CTD 第 2 部

2.6　非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.6　毒性試験の概要文

MSD 株式会社

目次

表一覧
略号及び用語の定義
2.6.6　毒性試験の概要文
2.6.6.1　まとめ
2.6.6.2　単回投与毒性試験
2.6.6.3　反復投与毒性試験
2.6.6.3.1　rasH2野生型マウスを用いた1ヵ月間経口投与用量設定及びトキシコキネティクス試験（TT #[redacted]-6010）
2.6.6.4　遺伝毒性試験
2.6.6.5　がん原性試験
2.6.6.5.1　ICH S1B（R1）（医薬品のがん原性試験に関するガイドラインの補遺）に基づく WoE アプローチによるがん原性リスク評価
2.6.6.5.2　短期又は中期がん原性試験
2.6.6.5.2.1　CByB6F1/Tg rasH2（ヘミ接合）マウスを用いた26週間経口投与がん原性試験（TT #[redacted]-9016）
2.6.6.6　生殖発生毒性試験
2.6.6.7　局所刺激性試験
2.6.6.8　その他の毒性試験
2.6.6.8.1　トランスジェニックマウス（野生型）を用いた探索的2週間経口投与トキシコキネティクス試験（TT #[redacted]-6068）
2.6.6.9　考察及び結論
2.6.6.10　参考文献

表一覧

表 2.6.6-1　臓器移植患者における使用を支持するためのレテルモビルの毒性試験
表 2.6.6-2　レテルモビルを投与したマウスにおける平均（±SE）血漿中レテルモビルの TK パラメータ：試験4週（TT #[redacted]-6010）
表 2.6.6-3　レテルモビルを投与したマウスにおける平均（±SE）血漿中レテルモビルの TK パラメータ：試験1日（TT #[redacted]-6068）
表 2.6.6-4　レテルモビルを投与したマウスにおける平均（±SE）血漿中レテルモビルの TK パラメータ：試験14日（TT #[redacted]-6068）

略号及び用語の定義

略号	定義	
AUC	Area under the concentration-time curve	濃度－時間曲線下面積
AUC0-24hr	Area under the concentration-time curve from zero to 24 hours	投与後0時間から24時間までの AUC
CAR	Constitutive androstane receptor	—
Cmax	Maximum concentration	最高濃度
CMV	Cytomegalovirus	サイトメガロウイルス
DNA	Deoxyribonucleic acid	デオキシリボ核酸
EU	European Union	欧州連合
FDA	Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
hr	Hour	時間
HSCT	Hematopoietic stem cell transplant	造血幹細胞移植
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use	医薬品規制調和国際会議
NOAEL	No-observed-adverse-effect level	無毒性量
NOEL	No-observed-effect level	無影響量
NMU	N-Nitrosomethylurea	N-ニトロソメチル尿素
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development	経済協力開発機構
PMDA	Pharmaceuticals and Medical Devices Agency	独立行政法人医薬品医療機器総合機構
PXR	Pregnane X receptor	—
SE	Standard Error	標準誤差
TK	Toxicokinetics	トキシコキネティクス
Tmax	Time of maximum concentration	最高濃度到達時間
WoE	Weight of Evidence	証拠の重み付け

2.6.6　毒性試験の概要文

2.6.6.1　　まとめ

MK-8228（一般名：レテルモビル、商品名：プレバイミス®錠240 mg／点滴静注240 mg）はウイルスの DNA ターミナーゼ複合体阻害作用を有する抗 CMV 薬であり、米国、EU 及び日本を含む複数の国で承認されている。CMV 抗体陽性の成人同種 HSCT 患者における CMV 感染及び感染症の予防投与を適応として米国及び EU で、また、同種 HSCT 患者における CMV 感染症の発症抑制を適応として本邦で承認されている。本承認事項一部変更承認申請は、成人臓器移植患者における CMV 感染症の発症抑制へのレテルモビルの適応拡大を目的としている。

レテルモビルの製造販売承認申請（以下、初回申請）時に包括的な非臨床安全性評価は完了している。非臨床安全性評価として、in vitro 及び in vivo の標準的な組み合わせの安全性薬理及び遺伝毒性試験、ラット及びマウスでの経口及び静脈内投与急性毒性試験、マウス（最長3ヵ月）、ラット（最長6ヵ月）及びサル（最長9ヵ月）での反復経口投与毒性試験、ラット及びサルでの4週間静脈内投与毒性試験、ラット及びウサギでの静脈内投与局所忍容性試験、一連の生殖発生毒性試験、並びに雄ラットでの幼若動物毒性試験を実施した。また、本適応追加に伴い臨床投与期間が6ヵ月以上となるため、CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic ヘミ接合マウスを用いた6ヵ月間がん原性試験を初回申請以降に追加で実施した。加えて、6ヵ月間がん原性試験の用量設定のために、rasH2 トランスジェニックマウス（野生型）を用いた探索的2週間経口投与 TK 試験並びに1ヵ月間用量設定及び TK 試験を実施した。

非臨床モジュールでは[表 2.6.6-1]及び[2.6.7.1 項]に示した追加試験及び2年間ラットがん原性試験の代替として実施した WoE に基づくがん原性リスク評価[2.6.6.5.1 項]に関してのみ考察し、以降の項に詳細を記載する。すべての重要な試験は GLP に準拠して Merck Research Laboratories（フランス、Riom）又は[redacted]（米国、[redacted]、[redacted]）にて実施した。米国及びフランスは OECD 加盟国であるため、OECD データ相互受け入れ制度が適用される。すべての GLP 試験報告書には GLP 陳述書が含まれる。これらの試験ではレテルモビルの TK 評価も実施した[2.6.7.2 項] [2.6.7.3 項]。

表 2.6.6-1　　臓器移植患者における使用を支持するためのレテルモビルの毒性試験

Study Type/ Duration	Route	Species	Dose Levels (mg/kg)	NOAEL/NOEL (mg/kg)	Study No. (GLP Status)
Repeat-dose toxicity					
1-month DRF with TK	Oral (gavage)	Mouse CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic (wt/wt)	0, 50, 150, 300	NOAEL: 300 (F), 150 (M)	TT #[redacted]-6010 (GLP)
Carcinogenicity					
Carcinogenicity	Oral (gavage)	Mouse CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic (Hemizygous)	0, 5, 25, 150 (M); 0, 10, 100, 300 (F)	NOEL for neoplastic changes: ≥150 (M), 100 (F)[a]; NOEL for non-neoplastic changes: 25 (M), 100 (F)[b]	TT #[redacted]-9016 (GLP)
Other toxicity studies					
Exploratory 2-week TK	Oral (gavage)	Mouse CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic (wt/wt)	50, 100, 300, 1000	N/A	TT #[redacted]-6068 (Non-GLP)

DRF=dose range-finding; F=female; GLP=Good Laboratory Practice; M=male; N/A=not applicable; NOAEL=no-observed-adverse-effect level; NOEL=no-observed-effect level; TK=toxicokinetic.

a: Letermovir-related neoplastic findings observed in the forestomach of females dosed at 300 mg/kg/day were considered to be through a non-genotoxic process that was a result of an adaptive response to the presence of high concentration of a poorly soluble and mildly irritant test article in the stomach, and were not relevant to humans because humans do not have a forestomach [2.6.6.5.2.1 項].

b: Letermovir-related non neoplastic findings were limited to non-adverse hepatic centrilobular hypertrophy, correlating with increased size and/or discoloration/prominent lobular pattern of the liver observed at necropsy. These non-adverse liver changes have already been observed in previously completed rodent studies (TT #[redacted]-7854 and TT #[redacted]-7818, previously submitted in the original marketing application), and were considered to be an adaptive response to the induction of hepatic enzymes related to metabolism of letermovir [2.6.6.5.2.1 項].

rasH2（+/−ヘミ接合 c-Ha-ras）トランスジェニックマウスは Saitoh ら(1990) [4.3: 03RQLG]によって確立され、ヒトプロト型 c-Ha-ras 遺伝子がプロモーター／エンハンサーとともに導入されている[4.3: 03RQLG]。rasH2トランスジェニックマウスモデルは遺伝毒性及び非遺伝毒性発がん物質の検出に推奨されている。

CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic ヘミ接合マウスを用いた6ヵ月間がん原性試験の用量は、rasH2トランスジェニックマウス（野生型）を用いた探索的2週間 TK 試験及び GLP 下で実施した1ヵ月間用量設定及び TK 試験の結果に基づいて設定し、用量設定について[redacted]。高用量（雌300 mg/kg/日、雄150 mg/kg/日）は最大耐量であり、rasH2トランスジェニックマウス（野生型）での探索的2週間 TK 試験では1000 mg/kg/日群の雌雄で死亡がみられ、rasH2トランスジェニックマウス（野生型）での1ヵ月間用量設定及び TK 試験では、300 mg/kg/日群の雄で顕著な体重増加量の減少（対照群と比較して-53%）が認められた。

CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic ヘミ接合マウスを用いた6ヵ月間経口投与がん原性試験では、レテルモビルに関連した増殖性病変は高用量群（300 mg/kg/日）の雌でみられた非腺胃（前胃）の扁平上皮

粘膜における限局性の反応性過形成及び良性乳頭腫の発生頻度の増加のみであった。[2.6.6.5.2.1 項]に詳細を述べるように、これらの所見は難溶性で刺激性の被験物質がげっ歯類の前胃に持続的に高濃度で存在したことに対する適応反応と考えられ、ヒトには前胃がないことからヒトには外挿されない。有害な非腫瘍性の病理組織学的所見はみられなかった。

また、ICH S1B（R1）ガイドライン（医薬品のがん原性試験に関するガイドラインの補遺、2022年8月 Step 4）により、WoE アプローチに基づいたがん原性リスク評価の概念が導入された。入手可能なすべての薬理学的、生物学的及び毒性学的データに基づく WoE アプローチによるがん原性リスク評価（詳細は[2.6.6.5.1 項]参照）結果から、レテルモビルのヒトに対するがん原性リスクはないとの結論が支持された。よって、2年間ラットがん原性試験の実施はヒトのがん原性リスク評価に付加価値を与えるものではなく、適応追加に伴う臨床投与期間の延長を支持するための2年間ラットがん原性試験の実施は不要であると考えられた。この結論について FDA 及び PMDA [[redacted]相談（#[redacted]、[1.13.2 項])］から合意を得られた。

以上より、レテルモビルの初回申請時に実施した包括的な非臨床安全性プログラム及び追加のがん原性評価から、臓器移植患者におけるレテルモビルの使用（臨床投与期間の延長を含む）が支持される。

2.6.6.2 単回投与毒性試験

追加の単回投与試験は実施しなかった。

2.6.6.3 反復投与毒性試験

2.6.6.3.1 rasH2野生型マウスを用いた1ヵ月間経口投与用量設定及びトキシコキネティクス試験（TT #[redacted]-6010）

本試験の目的は、レテルモビルを rasH2トランスジェニックマウス（野生型）に1日1回、約1ヵ月間経口投与した際の毒性及び TK を明らかにすることであり、本試験結果を基に rasH2トランスジェニックマウスを用いた6ヵ月間がん原性試験の用量選択が行われた[2.6.7.7.A 項]。

rasH2トランスジェニックマウス（野生型）を毒性評価及び TK 評価用にそれぞれ4群に割り付け、そのうち3群（レテルモビル投与群）には0.5%（w/v）Tylose 脱イオン水（溶媒）に懸濁したレテルモビルを50、150又は300 mg/kg/日の用量で投与し、1群（対照群）は溶媒のみを投与した。毒性評価用として10匹／性／群を、TK 評価用としてレテルモビル投与群は11匹／性／群、対照群は5匹／性／群のマウスを用いた。投与容量はすべての動物で10 mL/kg とした。rasH2トランスジェニックマウス（野生型）を用いた探索的2週間 TK 試験において1000 mg/kg/日群の雌雄で死亡がみられたことに基づいて、本試験では高用量群として300 mg/kg/日を設定した[2.6.6.8.1 項]。

毒性試験群では、死亡、一般状態観察、体重、臨床検査及び病理検査に基づき毒性を評価した。TK 群では観察は生死の確認のみに限定し、投与群及び対照群の検体を用いて血漿中薬物濃度を測

定した。

被験物質に関連した計画外の死亡はなく、また被験物質に関連した一般状態の変化もみられなかった。被験物質に関連した生前検査所見は、雄の300 mg/kg/日群の平均体重増加量の低下（同時対照群と比較して-53%）のみであった。

血液学的検査では被験物質に関連した所見はみられなかった。血液生化学検査では、被験物質に関連した有害ではない変化が150 mg/kg/日以上の群で認められた。300 mg/kg/日群の雌雄で被験物質に関連した非常に軽度な平均アラニンアミノトランスフェラーゼ活性の増加がみられた（同時対照群の平均値と比較してそれぞれ+53%及び+83%）。さらに、150 mg/kg/日群の雌2匹ではアラニンアミノトランスフェラーゼ活性値が同時対照群の値の範囲を超えていた。300 mg/kg/日群の雄で非常に軽度な平均コレステロール及びトリグリセリド濃度の低下（同時対照群の平均値と比較してそれぞれ-52%及び-46%）が、300 mg/kg/日群の雌で非常に軽度な平均アルブミン濃度の低下（同時対照群の平均値と比較して-10%）が認められた。これらの血液生化学検査の所見は変化の程度が小さいため有害ではないと判断された。

被験物質に関連した病理検査所見は肝臓の小葉中心性肥大のみであり、すべての投与群の雄及び150 mg/kg/日以上の群の雌で発生頻度及び重症度が増加していた。この所見は50 mg/kg/日群の雄及び150 mg/kg/日以上の群の雌雄での肝臓重量の増加、並びに剖検で観察された150 mg/kg/日以上の群の雌雄での肝臓の大型化及び／又は退色／小葉構造の明瞭化と関連していた。これらの有害ではない肝臓の変化は、過去に実施したげっ歯類の試験（TT#[redacted]-7854及びTT#[redacted]-7818、[1.13.1.3項] 2.6.6.3.1項及び2.6.6.3.4 項）でもすでに観察されており、レテルモビルの投与に関連した肝酵素誘導によって引き起こされた適応反応と考えられた。

TK パラメータを[表 2.6.6-2]に示す。

表 2.6.6-2 レテルモビルを投与したマウスにおける平均（±SE）血漿中レテルモビルの TK パラメータ：試験 4 週（TT #[redacted]-6010）

Dose (mg/kg/day)	Sex	AUC0-24hr (ng*hr/mL)	Cmax (ng/mL)	Tmax (hr)
50	Female	51,200 ± 5700	14,800 ± 407	1.0 ± NC
	Male	68,500 ± 13,300	22,000 ± 2540	1.0 ± NC
	All	59,900 ± 7620	18,400 ± 1990	1.0 ± NC
150	Female	161,000 ± 22,800	31,100 ± 1830	1.0 ± NC
	Male	72,500 ± 9250	25,900 ± 3750	1.0 ± NC
	All	117,000 ± 23,300	28,500 ± 2190	1.0 ± NC
300	Female	190,000 ± 37,300	31,500 ± 4810	1.0 ± NC
	Male	168,000 ± 27,100	30,500 ± 5980	1.0 ± NC
	All	179,000 ± 20,900	31,000 ± 3440	1.0 ± NC
NC=Not Calculated.				

血漿中レテルモビルの AUC0-24hr 及び Cmax に明らかな性差はみられず、また、50 mg/kg/日群と300 mg/kg/日群の間で曝露量は用量比未満の増加を示した。

以上の結果に基づき、NOEL は雌で50 mg/kg/日、雄で<50 mg/kg/日であった。300 mg/kg/日群の雄で体重増加量の減少が認められたことから、NOAEL は雌で300 mg/kg/日（曝露量は HSCT 患者に推奨用量480 mg を静脈内投与した際の AUC 99,960 ng*hr/mL の約2倍）、雄で150 mg/kg/日（曝露量は HSCT 患者に推奨用量480 mg を静脈内投与した際の AUC 99,960 ng*hr/mL の約1倍）であった。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

追加の遺伝毒性試験は実施しなかった。

2.6.6.5 がん原性試験

2.6.6.5.1 ICH S1B（R1）（医薬品のがん原性試験に関するガイドラインの補遺）に基づく WoE アプローチによるがん原性リスク評価

ICH S1B（R1）ガイドライン（医薬品のがん原性試験に関するガイドラインの補遺、2022年8月 Step 4）により、WoE アプローチに基づいたがん原性リスク評価の概念が導入された。入手可能なすべての薬理学的、生物学的及び毒性学的データ（後述）に基づく WoE アプローチによるがん原性リスク評価を実施し、レテルモビルのヒトに対するがん原性リスクはないとの結論が支持された。よって、2年間ラットがん原性試験の実施はヒトのがん原性リスク評価に付加価値を与えるものではなく、適応追加に伴う臨床投与期間の延長を支持するための2年間ラットが

