目次

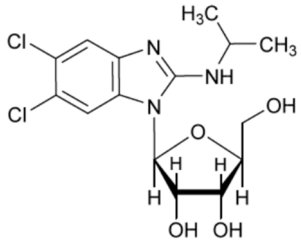
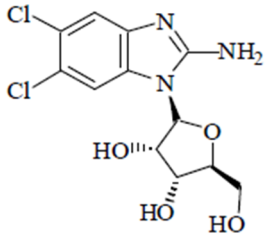
略号一覧表 3
2.4 非臨床試験の概括評価 6
2.4.1 序文 6
2.4.2 非臨床試験計画概略 6
2.4.3 薬理試験 8
2.4.3.1 効力を裏付ける試験 8
2.4.3.1.1 作用機序 8
2.4.3.1.2 In vitro 抗ウイルス活性 9
2.4.3.1.2.1 TAK-620 の抗 CMV 活性 9
2.4.3.1.2.2 VP 44469 の抗 HCMV 活性 10
2.4.3.1.2.3 抗ウイルス特異性 10
2.4.3.1.2.4 併用時の抗ウイルス活性 10
2.4.3.1.3 細胞傷害性 11
2.4.3.1.4 耐性の評価 11
2.4.3.2 副次的薬理試験 12
2.4.3.3 安全性薬理試験 12
2.4.3.3.1 中枢神経系 13
2.4.3.3.2 心血管系 13
2.4.3.3.3 呼吸系 13
2.4.3.3.4 依存性 13
2.4.3.4 薬力学的薬物相互作用 13
2.4.4 薬物動態試験 14
2.4.4.1 吸収 14
2.4.4.2 分布 15
2.4.4.2.1 タンパク結合率及び血球分布 15
2.4.4.2.2 組織分布 16
2.4.4.3 代謝 16
2.4.4.4 排泄 17
2.4.4.5 薬物動態学的薬物相互作用 17
2.4.5 毒性試験 18
2.4.5.1 単回投与毒性試験 18
2.4.5.2 反復投与毒性試験 19
2.4.5.2.1 マウス 19
2.4.5.2.2 ラット 20
2.4.5.2.3 サル 20
2.4.5.3 遺伝毒性試験 21
2.4.5.4 がん原性試験 22
2.4.5.5 生殖発生毒性試験 22

2.4.5.6 局所刺激性試験 23
2.4.5.7 その他の毒性試験 23
2.4.5.7.1 免疫毒性試験 23
2.4.5.7.2 不純物の毒性試験 23
2.4.5.7.3 光毒性試験 24
2.4.6 総括及び結論 24
2.4.7 図表 27
2.4.8 参考文献一覧 31

表

表 2.4.7-1 TAK-620 のヒトでの有効曝露量に対する毒性試験における NOAEL/LOAEL での曝露量の比 27
表 2.4.7-2 VP 44469 のヒトでの曝露量に対する毒性試験における NOAEL/LOAEL での曝露量の比 29

略号一覧表

略号	一般名（略称）	化学構造式	由来
TAK-620	マリバビル		原薬
VP 44469	－		主要代謝物

略号一覧表（続き）

略号	略していない表現又は説明（英語）	略していない表現又は説明（日本語）
3TC	lamivudine	ラミブジン
ABT	1-aminobenzotriazole	1-アミノベンゾトリアゾール
AGP	α1-acid glycoprotein	α1-酸性糖タンパク質
ARPEp	human retinal pigment epithelial cell line expressing platelet-derived growth factor alpha receptor	血小板由来増殖因子α受容体発現ヒト網膜色素上皮細胞株
ATP	adenosine triphosphate	アデノシン三リン酸
AUC	area under the concentration-time curve	血漿中濃度－時間曲線下面積
AUC_{last}	area under the concentration-time curve from time 0 to time of the last quantifiable concentration	投与後0時間から最終定量可能時点までの血漿中濃度－時間曲線下面積
AUC_t	area under the concentration-time curve from time 0 to time t	投与後0からt時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
AZT	azidothymidine	アジドチミジン
BCRP	breast cancer resistance protein	－
BDCRB	2-bromo-5,6-dichloro-1-β-$_D$-ribofuranosyl-1*H*-benzimidazole	2-ブロモ-5,6-ジクロロ-1-β-$_D$-リボフラノシル-1*H*-ベンゾイミダゾール
BID	twice daily	1日2回
BSEP	bile salt export pump	－
Caco-2	human epithelial colorectal adenocarcinoma (cell line)	ヒト上皮結腸直腸腺癌（細胞株）
CDV	cidofovir	－
CL	total clearance after intravenous administration, calculated using the observed value of the last quantifiable concentration	全身クリアランス
CL_{int}	intrinsic clearance	固有クリアランス
C_{max}	maximum observed concentration	最高血漿中濃度
CMV	human cytomegalovirus	ヒトサイトメガロウイルス
CYP	cytochrome P450	チトクローム P450
ddC	dideoxycytidine	ジデオキシシチジン
ddI	dideoxyinosine (didanosine)	ジデオキシイノシン（ジダノシン）
DDI	drug-drug interaction	薬物相互作用
DNA	deoxyribonucleic acid	デオキシリボ核酸
DRM	drug-related radioactive material	薬物関連放射性物質
EC_{50}	50% effective concentration	50%有効濃度
FOS	foscarnet	ホスカルネット
GCV	ganciclovir	ガンシクロビル
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
HEK	human embryonic kidney (cell line)	ヒト胎児腎（細胞株）
HEL	human embryonic lung (fibroblast) cell line	ヒト胎児肺由来（線維芽）細胞株
hERG	human ether-à-go-go related gene	ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子
HIV	human immunodeficiency virus	ヒト免疫不全ウイルス
HLM	human liver microsomes	ヒト肝ミクロソーム
HSA	human serum albumin	ヒト血清アルブミン
IC_{50}	50% inhibitory concentration	50%阻害濃度

略号一覧表（続き）

略号	略していない表現又は説明（英語）	略していない表現又は説明（日本語）
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use	医薬品規制調和国際会議
LOAEL	lowest-observed-adverse-effect level	最小毒性量
MATE	multidrug and toxin extrusion	－
MRC-5	human lung fibroblast cell line	ヒト肺線維芽細胞株
MRHF	human foreskin fibroblast cell line	ヒト包皮線維芽細胞株
mTOR	mechanistic target of rapamycin	－
NADPH	nicotinamide adenine dinucleotide phosphate	ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸
NOAEL	no-observed-adverse-effect level	無毒性量
OAT	organic anion transporter	－
OATP	organic anion transporting polypeptide	－
OCT	organic cation transporter	－
P-gp	P-glycoprotein	P 糖タンパク質
PND	Postnatal Day	生後日数
QT	time from the beginning of the Q wave (depolarization of the interventricular septum) to the conclusion of the T wave (ventricular repolarization)	Q 波の開始（心室中隔の脱分極）から T 波の終了（心室再分極）までの時間
rCYP	recombinant cytochrome P450	組換え CYP
RNA	ribonucleic acid	リボ核酸
TA	tienilic acid	－
TDI	time dependent inhibition	時間依存的阻害
Tk	thymidine kinase	チミジンキナーゼ
UGT	uridine 5’-diphospho-glucuronosyltransferase	ウリジン 5’-二リン酸グルクロン酸転移酵素
VGCV	valganciclovir	バルガンシクロビル

2.4 非臨床試験の概括評価

2.4.1 序文

ベンゾイミダゾールリボシドであるマリバビル（TAK-620、旧称：SRD006471、SHP620、VP 41263、1263W94、BW1263W94、GR257406X、以下、TAK-620）は、強力かつ選択的で経口投与可能なベンゾイミダゾールリボシドであり、臓器移植（造血幹細胞移植も含む）後のヒトサイトメガロウイルス（CMV）感染症の治療薬として開発されている。既に欧米においては、ガンシクロビル（GCV）、バルガンシクロビル（VGCV）、ホスカルネット（FOS）又は cidofovir（CDV）[1]による治療に難治性の移植後の CMV 感染／感染症に対する治療薬として承認を取得している。

現在使用されている抗 CMV 薬がいずれも CMV DNA ポリメラーゼを阻害するのとは異なり、TAK-620 は UL97 によりコードされるキナーゼ活性を阻害することで抗ウイルス活性を示す。UL97 セリン／スレオニンキナーゼは、ウイルス増殖に影響を及ぼすウイルスタンパク質基質及び細胞タンパク質基質をリン酸化する。UL97 キナーゼは細胞周期を刺激することで、ウイルス DNA 合成とウイルス遺伝子の発現を増強し、ビリオン形態形成を促進し、核からの成熟カプシドの放出を促進すると考えられる。UL97 キナーゼ活性の非存在下では、ウイルス DNA 合成は不十分であり、構造タンパク質が核のアグリソームに隔離されることで、ビリオン形態形成の効率性が低下する。このため、UL97 キナーゼを抑制又は UL97 遺伝子をノックアウトすると、重度のウイルス増殖障害が生じる。UL97 は、GCV が活性型の GCV 三リン酸に変換される過程で最初に GCV をリン酸化するキナーゼと同じ酵素であるため、抗ウイルス薬の標的分子として十分な知見が得られている[1]-[4]。

2.4.2 非臨床試験計画概略

既存の抗 CMV 薬に難治性の臓器移植（造血幹細胞移植も含む）後の CMV 感染症の治療薬として、経口投与による臨床での使用を裏付けるため、TAK-620 の包括的な非臨床試験を実施した。非臨床試験は科学的にデザインされ、非臨床安全性試験は当時の規制ガイドライン〔医薬品規制調和国際会議（ICH）ガイドラインなど〕に準拠して実施された。多くの非臨床試験は、非標識 TAK-620 を用いて実施した。ただし、一部の吸収、分布、代謝及び排泄試験では、[^{14}C]TAK-620 を使用した。

TAK-620 の薬力学的性質及び安全性プロファイルを明らかにするため、複数の実験モデルを用いた検討を行った。CMV を感染させたヒト細胞株を用いた DNA ハイブリダイゼーション試験、プラーク減少試験及びウイルス増殖抑制試験により、TAK-620 による in vitro 抗ウイルス活性を評価した。また、マウス、ラット、サル及びヒトで生成する TAK-620 の N-脱アルキル化代謝物である VP 44469（2-アミノ-5,6-ジクロロ-1-β-L-リボフラノシル-1*H*-ベンゾイミダゾール）の抗 CMV 活性も増殖抑制試験で検討した。ヒト細胞／細胞株を用いたその他の一連の RNA ウイルス及び DNA ウイルスに対する抗ウイルス活性試験において、TAK-620 の CMV 特異性及び選択性を確認した。また、CMV 及びヒト免疫不全ウイルス（HIV）に対する、その他の抗ウイルス薬と併用したときの TAK-620 の影響を評価する試験も実施し

[1] Cidofovirは2023年11月現在、国内未承認である。

た。安全性薬理試験では、中枢神経系に及ぼす作用をマウス及びラットで、心血管系に及ぼす作用をヒト ether-à-go-go 関連遺伝子（hERG）を発現させたヒト胎児腎（HEK）293 細胞を用いた in vitro 試験で、また心血管系及び呼吸系に及ぼす作用を麻酔下のイヌで評価した。心血管系に及ぼす影響を評価するためのテレメトリー試験は実施しなかったが、カニクイザルを用いた反復投与毒性試験で心電図評価を実施した。hERG 試験を除き、安全性薬理試験は ICH S7 ガイドラインが制定される前に実施されたため、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に準拠しなかった。ただし、試験は結果の統計解析が可能な適切な群構成で実施されたため、全体的な安全性薬理試験パッケージは適切であると考えられる。これらの試験を表 2.6.3.1-1 に示す。また、TAK-620 の薬理作用及び耐性プロファイルに関する公表文献から得られたデータの包括的な調査も実施した。

マウス、ラット及びサルを用いて、TAK-620 を静脈内又は経口投与したときの薬物動態を検討した。また、マウス、ラット、ウサギ及びサルを用いた主要な毒性試験でも、TAK-620 を反復投与したときのトキシコキネティクスプロファイルを検討した。非臨床動物種における分布及び代謝を明らかにし、代謝物を同定してそれをヒトと比較し、消失速度及び消失経路を検討するための試験を実施した。非臨床薬理試験及び毒性試験と同じ動物種、同じ系統を用いて、in vivo 薬物動態試験を実施した。マウス、ラット及びサルを用いて TAK-620 の分布及び排泄を検討し、ラット及びサルを用いて代謝を検討した。TAK-620 を用いた追加試験には、ヒト上皮結腸直腸腺癌（Caco-2）細胞を用いた膜透過性、トランスポーターの基質及び阻害プロファイリング、代謝酵素のマッピング、阻害及び誘導、代謝物プロファイリング、並びに血漿タンパク結合があったが、これらに限定されるものではない。TAK-620 の主要代謝物である VP 44469 について、血漿タンパク結合、チトクローム P450（CYP）及びトランスポーター阻害を実施した。これらの試験を表 2.6.5.1-1 及び表 2.6.5.1-2 に示す。

