4	0.016-2.0		0.5-4.0		0.016-0.125		0.063-0.5	
Cokeromyces 属	2	0.25-4.0		16.0-64.0		0.25-8.0		0.125-0.5	
クロモブラストミコーシス及び菌腫の原因真菌	241	0.25	16.0	ND	ND	1.0	64.0	2.0	32.0
Scedosporium prolificans	80	16.0	32.0	ND	ND	64.0	64.0	16.0	32.0
Scedosporium apiospermum	26	0.25	1.0	ND	ND	1.0	32.0	2.0	8.0
Pseudallescheria 属	41	0.25	1.0	ND	ND	0.5	1.0	2.0	4.0
Exophiala 属	14	0.25	0.5	ND	ND	0.5	1.0	0.5	1.0
Cladosporium 属	11	0.063	16.0	ND	ND	0.125	16.0	1.0	4.0
Alternaria 属	13	0.125	0.25	ND	ND	0.5	1.0	0.5	4.0
Bipolaris 属	10	0.063	0.125	ND	ND	0.063	0.25	0.25	0.25
Aspergillus nidulans	20	0.063	0.25	ND	ND	0.25	0.5	1.0	2.0
その他§	26	0.125	0.25	ND	ND	0.25	1.0	0.5	1.0
全ての二形性真菌	151	0.063	0.25	ND	ND	0.031	0.25	0.25	0.5
Histoplasma 属	53	0.019	0.25	ND	ND	0.019	0.063	0.25	0.5
Blastomyces 属	38	0.063	0.125	ND	ND	0.031	2.0	0.125	0.5
Coccidioides 属	25	0.125	0.25	ND	ND	0.125	0.25	0.5	0.5
Paracoccidioides 属	13	0.063	0.125	ND	ND	0.016	0.063	0.125	0.25
Penicillium marneffei	12	0.016	0.016	ND	ND	0.008	0.063	0.5	4.0
Sporothrix 属	10	0.5	1.0	ND	ND	0.25	0.5	0.5	1.0
他の糸状菌‖	58	0.25	0.5	0.25	0.5	0.063	1.0	0.25	2.0

n 数が 10 未満の場合、MIC 値の範囲を示した。
ND：実施せず。
† ：*A. glaucus*、*A. nidulans*、*A. oryzae*、*A. sydowii*、*A. ustus*、*A. versicolor* 及び *Aspergillus* 属を含む。
‡ ：n＝23
§ ：*Cladophialophora* 属、*Curvularia* 属、*Exserohilum* 属、*Fonsecaea* 属、*Pithomyces* 属、*Ramichloridium* 属、*Ulocladium* 属及び *Wangiella* 属を含む。
‖ :*Acremonium* 属、*Basidiomycetes* 属、*Bjerkandera* 属、*Coprinus* 属、*Paecilomyces* 属、*Pseudallescheria* 属、*Schizophyllum* 属及び *Trichophyton* 属を含む。
[資料 4.2.1.1.2: PD102]（参考資料）、2011 頁の TABLE 2 を変更して示した。

Confidential

表 2.6.2-6　　海外臨床分離株（皮膚糸状菌）の感受性

菌名	MIC数	MIC（μg/mL）					
		ポサコナゾール		ITCZ		FLCZ	
		50%	90%	50%	90%	50%	90%
全ての皮膚糸状菌	180	0.031	0.25	0.063	0.25	4.0	64.0
Trichophyton rubrum	91	0.063	0.125	0.063	0.25	2.0	32.0
T. mentagrophytes	29	0.016	0.125	0.031	0.25	8.0	64.0
T. tonsurans	23	0.031	0.25	0.031	0.063	4.0	32.0
他の *Trichophyton* 属[†]	5	0.063-0.5		0.031-4.0		1.0-128.0	
Microsporum 属[‡]	16	0.016	0.125	0.016	0.5	2.0	128.0
Epidermophyton floccosum	15	0.016	0.25	0.016	0.25	2.0	2.0
Arthroderma benhamiae	1	0.031		0.031		1.0	

n 数が10未満の場合、MIC 値の範囲を示した。
[†]：*T. krajdenii*、*T. raubitschekii*、*T. soudanense* 及び *T. terrestre* を含む。
[‡]：*M. canis*、*M. gypseum* 及び *M. persicolor* を含む。
[資料4.2.1.1.2: PD102]（参考資料）、2012頁の TABLE 3を変更して示した。

表 2.6.2-7　　海外臨床分離株（酵母様真菌）の感受性

菌名	MIC数	MIC（μg/mL）									
		ポサコナゾール		VRCZ		ITCZ		FLCZ		AMPH-B	
		50%	90%	50%	90%	50%	90%	50%	90%	50%	90%
全ての *Candida* 属	6965	0.063	1.0	0.031	0.5	0.125	1.0	0.5	16.0	1.0[†]	1.0[†]
C. albicans	3535	0.031	0.063	0.008	0.063	0.063	0.25	0.25	2.0	1.0[†]	1.0[†]
C. glabrata	1218	1.0	2.0	0.25	2.0	1.0	4.0	8.0	64.0	1.0[†]	1.0[†]
C. parapsilosis	970	0.063	0.25	0.031	0.125	0.25	0.5	1.0	4.0	1.0	1.0
C. tropicalis	719	0.063	0.25	0.063	0.5	0.125	0.5	1.0	4.0	1.0	1.0
C. krusei	189	0.5	1.0	0.25	0.5	1.0	1.0	32.0	64.0	1.0	2.0
C. lusitaniae	84	0.063	0.25	0.031	0.063	0.25	2.0	1.0	4.0	1.0	2.0
C. guilliermondii	26	0.25	1.0	0.063	8.0	0.5	4.0	4.0	32.0	0.5	1.0
C. dubliniensis	164	0.031	0.125	0.016	0.125	0.063	0.5	0.25	32.0	0.5	1.0
他の *Candida* 属[‡]	60	0.25	2.0	0.063	0.25	0.5	1.0	4.0	16.0	1.0	1.0
Cryptococcus 属[§]	271	0.125	0.25	0.063	0.125	0.125	0.5	4.0	8.0	1.0	1.0

[†]：AMPH-B の全ての *Candida* 属、*C. albicans* 及び *C. glabrata* での MIC 数は、それぞれ6921、3517及び1192であった。
[‡]：*C. famata*、*C. kefyr*、*C. lipolytica*、*C. pelliculosa*、*C. pseudotropicalis*、*C. rugosa*、*C. sphaerica*、*C. stellatoidea* 及び *C. zeylanoides* を含む。
[§]：*Cr. neoformans* 及び *Cr. laurentii* を含む。
[資料4.2.1.1.2: PD102]（参考資料）、2012頁の TABLE 4を変更して示した。

Confidential

2.6.2.2.1.3　　各種抗真菌薬に耐性又は低感受性を示す真菌の感受性

実験的に誘導した各種抗真菌薬に耐性の *A. fumigatus* 又は各種抗真菌薬に耐性又は低感受性の臨床分離 *Candida* 属の感受性を検討した。

方法

VRCZ に耐性の *A. fumigatus* の誘導：*A. fumigatus*（ATCC 208996株）の分生子を、ペプトン-酵母エキス-ブドウ糖（PYG）寒天プレートを用いて VRCZ の0.5 μg/mL の存在下で35℃にて3日間培養した。形成されたコロニーのうち VRCZ に対する MIC 値が1 μg/mL 以上のコロニーを同プレートにて VRCZ の4 μg/mL 存在下で35℃にて6日間培養した。

ITCZ に耐性の *A. fumigatus* の誘導：*A. fumigatus*（W73355株）の分生子を、PYG 寒天プレートを用いてミコナゾールの32 μg/mL の存在下で35℃にて6日間培養した。形成されたコロニーを同プレートにて ITCZ 16 μg/mL 存在下で選択した。

AMPH-B に耐性の *A. fumigatus* の誘導：*A. fumigatus*（ATCC 208996株）の分生子に紫外線（波長366 nm）を6時間照射し、PYG 寒天プレートを用いて AMPH-B の8又は16 μg/mL 存在下で35℃にて7日間培養した。

アゾール系抗真菌薬に耐性の *Candida* 属の選択：[2.6.2.2.1.2 項]（17頁）に記載した感受性試験で収集した *Candida* 属の臨床分離株のうち、VRCZ 耐性（MIC 値>2 μg/mL）、ITCZ 耐性（MIC 値>0.5 μg/mL）及び FLCZ 耐性（MIC 値>32 μg/mL）と考えられる臨床分離株を選択した[資料4.3: PD6]。また、ポサコナゾールに低感受性（MIC 値>2.0 μg/mL）を示す臨床分離株を選択した。

MIC の測定（糸状菌）：[2.6.2.2.1.1 項]（11頁）に記載した CLSI の M38-A2法[資料4.3: PD1]と類似した M38-P 法[資料4.3: PD8]に基づき、測定した。なお、その後の改訂版では FLCZ 以外のアゾール系抗真菌薬の終末点の評価方法が変更されたため、M38-P 法で得られた MIC 値を他の方法で得られた値と比較することは出来ないが[2.6.2.6.1 項]（85頁）、本試験内での評価は可能と判断した。

MIC の測定（酵母様真菌）：[2.6.2.2.1.1 項]（11頁）に記載した CLSI の M27-A3法[資料4.3: PD2]と類似した M27-A2法[資料4.3: PD6]に基づき、測定した。

成績

実験的に誘導した各種抗真菌薬に耐性を示す *A. fumigatus* に対する成績を[表 2.6.2-8]に示す。VRCZ 又は ITCZ に耐性の *A. fumigatus* に対するポサコナゾールを含む他のアゾール系抗真菌薬の平均 MIC 値は、臨床分離株の2～3倍に増加し、それらの菌株はアゾール系抗真菌薬に軽度な交差耐性を示したが、AMPH-B には感受性を示した。一方、AMPH-B に耐性の *A. fumigatus* は親株と同様にポサコナゾールを含むアゾール系抗真菌薬に感受性を示した。

アゾール系抗真菌薬に対して耐性又は低感受性を示す臨床分離 *Candida* 属に対する成績を[表 2.6.2-9]に示す。VRCZ、ITCZ 又は FLCZ に耐性の *Candida* 属に対するポサコナゾールの MIC_{90}値は2.0～32.0 μg/mL であり、他のアゾール系抗真菌薬と同等か低値であった。また、ポサコナゾールに低感受性を示す *Candida* 属に対するポサコナゾールの MIC_{90}値は16.0～32.0 μg/mL であり、他のアゾール系抗真菌薬と同等か低値であった。

C Confidential

表 2.6.2-8　　抗真菌薬に耐性の *A. fumigatus* の感受性

A. fumigatus	薬物	MIC 値（μg/mL）			
		平均値 ± SD	範囲	50%	90%
臨床分離株†（284株）	ポサコナゾール	0.169 ± 0.108	0.0625-0.5	0.25	0.25
	VRCZ	0.267 ± 0.210	0.125-2	0.25	0.5
	ITCZ	0.415 ± 0.564	0.125-4	0.5	1
	AMPH-B	0.339 ± 0.209	0.125-1	0.25	0.5
VRCZ 耐性株（12株）	ポサコナゾール	0.33 ± 0.22	0.25-1	0.25	0.5
	VRCZ	5.33 ± 2.05	4-8	4	8
	ITCZ	0.74 ± 0.25	0.5-1	0.5	0.5
	AMPH-B	0.52 ± 0.144	0.5-1	0.5	0.5
ITCZ 耐性株（25株）	ポサコナゾール	0.48 ± 0.12	0.25-1	0.5	0.5
	VRCZ	0.47 ± 0.20	0.25-1	0.5	1
	ITCZ	7.56 ± 4.58	2-16	8	16
	AMPH-B	0.40 ± 0.20	0.25-1	0.5	0.5
AMPH-B 耐性株（15株）	ポサコナゾール	0.25 ± 0.0	0.25	0.25	0.25
	VRCZ	0.34 ± 0.25	0.25-1	0.25	1
	ITCZ	0.27 ± 0.08	0.25-0.5	0.25	0.5
	AMPH-B	3.48 ± 2.26	2-8	4	8

†：1994年1月～1998年12月に Detroit Medical Center で分離された臨床分離株。
[資料4.2.1.1.3: D-46088]（参考資料）、232頁の Table から抜粋して示した。

表 2.6.2-9　　抗真菌薬に耐性又は低感受性の海外臨床分離 *Candida* 属の感受性

菌名	MIC 数†	MIC 値（μg/mL）							
		ポサコナゾール		VRCZ		ITCZ		FLCZ	
		50%	90%	50%	90%	50%	90%	50%	90%
VRCZ 耐性（MIC >2 μg/mL）									
全ての *Candida* 属	234	4.0	16.0	8.0	32.0	8.0	32.0	128.0	256.0
C. albicans	101	2.0	16.0	8.0	32.0	8.0	32.0	128.0	256.0
C. glabrata	88	4.0	16.0	4.0	16.0	16.0	32.0	128.0	256.0
他の *Candida* 属	45	2.0	32.0	32.0	32.0	2.0	32.0	128.0	128.0
ITCZ 耐性（MIC >0.5 μg/mL）									
全ての *Candida* 属	1151	1.0	4.0	0.5	4.0	1.0	16.0	16.0	128.0
C. albicans	176	1.0	16.0	2.0	32.0	4.0	32.0	64.0	256.0
C. glabrata	719	1.0	4.0	0.5	4.0	1.0	8.0	16.0	128.0
他の *Candida* 属	256	0.5	2.0	0.5	16.0	1.0	8.0	32.0	128.0
FLCZ 耐性（MIC >32 μg/mL）									
全ての *Candida* 属	446	1.0	16.0	2.0	32.0	2.0	32.0	128.0	256.0
C. albicans	167	0.5	16.0	2.0	32.0	2.0	32.0	128.0	256.0
C. glabrata	149	2.0	16.0	4.0	8.0	4.0	16.0	256.0	256.0
他の *Candida* 属	130	0.5	4.0	0.5	32.0	1.0	32.0	128.0	128.0
PSCZ 低感受性（MIC >2 μg/mL）									
全ての *Candida* 属	176	8.0	32.0	4.0	32.0	16.0	32.0	128.0	256.0
C. albicans	62	8.0	32.0	16.0	64.0	16.0	32.0	128.0	256.0
C. glabrata	86	8.0	16.0	4.0	8.0	16.0	32.0	128.0	256.0
他の *Candida* 属	28	16.0	32.0	32.0	32.0	8.0	32.0	128.0	128.0

†：[表 2.6.2-7]の成績から抗真菌薬に耐性又は低感受性の菌株のデータを示した。
[資料4.2.1.1.2: PD102]（参考資料）、2013頁の TABLE 5を変更して示した。

C Confidential

2.6.2.2.1.4　　殺真菌作用

抗真菌薬の *Aspergillus* 属及び *Candida* 属に対する殺真菌作用の有無を検討した。

2.6.2.2.1.4.1　　*Aspergillus* 属

方法

MIC の測定（糸状菌）: [2.6.2.2.1.1 項]（11頁）に記載した CLSI の M38-A2法[資料4.3: PD1]と類似した M38-A 法[資料4.3: PD5]に基づき、検討した。

最小殺真菌濃度（MFC）の測定：*A. fumigatus* 11株に対する MIC の測定後、MIC より高濃度側のウエルの内容をサブローデキストロース寒天（SDA）プレートに播種し、35℃で薬物を含まない対照プレートで増殖がみられるまで培養した。コロニーがみられないか、3個以下のコロニーが認められたプレートの最小薬物濃度を、MFC と判定した。ポサコナゾールの MFC 値が MIC 値の4倍以内の場合、殺真菌作用ありと判定した。

増殖曲線の検討：*A. fumigatus*（ATCC 208996株）を PYG 培地中で35℃にて1～8 μg/mL の被験薬物又は媒体（ジメチルスルホキシド、DMSO）とともに培養し、経時的に培地の一部を回収した。SDA プレートで35℃にて48時間培養後にコロニー数を計数し、生菌数を求めた。

成績

成績を[表 2.6.2-10]及び[図 2.6.2-1]に示す。*A. fumigatus* の11株に対するポサコナゾールの MFC 値は、いずれの株でも MIC 値の4倍以内であった。このことから、ポサコナゾールは *A. fumigatus* に対して、殺真菌作用を示すことが明らかとなった。また、AMPH-B も MFC 値と MIC 値が類似しており、*A. fumigatus* に対して殺真菌作用を示した。濃度作用曲線に及ぼす影響を検討した結果、ポサコナゾールは *A. fumigatus* に対して、濃度及び時間依存的な殺真菌作用を示し、4 μg/mL の濃度では48時間以内に生菌数は1%未満に減少した。VRCZ、ITCZ 及び AMPH-B も同様に濃度及び時間依存的な殺真菌作用を示した。

表 2.6.2-10　　*A. fumigatus* に対する抗真菌薬の MIC 及び MFC 値

菌種	菌株	ポサコナゾール			AMPH-B		
		MIC（μg/mL）	MFC（μg/mL）	MFC/MIC	MIC（μg/mL）	MFC（μg/mL）	MFC/MIC
A. fumigatus	ND217	0.125	0.125	1	0.5	0.5	1
	ND218	0.016	0.06	4	0.5	0.5	1
	ND222	0.03	0.125	4	0.25	0.5	2
	ND223	0.5	2	4	0.25	0.5	2
	ND225	0.125	0.125	1	0.5	2	4
	ND229	>64	>64	NA	ND	ND	NA
	ND230	0.03	0.03	1	0.5	1	2
	ND232	0.03	0.125	4	0.5	0.5	1
	ND248	0.125	0.125	1	1	2	2
	ND255	0.06	0.125	2	0.5	1	2
	ND256	0.125	0.125	1	1	1	1

NA：not applicable、ND：実施せず
[資料4.2.1.1.4: D-46087]（参考資料）、6頁の Table 3を変更して示した。

Confidential

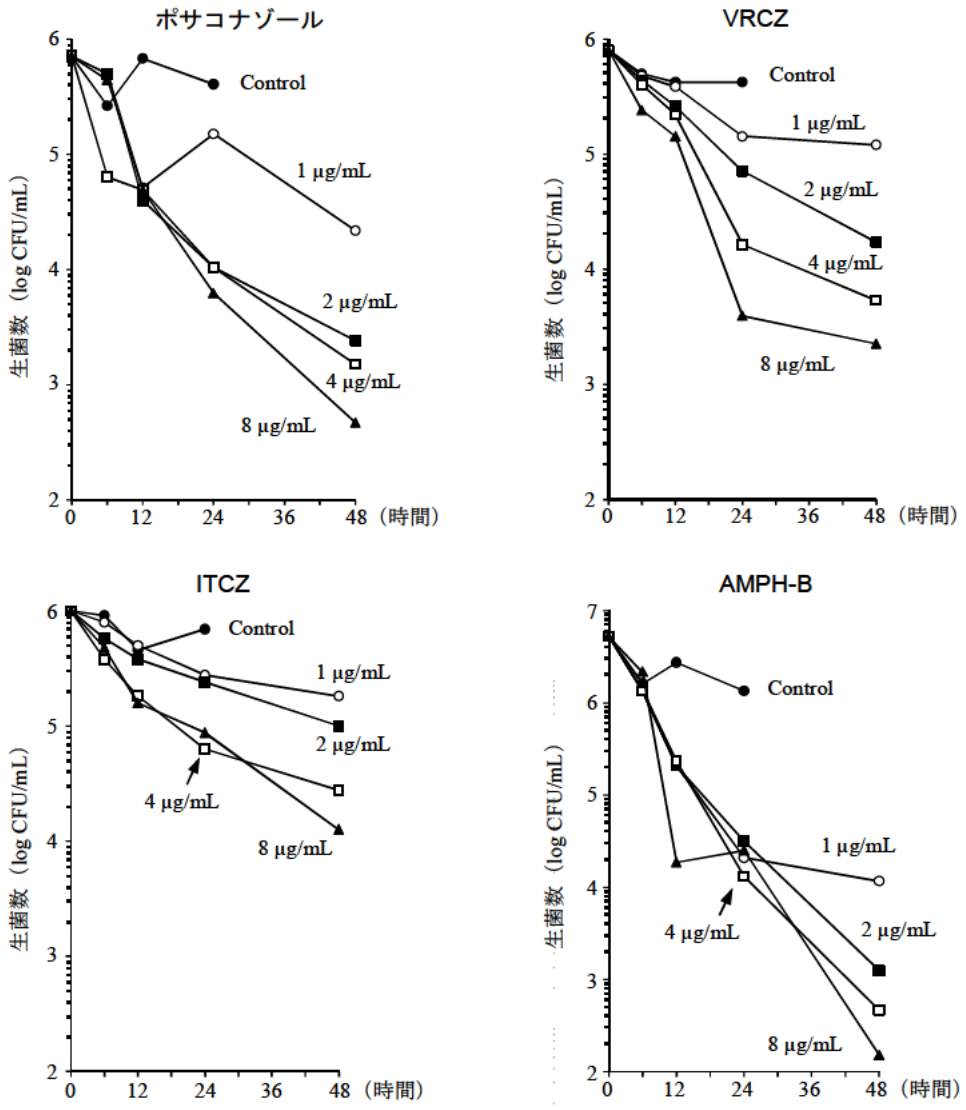


図 2.6.2-1　*A. fumigatus*（ATCC 208996 株）に対する殺真菌作用の濃度及び時間依存性（*in vitro*）

[資料4.2.1.1.3: D-46088]（参考資料）、231頁の Figure 2を変更して示した。

Confidential

2.6.2.2.1.4.2　　*Candida* 属

方法

MIC の測定（酵母様真菌）: [2.6.2.2.1.1 項]（11頁）に示した CLSI の M27-A3法[資料4.3: PD2]と類似した M27-A 法[資料4.3: PD9]に基づき、検討した。

MFC の測定：方法を[2.6.2.2.1.4.1 項]（22頁）に記載した。

増殖曲線の検討 : *C. albicans*（C294株）を RPMI-1640培地中で35℃にて MIC 値の0.5～10倍の被験薬物又は媒体（DMSO）とともに培養した。なお、ポサコナゾール、VRCZ、ITCZ、FLCZ 及び AMPH-B の C294株に対する MIC 値は、それぞれ0.03、0.5、0.125、1.0及び0.5 µg/mL であった。経時的に培地の一部を回収し、SDA プレートで35℃にて48時間培養後にコロニー数を計数し、生菌数を求めた。

成績

成績を[表 2.6.2-11]及び[図 2.6.2-2]に示す。*C. krusei* の3株、*C. dubliniensis* の1株、*C. tropicalis* の1株、*C. glabrata* の11株及び *C. albicans* の23株に対するポサコナゾールの MFC 値は、大部分の株で MIC 値の4倍超であった。このことから、ポサコナゾールは *Candida* 属に対して、概して静菌作用を示すことが明らかとなった。また、濃度作用曲線に及ぼす影響を検討した結果、*C. albicans* の生菌数に及ぼすポサコナゾールの影響は、濃度及び時間に依存せず、静菌的であった。他のアゾール系抗真菌薬も同様に、*C. albicans* に対して静菌作用を示した。一方、AMPH-B は濃度及び時間依存的な殺真菌作用を示した。

Confidential

表 2.6.2-11　*Candida* 属に対するポサコナゾールの MIC 及び MFC 値

菌種	菌株	ポサコナゾール		MFC/MIC
		MIC（μg/mL）	MFC（μg/mL）	
C. krusei	C245	0.125	0.5	4
	C246	0.25	1	4
	C265	0.125	1	8
C. dubliniensis	C348	0.015	1	67
C. tropicalis	C143	0.5	>16	>32
C. glabrata	C96	0.25	>2	>8
	C254	0.015	0.125	8.3
	C110	0.25	>2	>8
	C202	0.03	>2	>67
	C95	0.03	>16	>533
	C248	0.06	>16	>267
	C255	0.25	1	4
	C268	0.125	>16	>128
	C269	0.5	>16	>32
	C270	0.5	>16	>32
	C271	2	>16	>8
C. albicans	C84	0.015	>16	>1067
	C69	0.25	1	4
	C210	0.5	>2	>4
	C288	0.125	>2	>16
	C342	0.25	>2	>8
	C258	1	>2	>2
	C284	0.25	>2	>8
	C310	0.5	>2	>4
	C335	0.06	>2	>33
	C331	0.5	>16	>32
	C369	0.25	>2	>8
	C373	0.5	>16	>32
	C259	0.5	>16	>32
	C260	0.25	>2	>8
	C138	0.5	>2	>4
	C189	0.5	>2	>4
	C195	0.5	>16	>32
	C281	0.5	>2	>4
	C286	0.5	>2	>4
	C289	1	>16	>16
	C292	0.5	>2	>4
	C312	0.25	>2	>8
	C337	0.125	>2	>16

[資料4.2.1.1.4: D-46087]（参考資料）、7頁の Table 4を変更して示した。

C Confidential

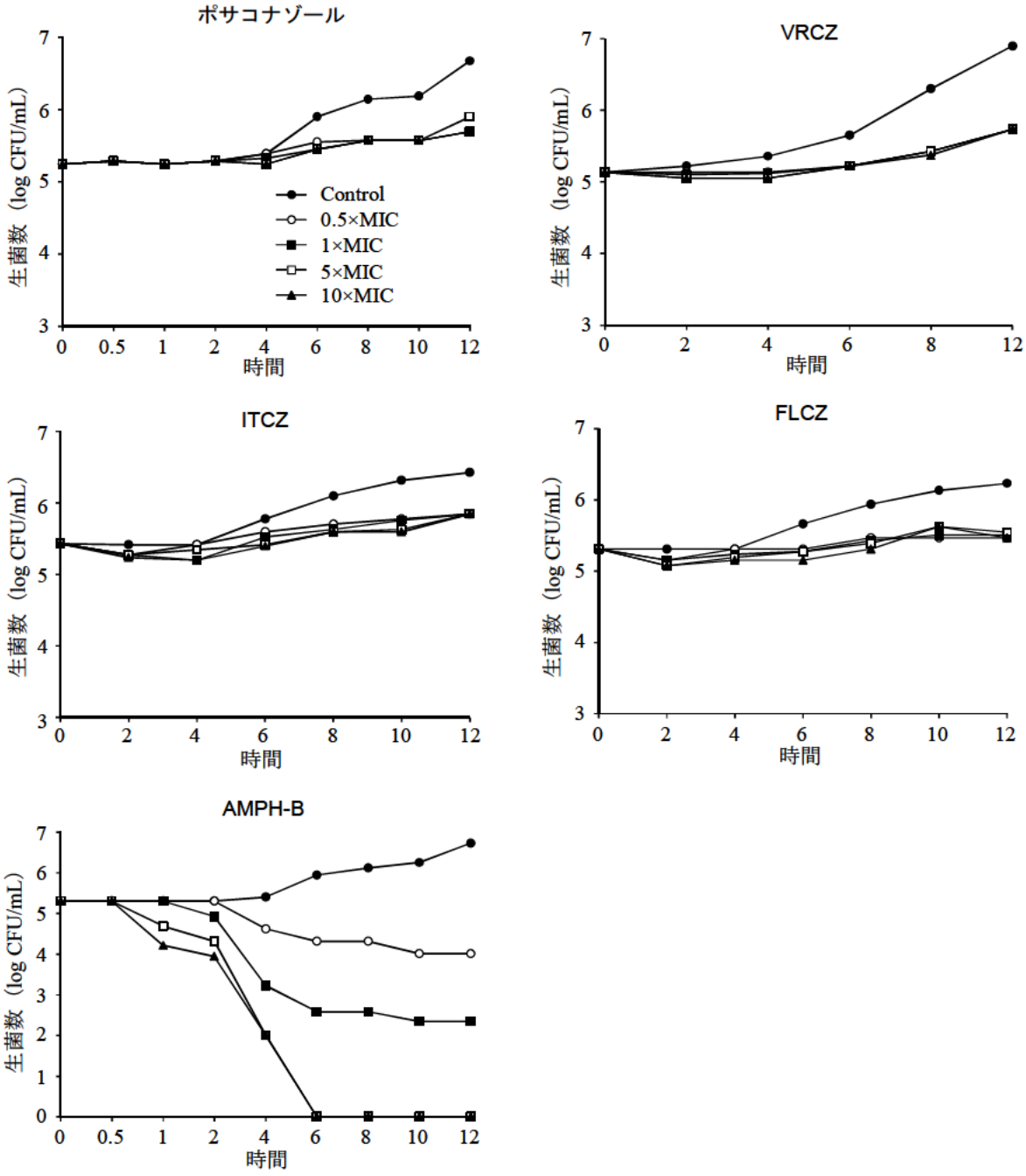


図 2.6.2-2　　*C. albicans*（C294 株）に対する殺真菌作用の濃度及び時間依存性（*in vitro*）

[資料4.2.1.1.5: D-46071]（参考資料）、4～5頁の Figure 1を変更して示した。

Confidential

2.6.2.2.1.5　　持続的抗真菌作用（post-antifungal effect、PAFE）

ポサコナゾールを含む各種抗真菌薬の *in vitro* での PAFE を *A. fumigatus* 5株及び *C. albicans* 1株を用いて検討した。

方法

A. fumigatus の PAFE の測定：*A. fumigatus* の臨床分離株5株（F55064、W73355、H27023、T53454及び W43719株）をそれぞれ RPMI-1640培地中で、種々の濃度の被験薬物又は媒体（DMSO）とともに、35℃で2時間インキュベートした。菌糸を洗浄後、[^{14}C]標識 L-アミノ酸混合液を添加した同培地に置換し、種々の時間培養した。菌糸を洗浄後、菌糸に取り込まれた放射能を液体シンチレーションカウンターにより測定した。菌糸に対する被験薬物の阻害作用からの回復に必要な時間を PAFE とした。

C. albicans の PAFE の測定：*C. albicans* の臨床分離株（90028株）を RPMI-1640培地中で、種々の濃度の被験薬物又は媒体（DMSO）とともに、35℃で1時間インキュベートした。細胞を洗浄後、同培地中で35℃にて培養した。経時的に細胞懸濁液の一部をとり、SDA プレートに播種し、35℃で48時間培養後、コロニー数（CFU/mL）を算出した。細胞に対する被験薬物の阻害作用からの回復に必要な時間を PAFE とした。

成績

成績を[表 2.6.2-12]に示す。*A. fumigatus* に対するポサコナゾールの PAFE は0.75時間であり、アゾール系抗真菌薬では最も大きかったが、AMPH-B の7.5時間と比較して小さかった。キャンディン系抗真菌薬は *A. fumigatus* に対して PAFE を示さなかった。*C. albicans* に対しては、アゾール系抗真菌薬の PAFE はいずれも0.5時間以下であったのに対して、AMPH-B 及びキャンディン系抗真菌薬の PAFE は5時間以上であった。

表 2.6.2-12　*A. fumigatus* 及び *C. albicans* に対する抗真菌薬の PAFE

被験薬物	*A. fumigatus*（5株）†		*C. albicans*（1株）‡	
	濃度（μg/mL）	PAFE 値（時間）	濃度（μg/mL）	PAFE 値（時間）
ポサコナゾール	16	0.75 ± 0.35	1	≤0.5
VRCZ	16	0.5 ± 0.0	1	≤0.5
ITCZ	16	0.5 ± 0.0	1	≤0.5
RVCZ	16	0.38 ± 0.17	1	≤0.5
AMPH-B	16	7.5 ± 0.70	1	5.3 ± 1.15
CPFG	128	≤0.5	0.25	5.6 ± 0.57
MCFG	128	≤0.5	0.25	5.0 ± 1.0

†：*A. fumigatus* の5株を用いた試験を2回実施したときの PAFE 値の平均値 ± SD を示す。
‡：*C. albicans* の1株を用いた試験を3回実施したときの PAFE 値の平均値 ± SD を示す。
[資料4.2.1.1.6: PD103]（参考資料）、389頁の Table 1を変更して示した。

Confidential

2.6.2.2.1.6　　抗真菌作用に及ぼす血清蛋白質の影響

In vitro でのポサコナゾールの抗真菌作用に及ぼす血清蛋白質添加の影響を、*Candida* 属18株を用いて検討した。

方法

MIC の測定（酵母様真菌）：マイクロタイタープレートに、サブローデキストロース液体（SDB）培地にて調製した被験薬物又は媒体（DMSO）を添加した。予め培養した *C. krusei* 7株、*C. lusitaniae* 5株又は *C. parapsilosis* 6株をプレートに3×10^3個/mL の濃度で添加し、28℃で48時間培養した。目視により菌の完全な発育阻止がみられる最小濃度を MIC とした。なお、CLSI による真菌に対する感受性試験法が標準化される前に実施したため、得られた MIC 値を標準化法で得られた MIC 値に外挿することは出来ないが、試験毎の評価は可能と判断した。

血清中の蛋白質濃度である4%のウシ血清アルブミン（BSA）の存在下又は非存在下にて、*Candida* 属18株に対する MIC 値を測定し、その幾何平均（GM）MIC 値を、また、次式により MIC 値の比から推定蛋白結合率を算出した。

推定蛋白結合率= 100×（1–血清蛋白質非添加時の MIC 値/血清蛋白質添加時の MIC 値）

成績

成績を[表 2.6.2-13]に示す。培地中に4% BSA を添加することにより、ポサコナゾール及び ITCZ の GM MIC 値は16倍に上昇した。また、FLCZ 及び AMPH-B の GM MIC 値は、それぞれ2及び4倍に上昇した。

表 2.6.2-13　　抗真菌作用に及ぼす血清蛋白質の影響

薬物	GM MIC 値（μg/mL）		GM MIC 値の比	推定蛋白結合率
	BSA 非添加	4% BSA 添加		
ポサコナゾール	0.06	1.0	16	>90%
ITCZ	0.25	4.0	16	>90%
FLCZ	64	128	2	50%
AMPH-B	2.0	8.0	4	75%
[資料4.2.1.1.7: P-6185]（評価資料）、37頁の Table 26を変更して示した。				

C Confidential

2.6.2.2.2　*In vivo* 抗真菌作用

Aspergillus 属、*Fusarium* 属、ムーコル目、クロモブラストミコーシス及び菌腫の原因真菌、二形性真菌、*Candida* 属及び *Cr. neoformans* によるマウス、モルモット又はウサギの感染動物モデルを用いて、ポサコナゾールの生存率、臓器内生菌数又は臓器傷害に及ぼす治療及び予防投与、経口及び静脈内投与、1日投与回数、投与期間、並びに遅延投与の影響について検討した。

2.6.2.2.2.1　*Aspergillus* 属

2.6.2.2.2.1.1　マウスの肺アスペルギルス症モデル

####### 2.6.2.2.2.1.1.1　治療効果

免疫抑制マウスの肺アスペルギルス症モデルで、被験薬物の治療効果を生存率により検討した。

方法

MIC の測定（糸状菌）: マイクロタイタープレートに、SDB 培地（測定用培地）にて調製した被験薬物又は媒体（DMSO）を添加した。予め培養した糸状菌を測定用培地にて調整後、プレートに添加し28℃で72時間培養した。目視により菌の完全な発育阻止がみられる最小濃度を、MIC とした。なお、CLSI による真菌に対する感受性試験法が標準化される前に実施したため、得られた MIC 値を標準化法で得られた MIC 値に外挿することは出来ないが、本試験内での評価は可能と判断した。

免疫抑制マウスの吸入感染肺アスペルギルス症モデル : 雄性 CF1マウスに酢酸コルチゾン（100 mg/kg/回）を1日1回、3日間皮下投与し（Day -1～1）、Day 0にフラスコで培養した *A. fumigatus* 又は *A. flavus* の浮遊分生子を30秒～1分間（菌株の病原性に基づき変更）、吸入させることにより感染させた。感染24時間後より被験薬物を1日1回、4日間反復投与した（Day 1～4）。ポサコナゾール及び ITCZ を0.4%メチルセルロース及び0.5%ポリソルベート80を含む生理食塩液により調製して経口投与し、AMPH-B を滅菌水により調製して皮下投与した。マウスの生存数を経時的に計数し、生存率を算出した。50%作用用量（ED_{50}値）を probit 法にて算出した。

成績

A. fumigatus 4株及び *A. flavus* 4株の成績を[表 2.6.2-14]に示す。また、それらの代表例として、*A. fumigatus*（ND159株）及び *A. flavus*（ND134株）の成績を[図 2.6.2-3]に示す。ポサコナゾールの反復経口投与によりいずれの菌種の場合にも致死防御作用が認められた。*A. fumigatus* に対するポサコナゾールの ED_{50}値は4～36 mg/kg/日、*A. flavus* に対するポサコナゾールの ED_{50}値は5～14 mg/kg/日であった。一方、ITCZ の ED_{50}値は、いずれの菌種に対しても>100 mg/kg/日（経口）であり、AMPH-B の *A. fumigatus* 又は *A. flavus* に対する ED_{50}値は、それぞれ>2.5～>5又は>5 mg/kg/日（皮下）であった。なお、FLCZ については、*in vivo* での検討を実施しなかった。各菌種に対するポサコナゾールの MIC 値と ED_{50}値に明らかな相関性は認められなかった。

C Confidential

表 2.6.2-14　　免疫抑制マウスの肺アスペルギルス症モデルでの治療効果（作用用量）

菌種	菌株	ポサコナゾール		ITCZ		FLCZ	AMPH-B	
		MIC 値	ED_{50} 値	MIC 値	ED_{50} 値	MIC 値	MIC 値	ED_{50} 値
A. fumigatus	ND152	0.125	4	0.5	>100	>128	2.00	>3.0
	ND158	0.0625	34	2.0	>100	>128	2.00	>5.0
	ND159	0.0625	11	0.5	>100	>128	2.00	>2.5
	ND164	0.0625	36	1.0	>100	>128	4.00	>5.0
A. flavus	ND83	0.125	12	0.5	>100	>128	4.00	>5.0
	ND134	0.0313	5	0.25	>100	>128	8.00	>5.0
	ND149	0.25	8	0.5	>100	>128	1.00	>5.0
	ND168	0.125	14	0.5	>100	>128	2.00	–

ー：実施せず、ED_{50} 値：mg/kg/日、MIC 値：μg/mL
[資料 4.2.1.1.7: P-6185]（評価資料）、42 頁の TABLE 31 を変更して示した。