ん原性試験の実施は不要であると考えられた。

WoE に基づいたがん原性リスク評価結果を下記に記す（詳細は[4.2.3.4.1 項] WoE 評価文書を参照）。

- レテルモビルの薬理標的は哺乳類に存在しない外因性標的である

レテルモビルは CMV DNA ゲノムの切断及びパッケージングに重要な役割を果たしている CMV ターミナーゼ複合体の非ヌクレオシド低分子阻害薬である。したがって、レテルモビルの作用機序は現在市販されているウイルス DNA ポリメラーゼを阻害する他の抗 CMV 薬とは異なる。レテルモビルは DNA の複製を阻害しない。ウイルスのターミナーゼ複合体はヒトには存在しないことから、作用機序に基づく毒性は発現しないと考えられる。

- 副次的薬理試験においてオフターゲット作用の懸念はみられなかった

レテルモビルのオフターゲット作用に基づくがん原性の懸念は予想されない。放射能標識リガンドを用いた63種類の結合試験（哺乳類の各種受容体及び酵素との相互作用）では、試験で用いた濃度（10 μM）においてレテルモビルに顕著なオフターゲット活性はみられなかった（[1.13.1.3 項] 2.6.2.3 項）。

- 反復投与毒性試験においてがん原性を示唆する所見はみられなかった

マウス、ラット及びサルを用いた反復投与毒性試験では、潜在的ながん原性を示唆する病理組織学的所見（増殖性病変等）は認められなかった（[1.13.1.3 項] 2.6.6.3 項）。

ラットでは、毒性標的臓器は180 mg/kg/日以上（曝露量は HSCT 患者に推奨用量480 mg を静脈内投与した際の AUC 99,960 ng*hr/mL の3倍以上）の雄生殖器に限定され、所見として両側性の精細管変性、精子数及び運動能の減少を伴う精巣重量の減少、雄受胎能の低下が認められた。また、反復投与毒性試験では60 mg/kg/日以上で軽度の有害ではない肝細胞肥大及び肝重量の増加がみられたが、最長6ヵ月間（ラットの平均寿命の約1/4～1/5）の試験まで肝細胞過形成への進行は認められなかった。これらの有害ではない肝臓の変化は代謝酵素誘導に関連した変化である。ヒト肝細胞を用いた in vitro 試験では、レテルモビルは CYP3A4 mRNA の発現を誘導し、わずかに CYP2B6 mRNA の発現誘導もみられた（[1.13.1.3 項] 2.6.4.7.3 項）。これらの結果から、レテルモビルでみられたラットにおける肝細胞肥大は CAR/PXR 経路の活性化を介したものと推察され、この経路はヒトにおける肝発がん機序には外挿されないと考えられている[4.3: 0428LH][4.3: 0428LJ][4.3: 084B48]。重要なこととして、肝臓の変化は4週間の休薬期間後に回復した（又は回復傾向がみられた）。全体として、ラットの反復投与試験では、がん原性リスクを示唆すると考えられるびまん性及び／又は限局性過形成、持続的な組織損傷及び／又は慢性炎症、前がん病変並びに腫瘍は認められなかった。

マウスの反復投与毒性試験では、毒性標的臓器は認められなかった。CD-1マウスでの病理組織学的変化は有害ではない肝細胞肥大（肝重量の増加を伴う）に限られた。肝細胞肥大は rasH2 トランスジェニックマウスを用いた6ヵ月間がん原性試験で肝細胞過形成への進行はみられな

かった。したがって、ラットと同様に、この有害ではない肝臓の変化は代謝酵素誘導に関連した変化と考えられる。

サルでは、最長9ヵ月間の試験で実施した病理組織学的検査において毒性標的臓器は認められなかった。

- 内分泌系及びホルモンかく乱作用によるがん原性リスクの証拠はない

マウス及びサルを用いた反復投与毒性試験では、いずれの内分泌器官においても、被験物質に関連した器官重量の変化や病理組織学的変化は認められなかった。ラットでは、雄生殖器の所見として、精巣重量の低下、両側性の精細管変性、精子数及び運動能の低下並びにそれに伴う雄受胎能の低下が認められた。その他の雄生殖器又は内分泌器官には器官重量の変化及び病理組織学的変化が認められなかったことから、雄生殖器の所見はレテルモビルの雄生殖器に対する直接的影響に起因している可能性が示唆された。ラット雄受胎能試験では、レテルモビルのセルトリ細胞に対する影響の2次的変化として血清インヒビン B の減少がみられた。レテルモビルの毒性試験で認められた雄生殖器の所見は、ボセプレビル（C 型肝炎ウイルス NS3/4A プロテアーゼ阻害剤）で認められた所見と一致していた。ボセプレビルでは、精巣における変性（セルトリ細胞毒性を含む）はラットのみでみられ、マウス及びサルでは精巣毒性が認められなかった。また、ボセプレビルの第I相及び第II相試験におけるインヒビン B 及び精液のモニタリングではヒトで精巣毒性の証拠はみられず、2年間ラットがん原性試験では薬物に関連した腫瘍の発現は確認されなかった[4.3: 084B4L][4.3: 084B4Q]。レテルモビルの第III相試験では、男性患者の性腺毒性のバイオマーカー（血清インヒビン B、黄体形成ホルモン、卵胞刺激ホルモン及びテストステロン）を評価した結果、レテルモビルによる精巣毒性の証拠は認められなかった[2.7.4 項]。サル及びマウスにレテルモビルを投与しても雄生殖器毒性はみられず、また、第III相試験でも精巣毒性のバイオマーカーに変化がなかったことから、ラットの精巣毒性は種特異的な所見であることが示唆された。

ラット雌受胎能試験で変化は認められず、また胚・胎児発生に関する試験及び出生前及び出生後の発生に関する試験においてホルモンかく乱作用の所見はみられず、内分泌器官の変化も認められなかった。

サルの3ヵ月間雄受胎能試験では、ホルモン（テストステロン、インヒビン B 及び卵胞刺激ホルモン濃度）に変化はみられず、サルを用いた複数の反復投与毒性試験でも被験物質に関連した器官重量の変化又は病理組織学的検査における内分泌系の変化は認められなかった。

rasH2トランスジェニックマウスの6ヵ月間がん原性試験では、内分泌系の器官重量の変化又は病理組織学的変化は認められなかった[2.6.6.5.2.1 項]。

要約として、いずれの毒性試験又は生殖発生毒性試験においても、内分泌又はホルモンかく乱作用に関連すると考えられるがん原性リスクの証拠は認められなかった。

- In vitro 及び in vivo 試験においてレテルモビルに遺伝毒性はない

ICH ガイダンスに従って実施した標準的な組合せの in vitro 及び in vivo 遺伝毒性試験（細菌を用いた復帰突然変異試験、in vitro 染色体異常試験、in vivo マウス骨髄小核試験を含む）において、レテルモビルに遺伝毒性はみられなかった。In vitro 遺伝毒性試験では、細胞毒性を誘発する濃度までレテルモビルの変異原性及び染色体異常誘発性を確認した。雄マウスを用いた小核試験でも同様に、最大耐量まで投与を行った。

- レテルモビルに免疫抑制作用の証拠はない

反復投与毒性試験において免疫抑制の証拠は認められなかった。いずれの動物種においても、投与した最高用量まで白血球減少／白血球増加症、顆粒球減少／顆粒球増加症、リンパ球減少／リンパ球増加症などの血液学的変化は認められなかった。免疫系組織（リンパ系、骨髄及び胸腺）における器官重量の変化及び／又は病理組織学的変化は認められなかった。血清グロブリンなどの関連する血液生化学的パラメータに顕著な変化は認められなかった。ラットを用いた反復投与毒性試験では、脾細胞数測定、脾細胞のイムノフェノタイピング検査、血清抗体価及び／又はプラーク形成細胞アッセイなどの特定の免疫毒性エンドポイントを評価した。これらのエンドポイントのうち、試験報告書に記載された変化は、CD4陽性 T 細胞、B 細胞、抗原提示細胞、CD 45^{total} 及び CD 45^{low} 細胞の軽度増加、並びに CD 45^{high} 細胞の減少のみであった。([1.13.1.3 項] 2.6.6.3.3 項及び2.6.6.3.4 項)。非臨床データを総合的に考察すると、これらの変化は有害ではなく、免疫抑制を示唆する変化ではないと考えられる。