TAK-620 の一般毒性試験は、急性及び慢性毒性、標的臓器毒性、曝露と毒性の関係、又は変化の回復性を評価するように計画され、マウス及びラットを用いた単回経口投与及び単回静脈内投与毒性試験、並びにマウスで最長 13 週間、ラットで最長 26 週間及びサルで最長 52 週間の反復投与毒性試験を実施した。遺伝毒性については、細菌を用いる in vitro の復帰突然変異試験、マウスリンフォーマチミジンキナーゼ（*Tk*）試験及び in vivo のラット小核試験で、がん原性については、マウス及びラットを用いた 2 年間試験で評価した。生殖発生毒性については、ラット及び／又はウサギを用いた受胎能、胚・胎児発生及び出生前・出生後の発生に関する試験並びに幼若ラットを用いた毒性試験において評価した。ラットを用いた分布試験で、TAK-620 のメラニン親和性が示されたことから、ラット、ウサギ及びモルモットを用いた局所刺激性（眼及び皮膚）試験及び in vitro 光毒性試験を実施した。ラットを用いた免疫毒性評価、原薬不純物の遺伝毒性評価も実施した。主要な in vivo 毒性試験はいずれも臨床投与経路である経口経路で実施した。これらの試験を表 2.6.7.1-1 に示す。

非臨床試験で使用した動物種及び系統〔マウス：CD-1、ラット：Sprague-Dawley、Han Wistar 及び Long Evans（有色）、ウサギ：New Zealand White、モルモット：Dunkin Hartley、サル：カニクイザル〕は、広く認められている供給元から入手した。毒性評価用の主な動物種は、Sprague-Dawley ラット、Han Wistar ラット及びカニクイザルであった。ラット及びサルは毒性試験で広く使用されていること、また TAK-620 の代謝プロファイルがヒトと類似することから、毒性試験の動物種として適切である。反復投与毒性試験における全身曝露及び主な標

的臓器所見がラット系統間で同様であったことから、2 種類のラット系統を毒性試験で使用することは、非臨床安全性の評価に影響を及ぼさないと考えられた。

TAK-620 の毒性試験では、一般的な媒体及び添加剤を使用した。用量設定毒性試験では、クエン酸緩衝液を媒体として使用したマウスの試験を除き、TAK-620 を 0.5%メチルセルロース液で調製した。しかし、全身曝露にばらつきがあったことから、その後の GLP 下で実施した試験ではクエン酸緩衝液（クエン酸一水和物、水酸化ナトリウム及び／又は塩酸）を媒体とした。

一部の GLP 下で実施した単回投与、反復投与及び遺伝毒性試験並びに一部の非 GLP 下で実施した試験では、TAK-620 のロット分析データ（純度及び／又は不純物分析結果）は得られていない（表 2.6.7.4-2）。しかし、これらの試験には、使用した TAK-620 の用量／濃度を示すデータが含まれており、さらに、反復投与毒性試験及びラット小核試験では、トキシコキネティクス又は血漿中薬物濃度データから TAK-620 の曝露量が十分であることが示されている。さらに、報告書内の信頼性保証に関する陳述書は、試験が GLP 要件に従って実施されたことを保証している。したがって、これらの試験では TAK-620 の非臨床安全性は適切に評価されていると考えられる。

実施した試験の GLP 適用状況を表 2.6.3.1-1、表 2.6.5.1-1 及び表 2.6.7.1-1 に示す。上述のように、hERG 試験を除き、安全性薬理試験は ICH S7 ガイドライン制定前に実施されたため、GLP に準拠していないが、TAK-620 の非臨床安全性を裏付けるうえで妥当であると考えられる。その他の主要な試験は、試験実施当時の非臨床安全性試験に関するガイドラインに従い、GLP に準拠して実施された。

非臨床試験プログラム全体及び関連文献情報により、TAK-620 の臨床での使用を裏付ける作用機序及び安全性の包括的な評価がもたらされたと考える。これらの試験により、TAK-620 は CMV に対する新規作用機序を有する、強力かつ選択的で経口投与可能なベンゾイミダゾールリボシドであることが示された。また既存の CMV 治療選択肢に比べて良好な非臨床安全性プロファイルを有することが示されている。本邦において、TAK-620 は既存の抗 CMV 薬に難治性の臓器移植（造血幹細胞移植も含む）後の CMV 感染症の治療薬となる可能性があると考える。

2.4.3 薬理試験

2.4.3.1 効力を裏付ける試験

2.4.3.1.1 作用機序

TAK-620 は、CMV に対して新規作用機序を示す。実験室樹立 CMV 株（AD169）を感染させたヒト肺線維芽細胞株（MRC-5）を用いた in vitro 試験において、TAK-620 は、現在使用されている抗 CMV 薬がいずれも CMV DNA ポリメラーゼを阻害するのとは異なり、UL97 によりコードされるキナーゼを標的とし、DNA 複製又はカプシドの核外放出などの過程で必要なキナーゼ活性を阻害する（4.2.1.1-1、4.2.1.1-2）[1]。そのため、TAK-620 はウイルス DNA ポリメラーゼ変異による薬剤耐性化の影響を受けにくく、ウイルス DNA ポリメラーゼ変異を有する株に対しても活性を示す。UL97 は、GCV が活性型の GCV 三リン酸に変換される過程で最初に GCV をリン酸化するキナーゼと同じ酵素であるため、抗ウイルス薬の標的分子として十分な知見が得られている[3]。GCV が活性型 DNA ポリメラーゼ阻害薬となるために

UL97 キナーゼによるリン酸化を必要とするのに対し、TAK-620 は UL97 キナーゼを直接阻害する（4.2.1.1-4）。この特有の作用機序により、TAK-620 は、従来の治療薬に対して抵抗性を示す CMV に対する治療効果が期待される。

2.4.3.1.2 In vitro 抗ウイルス活性

In vitro での抗 CMV 活性を評価するため、実験室樹立 CMV 株（AD169 又は Towne）を感染させたヒト細胞株〔MRC-5 細胞、ヒト胎児肺由来（線維芽）細胞株（HEL）細胞、ヒト包皮線維芽細胞株（MRHF）細胞又は血小板由来増殖因子 α 受容体発現ヒト網膜色素上皮細胞株（ARPEp）細胞〕、又は臨床分離株を用いた DNA ハイブリダイゼーション試験、プラーク減少試験及びウイルス増殖抑制試験で、TAK-620 の一連の試験を実施した（4.2.1.1-5、4.2.1.1-1、4.2.1.1-21、4.2.1.1-9、4.2.1.1-6、4.2.1.1-11）[5]。一部の試験では、GCV 及び FOS を対照薬として使用した。また、ウイルス増殖抑制試験において、代謝物 VP 44469 の抗ウイルス活性も検討した（4.2.1.1-8）。

2.4.3.1.2.1 TAK-620 の抗 CMV 活性

TAK-620 の評価は、その標的分子の性質のため複雑である。UL97 キナーゼ機能の欠損又は阻害は、ある程度宿主由来キナーゼに置き換えられる可能性がある[6]。このため、用いた試験での評価項目の違いや細胞培養条件の違いが、同じ CMV 株に対する TAK-620 の見かけの抗ウイルス活性に大きな影響を及ぼす可能性がある[7]。

AD169 に対する DNA ハイブリダイゼーション試験及びウイルス増殖抑制試験において、TAK-620 は GCV よりもそれぞれ最大 29 倍及び 6 倍強い活性示した。これらのデータは[1]の公表データとほぼ一致していた。公表データでは、DNA ハイブリダイゼーション試験、プラーク減少試験及びウイルス増殖抑制試験において、TAK-620 が CMV 増殖を選択的に阻害し、50%有効濃度（EC_{50}）の平均値はそれぞれ 0.12、0.54 及び 0.06 μM であり、GCV（同一試験における EC_{50} の平均値はそれぞれ 0.53、6.3 及び 0.3 μM）よりも約 4～12 倍活性が強いことが示されている。また、臨床分離株に対するプラーク減少試験では、TAK-620 は GCV よりも約 13 倍強い活性を示した。

全体として、MRC-5 細胞、HEL 細胞及び MRHF 細胞を用いたウイルス増殖抑制試験、DNA ハイブリダイゼーション試験及びプラーク減少試験において、TAK-620 は in vitro において細胞傷害性を示さない濃度で CMV 増殖を強力かつ選択的に阻害し、EC_{50} の平均値は 0.11 μM（範囲：0.03～0.31 μM）であった。その抗 CMV 活性は GCV（EC_{50} の平均値：1.87 μM）よりも約 17 倍、FOS（EC_{50} の平均値：42 μM）（1 試験で実施）よりも 250 倍以上強かった。ARPEp 細胞を用いた TAK-620 の EC_{50} は、上皮由来線維芽細胞株である HEL/MRC-5 細胞で得られた値と同程度であった[5][8][9][10]。

既知の 4 種類の糖タンパク質 B 遺伝子型の CMV 株間で、ベースラインにおける TAK-620 の EC_{50} に大きな乖離は認められなかった（4.2.1.1-7）。

また、GCV 耐性をもたらす M460V、H520Q、A594V 及び L595del を含む UL97 遺伝子変異、2-ブロモ-5,6-ジクロロ-1-β-$_D$-リボフラノシル-1*H*-ベンゾイミダゾール（BDCRB）耐性を付与する UL89 遺伝子変異（A344E 及び A355V）又は GCV 及びアシクロビルに対する耐性を付与する CMV DNA ポリメラーゼ遺伝子変異（G987A、M844T、L802M 及び L513A）を保有す

る CMV 薬剤耐性株に対する TAK-620 の in vitro 活性も評価した。2 種類の DNA ポリメラーゼ変異株（L513A 及び G987A）を除き、すべての遺伝子組換え AD169 株で、TAK-620 への感受性が維持されていた(4.2.1.1-21)。レテルモビルに耐性を付与する UL56 遺伝子（V236M）に変異を有する CMV 株に対しても TAK-620 は活性を示し、ARPEp 細胞を用いたときの野生型ウイルス及び UL56 変異ウイルス株に対する EC_{50} は、TAK-620 ではいずれも 0.12 µM であったのに対し、レテルモビルの EC_{50} はそれぞれ 2.2 及び 103 µM であった（4.2.1.1-11）[5]。

2.4.3.1.2.2 VP 44469 の抗 HCMV 活性

TAK-620 の N-脱アルキル化代謝物である VP 44469 は、TAK-620 と比較して弱い抗 CMV 活性を示し、EC_{50} は CMV 野生型株 T2211 では 100 倍を超え、CMV 変異株 T2890 では約 12 倍高かった（4.2.1.1-8）。

2.4.3.1.2.3 抗ウイルス特異性

TAK-620 の各種ウイルスに対する in vitro 選択性を確認した。これらの試験から、TAK-620 は CMV に対する選択性が高いことが示された。既に報告されているエプスタイン・バーウイルスに対する増殖阻害活性[11]を除き、牛ウイルス性下痢ウイルス、RS ウイルス、リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス、単純ヘルペスウイルス 1 型、ワクシニアウイルス、タカリベウイルス、ロタウイルス、重症急性呼吸器症候群関連コロナウイルス（4.2.1.1-9）、B 型肝炎ウイルス、HIV、水痘帯状疱疹ウイルス及びシミアンウイルス 40（4.2.1.1-10）などの検討したすべてのウイルスに対して、TAK-620 は抗ウイルス活性を有しないことが示唆された（CMV に対するよりも 450 倍以上高い EC_{50}）。

2.4.3.1.2.4 併用時の抗ウイルス活性

CMV 感染に対する in vitro 併用療法を検討した。アシクロビル、レテルモビル、GW275175X、CDV、GCV、FOS 及び mechanistic target of rapamycin（mTOR）阻害薬のシロリムスなどの抗ウイルス薬について、野生型及び代表的な変異を有する CMV 株に対する TAK-620 との併用を検討した。その結果、TAK-620 は GCV に対し拮抗作用を示し、mTOR 阻害薬であるシロリムスとは相乗作用を示したことから、TAK-620 とシロリムスとの併用は有用な組合せである可能性が示唆された。その他の併用では、相乗作用又は拮抗作用は認められず、その相互作用は、主に相加作用であった（4.2.1.1-11、4.2.1.1-13）[5]。

HIV 及び CMV に対する抗ウイルス治療を同時に実施する可能性があるため、抗 CMV 活性及び HIV 複製活性の両方に対する、TAK-620 及び既知の HIV 阻害薬の抗ウイルス作用について、CMV 又は HIV-1（IIIB 株）を感染させたヒト細胞株を用いて、単剤及び併用で評価した。ラミブジン（3TC）、ジデオキシイノシン（ジダノシン）（ddI）及びジデオキシシチジン（ddC）は、TAK-620 の抗 CMV 活性に影響を及ぼさなかった。TAK-620 とアジドチミジン（AZT）及び 2 種類の HIV プロテアーゼ阻害薬（インジナビル及び 141W94）との併用により相加作用が認められ、CMV に弱い抗ウイルス活性を示す 1592U89（EC_{50}：78 µM）は TAK-620 との相乗作用を示した（4.2.1.1-14）。いずれの薬剤併用でも拮抗作用は認められなかったため、TAK-620 と抗 HIV 薬との併用が CMV 阻害活性に負の影響を示す可能性は低いと考えられる。