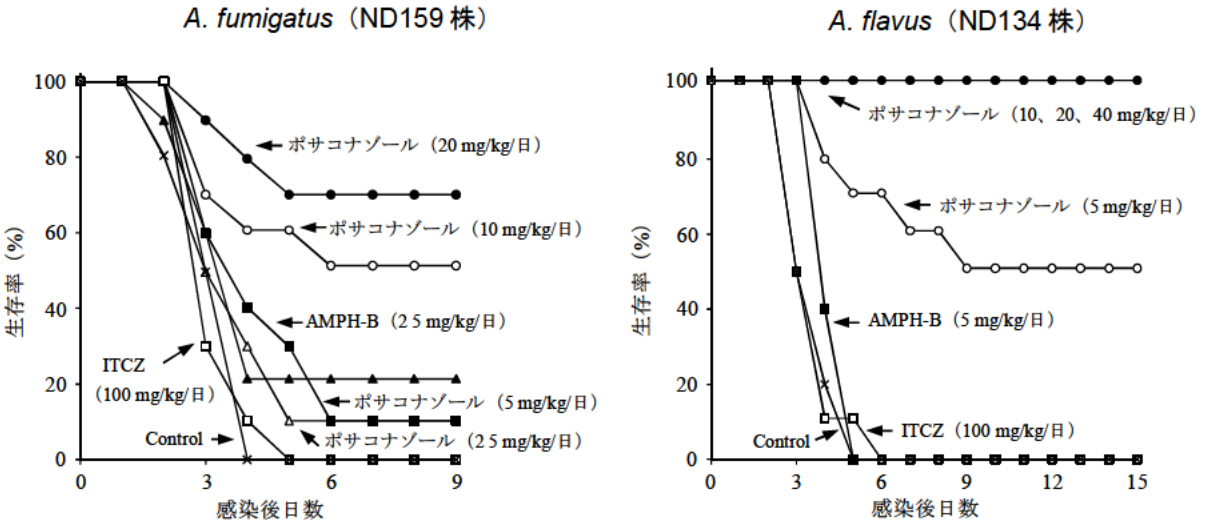


図 2.6.2-3　　免疫抑制マウスの肺アスペルギルス症モデルでの治療効果（生存率）

各点は感染後の経時的な生存率（%）を示す。
[資料4.2.1.1.7: P-6185]（評価資料）、67頁の Figure 6（*A. fumigatus*、ND159株）及び65頁の Figure 4（*A. flavus*、ND134株）を変更して示した。

Confidential

2.6.2.2.2.1.1.2　　予防効果

2.6.2.2.2.1.1.2.1　　経口投与

免疫抑制マウスの肺アスペルギルス症モデルで、被験薬物を単回経口投与したときの予防効果を生存率により検討した。

方法

免疫抑制マウスの吸入感染肺アスペルギルス症モデル：生存率を[2.6.2.2.2.1.1.1 項]（29頁）に示した方法により測定した。なお、*A. fumigatus*（ND152株）を感染させ、感染の3、6、12、24、48又は72時間前に100 mg/kg の被験薬物を単回経口投与し、感染12日後の生存数を計数した。

成績

成績を[図 2.6.2-4]に示す。真菌を接種する3～72時間前にポサコナゾールの100 mg/kg を単回経口投与することにより致死予防効果が認められた。一方、ITCZ は12及び72時間前を除いて、予防投与により明らかな致死防御効果を示さなかった。

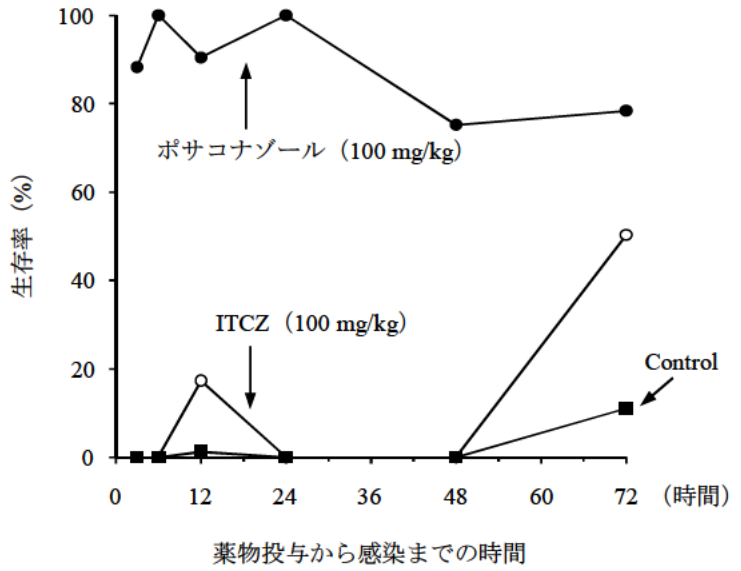


図 2.6.2-4　　免疫抑制マウスの肺アスペルギルス症モデルでの予防効果（生存率）

各点は感染12日後の生存率（%）を示す。
[資料4.2.1.1.7: P-6185]（評価資料）、70頁の Figure 9を折れ線グラフに変更して示した。

Confidential

2.6.2.2.2.1.1.2.2　　静脈内投与

免疫抑制マウスの肺アスペルギルス症モデルで、ポサコナゾールを静脈内投与したときの予防効果を、生存率及び臓器内生菌数により検討した。

方法

免疫抑制マウスの吸入感染肺アスペルギルス症モデル：生存率を[2.6.2.2.2.1.1.1 項]（29頁）に示した方法により測定した。なお、Day 6に酢酸コルチゾンを追加投与し、*A. fumigatus*（ND158株、ポサコナゾールの MIC 値は0.125 μg/mL）を感染させた。ポサコナゾールを媒体（スルホブチルエーテル β-シクロデキストリンナトリウム、SBECD）により調製して、Day -1～2にポサコナゾールの1、5、25 mg/kg/回を1日1回、4日間反復急速静脈内投与した（予防投与）。

免疫抑制マウスの鼻腔内感染肺アスペルギルス症モデル：雄性 CF1マウスに酢酸コルチゾン（100 mg/kg/回）を1日1回、4日間皮下投与し（Day -1、0、1、6）、Day 0に *A. fumigatus*（ND158株）の分生子懸濁液（10^7分生子/マウス）を点鼻することにより感染させた。ポサコナゾールを媒体（SBECD）により調製して、Day -1～2にポサコナゾールの1、5、25 mg/kg/回を1日1回、4日間反復急速静脈内投与した（予防投与）。マウスの生存数を経時的に計数し、生存率を算出した。

臓器内生菌数の測定：Day 8の時点での生存マウスの肺を摘出し、ホモジナイズ後、SDA プレートにて30℃で48時間培養した。コロニー数を計数し、肺内生菌数（CFU/両肺）を算出した。

成績

成績を[図 2.6.2-5]及び[図 2.6.2-6]に示す。いずれの肺アスペルギルス症モデルでも、ポサコナゾールを静脈内に予防投与することにより、5及び25 mg/kg/日の用量で、生存期間の延長傾向が認められ、生存マウスの肺内生菌数にも用量との相関傾向がみられた。

Confidential

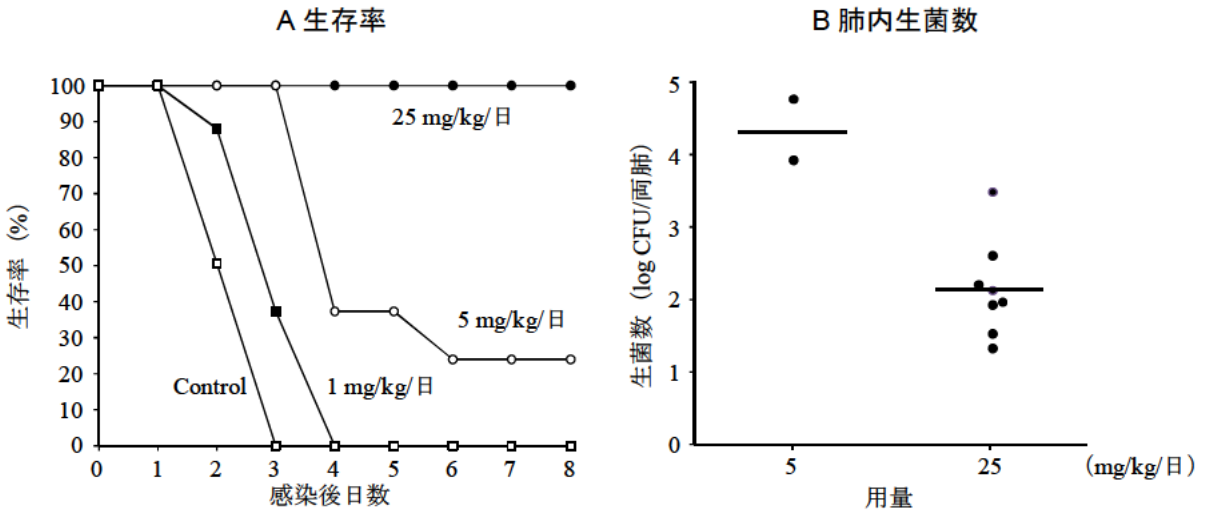


図 2.6.2-5　免疫抑制マウスの吸入感染肺アスペルギルス症モデルでのポサコナゾールの静脈内投与時の予防効果（生存率及び臓器内生菌数）

A 図：各点は感染後の経時的な生存率（%）を示す（開始時の n=8）。
B 図：各点は各動物の肺内生菌数、各バーはそれらの平均値を示す。
[資料4.2.1.1.8: D-55092]（評価資料）、Fig. 1及び2の吸入感染動物モデルの成績を合わせて示した。

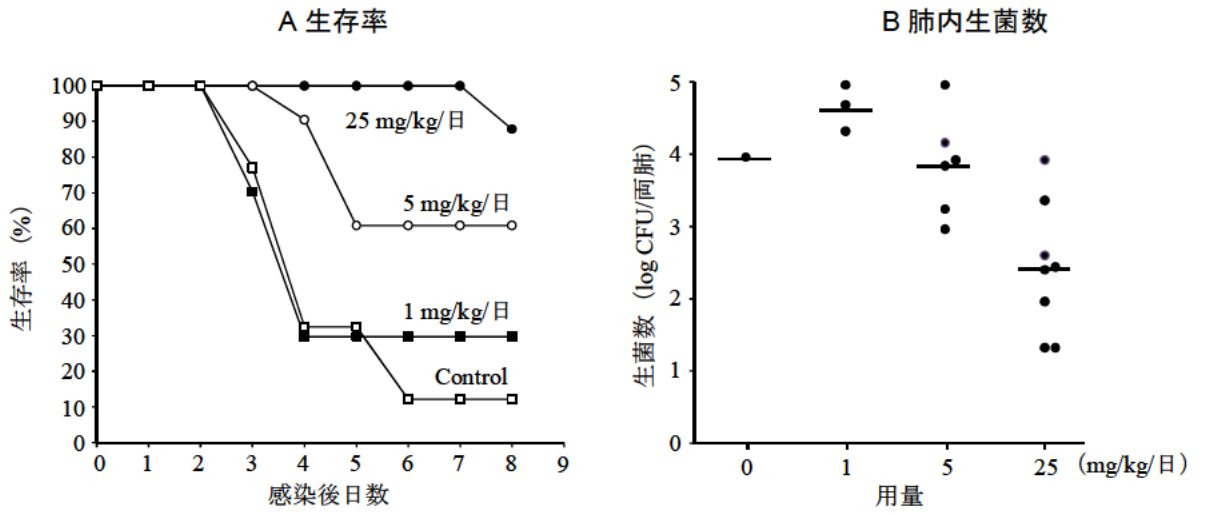


図 2.6.2-6　免疫抑制マウスの鼻腔内感染肺アスペルギルス症モデルでのポサコナゾールの静脈内投与時の予防効果（生存率及び臓器内生菌数）

A 図：各点は感染後の経時的な生存率（%）を示す（開始時の n=8～10）。
B 図：各点は各動物の肺内生菌数、各バーはそれらの平均値を示す。
[資料4.2.1.1.8: D-55092]（評価資料）、Fig. 1及び2の鼻腔内感染動物モデルの成績を合わせて示した。

Confidential

2.6.2.2.2.1.1.3　　1日投与回数

免疫抑制マウスの肺アスペルギルス症モデルで、被験薬物の治療効果に及ぼす1日投与回数の影響を生存率により検討した。

方法

免疫抑制マウスの吸入感染肺アスペルギルス症モデル：生存率を[2.6.2.2.2.1.1.1 項]（29頁）に示した方法により測定した。なお、*A. fumigatus*（ND152株、ポサコナゾール及びITCZのMIC値は、それぞれ0.125及び0.5 μg/mL）を感染させ、感染24時間後よりポサコナゾールを1日1回（2.5又は5 mg/kg/回）又は1日2回（2.5 mg/kg/回）、ITCZを1日1回（100 mg/kg/回）、1日2回（50 mg/kg/回）又は1日3回（33 mg/kg/回）、4日間反復経口投与した。

成績

成績を[図 2.6.2-7]に示す。ポサコナゾールの1日投与量を5 mg/kgとして、1日1回又は1日2回に分割して反復経口投与した場合、いずれも媒体対照群と比較して生存率の改善が認められ、その改善効果には明らかな差はみられなかった。このことから、ポサコナゾールの用法として、1日1回が妥当と考えられた。一方、ITCZの100 mg/kg/回を1日1回投与した場合には有意な生存率の改善は認められず、この用量を2分割又は3分割した場合でも同様であった。

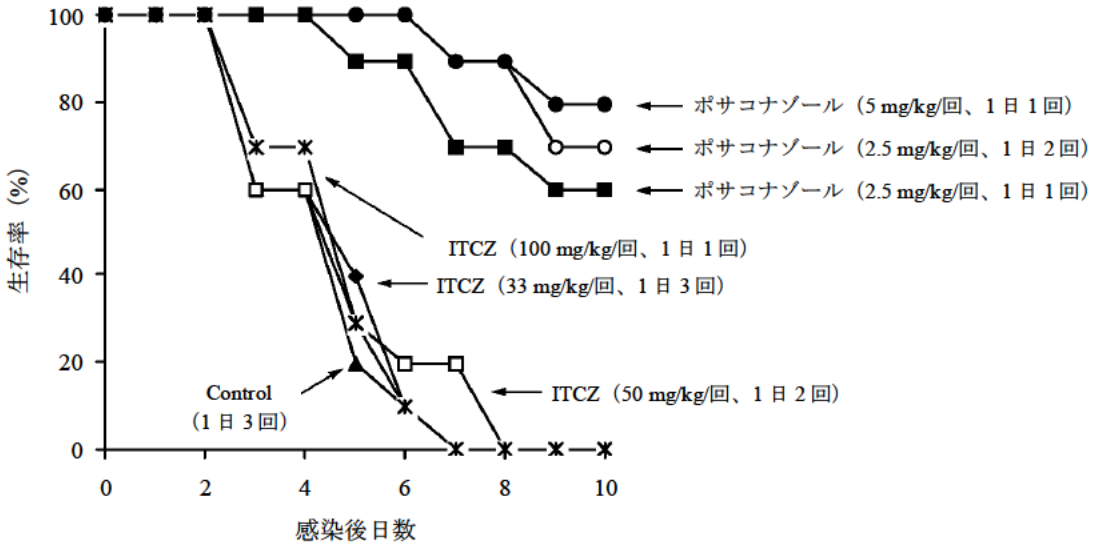


図 2.6.2-7　　免疫抑制マウスの肺アスペルギルス症モデルでの治療効果に及ぼす 1 日投与回数の影響（生存率）

各点は感染後の経時的な生存率（%）を示す。
[資料4.2.1.1.7: P-6185]（評価資料）、69頁の Figure 8を変更して示した。

Confidential

2.6.2.2.2.1.1.4　　投与期間

免疫抑制マウスの肺アスペルギルス症モデルで、被験薬物の治療効果に及ぼす投与期間の影響を生存率により検討した。

方法

免疫抑制マウスの吸入感染肺アスペルギルス症モデル：生存率を[2.6.2.2.2.1.1.1 項]（29頁）に示した方法により測定した。なお、免疫抑制状態を維持するために、Day 6、13、20、27及び34に酢酸コルチゾンを追加投与した。また、*A. flavus*（ND152株、ポサコナゾールの MIC 値は0.03 μg/mL）を感染させ、感染24時間後よりポサコナゾールの5 mg/kg/回を1日1回、4又は10日間反復経口投与した。

成績

成績を[図 2.6.2-8]に示す。ポサコナゾールの投与期間を4日間から10日間に延長することにより、生存率が増加した。

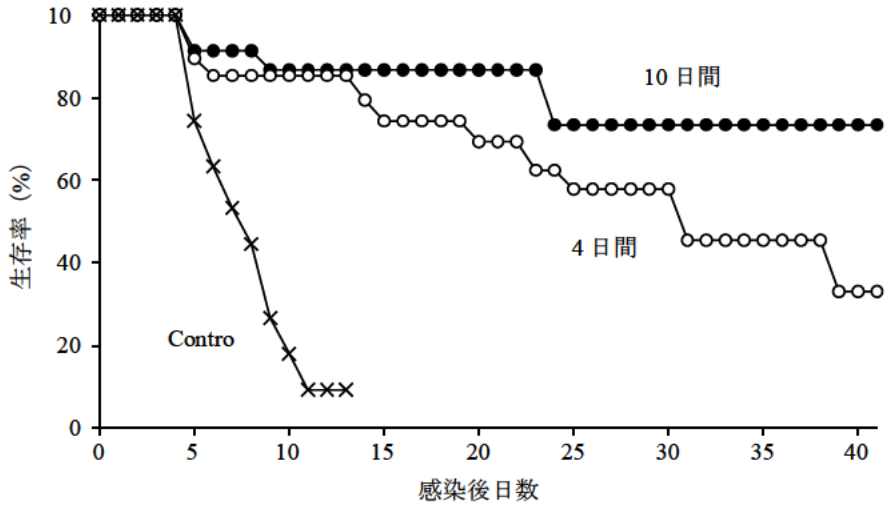


図 2.6.2-8　　免疫抑制マウスの肺アスペルギルス症モデルでの治療効果に及ぼす投与期間の影響（生存率）

各点は感染後の経時的な生存率（%）を示す。
[資料4.2.1.1.9: D-46063]（参考資料）、7頁の Figure 2を変更して示した。

Confidential

2.6.2.2.2.1.1.5　　遅延投与

免疫抑制マウスの肺アスペルギルス症モデルで、被験薬物の治療効果に及ぼす遅延投与の影響を生存率により検討した。

方法

免疫抑制マウスの吸入感染肺アスペルギルス症モデル：生存率を[2.6.2.2.2.1.1.1 項]（29頁）に示した方法により測定した。なお、*A. flavus*（ND83株、ポサコナゾールの MIC 値は0.06 μg/mL）を感染させ、感染24、48又は72時間後よりポサコナゾールの40 mg/kg/回を1日1回、4日間反復経口投与した。

成績

成績を[図 2.6.2-9]に示す。ポサコナゾールの投与の開始時期を感染後24時間から遅らせることにより、経時的に生存率が低下した。

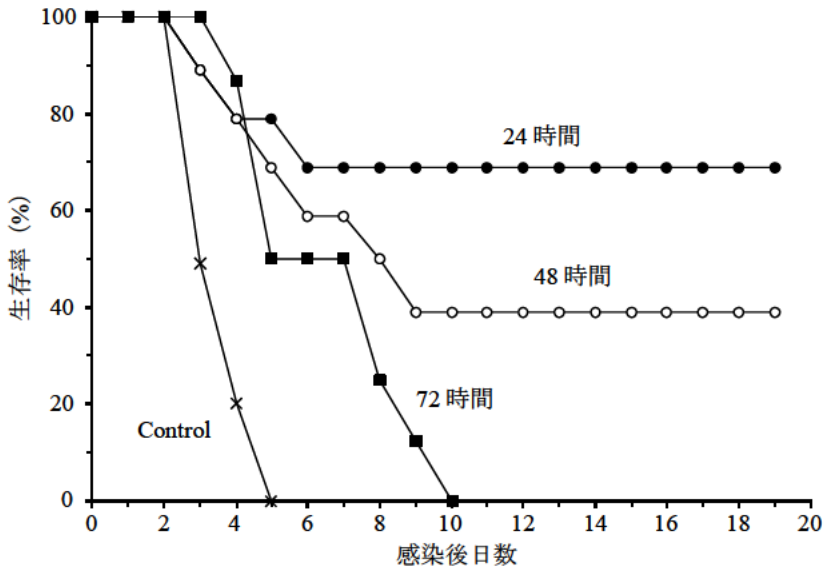


図 2.6.2-9　　免疫抑制マウスの肺アスペルギルス症モデルでの治療効果に及ぼす遅延投与の影響（生存率）

各点は感染後の経時的な生存率（%）を示す。
[資料4.2.1.1.10: D-46064]（参考資料）、6頁の Figure 1を変更して示した。

Confidential

2.6.2.2.2.1.2　　モルモットの肺アスペルギルス症モデル

免疫抑制モルモットの肺アスペルギルス症モデルで、被験薬物の治療効果を生存率により検討した。

方法

免疫抑制モルモットの肺アスペルギルス症モデル:雄性 Hartley モルモットにシクロホスファミド（100 mg/kg/回）を1日1回、6日間腹腔内投与し（Day -5、-3、-1、1、3及び5）、Day 0にフラスコで培養した *A. flavus*（ND83株）の浮遊分生子を3分間、吸入させることにより感染させた。感染24時間後よりポサコナゾールの1、10、50、100 mg/kg/回を1日1回、又は VRCZ の5、25、50、100 mg/kg/回を1日2回、4日間反復経口投与した（Day 1～4）。ポサコナゾールを0.4%メチルセルロース及び0.5%ポリソルベート80を含む生理食塩液により、また VRCZ をポリエチレングリコール200により調製した。対照群には0.4%メチルセルロース又はポリエチレングリコール200を経口投与した。感染7日後のモルモットの生存数を計数し、生存率を算出した。ED_{50}値を probit 法にて算出した。

成績

成績を[図 2.6.2-10]に示す。ポサコナゾール及び VRCZ の反復経口投与により、致死防御作用が認められ、ED_{50}値はそれぞれ70及び2300 mg/kg/日であった。

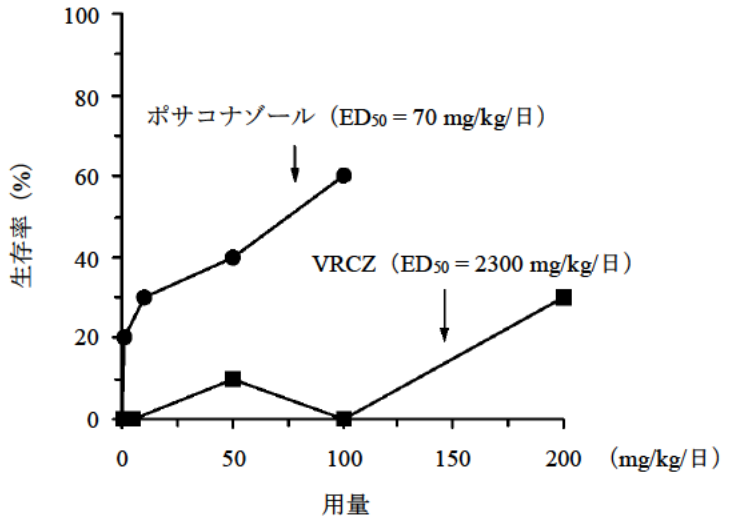


図 2.6.2-10　　免疫抑制モルモットの肺アスペルギルス症モデルでの治療効果（生存率）

各点は感染7日後の生存率（%）を示す（n=10）。
[資料4.2.1.1.11: D-46062]（参考資料）、9頁の Figure 2を変更して示した。

Confidential

2.6.2.2.2.1.3　　マウスの播種性アスペルギルス症モデル

アスペルギルス感染症の15%～25%には他の臓器への播種が認められることから[資料4.3: PD10]、免疫正常マウスの播種性アスペルギルス症モデルで、被験薬物の治療効果を生存率により検討した。

方法

免疫正常マウスの播種性アスペルギルス症モデル：雄性 CF1マウスに *A. flavus*（ND83株、ポサコナゾール及び ITCZ の MIC 値は、それぞれ0.125及び0.5 μg/mL）の分生子懸濁液（1×10^6分生子/マウス）を静脈内に接種することにより感染させた（Day 0）。単回投与では感染4時間後にポサコナゾール又は ITCZ の、それぞれ40又は100 mg/kg を単回経口投与した。また、反復投与では感染4時間後よりポサコナゾールの0.625、2.5、10、40 mg/kg/回、又は ITCZ の100 mg/kg/回を1日1回、4日間反復経口投与した（Day 1～4）。ポサコナゾール及び ITCZ を0.4%メチルセルロース及び0.5%ポリソルベート80を含む生理食塩液により調製した。マウスの生存数を経時的に計数し、生存率を算出した。

成績

成績を[図 2.6.2-11]に示す。単回投与では、ポサコナゾールの40 mg/kg の用量で、感染17日後の生存率は90%であったのに対して、ITCZ は100 mg/kg の用量で20%と低値であった（図 A）。また、反復投与では、ポサコナゾールの0.625及び2.5 mg/kg/日の用量で感染17日後の生存率は、それぞれ40%及び60%であり、10 mg/kg/日以上では、全例が生存した（図 B）。一方、ITCZ では100 mg/kg/日の用量で、生存率は30%であった（図 B）。

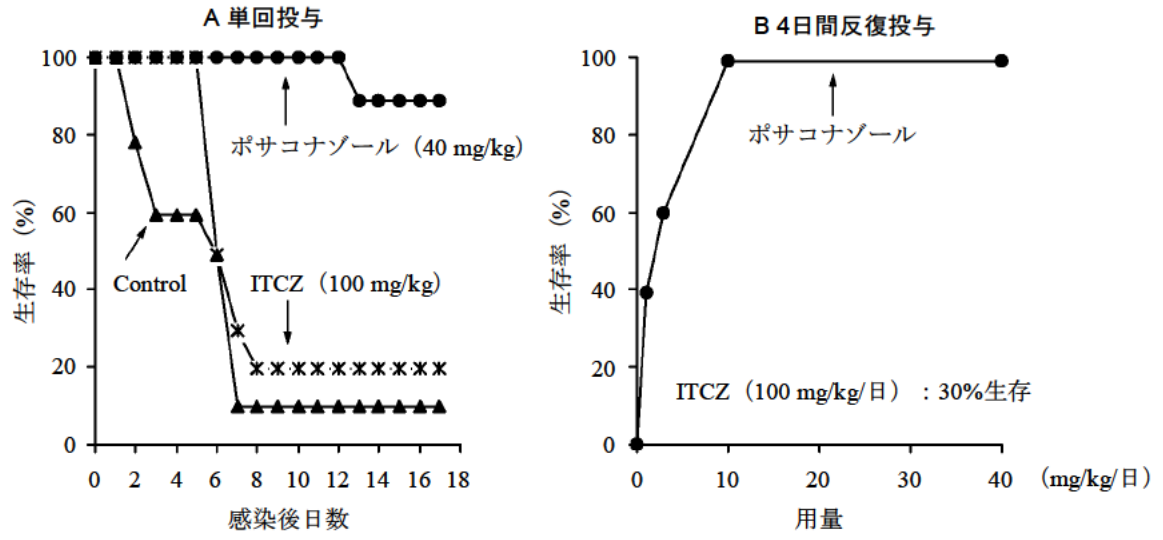


図 2.6.2-11　　免疫正常マウスの播種性アスペルギルス症モデルでの治療効果（生存率）

図 A：各値は感染後の経時的な生存率（%）を示す。
図 B：各値は感染17日後の生存率（%）を示す。図内に ITCZ（100 mg/kg/日）の生存率を示す。
[資料4.2.1.1.7: P-6185]（評価資料）、73頁の Figure 12及び74頁の Figure 13を併せて示した。

Confidential

2.6.2.2.2.1.4　　モルモットの播種性アスペルギルス症モデル

免疫抑制モルモットの播種性アスペルギルス症モデルで、被験薬物の治療効果を生存率により検討した。

方法

免疫抑制モルモットの播種性アスペルギルス症モデル：雄性 Hartley モルモットにシクロホスファミド（100 mg/kg/回）を1日1回、7日間腹腔内投与し（Day -5、-3、-1、1、3、5及び7）、Day 0 に *A. fumigatus*（ND159株）の分生子懸濁液（5×10^6 CFU/モルモット）を静脈内に接種することにより感染させた。感染4時間後よりポサコナゾールの5、25、50、100 mg/kg/回を1日1回、又は VRCZ の25、50、100 mg/kg/回を1日2回、4日間反復経口投与した（Day 0～3）。ポサコナゾールを0.4%メチルセルロース及び0.5%ポリソルベート80を含む生理食塩液により、また VRCZ をポリエチレングリコール200により調製した。対照群には0.4%メチルセルロース又はポリエチレングリコール200を投与した。Day 7にモルモットの生存数を計数し、生存率を算出した。ED_{50}値を probit 法にて算出した。

成績

成績を[図 2.6.2-12]に示す。ポサコナゾール及び VRCZ の反復経口投与により、致死防御作用が認められ、ED_{50}値はそれぞれ3及び110 mg/kg/日であった。

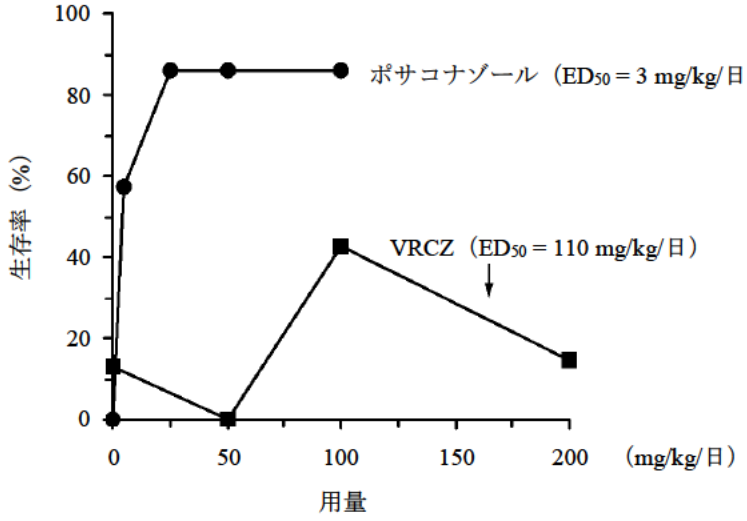


図 2.6.2-12　　免疫抑制モルモットの播種性アスペルギルス症モデルでの治療効果（生存率）

各点は感染7日後の生存率（%）を示す（n=7）。
[資料4.2.1.1.11: D-46062]（参考資料）、10頁の Figure 3を変更して示した。

Confidential

2.6.2.2.2.2　*Fusarium* 属

免疫正常マウスの播種性フサリウム症モデルで、被験薬物の治療効果を生存期間及び臓器内生菌数により検討した。

方法

免疫正常マウスの播種性フサリウム症モデル：雄性 CF1マウスに *F. solani*（FS 1184株、ポサコナゾール及び AMPH-B の MIC 値は、それぞれ4.0及び1.0 μg/mL）の分生子懸濁液（2×10^6～6×10^6 CFU/マウス）を静脈内接種することにより感染させた。感染1時間後より被験薬物を1日1回、4又は13日間投与した。ポサコナゾールを0.4%メチルセルロース及び0.56%ポリソルベート80を含む生理食塩液により調製して経口投与し、AMPH-B を5%ブドウ糖液により調製して腹腔内投与した。対照群には0.4%メチルセルロース溶液を投与した。マウスの生存数を経時的に計数し、生存期間を算出した。

臓器内生菌数：被験薬物最終投与24時間後に生存マウス（n=5）の腎臓及び肝臓を摘出し、ホモジネート後、SDA プレートで35℃にて48時間培養後にコロニー数を計数し、臓器内生菌数（CFU/g 臓器重量）を算出した。

成績

生存期間の成績を[表 2.6.2-15]に示す。ポサコナゾールの4又は13日間反復経口投与により、10 mg/kg/日以上で生存期間の延長が認められ、50 mg/kg/日で生存期間はプラトーとなる傾向が認められた。AMPH-B は1 mg/kg/日の用量でポサコナゾールの25、50及び100 mg/kg/日とほぼ同等の生存期間を示した。

臓器内生菌数の成績を[表 2.6.2-16]に示す。ポサコナゾールの10 mg/kg/日以上の4又は13日間の反復経口投与により、腎臓又は肝臓内の生菌数の低下が認められた。また、AMPH-B も1 mg/kg/日の4日間の反復投与により、両臓器での生菌数の低下がみられた。

表 2.6.2-15　免疫正常マウスのフサリウム症モデルでの治療効果（生存期間）

薬物	用量（mg/kg/日）	投与日数	生存期間（日）		
			実験 1	実験 2	実験 3
非処理対照	–	–	5.9 ± 0.8	9.5 ± 0.7	8.8 ± 0.6
媒体対照	–	4	6.2 ± 0.7	8.4 ± 0.7	ND
	–	13	ND	9.1 ± 0.6	7.9 ± 0.8
ポサコナゾール	10	4	7.1 ± 1.3	11.6 ± 0.5	ND
		13	ND	ND	12.5 ± 1.8*
	25	13	ND	ND	14.3 ± 1.6**
	50	4	11.8 ± 0.9***	14.6 ± 1.0***	ND
		13	ND	14.7 ± 1.0***	18.7 ± 1.2***
	100	4	9.4 ± 0.9**	10.7 ± 1.3	ND
		13	ND	14.9 ± 1.3***	ND
AMPH-B	1	4	ND	13.5 ± 1.0**	ND
		13	ND	ND	16 ± 1.4***

ND：実施せず。
各値は平均値 ± SEM を示す（Kaplan-Meier 法、実験 1 及び 2 では n = 16、実験 3 では n = 20）。
*、**、***：それぞれ p<0.05、p<0.01 及び p<0.001 で非処理対照群に比して有意差あり（log rank 検定）。
[資料 4.2.1.1.12: PD104]（参考資料）、590 頁の TABLE 1 を変更して示した。

C Confidential

表 2.6.2-16　免疫正常マウスのフサリウム症モデルでの治療効果（臓器内生菌数）

被験薬物	用量（mg/kg/日）	投与日数	生菌数（×10^3、CFU/g 臓器重量）			
			腎臓		肝臓	
			実験 1	実験 2	実験 1	実験 2
非処理対照	–	4	27.3 ± 5.0	21.6 ± 2.7	108 ± 20.7	78.5 ± 13.6
媒体対照	–	4	23.0 ± 3.2	19.3 ± 2.5	93.3 ± 10.0	64.8 ± 8.2
ポサコナゾール	10	4	13.8 ± 0.8*	22.3 ± 3.3	42.3 ± 3.4**	45.3 ± 2.3*
	50	4	9.7 ± 1.1**	18.0 ± 3.8	23.0 ± 3.6**	29.0 ± 3.3**
		13	ND	4.9 ± 1.3***	ND	0.0 ± 0.0***
	100	4	5.8 ± 1.0**	13.1 ± 0.9**	16.7 ± 3.2**	23.2 ± 1.8**
		13	ND	5.9 ± 1.7***	ND	0.0 ± 0.0***
AMPH-B	1	4	8.2 ± 4.4*	13.1 ± 1.5*	19.5 ± 5.1**	32.9 ± 3.8**

ND：実施せず。
各値は平均値 ± SEM を示す（n = 5）。
*、**、***：それぞれ p<0.05、p<0.01 及び p<0.001 で非処理対照群に比して有意差あり（t 検定）。
非処理及び媒体対照群では Day 14 でマウスの全例が死亡したため、生菌数を測定できなかったことから、投与日数 13 日の成績はない。
[資料 4.2.1.1.12: PD104]（参考資料）、590 頁の TABLE 2 及び 591 頁 TABLE 3 を併せて示した。

2.6.2.2.2.3　　ムーコル目

免疫抑制マウスの播種性ムーコル症モデルで、被験薬物の治療効果を生存期間及び臓器内生菌数により検討した。

方法

免疫抑制マウスの播種性ムーコル症モデル：雄性 BALB/c マウスに5-フルオロウラシル（150 mg/kg、静脈内）及びシクロホスファミド（200 mg/kg、腹腔内）を投与し、翌日、*M. ramosissimus*（98-1763及び95-2650株）、又は *M. circinelloides*（00-1194株）の分生子懸濁液を静脈内接種することにより感染させた（Day 0）。感染翌日よりポサコナゾールを1日2回又は ITCZ を1日3回、7日間反復経口投与し、AMPH-B を1日1回、7日間反復腹腔内投与した（Day 1～7）。ポサコナゾールの経口懸濁液及び ITCZ の経口投与用内用液を滅菌水（対照）により、また AMPH-B 注射用を5%ブドウ糖液により調製した。マウスの生存数を Day 15まで経時的に計数し、生存期間を算出した。

臓器内生菌数：上記と同様に感染動物モデルに被験薬物を7日間投与した（Day 1～7）。翌日、マウスの腎臓を摘出し、ホモジナイズ後、コロニー数を計数し、腎臓内生菌数（CFU/g 腎重量）を算出した。

成績

生存期間の成績を[表 2.6.2-17]に示す。*M. ramosissimus* の98-1763及び95-2650株、並びに *M. circinelloides* の00-1194株による感染動物モデルのいずれでも、ポサコナゾールの15又は30 mg/kg/回の1日2回投与により、媒体対照群と比較して、生存期間の有意な延長がみられた。一方、ITCZ の30 mg/kg/回、1日3回の経口投与では生存期間の有意な延長はみられなかった。*M. circinelloides* による感染動物モデルで、AMPH-B の1 mg/kg/回の1日1回投与により、有意な延長が認められた。

臓器内生菌数の成績を[表 2.6.2-18]に示す。*M. circinelloides* による感染動物モデルでの、腎臓内生菌数に及ぼす影響を検討した結果、生存期間と同様に接種菌量にかかわらず、ポサコナゾールの15又は30 mg/kg/回の1日2回投与により、媒体対照群と比較して、腎臓内生菌数の有意な減少が

