目次

略号一覧表 2
2.6.1 緒言 4
2.6.1.1 原薬の物理的化学的性質 4
2.6.1.2 製剤処方 5
2.6.1.3 薬理学的分類及び科学的背景 5
2.6.1.4 参考文献一覧 5

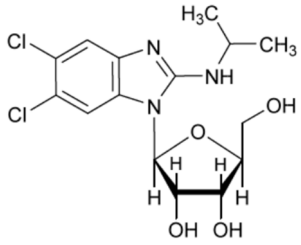
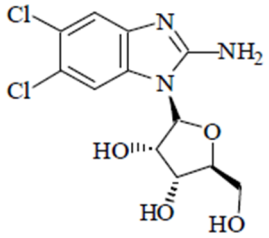
表

表 2.6.1.1-1 TAK-620 の名称及び原薬情報 4

図

図 2.6.1.1-1 TAK-620 の化学構造式 4

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）
CMV	human cytomegalovirus	ヒトサイトメガロウイルス
DNA	deoxyribonucleic acid	デオキシリボ核酸
EC_{50}	50% effective concentration	50%有効濃度

2.6.1 緒言

マリバビル（TAK-620、旧称：SRD006471、SHP620、VP41263、1263W94、BW1263W94、GR257406X、以下、TAK-620）は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、バルガンシクロビル、cidofovir 又はホスカルネット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。

TAK-620 の非臨床試験及び関連する文献から総合すると、CMV 感染／感染症の経口治療薬として TAK-620 の作用機序及び安全性が包括的に評価されていると考えられる。これらの結果により、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り、また既存の治療法に比べて良好な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。TAK-620 の推定臨床用法・用量は 1 回 400 mg、1 日 2 回の経口投与である。

2.6.1.1 原薬の物理的化学的性質

TAK-620 は、白色～オフホワイトの固体であり、非吸湿性の結晶である。開発の過程で、TAK-620 は熱、湿度及び光などの苛酷条件に曝露したとき安定であることが示されている。TAK-620 には 4 つの立体中心があり、L-リボフラノシル環を有する単一の立体異性体として供給される。その絶対立体配置は図 2.6.1.1-1 に示す構造式で示される。

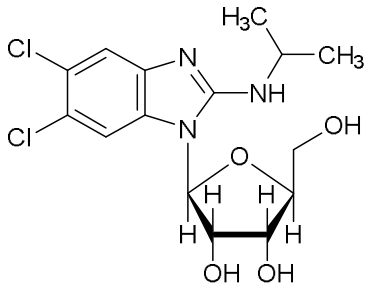


図 2.6.1.1-1　TAK-620 の化学構造式

TAK-620 の名称及び原薬情報を表 2.6.1.1-1 に示す。

表 2.6.1.1-1　TAK-620 の名称及び原薬情報

外観	白色～オフホワイトの固体
有効成分	TAK-620
コード名	SRD006471、TAK-620、SHP620、VP 41263、1263W94、BW1263W94、GR257406X
化学名	日本名：5,6-ジクロロ-2-(プロパン-2-イルアミノ)-1-β-L-リボフラノシル-1*H*-ベンゾイミダゾール（JAN） 英名：5,6-Dichloro-2-(propan-2-ylamino)-1-β-L-ribofuranosyl-1*H*-benzimidazole（JAN）
分子式	$C_{15}H_{19}Cl_2N_3O_4$
分子量	376.24

JAN：医薬品一般名称

TAK-620 は両極性化合物であり、pH 依存的な水溶性を示す。TAK-620 は pH 7.5 未満の条件で弱塩基となり、pH の上昇とともにその溶解度が低下する。

2.6.1.2 製剤処方

詳細については、3.2.P.1 を参照のこと。

TAK-620 は、経口投与用の即放錠として供給され、1 錠中に TAK-620 を 200 mg 含有する。TAK-620 200 mg 錠は、青色、楕円形のフィルムコーティング錠であり、片面に「SHP」、もう一方の面に「620」と刻印されている。

TAK-620 の錠剤は、TAK-620、並びに結晶セルロース、デンプングリコール酸ナトリウム、ステアリン酸マグネシウム、ポリビニルアルコール、酸化チタン、マクロゴール、タルク及び青色 1 号アルミニウムレーキで構成される。

2.6.1.3 薬理学的分類及び科学的背景

TAK-620 は強力かつ選択的で経口投与可能な抗ウイルス薬であり、CMV に対する新規作用機序を有する〔50%有効濃度（EC_{50}）の平均値：0.11 μM〕。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[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、ガンシクロビルが活性型のガンシクロビル三リン酸に変換される過程で最初にガンシクロビル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[2]。ガンシクロビルが活性型として 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。In vitro 試験及び臨床試験のいずれにおいても、ガンシクロビル、ホスカルネット若しくは cidofovir、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（in vitro EC_{50}：0.06～0.32 μM）[3][4]。

2.6.1.4 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] 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.

[3] 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.

[4] 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.

目次

略号一覧表 3
2.6.2 薬理試験の概要文 6
2.6.2.1 まとめ 6
2.6.2.2 効力を裏付ける試験 8
2.6.2.2.1 In vitro 薬力学試験 8
2.6.2.2.1.1 作用機序 8
2.6.2.2.1.2 抗ウイルス活性試験 11
2.6.2.2.1.2.1 糖タンパク質 B の遺伝子型別の TAK-620 の抗ウイルス活性 15
2.6.2.2.1.2.2 TAK-620 の主要代謝物 VP 44469 の抗ウイルス活性 16
2.6.2.2.1.2.3 薬剤耐性 CMV 株に対する TAK-620 の抗ウイルス活性 17
2.6.2.2.1.3 TAK-620 のタンパク結合 19
2.6.2.2.1.4 抗ウイルス選択性試験 20
2.6.2.2.1.5 他の抗ウイルス薬と併用したときの TAK-620 の抗ウイルス活性 20
2.6.2.2.1.5.1 抗 CMV 薬と併用したときの TAK-620 の CMV 活性 20
2.6.2.2.1.5.2 抗 HIV 薬と併用したときの TAK-620 の CMV 活性 23
2.6.2.2.1.5.3 TAK-620 と併用したときの抗 HIV 薬の抗 HIV 活性 25
2.6.2.2.1.5.4 抗 HIV 薬の抗 HIV 活性に対する TAK-620 の影響 26
2.6.2.2.1.6 細胞傷害性試験 26
2.6.2.2.1.7 TAK-620 耐性の概括評価 27
2.6.2.2.1.8 交差耐性の概括評価 32
2.6.2.2.2 In vivo 薬力学試験 35
2.6.2.3 副次的薬理試験 36
2.6.2.4 安全性薬理試験 37
2.6.2.4.1 中枢神経系 38
2.6.2.4.1.1 In vivo 38
2.6.2.4.2 心血管系 38
2.6.2.4.2.1 In vitro 38
2.6.2.4.2.2 In vivo 38
2.6.2.4.3 呼吸系 39
2.6.2.4.4 依存性 39
2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験 40
2.6.2.6 考察及び結論 40
2.6.2.7 参考文献一覧 42

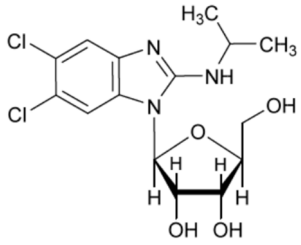
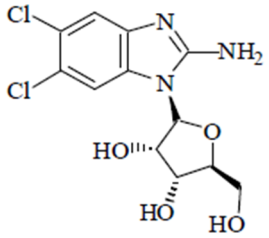
表

表 2.6.2.2-1　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ける CMV 実験室樹立株及び臨床分離株に対する TAK-620 の抗ウイルス活性 14
表 2.6.2.2-2　サイトメガロウイルス臨床分離株に対する TAK-620 及びガンシクロビルの抗ウイルス活性 15
表 2.6.2.2-3　既知の感受性臨床分離株及び耐性対照（臨床分離株の in vitro 由来変異体）に対する TAK-620 の EC_{50} 16
表 2.6.2.2-4　SEAP ウイルス増殖抑制試験における CMV 実験室樹立株（野生型株及び UL97 V353A 変異株）に対する TAK-620 及び VP 44469 の抗ウイルス活性 17
表 2.6.2.2-5　TAK-620、BDCRB、ガンシクロビル及びアシクロビルに対する CMV の感受性 19
表 2.6.2.2-6　薬剤併用によるチェッカーボード試験のウイルス増殖抑制データ 22
表 2.6.2.2-7　TAK-620 の存在下及び非存在下における各抗 HIV 薬の抗 HIV 活性 26
表 2.6.2.2-8　初代培養ヒト骨髄前駆細胞に対するベンゾイミダゾールリボシド及びガンシクロビルの細胞傷害性 27
表 2.6.2.2-9　In vitro での TAK-620 による UL97 及び UL27 変異並びに表現型 29
表 2.6.2.2-10　UL97 変異及び UL27 変異の in vitro 選択に対する TAK-620 の濃度の影響 31
表 2.6.2.2-11　CMV UL97 変異株の薬剤耐性の相対レベル 35
表 2.6.2.2-12　複数の動物サイトメガロウイルス株に対するベンゾイミダゾールヌクレオチドの作用 36