TAK-620 は HIV-1 に対して抗ウイルス活性を示さず、141W94、インジナビル、AZT、ddI、ddC、ネビラピン、3TC 又は 1592U89 の抗 HIV 活性に対して、これら化合物と併用しても拮抗作用又は相乗作用を示さなかった（4.2.1.1-15、4.2.1.1-16）。

2.4.3.1.3 細胞傷害性

ウイルスの複製は宿主細胞機構に依存する。そのため、細胞培養試験で認められた化合物の抗ウイルス活性が、標的としたウイルスに対する直接的な阻害以外に、ウイルス増殖が高く依存する細胞機能に対する非選択的な阻害を介する可能性がある。ヒト骨髄前駆細胞、ヒト T 細胞白血病細胞株又はヒト B 細胞白血病細胞株を用いた in vitro 細胞傷害性試験データから、CMV 増殖を in vitro で阻害する濃度で、TAK-620 単剤、VP 44469 単剤、又は TAK-620 と AZT の併用による細胞傷害性は検出されないことが示された（4.2.1.1-17、4.2.1.1-18、4.2.1.1-19、4.2.1.1-20）。これらのデータは、ヒト骨髄前駆細胞を用いた[1]の公表データと一致していた。

2.4.3.1.4 耐性の評価

現行の標準療法では、GCV／VGCV、FOS 及び CDV などの既存の抗 CMV 薬が経験に基づいて投与されている。これらの薬剤に対する CMV 耐性については多くの報告があり、UL97 又は UL54 遺伝子がそれぞれコードする UL97 キナーゼ又は DNA ポリメラーゼの変異が介在する。UL97 変異は GCV に対する耐性を付与することができるが、UL54 変異は GCV／VGCV、CDV 及び FOS に対する耐性を付与する可能性がある[12]。重要な点は、TAK-620 が UL54 遺伝子にコードされているウイルスポリメラーゼの変異に影響されない点である。しかし、主に CMV UL97 遺伝子にある特定のアミノ酸置換及び UL27 遺伝子の代償性変異が、TAK-620 に対する耐性をもたらす（表 2.6.2.2-9）。

In vitro では、UL97 変異の大多数（F342Y、V353A、L397R、T409M、H411L/N/Y）は UL97 キナーゼのアデノシン三リン酸（ATP）結合部位に近接している。更なるアミノ酸変異（L337M、F342S 及び V356G）は ATP 結合 P ループ内又はその近傍に位置し、D456N、V466G、C480R、P521L 及び Y617del などのアミノ酸の置換又は欠失は ATP 結合ループから離れた部位に認められる。これらのアミノ酸置換は、広範囲（約 3～200 倍超）の TAK-620 耐性を付与する[5][8][9][17]-[21]。

さらに、UL97 変異の H411L/Y と V353A の組合せは 150 倍超の TAK-620 耐性を付与したが（EC_{50} は野生型で 0.11 μM であるのに対し、それぞれ 25 及び 18 μM に増加）、GCV 耐性は付与しないことが示された。また、F342Y と H411Y の組合せは、F342Y 単独がもたらす GCV 耐性に顕著な影響を及ぼすことなく、TAK-620 の EC_{50}（6.4 μM）を約 56 倍に増加させた[10][19]。

UL27 遺伝子のフレームシフト変異及び終止変異（R233S、W362R、A406V と 415 の終止コドンの組合せ、W153R、L193F、A269T、V353E、L426F、E22stop、218delC 及び 301-311del）は、軽度の TAK-620 耐性（5 倍未満の EC_{50} 変化）を付与することが示されている[9][13][14][15]。UL27 の変異は、UL97 活性の欠損に対する適応性の遺伝子変異であると考えられており[12]、ウイルス感染周期の初期における細胞タンパク質 Tip60 の抑制作用などが提唱されている[9][16]。このため、UL27 の変異は、UL97 の欠損を代償する可能性がある。

In vitro における UL97 と UL27 変異の相加作用を評価する利用可能なデータは限られている。UL27 及び UL97 における 2 つの低度な耐性変異（R233S と L337M 又は V353A）の組合せは TAK-620 に対して 7～27 倍の耐性が付与されることが認められた[9]。

TAK-620 濃度と特定の UL97 変異又は UL27 変異との間で明確な関係は、in vitro で確立されていない[9]。しかし、最初に高い濃度の TAK-620 に曝露することで、個別に低度の耐性を付与する突然変異の組合せよりも、高度の耐性を付与する UL97 C480F などの単一突然変異が選択される可能性がある。

交差耐性については、in vitro 試験及び臨床試験のいずれにおいても、GCV、FOS 若しくは CDV、又はこれらの薬剤の併用投与に抵抗性を示す CMV 株は、TAK-620 に対して感受性を示した[22]-[24]。また、TAK-620 はアシクロビル及び BDCRB に対する抵抗性を示す CMV 株及び 1 種類のレテルモビルに対する抵抗性を示す CMV 株に対しても活性を有することが示された（4.2.1.1-21、4.2.1.1-11）[5]。

In vitro で観察される一般的な UL97 変異である V353A、L397R、T409M 及び H411L/N/Y は、TAK-620 耐性を付与するが、GCV 交差耐性は付与しなかった[8][10][20]。また、GCV/VGCV のリン酸化に重要である UL97 キナーゼドメインの変異は、UL97 キナーゼの TAK-620 結合ドメインと重複していないことから、この変異は TAK-620 の抗ウイルス作用に対して負の影響を及ぼさないことが予想された[19]。しかし、UL97 キナーゼの全体的な機能を重度に阻害又は欠損させる UL97 変異については、TAK-620 と GCV の交差耐性の出現が予想されるものの、臨床分離株では認められなかった。この要因として、こういったウイルスでは重度の増殖障害を伴うことが原因と推定される。例外として、V466G 及び P521L 変異株が、GCV 投与後の臨床検体中で検出されることが報告されている[18]。また、異常な細胞変性効果及び重度の増殖障害を示す D456N、C480R 及び Y617del の変異は、in vitro で TAK-620 及び GCV に対する交差耐性を付与することが示された[21]。まれな UL97 変異である F342S 及び V356G は、in vitro において cyclopropavir 存在下で増殖させた後に認められたもので、GCV、cyclopropavir 及び TAK-620 に対して耐性を示した[18]。F342S と同じコドンで生じる F342Y は、in vitro で F342S よりも良好なウイルス増殖能を示すが、in vivo で TAK-620 耐性を付与する[19]。また、TAK-620 投与後にディープシークエンシングにより検出された新規の UL97 変異である C480F は、高度の TAK-620 耐性及び低度の GCV 交差耐性を示す表現型を有していた[20]。

2.4.3.2 副次的薬理試験

TAK-620 は、in vitro と in vivo の広範なスクリーニングにおいて、中枢神経系、心血管系、消化器系、代謝系及び微生物に対する薬理作用を含む標的外活性が非常に低いことが示された（4.2.1.2-1）（表 2.6.3.3-1）。自律神経系に対しては、モルモット回腸を用いた試験のデータから、TAK-620 は 10 μM で抗コリン作用及び抗ヒスタミン作用を誘発する可能性が示唆された（4.2.1.2-2）。

2.4.3.3 安全性薬理試験

中枢神経系、心血管系及び呼吸系に及ぼす TAK-620 の作用について表 2.4.7-1 に要約する。

2.4.3.3.1 中枢神経系

TAK-620 を単回経口投与したマウスにおいて、250 mg/kg で活動性低下、体温低下、眼瞼痙攣及び呼吸数の変動、500 mg/kg で失調性歩行、粗大振戦、下痢及び筋緊張低下、1,000 mg/kg であえぎ呼吸及びチアノーゼが先行した死亡が認められた（4.2.1.3-1）。この他、マウスを用いた最長 13 週間までの反復経口投与毒性試験では、300 mg/kg/日以上の用量で活動性低下、体表温低下及び呼吸不整が認められた。一方、ラット及びサルを用いたそれぞれ最長 26 及び 52 週間までの反復経口投与毒性試験では、いずれも 400 mg/kg/日までの用量の初回投与時にマウスと同様の一般状態所見は認められなかった。

2.4.3.3.2 心血管系

評価した最高濃度である 1,254 µg/mL まで、TAK-620 は hERG 電流に影響を及ぼさなかった（4.2.1.3-2）。なお、thorough QT 試験において、TAK-620 は、100 及び 1,200 mg の用量で心室再分極に対して臨床的に意義のある作用を示さなかった（5.3.4.1-1）。

麻酔下閉胸雄ビーグル犬に TAK-620 の 3、10 及び 30 mg/kg を 30 分間の投与間隔で用量順に急速静脈内投与（累計用量 43 mg/kg）したとき、30 mg/kg の用量で一過性の心拍数増加が認められたが、その後、心拍数は初期値未満にまで減少した。評価した用量範囲では平均動脈圧に TAK-620 と媒体投与群との間に統計学的な有意差は認められなかった。また、頸動脈閉塞に対する血圧応答又は迷走神経刺激に対する心拍数応答を評価した実験では、自律神経機能に対する重大な影響を示さなかったことから、TAK-620 は麻酔下のイヌにおいてアドレナリン作動系やコリン作動系に影響しないことが示された（4.2.1.3-3）。

カニクイザルを用いた最長 52 週間までの反復投与毒性試験において、TAK-620 は評価した最高用量である 180～400 mg/kg/日で心電図パラメータに対する影響を示さなかった（2.6.6.3.3.1～2.6.6.3.3.4）。

2.4.3.3.3 呼吸系

上記の麻酔下閉胸ビーグル犬の試験において、10 及び 30 mg/kg の用量で一過性の呼吸数（$p=0.002$）及び呼吸量（$p<0.001$）の増加が認められたが、その後、初期値まで回復した（4.2.1.3-3）。

2.4.3.3.4 依存性

TAK-620 の化学構造、作用機序、末梢及び中枢神経系への作用、臨床試験における有害事象等の発現状況並びに薬物動態から、TAK-620 に依存性の懸念はないと判断し、依存性を検討するための特化した試験は実施していない。

2.4.3.4 薬力学的薬物相互作用

2.4.3.1.2.4 を参照。

2.4.4 薬物動態試験

2.4.4.1 吸収

Caco-2 細胞を用いて、TAK-620 の膜透過性及びトランスポーター介在性輸送を in vitro で検討した（4.2.2.2-1）。TAK-620 の見かけの膜透過性は高いことから、吸収が高い可能性が示され、また、TAK-620 の顕著な排出も認められた。

マウス（4.2.2.2-2）、ラット（4.2.2.2-3、4.2.2.2-4）及びサル（4.2.2.2-6、4.2.2.2-7、4.2.2.2-8、4.2.2.2-9）に単回経口及び静脈内投与したときの TAK-620 の薬物動態を検討した結果、動物種に特異的な差が示された。TAK-620 を経口投与したときの吸収は、マウスでは速く、ラットでは中程度、サルではげっ歯類よりも緩やかであり、マウスで約 0.6 時間、サルでは 1.38～2.3 時間で最高血漿中濃度（C_{max}）に達した。ラットでは相対的に遅延し、100 mg/kg では 1.0 時間であったのに対し、10 mg/kg では 6.5 時間であり、100 mg/kg では最終測定時点であった投与後 24 時間でも血漿中濃度が測定可能であった。各動物種における TAK-620 の経口バイオアベイラビリティは中程度～高く、マウスで 69%、ラットで 92%～98%、サルで 42%～112%であった。低用量（10 mg/kg）で経口投与したときの全身曝露量はサル（5.7～14.29 h*μg/mL）及びマウス（5.72 h*μg/mL）で最も高く、ラット（3.29～5.16 h*μg/mL）で最も低かった。

TAK-620 を単回静脈内投与したときの分布容積は、検討したすべての動物種で総体液量（0.6 L/kg）よりも高値を示した（マウス：2.0 L/kg、ラット：1.6 L/kg 以上、サル：5.7 L/kg 以上）。マウスにおける全身クリアランス（CL）は中程度（1.2 L/h/kg）であった。ラットでは初期に急速な CL（1.8 L/h/kg）が認められた後、TAK-620 の循環血中濃度が持続したことから、腸肝循環による影響が考えられ、これはラットにおける TAK-620 の主要消失経路が胆汁排泄であることと一致する（4.2.2.5-2）（2.4.4.4）。サルにおける CL は約 0.8 L/h/kg であり、腸肝循環が認められ（4.2.2.5-5）（2.4.4.4）、ラットのデータと一致した。