- rasH2トランスジェニックマウスを用いた6ヵ月間がん原性試験において懸念すべき所見はみられなかった

rasH2トランスジェニックマウスを用いた6ヵ月間経口投与がん原性試験では、レテルモビルに関連した増殖性病変は、高用量群（300 mg/kg/日）の雌のみにみられた非腺胃部（前胃）における良性乳頭腫及び限局性反応性過形成に限定された。良性乳頭腫はがんには進展せず、乳頭腫組織の増殖が比較的遅いことが示唆された。[2.6.6.5.2.1 項]に示すとおり、これらの変化は、げっ歯類の前胃に溶解性が低く刺激性のある被験物質が高濃度で長時間滞留したことに伴う非遺伝毒性的な反応性変化であると考えられ、ヒトは前胃を持たないことから、ヒトには外挿されない変化と考えられた。

- ヒトと毒性試験で用いた動物種間のレテルモビルの代謝及び分布は類似している

ヒトと毒性試験で用いた動物種間の in vitro におけるレテルモビルの代謝は定性的に類似しており、in vivo における生体内変化の経路は推定可能であった。吸収、分布、代謝及び排泄試験では、レテルモビル及び酸化的代謝物（M5）がラット血漿中の主要な放射活性物質であり、投与24時間後の主要な薬物関連物質は M5であった。ヒトでは、レテルモビルが血漿中の主要な（～97%）放射活性物質であり、主要な循環代謝物が存在しないことが示唆された。

- 市販後にがんに関連する安全性シグナルは報告されていない

2017年11月1日から2022年5月1日にかけて蓄積された市販後データ（約111,957人のレテルモビル服用患者を含む）において、がんに関連する安全性シグナルは報告されていない。

- レテルモビルは患者生涯の大半にわたって投与される医薬品ではない

レテルモビルの継続使用期間は約200日（6ヵ月と約2週間）が目安とされている。この期間は患者の生涯において大半を占める期間ではなく、がん原性試験の必要性を判断する際の基準の一つとしてICH S1Aガイドライン（医薬品におけるがん原性試験の必要性に関するガイダンス）で示された臨床投与期間（少なくとも6ヵ月）をわずかに超えるのみである。患者の生涯において、200日（6.5ヵ月）と6ヵ月は毒性学的に意味のある差ではないと考えられる。また、レテルモビルは反復して使用されるものではなく、慢性又は再発する状況下での治療を目的としたものでもない。

概して、上述のWoEに基づいたリスク評価からレテルモビルのヒトに対するがん原性は十分に評価され、ヒトに対するがん原性リスクはないと考えられた。ICH S1B(R1)ガイドラインに基づき、2年間ラットがん原性試験の実施はヒトがん原性リスク評価に付加価値を与えるものではなく、適応追加に伴う臨床投与期間の延長を支持するための2年間ラットがん原性試験の実施は不要であると考えられる。

2.6.6.5.2　短期又は中期がん原性試験

2.6.6.5.2.1　CByB6F1/Tg rasH2（ヘミ接合）マウスを用いた26週間経口投与がん原性試験（TT #[redacted]-9016）

本試験の目的は、レテルモビルを CByB6F1/Tg rasH2 ヘミ接合（トランスジェニック）マウスに約6ヵ月間にわたり連日経口投与した際のがん原性を評価することであった[2.6.7.10.A 項]。

トランスジェニックマウスをがん原性評価のため6群（雌雄各25匹）に割り付け、0.5%（w/v）Tylose 脱イオン水（溶媒）に懸濁したレテルモビル投与群［5/10、25/100若しくは150/300 mg/kg/日（雄／雌）、3群］、溶媒のみを投与する対照群（2群）又は水のみを投与する対照群（1群）を設定した。それに加え TK 評価のため、3匹／性のマウス（非トランスジェニック）を同様に6群に割り付けた。さらに、陽性対照群として雄15匹及び雌15匹にリン酸緩衝生理食塩水（pH 4.5）に溶解した NMU を75 mg/kg の用量で試験1日目に1回腹腔内投与した。投与容量はすべての動物で10 mL/kg とした。高用量（雄：150 mg/kg/日、雌：300 mg/kg/日）は最大耐量であり、この用量は rasH2 トランスジェニックマウス（野生型）を用いた2週間 TK 試験の1000 mg/kg/日の雌雄でみられた死亡、及び rasH2 トランスジェニックマウス（野生型）を用いた1ヵ月間用量設定及び TK 試験の300 mg/kg/日群の雄でみられた体重増加量の顕著な減少に基づき決定された。

毒性の評価は、死亡、一般状態観察、腫瘤の触診、体重、摂餌量、病理検査に基づき実施した。投与群及び対照群の検体を用いて血漿中薬物濃度測定も行った。

被験物質に関連した死亡あるいは一般状態の変化はみられなかった。被験物質に関連した生前検査所見は、高用量群の雄における摂餌量の減少並びに平均体重（溶媒対照群と比較して-13%）及び平均体重増加量の減少（溶媒対照群と比較して-50%）のみであった。

レテルモビル300 mg/kg/日投与群の雌では、非腺胃（前胃）の扁平上皮粘膜における限局性の反応性過形成及び良性乳頭腫の発生頻度の増加がみられた。良性乳頭腫はがんには進行せず、乳頭腫組織の増殖が比較的遅いことが示唆された。増殖性及び前腫瘍性の変化はより低い用量では認められなかった。

以降に述べるとおり、これらの前胃の増殖性変化は、難溶性で刺激性のある被験物質が胃に高濃度で存在したことによる適応反応の結果、非遺伝毒性的なプロセスを経て生じたものと考えられ、ヒトは前胃を持たないことからヒトへの外挿性はないと考えられる。

レテルモビルは pH[redacted]～[redacted]の範囲における溶解性が低い（約[redacted]～[redacted] mg/mL）ため、マウスの前胃でのレテルモビルの溶解性は低いことが予想される（[1.13.1.3 項] 3.2.P.2.2 項）。In vitro ウシ摘出角膜を用いた混濁度及び透過性試験（TT #[redacted]-7826、[1.13.1.3 項] 2.6.6.7.1 項）においてレテルモビルの刺激性が認められている。刺激性物質に対する局所反応と一致して、前胃粘膜における反応性過形成では粘膜固有層下部及び粘膜下層への炎症細胞浸潤を伴っていた。げっ歯類では、持続的な刺激により前胃の過形成及び良性乳頭腫が生じることが報告されている[4.3: 07W2K4] [4.3: 07W2K9] [4.3: 07W2K5] [4.3: 07W2K6] [4.3: 07W2K3] [4.3: 07W2K8]。In vitro 及び in vivo の標準的

な組み合わせの遺伝毒性試験においてレテルモビルは変異原性又は遺伝毒性を示さず（TT #[redacted]-5595、TT #[redacted]-7822、TT #[redacted]-5596、TT #[redacted]-7823、TT #[redacted]-7824、[1.13.1.3 項] 2.6.6.4 項）、その他の組織でも被験物質に関連した腫瘍の発生頻度の増加はみられなかった。一方、遺伝毒性発がん物質である NMU を投与した陽性対照群では、予想されたとおり過形成は伴わない前胃乳頭腫が高頻度でみられ、その他の組織でも腫瘍の発生が認められた。陽性対照群の前胃で認められた乳頭腫は過形成を伴っていなかったことから、遺伝毒性物質誘発性の腫瘍形成プロセスの急速な進行が示唆された。

ヒトは前胃を持たないことから、300 mg/kg/日群の雌でみられたレテルモビルに関連した前胃の限局性反応性過形成及び良性扁平上皮乳頭腫は、ヒトへの外挿性はないと考えられた[4.3: 07W2K6] [4.3: 07W2K7]。マウスとヒトの胃では重要な解剖学的な差異がある。ヒトの胃はマウスにおける腺胃に相当し、分泌粘液層によって保護されているため、刺激性物質による損傷を受けにくい。被験物質は経口投与時に腺胃にも付着したと考えられるにも関わらず、本試験では被験物質に関連した腺胃の所見はみられなかった。ヒトにおいてマウスの前胃に類似した上皮が口腔内、中咽頭及び食道にみられるが、食物の一時的な貯蔵器官である前胃とは異なり、これらの組織は化合物との接触時間が非常に短く、持続的な局所刺激を受けないことから、前胃と同様の変化が生じるリスクは低い。腺胃での通過時間に加えて、マウス前胃での食物の貯蔵時間は1～3時間以上であり、胃での滞留時間は定期的な給餌や胃の膨満とは無関係である[4.3: 07W2KB]。マウスにおけるこうした生理学的な複雑さがさらに被験物質との接触時間を増加させるため、前胃粘膜を刺激する可能性が高くなる。なお、本試験ではマウスの食道に増殖性病変はみられなかった。