図

図 2.6.2.2-1　CMV DNA 合成に対する TAK-620、BDCRB 及びガンシクロビルの影響 9
図 2.6.2.2-2　感染後 24 及び 48 時間に TAK-620 5 μM を添加したときの CMV DNA 合成に対する影響 10
図 2.6.2.2-3　感染後 0、24 及び 40 時間に TAK-620 5 μM を添加したときの DNA 複製中心に対する影響 10
図 2.6.2.2-4　レテルモビル、ガンシクロビル及びラパマイシンの相加作用、相乗作用及び拮抗作用 23
図 2.6.2.2-5　TAK-620 の抗 CMV 作用に及ぼす AZT、3TC、ddC、ddI、インジナビル又は 141W94 併用の影響 24
図 2.6.2.2-6　TAK-620 の抗 CMV 作用に及ぼす 1592U89 併用の影響 25
図 2.6.2.2-7　UL97 の機能的ドメイン及び変異マップ 31
図 2.6.2.2-8　酵母 GCN2 キナーゼに基づいた UL97 キナーゼの ATP 結合領域の構造モデル 32
図 2.6.2.2-9　CMV UL54 DNA ポリメラーゼ遺伝子の構造ドメイン及び保存領域 34

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
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
AZT	azidothymidine	アジドチミジン
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
BFU-E	burst-forming units-erythroid	赤芽球バースト形成細胞
BID	twice daily	1日2回
CDV	cidofovir	－
CFU-GM	colony-forming units of granulocytes-macrophages	顆粒球・マクロファージコロニー形成細胞
CMV	human cytomegalovirus	ヒトサイトメガロウイルス
CPV	cyclopropavir (filociclovir)	－
D	deviation from additivity	相加性からの逸脱
dATP	deoxyadenosine triphosphate	デオキシアデノシン三リン酸
dCTP	deoxycytidine triphosphate	デオキシシチジン三リン酸
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）
dGTP	deoxyguanosine triphosphate	デオキシグアノシン三リン酸
dNTP	deoxyribonucleotide triphosphate	デオキシヌクレオチド三リン酸
dTTP	deoxythymidine triphosphate	デオキシチミジン三リン酸
DNA	deoxyribonucleic acid	デオキシリボ核酸
EBV	Epstein-Barr virus	エプスタイン・バーウイルス
EC_{50}	50% effective concentration	50%有効濃度
EC_{90}	90% effective concentration	90%有効濃度
FDA	Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
FOS	foscarnet	ホスカルネット
g	glycoprotein	糖タンパク質
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
HBV	hepatitis B virus	B型肝炎ウイルス
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
HEp-2	Human Larynx Carcinoma, epidermoid cell line	ヒト喉頭癌上皮（細胞）
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
LD_{50}	median lethal dose	50%致死量
MDBK	Madin-Darby bovine kidney	ウシ腎由来株
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
MT4	human T-cell lymphotropic virus type 1-transformed cell line	ヒトT細胞リンパ親和性ウイルス1型感染細胞株
mTOR	mechanistic target of rapamycin	－

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）
PFA	phosphonoformate	ホスホノギ酸
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
RNA	ribonucleic acid	リボ核酸
SEAP	secreted alkaline phosphatase	分泌型アルカリホスファターゼ
SV40	simian virus 40	シミアンウイルス 40
VGCV	valganciclovir	バルガンシクロビル
VZV	varicella zoster virus	水痘帯状疱疹ウイルス

2.6.2 薬理試験の概要文

2.6.2.1 まとめ

マリバビル（TAK-620、旧称：SRD006471、SHP620、VP41263、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の抗ウイルス薬であり、ヒトサイトメガロウイルス（CMV）に対して新規作用機序を有する。

TAK-620 の薬力学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で、TAK-620 の in vitro 抗ウイルス活性を評価した。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で、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た。In vivo でマウス及びラットを用いて、中枢神経系に対する TAK-620 の潜在的な作用を評価する安全性薬理試験を実施した。ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子（hERG）を安定的に発現させたヒト胎児腎（HEK）293 細胞を用いた in vitro 電気生理学試験及び麻酔下のビーグル犬を用いた in vivo 試験で、心血管系及び呼吸系の安全性薬理試験を実施した。また、TAK-620 の薬理プロファイルに関する公表文献の包括的な調査も実施した。

薬力学試験及び安全性薬理試験、並びに公表文献から示された知見を、以下の項で説明する（2.6.3.1）。

TAK-620 は、ヒト胎児肺由来（線維芽）細胞株（HEL）〔ヒト肺線維芽細胞株（MRC-5）など〕及びヒト包皮線維芽細胞株（MRHF）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、細胞傷害性を示さないマイクロモル未満の濃度で in vitro における CMV 増殖を選択的に阻害し、50%有効濃度（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 活性はガンシクロビル（GCV、EC_{50} の平均値：1.87 μM）の約 17 倍、抗ウイルス活性はホスカルネット（FOS、平均 EC_{50}：42 μM）（1 試験で実施）の 200 倍以上高かった。また、血小板由来増殖因子 α 受容体発現ヒト網膜色素上皮（ARPEp）細胞における TAK-620 の EC_{50} は、HEL/MRC-5 細胞における値と同程度であった。4 種類の CMV 糖タンパク質（g）B の遺伝子型（gB1～gB4）は、TAK-620 の抗 CMV 活性に対してほとんど影響しなかった。

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 は、TAK-620 よりも非常に弱い抗 CMV 活性を示し、CMV 野生型株 T2211 及び CMV 変異株 T2890 における EC_{50} は、TAK-620 のそれぞれ 100 倍以上及び約 12 倍高かった。

TAK-620 は UL97 キナーゼのアデノシン三リン酸（ATP）結合部位への ATP の結合を競合的に阻害することで、CMV UL97 セリン／スレオニンキナーゼを阻害することが、データから示されている。GCV の抗ウイルス活性はウイルスの UL97 キナーゼによるリン酸化に依存するため、TAK-620 は GCV の抗ウイルス活性に拮抗する可能性がある[1][3][4][5][6]。その他の抗ウイルス薬との併用を検討したとき、TAK-620 は、野生型及び変異型 CMV に対して、GW275175X（ベンゾイミダゾール系の CMV ターミナーゼ阻害薬）、レテルモビル、FOS 及

び cidofovir（CDV）と相加作用を示し、GCV と拮抗作用を示し、mechanistic target of rapamycin（mTOR）阻害薬であるシロリムスと相乗作用を示した[7]。

In vitro 試験及び臨床試験における被験者で、CMV UL97 の特定のアミノ酸置換は TAK-620 に対する耐性を付与する[1][3][4][5][6][8]。In vitro において、TAK-620 に対する広い範囲の耐性（約 3～200 倍超）を付与する変異として、コドン 337、342、353、397、409、411 及び 480 の変異が特定された。これらの変異の大多数が UL97 キナーゼの ATP 結合部位に近接しており（F342Y、V353A、L397R、T409M 及び H411L/N/Y）、別のアミノ酸変異（L337M、F342S 及び V356G）が ATP 結合 P ループ又はその近傍に位置しており、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ていた[4][5][9][10][11][12][13]。

In vitro 試験で、UL27 遺伝子産物の変異は TAK-620 に対する低度の耐性（5 倍未満）を付与することが示されている[3][6][14]。

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（in vitro EC_{50}：0.06～0.32 μM）[15][16][17]。さらに、TAK-620 はアシクロビル及び 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）に対する抵抗性を示す CMV 株及びレテルモビルに対する抵抗性を示す CMV 株に対して活性を有することが示された（EC_{50}：0.12 μM）。In vitro での一般的な UL97 変異である V353A、L397R、T409M 及び H411L/N/Y は TAK-620 耐性（EC_{50} の 9～200 倍超の増加）を付与するが、GCV 交差耐性は付与しない[4][5][13]。一方、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 変異に対して、GCV-TAK-620 交差耐性が予想される[18]。