幼若ラットに単回経口投与したとき（4.2.2.2-5）、生後日数（PND）7～28 までの TAK-620 の曝露に顕著な（1.5 倍超）性差は認められなかった。しかし、PND 35 の雌ラットの曝露量〔C_{max} 及び投与後 0 から 72 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積（AUC_{72}）〕は、PND 35 の雄ラットに比べてそれぞれ約 1.8 倍及び 1.9 倍高かった。PND 14～35 の雌雄幼若ラットにおける C_{max} 及び AUC_{72} の平均値は、PND に依存して低下した。この傾向は、反復経口投与後にも認められた。この曝露量の減少は、幼若ラットで出生から成熟までの間に薬物代謝酵素及びトランスポーターが発達するためと考えられる[25]。

毒性試験で反復経口投与した後、TAK-620 及び VP 44469 の血漿トキシコキネティクスを評価し、データをそれぞれ表 2.6.7.3-1 及び表 2.6.7.3-2 に示す。マウスに反復経口投与したときの TAK-620 の全身曝露は、概して雌よりも雄で高かったが（4.2.3.2-2、4.2.3.4.1-1）、ラットでは雄よりも雌（約 2 倍）で曝露が高く（4.2.3.2-3、4.2.3.2-4、4.2.3.2-5、4.2.3.4.1-2）、サルでは有意な性差は認められなかった（4.2.3.2-6、4.2.3.2-7、4.2.3.2-8、4.2.3.2-9）。すべての動物種で、C_{max} 及び投与後 0 時間から最終定量可能時点までの血漿中濃度－時間曲線下面積（AUC_{last}）の平均値は用量の増加に伴った増加が認められたが、用量比例性について一貫性はみられず、高用量では用量比を下回って増加し、幼若ラットでは用量比を上回って増加する傾向がみられた（4.2.3.5.4-2、4.2.3.5.4-3）。固定用量でのラットにおける全身曝露量は PND に依存して低下し、AUC_{last} 及び C_{max} は PND 7 で PND 34 と比べて高かった。また、反復経口

投与による蓄積性を示す傾向がラット及びサルで認められ、マウスでは高用量を投与したときに認められた。すべての試験のすべての採血時点におけるマウス、ラット及びサルの血漿中濃度は TAK-620 で VP 44469 と比べて高かった。

2.4.4.2 分布

2.4.4.2.1 タンパク結合率及び血球分布

In vitro で、マウス、ラット、ウサギ及びサルにおける TAK-620 の血漿タンパク結合率は中程度であり、それぞれ 84.7%～93.8%、82.7%～88.3%、89.7%及び 83.9%～91.7%であった。ヒトでは血漿タンパク結合率が高く、98%であった（4.2.2.3-4、4.2.2.3-5、4.2.2.3-6）。VP 44469 の血漿タンパク結合率は、TAK-620 と同程度であったウサギ血漿を除き、TAK-620 よりも低かった（マウス：76.1%、ラット：71.4%、ウサギ：90.9%、サル：78.3%）。すべての動物種において、TAK-620 又は VP 44469 の濃度の増加に伴い、概してタンパク結合率のわずかな低下が認められた。ヒトの腎機能障害試験又は肝機能障害試験（5.3.3.3-2、5.3.3.3-3）で得られた ex vivo 検体において、TAK-620 はすべての濃度でヒト血漿タンパク結合率が高く、タンパク結合の程度は概して血漿中濃度に依存しないことが示された。TAK-620 はヒト肝ミクロソーム（HLM）にも中程度に結合し、結合率は 27%と推定された（4.2.2.4-1）。

結合親和性試験（4.2.2.3-10、4.2.2.3-9）において、α1-酸性糖タンパク質（AGP）に対する TAK-620 の結合親和性は、ヒト血清アルブミン（HSA）と比べて高かったが、血清アルブミンはヒト血漿中により高濃度で存在するため、TAK-620 の血漿タンパク結合の大部分を占めていると考えられる。ヒト赤血球及び急性リンパ芽球性白血病小児由来リンパ芽球細胞株において、TAK-620 は細胞質のタンパク質及びヒト血漿タンパク質と強力かつ可逆的に結合することが示唆された。TAK-620 は HSA に中程度に結合したが、ヒト血漿中非結合型分率は HSA への結合で認められたものよりも極めて低かったことから、その他のタンパク質（リポタンパク質など）も TAK-620 の血漿タンパク結合に寄与する可能性が示唆された。追加の HSA 及び AGP を用いた結合試験では、TAK-620 は HSA に中程度に結合し、比較的程度は低いものの治療濃度で AGP に結合した。このため、AGP は血漿中で TAK-620 が結合する重要なタンパク質ではないと考えられた（4.2.2.3-11）。

共有結合試験で得られたデータから、TAK-620 はニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸(NADPH)依存的なプロセスを介して生体内活性化されることが示された(4.2.2.3-12)。反応性代謝物は肝ミクロソームタンパク質に共有結合したことが示され、その他の非臨床動物種と比較して HLM に対する結合率が低かった（マウス、ラット、サル及びヒトでそれぞれ 87.1、53.9、79.6 及び 43.6 pmol equiv/mg protein）。

血液／血漿分配試験（4.2.2.3-5、4.2.2.3-13）において、TAK-620 はラット及びサルの赤血球にある程度分布し、その程度は陽性対照とした chlorthalidone と比べて低かった（赤血球／血漿分配比の平均値はラット及びサルでそれぞれ 4.2 及び 7.4、ヒトでは 1.4）。各時点の分配比を比較したところ、TAK-620 はインキュベート開始後 10 分以内に速やかに赤血球に分布し、明らかな濃度依存性や時間依存性はないことが示唆された。

2.4.4.2.2 組織分布

In vitro で、TAK-620 はサル脳組織に結合した（4.2.2.3-1）。オイルスピン（Oil spin）法を用いた試験（4.2.2.3-2）から、ヒト肝細胞への TAK-620 の取込みに能動輸送が寄与していることが示唆された。

定量的全身オートラジオグラフィ試験（4.2.2.5-3）で、白色動物と有色動物の両方において薬物関連放射性物質（DRM）が組織に広く分布していた。白色ラット及び有色ラットにおいて、それぞれ概して投与後 4 時間及び 0.5 時間の時点で最高組織中濃度に達し、投与後 24 時間までに概して定量下限未満となった。放射能濃度は眼、ブドウ膜及び有色皮膚を除き、投与後 72 時間までに検出不能となった。放射能濃度は腎皮質、腎臓及び肝臓で最も高かった。顕著に高い放射能濃度（[^{14}C]TAK-620 1,000 ng/g 超相当）が認められたその他の組織は、概して、放射能濃度が高い順に、腎髄質>副腎>ブドウ膜（有色ラット）>眼窩外涙腺>ハーダー腺>膵臓>眼窩内涙腺>小腸>大腸>心筋>食道>唾液腺>有色皮膚（有色ラット）>下垂体であった。尿中及び血液中でも高い放射能濃度が認められた。ブドウ膜における放射能濃度は、有色ラットで白色ラットと比べて約 6 倍高く、最終測定時点でも測定可能であったことから、投与後 504 時間より後の時点も DRM が滞留することが示された。また、有色皮膚でも投与後 72 時間まで放射能濃度が検出された。しかし、有色組織中で放射能濃度は測定できたものの、TAK-620 は BALB/c 3T3 マウス線維芽細胞を用いて GLP 下で実施したニュートラルレッド取込み試験で作用を示さなかったことから、ヒトでの光毒性の可能性は低いと考えられる（2.4.5.7.3）。

TAK-620 は血液脳関門の透過性が低いことが示された。サルを用いた 28 日間反復投与毒性試験で 180 mg/kg/日以下の用量で投与したときに、低濃度の TAK-620 が脳脊髄液、硝子体液及び脳中に認められた（4.2.3.2-6）。しかし、ヒト血液脳関門を透過する TAK-620 の量は少ないと考えられた。

2.4.4.3 代謝

TAK-620 は、in vitro 固有クリアランス（CL_{int}）及び非選択的 CYP 阻害剤である 1-アミノベンゾトリアゾール（ABT）による阻害率のいずれの点においても、動物種によって異なる代謝を示した（4.2.2.4-1、4.2.2.4-2）。ラット、サル及びヒトのプールした肝ミクロソーム及び初代培養肝細胞を用いた試験（4.2.2.4-3、4.2.2.4-11）から、肝ミクロソーム及び肝細胞における 3 つの主要代謝経路が明らかになった。1 つ目はイソプロピル基の N-脱アルキル化による VP 44469（M4）が生成され、これに続いてグルクロン酸抱合を受けて M1 が生成される経路、2 つ目は TAK-620 が直接的なグルクロン酸抱合を受けて 3 種類のグルクロン酸抱合異性体（M7a、M7b 及び M7c）が生成される経路、3 つ目は N-グリコシド結合が開裂することにより M9、並びに N-脱アルキル化及び N-グリコシド結合の加水分解による M13 が生成され、これに続いてグルクロン酸抱合を受けてそれぞれ M2/M3 及び M8 に代謝される（肝細胞のみ）経路である。検討したすべての動物種で 3 つの経路が確認され、いずれのヒトで検出された代謝物はラット及び／又はサルでも検出された。ラット及びサルの肝細胞ではグルクロン酸抱合が主要代謝経路であるのに対し、ヒト肝細胞ではグルクロン酸抱合はほとんど認められず、N-脱アルキル化が主要代謝経路であると考えられた。ABT 及び tienilic acid（TA）

を添加したとき、M7（TAK-620 の直接グルクロン酸抱合体）を除くすべての代謝物の生成がほぼ完全に阻害され、また M7 の生成も ABT 及び TA により阻害された。

VP 44469 の生成に関与する主たる酵素は CYP3A4 及び CYP1A2 であり、組換え CYP（rCYP）においてのみ CYP2D6 がいくらか寄与すると考えられた。TAK-620 の VP 44469、M9 及び M13 への生成はケトコナゾール（CYP3A4 阻害剤）及び CYP3A4 中和抗体により阻害されたため、TAK-620 の酸化的代謝には主に CYP3A4 が寄与しており、低い程度で CYP1A2 も寄与することが示唆された。HLM における TAK-620 の CL_{int} は 16 mL/min/kg であった。ヒトでは複数のウリジン 5'-二リン酸グルクロン酸転移酵素（UGT）、すなわち UGT1A1、UGT1A3 及び UGT2B7 が TAK-620 のグルクロン酸抱合に関与することで、1 種類の主要なグルクロン酸抱合代謝物（M7b）及び 2 種類の微量代謝物であるグルクロン酸抱合体（M7a 及び M7c）が生成し、UGT1A9 が関与する可能性も示されたが、いずれも CL_{int} が非常に低値であったため、定量することはできなかった。M7b の生成には UGT1A1、UGT1A3 及び UGT2B7 が寄与しており、寄与の程度は小さいものの UGT1A9 も寄与していた。M7a の生成には主に UGT2B7 が寄与しており、UGT1A1、UGT1A3 及び UGT1A9 も寄与していた。M7c の生成には UGT1A1、UGT1A3、UGT1A9 及び UGT2B7 が寄与していた。

In vitro で HLM において認められた TAK-620 の主要代謝物は、in vivo でも認められた。In vivo 試験から、マウス、ラット及びサルにおいて TAK-620 は吸収された後、主に肝臓で代謝され、主として酸化、N-脱アルキル化、N-グリコシド結合の加水分解及びグルクロン酸抱合を介し、主に CYP3A4 により代謝されることが示された。マウス（4.2.2.4-6）、ラット（4.2.2.4-7）、サル（4.2.2.4-8）及びヒト（4.2.2.4-9）において、VP 44469（イソプロピル基の N-脱アルキル化により生成）が代謝物として認められた。

2.4.4.4 排泄

In vivo 試験から、マウス、ラット及びサルにおける主な消失経路は、胆汁排泄及び代謝であることが示された。

マウスにおいて TAK-620 は著しく代謝を受け、吸収された TAK-620 及びその代謝物は、雄マウスでは大部分が胆汁及び／又は腸内分泌を介して糞中に排泄され、約 25%が尿中へ排泄されたのに対し、雌マウスではそれぞれ約 50%が胆汁及び／又は腸内分泌を介して糞中及び尿中に排泄された。尿中及び糞中に回収された放射能の大部分は未変化体及び代謝物 VP 44469 であった（4.2.2.4-6、4.2.2.5-1）。ラットでは、経口投与又は静脈内投与した時の主要消失経路は胆汁中排泄であり、投与した薬物の 89%超が未変化体として糞中に回収され、腸肝循環が生じると考えられた（4.2.2.5-2、4.2.2.5-3）。尿中及び胆汁中の総放射能の回収率から、投与した放射能の約 85%が吸収されると考えられた。サルでは、DRM の主要消失経路は胆汁（84%）を介したものであった（4.2.2.5-5）。