Confidential

みられた。一方、ITCZ の30 mg/kg/回、1日3回の経口投与では腎臓内生菌数の有意な減少はみられなかったのに対して、AMPH-B の1 mg/kg/回の1日1回投与により、有意な減少が認められた。

表 2.6.2-17　免疫抑制マウスのムーコル症モデルでの治療効果（生存期間）

菌種	菌株	接種菌量（CFU/マウス）	薬物	用量（mg/kg/回）	生存期間（日）		p 値
					中央値	範囲	
M. ramosissimus	98-1763†	3.2×10^5	－	NA	4	3->15	NA
			ポサコナゾール	5、1日2回	5	3->15	0.2535
				15、1日2回	5	3->15	0.0458*
				30、1日2回	10	5->15	0.0019*
			ITCZ	30、1日3回	4	3-6	0.0810
	95-2650‡	5.3×10^4	－	NA	5	4-6	NA
			ポサコナゾール	30、1日2回	9	5->15	0.0001*
M. circinelloides	00-1194§	2.7×10^5	－	NA	5	4-10	NA
			ポサコナゾール	5、1日2回	5	4-6	0.3460
				15、1日2回	5	4->15	0.0015*
				30、1日2回	7	5->15	0.0001*
			ITCZ	30、1日3回	4	3-6	0.2320
		5.8×10^5	－	NA	4	3-6	NA
			ポサコナゾール	15、1日2回	6	4->15	0.0002*
				30、1日2回	8	4->15	0.0001*
			ITCZ	30、1日3回	4	3-5	0.5086
			AMPH-B	1、1日1回	>15	2->15	0.0004*

－：媒体（滅菌水）、NA：not applicable
*：p≤0.05で媒体対照群に比して有意差あり（log rank 検定）。
†：ポサコナゾール、ITCZ 及び AMPH-B の MIC 値は、それぞれ0.125、0.25及び0.25 µg/mL であった。
‡：ポサコナゾール、ITCZ 及び AMPH-B の MIC 値は、いずれも0.25 µg/mL であった。
§：ポサコナゾール、ITCZ 及び AMPH-B の MIC 値は、それぞれ8、8及び0.25 µg/mL であった。
[資料4.2.1.1.13: PD105]（参考資料）、2311頁の TABLE 1を変更して示した。

表 2.6.2-18　免疫抑制マウスのムーコル症モデルでの治療効果（臓器内生菌数）

菌種（菌株）	接種菌数（CFU/マウス）	薬物	用量（mg/kg/回）	腎臓内生菌数（$\times10^4$、CFU/g 腎重量）		p 値
				中央値	範囲	
M. circinelloides（00-1194†）	2.8×10^5	－	NA	6.4	3.7-22	NA
		ポサコナゾール	15、1日2回	3	0.5-7	0.0148*
			30、1日2回	4	0.2-2.8	0.0002*
		ITCZ	30、1日3回	6.8	2.6-2	1.000
	2.6×10^4	－	NA	16	0.05-64	NA
		ポサコナゾール	15、1日2回	3.7	0.0001-28	0.0281*
			30、1日2回	0.02	0.0001-2.6	0.0011*
		ITCZ	30、1日3回	9	0.5-20	0.2345
		AMPH-B	1、1日1回	0.0001	0.0001-0.0053	0.0002*

－：媒体（滅菌水）、NA：not applicable
*：p≤0.05で媒体対照群に比して有意差あり（Mann-Whitney 検定）。
†：ポサコナゾール、ITCZ 及び AMPH-B の MIC 値は、それぞれ8、8及び0.25 µg/mL であった。
[資料4.2.1.1.13: PD105]（参考資料）、2311頁の TABLE 2を変更して示した。

Confidential

2.6.2.2.2.4　　クロモブラストミコーシス及び菌腫の原因真菌

Fonsecaea pedrosoi 及び *Exophiala dermatitidis*（*Wangiella dermatitidis*）は国内での分離頻度の高いクロモブラストミコーシス及び菌腫の原因真菌であり、深部皮膚及び播種性真菌感染症を起こす[資料4.3: PD11]。また、*S. apiospermum*（*P. boydii*）は菌腫の原因真菌の一つであり、深部皮膚真菌感染症を起こす。*F. pedrosoi* による深部皮膚真菌感染症モデル、並びに *E. dermatitidis* 及び *P. boydii* による播種性真菌症モデルでのポサコナゾールの抗真菌作用を検討した。

2.6.2.2.2.4.1　　*Fonsecaea pedrosoi* による深部皮膚真菌感染症モデル（治療効果）

免疫抑制マウスの *F. pedrosoi* による深部皮膚真菌感染症モデルでの、被験薬物の治療効果を皮膚病変の面積及び培養陽性率により検討した。

方法

免疫抑制マウスの深部皮膚真菌感染症モデル：雄性 CD-1無胸腺ヌードマウス（n=5）に臨床分離 *F. pedrosoi*（FMR 6630株、ポサコナゾール、VRCZ 及びテルビナフィンの MIC 値は、0.12 μg/mL、ITCZ の MIC 値は0.5 μg/mL）の分生子懸濁液（3×10^6 CFU/マウス）を左大腿部の皮下に接種することにより感染させた（Day 0）。感染3週間後より被験薬物を1日1回、4ヵ月間反復経口投与した。ノギスを用いて皮膚病変部を測定し、病変面積（長径/2×短径/2×π）を算出した。

皮膚病変の培養陽性率：皮膚病変部を摘出し、ホモジネート後、クロラムフェニコール添加ポテトデキストロース寒天（PDA）培地で30℃にて7日間培養し、コロニーの有無を判定した。

成績

成績を[表 2.6.2-19]に示す。ポサコナゾールは20 mg/kg/日の用量で、*F. pedrosoi* による皮膚病変面積を投与開始時と比較して75.0%減少させ、皮膚病変の培養陽性率を50%に低下させた。ITCZ 及びテルビナフィン（TRB）は、それぞれ50及び250 mg/kg/日の用量で皮膚病変面積を減少させたが、VRCZ は20 mg/kg/日の用量で皮膚病変面積に影響を与えなかった。

Confidential

表 2.6.2-19　　免疫抑制マウスの *F. pedrosoi* による深部皮膚真菌感染症モデルでの治療効果（皮膚病変の面積及び培養陽性率）

薬物	用量（mg/kg/日）	皮膚病変面積の変化率†（四分位範囲）	皮膚病変培養陽性率
非処理対照	NA	92.0%（368.3%）	100%
ポサコナゾール	10	-30.4%（107.6%）	75%
	20	-75.0%（31.4%）*	50%#
VRCZ	10	90.8%（67.3%）	100%
	20	35.9%（138.3%）	100%
ITCZ	25	14.7%（220.9%）	100%
	50	-20.0%（89.9%）*	75%
TRB	150	19.3%（163.3%）	100%
	250	-0.6%（110.3%）*	100%

NA：not applicable
†：各値は被験薬物投与前値からの皮膚病変面積の変化率の中央値（四分位範囲）を示す。
*：p<0.05で被験薬物無処理群に比して有意差あり（Mann-Whitney の U 検定）。
#：p<0.05で被験薬物無処理群に比して有意差あり（Fisher の正確確率検定）。
[資料4.2.1.1.14: PD106]（参考資料）、3710頁の TABLE 1を変更して示した。

2.6.2.2.2.4.2　　*Exophiala dermatitidis* による播種性真菌感染症モデル（治療効果）

免疫正常及び抑制マウスの *E. dermatitidis* による播種性真菌感染症モデルでの、被験薬物の治療効果を生存率により検討した。

方法

免疫正常及び抑制マウスの *E. dermatitidis* による播種性真菌感染症モデル：BALB/c（*nu*/+）又は BALB/c（*nu*/*nu*）無胸腺ヌードマウス（n=7～10）に、臨床分離 *E. dermatitidis*（8656株）の分生子懸濁液（それぞれ、3.6×10^6～3.3×10^7又は9×10^6～1.9×10^7 CFU/マウス）を静脈内接種することにより感染させた（Day 0）。感染1日後よりポサコナゾールを1日1回、7日間反復経口投与した（Day 1～7）。ポサコナゾールを媒体（0.5% Noble 寒天）により調製した。マウスの生存数を Day 30まで経時的に計数し、生存率を算出した。

成績

生存率の成績を[図 2.6.2-13]に示す。免疫正常及び免疫抑制マウスのいずれでも、ポサコナゾールの2.5 mg/kg/日以上の用量で、生存率の増加が認められた。

Confidential

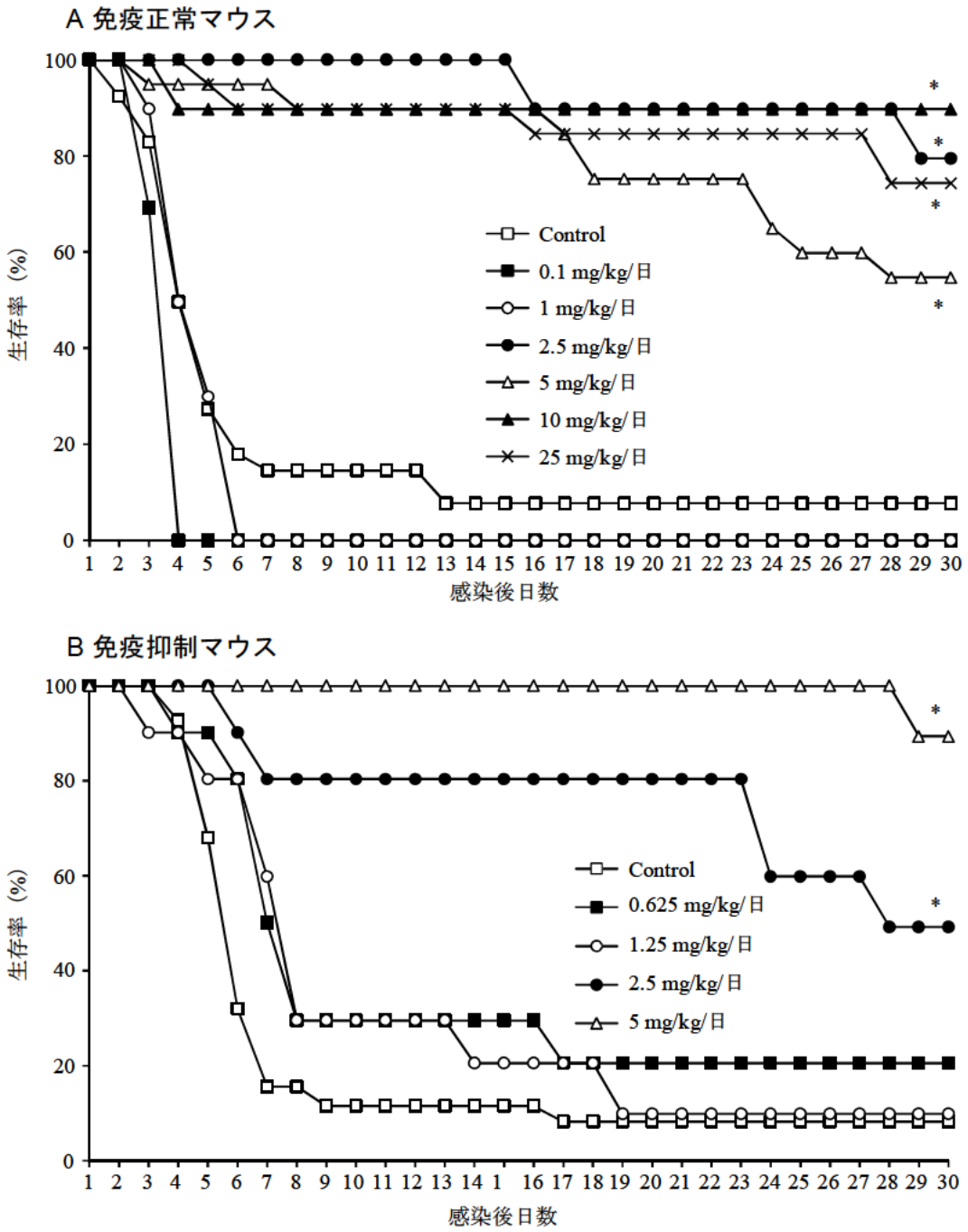


図 2.6.2-13　免疫正常又は抑制マウスの*E. dermatitidis*による播種性真菌感染症モデルでの治療効果（生存率）

図 A 及び図 B には、それぞれ免疫正常及び免疫抑制マウスでの結果を示す。
各点は感染後の経時的な生存率（%）を示す（1試験 n=7～10を3試験実施した結果をまとめて示した）。
*：p<0.05で媒体対照群に比して有意差あり（log rank 検定）。
[資料4.2.1.1.15: PD107]（参考資料）、2289頁の FIG. 1を変更して示した。

Confidential

2.6.2.2.2.4.3　*Pseudallescheria boydii* による播種性真菌感染症モデル（治療効果）

免疫抑制マウスの *S. apiospermum*（*P. boydii*）による播種性真菌感染症モデルでの、被験薬物の治療効果を生存率及び臓器内生菌数により検討した。

方法

免疫抑制マウスの播種性シュードアレシェリア症モデル：ICR マウス（n=12）にシクロホスファミド（200 mg/kg）を単回腹腔内投与し、24時間後に臨床分離 *P. boydii*（UTHSC 00-180株）の分生子懸濁液（1×10^5分生子/マウス）を静脈内接種することにより感染させた（Day 0）。感染1日後より被験薬物を10日間、反復経口投与した（Day 1～10）。ポサコナゾールの経口懸濁液及び FLCZ を媒体（滅菌水）により調製し、ITCZ のシクロデキストリン溶液を投与した。対照群には滅菌水を経口投与した。マウスの生存数を Day 20まで経時的に計数し、生存率を算出した。

臓器内生菌数：上記と同様に感染動物モデル（n=8）に被験薬物を7日間投与した（Day 1～7）。翌日、マウスの脾臓、腎臓及び脳を摘出した。ホモジネートし、PDA 培地で35℃にて4日間培養後、コロニー数を計数し、臓器内生菌数（log CFU/g 臓器重量）を算出した。

成績

生存率の成績を[図 2.6.2-14]に示す。ポサコナゾールの30及び50 mg/kg/回の1日1回又は、25 mg/kg/回の1日2回投与により、媒体対照群と比較して、生存率の有意な増加がみられた。一方、ITCZ の30 mg/kg/回、1日3回の経口投与では生存率の有意な増加はみられなかったが、FLCZ の20 mg/kg/回の1日2回投与により、有意な増加が認められた。

臓器内生菌数の成績を[表 2.6.2-20]に示す。ポサコナゾールの10 mg/kg/回以上の1日1回投与により脾臓内生菌数の減少が、40 mg/kg/回の1日1回投与により腎臓及び脳内生菌数の減少が認められた。また、ITCZ の30 mg/kg/回、1日3回の経口投与で脾臓内生菌数の減少がみられた。FLCZ の5 mg/kg/回以上の1日2回投与により脳内生菌数の減少が、20 mg/kg/回の1日2回投与により脾臓及び腎臓内生菌数の減少が認められた。

C Confidential

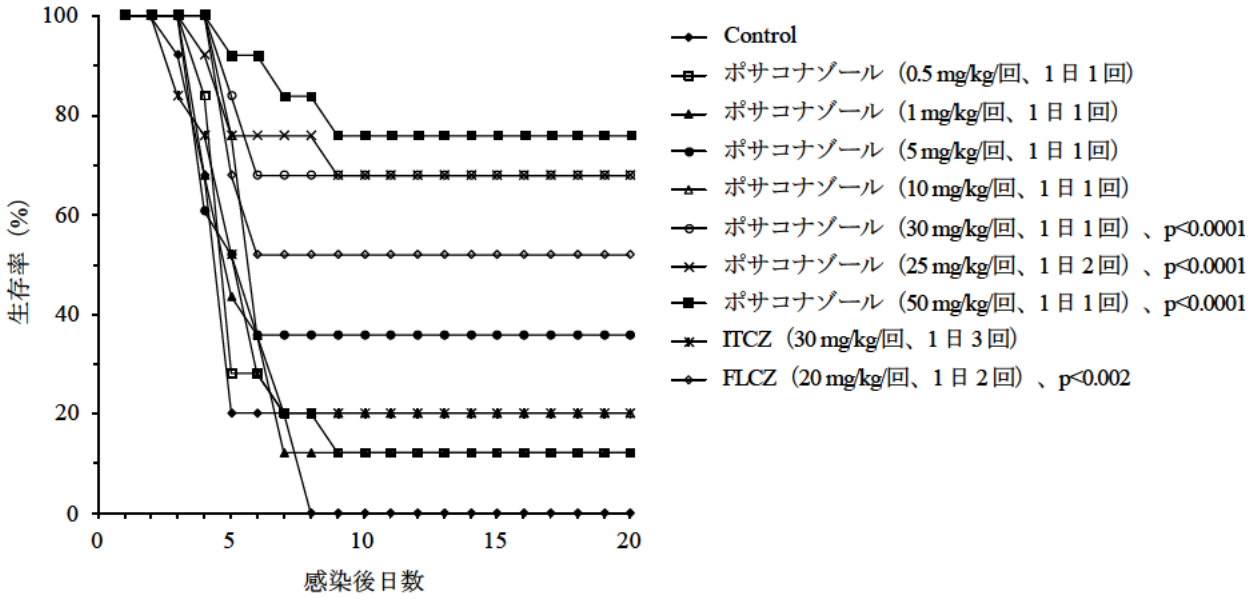


図 2.6.2-14　免疫抑制マウスのシュードアレシェリア症モデルでの治療効果（生存率）

各点は感染後の経時的な生存率（%）を示す（n=12）。
図中に媒体対照群に対する p 値を示す（log rank 及び Wilcoxon 検定）。
[資料4.2.1.1.16: PD108]（参考資料）、1437頁の FIG. 1を変更して示した。

表 2.6.2-20　免疫抑制マウスのシュードアレシェリア症モデルでの治療効果（臓器内生菌数）

薬物	用法・用量（mg/kg/回）	平均生菌数（log CFU/g 臓器重量）/p 値		
		脾臓	腎臓	脳
媒体対照	NA	4.37/NA	4.60/NA	4.75/NA
ポサコナゾール	10、1日1回	3.68*/0.0006	4.04/0.0830	4.76/0.5054
	40、1日1回	2.76*/0.0002	2.35*/0.0002	3.10*/0.0002
ITCZ	30、1日3回	3.88*/0.003	4.28/0.4418	4.60/0.5054
FLCZ	5、1日2回	3.93/0.9591	4.24/0.7209	4.47*/0.0070
	20、1日2回	2.88*/0.0002	3.23*/0.0002	2.99*/0.0002

NA：not applicable
*：p≤0.05で媒体対照群に比して有意差あり（Dunnett 検定又は Wilcoxon の順位和検定）。
[資料4.2.1.1.16: PD108]（参考資料）、1438頁の TABLE 1を変更して示した。

Confidential

2.6.2.2.2.5　　二形性真菌

免疫正常マウスの播種性コクシジオイデス症モデルで、被験薬物の治療効果を生存率及び臓器内生菌数により検討した。

方法

免疫正常マウスの播種性コクシジオイデス症モデル：雄性 ICR マウスに *C. immitis* の97-960株（ポサコナゾール及び ITCZ の MIC 値は、それぞれ0.25及び0.125 μg/mL）又は97-2036株（それぞれ1及び0.5 μg/mL）の分生子懸濁液（200分生子/マウス）を静脈内接種することにより感染させた（Day 0）。感染2日後よりポサコナゾールの0.01、0.1、0.5、1、5、10 mg/kg/回を1日1回、ITCZ の10、30 mg/kg/回を1日3回、21日間反復経口投与した（Day 2～22）。ポサコナゾールを0.3% Noble 寒天により、ITCZ をヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン（HPBCD）溶液により調製した。対照群には0.3% Noble 寒天を投与した。マウスの生存数を Day 50まで経時的に計数し、生存率を算出した。

臓器内生菌数：上記と同様に感染動物モデルに被験薬物を投与し、死亡したマウス又は Day 24 の時点での生存マウスの脾臓、肝臓及び肺を摘出した。ホモジネートし、PDA 培地で35℃にて1週間培養後、コロニー数を計数し、臓器内生菌数（log CFU/臓器）を算出した。

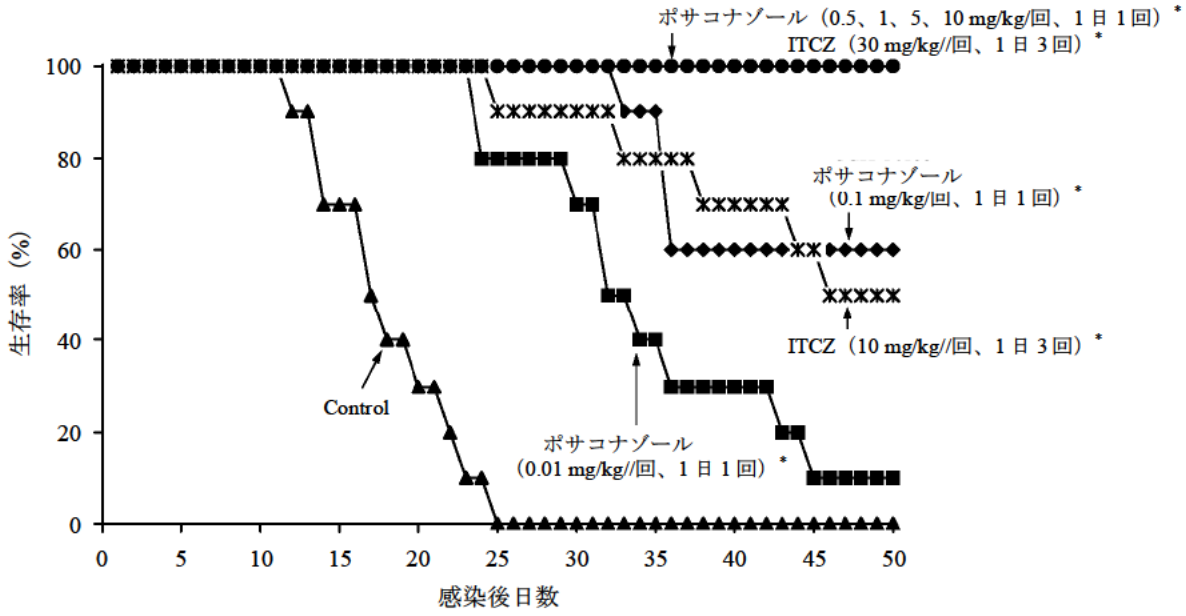
成績

生存率の成績を[図 2.6.2-15]に示す。*C. immitis* の97-960株による感染動物モデルでは、ポサコナゾールの0.5 mg/kg/回以上、1日1回及び ITCZ の30 mg/kg/回、1日3回の投与により、感染50日後の時点で全例が生存した（図 A）。また、ポサコナゾール及び ITCZ に対する感受性が低い97-2036株による感染動物モデルでも、ポサコナゾールの0.5 mg/kg/回以上、1日1回及び ITCZ の30 mg/kg/回、1日3回の投与により、90%～100%のマウスが生存した（図 B）。いずれの株による感染動物モデルでも、ポサコナゾールの0.01 mg/kg/回以上、1日1回及び ITCZ の10 mg/kg/回、1日3回の投与により、媒体対照群と比較して生存率が増加した。

臓器内生菌数の成績を[表 2.6.2-21]に示す。いずれの株による感染動物モデルでも、ポサコナゾールの0.1 mg/kg/回以上、1日1回及び ITCZ の10 mg/kg/回以上、1日3回の投与により、脾臓、肝臓及び肺の生菌数が減少した。

Confidential

A *C. immitis*（97-960 株）



B *C. immitis*（97-2036 株）

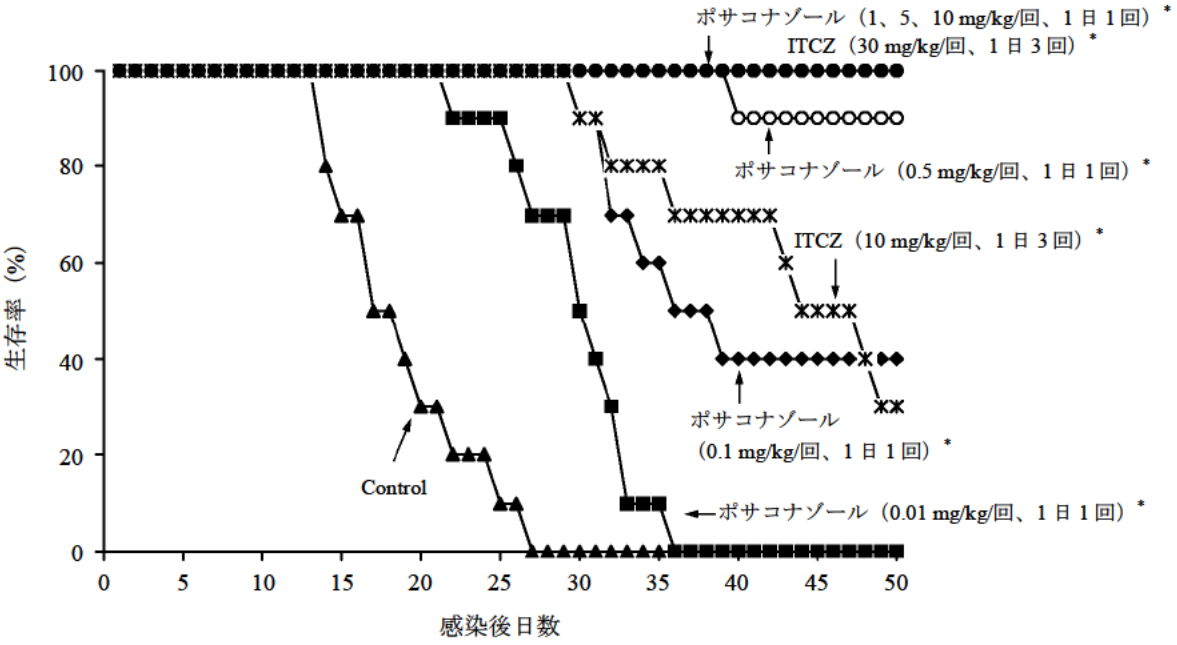


図 2.6.2-15　免疫正常マウスのコクシジオイデス症モデルでの治療効果（生存率）

図 A 及び図 B には、それぞれ *C. immitis* の97-960株及び97-2036株の結果を示す。
各点は感染後の経時的な生存率（%）を示す（n=10）。
*：p<0.05で媒体対照群に比して有意差あり（log rank 及び Wilcoxon 検定）。
[資料4.2.1.1.17: PD109]（参考資料）、1354頁の FIG. 1及び1355頁の FIG. 2を変更して示した。

Confidential

表 2.6.2-21　免疫正常マウスのコクシジオイデス症モデルでの治療効果（臓器内生菌数）

被験薬物	用量（mg/kg/回）	平均生菌数（log CFU/臓器）					
		97-960株			97-2036株		
		脾臓	肝臓	肺	脾臓	肝臓	肺
媒体対照	NA	6.147	6.317	6.165	6.139	6.296	6.143
ポサコナゾール	0.1	4.366	4.505	4.450	4.316	4.448	4.408
	0.5	3.382	3.489	3.445	3.403	3.515	3.394
	1	2.068	2.305	2.212	2.100	2.068	2.082
ITCZ	10	5.134	5.277	5.459	5.089	5.272	5.244
	30	3.380	3.432	3.437	3.305	3.506	3.597

NA：not applicable
いずれの被験薬物の用量でも、$p \leq 0.05$で媒体対照群に比して有意差あり（Dunnett 検定）。
[資料4.2.1.1.17: PD109]（参考資料）、1355頁の TABLE 3を変更して示した。

C Confidential

2.6.2.2.2.6　*Candida* 属

2.6.2.2.2.6.1　マウス播種性カンジダ症モデル

2.6.2.2.2.6.1.1　治療効果

FLCZ 耐性株を含む *C. albicans* による免疫正常又は抑制マウスの播種性カンジダ症モデルで、被験薬物の治療効果を生存率及び臓器内生菌数により検討した。

方法

MIC の測定（酵母様真菌）：マイクロタイタープレートに、SDB 培地（測定用培地）にて調製した被験薬物又は媒体（DMSO）を添加した。予め培養した酵母様真菌を測定用培地にて調整後、プレートに添加し、28℃で48時間培養した。目視により菌の完全な発育阻止がみられる最小濃度を、MIC とした。なお、CLSI による真菌に対する感受性試験法が標準化される前に実施したため、得られた MIC 値を標準化法で得られた MIC 値に外挿することは出来ないが、本試験内での評価は可能と判断した。

免疫正常又は抑制マウスの播種性カンジダ症モデル：無処置又はγ線（5 Gy）を照射した雄性CF1マウスに、Day 0に FLCZ 耐性株2株を含む *C. albicans* の6株の細胞懸濁液（1×10^6～7.5×10^6 CFU/マウス）を静脈内に接種することにより感染させた。感染4時間後より被験薬物を1日1回、3日間反復投与した（Day 0～2）。ポサコナゾール、ITCZ 及び FLCZ を0.4%メチルセルロース及び0.5%ポリソルベート80を含む生理食塩液により調製して経口投与し、AMPH-B を滅菌水により調製して皮下投与した。マウスの生存数を経時的に計数し、生存率を算出した。ED_{50}値を probit 法にて算出した。

臓器内生菌数の測定：Day 3に生存マウスの腎臓を摘出し、ホモジナイズ後、マイコセル寒天培地にて37℃で48時間培養した。コロニー数を計数し、腎臓内生菌数（CFU/両腎）を算出した。なお、試験中に死亡したマウスの腎臓内生菌数を、予備検討により求めた1×10^9 CFU/両腎として、各群の集計に加算した。

成績

成績を[表 2.6.2-22]に示す。また、それらの代表例として、*C. albicans*（C288株、FLCZ 耐性）を感染させた免疫正常マウス及び *C. albicans*（C72株、FLCZ 感受性）を感染させた免疫抑制マウスの生存率及び腎臓内生菌数の成績を、それぞれ[図 2.6.2-16]及び[図 2.6.2-17]に示す。

免疫正常マウスでは、ポサコナゾールの ED_{50}値は0.02～0.6 mg/kg/日であり、*C. albicans* の FLCZ に対する耐性の有無とは明らかな関連はみられなかった。また、FLCZ の ED_{50}値は1.4～25.0 mg/kg/日であり、耐性の有無とは明らかな関連はみられなかった。C43及び C84株感染免疫抑制マウスでのポサコナゾール及び FLCZ の ED_{50}値は、免疫正常マウスでの ED_{50}値よりも明らかに高値を示し、免疫の状態により差がみられた。AMPH-B の ED_{50}値は1.7～9.0 mg/kg/日であり、*C. albicans* の FLCZ に対する耐性の有無により明らかな違いは認められなかった。なお、ITCZ については、*in vivo* での検討を実施しなかった。

免疫抑制の有無にかかわらず、ポサコナゾール、FLCZ 及び AMPH-B の投与により、腎臓内生菌数は投与用量の増加に伴い、減少する傾向がみられた（[図 2.6.2-16]及び[図 2.6.2-17]の図 B）。

Confidential

表 2.6.2-22　免疫正常又は抑制マウスの播種性カンジダ症モデルでの治療効果（作用用量）

菌種	菌株	免疫抑制の有無	ポサコナゾール		ITCZ	FLCZ		AMPH-B	
			MIC 値	ED_{50} 値	MIC 値	MIC 値	ED_{50} 値	MIC 値	ED_{50} 値
C. albicans	C43	－	0.0078	0.39	0.0313	0.5	1.4	0.125	5.0
	C43	γ線	0.0078	4.0	ND	0.5	10	ND	ND
	C65	γ線	0.0039	0.20	0.0156	0.25	3.5	0.063	ND
	C72	γ線	0.0039	1.0	0.0156	0.25	2.5	0.125	1.7
	C84	－	0.0039	0.6	0.0156	0.25	5.0	0.125	9.0
	C84	γ線	0.0039	8.0	ND	0.25	27	ND	ND
	C286（FLCZ 耐性）	－	0.0625	0.02	0.125	8.00	3.0	0.125	3.0
	C288（FLCZ 耐性）	－	0.0625	0.6	0.25	32.00	25.0	0.125	3.5

－：免疫抑制なし、ED_{50} 値：mg/kg/日、MIC 値：μg/mL、ND：実施せず
[資料4.2.1.1.7: P-6185]（評価資料）、46頁の Table 32を変更して示した。

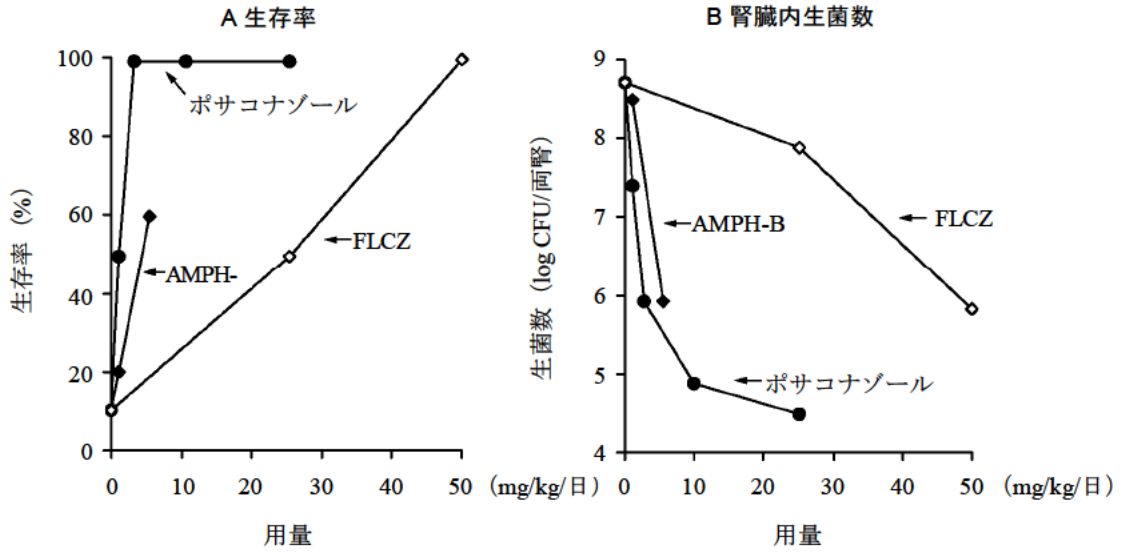


図 2.6.2-16　免疫正常マウスの *C. albicans*（C288 株、FLCZ 耐性）による播種性カンジダ症モデルでの治療効果（生存率及び腎臓内生菌数）

図 A：各点は感染4日後の生存率（%）を示す。
図 B：各点は腎臓内生菌数の幾何平均値を示す。
[資料4.2.1.1.7: P-6185]（評価資料）、76頁の Figure 15及び77頁の Figure 16を変更して示した。

Confidential

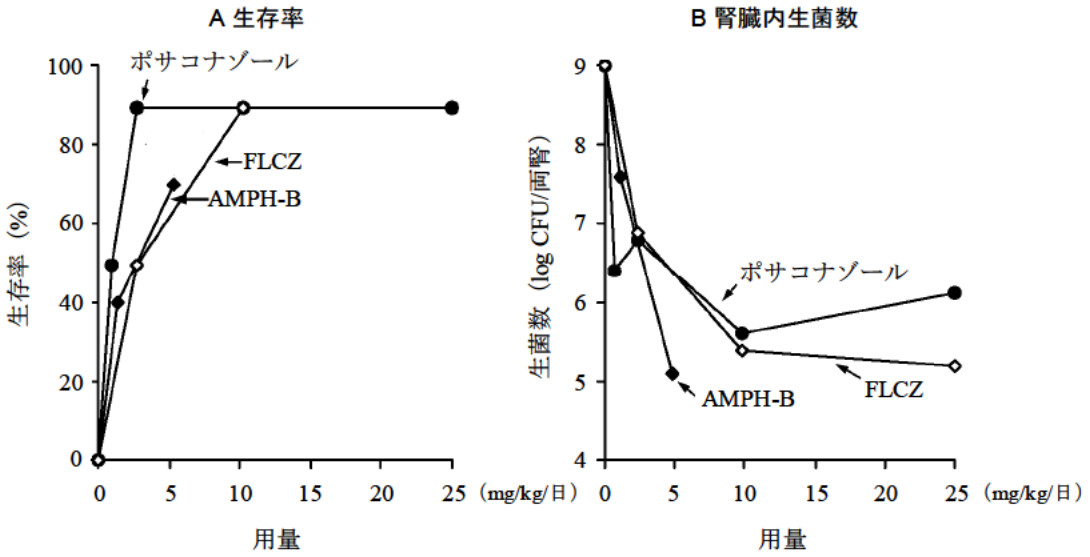


図 2.6.2-17　免疫抑制マウスの *C. albicans*（C72 株、FLCZ 感受性）による播種性カンジダ症モデルでの治療効果（生存率及び腎臓内生菌数）

図 A：各点は感染4日後の生存率（%）を示す。
図 B：各点は腎臓内生菌数の幾何平均値を示す。
[資料4.2.1.1.7: P-6185]（評価資料）、78頁の Figure 17及び79頁の Figure 18を変更して示した。

Confidential

2.6.2.2.2.6.1.2　　予防効果

免疫正常マウスの播種性カンジダ症モデルで、被験薬物の予防効果を生存率により検討した。

方法

免疫正常マウスの播種性カンジダ症モデル：生存率を[2.6.2.2.2.6.1.1 項]（51頁）に示した方法により測定した。なお、5×10^6 CFU/マウスの *C. albicans*（C43株）を感染させ、感染の1.5、3、6、12、24、48又は72時間前に50 mg/kg の被験薬物を単回経口投与した。感染7日後の生存数を計数し、生存率を算出した。

成績

成績を[図 2.6.2-18]に示す。真菌を接種する1.5～24時間前にポサコナゾールの50 mg/kg を単回経口投与することにより100%の致死予防効果が認められた。また、FLCZ も1.5～24時間前の予防投与により30%～100%の致死防御効果を示した。