TAK-620 の添加／単回投与により、in vitro（ラット、モルモット及びウサギ）及び in vivo（マウス及びラット）での中枢神経系、心血管系、代謝系及び消化器系に関する潜在的な有害作用を検討した薬理試験において、TAK-620 は顕著な薬理作用を示さなかった。また、抗菌活性（*Escherichia coli*、*Mycobacterium ranae*、*Pseudomonas aeruginosa*、*Klebsiella pneumoniae* など）も認められなかった。モルモット回腸を用いた試験のデータから、TAK-620 は高濃度の 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。安全性薬理試験では、マウスに TAK-620 を 250 mg/kg 以上の用量で単回経口投与したとき、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。ラット及びサルを用いたそれぞれ最長 26 及び 52 週間までの反復投与毒性試験では、いずれも 400 mg/kg/日までの用量を初回経口投与したとき、これらの一般状態所見は認められなかった。TAK-620 は 1,254 μg/mL までの濃度で in vitro で hERG を阻害しなかった。麻酔下のイヌに TAK-620 を静脈内投与したとき、30 mg/kg の用量で心拍数が一過性に増加し、10 及び 30 mg/kg の用量で呼吸数及び呼吸量が一過性に増加した。なお、臨床試験として実施した thorough QT 試験において、健康被験者に TAK-620 を 100 又は 1,200 mg の用量で単回経口投与したとき、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（2.7.2.2.1.6（1））。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

2.6.2.2.1 In vitro 薬力学試験

2.6.2.2.1.1 作用機序

：**添付資料番号 4.2.1.1-1、4.2.1.1-2、4.2.1.1-3、4.2.1.1-4（参考）**

TAK-620 などのベンゾイミダゾール系化合物は、抗ウイルス活性を示すことが既に知られていたが、その作用機序は不明であった。CMV のウイルス増殖に必須であるセリンプロテインキナーゼ UL97 の活性に対する阻害薬を見出すために実施したスクリーニング試験において TAK-620 は UL97 の活性を阻害し（4.2.1.1-4）、抗ウイルス活性試験において TAK-620 はウイルス増殖を強力に阻害することが示されたことから（2.6.2.2.1.2）、その作用機序への UL97 の関与が示唆された。

このため、CMV の増殖及び DNA 合成に対する TAK-620 の作用について、MRC-5 細胞株を用いた 3 つの異なる試験で評価した（4.2.1.1-1、2.6.3.2）。

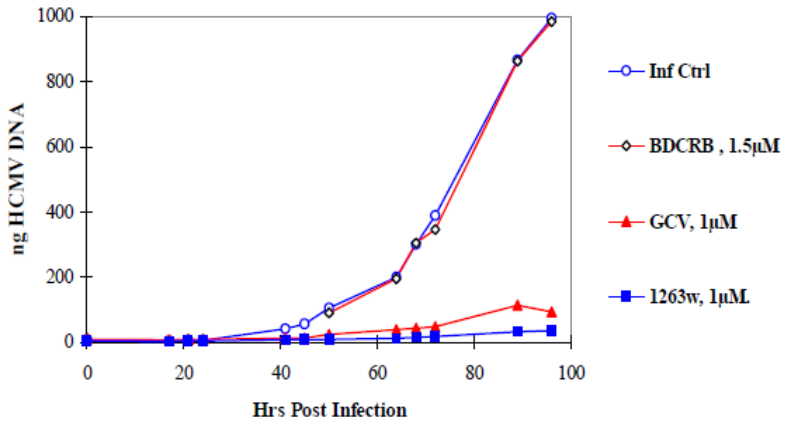
TAK-620（0～0.5 μM）又は GCV（5 μM）の存在下又は非存在下で MRC-5 細胞を CMV（実験室樹立株 AD169）と培養した後、定量的 DNA-DNA ハイブリダイゼーションにより各検体中の本ウイルスの DNA 量を求めた。また、ウイルス力価の 72 時間産生抑制及び CMV DNA コンカテマー成熟を評価することで、TAK-620、GCV、1038U90（既知の CMV DNA コンカテマー成熟阻害薬）及びホスホノギ酸（PFA）の CMV に対する EC_{50} を求めた。

TAK-620 及び GCV は、CMV の DNA 合成の指数関数速度定数及び感染後 90 時間の総ウイルス DNA 合成を阻害し、EC_{50} は TAK-620 でそれぞれ 0.89 及び 0.07 μM、GCV ではそれぞれ 30 及び 2 μM であった。すべての化合物が、感染性の CMV の産生を感染後 72 時間低下させた（GCV、1038U90 及び PFA の EC_{50} はそれぞれ 0.4、0.03 及び 30 μM であったのに対し、TAK-620 では 0.1 μM であった）。CMV DNA のコンカテマー成熟に対する EC_{50} は、GCV、1038U90 及び PFA でそれぞれ 25 μM 超、0.08 μM 及び 500 μM 超であったのに対し、TAK-620 では 27 μM であった。1038U90 とは対照的に、TAK-620、GCV 及び PFA は、強力な抗ウイルス活性を示す濃度でコンカテマー成熟を阻害しなかった。

本試験の結果から、TAK-620 は、ウイルス DNA 合成を阻害することにより CMV の増殖を阻害することが示された。また、TAK-620 は、ウイルス DNA コンカテマー成熟は阻害しなかった。

CMV の DNA 複製中心の形成阻害を評価する試験において、TAK-620 の作用機序をさらに評価した（4.2.1.1-2、2.6.3.2）。本試験では、MRC-5 細胞を CMV 株（AD169）に感染させた。その後、DNA-DNA ハイブリダイゼーションにより CMV DNA 量を測定した。

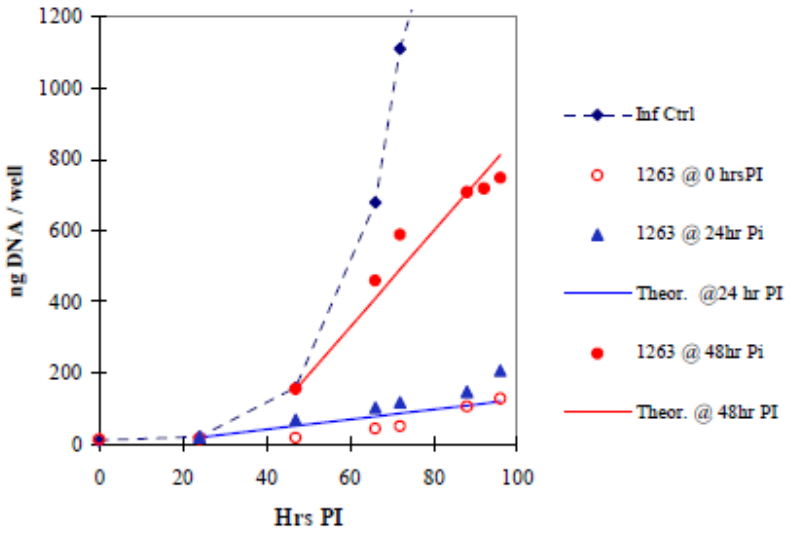
Single-cycle infection 実験において、DNA コンカテマー成熟阻害化合物 BDCRB（1.5 μM）は CMV DNA 合成を阻害せず、CMV DNA 合成が感染後 96 時間で最大 1,000 ng に達したのに対し、TAK-620（1 μM）は CMV DNA 合成を感染後 96 時間まで阻害し続けた〔CMV DNA 量（ng）により評価〕（図 2.6.2.2-1）。また、TAK-620 が 90%超のウイルス増殖阻害を示す濃度で、感染細胞中に TAK-620 の代謝物（5’-一リン酸、5’-ニリン酸又は 5’-三リン酸）は感染後 48 時間及び 96 時間で検出されなかった。さらに、TAK-620、その一リン酸誘導体及び三リン酸誘導体はいずれも、CMV DNA ポリメラーゼを 100 μM の濃度で阻害しなかった。



出典：4.2.1.1-2
1263w：TAK-620、BDCRB：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、Ctrl：対照、DNA：デオキシリボ核酸、GCV：ガンシクロビル、HCMV：ヒトサイトメガロウイルス、Inf：感染