2.4.4.5 薬物動態学的薬物相互作用

一連の非臨床 in vitro 薬物相互作用（DDI）試験を実施し、TAK-620 による各種 CYP 及びトランスポーター阻害、CYP 誘導並びにトランスポーター誘導を評価した。また、TAK-620 が各種トランスポーターの基質になるかを検討した。これらのデータに基づいた in vivo 予測を表 2.6.4.9-1～表 2.6.4.9-13 に示す。リスク推定の計算結果に基づくと、TAK-620 は各 organic

anion transporting polypeptide（OATP）基質に対して臨床的に問題となる DDI を引き起こさないと考えられるが、CYP1A2、CYP2C9、CYP2C19、UGT1A1、organic anion transporter（OAT）3、multidrug and toxin extrusion（MATE）1、P 糖タンパク質（P-gp）及び breast cancer resistance protein（BCRP）については、カットオフ値を上回ったため、更なる検討が必要である。

TAK-620 は in vitro で CYP3A4 の基質であり、CYP1A2、UGT1A1、UGT1A3 及び UGT2B7 の基質である。また、UGT1A9、P-gp、organic cation transporter（OCT）1 及び BCRP の基質になる可能性があるが、OATP1B1、OATP1B3 又は bile salt export pump（BSEP）の基質ではないことが示された。また、TAK-620 は in vitro で CYP1A2、CYP2C9、CYP2C19、UGT1A1、UGT1A3、UGT1A9、UGT2B7、P-gp、OATP1B1、OATP1B3、OCT1、OAT3、MATE1 及び BSEP に対して弱い阻害作用、BCRP に対して阻害作用を示すが、CYP2A6、CYP2B6、CYP2C8、CYP2D6、CYP2E1 及び CYP3A4（ミダゾラム及びテストステロン）、OCT2、OAT1、MATE2K、UGT1A4 や UGT1A6 では阻害作用を示さなかった（4.2.2.6-1、4.2.2.6-8、4.2.2.6-9、4.2.2.6-5）。

TAK-620 は 100 μM 以下で、CYP1A2、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19 及び CYP2D6 に対して時間依存的阻害（TDI）作用を示す可能性は低いが、CYP3A4 に対して弱い TDI 作用を示す可能性が高い（4.2.2.6-2、4.2.2.6-3）。In vitro で、VP 44469 は CYP3A4 基質であるテストステロンを阻害したが、50%阻害濃度（IC_{50}）は約 30 μM であった（4.2.2.6-4）。In vitro で、TAK-620 は CYP2B6 に対する誘導作用は示さなかったが、TAK-620 は CYP3A4 及び CYP1A2 に対して弱い誘導作用を示した（4.2.2.6-6、4.2.2.6-7、4.2.2.6-11）。

VP 44469 による mechanism-based 阻害は認められなかった。臨床的に意味のある濃度において、VP 44469 が CYP 阻害の DDI を起こす可能性は低いと考えられる（4.2.2.6-4）。

2.4.5 毒性試験

ICH ガイドライン M3（R2）又は各毒性試験実施時の規制ガイドラインに従い、単回投与毒性試験、マウスを用いた最長 13 週間、ラットを用いた最長 26 週間及びカニクイザルを用いた最長 52 週間の反復投与毒性試験、in vitro 及び in vivo 遺伝毒性試験、マウス及びラットを用いた 2 年間のがん原性試験、ラット及び／又はウサギを用いた生殖発生毒性試験、並びにラットを用いた幼若動物毒性試験において、TAK-620 の毒性プロファイルを評価した。また、ラット、ウサギ及び／又はモルモットを用いた局所刺激性（眼及び皮膚）試験、ラットを用いた免疫毒性試験、並びに in vitro 光毒性試験による評価とともに、ICH ガイドライン M7（R1）に基づき、原薬不純物の遺伝毒性評価も実施した。主要な試験はすべて GLP 下で実施し、TAK-620 とその主要代謝物 VP 44469 の両方についてトキシコキネティクス評価を実施した。ヒトに TAK-620 400 mg を 1 日 2 回（BID）投与したときの曝露量に対する各毒性試験の無毒性量（NOAEL）／最小毒性量（LOAEL）における TAK-620 及び VP 44469 の曝露量の比を表 2.4.7-1 及び表 2.4.7-2 に示す。

2.4.5.1 単回投与毒性試験

マウス及びラットを用いた強制経口投与（マウス：250、500 又は 1,000 mg/kg、ラット：1,000、1,500 又は 2,000 mg/kg）及び静脈内投与（雄マウス：25、37.5、43.75 又は 50 mg/kg、雌マウス：37.5、43.75、50 又は 62.5 mg/kg、雄ラット：75、100、150、175 又は 200 mg/kg、雌ラット：50、75、87.5 又は 100 mg/kg）による TAK-620 の単回投与毒性試験を実施した。

マウスの経口投与では、500 mg/kg 以上の群の雌雄で死亡が認められ、活動性低下及び虚脱が 500 mg/kg 以上の群で、痙攣、異常発声、あえぎ呼吸及び失調性歩行が 1,000 mg/kg 群で認められた（4.2.3.1-1）。ラットの経口投与では、1,000 mg/kg 群の雄 1 匹及び 1,500 mg/kg 以上の群の全動物が死亡し、死亡前の一般状態所見として、流涎、活動性低下及び虚脱などが認められた（4.2.3.1-3）。

マウス（4.2.3.1-2）及びラット（4.2.3.1-4）において、TAK-620 の静脈内投与の忍容性は良好ではなかった。マウスでは投与日に 37.5 mg/kg 以上の群で死亡が認められ、死亡前に間代性痙攣、失調性歩行及びあえぎ呼吸などが認められた。ラットでは 87.5 mg/kg 以上の群で投与 2 日後までに死亡が認められ、死亡前に間代性痙攣、失調性歩行、あえぎ呼吸及び／又は努力性呼吸、虚脱及び活動性低下などが認められた。

2.4.5.2 反復投与毒性試験

GLP 下で実施した反復投与毒性試験において、マウスで 13 週間、ラットで 26 週間、カニクイザルで 52 週間の最長投与期間を設定し、TAK-620 の全身毒性を評価した。非 GLP 下で用量設定試験を実施し、続く GLP 適用試験での適切な用量を決定した。GLP 下で実施した反復投与毒性試験における最高用量は、マウス、ラット及びサルでそれぞれ 500、400 及び 400/300 mg/kg/日であった。

マウスを用いた 13 週間試験では、300 mg/kg/日以上の群で雄 19 匹及び雌 18 匹の死亡が、ラットを用いた 26 週間試験では、400 mg/kg/日の群で雄 1 匹及び雌 4 匹の死亡が認められた。サルを用いた 52 週間試験では、400/300 mg/kg/日群の雄 2 匹及び 200 mg/kg/日群の雄 1 匹が瀕死状態のため切迫剖検となった。

各動物種における主な毒性の標的は、消化器系（便性状の変化及び／又は消化管粘膜過形成などの病理組織学的所見）及び血液系（赤血球系パラメータの低値及び／又は脾臓重量の増加）であった。これらの所見は、投与中止により回復性を示すか、モニタリングが可能であった。上記最長試験の NOAEL は、マウス及びラットではそれぞれ 150 及び 25 mg/kg/日と考えられたが、サルにおける NOAEL は確立されず、検討した最低用量である 100 mg/kg/日未満と考えられた。NOAEL/LOAEL での曝露量（AUC）は、概して臨床治療用量での AUC を下回る曝露量であったが、ヒトの血漿タンパク結合率が非臨床動物種に比べて高いことから、サルの 100 mg/kg/日における非結合型 AUC は臨床治療用量におけるそれよりもわずかに（約 2 倍）高かった（表 2.4.7-1）。

2.4.5.2.1 マウス

14 日間試験（4.2.3.2-1）及び 13 週間試験（4.2.3.2-2）において、それぞれ 700 及び 300 mg/kg/日以上の群で死亡が認められた。13 週間試験では、死亡動物又は瀕死のために剖検した動物における一般状態所見として、糞量減少、呼吸不整、呼吸音、努力性呼吸、透明な口腔分泌物、被毛粗剛及び頭部振戦が認められた。より高用量群では活動性低下も認められた。13 週間の投与後、300 mg/kg/日以上の群で可逆的な血小板数及び網状赤血球数（絶対値）の軽度高値が、また 300 mg/kg/日群の雌では脾臓相対重量の増加も認められ、脾臓造血のわずかな増加を伴っていた。消化管における病理組織学的所見として、500 mg/kg/日群の雄 1 匹及び雌 2 匹の盲腸及び結腸に軽微～重度のびらん／潰瘍、粘膜過形成、浮腫及び炎症が認められ

た。このうち、雄 1 匹では前胃にも軽微なびらん／潰瘍、雌 1 匹では十二指腸の軽微なびまん性粘膜過形成及び腺胃の軽微なびらん／潰瘍も認められた。300 mg/kg/日以下の群では消化管に被験物質に関連した所見は認められなかった。すべての所見は回復期間中に回復した。

2.4.5.2.2 ラット

被験物質に起因した一般状態所見として、30 日間試験（4.2.3.2-4）及び 26 週間試験（4.2.3.2-5）では、投与期間中に 25 mg/kg/日以上の群で流涎が、100 mg/kg/日以上の群で便性状の変化（軟便／粘液便）が認められ、28 日間試験（4.2.3.2-3）では軟便が 400 mg/kg/日群で認められた。これらの一般状態所見には回復性が認められた。すべての試験において、100 mg/kg/日以上の群で認められた臨床病理パラメータの変化は概して軽度であり、26 週間試験において経時的な増悪はなく、回復性を示したため、臨床的な意義はないと判断された。病理組織学的所見として、大腸及び小腸の粘膜過形成が雌雄ラットに認められた。30 日間試験では、100 mg/kg/日以上の群で盲腸（軽微～軽度）及び結腸（軽微）に粘膜過形成が、また十二指腸に絨毛過形成が認められた。26 週間試験では、小腸（十二指腸、回腸及び空腸）における軽微～軽度の粘膜過形成が 400 mg/kg/日群の雌雄に認められ、大腸では軽微～中等度の粘膜過形成が 100 mg/kg/日以上の群の雌及び 25 mg/kg/日以上の群の雄の盲腸、100 mg/kg/日以上の群の雌雄の結腸、並びに 400 mg/kg/日群の雌雄の直腸に認められた。25 mg/kg/日群の雄で盲腸にのみ認められた粘膜過形成の発現頻度は低く（16 例中 2 例）、その程度も軽微又は軽度であった。高用量群の回復群では、これらの消化管所見は回復期間終了時までに部分的に回復したが、完全には回復しなかった。肝臓では肝細胞質の変化が、100 mg/kg/日以上の群の雄及び 400 mg/kg/日群の雌で認められ、これは 400 mg/kg/日群の雌の肝臓重量増加と関連していた。この所見は代謝酵素の誘導を反映した可能性が高いと考えられ、肝酵素活性の解析では TAK-620 が雌雄において CYP1A 活性及び CYP2B 活性の弱～中等度の誘導物質であり、雌では CYP3A4 活性の誘導物質であることが示唆されている。

2.4.5.2.3 サル

28 及び 30 日間試験において、28 日間試験の 180 mg/kg/日群で可逆的な赤血球系パラメータの変化が認められたが、いずれの試験においても、180 mg/kg/日（最高用量）まで TAK-620 BID 投与に関連した毒性所見は認められなかった（4.2.3.2-6、4.2.3.2-7）。26 週間試験（4.2.3.2-8）では、25、50 又は 100 mg/kg を BID 投与したときに予想された全身曝露量を下回ったため、3 週間の投与後、Week 4 から残りの試験期間は TAK-620 の各用量を 2 倍にし、50、100 又は 200 mg/kg の用量で BID 投与した（総投与量 100、200 又は 400 mg/kg）。52 週間試験（4.2.3.2-9）では、TAK-620 を 50、100 又は 200 mg/kg の用量で BID 投与した（総投与量 100、200 又は 400 mg/kg/日）。26 及び 52 週間試験では、それぞれ 200 及び 100 mg/kg/日以上の群の一部の動物で、便性状の変化（軟便／液状便／下痢）の持続及び脱水などが認められたことにより、投薬期間中に休薬する必要が生じた。52 週間試験では、最高用量の 400 mg/kg/日において、10 週間の投与後に投与を 4 週間中断し、Week 14 から 300 mg/kg/日に減量して投与を再開した（400/300 mg/kg/日群）。しかし、重度の下痢の持続及び脱水が認められたため、300 mg/kg/日での投与を Week 36 に中止した。また、52 週間試験では、下痢及び顕著な体重減少のため、400/300 mg/kg/日群の雄 2 匹及び 200 mg/kg/日群の雄 1 匹を Week 28 までに切迫剖検した。52