レテルモビルに関連した非腫瘍性病変として300 mg/kg/日群の雌及び150 mg/kg/日群の雄で肝細胞肥大が認められた。この変化は剖検時に認められた肉眼的所見である肝臓の大型化及び小葉構造の明瞭化に関連していた。これらの有害ではない肝臓の変化は、過去に実施したげっ歯類の試験でもすでに観察されており（TT #[redacted]-7854及び TT #[redacted]-7818、[1.13.1.3 項] 2.6.6.3.1項及び2.6.6.3.4項）、レテルモビルの投与に関連した肝酵素誘導によって引き起こされた適応反応と考えられた。

TK 評価は限られたサンプルでしか行わなかったが（試験182日の投与後1時間のみ）、レテルモビルの血漿中濃度はすべての投与群で認められた。投与後1時間の平均血漿中レテルモビル濃度は雌雄いずれにおいても用量依存的に上昇し、rasH2トランスジェニックマウス（野生型）を用いた用量設定試験で測定した濃度と同程度の値を示した。

300 mg/kg/日群の雌でみられた被験物質に関連した非腺胃部（前胃）扁平上皮粘膜の限局性反応性過形成及び良性乳頭腫の発生頻度の増加に基づき、腫瘍性病変に対する NOEL は雌で100 mg/kg/日、雄で150 mg/kg/日以上であった。上述のとおり、前胃でみられたこれらの良性の腫瘍性病変は、げっ歯類の前胃におけるレテルモビルの持続的な局所刺激に対する適応反応であり、ヒトは前胃を持たないことから、ヒトには外挿されないと考えられた。300 mg/kg/日の雌及び150 mg/kg/日の雄でみられた肝臓の大型化や小葉構造の明瞭化に関連した有害ではない肝細胞の肥大に基づき、非腫瘍性病変に対する NOEL は雌で100 mg/kg/日であり、雄で25 mg/kg/日であった。これらの変

化はレテルモビルの投与に関連した肝酵素誘導によって引き起こされた適応反応と考えられた。

2.6.6.6　生殖発生毒性試験

追加の受胎能、胚・胎児発生、出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験は実施しなかった。

2.6.6.7　局所刺激性試験

追加の局所刺激性試験は実施しなかった。

2.6.6.8　その他の毒性試験

2.6.6.8.1　トランスジェニックマウス（野生型）を用いた探索的2週間経口投与トキシコキネティクス試験（TT #[redacted]-6068）

本試験の目的は、レテルモビルをマウスに1日1回、2週間経口投与した際の TK プロファイルを評価することであり、本試験結果に基づき rasH2トランスジェニックマウス（野生型）を用いた1ヵ月間経口投与用量設定及び TK 試験の用量選択を行った[2.6.7.17.A 項]。

rasH2トランスジェニックマウス（野生型）を4群（雌雄各22匹）に割り付け、0.5%（w/v）Tylose 脱イオン水に懸濁したレテルモビルを50、100、300又は1000 mg/kg/日の用量で投与した。投与容量は10 mL/kg とした。

試験1日に9匹／性／群、試験14日に別の9匹／性／群の投与動物の血漿中薬物濃度を測定した（試験3日に早期屠殺した高用量群の動物を除く）。さらに、死亡、一般状態観察、体重、摂餌量を評価し、挿管時の事故により早期死亡した動物のみ剖検も実施した。

試験1日から試験3日の間に1000 mg/kg/日群の雌雄で被験物質に関連した計画外の死亡がみられた。早期に死亡あるいは屠殺されたいずれの動物でも挿管時の事故を示唆する肉眼的変化はみられなかった。これらの計画外の死亡のため、残りの高用量群の動物を試験3日に早期屠殺した。

被験物質に関連した体重への影響として、300 mg/kg/日群の雄で平均体重増加量の減少（他の群との比較）がみられ、300 mg/kg/日群の雌雄で体重減少の頻度の増加（個体値、投与前値との比較）がみられた。

TK パラメータを[表 2.6.6-3]及び[表 2.6.6-4]に示す。

表 2.6.6-3　　レテルモビルを投与したマウスにおける平均（±SE）血漿中レテルモビルの TK パラメータ：試験 1 日（TT #[redacted]-6068）

Day	Dose (mg/kg/day)	Sex	AUC0-24hr (ng*hr/mL)	Cmax (ng/mL)	Tmax (hr)
1	50	Female	62,800 ± 8300	21,700 ± 898	0.50 ± NC
		Male	172,000 ± 66,600	24,000 ± 1500	1.0 ± NC
	100	Female	69,300 ± 16,100	22,700 ± 2670	0.50 ± NC
		Male	152,000 ± 15,200	29,300 ± 638	1.0 ± NC
	300	Female	796,000 ± 69,400	51,900 ± 5440	1.0 ± NC
		Male	942,000 ± 144,000	75,900 ± 15,000	2.0 ± NC
	1000	Female	1,040,000 ± 152,000	80,500 ± 10,800	2.0 ± NC
		Male	1,800,000 ± 93,300	115,000 ± 2050	7.0 ± NC
NC=Not Calculated.					

表 2.6.6-4　　レテルモビルを投与したマウスにおける平均（±SE）血漿中レテルモビルの TK パラメータ：試験 14 日（TT #[redacted]-6068）

Day	Dose (mg/kg/day)	Sex	AUC0-24hr (ng*hr/mL)	Cmax (ng/mL)	Tmax (hr)
14	50	Female	55,100 ± 13,100	11,500 ± 3720	1.0 ± NC
		Male	81,100 ± 14,300	21,300 ± 4970	1.0 ± NC
	100	Female	66,700 ± 6170	17,000 ± 2160	1.0 ± NC
		Male	119,000 ± 31,400	26,700 ± 4400	1.0 ± NC
	300	Female	159,000 ± 14,400	28,700 ± 4380	1.0 ± NC
		Male	274,000 ± 84,300	23,500 ± 10,700	2.0 ± NC
NC=Not Calculated					

試験1日及び14日における雄の AUC0-24hr 及び Cmax は、おおむね雌よりも高い値を示した。ただし50 mg/kg/日群（試験1日）及び300 mg/kg/日群（試験14日）では雄の平均 Cmax は雌と同程度の値であった。

試験1日における雌雄の AUC0-24hr は、50 mg/kg/日群と100 mg/kg/日群間では用量比未満の増加を示した。100 mg/kg/日群と300 mg/kg/日群間では用量比を超える増加を示し、300 mg/kg/日群と1000 mg/kg/日群間では用量比未満の増加を示した。そのほか、試験14日における AUC0-24hr 並びに試験1日及び14日における Cmax の値は、雌雄でおおむね用量比未満の増加を示し、試験14日における雄の平均 Cmax はすべての用量で同様の値を示した。

結論として、1000 mg/kg/日は耐用量を超えていた。

2.6.6.9　考察及び結論

レテルモビルの初回申請時に、包括的な非臨床安全性評価は完了している。非臨床安全性評価として、in vitro 及び in vivo の標準的な組み合わせの安全性薬理及び遺伝毒性試験、ラット及びマウスでの経口及び静脈内投与急性毒性試験、マウス（最長3ヵ月）、ラット（最長6ヵ月）及びサル（最長9ヵ月）での反復経口投与毒性試験、ラット及びサルでの4週間静脈内投与毒性試験、ラット及びウサギでの静脈内投与局所忍容性試験、一連の生殖発生毒性試験、並びに雄ラットでの幼若動物毒性試験を実施した。また、本適応追加に伴い臨床投与期間が6ヵ月以上となるため、CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic ヘミ接合マウスを用いた6ヵ月間がん原性試験を初回申請以降に追加で実施した。

CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic ヘミ接合マウスを用いた6ヵ月間がん原性試験の用量は、rasH2 トランスジェニックマウス（野生型）を用いた探索的2週間 TK 試験及び GLP 下で実施した1ヵ月間用量設定及び TK 試験の結果に基づいて設定した。高用量（雌300 mg/kg/日、雄150 mg/kg/日）は最大耐量であり、rasH2 トランスジェニックマウス（野生型）での探索的2週間 TK 試験では1000 mg/kg/日群の雌雄で死亡がみられ（曝露量は HSCT 患者に推奨用量480 mg を静脈内投与した際の AUC 99,960 ng*hr/mL の10倍超）、rasH2 トランスジェニックマウス（野生型）での1ヵ月間用量設定及び TK 試験では、300 mg/kg/日群の雄で顕著な体重増加量の減少（対照群と比較して-53%）が認められた（曝露量は HSCT 患者に推奨用量480 mg を静脈内投与した際の AUC 99,960 ng*hr/mL の約2倍）。

CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic ヘミ接合マウスを用いた6ヵ月間経口投与がん原性試験では、ヒトに外挿可能ながん原性を示唆する所見は認められなかった。高用量群の雌のみで認められた非腺胃（前胃）の扁平上皮粘膜における限局性反応性過形成及び良性乳頭腫の発生頻度の増加は、難溶性で刺激性の被験物質がげっ歯類の前胃に持続的に高濃度で存在したことよる適応反応と考えられ、ヒトは前胃を持たないことからヒトには外挿性はない。有害な非腫瘍性の病理組織学的所見はみられなかった。

また、ICH S1B（R1）ガイドライン（医薬品のがん原性試験に関するガイドラインの補遺、2022年8月 Step 4）により、WoE アプローチに基づいたがん原性リスク評価の概念が導入された。入手可能なすべての薬理学的、生物学的及び毒性学的データに基づく WoE アプローチによるがん原性リスク評価（詳細は[2.6.6.5.1 項]参照）結果から、レテルモビルのヒトに対するがん原性リスクはないとの結論が支持された。よって、2年間ラットがん原性試験の実施はヒトのがん原性リスク評価に付加価値を与えるものではなく、適応追加に伴う臨床投与期間の延長を支持するための2年間ラットがん原性試験の実施は不要であると考えられた。

結論として、レテルモビルの初回申請時に実施した包括的な非臨床安全性プログラム及び追加

のがん原性評価から、臓器移植患者におけるレテルモビルの使用（臨床投与期間の延長を含む）が支持される。

2.6.6.10　参考文献

参考文献は、[1.12 項]の「4.3参考文献」に示した。

CTD 第 2 部

2.6　非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.7　毒性試験概要表

MSD 株式会社

目次

2.6.7　毒性試験概要表
2.6.7.1　毒性試験：一覧表
2.6.7.2　トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表
2.6.7.3　トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧
2.6.7.4　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧
2.6.7.5　単回投与毒性試験
2.6.7.6　反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験
2.6.7.7　反復投与毒性試験：重要な試験
2.6.7.7.A　rasH2野生型マウスを用いた1ヵ月間経口投与用量設定及びトキシコキネティクス試験（TT #[redacted]-6010）
2.6.7.8　In vitro 遺伝毒性試験
2.6.7.9　In vivo 遺伝毒性試験
2.6.7.10　がん原性試験
2.6.7.10.A　長期がん原性試験
2.6.7.10.B　CByB6F1/Tg rasH2（ヘミ接合）マウスを用いた26週間経口投与がん原性試験（TT #[redacted]-9016）
2.6.7.11　生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験
2.6.7.12　生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験
2.6.7.13　生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験
2.6.7.14　生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験
2.6.7.15　新生児を用いた試験
2.6.7.16　局所刺激性試験
2.6.7.17　その他の毒性試験
2.6.7.17.A　トランスジェニックマウス（野生型）を用いた探索的2週間経口投与トキシコキネティクス試験（TT #[redacted]-6068）

2.6.7　毒性試験概要表

2.6.7.1　　毒性試験：一覧表

被験物質：レテルモビル

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location Vol. Section
Repeat-Dose Toxicity								
	Mouse/ CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic wt/wt	Oral Gavage	1 month	0, 50, 150, 300[a]	Yes	MRL (Riom)	TT #[redacted]-6010	[4.2.3.2: TT[redacted]6010]
Carcinogenicity								
	Mouse/ CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic Hemizygous	Oral Gavage	26 weeks	0, 5, 25, 150 (M)[b]; 0, 10, 100, 300 (F)[b]	Yes	[redacted]	TT #[redacted]-9016	[4.2.3.4.2: TT[redacted]9016]
Other Toxicity Studies								
	Mouse/ CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic wt/wt	Oral Gavage	2 weeks	50, 100, 300, 1000[c]	No	MRL (Riom)	TT #[redacted]-6068	[4.2.3.7.7: TT[redacted]6068]

[redacted]=[redacted], [redacted], [redacted], USA; F=Female; GLP=Good Laboratory Practice; M=Male

MRL (Riom)=Merck Sharp & Dohme-Chibret, Merck Research Laboratories, Riom, France; NOEL=no-observed-effect level; NOAEL=no-observed-adverse-effect level

a　NOAEL: 300 mg/kg/day for females and 150 mg/kg/day for males.

b　NOEL for neoplastic findings=100 mg/kg/day in females and ≥150 mg/kg/day in males. Letermovir-related neoplastic findings observed in females dosed at 300 mg/kg/day consisted of an increase in the incidence of focal reactive hyperplasia and benign papilloma in the squamous mucosa of the nonglandular stomach (forestomach). These findings were considered to be an adaptive response to the presence of high concentration of a poorly soluble and mildly irritant test article in the rodent forestomach, and were not relevant to humans because humans do not have a forestomach. NOEL for non-neoplastic findings=100 mg/kg/day in females and 25 mg/kg/day in males. Letermovir-related non-neoplastic findings observed in females dosed at 300 mg/kg/day and males dosed at 150 mg/kg/day consisted of non-adverse hepatocellular hypertrophy correlating with increased size and/or discoloration/prominent lobular pattern of the liver. These non-adverse changes were considered to be an adaptive response to the induction of hepatic enzymes related to metabolism of Letermovir.

c　Due to test-article related unscheduled deaths or sacrifice in females and males dosed at 1000 mg/kg/day on Study Days 1 and 3, remaining high-dose animals were early sacrificed on Study Day 3.

C Confidential

2.6.7.2　トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表

被験物質：レテルモビル

Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses (mg/kg/day)	GLP Compliance	Study Number	Location Vol. Section
1-Month DRF with TK	Mouse/CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic wt/wt	Oral (gavage)	0, 50, 150, 300	Yes	TT #[redacted]-6010	[4.2.3.2: TT[redacted]6010]
Exploratory 2-Week TK	Mouse/CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic wt/wt	Oral (gavage)	50, 100, 300, 1000	No	TT #[redacted]-6068	[4.2.3.7.7: TT[redacted]6068]
DRF=Dose Range Finding; GLP=Good Laboratory Practice; TK=Toxicokinetics						

2.6.7.3　トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧

被験物質：レテルモビル

Steady State AUC 0-24hr (ng*hr/mL)		
Daily Dose (mg/kg)	**Female**	**Male**
50: SD 1	62,800[a]	172,000[a]
50: SD 14	55,100[a]	81,100[a]
50: SW 4	51,200[b]	68,500[b]
100: SD 1	69,300[a]	152,000[a]
100: SD 14	66,700[a]	119,000[a]
150: SW 4	161,000[b]	72,500[b]
300: SD 1	796,000[a]	942,000[a]
300: SD 14	159,000[a]	274,000[a]
300: SW 4	190,000[b]	168,000[b]
1000: SD 1	1,040,000[a]	1,800,000[a]

SD = Study Day; SW = Study Week, AUC0-24hr= Area under the concentration-time curve from zero to 24 hours.
a　TT #[redacted]-6068 [4.2.3.7.7: TT[redacted]6068].
b　TT #[redacted]-6010 [4.2.3.2: TT[redacted]6010].