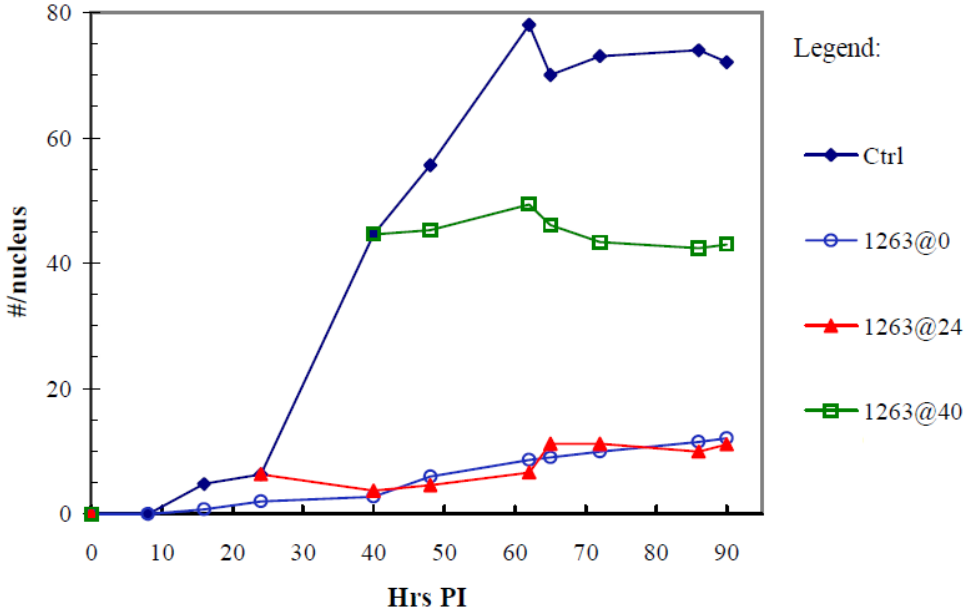
図 2.6.2.2-1　CMV DNA 合成に対する TAK-620、BDCRB 及びガンシクロビルの影響

TAK-620 を添加したタイミングにより、ウイルス DNA 合成に対する TAK-620 の阻害作用は変化した。図 2.6.2.2-1 に示すように、通常、90～100 時間の複製サイクルの間、ウイルス DNA 合成速度は指数関数的かつ経時的に上昇する。感染直後に TAK-620 を 1 μM の濃度で添加したとき、ウイルス DNA 合成は 95%超低下した。しかし、同一濃度の TAK-620 を感染 24 及び 48 時間後に添加したとき、徐々に阻害が弱くなり（図 2.6.2.2-2）、ウイルス DNA 合成は指数関数的ではなく線形的かつ経時的に増加した。これらのデータから、DNA 合成に必須な構造の形成が TAK-620 により阻害されることが示唆された。このため、複数の添加時点において、CMV 感染細胞の DNA 複製部位を免疫染色により可視化すると、TAK-620（5 μM）を感染直後又は 24 時間に添加した際には同様の結果が得られ、複製中心の形成が 90%阻害された。TAK-620（5 μM）をウイルス感染 40 時間後に添加したときは、新たな複製中心の形成が添加時点から強く阻害された（図 2.6.2.2-3）。



出典：4.2.1.1-2
1263：TAK-620、CMV：ヒトサイトメガロウイルス、Ctrl：対照、DNA：デオキシリボ核酸、Inf：感染、PI：感染後、Theor：理論値

図 2.6.2.2-2　感染後 24 及び 48 時間に TAK-620 5 μM を添加したときの CMV DNA 合成に対する影響



出典：4.2.1.1-2
1263：TAK-620、Ctrl：対照、DNA：デオキシリボ核酸、PI：感染後

図 2.6.2.2-3　感染後 0、24 及び 40 時間に TAK-620 5 μM を添加したときの DNA 複製中心に対する影響

CMV DNA ポリメラーゼ及びヒトポリメラーゼに対する TAK-620 並びにその 5'-一リン酸誘導体及び 5'-三リン酸誘導体（いずれも 100 μM）による阻害について、CMV（AD169）に感染させた MRC-5 細胞を用いて更に検討した（4.2.1.1-3、2.6.3.2）。酵素活性は、[^{3}H]デオ

キシヌクレオチド三リン酸〔dNTP、すなわち、dATP、dCTP、dGTP 及び dTTP〕の活性化仔ウシ胸腺 DNA への取込みにより測定した。TAK-620 並びにその 5'-一リン酸誘導体及び 5'-三リン酸誘導体は、CMV DNA ポリメラーゼによる dNTP の取込みを阻害しなかった。TAK-620 及びその 5'-三リン酸誘導体（いずれも 100 μM）は、CMV DNA ポリメラーゼ活性を阻害しなかったが、5'-一リン酸誘導体はヒト DNA ポリメラーゼ δ による 4 種類すべての天然 dNTP の取込みを約 55%阻害した。しかし、CMV を感染させた MRC-5 細胞において、TAK-620 のリン酸化はほとんど認められなかった（一リン酸体の細胞内濃度は 10 nM）ことから、TAK-620 の 5'-一リン酸誘導体が細胞内でヒト DNA ポリメラーゼ活性を阻害する濃度に達する可能性は低い。この結果は、in vitro 試験において、TAK-620 が CMV 増殖を阻害する濃度で、細胞傷害作用を示さないことと一致していた（2.6.2.2.1.6）。

これらの結果から、TAK-620 は、ウイルス DNA ポリメラーゼには影響せず、ウイルス DNA の複製中心の形成を阻害することで CMV の増殖を強力に阻害する新規作用機序を有することが示された。

2.6.2.2.1.2 抗ウイルス活性試験

：**添付資料番号 4.2.1.1-5、4.2.1.1-6（参考）**

次に、以下に詳述する方法を用いて、CMV に対する TAK-620 の広範な抗ウイルス活性を評価した。また、マウス、ラット、サル及びヒトにおいて生成する 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）の抗ウイルス活性の有無も評価した。

- 二倍体線維芽細胞株を用いた評価を実施した。実験室樹立 CMV 株（AD169 又は Towne）を感染させた MRC-5 細胞、HEL 細胞又は MRHF 細胞を用いて試験を実施した。薬剤耐性を示す CMV を取得する際には、抗ウイルス薬濃度を増加させてウイルスを連続継代することで、抗ウイルス薬に対する耐性を示す株を選択した。
- 網膜上皮由来細胞株 ARPEp を用い、野生型株と TAK-620 耐性株の両方に対する TAK-620 の抗ウイルス活性を評価した（2.6.2.2.1.5.1）。
- CMV の臨床分離株と実験室樹立株である AD169 のゲノムは異なるため、抗ウイルス活性は米国の多様な地理的場所から採取した CMV の臨床分離株でも評価した。
- DNA ハイブリダイゼーション試験で、抗ウイルス薬の存在下又は非存在下で、2 回以上のウイルス増殖の後、感染細胞中のウイルス DNA を定量した。
- ウイルス増殖抑制試験で、抗ウイルス薬の存在下又は非存在下で、1 回のウイルス増殖後、感染ウイルスを定量した。
- プラーク減少試験で、抗ウイルス薬の存在下又は非存在下で、ウイルス感染細胞を 8～12 日間培養した後に形成されたプラークを定量した。
- 線形回帰プログラム又はデータの重み付けをした線形回帰モデルを用いて、EC_{50} を求めた。

TAK-620 の評価は、その標的分子の性質のため複雑である。例えば、UL97 キナーゼ機能の欠損又は阻害は、ある程度宿主由来のキナーゼに置き換わる可能性がある[19]。また、同じ CMV 株であっても TAK-620 の見かけの抗ウイルス活性が細胞培養条件の違いで 100 倍超異なる可能性があるため[20]、EC_{50} の変動を各種試験及び文献から広く引用した。CMV の実

験室樹立株及び臨床分離株に対する TAK-620 の抗ウイルス活性の要約を試験の種類別に表 2.6.2.2-1 に示す。

3 つの異なるヒト細胞株（MRC-5、HEL 及び MRHF）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、実験室樹立 CMV 株（AD169）に対する TAK-620 の in vitro 活性を評価した（4.2.1.1-5、2.6.3.2）。さらに、TAK-620 の抗ウイルス活性が AD169 だけに限定されないことを確認することを目的として実施した MRC-5 細胞を用いた DNA ハイブリダイゼーション試験により、免疫不全患者由来で継代数が少ない 10 種類の CMV 臨床分離株に対する TAK-620 の抗ウイルス活性も評価した。

AD169 に対する 2 つの独立した DNA ハイブリダイゼーション試験において、TAK-620 の EC_{50} は 0.046 及び 0.06 μM であった（表 2.6.2.2-1）。MRC-5 細胞を用いた AD169 に対するプラーク減少試験において、EC_{50} の平均値は GCV で 5.3 μM であったのに対し、TAK-620 では 0.22～2.2 μM の範囲であった。MRC-5 細胞を用いた AD169 に対する 3 つの独立したウイルス増殖抑制試験において、TAK-620 はマイクロモル未満の濃度で抗ウイルス活性を示した（EC_{50} の平均値：0.16 μM、範囲：0.07～0.2 μM）。このことから、TAK-620 は GCV（EC_{50} の平均値：0.9 μM）よりも 6 倍以上活性が強く、FOS（EC_{50} の平均値：42 μM）よりも 250 倍以上活性が強いことが示された。MRC-5 細胞、HEL 細胞及び MRHF 細胞を用いて AD169 に対する抗ウイルス活性を評価した DNA ハイブリダイゼーション試験において、EC_{50} の平均値は GCV でそれぞれ 0.15、0.3 及び 0.5 μM であったのに対し、TAK-620 ではそれぞれ 0.06、0.03 及び 0.2 μM であり、AD169 に対する TAK-620 の活性は GCV よりも約 3～10 倍強かった。