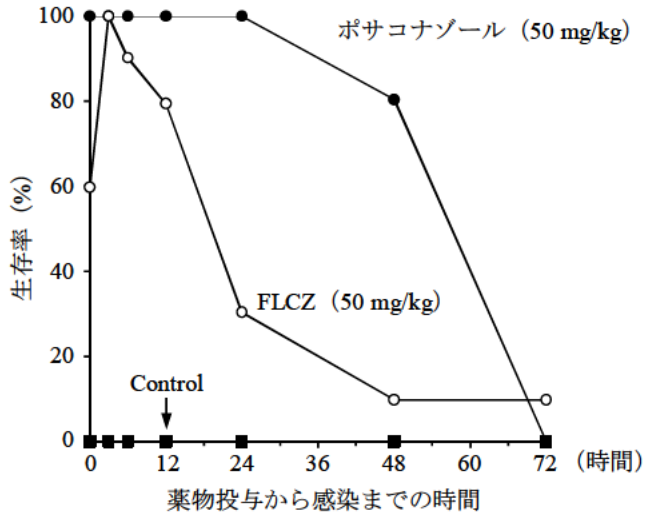


図 2.6.2-18　　免疫正常マウスの播種性カンジダ症モデルでの予防効果（生存率）

各点は感染7日後の生存率（%）を示す。
[資料4.2.1.1.7: P-6185]（評価資料）、81頁の Figure 20を変更して示した。

Confidential

2.6.2.2.2.6.2　　モルモットの播種性カンジダ症モデル

免疫正常又は免疫抑制モルモットの播種性カンジダ症モデルで、被験薬物の治療効果を生存率により検討した。

方法

免疫正常又は免疫抑制モルモットの播種性カンジダ症モデル：無処置又はシクロホスファミド（100 mg/kg/回）を1日1回、4日間腹腔内投与した（Day -5、-3、-1及び1）雄性 Hartley モルモットに、*C. albicans*（C43株）の懸濁液（それぞれ5×10^7又は2.5×10^6 CFU/モルモット）を静脈内接種することにより感染させた（Day 0）。免疫正常モルモットには感染4時間後より、ポサコナゾールの0.1、1、10 mg/kg/回を1日1回、又は VRCZ の0.1、1、2.5、5、10 mg/kg/回を1日2回、3日間（Day 0～2）、反復経口投与した。免疫抑制モルモットには感染4時間後より、ポサコナゾールの5、20、50、100 mg/kg/回を1日1回、又は VRCZ の5、20、50、100 mg/kg/回を1日2回、4日間（Day 0～3）、反復経口投与した。ポサコナゾールを0.4%メチルセルロース及び0.5%ポリソルベート80を含む生理食塩液により、また VRCZ をポリエチレングリコール200により調製した。対照群には0.4%メチルセルロース又はポリエチレングリコール200を投与した。Day 7にモルモットの生存数を計数し、生存率を算出した。ED_{50}値を probit 法にて算出した。

成績

免疫正常又は免疫抑制モルモットでの成績を、それぞれ[図 2.6.2-19]及び[図 2.6.2-20]に示す。免疫正常モルモットでは、ポサコナゾール及び VRCZ の反復経口投与により、致死防御作用が認められ、ED_{50}値はそれぞれ0.17及び5.6 mg/kg/日であった。また、免疫抑制モルモットでのポサコナゾール及び VRCZ の ED_{50}値は、それぞれ30及び710 mg/kg/日であり、いずれも免疫正常モルモットよりも高値を示した。

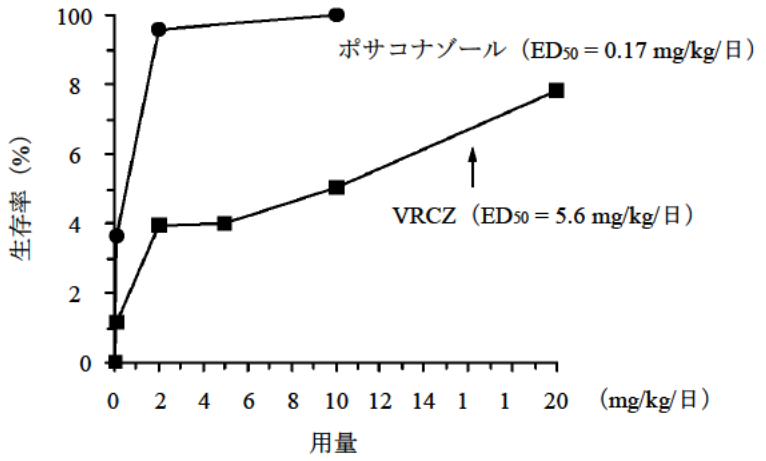


図 2.6.2-19　　免疫正常モルモットの播種性カンジダ症モデルでの治療効果（生存率）

各点は感染7日後の生存率（%）を示す（n=10）。
[資料4.2.1.1.11: D-46062]（参考資料）、11頁の Figure 4を変更して示した。

Confidential

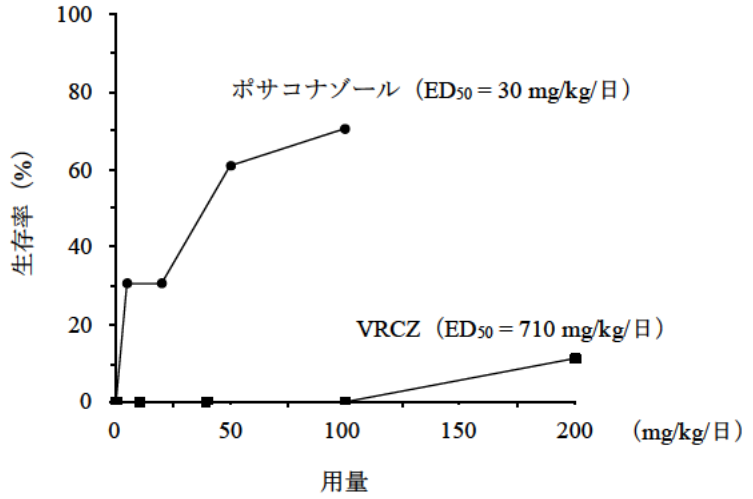


図 2.6.2-20　免疫抑制モルモットの播種性カンジダ症モデルでの治療効果（生存率）

各点は感染7日後の生存率（%）を示す（n=10）。
[資料4.2.1.1.11: D-46062]（参考資料）、12頁の Figure 5を変更して示した。

2.6.2.2.2.7　*Cr. neoformans*

免疫正常マウスの肺クリプトコックス症モデルで、被験薬物の治療効果を生存率及び臓器内生菌数により検討した。

方法

免疫正常マウスの肺クリプトコックス症モデル：雄性 BALB/c マウスに1×10^5個の *Cr. neoformans*（YC-11株、ポサコナゾール及び FLCZ の MIC 値は、それぞれ0.5及び4 μg/mL）を気管内接種することにより感染させた（Day 0）。感染1日後より被験薬物の10 mg/kg/回を1日1回、7日間経口投与した（Day 1～7）。被験薬物を媒体（0.4% HPBCD）により調製した。マウスの生存数を経時的に計数し、生存率を算出した。

臓器内生菌数の測定：Day 14にマウスの肺及び脳を摘出し、臓器をホモジナイズ後、SDA プレートにて35℃で48時間培養した。コロニー数を計数し、臓器内生菌数（log CFU/g 臓器重量）を算出した。

成績

成績を[図 2.6.2-21]及び[表 2.6.2-23]に示す。ポサコナゾールは10 mg/kg/日の投与により致死防御作用を示し、肺及び脳内の生菌数を低下させた。FLCZ は10 mg/kg/日の投与により致死防御作用を示さなかったが、脳内生菌数を低下させた。

Confidential

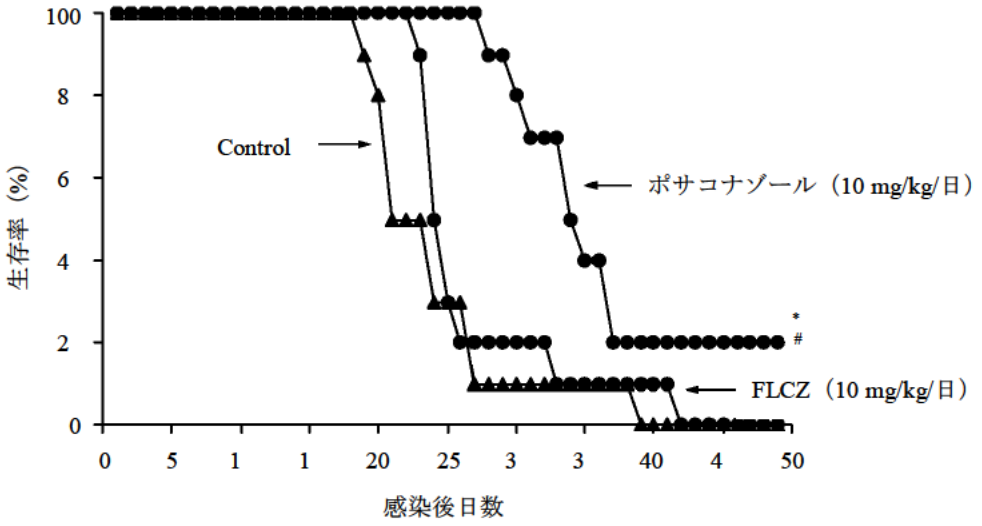


図 2.6.2-21　免疫正常マウスの肺クリプトコックス症モデルでの治療効果（生存率）

各点は生存率（%）を示す（n=10）。
*：p<0.05 で媒体対照群に比して有意差あり（一般化 Wilcoxon 検定）。
#：p<0.05 で FLCZ 群に比して有意差あり（一般化 Wilcoxon 検定）。
[資料4.2.1.1.18: D-46159]（参考資料）、828頁の Figure を変更して示した。

表 2.6.2-23　免疫正常マウスの肺クリプトコックス症モデルでの治療効果（臓器内生菌数）

薬物	用量（mg/kg/日）	生菌数（log CFU/g 臓器重量）	
		肺	脳
媒体対照	—	7.79 ± 0.1	4.2 ± 1.6
ポサコナゾール	10	7.40 ± 0.21*、#	0.88 ± 1.42*
FLCZ	10	7.77 ± 0.07	1.74 ± 1.89*

各値は平均値 ± SD を示す（n=10）。
*：p<0.05 で媒体対照群に比して有意差あり（t 検定）。
#：p<0.05 で FLCZ 群に比して有意差あり（t 検定）。
[資料4.2.1.1.18: D-46159]（参考資料）、828頁の Table II を変更して示した。

Confidential

2.6.2.2.3　　他剤との相互作用

2.6.2.2.3.1　　*In vitro* 抗真菌作用

2.6.2.2.3.1.1　　糸状菌に対する他剤との相互作用

Aspergillus 属及び *Fusarium* 属を含む各種糸状菌に対するポサコナゾールと他の抗真菌薬との併用時の *in vitro* 抗真菌作用を検討した。

方法

MIC の測定（糸状菌）：[2.6.2.2.1.1項]（11頁）に記載した CLSI の M38-A2法[資料4.3: PD1]と類似した M38-A 法[資料4.3: PD5]に基づき、検討した。ポサコナゾール（0.0078～8.0 µg/mL）を CPFG（0.0039～16.0 µg/mL）、VRCZ（0.002～16.0 µg/mL）、ITCZ（0.0039～16.0 µg/mL）、AMPH-B（0.03125～16.0 µg/mL）又は TRB（0.0039～64.0 µg/mL）と併用した。次の式を用いて、MIC 値に基づき fractional inhibitory concentration（FIC）係数を算出し、その結果により、相互作用を判定した（相乗作用：≤0.5、相加作用：>0.5～1、不変：>1～2、拮抗作用：>2）。

FIC 係数：被験薬物 A の併用時の MIC 値/被験薬物 A の単独添加時の MIC 値
+被験薬物 B の併用時の MIC 値/被験薬物 B の単独添加時の MIC 値

成績

成績を[表 2.6.2-24]に示す。いずれの糸状菌でも、ポサコナゾールと CPFG、VRCZ、ITCZ、AMPH-B 又は TRB との併用により明らかな拮抗作用は認められなかった。*Aspergillus* 属では、他剤との併用による作用は主に相加作用（58.02%）又は不変（27.99%）であり、CPFG との併用で相乗作用の比率が最も高かった（24.89%）。*Fusarium* 属及びその他の糸状菌では、他剤との併用による作用は主に不変（74.26%）であり、CPFG との併用で相乗作用の比率が最も高かった（16.66%）。

表 2.6.2-24　　糸状菌に対する他剤との相互作用（*in vitro*）

菌種	株数†	総試験数	併用薬物	各作用の比率（%）‡			
				相乗	相加	不変	拮抗
Aspergillus 属§	61	233	ポサコナゾール+CPFG	24.89	56.65	18.45	0.00
	59	218	ポサコナゾール+VRCZ	4.58	62.84	30.20	1.37
	60	192	ポサコナゾール+ITCZ	11.45	47.39	39.06	1.56
	57	209	ポサコナゾール+AMPH-B	9.56	62.67	25.35	2.87
	47	104	ポサコナゾール+TRB	11.53	60.57	26.92	0.96
	平均値			12.40	58.02	27.99	1.35
Fusarium 属+その他の糸状菌‖	16	18	ポサコナゾール+CPFG	16.66	44.44	38.88	0.00
	16	18	ポサコナゾール+VRCZ	5.55	11.11	77.77	5.55
	16	18	ポサコナゾール+ITCZ	11.11	0.00	88.80	0.00
	14	14	ポサコナゾール+AMPH-B	7.14	21.42	71.42	0.00
	16	18	ポサコナゾール+TRB	5.55	0.00	94.44	0.00
	平均値			9.20	15.39	74.26	1.11

†：株数が異なるのは一部の株で増殖が認められなかったためである。
‡：判定された各相互作用の試験数/総試験数×100
§：*A. fumigatus* 38～44株、*A. flavus* 1～6株、*A. niger* 0～2株、*A. terreus* 3～4株、*A. nidulans* 0～2株及び *A. oryzae* 2～3株を含む。
‖：*F. solani* 5株、*F. moniliforme* 4株、*F. oxysporum* 5株、*Mucor mucedo* 0～1株及び *Rhizopus oryzae* 0～1株を含む。
[資料4.2.1.1.19: D-46076]（参考資料）、6頁の Table 1を変更して示した。

Confidential

2.6.2.2.3.1.2　　酵母様真菌に対する他剤との相互作用

Candida 属及び *Cr. neoformans* に対するポサコナゾールの他の抗真菌薬との併用時の *in vitro* 抗真菌作用を検討した。

方法

MIC の測定（酵母様真菌）: [2.6.2.2.1.1 項]（11頁）に示した CLSI の M27-A3法[資料4.3: PD2]と類似した M27-A 法[資料4.3: PD9]に基づき、検討した。ポサコナゾール（0.0078～8.0 μg/mL）を CPFG（0.0039～16.0 μg/mL）、VRCZ（0.002～16.0 μg/mL）、ITCZ（0.0039～16.0 μg/mL）、FLCZ（0.03125～64.0 μg/mL）、AMPH-B（0.03125～16.0 μg/mL）、5-FC（0.0039～16.0 μg/mL）又は TRB（0.0039～64.0 μg/mL）と併用した。[2.6.2.2.3.1.1 項]（58頁）と同様に FIC 係数を算出し、その結果により、併用作用を判定した。

成績

成績を[表 2.6.2-25]に示す。いずれの酵母様真菌でも、ポサコナゾールと CPFG、VRCZ、ITCZ、FLCZ、AMPH-B、5-FC 又は TRB との併用により明らかな拮抗作用は認められなかった。*Candida* 属では、他剤との併用による作用は主に相加作用（33.8%）又は不変（56.2%）であり、AMPH-B との併用で相乗作用の比率が最も高かった（39.4%）。*Cr. neoformans* では、他剤との併用による作用は主に相加作用（39.6%）又は不変（50.0%）であり、CPFG との併用で相乗作用の比率が最も高かった（55.6%）。

表 2.6.2-25　　酵母様真菌に対する他剤との相互作用（*in vitro*）

菌種	株数†	総試験数	併用薬物	各作用の比率（%）‡			
				相乗	相加	不変	拮抗
Candida 属§	27	163	ポサコナゾール+CPFG	3.7	21.5	74.9	0
	27	190	ポサコナゾール+VRCZ	0	44.2	55.8	0
	27	283	ポサコナゾール+ITCZ	3.9	41.0	55.1	0
	26	106	ポサコナゾール+FLCZ	2.8	45.3	50.9	0.9
	27	208	ポサコナゾール+AMPH-B	39.4	39.4	21.2	0
	26	97	ポサコナゾール+5-FC	6.2	19.6	73.2	1.0
	27	205	ポサコナゾール+TRB	7.3	25.9	62.4	4.4
			平均値	9.0	33.8	56.2	0.9
Cr. neoformans	3	9	ポサコナゾール+CPFG	55.6	44.4	0	0
	3	13	ポサコナゾール+VRCZ	7.7	69.2	23.1	0
	3	30	ポサコナゾール+ITCZ	10.0	43.3	46.7	0
	3	15	ポサコナゾール+FLCZ	0	26.7	73.3	0
	3	15	ポサコナゾール+AMPH-B	0	46.7	53.3	0
	3	15	ポサコナゾール+5-FC	0	13.3	86.7	0
	3	15	ポサコナゾール+TRB	0	33.3	66.7	0
			平均値	10.5	39.6	50.0	0

†：株数が異なるのは一部の株で増殖が認められなかったためである。
‡：判定された各相互作用の試験数/総試験数×100
§：*C. albicans* 19～20株、*C. glabrata* 2株、*C. parapsilosis* 1株、*C. krusei* 1株及び *C. dubliniensis* 3株を含む。
[資料4.2.1.1.20: D-46075]（参考資料）、6頁の Table 1を変更して示した。

Confidential

2.6.2.2.3.2　*In vivo* 抗真菌作用

2.6.2.2.3.2.1　免疫抑制マウスの肺アスペルギルス症モデルでの他剤との相互作用

免疫抑制マウスの *A. flavus* による肺アスペルギルス症モデルでのポサコナゾール及び AMPH-B の併用投与時の治療効果を検討した。

方法

免疫抑制マウスの吸入感染肺アスペルギルス症モデル：生存率を[2.6.2.2.2.1.1.1 項]（29頁）に示した方法により測定した。なお、*A. flavus*（ND134株）を感染させ、ポサコナゾール（0.625、2.5又は10 mg/kg/回、経口）及び AMPH-B（1又は5 mg/kg/回、皮下）を、1日1回、4日間反復併用投与した。感染10日後の生存数を計数し、生存率を算出した。

成績

成績を[図 2.6.2-22]に示す。ポサコナゾールの10 mg/kg/日では、AMPH-B の併用の有無にかかわらず生存率は100%であった。ポサコナゾールの0.625及び2.5 mg/kg/日では、AMPH-B の1又は5 mg/kg/日との併用により、生存率の10%～30%の低下が認められたが、有意ではなかった（p>0.2、Wilcoxon 検定）。このことから、AMPH-B との併用により、試験した株では明らかな拮抗作用は認められなかった。

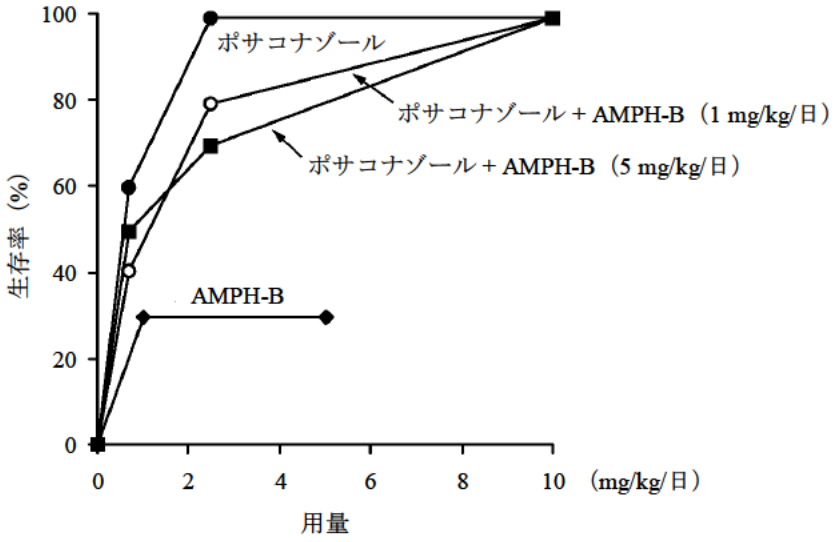


図 2.6.2-22　免疫抑制マウスの肺アスペルギルス症モデルでの AMPH-B との相互作用（生存率）

各点は感染10日後の生存率（%）を示す。
[資料4.2.1.1.7: P-6185]（評価資料）、72頁の Figure 11を変更して示した。

Confidential

2.6.2.2.3.2.2　　免疫正常マウスの播種性アスペルギルス症モデルでの他剤との相互作用

免疫正常マウスの *A. fumigatus* の2株及び *A. flavus* の1株による播種性アスペルギルス症モデルでのポサコナゾール及び CPFG の併用投与時の治療効果を検討した。

方法

免疫正常マウスの播種性アスペルギルス症モデル：雄性 CF1マウスに *A. fumigatus*（ND158株、ND231株）又は *A. flavus*（ND83株）の分生子懸濁液（6.7×10^5～9.5×10^6 CFU/マウス）を静脈内接種することにより感染させた。ND158、ND231及び ND83株に対するポサコナゾールの MIC 値は、いずれも0.06 µg/mL であり、CPFG の MIC 値は、それぞれ>16、64及び>16 µg/mL であった。感染4時間後よりポサコナゾール（経口）及び CPFG（腹腔内）を、1日1回、*A. fumigatus* では8日間、*A. flavus* では4日間併用又は単独投与した（n=8）。ポサコナゾール及び CPFG を、それぞれ滅菌水及び生理食塩液により調製した。対照群には滅菌水（経口）及び生理食塩液（腹腔内）を投与した。感染14又は15日後までマウスの生存数を経時的に計数し、生存率を算出した。

成績

成績を[表 2.6.2-26]、[表 2.6.2-27]及び[表 2.6.2-28]に示す。3菌種による播種性アスペルギルス症モデルで種々の用量で併用した27試験のうち、20試験で各単独投与と比較して併用投与により有意な抗真菌作用の増強が認められた。一方、併用により拮抗作用はみられなかった。

表 2.6.2-26　免疫正常マウスの *A. fumigatus*（ND158 株）による播種性アスペルギルス症モデルでの CPFG との相互作用（生存率）

併用		併用とポサコナゾール単独との比較			併用と CPFG 単独との比較		
ポサコナゾール†	CPFG†	ポサコナゾール†	コメント	p 値‡	CPFG†	コメント	p 値‡
25	10	25	併用≒単独	1.00§	10	併用＞単独	<0.0001§
5	10	5	併用≒単独	0.53	10	併用＞単独	0.002
1	10	1	併用＞単独	0.01	10	併用≒単独	0.97
25	5	25	併用≒単独	1.00§	5	併用＞単独	<0.0001§
5	5	5	併用≒単独	0.51	5	併用＞単独	0.01
1	5	1	併用≒単独	0.07	5	併用≒単独	0.64
25	1	25	併用≒単独	1.00§	1	併用＞単独	<0.0001§
5	1	5	併用≒単独	0.92	1	併用＞単独	<0.0001
1	1	1	併用≒単独	0.89	1	併用≒単独	0.84

†：各値は各薬物の併用又は単独投与時の用量（mg/kg/日）を示す。
‡：併用群と単独群を比較したときの p 値を示す（log rank 検定）。
§：log rank 検定が適用できなかったため、Fisher の正確確率検定（両側検定）の p 値を示す。
[資料4.2.1.1.21: D-46067]（参考資料）、7頁の Table 1を変更して示した。

Confidential

表 2.6.2-27　免疫正常マウスの *A. fumigatus*（ND231 株）による播種性アスペルギルス症モデルでの CPFG との相互作用（生存率）

併用		併用とポサコナゾール単独との比較			併用と CPFG 単独との比較		
ポサコナゾール†	CPFG†	ポサコナゾール†	コメント	p 値‡	CPFG†	コメント	p 値‡
5	5	5	併用≒単独	0.99	5	併用＞単独	0.0078
1	5	1	併用≒単独	0.11	5	併用≒単独	0.16
0.2	5	0.2	併用＞単独	0.0005	5	併用≒単独	0.15
5	1	5	併用≒単独	0.97	1	併用＞単独	0.0073
1	1	1	併用≒単独	0.071	1	併用≒単独	0.12
0.2	1	0.2	併用＞単独	0.0009	1	併用≒単独	0.20
5	0.2	5	併用≒単独	0.96	0.2	併用＞単独	<0.0001
1	0.2	1	併用≒単独	0.091	0.2	併用＞単独	0.0001
0.2	0.2	0.2	併用≒単独	0.14	0.2	併用≒単独	0.064

†：各値は各薬物の併用又は単独投与時の用量（mg/kg/日）を示す。
‡：併用群と単独群を比較したときの p 値を示す（log rank 検定）。
[資料4.2.1.1.21: D-46067]（参考資料）、8頁の Table 2を変更して示した。

表 2.6.2-28　免疫正常マウスの *A. flavus*（ND83 株）による播種性アスペルギルス症モデルでの CPFG との相互作用（生存率）

併用		併用とポサコナゾール単独との比較			併用と CPFG 単独との比較		
ポサコナゾール†	CPFG†	ポサコナゾール†	コメント	p 値‡	CPFG†	コメント	p 値‡
5	1	5	併用＞単独	0.0002	1	併用≒単独	0.12
0.5	1	0.5	併用＞単独	<0.0001	1	併用≒単独	0.74
0.1	1	0.1	併用＞単独	<0.0001	1	併用≒単独	0.41
5	0.2	5	併用≒単独	0.49	0.2	併用≒単独	0.0603
0.5	0.2	0.5	併用＞単独	<0.0001	0.2	併用≒単独	0.65
0.1	0.2	0.1	併用＞単独	<0.0001	0.2	併用≒単独	0.37
5	0.05	5	併用≒単独	0.94	0.05	併用＞単独	<0.0001
0.5	0.05	0.5	併用＞単独	0.0072	0.05	併用＞単独	0.0004
0.1	0.05	0.1	併用≒単独	0.14	0.05	併用≒単独	0.39

†：各値は各薬物の併用又は単独投与時の用量（mg/kg/日）を示す。
‡：併用群と単独群を比較したときの p 値を示す（log rank 検定）。
[資料4.2.1.1.21: D-46067]（参考資料）、9頁の Table 3を変更して示した。

C Confidential

2.6.2.2.3.2.3　　免疫正常マウスの播種性カンジダ症モデルでの他剤との相互作用

免疫正常マウスの *C. albicans* による播種性カンジダ症モデルでのポサコナゾール及び AMPH-B の併用投与時の治療効果を検討した。

方法

免疫正常マウスの播種性カンジダ症モデル：生存率を[2.6.2.2.2.6.1.1項]（51頁）に示した方法により測定した。なお *C. albicans*（C43株）の懸濁液（5×10^6 CFU/マウス）を静脈内に接種することにより感染させ、ポサコナゾールの0.05、0.1、0.5、1.0又は2.5 mg/kg/回（経口）及び AMPH-B の1又は5 mg/kg/回（皮下）を、1日1回、4日間併用投与した。感染4日後の生存数を計数し、生存率を算出した。

成績

成績を[図 2.6.2-23]に示す。ポサコナゾールの2.5 mg/kg/日の用量では、AMPH-B の併用の有無にかかわらず、生存率は100%であった。ポサコナゾールのそれ以下の用量では、AMPH-B の用量により生存率の増加（10%～30%）又は減少（10%～20%）が認められたが、いずれも有意ではなかった（p>0.24、Wilcoxon 検定）。AMPH-B の1又は5 mg/kg/日の単独投与では、生存率は20%～40%であった。このことから、AMPH-B との併用により、試験した株では明らかな拮抗作用は認められなかった。

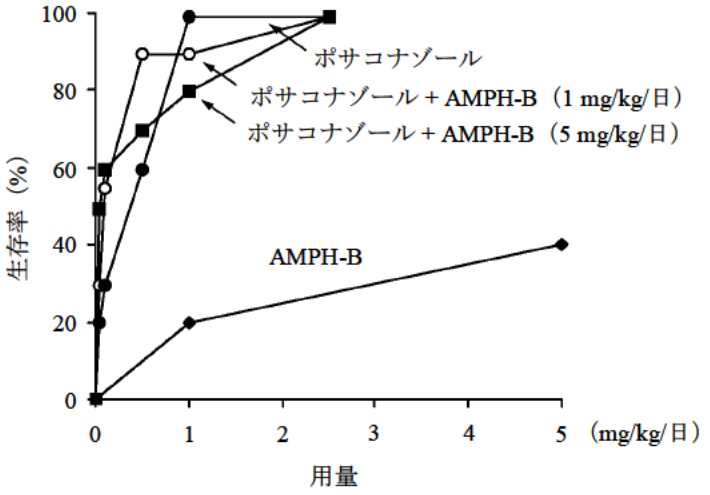


図 2.6.2-23　　免疫正常マウスの播種性カンジダ症モデルでの AMPH-B との相互作用（生存率）

各点は感染4日後の生存率（%）を示す。
[資料4.2.1.1.7: P-6185]（評価資料）、82頁の Figure 21a を変更して示した。

免疫正常マウスの *C. albicans* による播種性カンジダ症モデルでのポサコナゾール及び CPFG の併用投与時の治療効果を検討した。

方法

Confidential

免疫正常マウスの播種性カンジダ症モデル：雄性 CF1マウスに *C. albicans*（C375株）の細胞懸濁液（8.3×10^6～1.1×10^7 CFU/マウス）を静脈内接種することにより感染させた。C375株に対するポサコナゾール及び CPFG の MIC 値は、それぞれ2及び<0.031 μg/mL であった。感染4時間後よりポサコナゾール（経口）及び CPFG（腹腔内）を、1日1回、4日間又は8日間併用又は単独投与した。ポサコナゾール及び CPFG を、それぞれ滅菌水及び生理食塩液により調製した。対照群には滅菌水（経口）及び生理食塩液（腹腔内）を投与した。4日間及び8日間投与による試験を各3回実施し、それぞれの成績を併合して評価した。各試験の n 数は10例（3回では30例）であった。4日間投与試験では感染10日後まで、8日間投与試験では感染8日後までマウスの生存数を経時的に計数し、生存率を算出した。

成績

成績を[表 2.6.2-29]及び[表 2.6.2-30]に示す。*C. albicans* による播種性カンジダ症モデルで4日間又は8日間投与による15試験のうち、12試験で各単独投与と比較して併用投与により有意な抗真菌作用の増強が認められた。一方、併用により拮抗作用はみられなかった。

表 2.6.2-29　免疫正常マウスの *C. albicans*（C375 株）による播種性カンジダ症モデルでの 4 日間投与時の CPFG との相互作用（生存率）

併用		併用とポサコナゾール単独との比較			併用と CPFG 単独との比較		
ポサコナゾール†	CPFG†	ポサコナゾール†	コメント	p 値‡	CPFG†	コメント	p 値‡
100	0.2	100	併用＞単独	<0.0001	0.2	併用≒単独	0.94
100	0.05	100	併用＞単独	0.03	0.05	併用＞単独	0.0001
100	0.01	100	併用≒単独	0.88	0.01	併用≒単独	0.073
25	0.2	25	併用＞単独	<0.0001	0.2	併用≒単独	0.88
25	0.05	25	併用＞単独	0.025	0.05	併用＞単独	<0.0001
25	0.01	25	併用≒単独	0.7	0.01	併用≒単独	0.26
5	0.2	5	併用＞単独	<0.0001	0.2	併用≒単独	0.95
5	0.05	5	併用＞単独	0.044	0.05	併用＞単独	0.03
5	0.01	5	併用≒単独	0.85	0.01	併用≒単独	0.6

†：各値は各薬物の併用又は単独投与時の用量（mg/kg/日）を示す。
‡：併用群と単独群を比較したときの p 値を示す（Wilcoxon 検定）。
[資料4.2.1.1.22: D-46066]（参考資料）、7頁の Table 1を変更して示した。

表 2.6.2-30　免疫正常マウスの *C. albicans*（C375 株）による播種性カンジダ症モデルでの 8 日間投与時の CPFG との相互作用（生存率）

併用		併用とポサコナゾール単独との比較			併用と CPFG 単独との比較		
ポサコナゾール†	CPFG†	ポサコナゾール†	コメント	p 値‡	CPFG†	コメント	p 値‡
100	0.1	100	併用＞単独	<0.0001	0.1	併用＞単独	0.0013
25	0.1	25	併用＞単独	<0.0001	0.1	併用＞単独	0.0411
5	0.1	5	併用＞単独	<0.0001	0.1	併用≒単独	0.5718
100	0.05	100	併用＞単独	0.0023	0.05	併用＞単独	0.0022
25	0.05	25	併用＞単独	0.0011	0.05	併用≒単独	0.1114
5	0.05	5	併用＞単独	0.0007	0.05	併用≒単独	0.202

†：各値は各薬物の併用又は単独投与時の用量（mg/kg/日）を示す。
‡：併用群と単独群を比較したときの p 値を示す（Wilcoxon 検定）。
[資料4.2.1.1.22: D-46066]（参考資料）、8頁の Table 2を変更して示した。

C Confidential

2.6.2.2.4　　抗真菌作用と相関する薬物動態パラメータ

マウスの播種性カンジダ症モデルでの FLCZ を含むアゾール系抗真菌薬の有効性と相関する薬物動態パラメータは、AUC/MIC であることが報告されている[資料4.3: PD12] [資料4.3: PD13] [資料4.3: PD14]。免疫抑制マウスの播種性カンジダ症モデルで、腎臓内生菌数を指標にポサコナゾールの有効性と最も相関する薬物動態パラメータを検討した。

方法

免疫抑制マウスの播種性カンジダ症モデル:雌性 ICR マウスにシクロホスファミドの150 mg/kg/日を4日間、100 mg/kg/日を1日皮下投与した。翌日、1.7×10^4 CFU/マウスの *C. albicans*（K1株）を静脈内接種することにより感染させた。感染2時間後より0.625、2.5、10、40、160及び640 mg/kg/日の被験薬物を6、12及び24時間毎に2日間反復（それぞれ q6h、q12h 及び q24h）、並びに感染2時間後に単回（q48h）経口投与した。ポサコナゾールの経口懸濁液を滅菌水により調製した。

臓器内生菌数の測定：投与開始48時間後に腎臓を無菌的に摘出し、ホモジネート後、SDA プレートで35℃にて24時間培養し、コロニー数を計測した。2例のマウスの4つの腎臓の生菌数の平均値（CFU/腎臓）を算出した。

MIC の測定（酵母様真菌）: [2.6.2.2.1.1 項]（11頁）に記載した CLSI の M27-A3法[資料4.3: PD2]と類似した M27-A 法[資料4.3: PD9]に基づき、検討した。

体内動態の測定：上記免疫抑制マウス播種性カンジダ症モデル（*C. albicans*、K1株）で、20、80及び320 mg/kg の被験薬物を単回経口投与した後、経時的に採血し、*C. kefyr*（ATCC 46764株）を用いた bioassay 法により血清中薬物濃度を測定し、血中濃度推移をシミュレートした。その結果をもとに各投与条件での薬物動態パラメータを計算し、*C. albicans*（K1株）に対する MIC 値（0.03 μg/mL）及びマウス血清蛋白質結合率99%より、遊離薬物 $AUC_{0\text{-}24\ hr}$（$fAUC_{0\text{-}24\ hr}$）/MIC、遊離最高血中薬物濃度（fC_{max}）/MIC 及び24時間中で遊離血中薬物濃度が MIC を超える時間の割合（%T>MIC）を算出した。腎臓内生菌数と薬物動態パラメータとの相関性をシグモイド用量反応モデル（E_{max} モデル）にあてはめ、以下の回帰曲線の式及び相関係数（R^2）を非線形最小二乗法により算出した。

$$E = (E_{max}\times D^N)/(ED_{50}^N+D^N)$$

E：投与48時間後の腎臓内生菌数の変化、E_{max}：最大作用、ED_{50}：50%作用濃度、D：総投与量、N：用量反応関係の傾き

各種菌株での fAUC/MIC の測定: 上記免疫抑制マウス播種性カンジダ症モデルで、*C. albicans* 12株（[表 2.6.2-31]参照）を感染させ、感染2時間後より0.08～20 mg/kg/回の5用量の被験薬物を1日1回、2日間反復経口投与し、投与開始48時間後の腎臓内生菌数を求めた。また、上記と同様に、本投与条件での fAUC/MIC を算出した。

成績

成績を[図 2.6.2-24]及び[図 2.6.2-25]に示す。*C. albicans*（K1株）による感染動物モデルで、ポサコナゾールの抗真菌作用（腎臓内生菌数の減少）は総投与量に依存し、投与間隔の影響をほとんど受けなかった[図 2.6.2-24]。また、同感染動物モデルで、ポサコナゾールの抗真菌作用は $fAUC_{0\text{-}24\ hr}$/MIC 及び fC_{max}/MIC との間で、R^2がそれぞれ83%及び85%であり、相関性を示した[図

Confidential

2.6.2-25]。なお、$fAUC_{0\text{-}24\,hr}$/MIC 及び fC_{max}/MIC と相関性を示す結果が得られたが、AUC 及び C_{max} がともに濃度と関連したパラメータであることを反映したためと考えられる。一方、抗真菌作用と%T>MIC との間の R^2は65%で、それらと比較して相関性は弱かった[図 2.6.2-25]。