C Confidential

2.6.7.4　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

被験物質：レテルモビル

Batch No.	Purity (%) [1]	Specified Impurities (HPLC, area %) [2]					Study Number	Type of Study
		A [3]	B [4]	C [5]	D [6]	E [7]		
Specification :	[redacted]- [redacted]	≤ [redacted]	≤ [redacted]	≤ [redacted]	≤ [redacted]	≤ [redacted]		
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	TT #[redacted]-6068 [4.2.3.7.7: TT[redacted]6068] TT #[redacted]-6010 [4.2.3.2: TT[redacted]6010]	Exploratory 2-Week Oral Toxicokinetic Study In TG Mice (Wild Type) One-Month Oral Range-Finding And Toxicokinetic Study In rasH2 Wild-Type Mice
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	TT#[redacted]-9016 [4.2.3.4.2: TT[redacted]9016]	A 26-week Carcinogenicity Study of MK-8228 by Oral Gavage in CByB6F1/Tg rasH2 Hemizygous Mice

ND = None detected; HPLC = High performance liquid chromatography
1　Purity: HPLC area percent
2　Specified impurities: HPLC area percent
3　[redacted]
4　[redacted]
5　[redacted]
6　[redacted]
7　[redacted]

Confidential

2.6.7.5　　単回投与毒性試験

追加試験は実施しなかった。

2.6.7.6　　反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

追加試験は実施しなかった。

2.6.7.7　反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.A　rasH2野生型マウスを用いた1ヵ月間経口投与用量設定及びトキシコキネティクス試験（TT #[redacted]-6010）

被験物質：レテルモビル

Species/Strain: Mouse/CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic wt/wt **Initial Age:** ~ 8 weeks **Date of First Dose:** [redacted] **Dose Volume:** 10 mL/kg	**Duration of Dosing:** TK Arm: 25 days; Toxicity Arm: 32 days (F) and 31 days (M) **Duration of Postdose:** N/A **Method of Administration:** Oral (gavage) **Vehicle/Formulation:** 0.5% (w/v) Tylose in deionized water	**Study Number:** TT #[redacted]-6010 **Location in CTD:** [4.2.3.2: TT[redacted]6010] **GLP Compliance:** Yes

Special Features: None
No-Observed-Adverse-Effect Level: 300 mg/kg/day for females, and 150 mg/kg/day for males

Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		50		150		300	
Number of Toxicity Animals	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10
Number of TK Animals[a]	F:5	M:5	F:11	M:11	F:11	M:11	F:11	M:11
Toxicokinetics – Study Week 4								
AUC0-24hr (ng*hr/mL)	N/A	N/A	51,200	68,500	161,000	72,500	190,000	168,000
Cmax (ng/mL)	N/A	N/A	14,800	22,000	31,100	25,900	31,500	30,500
Tmax (hr)	N/A	N/A	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0

C Confidential

2.6.7.7.A　rasH2野生型マウスを用いた1ヵ月間経口投与用量設定及びトキシコキネティクス試験（TT #[redacted]-6010）（続き）

被験物質：レテルモビル

Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		50		150		300	
Number of Toxicity Animals	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10
Noteworthy Findings								
Mortality (No. of Animals)	-	-	1[f]	-	-	-	1[f]	-
Body Weight (%)[b]	23.7 g	32.1 g	-2.5	-0.3	-2.1	-5.6	-3.0	-9.3
Body Weight Change (%)[c]	1.7 g	3.0 g	-17.6	+3.3	+5.9	-20.0	-17.6	[-53.3]
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Biochemistry[d]								
Alanine aminotransferase (U/L)	32	23	33	23	51	26	[49]	[42*]
Cholesterol (mg/dL)	-	106	-	103	-	83*	-	[51*]
Triglycerides (mg/dL)	-	119	-	111	-	74*	-	[64*]
Albumin (g/dL)	2.9	-	2.8	-	2.7*	-	[2.6 *]	-
Organ weights (%BR.W.)[e]								
Liver (%)	171.2	236.3	+19.2	[+10.5]	[+45.5]	[+36.2]	[+91.1]	[+66.8]
Gross Pathology (Incidence)								
Liver								
Discoloration	-	0/10	-	0/10	-	[1/10]	-	[1/10]
Increased size	-	0/10	-	0/10	-	0/10	-	[2/10]
Prominent lobular pattern	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	[2/10]	[1/10]	[2/10]

C Confidential

2.6.7.7.A　rasH2野生型マウスを用いた1ヵ月間経口投与用量設定及びトキシコキネティクス試験（TT #[redacted]-6010）（続き）

被験物質：レテルモビル

Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		50		150		300	
Number of Toxicity Animals	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10
Noteworthy Findings (Continued)								
Histomorphology (Incidence)								
Liver								
Centrilobular region, hypertrophy	0/10	0/10	0/10	[8/10]	[8/10]	[10/10]	[10/10]	[10/10]

-=No noteworthy findings; [ ]=Test article-related change based on incidence and/or severity; # / #=number affected / number examined; *=p≤0.05; AUC0-24hr=Area under the concentration-time curve from zero to 24 hours; BR.W.=Brain Weight; Cmax=Maximum concentration; hr=hour(s); F=Female; GLP=Good Laboratory Practice; N/A=Not applicable; M=Male; TK=Toxicokinetic; Tmax=Time of maximum concentration

a Included 2-replacement mice/sex/group. Animals from TK arm were discarded without necropsy after the last blood sampling on Study Day 25 or 26 (after 25 days of dosing). Letermovir was not detected in any control plasma samples analyzed in the bioanalytical assay.

b At end of dosing period. For controls, mean body weights (grams) are shown. For dose groups, percent differences from controls are shown.

c At end of dosing period. For controls, difference in mean body weight (grams) between pretest and weight obtained in Study Week 5. For dose groups, percent differences from controls are shown.

d At the end of the dosing period. Control and treatment group values are mean absolute values.

e Control values are the mean organ weight as a percent of brain weight; treatment group values are the mean percent change from concurrent controls of organ weight relative to brain weight.

f One toxicity animal at 50 mg/kg/day found dead and one TK animal at 300 mg/kg/day sacrificed early due to intubation accidents.

C Confidential

2.6.7.8　In vitro 遺伝毒性試験

追加試験は実施しなかった。

2.6.7.9　In vivo 遺伝毒性試験

追加試験は実施しなかった。

2.6.7.10　がん原性試験

2.6.7.10.A　長期がん原性試験

WoE に基づくがん原性リスク評価（詳細は[4.2.3.4.1 項]参照）結果から、2年間ラットがん原性試験の実施がヒトがん原性リスク評価に付加価値を与えないとの結論に至ったため、2年間ラットがん原性試験は実施しなかった。

2.6.7.10.B　CByB6F1/Tg rasH2（ヘミ接合）マウスを用いた26週間経口投与がん原性試験（TT #[redacted]-9016）

被験物質：レテルモビル

Species/Strain: Mouse/CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic Hemizygous **Initial Age:** ~ 10 weeks **Date of First Dose:** [redacted] **Dose Volume:** 10 mL/kg	**Duration of Dosing:** approximately 26 weeks **Method of Administration:** Oral (gavage) **Vehicle/Formulation:** 0.5% Tylose (w/v) in RODI Water **Treatment of Controls:** Vehicle Controls: 0.5% Tylose (w/v) in RODI Water; Water Control: RODI Water; Positive Control: 7.5 mg/mL N-Nitrosomethylurea (NMU) in citrate-buffered saline (pH 4.5)	**Study No.:** TT #[redacted]-9016 **Location in CTD:**[4.2.3.4.2: TT[redacted]9016] **GLP Compliance:** Yes

Basis for High-Dose Selection: The high dose (150 mg/kg/day in males and 300 mg/kg/day in females) was the maximum tolerated dose based on the mortality observed in both sexes at 1000 mg/kg/day in the 2-week oral toxicokinetic study in rasH2 wild-type mice (TT #[redacted]-6068) and the decreased body weight gain observed in males at 300 mg/kg/day in the 1-month oral range-finding and toxicokinetic study in rasH2 wild-type mice (TT #[redacted]-6010).
Special Features: None

Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Vehicle Control 1)		0 (Vehicle Control 2)		0 (Water Control)		10	5	100	25	300	150	Positive Control[a]	
Gender	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M
Number of TK Animals[b]	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	0	0
Plasma Concentration (ng/mL): Study Day 182, 1 hr postdose	0	0	0	0	0	0	2,440	841	17,200	8,940	28,400	21,100	NE	NE
Number of Carcinogenicity Animals														
At Start	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	15	15
Died/Sacrificed Moribund	1	0	1	0	2	1	0	2	3	4	2	2	11	13
Terminal Sacrifice	24	25	24	25	23	24	25	23	22	21	23	23	4	2
Survival (%)	96	100	96	100	92	96	100	92	88	84	92	92	27	13