同様のデザインの別の試験では（表 2.6.2.2-1）、MRC-5 細胞を用いたプラーク減少試験、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より、実験室樹立株である AD169 及び Towne に対する TAK-620 及び GCV の抗ウイルス活性を明らかにした（4.2.1.1-6、2.6.3.2）。また、MRC-5 細胞を用いた 1 種類の臨床分離株に対するプラーク減少試験を実施した。CMV の実験室樹立株及び臨床分離株の両方の増殖に対して、TAK-620 は強力な抗ウイルス活性を示した。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 よりもそれぞれ約 5 倍及び 4 倍強い活性を示したが、AD169 に対するプラーク減少試験の結果にはばらつきがあったため、EC_{50} を算出できなかった。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。これらの結果は、過去の試験（4.2.1.1-5）で認められた結果と類似していた。

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 倍強い活性を示した（表 2.6.2.2-1）。これらのデータは、[1]の公表データと一致していた。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、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。プラーク減少試験とウイルス増殖抑制試験及び DNA ハイブリダイゼーション試験との間で認められた TAK-620 の活性の差は、これらの試験の評価項目の違い及び TAK-620 の作用機序を反映していると考えられる。

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マイクロモル未満の濃度で CMV の増殖を阻害し、EC_{50} の平均値は 0.11 μM（範囲：0.03～0.31 μM）であった。TAK-620 の抗ウイルス活性は GCV（EC_{50} の平均値：1.87 μM）よりも約 17 倍強く、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（表 2.6.2.2-1）。

MRC-5 細胞を用いた 10 種類の CMV 臨床分離株に対する DNA ハイブリダイゼーション試験において（表 2.6.2.2-2）、TAK-620 の EC_{50} の中央値及び平均値はそれぞれ 0.1 及び 0.08 μM（0.04 及び 0.03 μg/mL）（範囲：0.03～0.13 μM）、90%有効濃度（EC_{90}）の平均値は 1.3 μM（0.49 μg/mL、範囲：0.27～2.8 μM）であり、マイクロモル未満の濃度で活性を示した（EC_{90} は表 2.6.2.2-2 には表示してない）。一方、陽性対照である GCV の EC_{50} 及び EC_{90} の平均値はそれぞれ 0.59 及び 10.3 μM であった。

本試験の結果から、CMV の実験室樹立株及び臨床分離株に対して TAK-620 は強力な抗ウイルス活性を有することが示された。

表 2.6.2.2-1　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ける CMV 実験室樹立株及び臨床分離株に対する TAK-620 の抗ウイルス活性

添付資料番号	ウイルス	細胞株	試験	MBV：EC_{50} の範囲	MBV：EC_{50} の平均値	比較対照：EC_{50} の平均値	倍率差(a)
4.2.1.1-5	CMV 臨床分離株	MRC-5	DNA ハイブリダイゼーション	0.03～0.13 μM	0.08 μM	GCV：0.59 μM	7
	CMV 株 AD169	MRC-5	DNA ハイブリダイゼーション	NR	0.06 μM	GCV：0.15 μM	3
		HEL（試験報告書には誤って HEK と記載）	DNA ハイブリダイゼーション	NR	0.03 μM	GCV：0.3 μM	10
		MRHF	DNA ハイブリダイゼーション	NR	0.2 μM	GCV：0.5 μM	3
		MRC-5	DNA ハイブリダイゼーション	NR	0.046 μM	NR	NA
			プラーク減少	0.22～2.2 μM	NR	GCV：5.3 μM	NA
			1 サイクルウイルス増殖抑制	0.07～0.2 μM	0.16 μM	GCV：0.9 μM FOS：42 μM	GCV：6 FOS：263
4.2.1.1-21	CMV 株 AD169	MRC-5	DNA ハイブリダイゼーション	NR	0.08 μM	GCV：0.31 μM	4
	CMV 株 AD169 遺伝子組換え（GCV 耐性）			0.03～0.2 μM	0.1 μM	GCV：2.2 μM	22
4.2.1.1-1	CMV 株 AD169	MRC-5	DNA ハイブリダイゼーション	NR	0.07 μM	GCV：2 μM	29
4.2.1.1-9	CMV 株 AD169	MRC-5	ELISA	NR	0.07 μM	NR	NA
4.2.1.1-6	CMV 株 AD169	MRC-5	DNA ハイブリダイゼーション	NR	0.1 μM	GCV：0.53 μM	5
			ウイルス増殖抑制	NR	0.1 μM	GCV：0.4 μM	4
	CMV 株 Towne	MRC-5	ウイルス増殖抑制	NR	0.6 μM(b)	GCV：1.3 μM(b)	2
	CMV 株 AD169	MRC-5	プラーク減少	NR	NR	GCV：7.2 μM	NA
	CMV 臨床分離株	MRC-5	プラーク減少	0.12～0.56 μM	0.31 μM	GCV：3.9 μM	13
			すべての試験、細胞株及びアッセイから算出した平均値(c)		MBV：0.11 μM	GCV：1.87 μM	GCV：17

CMV：ヒトサイトメガロウイルス、DNA：デオキシリボ核酸、EC_{50}：50%有効濃度、ELISA：酵素結合免疫吸着測定法、FOS：ホスカルネット、GCV：ガンシクロビル、HEK：ヒト胎児腎、HEL：ヒト胎児肺由来（線維芽）細胞株、IC_{90}：90%有効濃度、MBV：TAK-620、MRC-5：ヒト肺線維芽細胞株、MRHF：ヒト包皮線維芽細胞株、NA：該当せず、NR：報告なし

(a) TAK-620 の EC_{50} の平均値と比較対照の EC_{50} の平均値との倍率差。

(b) IC_{90} を示した。

(c) IC_{90} を特記した場合を除き、すべての値を使用した。

表 2.6.2.2-2　サイトメガロウイルス臨床分離株に対する TAK-620 及びガンシクロビルの抗ウイルス活性

	EC_{50} (μM)の平均値(a)			
	DNA ハイブリダイゼーション試験		プラーク減少試験	
ウイルス株	TAK-620	ガンシクロビル	TAK-620	ガンシクロビル
AD169	0.04	0.40	0.97	4.30
C8301	0.04	0.25	0.12	1.10
C8501	0.10	1.00	0.34	1.00
C8910	0.12	0.70	0.19	1.40
C9207	0.03	0.15	0.44	6.70
C8303	0.09	0.80	0.54	0.80
C8302	0.10	0.30	0.16	2.70
C8803	0.13	0.70	0.21	3.40
C8912	0.04	0.50	0.21	2.60
C9003	0.12	1.10	0.56	1.00
C9213	0.04	0.40	0.40	7.00

出典：[1]及び 4.2.1.1-5
DNA：デオキシリボ核酸、EC_{50}：50%有効濃度
(a) 2 つの独立した試験での測定値の平均値を表す。

2.6.2.2.1.2.1 糖タンパク質 B の遺伝子型別の TAK-620 の抗ウイルス活性

：**添付資料番号 4.2.1.1-7（参考）**

ヒトにおける CMV 感染は、ウイルスの表面構造中に存在する糖タンパク質の機能に依存しており、これらのタンパク質は、ウイルスエンベロープと宿主細胞膜との間で起こる最初の付着及び融合イベント、並びにビリオン非依存的な細胞間感染伝播を媒介する。CMV の広範な細胞指向性（上皮細胞、内皮細胞、線維芽細胞、単球／マクロファージ、平滑筋細胞、神経細胞、間質細胞及び肝細胞）は、特定の宿主細胞受容体との相互作用に関与する 2 種類の糖タンパク質複合体に起因する。gHgLgO（3 量体）複合体はすべての細胞種の感染に必要であり、線維芽細胞上に発現する血小板由来増殖因子 α 受容体に結合することで知られる。gHgLpUL128pUL130pUL131A（5 量体）複合体は上皮細胞、内皮細胞及び骨髄系細胞へのウイルス侵入に必要であり、ニューロピリン 2 に結合する。最初の宿主受容体への結合後、gB 及びヘテロダイマーgH/gL で構成される融合機構が膜融合を媒介する[21][22][23]。