また、K1株を含む *C. albicans* 12株に対するポサコナゾールの抗真菌作用と $fAUC_{0\text{-}24\,hr}$/MIC との相関性を検討した結果を[図 2.6.2-26]及び[表 2.6.2-31]に示す。各菌株に対するポサコナゾールの抗真菌作用と $fAUC_{0\text{-}24\,hr}$/MIC との間で、R^2が70%であることから、相関性が認められた[図 2.6.2-26]。また、*C. albicans* 12株に対するポサコナゾールの ED_{50}値は0.25～13.3 mg/kg/日と約53倍の変動があるのに対して、ED_{50}値の用量のときの $fAUC_{0\text{-}24\,hr}$/MIC は6.12～26.7と約4倍のわずかな変動に留まり、その平均値は16.9±7.8であった[表 2.6.2-31]。これらのことより、非臨床薬理試験からはポサコナゾールの抗真菌作用は、アゾール系抗真菌薬と同様に AUC/MIC と相関すると考えられる。

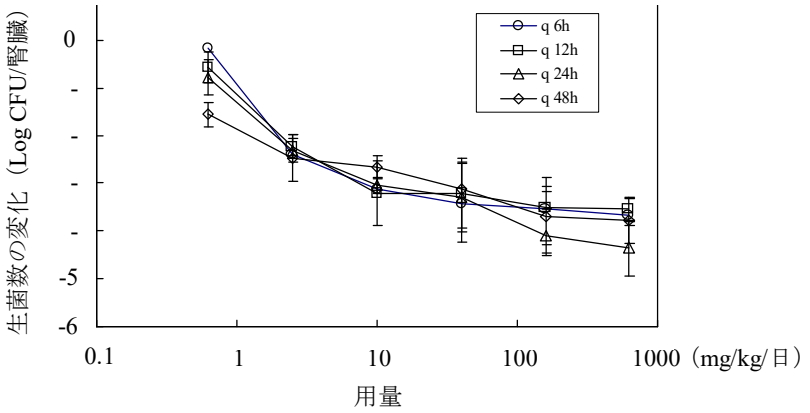


図 2.6.2-24　免疫抑制マウスの播種性カンジダ症モデルでのポサコナゾールの総投与量及び投与間隔と抗真菌作用（腎臓内生菌数の減少）との相関性

各値は 2 例の平均値 ± SD を示す。
[資料 4.2.1.1.23: D-46037]（参考資料）、139 頁の FIG. 3 を変更して示した。

Confidential

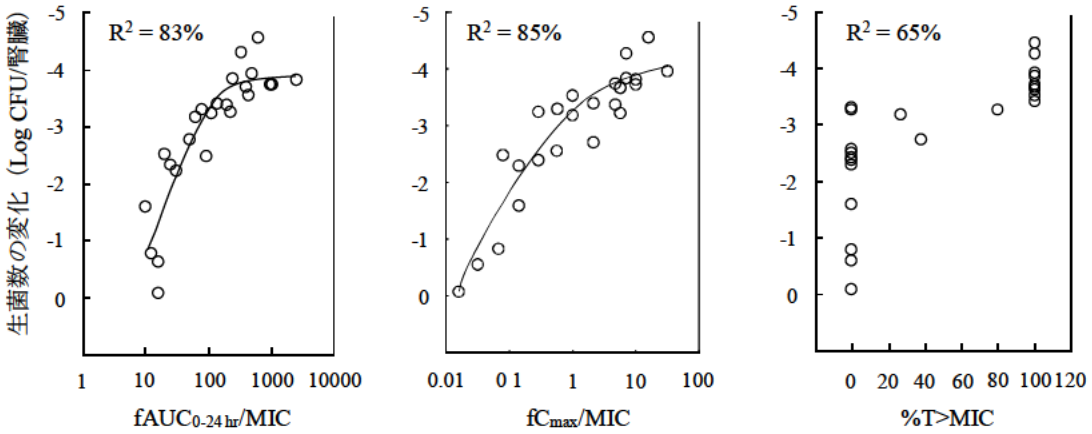


図 2.6.2-25　免疫抑制マウスの播種性カンジダ症モデルでのポサコナゾールの $fAUC_{0\text{-}24\ hr}$/MIC、fC_{max}/MIC 及び%T>MIC と抗真菌作用（腎臓内生菌数の減少）との相関性

[図 2.6.2-24]の試験で得られた腎臓内生菌数の成績を用いた。
各値は 2 例の平均値を示す。
図中にはシグモイド用量反応モデル（Emax モデル）にあてはめたときの回帰曲線及び R^2 を示す。
[資料 4.2.1.1.23: D-46037]（参考資料）、140 頁の FIG. 4 を変更して示した。

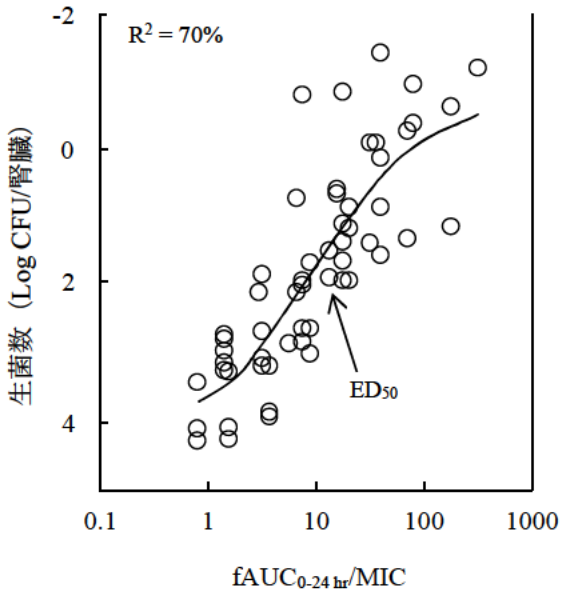


図 2.6.2-26　免疫抑制マウスの *C. albicans* 12 株による播種性カンジダ症モデルでのポサコナゾールの $fAUC_{0\text{-}24\ hr}$/MIC と抗真菌作用（腎臓内生菌数の減少）との相関性

各値は 2 例の平均値を示す。
図中にはシグモイド用量反応モデル（E_{max} モデル）にあてはめたときの回帰曲線及び R^2 を示す。
[資料 4.2.1.1.23: D-46037]（参考資料）、140 頁の FIG. 5 を変更して示した。

Confidential

表 2.6.2-31　免疫抑制マウスの *C. albicans* 12 株による播種性カンジダ症モデルでのポサコナゾールの抗真菌作用と $AUC_{0\text{-}24\ hr}$/MIC

菌株	MIC 値（μg/mL）	ED_{50}値（mg/kg/日）	$AUC_{0\text{-}24\ hr}$/MIC	
			Total drug	Free drug
2-76	0.015	0.25	1140	11.4
W2	0.015	0.93	2513	25.1
K1	0.03	3.2	2640	26.4
412	0.03	3.25	2667	26.7
5810	0.06	0.89	612	6.12
1490	0.06	1.01	660	6.60
2438	0.06	9.36	2517	25.2
2183	0.06	3.74	1450	14.5
580	0.06	7.33	2172	21.8
98-17	0.12	5.51	917	9.17
98-234	0.12	12.3	1483	14.8
98-210	0.12	13.3	1488	15.0
Mean ± SD				16.9 ± 7.8

[図 2.6.2-26]の試験での *C. albicans* 12株に対する MIC 値、並びに各感染動物モデルでの ED_{50}値及び ED_{50}値の用量のときの $AUC/MIC_{0\text{-}24\ hr}$ を示す。
[資料4.2.1.1.23: D-46037]（参考資料）、141頁の TABLE 2を変更して示した。

C Confidential

2.6.2.2.5　　作用機序

2.6.2.2.5.1　　エルゴステロール合成阻害作用

アゾール系抗真菌薬は、チトクロム P-450酵素でありエルゴステロールの生合成に必須の酵素であるラノステロール14α-脱メチル酵素（CYP51）を阻害する[図 2.6.2-27]。その結果、エルゴステロールの減少により、細胞膜の脆弱化及び膜蛋白質の機能低下が誘導される。

Candida 属及び *Aspergillus* 属のエルゴステロール合成に対するポサコナゾールの阻害作用を検討した。

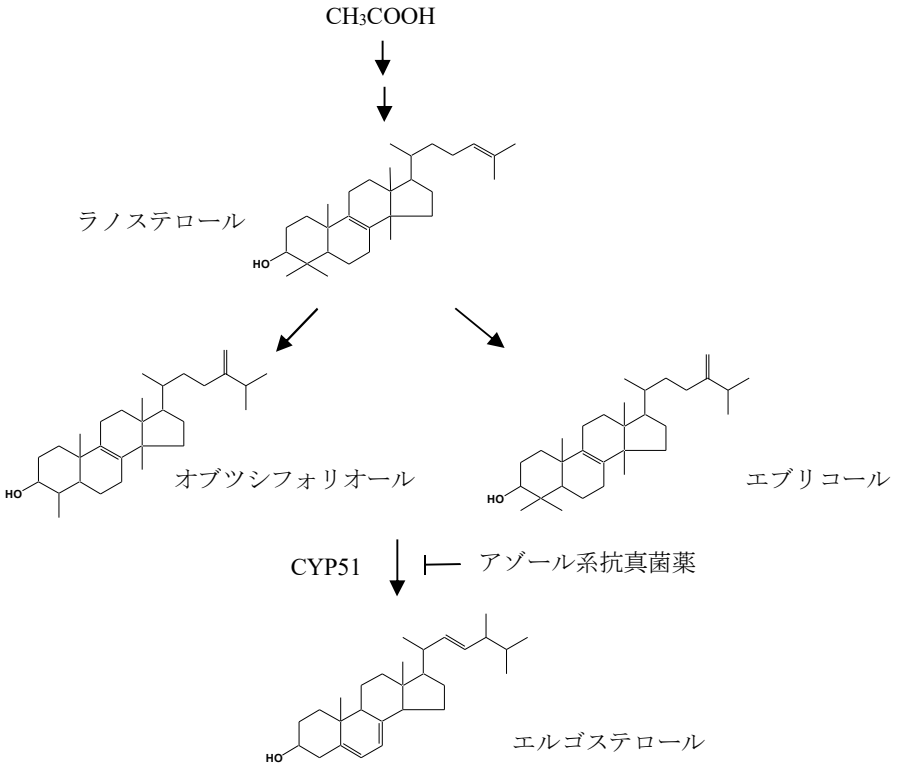


図 2.6.2-27　　エルゴステロール生合成経路（一部）及びアゾール系抗真菌薬の作用点

[資料4.3: PD15]、2405頁の FIG. 1を変更して示した。

方法

エルゴステロール生合成阻害作用：*Aspergillus* 属及び *Candida* 属の各細胞株をそれぞれ麦芽エキス（ME）及び酵母ニトロゲンベース（YNB）培地中で、10 μCi の[1-^{14}C]酢酸を加え、被験薬物又は媒体（DMSO）とともに、30℃にてそれぞれ48及び24時間培養した。真菌細胞から脂質を抽出し、HPLC にて分離後、エルゴステロール画分のピーク面積よりエルゴステロール合成量を定量した。エルゴステロールの合成を50%阻害する被験薬物の濃度（IC_{50}値）を算出した。

MIC の測定：*Aspergillus* 属及び *Candida* 属の感受性試験を、[2.6.2.2.1.1 項]（11頁）に記載したそれぞれ CLSI の M38-A2[資料4.3: PD1]及び M27-A3法[資料4.3: PD2]と類似した M38-A[資料4.3:

C Confidential

PD5]及び M27-2A 法[資料4.3: PD6]により実施した。なお、RPMI-1640培地の代わりに、エルゴステロールの生合成阻害作用で用いた培地と同じ培地である、*Aspergillus* 属では ME 培地を、*Candida* 属では YNB 培地を用いた。

成績

ポサコナゾールを *Aspergillus* 属及び *Candida* 属の各菌種に作用させたときのステロール生合成に及ぼす影響を検討した。アゾール系抗真菌薬に感受性の *C. albicans*（C72株、ポサコナゾールの MIC 値は0.03 µg/mL）の例を[図 2.6.2-28]に示す。被験薬物非添加では、エルゴステロールが標識ステロールの約90%を占めていた。10及び100 nM（0.007及び0.07 µg/mL）のポサコナゾールにより、*C. albicans* のエルゴステロールの生合成の阻害及び合成中間体（エブリコール及びオブツシフォリオール）の蓄積がみられた。

また、*Aspergillus* 属及び *Candida* 属での各種アゾール系抗真菌薬によるエルゴステロール生合成阻害作用（IC_{50}値）と *in vitro* 抗真菌作用（MIC 値）を[表 2.6.2-32]に示した。いずれの真菌でも、アゾール系抗真菌薬の IC_{50}値と MIC 値との間に相関傾向が認められた。

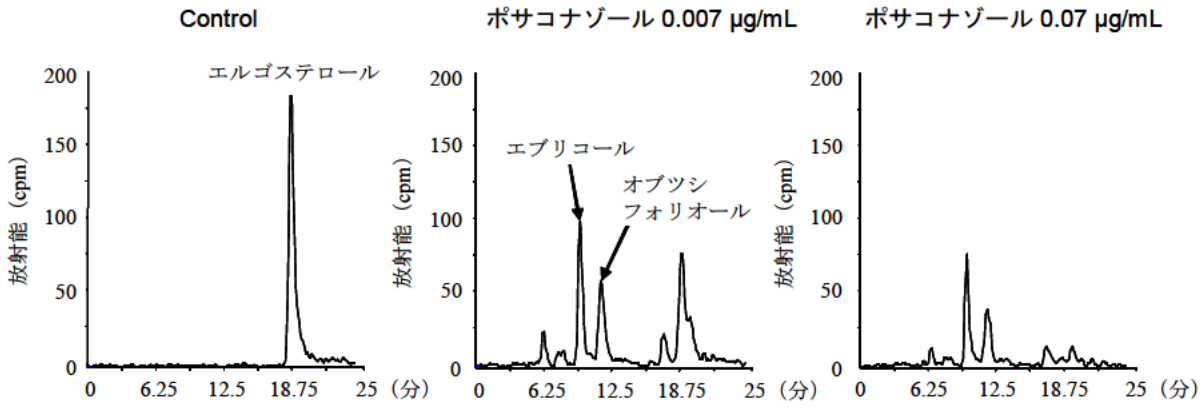


図 2.6.2-28　*C. albicans* のステロール合成に及ぼす影響

C. albicans（C72株）を10及び100 nM（0.007及び0.07 µg/mL）のポサコナゾール存在下又は非存在下で培養したときの各ステロールを HPLC にて分離した。
[資料4.2.1.1.24: D-46030]（参考資料）、3692頁の FIG.1を変更して示した。

Confidential

表 2.6.2-32　各種真菌細胞株でのエルゴステロール合成阻害作用及び抗真菌作用（*in vitro*）

菌種	菌株	ポサコナゾール		VRCZ		ITCZ		FLCZ	
		IC_{50}†	MIC‡	IC_{50}†	MIC‡	IC_{50}†	MIC‡	IC_{50}†	MIC‡
A. fumigatus	ND158	0.03 ± 0.0007	0.01	0.4 ± 0.07	0.3	0.2 ± 0	0.3	ND	ND
A. flavus	ND134	0.03 ± 0.0007	0.04	0.4 ± 0.005	0.3	0.06 ± 0.008	0.15	ND	ND
C. albicans	C43	0.007 ± 0.0007	0.06	0.03 ± 0.006	0.016	0.007 ± 0.002	0.03	1.5 ± 0.12	2
C. albicans	C288	0.06 ± 0.005	0.5	1 ± 0.07	1	0.04 ± 0.002	0.5	55 ± 15	64
C. albicans	C600	0.2 ± 0.05	2	28 ± 2.8	>16	0.3 ± 0.014	>8	>256	>256
C. glabrata	C248	0.3 ± 0.007	4	1 ± 0.1	4	0.3 ± 0.06	>8	50 ± 15	128

ND：実施せず。
†：エルゴステロール合成阻害作用の IC_{50} 値（μg/mL）は 3 試験の平均値 ± SD を示す。
‡：MIC 値（μg/mL）を示す。
[資料 4.2.1.1.24: D-46030]（参考資料）、3695 頁の TABLE 2 を変更して示した。

2.6.2.2.5.2　CYP51酵素とアゾール系抗真菌薬との複合体の立体構造

C albicans が1つの *cyp51*遺伝子を持つのに対して *A. fumigatus* は異なる2つの *cyp51*遺伝子（*cyp51A* 及び *cyp51B*）を有する[資料4.3: PD16]。ポサコナゾールに対する感受性に関与する *A. fumigatus* の CYP51A [2.6.2.2.6.1 項]（73頁）及び *C. albicans* 由来の CYP51酵素とアゾール系抗真菌薬との複合体の立体構造を検討した。

方法

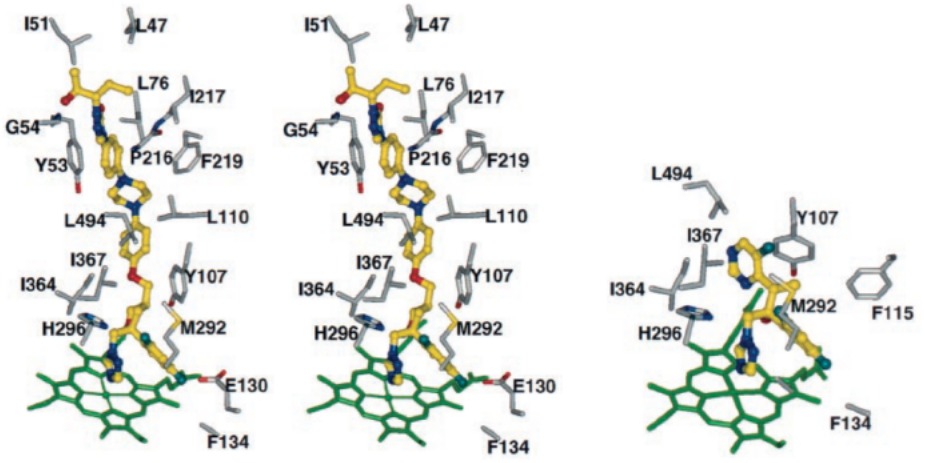
CYP51の構造の予測及びリガンドの結合：結核菌由来 CYP51蛋白質の X 線結晶構造を鋳型として、ホモロジー・モデリング法（ソフト：MODELLER）により、*A. fumigatus* 及び *C. albicans* 由来の、それぞれ CYP51A 及び CYP51の立体構造を予測した。さらに、ドッキングプログラム（GOLD）を用いて CYP51とポサコナゾール又は VRCZ との複合体の立体構造を予測した。

成績

結核菌の CYP51の立体構造から予測された *A. fumigatus* 及び *C. albicans* 由来 CYP51とポサコナゾール又は VRCZ との複合体の結合部位の構造を[図 2.6.2-29]に示す。ヘム結合部位の近傍には、ポサコナゾール及び VRCZ が相互作用する部位があり、さらに CYP51には、ポサコナゾールの側鎖部分と相互作用する別の部位が認められた。

C Confidential

A *A. fumigatus* 由来 CYP51A-ポサコナゾール複合体　B *A. fumigatus* 由来 CYP51A-VRCZ 複合体



C *C. albicans* 由来 CYP51-ポサコナゾール複合体　D *C. albicans* 由来 CYP51-VRCZ 複合体

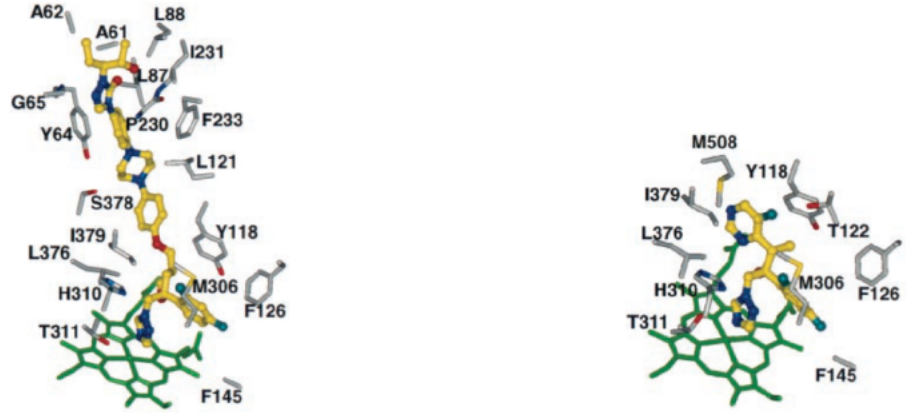


図 2.6.2-29　*A. fumigatus* 及び *C. albicans* 由来 CYP51 とアゾール系抗真菌薬との複合体の結合部位の構造

A. fumigatus 及び *C. albicans* 由来 CYP51とポサコナゾール（図 A、C）及び VRCZ（図 B、D）との複合体の結合部位の構造を示す。薬物及び CYP51の炭素原子を、それぞれ黄色及び灰色で、酸素、窒素及びフッ素の各原子を，それぞれ赤、青及び明るい青で、活性部位であるヘム補因子を緑色で示した。
[資料4.2.1.1.25: D-46049]（参考資料）、571頁の FIG. 4を変更して示した。

C Confidential

2.6.2.2.6　　薬剤耐性及びその機序

2.6.2.2.6.1　　継代培養時の耐性発現

A. fumigatus をポサコナゾールとともに継代培養することにより、耐性株が出現するか否かを検討した。

方法

耐性株の誘導 : *A. fumigatus*（ND158株、ポサコナゾールの MIC 値は0.03 µg/mL）の分生子（3×10^8～8×10^8個）を complete supplement mixture（CSM）添加合成寒天培地11プレートにそれぞれ接種し、1 µg/mL のポサコナゾールとともに培養した。11枚のプレート中コロニー形成が認められた5枚のプレートから釣菌し、同新鮮培地にて1 µg/mL のポサコナゾールとともに7日間培養した。さらに、分生子を ME 寒天斜面培地にて0.2 µg/mL のポサコナゾールとともに5日間培養し、MIC を測定した。

MIC の測定（糸状菌）: [2.6.2.2.1.1 項]（11頁）に記載した CLSI の M38-A2法[資料4.3: PD1]と類似した M38-P 法[資料4.3: PD8]に基づき検討した。なお、その後の改訂版では FLCZ 以外のアゾール系抗真菌薬の終末点の評価方法が変更されたため、M38-P 法で得られた MIC 値を他の方法で得られた値と比較することは出来ないが[2.6.2.6.1 項]（85頁）、本試験内での評価は可能と判断した。

耐性変異の同定 : 分生子から DNA を単離し、*cyp51A* 及び *cyp51B* 領域をポリメラーゼ連鎖反応（PCR）法で増幅後、遺伝子配列を解析した。

耐性遺伝子の発現量の測定 : 培養18時間の分生子から RNA を単離し、リアルタイム逆転写ポリメラーゼ連鎖反応（RT-PCR）法により、*cyp51A*、*cyp51B*、*mdr1*及び *mdr2*の mRNA の発現を定量した。

[^{14}C]標識ポサコナゾールの取り込み量の測定 : 培養18時間の分生子を YPD 培地中で0.02 µg/mL の[^{14}C]ポサコナゾールとともに培養し、経時的に分生子内に取り込まれた放射能を液体シンチレーションカウンターにより測定した。

成績

A. fumigatus の分生子3×10^8～8×10^8個/プレートを1 µg/mL のポサコナゾールの存在下で培養することにより、11プレート中5プレートにコロニー形成が認められたことから、耐性変異株の出現頻度は1×10^8～1×10^9個あたり1個と推定された。

野生株及びその変異株5株に対するアゾール系抗真菌薬の MIC 値及び CYP51A のアミノ酸変異の成績を[表 2.6.2-33]に示す。野生型 ND158株に対するポサコナゾールの MIC 値が0.03 µg/mL であったのに対して、分離された5株中4株に対するポサコナゾールの MIC 値は1 µg/mL であり、他の1株では>8 µg/mL であった。それら5株に対する ITCZ の MIC 値も高値を示したが、VRCZ 及び AMPH-B の MIC 値は野生株と差がなかった。また、いずれの耐性株にも、CYP51A の54番目のアミノ酸残基に変異が同定されたが[表 2.6.2-33]、CYP51B には変異は認められなかった（データを示さず）。

なお、いずれの変異株も、野生型と比較して *cyp51A*、*cyp51B*、*mdr1*及び *mdr2*の mRNA の発現量及び[^{14}C]標識ポサコナゾールの取り込み量に差はなかった（データを示さず）。

C Confidential

表 2.6.2-33　*A. fumigatus* をポサコナゾール存在下で継代培養したときの耐性発現

菌株	菌株の由来	MIC（μg/mL）				CYP51A のアミノ酸変異
		ポサコナゾール	ITCZ	VRCZ	AMPH-B	
ND158	野生株	0.03	0.12	0.25	1	－
MS6	ND158由来変異株	1	>16	0.12	1	G54R
R1-1	ND158由来変異株	1	>16	0.12	1	G54R
R4-1	ND158由来変異株	1	>16	0.25	1	G54E
R6-1	ND158由来変異株	1	>16	0.25	1	G54E
R7-1	ND158由来変異株	>8	>16	0.25	1	G54W
[資料4.2.1.1.26: D-45922]（評価資料）、6頁の TABLE 1を変更して示した。						

C. albicans をポサコナゾールとともに継代培養することにより、耐性株が出現するか否かを検討した。

方法

耐性の誘導：①約1×10^{12} CFU の *C. albicans*（C43株、ポサコナゾール及び FLCZ の MIC 値は、それぞれ0.004及び0.125 μg/mL）を合成ドロップアウト培地に接種し、1～20 μg/mL のポサコナゾールとともに35℃で培養し、24及び48時間後にプラークの出現を確認した。②6本の試験管にて2%グルコース添加 RPMI-1640培地で *C. albicans*（C43株）を、被験薬物の存在下又は非存在下で35℃にて振盪培養した。1週間のうち5日間（月曜～金曜日）は24時間毎に、その後2日間は36時間後に1 mL の培養液を回収し、10 mL の新鮮培地に添加した。1週間毎に MIC 値を測定し、培地に添加する被験薬物の濃度を増加させて継代培養した。

MIC の測定（酵母様真菌）: [2.6.2.2.1.1 項]（11頁）に示した CLSI の M27-A3法[資料4.3: PD2]と類似した M27-A 法[資料4.3: PD9]（グルコース濃度を2%に変更）に基づき、検討した。

成績

耐性の誘導試験①

培地に添加した1～20 μg/mL のポサコナゾールのいずれの濃度でも、24及び48時間後に耐性株の出現を示唆するプラークは認められなかった（データを示さず）。

耐性の誘導試験②

ポサコナゾール：開始時の C43株に対するポサコナゾールの MIC 値は0.004 μg/mL であった。被験薬物非存在下では、10週間継代培養しても、ポサコナゾールの MIC 値に明らかな変化はなかった[表 2.6.2-34]。最初の3週間は、0.008 μg/mL のポサコナゾールの存在下で培養し、その後5週間は、毎週培地に添加するポサコナゾールの濃度を2倍ずつ0.256 μg/mL まで増加させて、継代培養した。その結果、ポサコナゾールの MIC 値に明らかな変化はなかった（データを示さず）。さらに培地中のポサコナゾール濃度を2.56 μg/mL に増加させ、その濃度を維持して4週間培養した。その結果、ポサコナゾールの MIC 値に明らかな変化は認められなかった[表 2.6.2-34]。

FLCZ：開始時の C43株に対する FLCZ の MIC 値は0.125 μg/mL であり、その2倍濃度の0.256 μg/mL の FLCZ を添加して、1週間継代培養した。その後、FLCZ の培地中の濃度を2倍ずつ増加して4週間培養した。その結果、FLCZ の MIC 値は6本の試験管中5本で2～4 μg/mL に増加した（データを示さず）。さらに培地中の FLCZ の濃度を4 μg/mL に維持して11週目まで培養し、12及び13

C Confidential

週目は8 μg/mL で継代培養した。その結果、FLCZ の MIC 値は6本の試験管中5本で2～8 μg/mL になった[表 2.6.2-34]。

表 2.6.2-34　*C. albicans* を被験薬物の存在下又は非存在下で培養したときの耐性発現

薬物の処置	薬物の MIC 値（μg/mL）	測定	試験管番号					
			1	2	3	4	5	6
媒体	ポサコナゾール	10週後	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008
ポサコナゾール	ポサコナゾール	12週後	0.008	0.016	0.016	0.008	0.0016	0.008
FLCZ	FLCZ	13週後	2	8	4	8	4	0.06
[資料4.2.1.1.27: D-46044]（参考資料）、3頁の Table 1を変更して示した。								

2.6.2.2.6.2　抗真菌薬長期投与時の *C. albicans* の耐性株の出現

後天性免疫不全症候群（AIDS）患者の口腔内カンジダ症（OPC）に対して AMPH-B 及びポサコナゾールを含む抗真菌薬を長期投与した1例に出現した、*C. albicans* の耐性株の耐性機序について検討した。

方法：

臨床分離株 : OPC を発症した AIDS 患者1例に AMPH-B が2ヵ月、その後 ITCZ が5ヵ月間投与された。ITCZ の投与終了後に（1998年11月）、*C. albicans* が分離された（C369株）。その後、ポサコナゾールの400 mg/回を1日2回、約6ヵ月間投与された（1998年11月～1999年6月）、その間に経時的に3株の *C. albicans* が分離された（C378、C371及び C372）。ポサコナゾールの投与中止1ヵ月後に OPC が再発したため、VRCZ が投与された。OPC の症状が改善しないため、1999年8月にポサコナゾールの長期投与試験に組み入れられ、ポサコナゾールの400 mg/回を1日2回投与された。その後症状が改善したが、9ヵ月後に再発したため（2000年5月）、ポサコナゾールの投与が中止された。この臨床試験の間に経時的に3株の *C. albicans* が分離された（C373、C376及び C375）。

MIC の測定（酵母様真菌）: [2.6.2.2.1.1 項]（11頁）に示した CLSI の M-27-A3法[資料4.3: PD2]と類似した M27-A 法[資料4.3: PD9]に基づき、検討した。

菌株の相同性の検討：細胞から単離した染色体をパルスフィールドゲル電気泳動により分離する染色体分析、制限酵素で切断後の DNA を Ca3領域のプローブを用いてサザンブロッティングする制限酵素断片長多型（RFLP）解析、及び繰り返し配列に対するプローブを用いた repetitive element PCR（rep-PCR）法により菌株の識別を行った。

耐性遺伝子の発現量の測定：細胞から RNA を単離し、ノーザンブロット又はリアルタイム RT-PCR 法により、*cdr1*、*cdr2*、*mdr1*及び *cyp51*の mRNA 量を測定した。

耐性遺伝子の同定 : 細胞から DNA を単離し、*cyp51*領域を PCR 法により増幅後、遺伝子配列を解析した。

成績：

ポサコナゾールを含む抗真菌薬を投与した患者から経時的に分離した *C. albicans* 7株の各種抗真菌薬に対する感受性を[表 2.6.2-35]に示す。AMPH-B 及び ITCZ の投与後に、C43株と比較して、

C Confidential

AMPH-B に感受性でアゾール系抗真菌薬に低感受性を示す C369株が分離された。その後、ポサコナゾール又は VRCZ の投与により、同様にアゾール系抗真菌薬に低感受性を示す *C. albicans* の分離株が分離された。なお、分離された7株の相同性を検討した結果、同一の株であることが示唆された（データを示さず）。

C. albicans 7株での、真菌の薬剤排出ポンプである *cdr1*、*cdr2*及び *mdr1*、並びに *cyp51*の発現には、意味のある明らかな増強は認められなかった（データを示さず）。

C. albicans 7株の CYP51のアミノ酸変異を[表 2.6.2-36]に示す。いずれの菌株も同じ5つのアミノ酸変異を有し、5番目以降に分離した3株では、さらに P230L の変異が認められ、ポサコナゾールの MIC 値も増加した。このうち、D116E は各種アゾール系抗真菌薬に感受性を示す株にも認められる変異であることから、ポサコナゾールの耐性には関与していないと考えられた[資料4.3: PD17] [資料4.3: PD18] [資料4.3: PD19]。

表 2.6.2-35　抗真菌薬を長期投与した患者から分離された *C. albicans* の感受性

菌株	分離日	MIC 値（μg/mL）				
		ポサコナゾール	VRCZ	ITCZ	FLCZ	AMPH-B
C43†	NA	0.03	0.03	0.06	0.125	0.5
C369	1998年11月25日	0.25	2	1	32	0.25
C378	1998年12月29日	0.25	2	1	32	0.25
C371	1999年1月28日	0.25	4	1	>64	0.25
C372	1999年4月8日	0.25	2	1	>64	0.25
C373	2000年1月24日	2	4	16	>64	0.25
C376	2000年4月24日	2	2	16	32	0.25
C375	2000年5月10日	2	2	16	48	0.25

NA：not applicable
†：CYP51に変異のない対照株
[資料4.2.1.1.28: PD110]（参考資料）、76頁の Table 1を変更して示した。

表 2.6.2-36　抗真菌薬を長期投与した患者から分離された *C. albicans* の CYP51 蛋白質のアミノ酸変異

菌株	ポサコナゾールの MIC 値（μg/mL）	CYP51蛋白質のアミノ酸変異
C369	0.25	D116E、K128T、Y132H、D278N、G464S
C378	0.25	D116E、K128T、Y132H、D278N、G464S
C371	0.25	D116E、K128T、Y132H、D278N、G464S
C372	0.25	D116E、K128T、Y132H、D278N、G464S
C373	2	D116E、K128T、Y132H、D278N、G464S、P230L†
C376	2	D116E、K128T、Y132H、D278N、G464S、P230L
C375	2	D116E、K128T、Y132H、D278N、G464S、P230L

†：CYP51の P230L の変異は染色体の1本にみられた。
[資料4.2.1.1.28: PD110]（参考資料）、78頁の Table 2を変更して示した。

Confidential

2.6.2.2.6.3　　アゾール系抗真菌薬に対する耐性を誘導するCYP51酵素のアミノ酸変異

CYP51とアゾール系抗真菌薬との複合体の結合部位の構造と、アゾール系抗真菌薬に対する耐性変異を誘導するCYP51のアミノ酸変異の位置との関連性を検討した。

方法

CYP51の構造の予測及びリガンドの結合：[2.6.2.2.5.2 項]（71頁）の方法により *A. fumigatus* 及び *C. albicans* 由来CYP51とポサコナゾール又はVRCZとの複合体の立体構造を予測した。

成績

A. fumigatus のアゾール系抗真菌薬に耐性を誘導するアミノ酸変異及びそのときのアゾール系抗真菌薬のMIC値を[表 2.6.2-37]に示す。また、*A. fumigatus* 由来CYP51Aとポサコナゾール又はVRCZとの複合体の結合部位の構造、並びに耐性を誘導するアミノ酸変異の位置を[図 2.6.2-30]に示す。

ポサコナゾールの側鎖部分と相互作用する部位にあるG54のアミノ酸変異により、ポサコナゾール及びITCZのMIC値は上昇するが、VRCZのMIC値に変化はみられなかった。一方で、ヘムの近傍にあるG138及びG448のアミノ酸変異によりVRCZのMIC値は上昇するが、ポサコナゾール又はITCZのMIC値の変化は限定的であった。これは、ポサコナゾールの側鎖とCYP51Aとの相互作用により、親和性が補われた結果と推察される。

表 2.6.2-37　　アゾール系抗真菌薬に対する耐性を誘導する *A. fumigatus* のCYP51Aのアミノ酸変異

菌株	MIC値（μg/mL）			CYP51Aのアミノ酸変異
	ポサコナゾール	VRCZ	ITCZ	
ND158（親株）	0.03	0.25	0.12	変異なし
MS6	0.5	0.12	>16	G54R
R4-1	1	0.25	>16	G54E
R7-1	4	0.25	>16	G54W
F55064（親株）	0.25	0.25	0.25	変異なし
F10	0.25	16	2	G138R
F33	0.25	8	0.5	G448S
[資料4.2.1.1.25: D-46049]（参考資料）、571頁のTABLE 1を変更して示した。				

Confidential

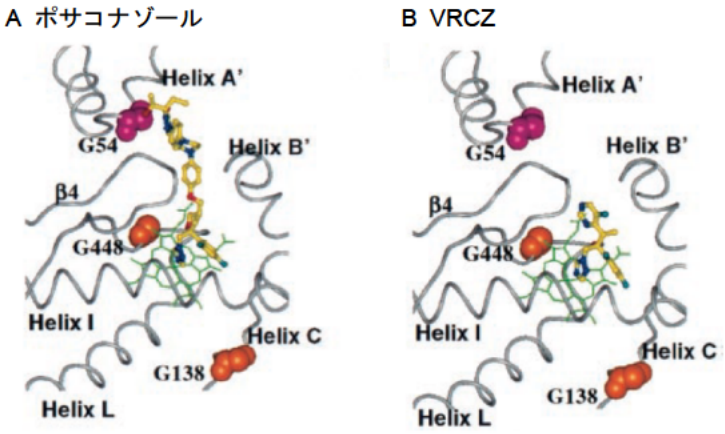


図 2.6.2-30　*A. fumigatus* の CYP51A とポサコナゾール又は VRCZ との複合体の構造及び耐性変異を誘導するアミノ酸部位

アゾール系抗真菌薬に耐性を誘導する *A. fumigatus* 由来 CYP51A のアミノ酸置換部位を示す。ポサコナゾール（図 A）及び VRCZ（図 B）の炭素原子を黄色で、活性部位であるヘム補因子を緑色で示した。
[資料4.2.1.1.25: D-46049]（参考資料）、572頁の FIG. 5を変更して示した。

また、*C. albicans* のアゾール系抗真菌薬に耐性を誘導するアミノ酸変異及びそのときのアゾール系抗真菌薬の MIC 値を[表 2.6.2-38]に示す。さらに、*C. albicans* 由来 CYP51とポサコナゾールとの複合体の結合部位の構造、並びに耐性を誘導するアミノ酸変異の位置を[図 2.6.2-31]に示す。