Confidential

2.6.7.10.B　CByB6F1/Tg rasH2（ヘミ接合）マウスを用いた26週間経口投与がん原性試験（TT #[redacted]-9016）（続き）

被験物質：レテルモビル

Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Vehicle Control 1)		0 (Vehicle Control 2)		0 (Water Control)		10	5	100	25	300	150	Positive Control[a]	
Number of Carcinogenicity Animals	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25	F: 15	M: 15
Body Weight (%)[c] – Study Day 182	-	35.30 g	-	+3.12	-	-1.22	-	-1.78	-	-0.88	-	[-13.06]	-	-19.97
Body Weight Change (%)[c] – Study Day -1 to 182	-	8.47 g	-	+14.52	-	-2.48	-	-5.90	-	-2.13	-	[-50.41]	-	-81.11
Food Consumption (%)[c] – Study Day 176 to 182	-	7.32 g/ animal/ day	-	-0.14	-	-7.51	-	-11.20	-	-3.55	-	[-24.45]	-	-14.62
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	[d]	[d]
Hyperplastic/Neoplastic Lesions: Test-Article Related														
No. Examined	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	15	15
Stomach														
Non-glandular mucosa, hyperplasia, reactive, focal	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	[6]	0	0	0
Non-glandular mucosa, benign papilloma	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	[2]	0	14	13

C Confidential

2.6.7.10.B　CByB6F1/Tg rasH2（ヘミ接合）マウスを用いた26週間経口投与がん原性試験（TT #[redacted]-9016）（続き）

被験物質：レテルモビル

Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Vehicle Control 1)		0 (Vehicle Control 2)		0 (Water Control)		10	5	100	25	300	150	Positive Control[a]	
Number of Carcinogenicity Animals	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25	F: 15	M: 15
Neoplastic Lesions: Incidental/ Spontaneous														
No. Examined	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	15	15
Bone, Femur														
Hemangiosarcoma	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Bone, Mandible														
Osteosarcoma	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Gland, Adrenal														
Lipoma	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Gland, Harderian														
Adenocarcinoma	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0
Adenoma	0	1	1	1	0	2	0	0	0	2	1	0	2	3
Gland, Salivary Sublingual														
Adenoma	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Gland, Salivary, Submandibular														
Adenoma	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Gland, Thyroid														
Adenoma, follicular cell	0	2	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Kidney														
Adenoma	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1

2.6.7.10.B　CByB6F1/Tg rasH2（ヘミ接合）マウスを用いた26週間経口投与がん原性試験（TT #[redacted]-9016）（続き）

被験物質：レテルモビル

Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Vehicle Control 1)		0 (Vehicle Control 2)		0 (Water Control)		10	5	100	25	300	150	Positive Control[a]	
Number of Carcinogenicity Animals	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25	F: 15	M: 15
Neoplastic Lesions: Incidental/ Spontaneous (continued)														
No. Examined	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	15	15
Large Intestine, Cecum														
Carcinoma	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Liver														
Adenoma, hepatocellular	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0
Lung														
Adenoma, bronchioloalveolar	4	1	4	5	2	1	2	3	6	2	1	3	9	1
Carcinoma, bronchioloalveolar	1	0	0	1	1	0	0	2	1	1	0	0	1	1
Muscle, Skeletal														
Hemangiosarcoma	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Site, Uncertain Primary														
Lymphoma	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	11	10
Skin														
Benign basal cell tumor	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Fibrosarcoma	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Hemangiosarcoma	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Papilloma	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	5

2.6.7.10.B　CByB6F1/Tg rasH2（ヘミ接合）マウスを用いた26週間経口投与がん原性試験（TT #[redacted]-9016）（続き）

被験物質：レテルモビル

Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Vehicle Control 1)		0 (Vehicle Control 2)		0 (Water Control)		10	5	100	25	300	150	Positive Control[a]	
Number of Carcinogenicity Animals	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25	F: 15	M: 15
Neoplastic Lesions: Incidental/ Spontaneous (continued)														
No. Examined	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	15	15
Spleen														
Hemangiosarcoma	0	1	0	1	0	3	0	1	1	3	0	2	1	3
Stomach														
Hemangiosarcoma	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Carcinoma, squamous cell	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Small Intestine, Duodenum														
Adenoma	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Small Intestine, Jejunum														
Adenoma	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Tongue														
Papilloma	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Thymus														
Malignant thymoma	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

C Confidential

2.6.7.10.B　CByB6F1/Tg rasH2（ヘミ接合）マウスを用いた26週間経口投与がん原性試験（TT #[redacted]-9016）（続き）

被験物質：レテルモビル

Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Vehicle Control 1)		0 (Vehicle Control 2)		0 (Water Control)		10	5	100	25	300	150	Positive Control[a]	
Number of Carcinogenicity Animals	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25	F: 15	M: 15
Neoplastic Lesions: Incidental/ Spontaneous (continued)														
No. Examined	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	15	15
Urinary Bladder														
Carcinoma, transitional cell	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Uterus/Cervix														
Carcinoma	0	N/A	0	N/A	0	N/A	0	N/A	0	N/A	0	N/A	1	N/A
Polyp, endometrial stromal	0	N/A	0	N/A	0	N/A	0	N/A	0	N/A	0	N/A	6	N/A
Non-Neoplastic Changes (Incidence)														
Liver														
Hypertrophy, hepatocellular[e]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	[24]	[25]	0	0

-=No noteworthy findings; [ ]=Test article-related change based on incidence and/or severity; hr=hour(s); F=Female; GLP=Good Laboratory Practice; M=Male; N/A = Not applicable; NE=Not Examined; NMU=N-Nitrosomethylurea; RODI= Reverse osmosis deionized water; TK=Toxicokinetic

a Positive control animals (7.5 mg/mL NMU in citrate buffered saline, pH 4.5) were dosed only once on Study Day 1 via intraperitoneal injection.

b Non-transgenic (CByB6F1 wild-type) animals were used for the TK phase. Letermovir concentrations in plasma from all vehicle and water control group animals were below the lower limit of quantitation (LLOQ=5.00 ng/mL) of the bioanalytical assay.

c For the vehicle control 1, group means (grams) are shown. For vehicle control 2, water control, treated groups and positive control, percent differences from the vehicle control 1 group are shown.

d Clinical observations were expected for positive control animals and included skin papules, mass present, breathing abnormalities, erected, dehydration, decreased activity, cold to touch, and/or hunched posture.

e Hepatocellular hypertrophy correlated with increased size and prominent lobular pattern of the liver.

C Confidential

2.6.7.11　生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

追加試験は実施しなかった。

2.6.7.12　生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

追加試験は実施しなかった。

2.6.7.13　生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

追加試験は実施しなかった。

2.6.7.14　生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

追加試験は実施しなかった。

2.6.7.15　新生児を用いた試験

追加試験は実施しなかった。

2.6.7.16　局所刺激性試験

追加試験は実施しなかった。

C Confidential

2.6.7.17　その他の毒性試験

2.6.7.17.A　トランスジェニックマウス（野生型）を用いた探索的2週間経口投与トキシコキネティクス試験（TT #[redacted]-6068）

被験物質：レテルモビル

Species/ Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number
Mouse/CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic wt/wt	Oral (gavage)	2 weeks	50, 100, 300, 1000	22/sex/group[a]	• The dose of 1000 mg/kg/day exceeded the tolerated dose with mortality/morbidity in both sexes from Study Days 1 to 3. 1000 mg/kg/day group animals were terminated on Study Day 3. • At 300 mg/kg/day, decreases in body weight gain in males only and increases in frequency in body weight loss (compared to concurrent pretest values) in males and females. • Study Day 1 TK parameters in females/males: 50 mg/kg/day: AUC0-24hr (ng*hr/mL): 62,800/172,000; Cmax (ng/mL): 21,700/24,000 100 mg/kg/day: AUC0-24hr (ng*hr/mL): 69,300/152,000; Cmax (ng/mL): 22,700/29,300 300 mg/kg/day: AUC0-24hr (ng*hr/mL): 796,000/942,000; Cmax (ng/mL): 51,900/75,900 1000 mg/kg/day: AUC0-24hr (ng*hr/mL): 1,040,000/1,800,000; Cmax (ng/mL): 80,500/115,000 • Study Day 14 TK parameters in females/males 50 mg/kg/day: AUC0-24hr (ng*hr/mL): 55,100/81,100; Cmax (ng/mL): 11,500/21,300 100 mg/kg/day: AUC0-24hr (ng*hr/mL): 66,700/119,000; Cmax (ng/mL): 17,000/26,700 300 mg/kg/day: AUC0-24hr (ng*hr/mL): 159,000/274,000; Cmax (ng/mL): 28,700/23,500	TT #[redacted]-6068 [4.2.3.7.7: TT[redacted]6068]

AUC0-24hr=Area under the concentration-time curve from zero to 24 hours; Cmax= Maximum concentration; F=Female; M=Male.; TK=Toxicokinetics
a　9/sex/group were designated for TK on Study Day 1 and 14. The remaining animals were considered replacement animals.