TAK-620 の標準操作手順書を作成する一環として、10 種類の CMV 臨床分離株及び 2 種類の TAK-620 耐性 CMV 臨床分離株を用いて、20[redacted] 年～20[redacted] 年の間に 200 件超のプラーク減少感受性試験を実施した。これらは、これまで同定された 4 種類の gB 遺伝子型を有する CMV に分類される臨床分離株であった（4.2.1.1-7、2.6.3.2）。MRHF 細胞又は HEL 細胞を用いた標準的なプラーク減少試験により、TAK-620 の EC_{50} を求めた。その結果、10 種類の臨床分離株を用いた試験における TAK-620 の EC_{50} の平均値は 0.41 μM であった。耐性 UL97 変異株に対する TAK-620 の EC_{50} はさらに高く、感受性株に対する EC_{50} の範囲と耐性株に対する EC_{50} の範囲との間には大きな乖離があった。

個別の EC_{50} は、遺伝子型 gB1（2 種類）では 0.28～0.38 μM、遺伝子型 gB2（1 種類）では 0.51 μM、遺伝子型 gB3（4 種類）では 0.34～0.45 μM、遺伝子型 gB4（1 種類）では 0.35 μM であった（表 2.6.2.2-3）。したがって、TAK-620 の既知の gB の遺伝子型を有する 8 種類の分離株の個別の分離株に対する EC_{50} は 0.28～0.51 μM の範囲であり、この値は概ね、TAK-620 に感受性示す 10 種類の分離株における EC_{50} と比べて大きな乖離は認められなかった。この

CMV 分離株の試験から、TAK-620 への感受性に対して gB 遺伝子型はほとんど影響しないことが示された。

表 2.6.2.2-3 既知の感受性臨床分離株及び耐性対照（臨床分離株の in vitro 由来変異体）に対する TAK-620 の EC_{50}

分離株	gB の遺伝子型	EC_{50} (μM)（平均値±SD）
1	3	0.44±0.13
2	4	0.35±0.16
3	3	0.45±0.07
4	3	0.43±0.12
5	不明	0.45±0.05
6	3	0.34±0.18
7	1	0.28±0.05
8	2	0.51±0.20
9	不明	0.53±0.08
10	1	0.38±0.08
C076+UL97 V353A (a)	3	12.68±5.72
C194+UL97 T409M (a)	4	47.73±17.86

出典：4.2.1.1-7
EC_{50}：50%有効濃度、gB：糖タンパク質 B、SD：標準偏差
(a) [4]

2.6.2.2.1.2.2 TAK-620 の主要代謝物 VP 44469 の抗ウイルス活性

：添付資料番号 4.2.1.1-8（参考）

HEL 細胞（継代数 12～18）を用いた分泌型アルカリホスファターゼ（SEAP）ウイルス増殖抑制試験において、野生型 AD169 由来の実験室樹立株である T2211 に対する TAK-620 の抗 CMV 活性を TAK-620 の主要代謝物（N-脱アルキル誘導体）である VP 44469 と比較した（4.2.1.1-8、2.6.3.2）。この比較試験で、VP 44469 の T2211 に対する抗 CMV 活性は測定可能であったが TAK-620 よりも弱く、EC_{50} は TAK-620 よりも 100 倍以上高かった（表 2.6.2.2-4）。T2890（UL97 変異である V353A を有する）に対する VP 44469 の抗 CMV 活性も TAK-620 より弱く、EC_{50} は TAK-620 よりも約 12 倍高かった。

表 2.6.2.2-4　SEAP ウイルス増殖抑制試験における CMV 実験室樹立株（野生型株及び UL97 V353A 変異株）に対する TAK-620 及び VP 44469 の抗ウイルス活性

CMV 株	化合物	複製数	EC_{50} の範囲	EC_{50} の平均値
T2211（野生型）	TAK-620	8～9	0.070～0.083	0.076
	VP 44469	8	NR	8.9
T2890（変異株）	TAK-620	8～12	0.87～1.03	0.93
	VP 44469	10	NR	11.5

出典：4.2.1.1-8
CMV：ヒトサイトメガロウイルス、EC_{50}：50%有効濃度、NR：報告なし、SEAP：分泌型アルカリホスファターゼ

2.6.2.2.1.2.3 薬剤耐性 CMV 株に対する TAK-620 の抗ウイルス活性

1）TAK-620 耐性 CMV 株

：**添付資料番号 4.2.1.1-8、4.2.1.1-11（参考）**

ARPEp 細胞を用いた SEAP ウイルス増殖抑制試験において、野生型株及び代表的な TAK-620 耐性 CMV 株であり UL97 変異株の T409M 及び H411Y（臨床試験でよくみられる TAK-620 耐性変異株）並びに UL27 R233S（in vitro で選択された株）に対する TAK-620 の抗 CMV 活性を評価した（2.6.2.2.1.5.1、[7]）（4.2.1.1-11、2.6.3.2）。TAK-620 の EC_{50} は、CMV 株に対して 0.11 μM であったのに対し（表 2.6.2.2-1）、UL97 変異株 H411Y 及び T409M に対してそれぞれ 2.2 及び 12 μM、UL27 変異株 R233S に対して 0.20 μM であった[7]。これらの EC_{50} から、UL97 変異株 T409M、H411Y 及び UL27 変異株 R233S は TAK-620 に対して 109 倍、20 倍及び 1.8 倍の耐性を付与することが示された。これらの EC_{50} は、HEL 細胞における公表データ（野生型、H411Y、T409M 及び R233S に対する EC_{50} はそれぞれ 0.11、1.3、10.5 及び 0.2 μM）と同程度であった[4][5][10]。

HEL 細胞を用いた SEAP ウイルス増殖抑制試験において、AD169 由来の実験室樹立株である T2211（野生型）及び T2890（UL97 変異である V353A を有する）に対する TAK-620 及び VP 44469 の抗 CMV 活性を評価した（4.2.1.1-8）（表 2.6.2.2-4）。V353A 変異により、TAK-620 に対する耐性は約 12 倍増加し、VP 44469 に対する耐性は約 1.3 倍増加した。UL97 への TAK-620 の結合に関する既存モデルから、TAK-620 のイソプロピルアミノ側鎖（VP 44469 には存在しない）がその UL97 結合の特異性に重要な要素であることが推定されている。抗 CMV 活性が弱い VP 44469 は、V353A 変異による影響が TAK-620 よりも相対的に小さく、これはこの仮説と一致する。

2）抵抗性を示す現在の CMV 株

：**添付資料番号 4.2.1.1-21（参考）**

UL97 遺伝子（GCV 耐性を付与）、UL89 遺伝子（BDCRB 耐性を付与）、又は CMV DNA ポリメラーゼ遺伝子〔CDV（試験報告書で HPMPC、(S)-1-(3-hydroxy-2-phosphonylmethoxypropyl)cytosine と記載）、アシクロビル又は GCV に対する耐性を付与〕に変異を有する CMV 薬剤耐性株に対する TAK-620 の in vitro 抗ウイルス活性を、MRC-5 細胞を用いた DNA ハイブリダイゼーション試験で評価した（4.2.1.1-21、2.6.3.2）。GCV 耐性株を作製する目的で、耐性 CMV 臨床分離株に由来する UL97 変異遺伝子の導入により、又はアシクロビル、CDV 及び BDCRB 耐性株をそれぞれ作製する目的で、アシクロビル、DHPC（1-[(1,3-dihydroxy-2-propoxy)methyl]）及び BDCRB の存在下でウイルスを連続継

代することにより、AD169 由来の GCV、BDCRB、CDV 及びアシクロビルに対する耐性株を実験室で作製した。

AD169 に由来し、UL97 遺伝子に変異を有する 5 種類の GCV 耐性遺伝子組換え株に対する DNA ハイブリダイゼーション試験（表 2.6.2.2-5）で、5 種類すべての株が TAK-620 に対する感受性を示し、TAK-620 の EC_{50} の平均値は 0.1 μM であり、野生型 AD169 での TAK-620 の EC_{50} の平均値 0.08 μM と同程度であった。一方、これらの株に対する GCV の EC_{50} の平均値は 2.2 μM であり、野生型 AD169（0.31 μM）より感受性が低下していた。

AD169 由来の実験室樹立変異株に対する DNA ハイブリダイゼーション試験で、GDGP53 株及び ACVC 株の 2 つの例外を除いた大多数の DNA ポリメラーゼ変異体に対して、野生型 AD169 と同様の範囲で TAK-620 は活性を示した。野生型 AD169 と比較して、GDGP53 株では TAK-620 の EC_{50} は 4 倍増加した。UL89 遺伝子に変異を有する BDCRB 耐性株に対する試験で、TAK-620 の EC_{50} は 0.04 μM であったのに対し、BDCRB の EC_{50} は 20 μM 超であった。プラーク減少試験において、アシクロビル耐性株の ACVC 株は、野生型株（AD169、EC_{50} 2.2 μM)よりも TAK-620 への感受性が高かった。