患者1由来の臨床分離株では、Y257のアミノ酸の位置はアゾール系抗真菌薬の結合部位から離れているため、いずれの薬物の MIC 値にも影響を及ぼさないと考えられる。G307及び G464のアミノ酸変異はヘムの近傍にあるが、ポサコナゾール及び ITCZ よりも VRCZ 及び FLCZ の MIC 値により影響を及ぼした。A61のアミノ酸変異はポサコナゾールの側鎖の末端位置に近く、ポサコナゾール及び ITCZ の MIC 値がさらに上昇した。患者2の臨床分離株では、K128、Y132及び D278の位置はアゾール系抗真菌薬の結合部位から離れているため、いずれの薬物の MIC 値にも影響を及ぼさないと考えられる。ヘム近傍に位置する G464のアミノ酸変異は、いずれの薬物の MIC 値にも影響を及ぼしたが、その程度はポサコナゾール及び ITCZ と比較して VRCZ 及び FLCZ への影響が大きかった。P230のアミノ酸変異はポサコナゾール及び ITCZ の側鎖部位に近接しており、両薬物の MIC 値に影響したが、VRCZ 及び FLCZ には影響しなかった。

このように、アゾール系抗真菌薬の標的酵素である CYP51と薬物との結合部位近傍のアミノ酸変異により耐性が誘導され、VRCZ 及び FLCZ にはないポサコナゾールの側鎖が、感受性に影響することが示唆された。

Confidential

表 2.6.2-38　　アゾール系抗真菌薬に対する耐性を誘導する *C. albicans* の CYP51 のアミノ酸変異

菌株		MIC 値（μg/mL）				CYP51のアミノ酸変異
		ポサコナゾール	VRCZ	ITCZ	FLCZ	
C43†		0.03	0.03	0.06	0.125	変異なし
患者1	C438	0.5	2	0.5	128	Y257H、G464S
	C439	1	16	4	>256	Y257H、G464S、G307S
	C440	4	>16.0	8	>256	Y257H、G464S、G307S、A61V
患者2	C369	0.25	4	1	32	K128T、Y132H、D278N、G464S
	C375	2	4	16	48	K128T、Y132H、D278N、G464S、P230L

†：CYP51に変異のない対照株
[資料4.2.1.1.25: D-46049]（参考資料）、572頁の TABLE 2を変更して示した。

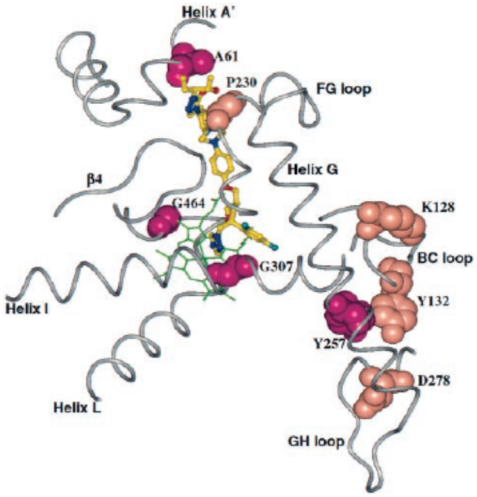


図 2.6.2-31　　*C. albicans* の CYP51 とポサコナゾールとの複合体の構造及び耐性変異を誘導するアミノ酸部位

アゾール系抗真菌薬に耐性を誘導する *C. albicans* 由来 CYP51のアミノ酸置換部位を示す。ポサコナゾールの炭素原子を黄色で、活性部位であるヘム補因子を緑色で示した。
[資料4.2.1.1.25: D-46049]（参考資料）、572頁の FIG. 6を変更して示した。

C Confidential

2.6.2.2.6.4　　薬剤排出ポンプの関与

真菌の抗真菌薬に対する耐性に関与することが知られている真菌の薬剤排出ポンプについて検討した。

方法

MIC の測定（酵母様真菌）: [2.6.2.2.1.1 項]（11頁）に示した CLSI の M27-A3法[資料4.3: PD2]と類似した M27-A 法[資料4.3: PD9]に基づき、検討した。

遺伝子欠損株の樹立：*C. glabrata* の各薬剤排出ポンプ遺伝子を欠損させ、選択マーカーを導入することにより、遺伝子欠損株を樹立した。

成績

成績を[表 2.6.2-39]に示す。*C. glabrata* の耐性遺伝子（*cdr1*、*cdr2*又は *mdr1*）を欠損させた菌株を用いて、ポサコナゾールに対する感受性を検討した。ATP-binding cassette（ABC）型排出ポンプである *cdr1*の欠損により、親株と比較して MIC 値の低下が認められた。一方、ABC 型薬剤排出ポンプである *cdr2*及びプロトンの濃度勾配で排出する major facilitator（MF）型薬剤排出ポンプである *mdr1*の欠失により、MIC 値に明らかな変化はみられなかった。このことから、ポサコナゾールの排出には CDR1が関与するが、CDR2及び MDR1は関与しないと考えられた。

表 2.6.2-39　　真菌の各種薬剤排出ポンプ遺伝子を欠損させた *C. glabrata* の抗真菌薬に対する感受性

菌株	親株	薬剤排出ポンプ遺伝子の欠損	ポサコナゾールの MIC 値（μg/mL）
DSY562（臨床分離株）		－	0.125
DSY565（臨床分離株）		－	1
DSY1041	DSY565	*cdr1*	0.125
DSY1612	DSY565	*cdr2*	1
DSY1613	DSY565	*cdr1*、*cdr2*	0.0155
DSY1056	DSY565	*cdr1*、*mdr1*	0.0625
DSY1746	DSY565	*cdr1*、*cdr2*、*mdr1*	0.0155
DSY1048（実験室株）		－	0.25
DSY1033	DSY1048	*cdr1*	0.004
DSY1075	DSY1048	*cdr1*、*mdr1*	<0.004

－：*cdr1*、*cdr2*及び *mdr1*の欠損はない。
[資料4.2.1.1.29: D-44473]（参考資料）、3頁の Table を変更して示した。

2.6.2.3　　副次的薬理試験

該当する試験を実施しなかった。

C Confidential

2.6.2.4　　安全性薬理試験

安全性薬理試験の項目及び成績の概要を、それぞれ[2.6.3.1 項]及び[2.6.3.4 項]に示す。

2.6.2.4.1　　中枢神経系

雄性ラットにポサコナゾール（30 mg/kg）を単回経口投与し、投与1、2及び4時間後に一般症状を Irwin の多次元観察法により評価した。その結果、ポサコナゾールの投与により、行動、神経学的又は自律神経系機能に明らかな影響は認められなかった[資料4.2.1.3.1: D-27192]。

2.6.2.4.2　　心血管系

2.6.2.4.2.1　　*In vitro*

In vitro での心室再分極に及ぼすポサコナゾールの影響を、遺伝子組換え型ヒト ether-á-go-go 関連遺伝子（hERG）電流[資料4.2.1.3.2: 45804]及び活動電位[資料4.2.1.3.3: SN [redacted]538]を測定することにより評価した。

hERG 電流測定試験：

ヒト心臓遅延整流カリウム電流（I_{Kr}）チャネルの α-サブユニット（hERG）を安定導入したマウス L-929細胞を用いて、ポサコナゾールの心室再分極に及ぼす影響を検討した[資料4.2.1.3.2: 45804]。その結果、ポサコナゾールの770 ng/mL（1.1 μM）の濃度で、hERG 電流は媒体対照群と比較して7%減少した。

活動電位測定試験：

イヌ心臓 Purkinje 線維の活動電位に及ぼす影響を検討した[資料4.2.1.3.3: SN [redacted]538]。その結果、ポサコナゾールは25 ng/mL（36 nM）、69 ng/mL（98 nM）及び365 ng/mL（521 nM）の濃度で、60%及び90%再分極までの活動電位持続時間（それぞれ APD_{60}及び APD_{90}）を軽度（10%未満）であるが、統計学的に有意に延長した。他の活動電位パラメータ（静止膜電位、最大脱分極速度及び0相の活動電位の振幅）には影響は認められなかった。

ポサコナゾールの1 μg/mL での蛋白結合率（98%）を考慮すると、この hERG 試験及び心筋の活動電位測定試験での最小作用濃度（それぞれ770及び25 ng/mL）は、日本人患者に、静注用溶液を1日目は1回300 mg を1日2回、その後は1日1回、反復静脈内投与した臨床試験で、投与開始8日目でのポサコナゾールの C_{max} の幾何平均値（12897 ng/mL）の、それぞれ3.0倍［770/(12897×0.02)］及び0.1倍［25/(12897×0.02)］に相当する（[資料5.3.3.5.1: 050M69]、106頁の Table 35、予防投与）。hERG 電流及び活動電位で認められた変化の大きさ、並びに無麻酔サルにポサコナゾールの40 mg/kg を静脈内投与した試験で QT 及び QTc 間隔に変化がみられなかったことから（[資料4.2.1.3.6: SN [redacted]383]、後述）、ポサコナゾールにより *in vivo* で QT 又は QTc 間隔の延長が誘発される可能性は低いことが示唆された。

C Confidential

2.6.2.4.2.2　*In vivo*

2.6.2.4.2.2.1　ラット

テレメトリー装置を装着した雄性ラットにポサコナゾールの30 mg/kg を単回経口投与し、投与2～8時間後の血圧（収縮期及び拡張期）、心拍数及び心電図（RR、PR、QRS、QT 及び QTc 間隔、並びに QRS 波高）を測定した[資料4.2.1.3.1: D-27192]。その結果、ポサコナゾールは血圧、心拍数及び心電図に影響を及ぼさなかった。

ラットでの反復投与毒性試験（[2.6.6.9.2.1 項]参照）で認められた心臓所見（心臓重量の増加、心筋炎及びそれに関連する病理組織学的変化）について、さらに調査するために、雄性ラットを用いてポサコナゾールの90 mg/kg を反復強制経口投与する1ヵ月間心血管系試験を実施した[資料4.2.1.3.4: SN[redacted]122]。本試験では、動脈圧（収縮期、拡張期及び平均）、心拍数、心エコー検査（心室中隔厚、左室心室内径、左室後壁自由壁厚、左室駆出時間、左室前駆出時間、1回拍出量等）、血漿量、血液生化学的検査、心重量、病理組織学的検査を含む各種検査を実施した。その結果、ポサコナゾールの投与26日後に、収縮期動脈圧（13～23 mmHg）及び平均動脈圧（10～19 mmHg）が上昇したが、心拍数には変化がなかった。ポサコナゾールの投与27日後に、収縮期心室内径の減少及び心収縮能の増加を示唆する左室内径短縮率の増加が認められた。しかしながら、1回拍出量の増加は伴わなかった。ポサコナゾールの投与により、その他の心エコー検査値には変化はみられなかった。また、ポサコナゾールの投与により、血漿総蛋白質及びアルブミンの減少が認められたが、血漿量には変化はなかった。試験期間中、血清クレアチニンキナーゼ及びトロポニン I に変化はなかった。心筋障害の指標である血清トロポニン T は軽度増加した。この所見は、投与4週間後にみられた発生率及び重症度は軽度である多巣性組織病理学的変化（混合細胞浸潤及び散発的な心筋細胞変性）と一致する。この試験では、心重量の有意な増加もみられた。

本試験での、ポサコナゾールによりラットで血圧が上昇した機序については不明である。この血圧の変化は、おそらく血管抵抗（後負荷）の増加によるものと推察される。しかしながら、これらの試験成績からは心筋に対する直接的な陽性変力作用の関与を除外することはできなかった。本試験では、ポサコナゾールによる心収縮能の低下、又は心代償不全を示唆する徴候はみられなかった。

ラットの反復投与毒性試験で認められている心重量の増加は、血圧の上昇により説明される。心拍出量の増加を維持するための慢性的な心仕事量の増加に対する代償性の変化として、心重量の増加は説明可能である。血管抵抗の増加により二次的に血圧が上昇するという解釈は、心筋重量の増加により裏付けられる。

また、ポサコナゾールを投与したラットでの心筋炎及びそれと関連した病理組織学的変化の増加も、血圧の上昇により説明される。ラットでは、心筋の病理組織学的変化、特に限局性の心筋炎は、媒体対照群に普通に認められる背景的所見であり、ポサコナゾールを投与した試験でも同様である。それらの変化の頻度及び重症度は加齢及び心仕事量が増加するような状態によっても増加する。これらの原因因子が非特異的であることから、ポサコナゾールを投与したラットでの

Confidential

心筋炎の発生率の増加がポサコナゾールの直接的な心毒性作用によるものではなく、心仕事量の増加の間接的な影響であると考えられる。なお、ラットで認められた上記心臓所見については、他の試験成績とともにその詳細な考察を[2.6.6.9.2.1 項]に記載した。

2.6.2.4.2.2.2　　サル

テレメトリー装置を装着した雄性サルを用いて、ポサコナゾールの静注用溶液を投与したときの心血管系パラメータを測定した。

第1の試験では、ポサコナゾールの7又は13 mg/kg/回を1日1回、7日間、1時間の持続点滴静注により反復投与した[資料4.2.1.3.5: SN [redacted]117]。媒体対照群には、薬物を含まない静注用媒体溶液を薬物投与群と同様に投与した。動脈圧、心拍数及び心電図を測定した。その結果、動脈圧（収縮期、拡張期及び平均）、心拍数、心電図（RR、PR、QRS 及び QT 間隔、波形、並びにリズム）に、薬物による影響は認められなかった。この試験では、7及び13 mg/kg の投与群での C_{max} は、それぞれ1550及び4000 ng/mL であった。

第2の試験では、ポサコナゾールの静注用懸濁液を40 mg/kg の用量で投与した[資料4.2.1.3.6: SN [redacted]383]。媒体対照群に5%ブドウ糖注射液を投与した。その結果、投与初日の静脈内投与中に、媒体対照群と比較して収縮期及び平均動脈圧の上昇（9～15 mmHg）が認められた（同資料162頁の Table 6-2及び164頁の Table 6-4）。Day 1の静脈内投与終了時には動脈圧の上昇はみられなかったが、翌日以降で測定を実施した Day 4及び7の投与3～8時間後（静注後 C_{max} を示す期間）に動脈圧の上昇が認められた。この収縮期及び平均動脈圧の上昇の範囲は、Day 4で11～19 mHg、Day 7で14～30 mmHg であった（同資料171～180頁の Table 6-11、13、15及び17）。この収縮期及び平均動脈圧の上昇は、薬物の7日間の静脈内投与後、それぞれ5及び3日間持続した。この作用の持続性は、ポサコナゾールの半減期が長いことによる血漿中薬物濃度が長時間持続することと関連していた。収縮期及び平均動脈圧の上昇が認められたときの血漿中薬物濃度は、7.85～18 µg/mL であった（同資料140頁の Table 2）。この血漿中薬物濃度は、臨床試験での C_{max} の幾何平均値（12897 ng/mL、[2.6.2.4.2.1 項]、81頁）の0.6～1.4倍に相当する。なお、試験期間を通じて心拍数、心電図（RR、PR、QRS、QT 及び QTc 間隔、波形、並びにリズム）に薬物の影響はみられなかった。

QT 又は QTc 間隔にポサコナゾールに関連する変化は認められなかったことから、安全性薬理試験の成績からはポサコナゾールは QT 又は QTc 間隔の延長作用を有する可能性は低いことが示唆された。

2.6.2.4.3　　呼吸系

無麻酔拘束雌雄ラットにポサコナゾールの静注用懸濁液の30又は60 mg/kg を単回急速静脈内投与し、呼吸機能をホールボディプレチスモグラフ法により測定した[資料4.2.1.3.7: SN [redacted]330]。その結果、媒体対照群と比較して呼吸数、1回換気量又は分時換気量にポサコナゾールに関連した変化は認められなかった。

Confidential

2.6.2.4.4　　腎/泌尿器系

腎機能の試験を3試験に分けて実施した[資料4.2.1.3.1: D-27192]。

第1の試験では、雄性ラットにポサコナゾールの30 mg/kg を単回経口投与し、投与直後に生理食塩液（1.5 mL/100 g 体重）を与え、投与0～5時間後の尿量、並びに尿中ナトリウム及びカリウム排泄量を測定した。その結果、ポサコナゾールの投与により、尿量が減少した。

第2の試験では、ポサコナゾールの3、10及び30 mg/kg を単回経口投与し、投与直後に生理食塩液（1.5 mL/100 g 体重）を与え、投与0～5時間後の尿量、並びに尿中ナトリウム及びカリウム排泄量を測定した。その結果、いずれの用量でも腎機能に影響は認められなかった。

第3の試験では、ポサコナゾールの30 mg/kg/回を1日1回、5日間反復経口投与した。各投与後0～6時間又は24時間蓄尿の尿量、並びに24時間蓄尿の尿中ナトリウム及びカリウム排泄量を測定した。その結果、Day 1、3及び4で、投与6時間後に尿量の減少が認められたが、24時間では有意ではなかった。Day 1、4及び5で、投与24時間後にナトリウム排泄の軽度な減少がみられたが、カリウム排泄には影響はみられなかった。

これらのことから、ポサコナゾールの30 mg/kg で投与5～6時間後に尿量及びナトリウム排泄が減少した。しかしながら、24時間の尿量には有意な影響は認められず、ナトリウム排泄の軽度な減少がみられた。3及び10 mg/kg の用量では、腎機能に影響はみられなかった。

2.6.2.4.5　　胃腸管系

2.6.2.4.5.1.1　　胃潰瘍形成能

36時間摂餌及び24時間摂水させなかった雄性ラットに、ポサコナゾールの30 mg/kg を単回経口投与し、4時間後に粘膜病変の個数及びその長さを測定した[資料4.2.1.3.1: D-27192]。その結果、ポサコナゾールの30 mg/kg の投与により胃潰瘍形成は認められなかった。

2.6.2.4.5.1.2　　胃内容排出能

24時間絶食させた雄性ラットに、ポサコナゾールの30 mg/kg を単回経口投与し、1時間後に試験食を経口投与し、30分後に胃内容重量を測定した[資料4.2.1.3.1: D-27192]。その結果、ポサコナゾールは胃内容排出能に影響を及ぼさなかった。

2.6.2.5　　薬力学的薬物相互作用試験

ポサコナゾールと他の抗真菌薬とを併用した際の、*in vitro* 及び *in vivo* での抗真菌作用について検討した成績を、[2.6.2.2.3 項]（58頁）に記載した。

Confidential

2.6.2.6　　考察及び結論

2.6.2.6.1　　国内外の臨床分離株のポサコナゾールに対する感受性の比較

深在性真菌症患者で分離される *Aspergillus* 属、*Fusarium* 属、ムーコル目、クロモブラストミコーシス及び菌腫の原因真菌、並びに酵母様真菌（*Candida* 属及び *Cr. neoformans*）について、国内外の臨床分離株のポサコナゾールに対する感受性に差がないか否かを確認した。

なお、比較に際して、用いられた *in vitro* での感受性試験方法の違いにより、MIC 値に影響がないかどうかを確認した。糸状菌及び酵母様真菌に対する抗真菌作用の検討に用いた CLSI の試験法の概略を[表 2.6.2-40]に示す。糸状菌及び酵母様真菌に対する試験方法のいずれも、改訂に際して培養方法（培地、媒体、接種菌量、培養温度・時間）に大きな変更はなかった。一方で、終末点の評価方法に変更が認められた。M38-P 法では FLCZ 及びケトコナゾール（KTCZ）以外の新規アゾール系抗真菌薬の終末点の評価方法が MIC-2から MIC-0に変更となり（いずれも[表 2.6.2-40]の脚注を参照）、その結果、概して MIC 値は高くなることが報告されている[資料4.3: PD20]。それ以外では、MIC 値に大きな差がないことが各改訂時に確認されている。また、各試験では特定の試験基準株を同時に試験して成績の一貫性を保証することから、M38-P 法以外のいずれかの CLSI 法で測定している場合は、得られた MIC 値は比較が可能と考えられた。

Confidential

表 2.6.2-40　糸状菌及び酵母様真菌に対する CLSI の感受性測定法の概要（アゾール系抗真菌薬）

試験法名 公表年	対象 真菌	試験方法	終末点の評価方法	備考
M38-P 11/1998 [資料 4 3: PD8]	糸状菌	マクロ液体希釈法及びミクロ液体希釈法 培地：RPMI-1640、0.165 M MOPS（pH 7.0） 媒体：KTCZ、ITCZ DMSO FLCZ 水 接種菌量：0.4×10^4～5×10^4 CFU/mL 培養：35℃で *Rhizopus* 属は 21-26 時間、多くの日和見糸状菌（*Fusarium* 属、*Aspergillus* 属、*Sporothrix schenckii* 等）は 46-50 時間、*Pseudallescheria boydii* は 70-74 時間	FLCZ、ITCZ、KTCZ、新規アゾール系：MIC-2	マクロ法とミクロ法で MIC は一致する[資料 4.3: PD8]
M38-A 8/2002 [資料 4 3: PD5]		媒体：KTCZ、ITCZ、PSCZ、RVCZ、VRCZ DMSO FLCZ 水	FLCZ、KTCZ：MIC-2 ITCZ、PSCZ、RVCZ、VRCZ：MIC-0	PSCZ 等では MIC-2 から MIC-0 への変更により MIC 値の増加傾向がみられた[資料 4.3: PD20]
M38-A2 4/2008 [資料 4 3: PD1]		培養：35℃で *Rhizopus* 属は 21-26 時間、多くの日和見糸状菌（*Fusarium* 属、*Aspergillus* 属、*Sporothrix schenckii* 等）は 46-50 時間、*Pseudallescheria boydii* は 70-74 時間、*Alternaria* 属の一部の種では 30℃の方が適切	FLCZ、KTCZ：MIC-2（皮膚糸状菌では MIC 80%） ITCZ、PSCZ、RVCZ、VRCZ：MIC-0（皮膚糸状菌では MIC 80%）	
M27-P 12/1992 [資料 4 3: PD21]	酵母様真菌	マクロ液体希釈法 培地：RPMI-1640、0.165 M MOPS（pH 7.0） 媒体：KTCZ DMSO FLCZ 水 接種菌量：0.5×10^3～2.5×10^3 cells/mL 培養：35℃で *Cr. neoformans* 以外は 46-50 時間、*Cr. neoformans* は 70-74 時間	アゾール系（FLCZ、KTCZ 等）：マクロ液体希釈法 MIC 80%	
M27-A 6/1997 [資料 4 3: PD9]		マクロ液体希釈法及びミクロ液体希釈法 媒体：KTCZ、ITCZ DMSO FLCZ 水	アゾール系（FLCZ、KTCZ、ITCZ 等）：マクロ液体希釈法 MIC 80%、ミクロ液体希釈法 MIC-2	マクロ法とミクロ法で MIC は一致する[資料 4.3: PD9]
M27-A2 8/2002 [資料 4 3: PD6]		媒体：KTCZ、ITCZ、PSCZ、RVCZ、VRCZ DMSO FLCZ 水 培養：35℃で *Cr. neoformans* 以外は 46-50 時間、*Cr. neoformans* は 70-74 時間、*Candida* 属では 24 時間でも測定（トレーリング発育株対応）		
M27-A3 4/2008 [資料 4 3: PD2]		培養：35℃で *Cr. neoformans* 以外は 24-48 時間（ミクロ液体希釈法では FLCZ は 24 及び 48、その他アゾール系は 48 時間）、*Cr. neoformans* は 70-74 時間	アゾール系：マクロ液体希釈法及びミクロ液体希釈法 MIC-2	マクロ法とミクロ法で MIC は一致する[資料 4.3: PD2]

下線部は変更箇所を示す。
A：approved standard、FLCZ：フルコナゾール、ITCZ：イトラコナゾール、KTCZ：ケトコナゾール、MIC-0：目視により100%の発育阻害がみられる最小濃度、MIC 80%：目視により80%以上の発育阻害がみられる最小濃度、MIC-2：目視により明らかな（50%以上の）発育阻害がみられる最小濃度、P：proposed standard、PSCZ：ポサコナゾール、RVCZ：ラブコナゾール、VRCZ：ボリコナゾール

ポサコナゾールに対する国内臨床分離株の感受性を海外臨床分離株と比較した。その成績を[表 2.6.2-41]に示す。比較が可能であった菌種については、海外の臨床分離株に対するポサコナゾールの MIC_{90}値又は10株未満の菌種に対する MIC の最高値は、国内の臨床分離株と比較して、*A. fumigatus*、*Rhizopus* 属、*Cladosporium* 属、*C. albicans*、*C. tropicalis*、*C. krusei* 及び *C. guilliermondii* で2管以上高値を示した。それ以外の菌種では施設間又は測定間誤差の範囲である1管以内の差であり[資料4.3: PD20]、ポサコナゾールに対する臨床分離株の感受性に国内及び海外で明らかな差は認められなかった。

C Confidential

表 2.6.2-41　国内外の臨床分離株のポサコナゾールに対する感受性

菌種	臨床分離株の由来	試験方法	MIC 数/株数†	MIC（μg/mL）		
				範囲	MIC_{50}	MIC_{90}
A. fumigatus	海外	M38-A（MIC-0）	1119	－	0.125	0.5
	国内	M38-A2（MIC-0）	25	0.06-0.12	0.06	0.12
A. flavus	海外	M38-A（MIC-0）	89	－	0.25	0.5
	国内	M38-A2（MIC-0）	10	0.25-0.5	0.25	0.5
A. niger	海外	M38-A（MIC-0）	101	－	0.25	0.5
	国内	M38-A2（MIC-0）	10	0.25-0.5	0.5	0.5
A. terreus	海外	M38-A（MIC-0）	22	－	0.25	0.25
	国内	M38-A2（MIC-0）	5	0.12-0.25	－	－
Fusarium 属	海外	M38-A（MIC-0）	67	－	16.0	32.0
	国内	M38-A2（MIC-0）	10	2->8	>8	>8
Mucor 属	海外	M38-A（MIC-0）	18	－	1.0	16.0
	国内	M38-A2（MIC-0）	10	0.25->8	1	8
Rhizopus 属	海外	M38-A（MIC-0）	32	－	1.0	8.0
	国内	M38-A2（MIC-0）	7	0.25-1	－	－
Cunninghamella 属	海外	M38-A（MIC-0）	6	0.031-1.0	－	－
	国内	M38-A2（MIC-0）	10	0.5-1	0.5	1
Rhizomucor 属	海外	M38-A（MIC-0）	3	0.016-0.25	－	－
	国内	M38-A2（MIC-0）	2	0.5	－	－
Lichtheimia 属	海外	M38-A（MIC-0）	16	－	0.125	0.25
	国内	M38-A2（MIC-0）	1	0.5	－	－
Fonsecaea 属	国内	M38-A2（MIC-0）	5	0.03-0.06	－	－
S. apiospermum（*P. boydii*）	海外	M38-A（MIC-0）	26	－	0.25	1.0
	国内	M38-A2（MIC-0）	10	0.5-2	1	2
Exophiala 属	海外	M38-A（MIC-0）	14	－	0.25	0.5
	国内	M38-A2（MIC-0）	10	0.008-0.25	0.06	0.25
Phialophora 属	国内	M38-A2（MIC-0）	4	0.03-0.25	－	－
Cladosporium 属	海外	M38-A（MIC-0）	11	－	0.063	16.0
	国内	M38-A2（MIC-0）	10	0.03-0.25	0.25	0.25
Cladophialophora 属	国内	M38-A2（MIC-0）	4	0.03-0.25	－	－
Alternaria 属	海外	M38-A（MIC-0）	13	－	0.125	0.25
	国内	M38-A2（MIC-0）	10	0.03-0.25	0.12	0.25
全ての二形性真菌	海外	M38-A（MIC-0）	151	－	0.063	0.25
C. albicans	海外	M27-A2（MIC-2）	3535	－	0.031	0.063
	国内	M27-A3（MIC-2）	25	0.004-0.015	0.008	0.015
C. glabrata	海外	M27-A2（MIC-2）	1218	－	1.0	2.0
	国内	M27-A3（MIC-2）	15	0.06-4	1	4
C. parapsilosis	海外	M27-A2（MIC-2）	970	－	0.063	0.25
	国内	M27-A3（MIC-2）	15	0.015-0.12	0.03	0.12
C. tropicalis	海外	M27-A2（MIC-2）	719	－	0.063	0.25
	国内	M27-A3（MIC-2）	15	0.004-0.06	0.03	0.06
C. krusei	海外	M27-A2（MIC-2）	189	－	0.5	1.0
	国内	M27-A3（MIC-2）	10	0.06-0.25	0.12	0.12
C. guilliermondii	海外	M27-A2（MIC-2）	26	－	0.25	1.0
	国内	M27-A3（MIC-2）	5	0.12	－	－
C. dubliniensis	海外	M27-A2（MIC-2）	164	－	0.031	0.125
Cr. neoformans‡	海外	M27-A2（MIC-2）	271	－	0.125	0.25
	国内	M27-A3（MIC-2）	10	0.06-0.12	0.12	0.12

記載箇所：[2.6.2.2.1.1 項]（11 頁）及び[2.6.2.2.1.2 項]（17 頁）
†：海外臨床分離株では MIC 数、国内臨床分離株では株数を示す。
‡：海外臨床分離株には *Cr. laurentii* を含む。

C Confidential

2.6.2.6.2　*In vitro* でのポサコナゾールの作用濃度及び類薬との抗真菌作用の比較

国内外の臨床分離株に対するポサコナゾールの作用濃度を [表 2.6.2-41]に示す。

糸状菌については、*Fusarium* 属、*Mucor* 属、*Rhizopus* 属、*S. apiospermum* 及び *Cladosporium* 属に対するポサコナゾールの MIC_{90}値は、2～32 μg/mL と比較的高値を示したが、それ以外の *Aspergillus* 属、ムーコル目、クロモブラストミコーシス及び菌腫の原因真菌、並びに二形性真菌に対するポサコナゾールの MIC_{90}値又は10株未満の菌種に対する MIC の最高値は、0.06～1 μg/mL であった。

酵母様真菌については、FLCZ 等のアゾール系抗真菌薬に一次耐性を示す *C. glabrata* に対するポサコナゾールの MIC_{90}値は2～4 μg/mL であり、それ以外の *Candida* 属及び *Cr. neoformans* に対するポサコナゾールの MIC_{90}値は、0.015～1 μg/mL であった。

日本人患者に、新錠剤を1日目は1回300 mg を1日2回、その後は1日1回、反復経口投与した臨床試験での、投与開始28日目のポサコナゾールの最低血漿中薬物濃度（C_{min}）及び平均血漿中薬物濃度（C_{avg}）の幾何平均値は、それぞれ1.299 μg/mL 及び1.707 μg/mL であった（[資料5.3.3.5.1: 050M69]、106頁の Table 35、予防投与の空腹時）。上記の一部の希少真菌及びアゾール系抗真菌薬に一次耐性を示す菌種では、ポサコナゾールの MIC 値は高値を示したが、それ以外の菌種に対しては、ポサコナゾールの MIC_{90}値又は10株未満の菌種に対する MIC の最高値は1 μg/mL 以下であり、ポサコナゾールを推奨臨床用法・用量で投与したときの C_{min} 又は C_{avg} 値よりも低かった。なお、ヒト血清中蛋白質濃度に相当する4%の BSA の添加により、ポサコナゾールの MIC 値が16倍に上昇した[2.6.2.2.1.6 項]（28頁）。また、ポサコナゾールの *Aspergillus* 属及び *Candida* 属に対する MIC 値と感染動物モデルでの治療効果に明らかな相関性は認められなかった[2.6.2.2.2.1.1.1 項]（29頁）、[2.6.2.2.2.6.1.1 項]（51頁）。これらのことから、*in vitro* で測定された MIC 値をそのまま臨床での抗真菌作用に外挿することが出来るかどうかは不明であり、CLSI 法でのポサコナゾールの臨床ブレイクポイント値の算出が待たれる。

なお、ポサコナゾールに対する真菌の耐性変異の有無を区分する epidemiological cutoff values（ECV）が、*Aspergillus* 属、*Fusarium* 属、*Candida* 属及び *Cr. neoformans* について算出されている [表 2.6.2-42]。国内の臨床分離株に対するポサコナゾールの MIC 値は、*A. flavus*、*Fusarium* 属及び *C. glabrata* で ECV を1管超えていたことから、それらの菌種にはポサコナゾールに対する耐性変異を有する株が一部含まれていると考えられた。しかしながら、それ以外の菌種では、ポサコナゾールの MIC 値は、いずれも ECV 以下であった。

C Confidential

表 2.6.2-42　国内臨床分離株に対するポサコナゾールの MIC 値及び ECV

菌種	株数	MIC 値の範囲（μg/mL）	ECV（μg/mL）	記載箇所
Aspergillus 属				[資料4.3: PD22]
A. fumigatus	25	0.06-0.12	0.5	
A. flavus	10	0.25-0.5	0.25	
A. niger	10	0.25-0.5	0.5	
A. terreus	5	0.12-0.25	0.5	
Fusarium 属	10	2->8		[資料4.3: PD23]
F. solani	－	－	32	
F. oxysporum	－	－	8	
Candida 属				[資料4.3: PD24]
C. albicans	25	0.004-0.015	0.06	
C. glabrata	15	0.06-4	1	
C. parapsilosis	15	0.015-0.12	0.25	
C. tropicalis	15	0.004-0.06	0.12	
C. krusei	10	0.06-0.25	0.5	
C. guilliermondii	5	0.12	0.5	
Cr. neoformans	10	0.06-0.12	0.25	[資料4.3: PD25]
ECV：epidemiological cutoff values、MIC：最小発育阻止濃度				

ポサコナゾールの国内臨床分離株に対する抗真菌作用を GM MIC 値に基づき、他の抗真菌薬と比較した[表 2.6.2-43]。なお、二形性真菌については、二次感染の危険性が高いため、国内の微生物検査施設での実施が困難であったことから、海外の臨床分離株の成績を参照した。

Aspergillus 属に対するポサコナゾールの GM MIC 値は、菌種により0.085～0.38 μg/mL と差が認められたが、いずれの菌種でも他のアゾール系抗真菌薬、AMPH-B 及び5-FC と比較して、同等又は低値を示した。一方で、ポサコナゾールの GM MIC 値はキャンディン系抗真菌薬である CPFG とはほぼ同等であったが、MCFG よりも高値を示した。

Fusarium 属に対するポサコナゾールの GM MIC 値は、AMPH-B を除く他の抗真菌薬と同様に高値を示した。

ムーコル目の各菌種に対しては、ポサコナゾールの GM MIC 値は ITCZ 及び AMPH-B とほぼ同等か低値を示した。その他の抗真菌薬はムーコル目の菌種に対して明らかな抗真菌作用を示さなかった。

クロモブラストミコーシス及び菌腫の各種原因真菌に対するポサコナゾールの GM MIC 値には、菌種により大きな差が認められた。ポサコナゾールの GM MIC 値は VRCZ 又は ITCZ と比較して同等か、低値を示し、AMPH-B よりも低値を示した。これらの菌種に対しては、キャンディン系抗真菌薬は抗真菌作用を示した。

二形性真菌に対するポサコナゾールの MIC_{90}値は0.016～1.0 μg/mL であり、ITCZ と比較してほぼ同等の値を示し、AMPH-B とほぼ同等か低い値を示した[2.6.2.2.1.2 項]（17頁）。

酵母様真菌（*Candida* 属及び *Cr. neoformans*）に対しては、アゾール系抗真菌薬が一次耐性を示す *C. glabrata* を除き、ポサコナゾールの GM MIC 値は0.010～0.12 μg/mL の範囲の値を示し、FLCZ を除くアゾール系抗真菌薬とほぼ同等の値を示し、AMPH-B と比較して低値を示した。キャンディン系抗真菌薬は *Cr. neoformans* に対して明らかな抗真菌作用を示さなかったが、*Candida* 属に対する MIC 値は小さかった。

Confidential

このように、ポサコナゾールは *Aspergillus* 属、ムーコル目、クロモブラストミコーシス及び菌腫の原因真菌、二形性真菌、*Candida* 属等の酵母様真菌に対して、他のアゾール系抗真菌薬又はAMPH-B とほぼ同等か優れた抗真菌作用を示した。

表 2.6.2-43　国内臨床分離株に対する抗真菌薬の抗真菌作用の比較

菌種	株数	GM MIC/MEC 値（μg/mL）							
		PSCZ	VRCZ	ITCZ	FLCZ	AMPH-B	CPFG	MCFG	5-FC
Aspergillus 属									
A. fumigatus	25	0.085	0.34	0.29	>64	0.33	0.18	0.0045	>64
A. flavus	10	0.29	0.76	0.50	>64	0.93	0.22	0.0063	30
A. niger	10	0.38	1.1	1.4	>64	0.44	0.22	0.0032	2.8
A. terreus	5	0.14	0.29	0.29	56	1.1	0.25	0.0039	3.5
Fusarium 属	10	>8	8.0	>8	>64	3.0	>16	>16	>64
ムーコル目									
Mucor 属	10	2.1	>8	6.5	>64	0.33	>16	>16	>64
Rhizopus 属	7	0.45	>8	0.61	>64	0.45	>16	>16	>64
Cunninghamella 属	10	0.57	>8	2.8	>64	4.3	>16	>16	>64
Rhizomucor 属	2	0.50	>8	0.71	>64	1.0	>16	>16	>64
Lichtheimia 属	1	0.5	>8	1	>64	1	>16	>16	>64
クロモブラストミコーシス及び菌腫の原因真菌									
Fonsecaea 属	5	0.036	0.063	0.14	18	2.0	2.3	1.1	14
S. apiospermum	10	1.2	0.71	4.9	>64	11	0.93	0.11	>64
Exophiala 属	10	0.063	0.12	0.19	16	0.81	1.1	0.23	32
Phialophora 属	4	0.0053	0.15	0.25	32	2.0	0.84	0.063	27
Cladosporium 属	10	0.16	1.1	0.33	>64	2.1	0.87	0.058	7.5
Cladophialophora 属	4	0.0063	0.25	0.25	54	2.0	0.59	0.037	>64
Alternaria 属	10	0.13	1.1	0.27	42	0.50	0.29	0.027	>64
Candida 属									
C. albicans	25	0.010	0.0074	0.020	0.21	0.41	0.18	0.0050	0.14
C. glabrata	15	0.91	0.48	1.1	18	0.66	0.33	0.0082	0.13
C. parapsilosis	15	0.031	0.016	0.045	0.42	0.76	1.1	0.55	0.16
C. tropicalis	15	0.026	0.026	0.063	0.42	0.57	0.21	0.0098	0.13
C. krusei	10	0.12	0.13	0.22	20	1.0	1.1	0.063	9.8
C. guilliermondii	5	0.13	0.072	0.38	3.0	0.38	1.0	0.19	0.16
Cr. neoformans	10	0.10	0.095	0.16	3.0	0.44	16	>16	4.3