週間試験では、血液学的検査値、血液生化学検査値及び尿検査値の変動が認められ、主に赤血球系パラメータ（赤血球数、ヘモグロビン及びヘマトクリット）の低値が認められたが、これらは摂餌量の変化及び脱水を伴う状態悪化に関連した二次的なものと考えられた。同じく、病理組織学的所見は消化管、特に大腸に限定して認められ、盲腸、結腸及び直腸における軽微な粘膜過形成が 100 mg/kg/日以上の群で認められたが、回復期間後は、400/300 mg/kg/日群の雌 1 匹における盲腸及び結腸の軽微な粘膜過形成を除き、変化は認められなかった。これらの赤血球系パラメータの変化及び消化管における病理組織学的所見は 26 週間試験でも認められた。

2.4.5.3 遺伝毒性試験

In vitro 試験として、細菌を用いる復帰突然変異試験（Ames 試験）及び 3 回のマウスリンフォーマ *Tk* 試験を、in vivo 試験として、ラットを用いた骨髄小核試験をいずれも GLP 下で実施し、TAK-620 の遺伝毒性を評価した。

Ames 試験において、代謝活性化系（ラット肝 S9）の存在下及び非存在下、プレート法及びプレインキュベーション法で TAK-620 の変異原性は認められなかった（4.2.3.3.1-1）。

マウスリンフォーマ *Tk* 試験の 1 回目試験のラット肝 S9 非存在下では、100 及び 200 µg/mL の濃度で観察された突然変異頻度のわずかな増加（約 1.5～2.2 倍）は、陽性判定基準を満たさなかったため、判定不能と考えられた。S9 存在下では、20～200 µg/mL の濃度範囲で突然変異頻度の増加が認められた。しかし、これらの値は小さく（2 倍未満）、明確な用量依存関係のある細胞毒性を示したため、S9 存在下では、TAK-620 は変異原性を示さないと判断された（4.2.3.3.1-2）。2 回目試験は S9 非存在下の条件のみで実施され、100～200 µg/mL の濃度で細胞毒性が、また 125、150 及び 175 µg/mL では統計学的に有意な突然変異頻度の増加が認められたことから、S9 非存在下で TAK-620 は弱い変異原性を示したと結論された（4.2.3.3.1-3）。3 回目試験の S9 非存在下では、15 µg/mL 以上の濃度で統計学的に有意な突然変異頻度の増加が認められ、細胞の相対生存率が 7%～9%まで低下した 50 µg/mL での突然変異頻度は対照値の 2～4 倍の範囲であった。S9 存在下で実施した 2 つの Test に一貫性は認められず、Test 1 では 75、100 及び 150 µg/mL では突然変異頻度がわずかに増加したが（最大約 2 倍）、細胞毒性に対する明確な用量反応性も関係性もなかった。Test 2 では、100 µg/mL では薬剤添加後の相対生存率が 36%であったが、その後の浮遊細胞増殖率は低く、さらなる培養及び突然変異頻度の評価はできなかった。しかし、評価した最高濃度（75 µg/mL）まで、突然変異頻度の大幅な増加は認められなかった（4.2.3.3.1-4）。以上の 3 回の試験の結論として、マウスリンフォーマ *Tk* 試験において、TAK-620 は S9 非存在下で弱い変異原性を示し、S9 存在下での結果は判定不能であった。また、3 回目の試験のデータから、代謝活性化系の非存在下で主に小さなコロニーの突然変異頻度の増加が認められたため、TAK-620 の弱い染色体異常誘発性が示された。

In vivo ラット骨髄小核試験において、TAK-620 は極めて高用量かつ致死量付近の 1,200 mg/kg の用量でも、染色体異常誘発性を有さないことが示された（4.2.3.3.2-1）。

マウスリンフォーマ *Tk* 試験の 3 回の試験で突然変異頻度の上昇に再現性は認められなかったものの、統計学的に有意な突然変異頻度の増加が認められた最低濃度は S9 非存在下では 15 µg/mL、S9 存在下では 75 µg/mL であったことから、TAK-620 は肝代謝酵素によって代謝

されていることが示唆され、代謝活性を有する細胞又は in vivo では染色体異常誘発性及び染色体損傷作用を示さない可能性が示された。ラット骨髄小核試験において、TAK-620 は極めて高用量かつ致死量付近の用量で陰性であったことから、マウスリンフォーマ *Tk* 試験の弱い反応で示唆された遺伝毒性リスクは in vivo においては外挿性のない反応と考えられた。一連の試験で得られた全体のエビデンスに基づき、TAK-620 に遺伝毒性はないと判断された。

2.4.5.4 がん原性試験

CD-1 マウス（4.2.3.4.1-1）及び Han Wistar ラット（4.2.3.4.1-2）を用いた 2 年間のがん原性試験を GLP 下で実施し、それぞれ 0（対照）、25、75 又は 150 mg/kg/日及び 0（対照）、10、30 又は 100 mg/kg/日の用量で経口投与したときの TAK-620 のがん原性を評価した。

ラットを用いた 2 年間のがん原性試験において、最高用量 100 mg/kg/日まで発がん性は確認されなかった。マウスを用いた 2 年間のがん原性試験では、150 mg/kg/日群（高用量群）の雄のみで、複数の組織に血管腫、血管肉腫及び血管腫／血管肉腫の発現頻度に増加がみられ、血管肉腫の発現頻度（12.9%）は、同じ系統のマウスの背景データにおける発現頻度（12%）をわずかに上回った。この発現頻度の増加は 75 mg/kg/日以下の群では認められず、75 mg/kg/日での非結合型濃度に基づく AUC は臨床での非結合型濃度に基づく AUC の約 2 倍高かった（表 2.4.7-1）。雄マウスにおける血管腫／血管肉腫の発現頻度増加は、104 週間投与したときに認められたが、上述のとおり、背景データをわずかに上回る発現頻度増加であり、臨床試験（最長 24 週間まで）と投与期間が異なる状況で認められていること、104 週間投与した雌マウス及び雌雄ラットに影響がなかったこと、遺伝毒性試験で陰性であったこと、さらにマウスに比べてヒトにおける自然発生性の血管肉腫の発現頻度は極めて低く（<0.001%）、血管肉腫の発現様式に種差があると報告されていること[26]から、ヒトでのリスクに対して明確な外挿性を示すものではないと判断する。

2.4.5.5 生殖発生毒性試験

TAK-620 をラット及びウサギに経口投与し、生殖発生毒性を評価した。GLP 下で実施した試験は、Han Wistar ラットを用いた受胎能及び胚・胎児発生毒性試験、New Zealand White ウサギを用いた胚・胎児発生毒性試験、Han Wistar ラットを用いた出生前及び出生後の発生に関する試験、並びに幼若 Sprague-Dawley ラットを用いた 2 回の毒性試験であった。

ラットにおける受胎能と胚・胎児発生毒性を組み合わせた試験（4.2.3.5.1-2）において、100 mg/kg/日以上で精子直線速度の低下、生存胎児数の減少、早期吸収胚数及び着床後胚死亡の増加が認められた。しかし、最高用量 400 mg/kg/日群においても受胎能及び生殖能に TAK-620 の影響は認められず、同じく胎児の骨格、外表及び内臓観察においても異常及び変異は認められなかった。ウサギを用いた胚・胎児発生毒性試験（4.2.3.5.2-3）では、最高用量 100 mg/kg/日において胚・胎児の生存並びに胎児の骨格、外表及び内臓に異常及び変異は認められず、TAK-620 はラット及びウサギにおいて催奇形性を示さなかったと結論する。ラットを用いた出生前及び出生後の発生毒性試験（4.2.3.5.3-1）では、150 mg/kg/日以上の群で、母動物によるケア不良のために出生児の生存率の低下及び身体的発達指標の遅延を伴う体重増加抑制が認められた。しかし、これらの出生児のその後の受胎能及び交尾行動並びに妊娠維持能及び生存児出産能は、TAK-620 の影響を受けなかった。

小児集団（0～18 歳）を対象とした TAK-620 の臨床開発の可能性を裏付けるため、幼若ラットを用いた毒性試験を実施した。非 GLP 下で用量設定毒性試験（4.2.3.5.4-1）を、また GLP 下で本試験（1 回目試験）（4.2.3.5.4-2）を実施したところ、生後日齢増加に伴う血漿中 TAK-620 濃度の低下が認められた。このことから、投与期間を通して一定した曝露量を確保するために、TAK-620 の用量を漸増しながら進める本試験（2 回目試験）（4.2.3.5.4-3）を GLP 下で実施した。3 試験すべてで、幼若ラットに TAK-620 を PND 7～34 まで強制経口投与し、投与期間終了後 2 週間（用量設定毒性試験）又は 4 週間（本試験）の回復期間を設けた。いずれの試験においても成熟動物では観察されていない新たな毒性はみられなかった。幼若ラットを用いた 2 回の本試験の NOAEL は各試験の最高用量と考えられた。すなわち、1 回目の固定用量試験の NOAEL は 100 mg/kg/日、2 回目の用量漸増試験では雄の NOAEL は 300 mg/kg/日（25 mg/kg/日から用量漸増）、雌の NOAEL は 225 mg/kg/日（25 mg/kg/日から用量漸増）であった。

2.4.5.6 局所刺激性試験

ラット（4.2.3.6-1）、モルモット（4.2.3.6-2）及びウサギ（4.2.3.6-3）を用いた皮膚刺激性又は皮膚感作性試験、並びにウサギを用いた眼刺激性試験（4.2.3.6-4）において、TAK-620 の局所刺激性を評価した。TAK-620 はラット（2,000 mg/kg 局所適用）又はウサギ（500 mg 局所適用）において皮膚刺激性がなく、モルモットにおいて皮膚感作性がない（皮内感作で 1% w/v、局所感作で 50% w/w 及び局所惹起で 25% w/w 及び 50% w/w）と考えられた。ウサギにおいて、TAK-620 は 10 mg の用量で軽度の眼刺激性物質、また 57 mg の用量で眼腐食性物質と考えられた。

2.4.5.7 その他の毒性試験

2.4.5.7.1 免疫毒性試験

Sprague-Dawley ラットに TAK-620 を 100 mg/kg/日（50 mg/kg BID）以下の用量で 7 日間経口投与後、脾臓においてヒツジ赤血球に対する免疫グロブリン抗体産生反応に変化が認められなかったことから、TAK-620 はラットの免疫系に影響を及ぼさないことが明らかとなった（4.2.3.7.2-1）。また、ラットで最長 26 週間及びサルで最長 52 週間の反復経口投与毒性試験の結果から、免疫毒性を示唆する影響は認められなかった。以上から、TAK-620 は免疫毒性を示さないと考えられる。

2.4.5.7.2 不純物の毒性試験

TAK-620 の製造工程における不純物及び潜在的不純物について、文献データ及び in silico スクリーニングソフトウェア（専門的経験に基づくルールベースの方法及び統計ベースの方法）を用い、ICH ガイドライン M7（R1）に従って、変異原性を評価した（4.2.3.7.6-1、4.2.3.7.6-7、4.2.3.7.6-8、4.2.3.7.6-9、4.2.3.7.6-10、4.2.3.7.6-11）。また、この in silico 評価の結果なども考慮して、6 つの不純物について Ames 試験を実施した結果、すべて陰性であった（4.2.3.7.6-2、4.2.3.7.6-3、4.2.3.7.6-4、4.2.3.7.6-5、4.2.3.7.6-6、4.2.3.7.6-12）。In silico 評価に基づくと、1 化合物〔 不純物G* （別名：[redacted]）〕のみが ICH M7（R1）の下でクラス 1 に分類された。ICH M7（R1）の注記 4 に基づく評価及びカリフォルニア州環境保護庁

*新薬承認情報提供時に置き換え

による本化合物に関する許容 1 日摂取量の報告に基づき、 不純物G* の許容 1 日摂取量を 40 µg/日に規定した。これは TAK-620 の最大 1 日用量である 800 mg に基づくと、 不純物G* の 50 ppm に相当する。

2.4.5.7.3 光毒性試験

Long Evans 有色ラットのメラニン含有組織（眼、皮膚及びブドウ膜）内に TAK-620 が分布することに基づき（2.4.4.2.2）、BALB/c 3T3 マウス線維芽細胞を用いた in vitro 光毒性試験を GLP 下で実施した。本試験において TAK-620 は最高濃度の 100 µg/mL まで光毒性を示さなかった。TAK-620 が光毒性を示す可能性は低いと考えられる（4.2.3.7.7-1）。

2.4.6 総括及び結論

経口投与による臨床での使用を裏付けるため、TAK-620 の非臨床安全性評価プログラムを適切に設定し、実施した。このプログラムは、同時期の国際規制ガイダンスに準拠した非臨床薬理試験、安全性薬理試験、薬物動態試験及び薬物代謝試験、並びに毒性試験で構成された。