本試験の結果から、臨床において GCV、アシクロビル、CDV 及び、BDCRB などに耐性を示す可能性がある UL97、UL89 及び DNA ポリメラーゼが変異した CMV 株に対して TAK-620 は抗ウイルス活性を有することが示された。

表 2.6.2.2-5　TAK-620、BDCRB、ガンシクロビル及びアシクロビルに対する CMV の感受性

ウイルス株	ヌクレオチド変異（アミノ酸置換）	EC_{50} の平均値（μM）			
		TAK-620	BDCRB	ガンシクロビル	アシクロビル
ガンシクロビル耐性 UL97 変異、CMV 株					
遺伝子組換え AD169(a)	NA	0.08	0.7	0.31	ND
8805rec1(a)	A1378G（Met460Val）	0.03	2	1.7	ND
9330rec5(a)	C1560G（His520Gln）(b)	0.13	0.7	1.6	ND
8702rec2(a)	C1781T（Ala594Val）	0.13	0.75	1.8	ND
9219rec7(a)	1783-1785del（Leu595del）	0.2	1	1.8	ND
XbaF.4(a)	1768-1779del（AlaAlaCysArg 593del）	0.03	0.2	4.1	ND
CMV DNA ポリメラーゼ又は UL89 ターミナーゼの変異株					
GDG^{r}P53(c)	（Gly987Ala）	0.36	0.36	29	ND
BDCRB^{r}(c)	（Asp344Glu、Ala355Val）	0.04	>20	0.24	ND
AD169(c)（野生型）	NA	0.09	0.23	0.23	ND
ACV^{r}A(d)	（Met844Thr）	2.7	ND	7.5	156
ACV^{r}B(d)	（Leu802Met）	1.5	ND	3.2	323
ACV^{r}C(d)	（Lys513Asp）	0.35	ND	5.7	220
1117^{r}(d)	（Lys513Asp）	5.3	ND	10	9.2
AD169(d)（野生型）	NA	2.2	ND	4.5	52

出典：4.2.1.1-21
BDCRB：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、CMV：ヒトサイトメガロウイルス、DNA：デオキシリボ核酸、EC_{50}：50%有効濃度、MRC-5：ヒト肺線維芽細胞株、NA：該当せず、ND：評価未実施、r：耐性
(a) MRC-5 細胞を用いた DNA ハイブリダイゼーション試験で求めたデータ。平均値は、UL97 変異遺伝子組換え株の 2 件の独立した試験及び AD169 の 3 件の独立した試験を用いて算出した。
(b) 試験報告書内では誤ってアミノ酸置換を His520Glu 及び His520Gln と記載したが、His520Gln であると推定された。
(c) MRC-5 細胞を用いた DNA ハイブリダイゼーション試験で求めた感受性。
(d) MRC-5 細胞を用いたプラーク減少試験で求めた感受性。

また、ARPEp 細胞を用いた SEAP ウイルス増殖抑制試験において、CMV ターミナーゼ阻害薬であるレテルモビルに耐性を付与する UL56 遺伝子（V236M）に突然変異を有する CMV の薬剤耐性株に対する TAK-620 の in vitro 活性も評価した（2.6.2.2.1.5.1 及び表 2.6.2.2-6）（[7]、4.2.1.1-11）。UL56 遺伝子に臨床的に重要な変異がある CMV 株（UL56 V236M）に対して TAK-620 は活性を示し、EC_{50} は野生型ウイルス株及び UL56 変異ウイルス株の両方で 0.12 μM であった[7]。一方、レテルモビルの EC_{50} は野生型ウイルス株及び UL56 変異ウイルス株でそれぞれ 2.2 及び 103 μM であった。以上の結果から、TAK-620 はレテルモビルとの交差耐性がないことが予想された。

2.6.2.2.1.3 TAK-620 のタンパク結合

多くの低分子阻害薬は血清タンパク質に結合する。TAK-620 の in vitro でのヒト血漿タンパクへの結合率は約 98%であり、高いタンパク結合を示した（2.7.2.3.5.2）。

2.6.2.2.1.4 抗ウイルス選択性試験

：**添付資料番号 4.2.1.1-9、4.2.1.1-10（参考）**

TAK-620 に対する複数の RNA ウイルス及び DNA ウイルスの感受性を評価することで、TAK-620 の in vitro 抗ウイルス活性の特異性を評価した（4.2.1.1-9、2.6.3.2）。

培養ウシ腎由来株（MDBK）細胞、Vero 細胞、ヒト喉頭癌上皮（HEp-2）細胞、MRC-5 細胞及びヒト以外の霊長類の細胞（MA104 細胞）を、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、CMV（AD169）、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、又は重症急性呼吸器症候群関連コロナウイルスとともに培養した。TAK-620 の抗ウイルス活性は 0～50 μM の濃度で評価した。

その結果、CMV に対して活性が認められたこと（EC_{50} の平均値：0.07 μM）を除き、評価したすべてのウイルスに対する TAK-620 の EC_{50} の平均値は 50 μM 超（であった。

また、B 型肝炎ウイルス（HBV）、HIV、水痘帯状疱疹ウイルス（VZV）及びシミアンウイルス 40（SV40）に対する TAK-620 の活性も評価した（4.2.1.1-10、2.6.3.2）。

TAK-620 は 10 μM で、細胞外 HBV の産生を阻害しなかったが、100 μM で細胞外でのウイルス産生及び細胞増殖のいずれも阻害した。TAK-620 は 200 μM で HIV の細胞内増殖を阻害しなかった。VZV に対する TAK-620 の EC_{50} は 50 μM を上回り、この濃度で TAK-620 は MRC-5 細胞に対し細胞傷害性を示した。また、TAK-620 は 62.5 及び 125 μM で SV40 の増殖を阻害し、125 μM で Vero 細胞に対して細胞傷害性を示した。

以上の結果から、TAK-620 は CMV に対して強力で選択的な活性を示し、評価したその他のウイルスにはほとんど活性を有しないことが示唆された。

TAK-620 は Epstein-Barr のエプスタイン・バーウイルス（EBV）に対して強力な活性を示し（EC_{50}：0.15～1.1 μM）、細胞傷害性を示さない濃度で、ウイルス DNA 複製及び転写阻害作用を有することが報告されている[24][25][26]。しかし、CMV に対する TAK-620 の薬理作用と異なりに、EBV に対する TAK-620 の活性は、EBV のプロテインキナーゼである BGLF4 を直接阻害するのでなく、EBV DNA ポリメラーゼの鎖伸長因子である BMRF1 のリン酸化阻害を介することで、EBV の転写低下を引き起こすと考えられる[26]。In vitro で数多くの抗ウイルス薬が EBV 増殖を阻害することが証明されているが、臨床での成功例は限られており、これまで EBV 感染の治療薬として承認された抗ウイルス薬はない。

2.6.2.2.1.5 他の抗ウイルス薬と併用したときの TAK-620 の抗ウイルス活性

2.6.2.2.1.5.1 抗 CMV 薬と併用したときの TAK-620 の CMV 活性

：**添付資料番号 4.2.1.1-12、4.2.1.1-13（参考）**

作用機序から予想されるように、TAK-620 は UL97 キナーゼによる GCV のリン酸化を阻害するため、TAK-620 と GCV の併用は拮抗作用を示す[20][28]。しかし、予備試験（4.2.1.1-12、2.6.3.2）において、Elion モデル[29]を用いて相互作用を解析した場合、TAK-620 と GCV を併用したとき相加作用を示すことが報告された。ただし、この試験は、TAK-620 の開発早期に、TAK-620 の作用機序が解明される前に実施された。このため、この試験で得られたデータよりも、作用機序が同定された後に実施された、以下に示す確定的試験（[7]、4.2.1.1-11）が優先されると考える。また、ターミナーゼ阻害薬であるレテルモビルも現在承認されている抗 CMV 薬と相加作用を示すが[30]、レテルモビルとその他の実験用抗 CMV 薬とを併用し

た結果は公表されていない。同じターミナーゼ阻害薬である BDCRB と TAK-620 との併用は相乗作用を示すことが報告されている[27]ことから、TAK-620 とレテルモビルとの併用についても試験した。