記載箇所：[2.6.2.2.1.1 項]（11頁）
AMPH-B：アムホテリシン B、CPFG：カスポファンギン、5-FC：フルシトシン、FLCZ：フルコナゾール、GM：幾何平均、ITCZ：イトラコナゾール、MCFG：ミカファンギン、MEC：最小作用濃度、MIC：最小発育阻止濃度、PSCZ：ポサコナゾール、VRCZ：ボリコナゾール

2.6.2.6.3　感染動物モデルでのポサコナゾールの作用用量及び類薬との抗真菌作用の比較

肺及び播種性アスペルギルス症、播種性フサリウム症、播種性ムーコル症、クロモブラストミコーシス及び菌腫の原因真菌による真菌感染症､播種性コクシジオイデス症､播種性カンジダ症、並びに肺クリプトコックス症に対する各種感染動物モデルでの抗真菌薬の反復投与時の作用用量（最小作用量又は ED_{50}値）を[表 2.6.2-44]に示す。

それら感染動物モデルでのポサコナゾールの反復経口投与時の作用用量は、免疫抑制モルモットの肺アスペルギルス症モデルでの成績を除くと、0.01～36 mg/kg/日であった（1用量での検討の

Confidential

結果を除く）。維持用量での臨床推奨用法・用量が300 mg/kg/回の1日1回投与であることから、体重を50 kg と仮定すると、推奨用量は6 mg/kg/回に相当する。このことから、疾患動物モデルでの作用用量は、臨床推奨用量の0.3～6倍に相当し、大きく解離していなかった。なお、免疫抑制モルモットの肺アスペルギルス症モデルでは、ポサコナゾール及び VRCZ の ED_{50}値は、それぞれ70及び2300 mg/kg/日と高値を示したが、この理由は不明である。

ポサコナゾールの予防及び治療投与で、作用用量に大きな違いは認められなかった。一方で、免疫抑制動物でのポサコナゾールの作用用量は、免疫正常動物と比較すると高値を示したことから、病原真菌の排除には宿主の免疫状態が関与することが推察された。

ポサコナゾールの作用用量は、ITCZ の30～>100 mg/kg/日と比較して同等か小さかった。ITCZ の臨床用法・用量が100又は200 mg/回、1日1又は2回であることを考慮すると、ポサコナゾールは ITCZ と少なくとも同等の抗真菌作用を示すものと考えられた。また、臨床で1日用量として0.25～1 mg/kg を点滴静注される AMPH-B では、その作用用量はアスペルギルス症等の糸状菌による感染動物モデルの多くで1 mg/kg/日であり、臨床用量とほぼ同等であった。一方で、各種カンジダ症モデルでは、AMPH-B の作用用量は1.7～9.0 mg/kg/日であり、糸状菌による感染動物モデルと比較して高かった。

Fusarium 属の国内外の臨床分離株に対するポサコナゾールの MIC 値は、他のアゾール系抗真菌薬と同様に他の菌種と比較して高値を示していた。一方で、*F. solani*（ポサコナゾールの MIC 値は4.0 µg/mL）による播種性フサリウム症モデルでは、ポサコナゾールの作用用量は10 mg/kg/日であることから、推奨臨床用量である6 mg/kg/日と大きく異ならなかった。

Confidential

表 2.6.2-44　感染動物モデルでの抗真菌薬の反復投与時の作用用量

感染症	動物	用法	投与時期	評価方法	作用用量（mg/kg/日）				記載箇所
					PSCZ	VRCZ	ITCZ	AMPH-B	
アスペルギルス症									
肺アスペルギルス症	免疫抑制マウス	1日1回、4日間	治療	生存率（ED_{50}値）	4～36	－	>100†	>2.5～>5.0（皮下）	[2.6.2.2.2.1 1 1 項]、29頁
	免疫抑制マウス	1日1回、4日間	予防	生存率	5（静脈内）	－	－	－	[2.6.2.2.2.1 1 2 2 項]、32頁
				腎臓内生菌数	5（静脈内）	－	－	－	
	免疫抑制マウス	1日1～3回、4日間	治療	1日投与回数生存率	2.5	－	>100	－	[2.6.2.2.2.1 1 3 項]、34頁
	免疫抑制マウス	1日1回、4、10日間	治療	投与期間生存率	5†	－	－	－	[2.6.2.2.2.1 1.4 項]、35頁
	免疫抑制マウス	1日1回、4日間	治療	遅延投与生存率	40†	－	－	－	[2.6.2.2.2.1 1 5 項]、36頁
	免疫抑制モルモット	1日1又　は2回、4日間	治療	生存率（ED_{50}値）	70	2300	－	－	[2.6.2.2.2.1 2 項]、37頁
播種性アスペルギルス症	免疫正常マウス	1日1回、4日間	治療	生存率	0.625	－	100†	－	[2.6.2.2.2.1 3 項]、38頁
	免疫抑制モルモット	1日1又　は2回、4日間	治療	生存率（ED_{50}値）	3	110	－	－	[2.6.2.2.2.1.4項]、39頁
播種性フサリウム症	免疫正常マウス	1日1回、4又は13日間	治療	生存期間	10	－	－	1†（腹腔内）	[2.6.2.2.2.2 項]、40頁
				腎及び肝臓内生菌数	10	－	－	1†（腹腔内）	
播種性ムーコル症	免疫抑制マウス	1日1～3回、7日間	治療	生存期間	30	－	>90†	1†（腹腔内）	[2.6.2.2.2.3 項]、41頁
				腎臓内生菌数	30	－	>90†	1†（腹腔内）	
クロモブラストミコーシス及び菌腫									
F. pedrosoi による深部皮膚真菌感染症	免疫抑制マウス	1日1回、4ヵ月間	治療	皮膚病変面積	20	>20	50	－	[2.6.2.2.2.4 1 項]、43頁
				皮膚病変内生菌数の陽性率	20	>20	>50	－	
E. dermatitidis による播種性真菌感染症	免疫正常マウス	1日1回、7日間	治療	生存期間	2.5	－	－	－	[2.6.2.2.2.4 2 項]、44頁
	免疫抑制マウス	1日1回、7日間	治療	生存期間	2.5	－	－	－	
播種性シュードアレシェリア症	免疫抑制マウス	1日1～3回、10日間	治療	生存率	30	－	>90†	－	[2.6.2.2.2.4 3 項]、46頁
				脾臓、腎臓及び脳内生菌数	10	－	90†	－	
播種性コクシジオイデス症	免疫正常マウス	1日1又　は3回、21日間	治療	生存率	0.01	－	30	－	[2.6.2.2.2.5 項]、48頁
				脾臓、肝臓及び肺内生菌数	0.1	－	30	－	

†：1用量での検討
作用用量として、各試験での最小作用量又は ED_{50}値を示した。なお、単回投与の試験は表に記載しなかった。
特に記載のない場合は経口投与した。
AMPH-B：アムホテリシン B、ED_{50}：50%有効用量、ITCZ：イトラコナゾール、PSCZ：ポサコナゾール、VRCZ：ボリコナゾール

C Confidential

表 2.6.2-44 感染動物モデルでの抗真菌薬の反復投与時の作用用量（続き）

感染症	動物	用法	投与時期	評価方法	作用用量（mg/kg/日）				記載箇所
					PSCZ	VRCZ	ITCZ	AMPH-B	
播種性カンジダ症	免疫正常マウス	1日1回、3日間	治療	生存率（ED_{50}値）	0.02～0.6	－	－	3.0～9.0（皮下）	[2.6.2.2.2.6.1.1 項]、51頁
	免疫抑制マウス	1日1回、3日間	治療	生存率（ED_{50}値）	0.20～8.0	－	－	1.7（皮下）	
	免疫正常モルモット	1日1又　は2回、3日間	治療	生存率（ED_{50}値）	0 17	5.6	－	－	[2.6.2.2.2.6.2 項]、55頁
	免疫抑制モルモット	1日1又　は2回、4日間	治療	生存率（ED_{50}値）	30	710	－	－	
肺クリプトコックス症	免疫正常マウス	1日1回、7日間	治療	生存率	10†	－	－	－	[2.6.2.2.2.7 項]、56頁
				肺及び脳内生菌数	10†	－	－	－	

†：1用量での検討
作用用量として、各試験での最小作用量又は ED_{50}値を示した。なお、単回投与の試験は表に記載しなかった。
特に記載のない場合は経口投与した。
AMPH-B：アムホテリシン B、ED_{50}：50%有効用量、ITCZ：イトラコナゾール、PSCZ：ポサコナゾール、VRCZ：ボリコナゾール

2.6.2.6.4　　作用機序について

既存のアゾール系抗真菌薬の標的酵素はラノステロール14α-脱メチル酵素（CYP51）であり、アゾール基の窒素原子がヘム蛋白質にある鉄原子に結合することにより、ラノステロールのC-14α 位の脱メチル反応が阻害され、エルゴステロールの生合成が抑制される[資料4.3: PD26] [資料4.3: PD27] [資料4.3: PD28]。エルゴステロールは真菌の細胞膜に存在する主要なステロールであり、細胞膜の安定性及び細胞膜に存在する各種酵素の機能の発現に関与している。アゾール系抗真菌薬は、エルゴステロールの生合成を阻害することにより抗真菌作用を示すと考えられている。ポサコナゾールは *C. albicans* のエルゴステロールの量を低下させ、合成中間体（エブリコール及びオブツシフォリオール等）の蓄積を誘導した[2.6.2.2.5.1 項]（69頁）。また、ポサコナゾールを含むアゾール系抗真菌薬は *A. fumigatus* 及び *Candida* 属のエルゴステロールの生合成を阻害し、その阻害作用の IC_{50}値と抗真菌作用の MIC 値に相関傾向が認められた。これらのことから、ポサコナゾールの抗真菌作用の標的分子も他のアゾール系抗真菌薬と同様に CYP51であると考えられる。

アゾール系抗真菌薬は、構造上側鎖を有し、分子が大きいポサコナゾール及び ITCZ、並びに側鎖のない VRCZ 及び FLCZ に分けられる[図 2.6.2-32]。*A. fumigatus* 及び *C. albicans* 由来 CYP51蛋白質とポサコナゾール又は VRCZ との複合体の立体構造から、CYP51のヘム結合部位の近傍にはポサコナゾールと相互作用する部位が存在し、また、ポサコナゾールの側鎖と相互作用する別の部位が認められた[2.6.2.2.5.2 項]（71頁）。一方で、VRCZ は側鎖を有さないため、CYP51のヘム近傍とのみ相互作用すると考えられる。

C Confidential

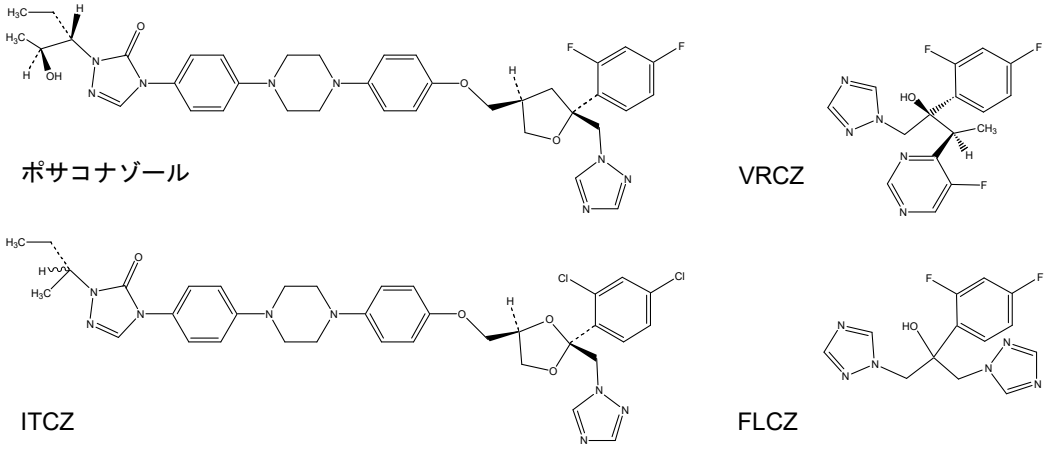


図 2.6.2-32　　アゾール系抗真菌薬の構造

2.6.2.6.5　　耐性機序について

A. fumigatus をポサコナゾールとともに、継代培養することにより、ポサコナゾールに対して感受性の低下が認められる耐性変異株が、1×10^{8}～1×10^{9}個あたり1個の頻度で出現した[2.6.2.2.6.1 項]（73頁）。それら耐性変異株には、ポサコナゾールの標的分子である CYP51A の54番目のアミノ酸に変異が認められたが、CYP51B には耐性変異は認められなかった。また、野生株と比較して *cyp51A*、*cyp51B*、*mdr1*及び *mdr2*の mRNA の発現量、並びに真菌細胞へのポサコナゾールの取り込み量には変化はみられなかった。*C. albicans* を FLCZ とともに、種々の条件下で継代培養することにより、FLCZ に対して感受性の低下を示す耐性株が認められたが、ポサコナゾールに対する耐性株は出現しなかった。*A. fumigatus* と異なり、*in vitro* でのポサコナゾールの曝露により、*C. albicans* で耐性株が誘導されなかった理由は不明である。

In vitro とは異なり、ポサコナゾールを含む抗真菌薬を OPC の患者に長期投与することにより、アゾール系抗真菌薬に耐性を示す *C. albicans* の臨床分離株が経時的に分離された[2.6.2.2.6.2 項]（75頁）。それらの耐性株には、真菌の薬剤排出ポンプ（*cdr1*、*cdr2*、及び *mdr1*）、並びに *cyp51* の発現量には明らかな変化はなかったが、CYP51にポサコナゾールに対する耐性に関与すると考えられるアミノ酸変異が認められた。国内でも、肺アスペルギルス症又はアスペルギローマ患者での ITCZ の長期投与により、ポサコナゾール及び ITCZ に耐性を示すが、VRCZ に感受性の *A. fumigatus* が分離され、それらは CYP51A の54番目のアミノ酸に3種類の変異（G54E/R/W）が認められた[資料4.3: PD29]。

約2000年以降、欧州を中心にポサコナゾールを含むアゾール系抗真菌薬に耐性を示す *A. fumigatus* の臨床分離株の増加が報告されている[資料4.3: PD30] [資料4.3: PD31] [資料4.3: PD32]。その臨床分離株の耐性機序は、CYP51A の特定の98番アミノ酸の置換及びプロモーター領域の短反復配列の併存（TR/L98H）である。この原因として、アゾール系の農薬の使用により、環境中で特定の変異を持つ多剤耐性の *A. fumigatus* が増加し、伝播したものと考えられている[資料4.3: PD33]。2016年に日本で、この耐性変異を有する *A. fumigatus* の分離株が2株分離されている（キ

C Confidential

ーワード及び検索条件を「TR34」OR「L98H」として、医学中央雑誌刊行会にて文献検索を実施した。2018年1月22日時点で3件)。そのうちの1株は北海道の帯広の病院でアゾール系抗真菌薬未投与の患者から[資料4.3: PD34]、もう1株は同地域の環境大気中からサンプリングされた[資料4.3: PD35]。コロニーの形状及びゲノムの配列解析から、両株の由来は同じと考えられている。

A. fumigatus 及び *C. albicans* の CYP51とアゾール系抗真菌薬との複合体の結合部位の立体構造から、CYP51のアミノ酸変異の位置により、アゾール系抗真菌薬に対する感受性が影響を受ける可能性が示された[2.6.2.2.6.3項]（77頁)。ポサコナゾール及び ITCZ の側鎖と結合する部分の変異としては、G54、A61及び P230に認められた。それらの変異によりポサコナゾール及び ITCZ に対する感受性が低下したが、側鎖のない VRCZ 及び FLCZ に対する感受性には影響はなかった。また、ヘムの近傍では G138、G307、G448及び G464に認められたが、これらの変異により、いずれの薬物に対しても感受性が低下した。なお、ポサコナゾール及び ITCZ の感受性の低下は、VRCZ 及び FLCZ と比較して限定的であったが、これは側鎖部分と CYP51の相互作用が影響しているものと考えられた。このように、CYP51の変異箇所の違いにより、それぞれ構造の異なるアゾール系抗真菌薬に対する感受性が影響を受けることが示唆された。

ポサコナゾールは真菌の薬剤排出ポンプである CDR1の基質であるが、CDR2及び MDR1により排出されないことが示唆された[2.6.2.2.6.4 項]（80頁)。また、上記に記載したとおり、実験室で誘導したポサコナゾールに低感受性を示す *A. fumigatus* では、*cyp51A*、*cyp51B*、*mdr1*及び *mdr2*の発現量、並びに真菌細胞内のポサコナゾール量には変化はみられなかった[2.6.2.2.6.1 項] (73頁)。さらに、ポサコナゾールを含む抗真菌薬の長期投与により経時的に分離された *C. albicans* の7株では、CYP51のアミノ酸変異を有し、ポサコナゾールに対して低感受性を示すが、薬剤排出ポンプである *cdr1*、*cdr2*及び *mdr1*、並びに *cyp51*の mRNA 発現量に明らかな影響は認められなかった[2.6.2.2.6.2項]（75頁)。

これらのことから、ポサコナゾールの耐性機序としては、標的酵素である CYP51の変異が主に関与しているものと考えられた。

抗真菌薬の作用機序及び耐性発現に関連する主な機序を[表 2.6.2-45]に示す。ポサコナゾールと作用機序が異なる AMPH-B とは、両薬物の間で交差耐性は認められなかった[2.6.2.2.1.3 項]（20頁)。一方で、作用機序が同じ各アゾール系抗真菌薬の薬物間では、交差耐性が認められた。なお、5-FC 又はキャンディン系については、ポサコナゾールと作用機序が異なることから、それらの薬物とは作用機序に基づく交差耐性はないものと考えられる。

C Confidential

表 2.6.2-45　抗真菌薬の作用機序及び耐性機序

抗菌薬	作用機序	耐性機序
アゾール系 ポサコナゾール、 VRCZ、ITCZ、FLCZ	CYP51の阻害によりエルゴステロールの生合成を抑制し、細胞膜の脆弱性及び膜蛋白質の機能の低下を誘導する	CYP51の変異 CYP51の発現上昇 真菌の薬剤排出ポンプ（CDR 等）の発現上昇による薬物濃度の低下
ポリエン系 AMPH-B	細胞膜のエルゴステロールと結合し、細胞膜に小孔を形成することにより、細胞膜の透過性を亢進させる 細胞膜に対する酸化的傷害の誘導	細胞膜エルゴステロール含量の低下によるエルゴステロールとの結合量の低下 エルゴステロール以外の AMPH-B 低親和性ステロールの蓄積 カタラーゼ活性上昇による酸化的傷害の低下
フルオロピリミジン系 5-FC	RNA 及び DNA 合成の阻害	薬物の細胞内への取り込み及び変換経路に関与する各種酵素（シトシン透過酵素、シトシン脱アミノ酵素、ホスホリボシルトランスフェラーゼ）の欠損又は変異
キャンディン系 CPFG、MCFG	細胞壁 β-(1,3)-D-グルカン合成酵素の阻害により、細胞壁の脆弱性を誘導する	β-(1,3)-D-グルカン合成酵素の構成要素である FKS1の変異 真菌の薬剤排出ポンプ（CDR1、CDR2）の過剰発現による薬物の排出
[資料4.3: PD36]、454頁の Table 1を変更して示した。 5-FC：フルシトシン、AMPH-B：アムホテリシン B、CDR：Candida drug resistance、CPFG：カスポファンギン、FLCZ：フルコナゾール、ITCZ：イトラコナゾール、MCFG：ミカファンギン、VRCZ：ボリコナゾール		

2.6.2.7　図表

図及び表を本文中の該当箇所に挿入した。

2.6.2.8　参考文献

添付資料番号	タイトル	著者	掲載紙
[資料4.3: PD1]	CLSI. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi; approved standard-second edition.	Rex JH, Alexander BD, Andes D, et al.	CLSI document M38-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
[資料4.3: PD2]	CLSI. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; approved standard-third edition.	Rex JH, Alexander BD, Andes D, et al.	CLSI document M27-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
[資料4.3: PD3]	Resistance of *Candida* species to fluconazole.	Rex JH, Rinaldi MG, Pfaller MA.	Antimicrob Agents Chemother. 1995; 39: 1-8.
[資料4.3: PD4]	Clinical, cellular, and molecular factors that contribute to antifungal drug resistance.	White TC, Marr KA, Bowden RA.	Clin Microbiol Rev. 1998; 11: 382-402.

C Confidential

添付資料番号	タイトル	著者	掲載紙
[資料4.3: PD5]	NCCLS. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi; approved standard.	Pfaller MA, Chaturvedi V, Espinel-Ingroff A, et al.	NCCLS document M38-A. Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards; 2002.
[資料4.3: PD6]	NCCLS. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; approved standard-second edition.	Pfaller MA, Chaturvedi V, Espinel-Ingroff A, et al.	NCCLS document M27-A2. Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards; 2002.
[資料4.3: PD7]	Antifungal drug resistance of pathogenic fungi.	Kontoyiannis DP, Lewis RE.	Lancet. 2002; 359: 1135-44.
[資料4.3: PD8]	NCCLS. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of conidium-forming filamentous fungi; proposed standard.	Pfaller MA, Bartlett MS, Espinel-Ingroff A, et al.	NCCLS document M38-P. Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards; 1998.
[資料4.3: PD9]	NCCLS. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; approved standard.	Galgiani JN, Bartlett MS, Ghannoum MA, et al.	NCCLS document M27-A. Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards; 1997.
[資料4.3: PD10]	Invasive aspergillosis in patients with AIDS.	Khoo SH, Denning DW.	Clin Infect Dis. 1994; 19: S41-8.
[資料4.3: PD11]	病原黒色真菌 *Exophiala jeanselmei* の分子生物学的同定について.	河崎昌子.	金医大誌. 2005; 30: 334-9.
[資料4.3: PD12]	Characterization and quantitation of the pharmacodynamics of fluconazole in a neutropenic murine disseminated candidiasis infection model.	Andes D, van Ogtrop M.	Antimicrob Agents Chemother. 1999; 43: 2116-20.
[資料4.3: PD13]	Pharmacodynamics of fluconazole in a murine model of systemic candidiasis.	Louie A, Drusano GL, Banerjee P, et al.	Antimicrob Agents Chemother. 1998; 42: 1105-9.
[資料4.3: PD14]	In vivo pharmacodynamics of a new triazole, ravuconazole, in a murine candidiasis model.	Andes D, Marchillo K, Stamstad T, et al.	Antimicrob Agents Chemother. 2003; 47: 1193-9.
[資料4.3: PD15]	*Candida albicans* mutations in the ergosterol biosynthetic pathway and resistance to several antifungal agents.	Sanglard D, Ischer F, Parkinson T, et al.	Antimicrob Agents Chemother. 2003; 47: 2404-12.
[資料4.3: PD16]	Identification of two different 14-α sterol demethylase-related genes (*cyp51A* and *cyp51B*) in *Aspergillus fumigatus* and other *Aspergillus* species.	Mellado E, Diaz-Guerra TM, Cuenca-Estrella M, et al.	J Clin Microbiol. 2001; 39: 2431-8.

Confidential

添付資料番号	タイトル	著者	掲載紙
[資料4.3: PD17]	Prevalence of molecular mechanisms of resistance to azole antifungal agents in *Candida albicans* strains displaying high-level fluconazole resistance isolated from human immunodeficiency virus-infected patients.	Perea S, López-Ribot JL, Kirkpatrick WR, et al.	Antimicrob Agents Chemother. 2001; 45: 2676-84.
[資料4.3: PD18]	Amino acid substitutions in the cytochrome P-450 lanosterol 14α-demethylase (CYP51A1) from azole-resistant *Candida albicans* clinical isolates contribute to resistance to azole antifungal agents.	Sanglard D, Ischer F, Koymans L, et al.	Antimicrob Agents Chemother. 1998; 42: 241-53.
[資料4.3: PD19]	Resistance mechanisms in clinical isolates of *Candida albicans*.	White TC, Holleman S, Dy F, et al.	Antimicrob Agents Chemother. 2002; 46: 1704-13.
[資料4.3: PD20]	Optimal susceptibility testing conditions for detection of azole resistance in *Aspergillus* spp.: NCCLS collaborative evaluation.	Espinel-Ingroff A, Bartlett M, Chaturvedi V, et al.	Antimicrob Agents Chemother. 2001; 45: 1828-35.
[資料4.3: PD21]	NCCLS. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; proposed standard.	Galgiani JN, Bartlett MS, Espinel-Ingroff A, et al.	NCCLS document M27-P. Villanova, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards; 1992.
[資料4.3: PD22]	Wild-type MIC distributions and epidemiological cutoff values for the triazoles and six *Aspergillus* spp. for the CLSI broth microdilution method (M38-A2 document).	Espinel-Ingroff A, Diekema DJ, Fothergill A, et al.	J Clin Microbiol. 2010; 48: 3251-7.
[資料4.3: PD23]	International evaluation of MIC distributions and epidemiological cutoff value (ECV) definitions for *Fusarium* species identified by molecular methods for the CLSI broth microdilution method.	Espinel-Ingroff A, Colombo AL, Cordoba S, et al.	Antimicrob Agents Chemother. 2016; 60: 1079-84.
[資料4.3: PD24]	Multilaboratory study of epidemiological cutoff values for detection of resistance in eight *Candida* species to fluconazole, posaconazole, and voriconazole.	Espinel-Ingroff A, Pfaller MA, Bustamante B, et al.	Antimicrob Agents Chemother. 2014; 58: 2006-12.
[資料4.3: PD25]	Wild-type MIC distributions and epidemiologic cutoff values for fluconazole, posaconazole, and voriconazole when testing *Cryptococcus neoformans* as determined by the CLSI broth microdilution method.	Pfaller MA, Castanheira M, Diekema DJ, et al.	Diagn Microbiol Infect Dis. 2011; 71: 252-9.

C Confidential

添付資料番号	タイトル	著者	掲載紙
[資料4.3: PD26]	Resistance to antifungal drugs.	Sanglard D.	Kauffman CA, Pappas PG, Sobel JD, Dismukes WE, editors. Essentials of Clinical Mycology, Second Edition. New York; Springer; 2011. p135-51.
[資料4.3: PD27]	Azoles.	Andes DR, Dismukes WE.	Kauffman CA, Pappas PG, Sobel JD, Dismukes WE, editors. Essentials of Clinical Mycology, Second Edition. New York; Springer; 2011. p61-93.
[資料4.3: PD28]	Anti-*Candida* drugs-the biochemical basis for their activity.	Vanden Bossche H, Willemsens G, Marichal P.	Crit Rev Microbiol. 1987; 15: 57-72.
[資料4.3: PD29]	Correlation between triazole treatment history and susceptibility in clinically isolated *Aspergillus fumigatus*.	Tashiro M, Izumikawa K, Hirano K, et al.	Antimicrob Agents Chemother. 2012; 56: 4870-5.
[資料4.3: PD30]	A new *Aspergillus fumigatus* resistance mechanism conferring in vitro cross-resistance to azole antifungals involves a combination of *cyp51A* alterations.	Mellado E, Garcia-Effron G, Alcázar-Fuoli L, et al.	Antimicrob Agents Chemother. 2007; 51: 1897-904.
[資料4.3: PD31]	Emergence of azole resistance in *Aspergillus fumigatus* and spread of a single resistance mechanism.	Snelders E, van der Lee HA, Kuijpers J, et al.	PLoS Med. 2008; 5: e219.
[資料4.3: PD32]	Azole resistance profile of amino acid changes in *Aspergillus fumigatus* CYP51A based on protein homology modeling.	Snelders E, Karawajczyk A, Schaftenaar G, et al.	Antimicrob Agents Chemother. 2010; 54: 2425-30.
[資料4.3: PD33]	Azole resistance in *Aspergillus fumigatus*: A consequence of antifungal use in agriculture?	Berger S, El Chazli Y, Babu AF, et al.	Front Microbiol. 2017; 8: 1024.
[資料4.3: PD34]	First clinical isolation report of azole-resistant *Aspergillus fumigatus* with TR_{34}/L98H-type mutation in Japan.	Toyotome T, Hagiwara D, Kida H, et al.	J Infect Chemother. 2017; 23: 579-81.
[資料4.3: PD35]	Azole-resistant *Aspergillus fumigatus* containing a 34-bp tandem repeat in *cyp51A* promoter is isolated from the environment in Japan.	Onishi K, Muhammad Sarumoh B, Hagiwara D, et al.	Med Mycol J. 2017; 58E: E67-70.
[資料4.3: PD36]	Antifungal drug resistance mechanisms.	Pemán J, Cantón E, Espinel-Ingroff A.	Expert Rev Anti Infect Ther. 2009; 7: 453-60.

C Confidential

CTD 第 2 部
2.6 非臨床試験の概要文及び概要表
2.6.3 薬理試験概要表

MSD 株式会社

目次

頁
2.6.3.1　薬理試験一覧表 2
2.6.3.2　効力を裏付ける試験 6
2.6.3.3　副次的薬理試験 14
2.6.3.4　安全性薬理試験 15
2.6.3.5　薬力学的薬物相互作用試験 17

Confidential

2.6.3.1　薬理試験一覧表（1 of 4）

被験物質：ポサコナゾール

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	報告書番号	記載箇所
効力を裏付ける試験 *In vitro* 抗真菌作用 国内臨床分離株の感受性	真菌細胞培養系	*In vitro*	[redacted]	PD101	[資料4.2.1.1.1: PD101] 評価資料
海外臨床分離株の感受性	真菌細胞培養系	*In vitro*	MRL	PD102	[資料4.2.1.1.2: PD102] 参考資料
各種抗真菌薬に耐性又は低感受性を示す真菌の感受性 *Aspergillus* 属	真菌細胞培養系	*In vitro*	WSU	D-46088	[資料4.2.1.1.3: D-46088] 参考資料
Candida 属	真菌細胞培養系	*In vitro*	MRL	PD102	[資料4.2.1.1.2: PD102] 参考資料
殺真菌作用 *Aspergillus* 属	真菌細胞培養系	*In vitro*	MRL	D-46087	[資料4.2.1.1.4: D-46087] 参考資料
				D-46088	[資料4.2.1.1.3: D-46088] 参考資料
Candida 属	真菌細胞培養系	*In vitro*	MRL	D-46087	[資料4.2.1.1.4: D-46087] 参考資料
				D-46071	[資料4.2.1.1.5: D-46071] 参考資料
持続的抗真菌作用	真菌細胞培養系	*In vitro*	WSU	PD103	[資料4.2.1.1.6: PD103] 参考資料
血清蛋白質の影響	真菌細胞培養系	*In vitro*	MRL	P-6185	[資料4.2.1.1.7: P-6185] 評価資料
In vivo 抗真菌作用 *Aspergillus* 属 マウス肺アスペルギルス症 治療効果	吸入感染免疫抑制マウス	経口	MRL	P-6185	[資料4.2.1.1.7: P-6185] 評価資料
予防効果 経口投与	吸入感染免疫抑制マウス	経口	MRL	P-6185	[資料4.2.1.1.7: P-6185] 評価資料
静脈内投与	吸入及び鼻腔内感染免疫抑制マウス	静脈内	MRL	D-55092	[資料4.2.1.1.8: D-55092] 評価資料
1日投与回数	吸入感染免疫抑制マウス	経口	MRL	P-6185	[資料4.2.1.1.7: P-6185] 評価資料
投与期間	吸入感染免疫抑制マウス	経口	MRL	D-46063	[資料4.2.1.1.9: D-46063] 参考資料
遅延投与	吸入感染免疫抑制マウス	経口	MRL	D-46064	[資料4.2.1.1.10: D-46064] 参考資料

[redacted]、MRL：Merck Research Laboratories、WSU：Wayne State University School of Medicine

C Confidential

2.6.3.1　薬理試験一覧表（2 of 4）

被験物質：ポサコナゾール

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	報告書番号	記載箇所
効力を裏付ける試験（続き） *In vivo* 抗真菌作用（続き） *Aspergillus* 属（続き） モルモット肺アスペルギルス症	吸入感染免疫抑制モルモット	経口	MRL	D-46062	[資料4.2.1.1.11: D-46062] 参考資料
マウス播種性アスペルギルス症	静脈内感染免疫正常マウス	経口	MRL	P-6185	[資料4.2.1.1.7: P-6185] 評価資料
モルモット播種性アスペルギルス症	静脈内感染免疫抑制モルモット	経口	MRL	D-46062	[資料4.2.1.1.11: D-46062] 参考資料
Fusarium 属 マウス播種性フサリウム症	静脈内感染免疫正常マウス	経口	UTMS	PD104	[資料4.2.1.1.12: PD104] 参考資料
ムーコル目 マウス播種性ムーコル症	静脈内感染免疫抑制マウス	経口	UTHSC	PD105	[資料4.2.1.1.13: PD105] 参考資料
クロモブラストミコーシス及び菌腫の原因真菌 マウスの*F. pedrosoi*による深部皮膚真菌感染症	皮下感染免疫抑制マウス	経口	UR	PD106	[資料4.2.1.1.14: PD106] 参考資料
マウスの *E. dermatitidis* による播種性真菌感染症	静脈内感染免疫正常及び抑制マウス	経口	UTHSC	PD107	[資料4.2.1.1.15: PD107] 参考資料
マウス播種性シュードアレシェリア症	静脈内感染免疫抑制マウス	経口	UTHSC	PD108	[資料4.2.1.1.16: PD108] 参考資料
二形性真菌 マウス播種性コクシジオイデス症	静脈内感染免疫正常マウス	経口	UTHSC	PD109	[資料4.2.1.1.17: PD109] 参考資料
Candida 属 マウス播種性カンジダ症 治療効果	静脈内感染免疫正常及び抑制マウス	経口	MRL	P-6185	[資料4.2.1.1.7: P-6185] 評価資料
予防効果	静脈内感染免疫正常マウス	経口	MRL	P-6185	[資料4.2.1.1.7: P-6185] 評価資料
モルモット播種性カンジダ症	静脈内感染免疫正常及び抑制モルモット	経口	MRL	D-46062	[資料4.2.1.1.11: D-46062] 参考資料
Cr. neoformans マウス肺クリプトコックス症	気管内感染免疫正常マウス	経口	長崎大学	D-46159	[資料4.2.1.1.18: D-46159] 参考資料

MRL：Merck Research Laboratories、UR：Universitat Rovira i Virgili、UTHSC：University of Texas Health Science Center、UTMS：University of Texas Medical School

Confidential

2.6.3.1　薬理試験一覧表（3 of 4）

被験物質：ポサコナゾール

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	報告書番号	記載箇所
効力を裏付ける試験（続き） 他剤との相互作用 *In vitro* 抗真菌作用 糸状菌	真菌細胞培養系	*In vitro*	MRL	D-46076	[資料4.2.1.1.19: D-46076] 参考資料
酵母様真菌	真菌細胞培養系	*In vitro*	MRL	D-46075	[資料4.2.1.1.20: D-46075] 参考資料
In vivo 抗真菌作用 マウス肺アスペルギルス症	吸入感染免疫抑制マウス	経口	MRL	P-6185	[資料4.2.1.1.7: P-6185] 評価資料
マウス播種性アスペルギルス症	静脈内感染免疫正常マウス	経口	MRL	D-46067	[資料4.2.1.1.21: D-46067] 参考資料
マウス播種性カンジダ症	静脈内感染免疫正常マウス	経口	MRL	P-6185	[資料4.2.1.1.7: P-6185] 評価資料
		経口	MRL	D-46066	[資料4.2.1.1.22: D-46066] 参考資料
抗真菌作用と相関する薬物動態パラメータ マウス播種性カンジダ症	静脈内感染免疫抑制マウス	経口	UW	D-46037	[資料4.2.1.1.23: D-46037] 参考資料
作用機序 エルゴステロール合成阻害作用	真菌細胞培養系	*In vitro*	MRL	D-46030	[資料4.2.1.1.24: D-46030] 参考資料
CYP51酵素と薬物との複合体の立体構造	－	－	MRL	D-46049	[資料4.2.1.1.25: D-46049] 参考資料
薬剤耐性及びその機序 継代培養時の耐性発現	真菌細胞培養系	*In vitro*	MRL	D-45922	[資料4.2.1.1.26: D-45922] 評価資料
				D-46044	[資料4.2.1.1.27: D-46044] 参考資料
抗真菌薬長期投与時の耐性発現	口腔内カンジダ症患者由来 *C. albicans*	－	MRL	PD110	[資料4.2.1.1.28: PD110] 参考資料
CYP51酵素のアミノ酸変異	－	－	MRL	D-46049	[資料4.2.1.1.25: D-46049] 参考資料
薬剤排出ポンプの関与	真菌細胞培養系	*In vitro*	[redacted]	D-44473	[資料4.2.1.1.29: D-44473] 参考資料
安全性薬理試験 中枢神経系 一般症状 （Irwin の多次元観察法）	ラット	経口	MRL	D-27192	[資料4.2.1.3.1: D-27192] 参考資料
心血管系 hERG 電流測定試験	hERG 導入 L-929細胞株	*In vitro*	MRL	45804	[資料4.2.1.3.2: 45804] 評価資料
活動電位測定試験	イヌ心臓 Purkinje 線維	*In vitro*	[redacted]	SN [redacted]538	[資料4.2.1.3.3: SN [redacted]538] 評価資料
血圧、心拍数及び心電図	無麻酔非拘束ラット	経口	MRL	D-27192	[資料4.2.1.3.1: D-27192] 参考資料

hERG：ヒト ether-á-go-go 関連遺伝子、MRL：Merck Research Laboratories、[redacted]、[redacted]、UW：University of Wisconsin