TAK-620 は経口投与可能で、強力かつ選択的な CMV UL97 キナーゼに対する阻害薬であり[2]、CMV の増殖を阻害する[1]。TAK-620 は、その抗ウイルス活性を示すうえで UL97 キナーゼ（GCV の活性化に必要）によるリン酸化を必要としない。また、TAK-620 は CMV のウイルス DNA ポリメラーゼ変異の影響を受けにくく、ウイルス DNA ポリメラーゼ変異を有する株に対しても活性を示す。この作用機序は、現在承認されている CMV に対する抗ウイルス薬と比較して特有なものである。このことは、GCV、FOS 又は CDV に対する耐性を有する CMV 株が TAK-620 に対して感受性を維持していた in vitro 試験及び臨床試験から裏付けられる。また、in vitro で、TAK-620 はレテルモビル耐性 CMV 株に対する活性も有することが示された[5]。これらのことは、CMV 感染において、既存のこれら薬物治療に対する抵抗性を示す移植患者に対する、TAK-620 の有用性を示唆している[22]-[24]。

TAK-620 は、既知のエプスタイン・バーウイルス増殖阻害[11][27]を除き、単純ヘルペスウイルス 1 型、牛ウイルス性下痢ウイルス、RS ウイルス、リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス、ワクシニアウイルス、タカリベウイルス、ロタウイルス、重症急性呼吸器症候群関連コロナウイルス、B 型肝炎ウイルス、HIV、水痘帯状疱疹ウイルス及びシミアンウイルス 40 などの一連の RNA ウイルス及び DNA ウイルスに対して、抗ウイルス活性を有しないことが示唆された。

また、TAK-620 は、CMV 野生型及び CMV 変異型に対してレテルモビル、FOS 及び CDV と相加作用を示し、GCV と拮抗作用を示すが、mTOR 阻害薬であるシロリムスと相乗作用を示したことから、TAK-620 とシロリムスとの併用は有用な組合せである可能性が示唆された[5]。

耐性変異株の出現は、抗ウイルス薬の使用により、高頻度で起こる。In vitro 試験と臨床試験の両方で、UL97 及び／又は UL27 において、TAK-620 耐性に関連したアミノ酸置換を有するウイルスが報告されている[9]。

*新薬承認情報提供時に置き換え

安全性薬理試験において、中枢神経系では TAK-620 を単回経口投与したマウスにおいて、250 mg/kg の用量で活動性低下、体温低下、眼瞼痙攣及び呼吸数の変動が認められた。TAK-620 のイヌにおける心血管系及び呼吸系に対する試験では重大な影響は認められなかった。

In vivo 試験から、マウス、ラット及びサルにおいて TAK-620 は全身に吸収された後、主に肝臓で代謝され、酸化、N-脱アルキル化、N-グリコシド結合の加水分解及びグルクロン酸抱合から成る主要経路を介し、主に CYP3A4 により代謝されることが示された。マウス、ラット、サル及びヒトにおいて、代謝物として VP 44469（イソプロピル基の N-脱アルキル化により生成）が認められた。

In vitro データから、TAK-620 は CYP3A4 に対して弱い TDI 作用を示し、CYP3A4 及び CYP1A2 に対して弱い誘導作用を示すことが確認された。

ラット（最長 26 週間）及びサル（最長 52 週間）を用いた反復投与毒性試験で認められた主な毒性所見は、便性状の変化及び消化管粘膜過形成などの病理組織学的変化であった。NOAEL/LOAEL での TAK-620 の曝露量（AUC）は、ラットでは概して臨床治療用量での AUC を下回ったが、サル 52 週間試験の低用量 100 mg/kg/日の非結合型 AUC には臨床における非結合型 AUC と比較して、わずかなマージン（約 2 倍）が存在した（表 2.4.7-1）。さらに、これらの所見は、投与中止後に回復性を示すか、モニタリングが可能であった。ラット及びサルのいずれにおいても、TAK-620 の曝露量は VP 44469 よりも高かった。

In vitro 及び in vivo 遺伝毒性試験から得られたエビデンスに基づき、TAK-620 に遺伝毒性はないと判断された。

ラットを用いた 2 年間のがん原性試験で、最高用量 100 mg/kg/日まで TAK-620 に発がん性は認められなかった。しかし、CD-1 マウスを用いた 2 年間のがん原性試験では、150 mg/kg/日群（高用量群）の雄のみで、複数の組織に血管腫、血管肉腫及び血管腫／血管肉腫の発現頻度に増加がみられ、血管肉腫の発現頻度（12.9%）は、同じ系統のマウスの背景データにおける発現頻度（12%）をわずかに上回った。この発現頻度の増加は、75 mg/kg/日以下の群では認められず、75 mg/kg/日での非結合型濃度に基づく AUC は臨床での非結合型濃度に基づく AUC の約 2 倍高かった（表 2.4.7-1）。雄マウスにおける血管腫／血管肉腫の発現頻度増加は、104 週間投与したときに認められたが、上述のとおり、背景データをわずかに上回る発現頻度増加であり、臨床試験（最長 24 週間まで）と投与期間が異なる状況で認められていること、104 週間投与した雌マウス及び雌雄ラットに影響がなかったこと、遺伝毒性試験で陰性であったこと、さらにマウスに比べてヒトにおける自然発生性の血管肉腫の発現頻度は極めて低く（<0.001%）、血管肉腫の発現様式に種差があると報告されていること[26]から、ヒトでのリスクに対して明確な外挿性を示すものではないと判断する。

ラットにおける受胎能と胚・胎児発生毒性を組み合わせた試験において、100 mg/kg/日以上で精子直線速度の低下、生存胎児数の減少、早期吸収胚数及び着床後胚死亡の増加が認められた。しかし、最高用量 400 mg/kg/日群においても受胎能及び生殖能に TAK-620 の影響は認められず、同じく胎児の骨格、外表及び内臓観察においても異常及び変異は認められなかった。ウサギを用いた胚・胎児発生毒性試験では、最高用量 100 mg/kg/日において胚・胎児の生存並びに胎児の骨格、外表及び内臓に異常及び変異は認められず、TAK-620 はラット及びウサギにおいて催奇形性を示さなかったと結論する。ラットを用いた出生前及び出生後の発生毒性試験では、150 mg/kg/日以上の群で、母動物によるケア不良のために出生児の生存

率の低下及び身体的発達指標の遅延を伴う体重増加抑制が認められた。しかし、これらの出生児のその後の受胎能及び交尾行動、並びに妊娠維持能及び生存児出産能は、TAK-620 の影響を受けなかった。幼若ラットを用いた毒性試験で、TAK-620 を PND 7～34 まで投与したとき、成熟動物では観察されていない新たな毒性はみられなかった。

以上より、TAK-620 の非臨床評価は適切に実施されており、TAK-620 の臨床での使用を支持する作用機序及び安全性を、裏付けとなる文献データも用いて包括的に評価していると考える。これらの試験により、TAK-620 は新規作用機序を有する、強力かつ選択的な経口投与可能なベンゾイミダゾールリボシドであり、既存の抗 CMV 薬に難治性の臓器移植（造血幹細胞移植も含む）後の CMV 感染症の治療薬として、臨床での使用を裏付けるものと考えられる。

2.4.7 図表

表 2.4.7-1　TAK-620 のヒトでの有効曝露量に対する毒性試験における NOAEL/LOAEL での曝露量の比

添付資料番号	試験の説明(a)	NOAEL/LOAEL（mg/kg/日）	総血漿中濃度		遊離型／非結合型血漿中濃度(b)		総血漿中濃度		遊離型／非結合型血漿中濃度	
			C_{max}（μg/mL）	AUC_{24}（h*μg/mL）	C_{max}（μg/mL）	AUC_{24}（h*μg/mL）	C_{max} のマージン(c)	AUC_{24} のマージン(c)	C_{max} のマージン	AUC_{24} のマージン
マウス										
4.2.3.2-2	13 週間試験、マウス（雄）	150	19.7	99.2	3.01	15.18	0.98	0.35	7.50	2.67
	13 週間試験、マウス（雌）		19.9	105	3.04	16.07	0.99	0.37	7.57	2.83
4.2.3.4.1-1	2 年間がん原性試験、マウス（雄）	75(d)	8.75	90.0	1.34	13.77	0.44	0.32	3.33	2.42
	2 年間がん原性試験、マウス（雌）		10.1	63.5	1.55	9.72	0.50	0.22	3.84	1.71
ラット										
4.2.3.2-3	28 日間試験、ラット（雄）	200	7.49	97.82	0.89	11.64	0.37	0.34	2.22	2.05
	28 日間試験、ラット（雌）		15.24	204.30	1.81	24.31	0.76	0.72	4.51	4.28
4.2.3.2-4	30 日間試験、ラット（雄）	100(e)	3.62	54.3(f)	0.43	6.46	0.18	0.19	1.07	1.14
	30 日間試験、ラット（雌）		7.50	106.3(f)	0.89	12.65	0.37	0.37	2.22	2.23
4.2.3.2-5	26 週間試験、ラット（雄）	25	1.28	12.98	0.15	1.54	0.06	0.05	0.38	0.27
	26 週間試験、ラット（雌）		4.39	26.75	0.52	3.18	0.22	0.09	1.30	0.56
4.2.3.5.1-2	受胎能及び胚･胎児発生試験、ラット（雌）	100	9.57	126.74	1.14	15.08	0.48	0.45	2.83	2.66
4.2.3.5.4-1	幼若ラット、DRF 試験（PND 7）	100	22.2	386.0	2.64	45.93	1.10	1.36	6.57	8.09
	幼若ラット、DRF 試験（PND 34）		6.3	46.4	0.75	5.52	0.31	0.16	1.86	0.97
4.2.3.5.4-2	幼若ラット、本試験（1 回目試験）（PND 7）	100	23.6	389.0	2.81	46.29	1.17	1.37	6.99	8.15
	幼若ラット、本試験（1 回目試験）（PND 34）		5.3	68.1	0.63	8.10	0.26	0.24	1.57	1.43
4.2.3.5.4-3	幼若ラット、本試験（2 回目試験）（PND 7）(g)	25	11.0	182.0	1.31	21.66	0.55	0.64	3.26	3.81
	幼若ラット、本試験（2 回目試験）（PND 34）(g)	300/225	11.7	97.0	1.39	11.54	0.58	0.34	3.46	2.03

表 2.4.7-1　TAK-620 のヒトでの有効曝露量に対する毒性試験における NOAEL/LOAEL での曝露量の比（続き）

添付資料番号	試験の説明(a)	NOAEL/LOAEL（mg/kg/日）	総血漿中濃度		遊離型／非結合型血漿中濃度(b)		総血漿中濃度		遊離型／非結合型血漿中濃度	
			C_{max}（μg/mL）	AUC_{24}（h*μg/mL）	C_{max}（μg/mL）	AUC_{24}（h*μg/mL）	C_{max} のマージン(c)	AUC_{24} のマージン(c)	C_{max} のマージン	AUC_{24} のマージン
4.2.3.4.1-2	2 年間がん原性試験、ラット（雄）	100(d)	4.88	50.1	0.58	5.96	0.24	0.18	1.44	1.05
	2 年間がん原性試験、ラット（雌）		10.2	92.6	1.21	11.02	0.51	0.33	3.02	1.94
ウサギ										
4.2.3.5.2-3	胚・胎児発生試験、ウサギ（雌）	100	23.05	114.16	2.38	11.78	1.15	0.40	5.92	2.07
サル										
4.2.3.2-6	28 日間 DRF 試験、サル	180	12.2	100.6(h)	1.96	16.20	0.61	0.35	4.89	2.85
4.2.3.2-7	30 日間試験、サル	180	6.6	58.4(i)	1.06	9.40	0.33	0.21	2.64	1.66
4.2.3.2-8	26 週間試験、サル	50/100(e)(j)	2.97	41.07	0.48	6.61	0.15	0.14	1.19	1.16
4.2.3.2-9	52 週間試験、サル	100(e)	4.52	64.99	0.73	10.46	0.22	0.23	1.81	1.84

注：曝露量の比は、TAK-620 の総血漿中濃度に基づく曝露量及び遊離型／非結合型血漿中濃度に基づく曝露量について求めた。ただし、ラットを用いた 26 週間経口投与毒性試験、サルを用いた 26 週間経口投与毒性試験、サルを用いた 52 週間経口投与毒性試験、ラットを用いた受胎能及び胚・胎児発生試験及びウサギを用いた胚・胎児発生試験では血清中濃度を測定した。

AUC_{24}：投与後 0 から 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積、AUC_8：投与後 0 から 8 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積、$AUC_{\tau,ss}$：定常状態における 1 投与間隔内の血漿中濃度－時間曲線下面積、BID：1 日 2 回、C_{max}：最高血漿中濃度、$C_{max,ss}$：定常状態における最高血漿中濃度、CMV：ヒトサイトメガロウイルス、DRF：用量設定、h：時間、LOAEL：最小毒性量、NOAEL：無毒性量、PK：薬物動態、PND：生後日数

(a) 特に記載がない限り、曝露量の比は雌雄を合算した曝露量を用いて算出する。

(b) TAK-620 の血漿タンパク結合率は、マウス、ラット、ウサギ、サル及びヒト血漿中でそれぞれ 84.7%、88.1%、89.68%、83.9%及び 98%（非結合型分率はそれぞれ 15.3%、11.9%、10.32%、16.1%及び 2%）である（ウサギ以外：4.2.2.3-6、ウサギ：4.2.2.3-4）。