Confidential

2.6.3.1　薬理試験一覧表（4 of 4）

被験物質：ポサコナゾール

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	報告書番号	記載箇所
安全性薬理試験（続き） 心血管系（続き） 血圧、心拍数、心エコー検査、血漿量、血液生化学検査、心重量、病理組織学的検査等†	ラット	経口	[redacted]	SN [redacted]122	[資料4.2.1.3.4: SN [redacted]122] 評価資料
血圧、心拍数及び心電図†	無麻酔非拘束サル	静脈内（1時間）	[redacted]	SN [redacted]117	[資料4.2.1.3.5: SN [redacted]117] 評価資料
血圧、心拍数及び心電図†	無麻酔非拘束サル	静脈内（1時間）	[redacted]	SN [redacted]383	[資料4.2.1.3.6: SN [redacted]383] 評価資料
呼吸系† 呼吸数、1回及び分時換気量	無麻酔拘束ラット	急速静脈内	[redacted]	SN [redacted]330	[資料4.2.1.3.7: SN [redacted]330] 評価資料
腎/泌尿器系 尿量、尿中ナトリウム及びカリウム排泄量	ラット	経口	MRL	D-27192	[資料4.2.1.3.1: D-27192] 参考資料
胃腸管系 胃潰瘍形成能	ラット	経口	MRL	D-27192	[資料4.2.1.3.1: D-27192] 参考資料
胃内容排出能	ラット	経口	MRL	D-27192	[資料4.2.1.3.1: D-27192] 参考資料

MRL：Merck Research Laboratories
†：GLP 適用試験

Confidential

2.6.3.2　　効力を裏付ける試験（1 of 9）

被験物質：ポサコナゾール

試験項目	動物/細胞	薬物/濃度/用量（投与経路）	試験成績	報告書番号	記載箇所
In vitro 抗真菌作用 国内臨床分離株の感受性	各種糸状菌及び酵母様真菌238株	PSCZ、VRCZ、ITCZ、FLCZ、AMPH-B、CPFG、MCFG、5-FC（*in vitro*）	*Aspergillus* 属：PSCZ の MIC 値は0.5 μg/mL 以下であり、MCFG 以外の他の抗真菌薬と同等か低値であった。 *Fusarium* 属：PSCZ の MIC_{90}値は、>8 μg/mL であり、4 μg/mL の AMPH-B を除き、他の抗真菌薬と同様に高値を示した。 ムーコル症の原因真菌：*Mucor* 属、*Rhizopus* 属、*Cunninghamella* 属、*Rhizomucor* 属及び *Lichtheimia* 属に対する PSCZ の MIC_{90}値又は10株未満の菌種に対する MIC の最高値は、*Mucor* 属では8 μg/mL、それ以外では1 μg/mL 以下であり、ITCZ 及び AMPH-B とほぼ同等、その他の抗真菌薬よりも低値であった。 クロモブラストミコーシス及び菌腫の原因真菌：*Fonsecaea* 属、*Scedosporium apiospermum*、*Exophiala* 属、*Phialophora* 属、*Cladosporium* 属、*Cladophialophora* 属及び *Alternaria* 属に対する PSCZ の MIC_{90}値又は10株未満の菌種に対する MIC の最高値は、*S. apiospermum* では 2 μg/mL、それ以外では0.25 μg/mL 以下であり、他の抗真菌薬と同等か低値であった。 *Candida* 属：FLCZ に自然耐性を示す *C. glabrata* 及び *C. krusei* に対する PSCZ の MIC_{90}値は、それぞれ4及び0.12 μg/mL であり、FLCZ 以外の他のアゾール系抗真菌薬とほぼ同等であった。その他の菌種に対する PSCZ の MIC_{90}値又は10株未満の菌種に対する MIC の最高値は、0.12 μg/mL 以下であり、他の抗真菌薬と同等か低値であった。 *Cr. neoformans*：PSCZ の MIC_{90}値は0.12 μg/mL であり、それ以外の抗真菌薬よりも同等か低値であった。	PD101	4.2.1.1.1

AMPH-B：アムホテリシン B、CPFG：カスポファンギン、5-FC：フルシトシン、FLCZ：フルコナゾール、ITCZ：イトラコナゾール、MCFG：ミカファンギン、MIC：最小発育阻止濃度、MIC_{90}：90%以上の株の発育を阻止する濃度、PSCZ：ポサコナゾール、VRCZ：ボリコナゾール

Confidential

2.6.3.2　効力を裏付ける試験（2 of 9）

被験物質：ポサコナゾール

試験項目	動物/細胞	薬物/濃度/用量（投与経路）	試験成績	報告書番号	記載箇所
In vitro 抗真菌作用（続き）					
海外臨床分離株の感受性	各種糸状菌及び酵母様真菌約19000株	PSCZ、VRCZ、ITCZ、FLCZ、AMPH-B（*in vitro*）	*Aspergillus* 属：PSCZ の MIC_{90}値は1.0 μg/mL 以下であり、他の抗真菌薬と同等か低値を示した。 *Fusarium* 属：PSCZ の MIC 値は菌種により差があり、その MIC_{90}値は1.0～32 μg/mL であった。この菌種間での MIC 値の差は他の抗真菌薬でも同様の傾向を示していた。 ムーコル症の原因真菌：PSCZ の MIC_{90}値又は10株未満の菌種に対する MIC の最高値は0.25～16.0 μg/mL であり、AMPH-B よりも大きく、ITCZ とほぼ同等、VRCZ よりも低値であった。 クロモブラストミコーシス及び菌腫の原因真菌：PSCZ の MIC_{90}値は0.125～32.0 μg/mL であり、ITCZ 及び AMPH-B とほぼ同等か低値であった。 二形性真菌：PSCZ の MIC_{90}値は1.0 μg/mL 以下であり、ITCZ 及び AMPH-B とほぼ同等か低値であった。 皮膚糸状菌：PSCZ の MIC_{90}値又は10株未満の菌種に対する MIC の最高値は0.5 μg/mL 以下であり、ITCZ と同等、FLCZ よりも低値であった。 *Candida* 属：*C. glabrata* 及び *C. krusei* に対する PSCZ の MIC_{90}値は、それぞれ2.0及び1.0 μg/mL であり、VRCZ 及び ITCZ とほぼ同等の値を示した。*C. lusitaniae* に対する PSCZ の MIC_{90}値は0.25 μg/mL であり、AMPH-B、ITCZ 及び FLCZ よりも低値を示し、VRCZ よりも大きかった。その他の *Candida* 属に対する PSCZ の MIC_{90}値は1.0 μg/mL 以下であり、他の抗真菌薬とほぼ同等か低値であった。 *Cryptococcus* 属：PSCZ の MIC_{90}値は0.25 μg/mL であり、他の抗真菌薬とほぼ同等か低値であった。	PD102	4.2.1.1.2
各種抗真菌薬に耐性又は低感受性を示す真菌の感受性					
Aspergillus 属	臨床分離又は各種抗真菌薬耐性 *A. fumigatus* 336株	PSCZ、VRCZ、ITCZ、AMPH-B（*in vitro*）	VRCZ 又は ITCZ 耐性株：PSCZ を含む他のアゾール系抗真菌薬の平均 MIC 値は、臨床分離株の2～3倍に増加し、軽度な交差耐性を示した。 AMPH-B 耐性株：PSCZ を含むアゾール系抗真菌薬に感受性を示した。	D-46088	4.2.1.1.3
Candida 属	各種抗真菌薬耐性又は低感受性 *Candida* 属 2007株	PSCZ、VRCZ、ITCZ、FLCZ（*in vitro*）	VRCZ、ITCZ 又は FLCZ 耐性株：PSCZ の MIC_{90}値は2.0～32.0 μg/mL であり、他のアゾール系抗真菌薬と同等か低値であった。 PSCZ に低感受性を示す株：PSCZ の MIC_{90}値は16.0～32.0 μg/mL であり、他のアゾール系抗真菌薬と同等か低値であった。	PD102	4.2.1.1.2

AMPH-B：アムホテリシン B、FLCZ：フルコナゾール、ITCZ：イトラコナゾール、MIC：最小発育阻止濃度、MIC_{90}：90%以上の株の発育を阻止する濃度、PSCZ：ポサコナゾール、VRCZ：ボリコナゾール

Confidential

2.6.3.2　効力を裏付ける試験（3 of 9）

被験物質：ポサコナゾール

試験項目	動物/細胞	薬物/濃度/用量（投与経路）	試験成績	報告書番号	記載箇所
In vitro 抗真菌作用（続き）					
殺真菌作用					
Aspergillus 属	*A. fumigatus* 11株	PSCZ、AMPH-B（*in vitro*）	PSCZ の MFC 値はいずれの株でも MIC 値の4倍以内、AMPH-B の MFC 値は MIC 値と類似しており、いずれも殺菌的であった。	D-46087	4.2.1.1.4
	A. fumigatus 1株	PSCZ、VRCZ、ITCZ、AMPH-B：1、2、4、8 μg/mL（*in vitro*）	濃度作用曲線：いずれの薬物も殺真菌作用を示した。	D-46088	4.2.1.1.3
Candida 属	各種 *Candida* 属 39株	PSCZ（*in vitro*）	大部分の株で PSCZ の MFC 値は MIC 値の4倍超であり、静菌的であった。	D-46087	4.2.1.1.4
	C. albicans 1株	PSCZ、VRCZ、ITCZ、FLCZ、AMPH-B：MIC の0.5、1、2、5、10倍（*in vitro*）	濃度作用曲線：アゾール系抗真菌薬は静菌作用を、AMPH-B は殺真菌作用を示した。	D-46071	4.2.1.1.5
持続的抗真菌作用	*A. fumigatus* 5株、*C. albicans* 1株	PSCZ、VRCZ、ITCZ、RVCZ、AMPH-B：1又は16 μg/mL、CPFG、MCFG：0.25又は128 μg/mL（*in vitro*）	*A. fumigatus* に対する PAFE：PSCZ は0.75時間で他のアゾール系抗真菌薬よりも最も大きかった。AMPH-B は7.5時間であった。キャンディン系抗真菌薬は PAFE を示さなかった。*C. albicans* に対する PAFE：アゾール系抗真菌薬は0.5時間以下であった。AMPH-B 及びキャンディン系抗真菌薬は5時間以上であった。	PD103	4.2.1.1.6
血清蛋白質の影響	各種 *Candida* 属 18株	PSCZ、ITCZ、FLCZ、AMPH-B（*in vitro*）	4% BSA の添加により PSCZ 及び ITCZ の GM MIC 値が16倍に、FLCZ 及び AMPH-B の GM MIC 値が、それぞれ2及び4倍に上昇した。	P-6185	4.2.1.1.7

AMPH-B：アムホテリシン B、BSA：ウシ血清アルブミン、CPFG：カスポファンギン、FLCZ：フルコナゾール、GM：幾何平均、ITCZ：イトラコナゾール、MCFG：ミカファンギン、MFC：最小殺真菌濃度、MIC：最小発育阻止濃度、PAFE：持続的抗真菌作用、PSCZ：ポサコナゾール、RVCZ：ラブコナゾール、VRCZ：ボリコナゾール

Confidential

2.6.3.2　効力を裏付ける試験（4 of 9）

被験物質：ポサコナゾール

試験項目	動物/細胞	薬物/濃度/用量（投与経路）	試験成績	報告書番号	記載箇所
In vivo 抗真菌作用					
Aspergillus 属					
マウス肺アスペルギルス症					
治療効果	*A. fumigatus* 又は *A. flavus* 吸入感染免疫抑制マウス	PSCZ：2.5～40 mg/kg/回（経口） ITCZ：100 mg/kg/回（経口） AMPH-B：2.5～5 mg/kg/回（皮下） 1日1回、4日間	*A. fumigatus* 4株に対する ED_{50}値（mg/kg/日）：PSCZ 4～36、ITCZ >100、AMPH-B >2.5～>5 *A. flavus* 4株に対する ED_{50}値（mg/kg/日）：PSCZ 5～14、ITCZ >100、AMPH-B >5	P-6185	4.2.1.1.7
予防効果 経口投与	*A. fumigatus* 吸入感染免疫抑制マウス	PSCZ、ITCZ：100 mg/kg、単回（経口）	生存率：接種3～72時間前の PSCZ の投与により致死予防効果が認められた。一方、ITCZ は12及び72時間前を除いて、致死防御効果を示さなかった。	P-6185	4.2.1.1.7
静脈内投与	*A. fumigatus* 吸入及び鼻腔内感染免疫抑制マウス	PSCZ：1、5、25 mg/kg/回、1日1回、4日間（静脈内）	生存期間及び肺内生菌数：いずれの感染モデルでも5及び25 mg/kg/日の用量で、生存期間の延長傾向が認められ、肺内生菌数にも用量との相関傾向がみられた。	D-55092	4.2.1.1.8
1日投与回数	*A. fumigatus* 吸入感染免疫抑制マウス	PSCZ：2.5 mg/kg/回、1日1又は2回、5 mg/kg/回、1日1回 ITCZ：33 mg/kg/回、1日3回、50 mg/kg/回、1日2回、100 mg/kg/回、1日1回 4日間（経口）	生存率：PSCZ では1日投与量を5 mg/kg として、1日1回又は1日2回に分割した場合、いずれも改善が認められ、その改善効果には明らかな差はみられなかった。 ITCZ では100 mg/kg/回を1日1回投与した場合には生存率の改善は認められず、この用量を2分割又は3分割した場合でも同様であった。	P-6185	4.2.1.1.7
投与期間	*A. flavus* 吸入感染免疫抑制マウス	PSCZ：5 mg/kg/回、1日1回、4又は10日間（経口）	生存率：投与期間を4日間から10日間に延長することにより、高値を示した。	D-46063	4.2.1.1.9
遅延投与	*A. flavus* 吸入感染免疫抑制マウス	PSCZ：40 mg/kg/回、1日1回、4日間（経口）	生存率：投与の開始時期を感染24時間後から48又は72時間後に遅らせることにより、経時的に低下した。	D-46064	4.2.1.1.10
モルモット肺アスペルギルス症	*A. flavus* 吸入感染免疫抑制モルモット	PSCZ：1、10、50、100 mg/kg/回、1日1回、4日間 VRCZ：5、25、50、100 mg/kg/回、1日2回、4日間（経口）	致死防御作用の ED_{50}値（mg/kg/日）：PSCZ 70、VRCZ 2300	D-46062	4.2.1.1.11

感染動物モデルで、特に記載がない場合は治療投与した。
AMPH-B：アムホテリシン B、ED_{50}：50%有効用量、ITCZ：イトラコナゾール、PSCZ：ポサコナゾール、VRCZ：ボリコナゾール

Confidential

2.6.3.2　効力を裏付ける試験（5 of 9）

被験物質：ポサコナゾール

試験項目	動物/細胞	薬物/濃度/用量（投与経路）	試験成績	報告書番号	記載箇所
In vivo 抗真菌作用（続き） *Aspergillus* 属（続き）					
マウス播種性アスペルギルス症	*A. flavus* 静脈内感染免疫正常マウス	PSCZ：40 mg/kg、単回、0.625、2.5、10、40 mg/kg/回、1日1回、4日間 ITCZ：100 mg/kg/回、単回又は1日1回、4日間（経口）	生存率：PSCZ 40 mg/kg 及び ITCZ 100 mg/kg の単回投与により、それぞれ90%及び20%。 PSCZ 10 mg/kg/日及び ITCZ 100 mg/kg/日の反復投与により、それぞれ100%及び30%。	P-6185	4.2.1.1.7
モルモット播種性アスペルギルス症	*A. fumigatus* 静脈内感染免疫抑制モルモット	PSCZ：5、25、50、100 mg/kg/回、1日1回、4日間 VRCZ：25、50、100 mg/kg/回、1日2回、4日間（経口）	致死防御作用の ED_{50}値（mg/kg/日）：PSCZ 3、VRCZ 110	D-46062	4.2.1.1.11
Fusarium 属 マウス播種性フサリウム症	*F. solani* 静脈内感染免疫正常マウス	PSCZ：10、25、50、100 mg/kg/回、1日1回、4又は13日間（経口） AMPH-B：1 mg/kg/回、1日1回、4又は13日間（腹腔内）	生存期間：PSCZ の10 mg/kg/日以上及び AMPH-B の1 mg/kg/日の4又は13日間投与で生存期間の延長が認められた。 腎及び肝臓内生菌数：PSCZ の10 mg/kg/日以上の4又は13日間、AMPH-B の1 mg/kg/日の4日間の投与により、両臓器での生菌数の低下が認められた。	PD104	4.2.1.1.12
ムーコル目 マウス播種性ムーコル症	静脈内感染免疫抑制マウス	PSCZ：5、15又は30 mg/kg/回、1日2回 ITCZ：30 mg/kg/回、1日3回、7日間（経口） AMPH-B：1 mg/kg/回、1日1回、7日間（腹腔内）	*M. ramosissimus*（2株）又は *M. circinelloides*（1株）感染での生存期間：PSCZ 30 mg/kg/日以上、AMPH-B 1 mg/kg/日で生存期間が延長したが、ITCZ では延長は認められなかった。 *M. circinelloides*（1株）感染での腎臓内生菌数：PSCZ 30 mg/kg/日以上、AMPH-B 1 mg/kg/日で減少したが、ITCZ では減少は認められなかった。	PD105	4.2.1.1.13

感染動物モデルで、特に記載がない場合は治療投与した。
AMPH-B：アムホテリシン B、ED_{50}：50%有効用量、ITCZ：イトラコナゾール、PSCZ：ポサコナゾール、VRCZ：ボリコナゾール

Confidential

2.6.3.2　効力を裏付ける試験（6 of 9）

被験物質：ポサコナゾール

試験項目	動物/細胞	薬物/濃度/用量（投与経路）	試験成績	報告書番号	記載箇所
In vivo 抗真菌作用（続き） クロモブラストミコーシス及び菌腫の原因真菌					
マウスの *F. pedrosoi* による深部皮膚真菌感染症	皮下感染免疫抑制マウス	PSCZ、VRCZ：10、20 mg/kg/回 ITCZ：25、50 mg/kg/回 TRB：150、250 mg/kg/回 1日1回、4ヵ月間（経口）	皮膚病変の面積及び培養陽性率：PSCZ 20 mg/kg/日で面積を75.0%、陽性率を50%低下させた。VRCZ は面積及び陽性率に影響しなかった。ITCZ 及び TRB は、それぞれ50及び250 mg/kg/日で面積を減少させたが、陽性率には影響しなかった	PD106	4.2.1.1.14
マウスの *E. dermatitidis* による播種性真菌感染症	静脈内感染免疫正常又は抑制マウス	PSCZ：0.1、1、2.5、5、10、25 mg/kg/回（免疫正常）、0.625、1.25、2.5、5 mg/kg/回（免疫抑制）、1日1回、7日間（経口）	生存期間：免疫正常及び抑制マウスのいずれも、2.5 mg/kg/日以上で生存期間の延長が認められた。	PD107	4.2.1.1.15
マウス播種性シュードアレシェリア症	*P. boydii* 静脈内感染免疫抑制マウス	PSCZ：0.5、1、5、10、30、40又は50 mg/kg/回、1日1回、25 mg/kg/回、1日2回、 ITCZ：30 mg/kg/回、1日3回 FLCZ：5又は20 mg/kg/回、1日2回、7又は10日間（経口）	生存率：PSCZ 30、50 mg/kg/回の1日1回又は、25 mg/kg/回の1日2回投与、FLCZ 20 mg/kg/回により、生存率が増加したが、ITCZ では増加しなかった。 脾臓、腎臓及び脳内生菌数：PSCZ 10 mg/kg/回以上、ITCZ 30 mg/kg/回、FLCZ 5 mg/kg/回以上の投与により臓器内生菌数の減少が認められた。	PD108	4.2.1.1.16
二形性真菌 マウス播種性コクシジオイデス症	*C. immitis* 静脈内感染免疫正常マウス	PSCZ：0.01、0.1、0.5、1、5、10 mg/kg/回、1日1回 ITCZ：10、30 mg/kg/回、1日3回、21日間（経口）	生存率：PSCZ 及び ITCZ に対する感受性株では PSCZ 0.5 mg/kg/日以上及び ITCZ の90 mg/kg/日で100%、非感受性株では90%～100%。 脾臓、肝臓及び肺内生菌数：PSCZ 0.1 mg/kg/日以上及び ITCZ 30 mg/kg/日以上でいずれの臓器の生菌数も減少した。	PD109	4.2.1.1.17
Candida 属 マウス播種性カンジダ症 治療効果	*C. albicans* 静脈内感染免疫正常又は抑制マウス	PSCZ、FLCZ：1日1回、3日間（経口） AMPH-B：1日1回、3日間（皮下）	*C. albicans* 4株に対する致死防御作用の ED_{50} 値（mg/kg/日）：免疫正常マウスでは PSCZ 0.02～0.6、FLCZ 1.4～25.0、AMPH-B 3.0～9.0。 免疫抑制マウスでは PSCZ 0.20～8.0、FLCZ 2.5～27、AMPH-B 1.7（1株）。 腎臓内生菌数：免疫抑制の有無にかかわらず、投与用量の増加に伴い、減少する傾向がみられた。	P-6185	4.2.1.1.7
予防効果	*C. albicans* 静脈内感染免疫正常マウス	PSCZ、FLCZ：50 mg/kg、単回（経口）	生存率：PSCZ 及び FLCZ の1.5～24時間前の投与により、それぞれ100%及び30%～100%の致死予防効果が認められた。	P-6185	4.2.1.1.7

感染動物モデルで、特に記載がない場合は治療投与した。
AMPH-B：アムホテリシン B、ED_{50}：50%有効用量、FLCZ：フルコナゾール、ITCZ：イトラコナゾール、PSCZ：ポサコナゾール、TRB：テルビナフィン、VRCZ：ボリコナゾール

C Confidential

2.6.3.2　効力を裏付ける試験（7 of 9）

被験物質：ポサコナゾール

試験項目	動物/細胞	薬物/濃度/用量（投与経路）	試験成績	報告書番号	記載箇所
In vivo 抗真菌作用（続き） *Candida* 属（続き） モルモット播種性カンジダ症	*C. albicans* 静脈内感染免疫正常又は抑制モルモット	PSCZ：0.1、1、10 mg/kg/回、1日1回、3日間（免疫正常）、5、20、50、100 mg/kg/回、1日1回、4日間（免疫抑制） VRCZ：0.1、1、2.5、5、10 mg/kg/回、1日2回、3日間（免疫正常）、5、20、50、100 mg/kg/回、1日2回、4日間（免疫抑制）（経口）	致死防御作用の ED_{50}値（mg/kg/日）：PSCZ 0.17（免疫正常）、30（免疫抑制）。VRCZ 5.6（免疫正常）、710（免疫抑制）	D-46062	4.2.1.1.11
Cr. neoformans マウス肺クリプトコックス症	気管内感染免疫正常マウス	PSCZ、FLCZ：10 mg/kg/回、1日1回、7日間（経口）	生存率、並びに肺及び脳内生菌数：PSCZ は致死防御作用を示し、両臓器内生菌数を低下させた。FLCZ は致死防御作用を示さず、脳内生菌数を低下させた。	D-46159	4.2.1.1.18
他剤との相互作用 *In vitro* 抗真菌作用 糸状菌	*Aspergillus* 属、*Fusarium* 属、その他の糸状菌77株	PSCZ+CPFG、VRCZ、ITCZ、AMPH-B、TRB（*in vitro*）	PSCZ と CPFG、VRCZ、ITCZ、AMPH-B 又は TRB との併用により明らかな拮抗作用は認められなかった。 CPFG との併用で相乗作用のみられる株数が最も多かった。	D-46076	4.2.1.1.19
酵母様真菌	*Candida* 属及び *Cr. neoformans* 30株	PSCZ+ CPFG、VRCZ、ITCZ、FLCZ、AMPH-B、5-FC、TRB（*in vitro*）	PSCZ と CPFG、VRCZ、ITCZ、FLCZ、AMPH-B、5-FC 又は TRB との併用により明らかな拮抗作用は認められなかった。 *Candida* 属及び *Cr. neoformans* では、それぞれ AMPH-B 又は CPFG との併用で相乗作用のみられる株数が最も多かった。	D-46075	4.2.1.1.20
In vivo 抗真菌作用 マウス肺アスペルギルス症	*A. flavus* 吸入感染免疫抑制マウス	PSCZ：0.625、2.5、10 mg/kg/回（経口） AMPH-B：1、5 mg/kg/回（皮下） 1日1回、4日間	併用時の生存率：PSCZ と AMPH-B との併用により明らかな拮抗作用は認められなかった。	P-6185	4.2.1.1.7
マウス播種性アスペルギルス症	*A. fumigatus* 2株及び *A. flavus* 1株による静脈内感染免疫正常マウス	PSCZ：0.1～25 mg/kg/回（経口） CPFG：0.05～10 mg/kg/回（腹腔内） 1日1回、8日間（*A. fumigatus*）、4日間（*A. flavus*）	併用時の生存率：PSCZ と CPFG との併用により明らかな拮抗作用は認められなかった。 PSCZ と CPFG とを併用した27試験のうち、20試験で各単独投与と比較して併用投与により有意な抗真菌作用の増強が認められた。	D-46067	4.2.1.1.21

感染動物モデルで、特に記載がない場合は治療投与した。
AMPH-B：アムホテリシン B、CPFG：カスポファンギン、ED_{50}：50%有効用量、5-FC：フルシトシン、FLCZ：フルコナゾール、ITCZ：イトラコナゾール、PSCZ：ポサコナゾール、TRB：テルビナフィン、VRCZ：ボリコナゾール

Confidential

2.6.3.2　効力を裏付ける試験（8 of 9）

被験物質：ポサコナゾール

試験項目	動物/細胞	薬物/濃度/用量（投与経路）	試験成績	報告書番号	記載箇所
他剤との相互作用（続き） *In vivo* 抗真菌作用（続き） マウス播種性カンジダ症	*C. albicans* 静脈内感染免疫正常マウス	PSCZ：0.05、0.1、0.5、1.0、2.5 mg/kg/回（経口） AMPH-B：1、5 mg/kg/回（皮下） 1日1回、4日間	併用時の生存率：PSCZ と AMPH-B との併用により明らかな拮抗作用は認められなかった。	P-6185	4.2.1.1.7
	C. albicans による静脈内感染免疫正常マウス	PSCZ：5、25、100 mg/kg/回（経口） CPFG：0.01、0.05、0.1又は0.2 mg/kg/回（腹腔内） 1日1回、4又は8日間	併用時の生存率：PSCZ と CPFG との併用により明らかな拮抗作用は認められなかった。PSCZ と CPFG とを併用した15試験のうち、12試験で各単独投与と比較して併用投与により有意な抗真菌作用の増強が認められた。	D-46066	4.2.1.1.22
抗真菌作用と相関する薬物動態パラメータ マウス播種性カンジダ症	*C. albicans* による静脈内感染免疫抑制マウス	PSCZ：0.625、2.5、10、40、160、640 mg/kg/日、6、12及び24時間毎に2日間又は単回（経口） 0.08～20 mg/kg/回、1日1回、2日間（経口）	腎臓内生菌数：総投与量に依存し、投与間隔の影響をほとんど受けなかった。PSCZ の抗真菌作用は AUC/MIC と相関性を示した。	D-46037	4.2.1.1.23
作用機序 エルゴステロール合成阻害作用	*Aspergillus* 属2株、*Candida* 属4株	PSCZ、VRCZ、ITCZ、FLCZ（*in vitro*）	エルゴステロール生合成阻害作用：エルゴステロールの生合成の阻害及び合成中間体（エブリコール及びオブツシフォリオール）の蓄積がみられた。*Aspergillus* 属2株及び *Candida* 属4株に対する各種アゾール系抗真菌薬によるエルゴステロール生合成阻害作用と *in vitro* 抗真菌作用との間に相関傾向が認められた。	D-46030	4.2.1.1.24
CYP51酵素と薬物との複合体の立体構造	－	PSCZ、VRCZ	*A. fumigatus* 及び *C. albicans* 由来 CYP51酵素と PSCZ 又は VRCZ との複合体の結合部位の構造：ヘム結合部位の近傍には PSCZ 及び VRCZ が相互作用する部位があり、PSCZ の側鎖部分と相互作用する別の部位が認められた。	D-46049	4.2.1.1.25

感染動物モデルで、特に記載がない場合は治療投与した。
AMPH-B：アムホテリシン B、AUC：血中薬物濃度－時間曲線下面積、CPFG：カスポファンギン、FLCZ：フルコナゾール、ITCZ：イトラコナゾール、MIC：最小発育阻止濃度、PSCZ：ポサコナゾール、VRCZ：ボリコナゾール

C Confidential

2.6.3.2　効力を裏付ける試験（9 of 9）

被験物質：ポサコナゾール

試験項目	動物/細胞	薬物/濃度/用量（投与経路）	試験成績	報告書番号	記載箇所
薬剤耐性及びその機序					
継代培養時の耐性発現	*A. fumigatus*	PSCZ、VRCZ、ITCZ、AMPH-B（*in vitro*）	PSCZ との培養による耐性変異株の出現頻度は1×10^{8}～1×10^{9}個あたり1個であり、CYP51A の54番目のアミノ酸残基に変異が同定された。それらの変異株は ITCZ に耐性を示したが、VRCZ 及び AMPH-B には感受性であった。耐性遺伝子の発現量及びポサコナゾールの取り込み量に変化は認められなかった。	D-45922	4.2.1.1.26
	C. albicans	PSCZ、FLCZ（*in vitro*）	PSCZ との培養により耐性変異株は誘導されなかったのに対して、FLCZ との培養では耐性変異株が出現した。	D-46044	4.2.1.1.27
抗真菌薬長期投与時の耐性発現	*C. albicans*	PSCZ、VRCZ、ITCZ、FLCZ、AMPH-B（*in vitro*）	口腔内カンジダ症患者に AMPH-B、ITCZ、PSCZ、VRCZ を長期投与することにより、PSCZ を含むアゾール系抗真菌薬に低感受性の *C. albicans* が分離された。 薬剤排出ポンプの発現には明らかな増強はなかったが、CYP51領域に耐性に関与すると考えられるアミノ酸変異が認められた。	PD110	4.2.1.1.28
CYP51酵素のアミノ酸変異	*A. fumigatus* 及び *C. albicans* 由来 CYP51酵素	PSCZ、VRCZ、ITCZ、FLCZ（*in vitro*）	アゾール系抗真菌薬に耐性の *A. fumigatus* には G54E/R/W、G138R 及び G448S が、*C. albicans* には A61V、P230L、G307S 及び G464S のアミノ酸変異が認められ、それらの変異部位は、CYP51と PSCZ との複合体の相互作用をする部位に相当した。	D-46049	4.2.1.1.25
薬剤排出ポンプの関与	*C. glabrata*	PSCZ（*in vitro*）	薬剤排出ポンプ欠損株による MIC 値の変化：PSCZ の排出には CDR1が関与するが、CDR2及び MDR1は関与しないと考えられた。	D-44473	4.2.1.1.29

AMPH-B：アムホテリシン B、CDR：Candida Drug resistance、FLCZ：フルコナゾール、ITCZ：イトラコナゾール、MDR：多剤耐性、MIC：最小発育阻止濃度、PSCZ：ポサコナゾール、VRCZ：ボリコナゾール

2.6.3.3　副次的薬理試験

該当する試験を実施しなかった。

C Confidential

2.6.3.4　　安全性薬理試験（1 of 3）

被験物質：ポサコナゾール

評価対象となる臓器	試験系	投与方法	投与量(mg/kg/回)	性別・例数	試験成績	GLP適用	報告書番号	記載箇所
中枢神経系 一般症状	ラット	経口	30 単回	雄：9例	行動、神経学的及び自律神経系機能に明らかな影響は認められなかった。	不適	D-27192	[資料4.2.1.3.1: D-27192]
心血管系 hERG電流測定試験	hERG導入L-929細胞株	*In vitro*	1.1 µM	各群4例	770 ng/mL（1.1 µM）で媒体対照群と比較して、hERG電流が7%減少した。この変化は有意† であった。	不適	45804	[資料4.2.1.3.2: 45804]
活動電位測定試験	イヌ心臓Purkinje線維	*In vitro*	0.036、0.0977、0.521 µM	各群6例	25（36）、69（98）及び365 ng/mL（521 nM）で軽度（<10%）な APD_{60}及び APD_{90}の増加がみられた。静止膜電位、最大脱分極速度、0相の活動電位の振幅には影響は認められなかった。	不適	SN[redacted]538	[資料4.2.1.3.3: SN[redacted]538]
血圧、心拍数及び電図	無麻酔非拘束ラット	経口	30 mg/kg 単回	雄：12例	30 mg/kgの単回経口投与により、収縮期及び拡張期血圧、心拍数、並びに心電図（RR、PR、QRS、QT及びQTc間隔、並びにQRS波高）に影響は認められなかった。	不適	D-27192	[資料4.2.1.3.1: D-27192]

APD：活動電位持続時間、hERG：ヒト ether- á -go-go 関連遺伝子
†：p=0.0286で媒体対照群に比して有意差あり（Mann-Whitney検定）、p=0.0059で媒体対照群に比して有意差あり（t検定）

C Confidential

2.6.3.4　安全性薬理試験（2 of 3）

被験物質：ポサコナゾール

評価対象となる臓器	試験系	投与方法	投与量(mg/kg/回)	性別・例数	試験成績	GLP適用	報告書番号	記載箇所
心血管系（続き） 血圧、心拍数、心エコー検査、血漿量、血液生化学検査、心重量、病理組織学的検査等	ラット	経口	90 1日1回、28日間	A群（臨床病理、心生化学検査）：各群雄24例 B群（心エコー、心血管系検査）：各群雄6例 C群（血漿量検査）：各群雄6例 D群（トキシコキネティクス検査）：雄12例	Day 26に収縮期動脈圧（13～23 mmHg）及び平均動脈圧（10～19 mmHg）の上昇がみられた。 血清クレアチニンキナーゼ及びトロポニンIには変化がなかったが、トロポニンTが軽度に増加した。 血漿量には変化なし。 Day 27に収縮期心室内径の減少及び左室内径短縮率の増加がみられた。1回拍出量には変化がなかった。 その他の心エコー検査値には変化はみられなかった†。これらの所見から、心収縮能の低下及び心代償不全はないことが示唆された。 心重量の軽度な増加が認められ、血管抵抗（後負荷）の増加に対する間接的な代償反応である可能性が高い。	適‡	SN[redacted]122	[資料4.2.1.3.4: SN[redacted]122]
血圧、心拍数及び心電図	無麻酔非拘束カニクイザル	静脈内（1時間）	7、13 1日1回、7日間	各群雄6例	血圧（収縮期、拡張期及び平均）、心拍数、心電図（RR、PR、QRS及びQT間隔、波形、並びにリズム）に影響なし。 無影響量：13 mg/kg	適§	SN[redacted]117	[資料4.2.1.3.5: SN[redacted]117]
血圧、心拍数及び心電図	無麻酔非拘束カニクイザル	静脈内（1時間）	40 1日1回、7日間	対照群：雄5例、 ポサコナゾール群：雄6例	心拍数、心電図（RR、PR、QRS、QT及びQTc間隔、波形、並びにリズム）に影響なし。 Day 1の投与中の収縮期及び平均動脈圧が上昇した（9～15 mmHg）。 収縮期及び平均動脈圧がDay 4（11～19 mmHg）及びDay 7（14～30 mmHg）に上昇した。 収縮期及び平均動脈圧の上昇は、それぞれ投与5及び3日後まで持続した。	適§	SN[redacted]383	[資料4.2.1.3.6: SN[redacted]383]

†：その他の評価した心エコー検査は、左室駆出時間、左室前駆出時間、左室前駆出時間／駆出時間比、心室中隔厚（収縮期及び拡張期）、左室後壁自由壁厚（収縮期及び拡張期）、円周短縮速度、1回仕事量、収縮能及び左室心室内径（拡張期）である。
‡：心エコーのデータの収集を除く
§：サルへの外科的処置を除く
追加情報：
- ラットの心血管系試験で、90 mg/kgのDay 28でのC_{max}の平均値は4565 ng/mLであった[資料4.2.1.3.4: SN[redacted]122]。
- サルの心血管系試験で、無影響量（13 mg/kg）のDay 7でのC_{max}の平均値は4000 ng/mLであった[資料4.2.1.3.5: SN[redacted]117]。
- サルの心血管系試験で、40 mg/kgのDay 7でのC_{max}の平均値は17800 ng/mLであった[資料4.2.1.3.6: SN[redacted]383]。

Confidential

2.6.3.4　安全性薬理試験（3 of 3）

被験物質：ポサコナゾール

評価対象となる臓器	試験系	投与方法	投与量(mg/kg/回)	性別・例数	試験成績	GLP適用	報告書番号	記載箇所
呼吸系 呼吸数、1回及び分時換気量	無麻酔拘束ラット	急速静脈内	30、60 単回	雌雄：各6例	呼吸数、1回換気量及び分時換気量に影響なし。 無影響量：60 mg/kg	適	SN[redacted]330	[資料4.2.1.3.7: SN[redacted]330]
腎/泌尿器系 尿量、尿中ナトリウム及びカリウム排泄量	ラット	経口	30 単回	雄：10例	投与後5時間に尿量が減少した。	不適	D-27192	[資料4.2.1.3.1: D-27192]
			3、10、30 単回	雄：8例	30 mg/kg まで腎機能に影響はみられなかった。			
			30 1日1回、5日間	雄：12例	Day 1、3及び4で投与後6時間に尿量が減少した。Day 1、4及び5で投与後24時間にナトリウム排泄が軽度減少した。			
胃腸管系 胃潰瘍形成能	ラット	経口	30 単回	雄：8例	30 mg/kg の単回経口投与により、胃潰瘍形成は認められなかった。	不適	D-27192	[資料4.2.1.3.1: D-27192]
胃内容排出能	ラット	経口	30 単回	雄：8例	30 mg/kg の単回経口投与により、胃内容排出能に影響は認められなかった。	不適	D-27192	[資料4.2.1.3.1: D-27192]

追加情報：
- ラットの呼吸系試験で、無影響量（60 mg/kg）投与の約8時間後でのポサコナゾールの血漿中濃度は雌雄で、それぞれ10800 ± 821及び9360 ± 1620 ng/mL であった[資料4.2.1.3.7: SN[redacted]330]。

2.6.3.5　薬力学的薬物相互作用試験

[2.6.3.2 項]に記載した。

C Confidential