(c) マージンの値は、母集団 PK 解析報告書（5.3.3.5-2）から、CMV に感染した臓器移植患者に TAK-620 400 mg を BID 投与したときの定常状態での曝露量〔$C_{max,ss}$=20.1 μg/mL 及び $AUC_{\tau,ss}$=142 h*μg/mL〕に基づき算出した。AUC_{24} の推定値は $2\times AUC_{\tau,ss}$＝284 h*μg/mL として算出した。

(d) 発がん性の所見が認められなかった用量及び曝露量

(e) これらの試験では、NOAEL を求めることができなかったため、用量及び曝露量は LOAEL に基づく。

(f) 投与後 0（投与前）、2、5 及び 8 時間に血漿検体を採取した。AUC_{24} は各時点の平均血漿中濃度から線形台形法により算出した。投与後 0 及び 24 時間の検体には、投与前の検体を用いた。

(g) 投与期間を通して血漿中薬物曝露量を一定に保つため、TAK-620 の用量漸増を行った。PND 7 の高用量は雌雄ともに 25 mg/kg/日であった。PND 34 の高用量は、雄で 300 mg/kg/日、雌で 225 mg/kg/日であった。

(h) 4.2.3.2-6：TAK-620 90 mg/kg を BID 投与したときの AUC_8=50.3 h*μg/mL であった。したがって、推定 AUC_{24} は $2\times AUC_8$=100.6 h*μg/mL と算出した。

(i) 4.2.3.2-7：TAK-620 90 mg/kg を BID 投与したときの AUC_8=29.2 h*μg/mL であった。したがって、推定 AUC_{24} は $2\times AUC_8$=58.4 h*μg/mL と算出した。

(j) 4.2.3.2-8：TAK-620 の用量を、最初の 3 週間は 50 mg/kg/日、残りの試験期間は 100 mg/kg/日とした。

表 2.4.7-2　VP 44469 のヒトでの曝露量に対する毒性試験における NOAEL/LOAEL での曝露量の比

添付資料番号	試験の説明(a)	NOAEL/LOAEL（mg/kg/日）	総血漿中濃度		遊離型／非結合型血漿中濃度(b)		総血漿中濃度		遊離型／非結合型血漿中濃度	
			C_{max}（μg/mL）	AUC_{24}（h*μg/mL）	C_{max}（μg/mL）	AUC_{24}（h*μg/mL）	C_{max} のマージン(c)	AUC_{24} のマージン(c)	C_{max} のマージン	AUC_{24} のマージン
マウス										
4.2.3.2-2	13 週間試験、マウス（雄）	150	11.6	143	2.77	34.18	7.48	5.46	17.89	13.04
	13 週間試験、マウス（雌）		6.94	39.4	1.66	9.42	4.48	1.50	10.70	3.59
4.2.3.4.1-1	2 年間がん原性試験、マウス（雄）	75(d)	5.12	67.9	1.22	16.23	3.30	2.59	7.89	6.19
	2 年間がん原性試験、マウス（雌）		4.18	24.3	1.00	5.81	2.70	0.93	6.45	2.22
ラット										
4.2.3.2-5	26 週間試験、ラット（雄）	25	0.05	ND	0.01	ND	0.03	ND	0.09	ND
	26 週間試験、ラット（雌）		0.24	2.98	0.07	0.85	0.15	0.11	0.44	0.33
4.2.3.4.1-2	2 年間がん原性試験、ラット（雄）	100(d)	0.343	2.38(e)	0.10	0.68	0.22	0.09	0.63	0.26
	2 年間がん原性試験、ラット（雌）		0.917	10.0(e)	0.26	2.86	0.59	0.38	1.69	1.09
サル										
4.2.3.2-6	28 日間 DRF 試験、サル	180	1.3	11.8(f)	0.28	2.56	0.84	0.45	1.82	0.98
4.2.3.2-8	26 週間試験、サル	50/100(g)(h)	0.54	6.78	0.12	1.47	0.35	0.26	0.76	0.56
4.2.3.2-9	52 週間試験、サル	100(g)	0.66	9.41	0.14	2.04	0.43	0.36	0.92	0.78

注：曝露量の比は、VP 44469 の総血漿中濃度に基づく曝露量及び遊離型／非結合型濃度に基づく曝露量について求めた。ただし、ラットを用いた 26 週間経口投与毒性試験、サルを用いた 26 週間経口投与毒性試験及びサルを用いた 52 週間経口投与毒性試験では血清中濃度を測定した。

AUC_{24}：投与後 0 から 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積、AUC_8：投与後 0 から 8 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積、AUC_{last}：投与後 0 時間から最終定量可能時点までの血漿中濃度－時間曲線下面積、AUC_τ：1 投与間隔内の血漿中濃度－時間曲線下面積、BID：1 日 2 回、C_{max}：最高血漿中濃度、DRF：用量設定、h：時間、LOAEL：最小毒性量、ND：定量可能な検体数が不十分であったため算出せず、NOAEL：無毒性量

(a) 特に記載がない限り、曝露量の比は雌雄を合算した曝露量を用いて算出する。

(b) VP 44469 の血漿タンパク結合率は、マウス、ラット、サル及びヒト血漿中でそれぞれ 76.1%、71.4%、78.3%及び 90%（非結合型分率 23.9%、28.6%、21.7%及び 10%）である（ヒト以外：4.2.2.3-4、ヒト：表 2.6.4.9-2）。

(c) マージンの値は、健康被験者に TAK-620 400 mg を BID 投与したときの曝露量〔Day 3 における C_{max}=1.55 µg/mL 及び AUC_{τ}=13.1 h*µg/mL〕に基づき算出する。AUC_{24} の推定値は 2×AUC_{τ} ＝26.2 h*µg/mL として算出した（5.3.3.4-5）。
(d) 発がん性の所見が認められなかった用量及び曝露量
(e) 4.2.3.4.1-2：AUC_{24} は曝露量が極めて低く算出できなかったことから、AUC_{last} を報告する。
(f) 4.2.3.2-6：TAK-620 90 mg/kg を BID 投与したときの VP 44469 の AUC_{8}=5.9 h*µg/mL であった。したがって、推定 AUC_{24} は 2×AUC_{8}=11.8 h*µg/mL と算出した。
(g) これらの試験では、NOAEL を求めることができなかったため、用量及び曝露量は LOAEL に基づく。
(h) 4.2.3.2-8：TAK-620 の用量を、最初の 3 週間は 50 mg/kg/日、残りの試験期間は 100 mg/kg/日とした。

2.4.8 参考文献一覧

[1] Biron KK, Harvey RJ, Chamberlain SC, Good SS, Smith AA 3rd, Davis MG, et al. Potent and selective inhibition of human cytomegalovirus replication by 1263W94, a benzimidazole L-riboside with a unique mode of action. Antimicrob Agents Chemother. 2002;46(8):2365-72.

[2] Shannon-Lowe CD, Emery VC. The effects of maribavir on the autophosphorylation of ganciclovir resistant mutants of the cytomegalovirus UL97 protein. Herpesviridae. 2010;1(1):4.

[3] Sullivan V, Talarico CL, Stanat SC, Davis M, Coen DM, Biron KK. A protein kinase homologue controls phosphorylation of ganciclovir in human cytomegalovirus-infected cells. Nature. 1992;358(6382):162-4.

[4] Wolf DG, Courcelle CT, Prichard MN, Mocarski ES. Distinct and separate roles for herpesvirus-conserved UL97 kinase in cytomegalovirus DNA synthesis and encapsidation. Proc Natl Acad Sci U S A. 2001;98(4):1895-900.

[5] Chou S, Ercolani RJ, Derakhchan K. Antiviral activity of maribavir in combination with other drugs active against human cytomegalovirus. Antiviral Res. 2018;157:128-33.

[6] Prichard MN. Function of human cytomegalovirus UL97 kinase in viral infection and its inhibition by maribavir. Rev Med Virol. 2009;19(4):215-29.

[7] Chou S, Marousek GI. Maribavir antagonizes the antiviral action of ganciclovir on human cytomegalovirus. Antimicrob Agents Chemother. 2006;50(10):3470-2.

[8] Chou S, Wechel LC, Marousek GI. Cytomegalovirus UL97 kinase mutations that confer maribavir resistance. J Infect Dis. 2007;196(1):91-4.

[9] Chou S, Hakki M, Villano S. Effects on maribavir susceptibility of cytomegalovirus UL97 kinase ATP binding region mutations detected after drug exposure in vitro and in vivo. Antiviral Res. 2012;95(2):88-92.

[10] Chou S, Marousek GI. Accelerated evolution of maribavir resistance in a cytomegalovirus exonuclease domain II mutant. J Virol. 2008;82(1):246-53.

[11] Whitehurst CB, Sanders MK, Law M, Wang FZ, Xiong J, Dittmer DP, et al. Maribavir inhibits Epstein-Barr virus transcription through the EBV protein kinase. J Virol. 2013;87(9):5311-5.

[12] Chou S. Advances in the genotypic diagnosis of cytomegalovirus antiviral drug resistance. Antiviral Res. 2020;176:104711.

[13] Chou S, Marousek GI, Senters AE, Davis MG, Biron KK. Mutations in the human cytomegalovirus UL27 gene that confer resistance to maribavir. J Virol. 2004;78(13):7124-30.

[14] Komazin G, Ptak RG, Emmer BT, Townsend LB, Drach JC. Resistance of human cytomegalovirus to the benzimidazole L-ribonucleoside maribavir maps to UL27. J Virol. 2003;77(21):11499-506.

[15] Chou S. Diverse cytomegalovirus UL27 mutations adapt to loss of viral UL97 kinase activity under maribavir. Antimicrob Agents Chemother. 2009;53(1):81-5.

[16] Hakki M, Chou S. The biology of cytomegalovirus drug resistance. Curr Opin Infect Dis. 2011;24(6):605-11.

[17] Chou S. Cytomegalovirus UL97 mutations in the era of ganciclovir and maribavir. Rev Med Virol. 2008;18(4):233-46.

[18] Chou S, Ercolani RJ, Marousek G, Bowlin TL. Cytomegalovirus UL97 kinase catalytic domain mutations that confer multidrug resistance. Antimicrob Agents Chemother. 2013;57(7):3375-9.

[19] Chou S, Wu J, Song K, Bo T. Novel UL97 drug resistance mutations identified at baseline in a clinical trial of maribavir for resistant or refractory cytomegalovirus infection. Antiviral Res. 2019;172:104616.

[20] Chou S, Song K, Wu J, Bo T, Crumpacker C. Drug Resistance Mutations and Associated Phenotypes Detected in Clinical Trials of Maribavir for Treatment of Cytomegalovirus Infection. J Infect Dis. 2022;226(4):576-84.

[21] Komazin-Meredith G, Chou S, Prichard MN, Hartline CB, Cardinale SC, Comeau K, et al. Human cytomegalovirus UL97 kinase is involved in the mechanism of action of methylenecyclopropane analogs with 6-ether and -thioether substitutions. Antimicrob Agents Chemother. 2014;58(1):274-8.

[22] Drew WL, Miner RC, Marousek GI, Chou S. Maribavir sensitivity of cytomegalovirus isolates resistant to ganciclovir, cidofovir or foscarnet. J Clin Virol. 2006;37(2):124-7.

[23] Papanicolaou GA, Silveira FP, Langston AA, Pereira MR, Avery RK, Uknis M, et al. Maribavir for Refractory or Resistant Cytomegalovirus Infections in Hematopoietic-cell or Solid-organ Transplant Recipients: A Randomized, Dose-ranging, Double-blind, Phase 2 Study. Clin Infect Dis. 2019;68(8):1255-64.

[24] Strasfeld L, Lee I, Tatarowicz W, Villano S, Chou S. Virologic characterization of multidrug-resistant cytomegalovirus infection in 2 transplant recipients treated with maribavir. J Infect Dis. 2010;202(1):104-8.

[25] de Zwart L, Scholten M, Monbaliu JG, Annaert PP, Van Houdt JM, Van den Wyngaert I, et al. The ontogeny of drug metabolizing enzymes and transporters in the rat. Reprod Toxicol. 2008;26(3-4):220-30.

[26] Cohen SM, Storer RD, Criswell KA, Doerrer NG, Dellarco VL, Pegg DG, et al. Hemangiosarcoma in rodents: mode-of-action evaluation and human relevance. Toxicol Sci. 2009;111(1):4-18.

[27] Zacny VL, Gershburg E, Davis MG, Biron KK, Pagano JS. Inhibition of Epstein-Barr virus replication by a benzimidazole L-riboside: novel antiviral mechanism of 5, 6-dichloro-2-(isopropylamino)-1-beta-L-ribofuranosyl-1H-benzimidazole. J Virol. 1999;73(9):7271-7.