上記の知見に基づき、ARPEp 細胞を感染細胞に用い、レテルモビル、GW275175X、CDV、GCV、FOS 及び mTOR 阻害薬であるシロリムスとの併用により、野生型株及び代表的な変異を有する CMV 株に対する TAK-620 の試験を実施した[7]（4.2.1.1-11、2.6.3.2）。試験に選択した CMV 株は、1）野生型株（対照）、2）UL97 変異株 T409M、3）UL97 変異株 H411Y、4）UL56 変異株 V236M、5）UL89 変異株 D344E、6）UL54 変異株 981-2del 及び 7）UL27 変異株 R233S であった。

異なる薬剤とウイルス株を組み合せた条件でチェッカーボード試験を複数回繰り返し、併用効果の有無を検討した。解析には Prichard-Shipman MacSynergy II スプレッドシート及びソフトウェアを用い、相加作用の独立効果定義に基づいた 3 次元モデルを用いてデータを解析し、95%信頼における指数を解釈に使用した。

このシステムにおいて、併用時に拮抗指数を示すことが知られる TAK-620 と GCV の相互作用を解析すると、拮抗作用が検出できることが示された。また、TAK-620 とシロリムス（ラパマイシン）との併用は、野生型株ウイルス及び変異株に対して強力な相乗作用を示し、この 2 剤の併用は有用な治療の組合せである可能性が示唆された。その他の併用では、使用した薬剤濃度で相乗作用又は拮抗作用は検出されなかった（表 2.6.2.2-6 及び図 2.6.2.2-4）。本試験において、ARPEp 細胞を用いた TAK-620 の EC_{50} は、MRC-5 細胞を用いた値と同程度であった（表 2.6.2.2-1）。

TAK-620 の CMV 増殖阻害に対する既存の抗ウイルス剤との相互作用をさらに評価するため、アシクロビル、GCV、FOS 又は CDV と TAK-620 を併用した（4.2.1.1-13、2.6.3.2）。CMV として AD169 を用い、MRC-5 細胞に感染させた。本試験では、Elion 法により相加性からの逸脱（D）を評価し、負の D 値は相乗作用を示し、正の D 値は拮抗作用を示す。D=-0.5 に近い値は強力な相乗作用を表し、正の値である D=0.5 は強力な拮抗作用を表す。

GCV、アシクロビル、FOS 又は CDV の CMV に対する EC_{50} はそれぞれ 0.7、40、14 及び 0.11 μM であり、TAK-620 と併用した時の D 値はそれぞれ-0.02、-0.094、-0.11 及び-0.46 であった。本試験で、TAK-620 と GCV、アシクロビル及び FOS との併用はいずれも相加作用を示し、D 値が-0.5 に近づいたことから示唆されるように、TAK-620 と CDV との併用は相乗作用を示した。

これらの結果から、TAK-620 の抗 CMV 活性は、GCV との併用を除いて、拮抗作用を示さないことが示唆された。

表 2.6.2.2-6　薬剤併用によるチェッカーボード試験のウイルス増殖抑制データ

薬剤 A	最高濃度(a)	EC_{50} (b)	薬剤 B	最高濃度(a) (μM)	EC_{50} (b)	CMV 株	遺伝子型	N (c)	相乗作用量 μM²% (95%信頼) 相乗作用	拮抗作用	解釈(d)
GW275175X	4 μM	0.67	TAK-620	0.6	0.12	4190	WT	6	0	-36	相加作用
	40 μM	6.0		0.6	0.09	4274	UL89 D344E	6	0	-20	相加作用
	4 μM	0.89		48	12	4352	UL97 T409M	5	3	-22	相加作用
	4 μM	0.70		8	2.1	4353	UL97 H411Y	7	0	-16	相加作用
レテルモビル	12 nM	2.2		0.6	0.12	4200	WT	12	0	-44	相加作用
	400 nM	103		0.6	0.12	4296	UL56 V236M	7	1	-19	相加作用
	12 nM	2.6		48	12	4352	UL97 T409M	6	0	-28	相加作用
	12 nM	2.4		8	2.2	4353	UL97 H411Y	5	0	-37	相加作用
ガンシクロビル	32 μM	2.0		1.0	0.11	4175	WT	5	0	-343	拮抗作用
ラパマイシン	8 nM	1.5		0.6	0.11	4175	WT	7	258	0	相乗作用
	8 nM	1.3		1.2	0.20	4347	UL27 R233S	7	152	0	相乗作用
	8 nM	1.2		8	1.8	4353	UL97 H411Y	9	153	0	相乗作用
ホスカルネット	200 μM	30		0.8	0.09	4198	WT	5	0	-41	相加作用
	400 μM	93		0.6	0.09	4376	UL54 981del2	6	0	-29	相加作用
Cidofovir	1 μM	0.31		0.8	0.10	4198	WT	8	0	-28	相加作用
	3 μM	1.3		0.6	0.11	4376	UL54 981del2	5	3	-11	相加作用

出典：[7]、4.2.1.1-11

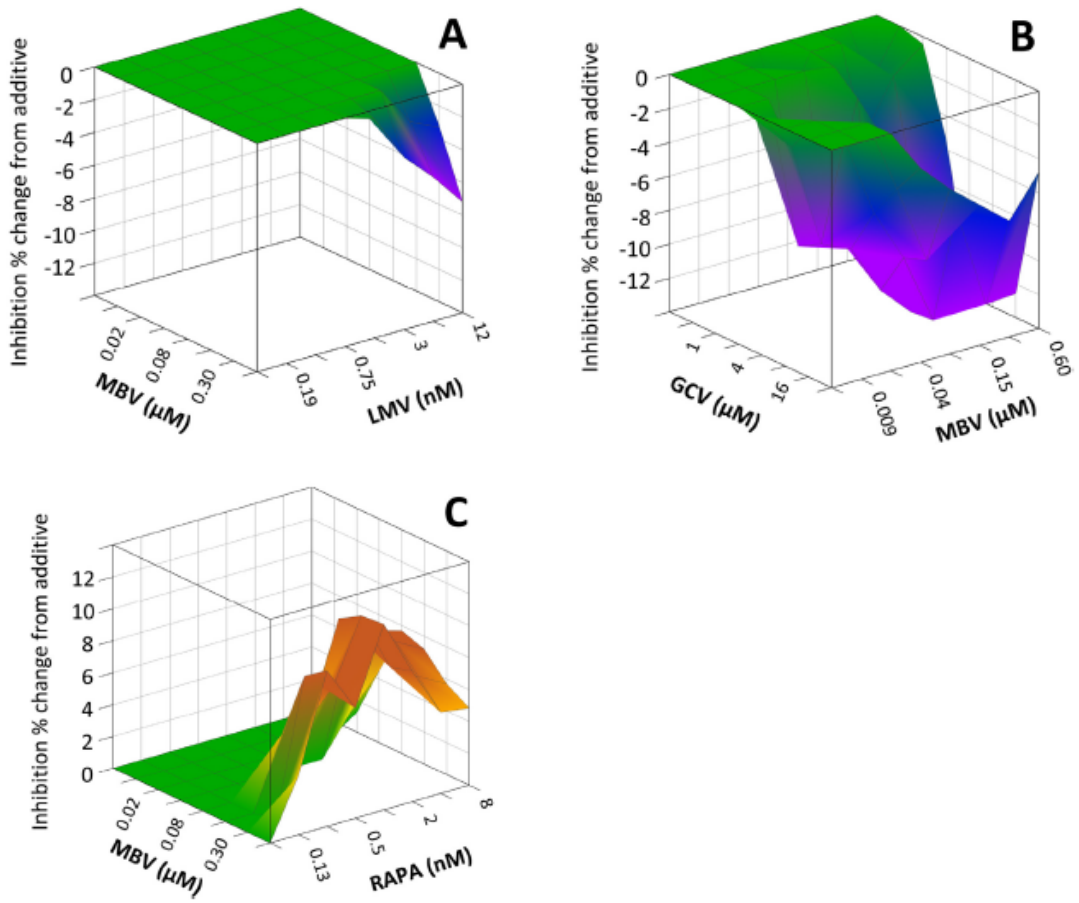
CMV：ヒトサイトメガロウイルス、EC_{50}：50%有効濃度、WT：野生型

(a)　最高濃度及びこの濃度から、6 回の 2 倍希釈をチェッカーボード試験で評価した。

(b)　個別薬剤の EC_{50} の平均値の濃度の単位は最高濃度と同一とした。

(c)　チェッカーボード試験の反復回数（3 日以上の設定日にわたって評価した）。

(d)　相加作用：±50 範囲の相乗作用量、相乗作用：100 以上の相乗作用量、拮抗作用：–100 以下の相乗作用量



出典：[7]
GCV：ガンシクロビル、LMV：レテルモビル、MBV：TAK-620、RAPA：ラパマイシン

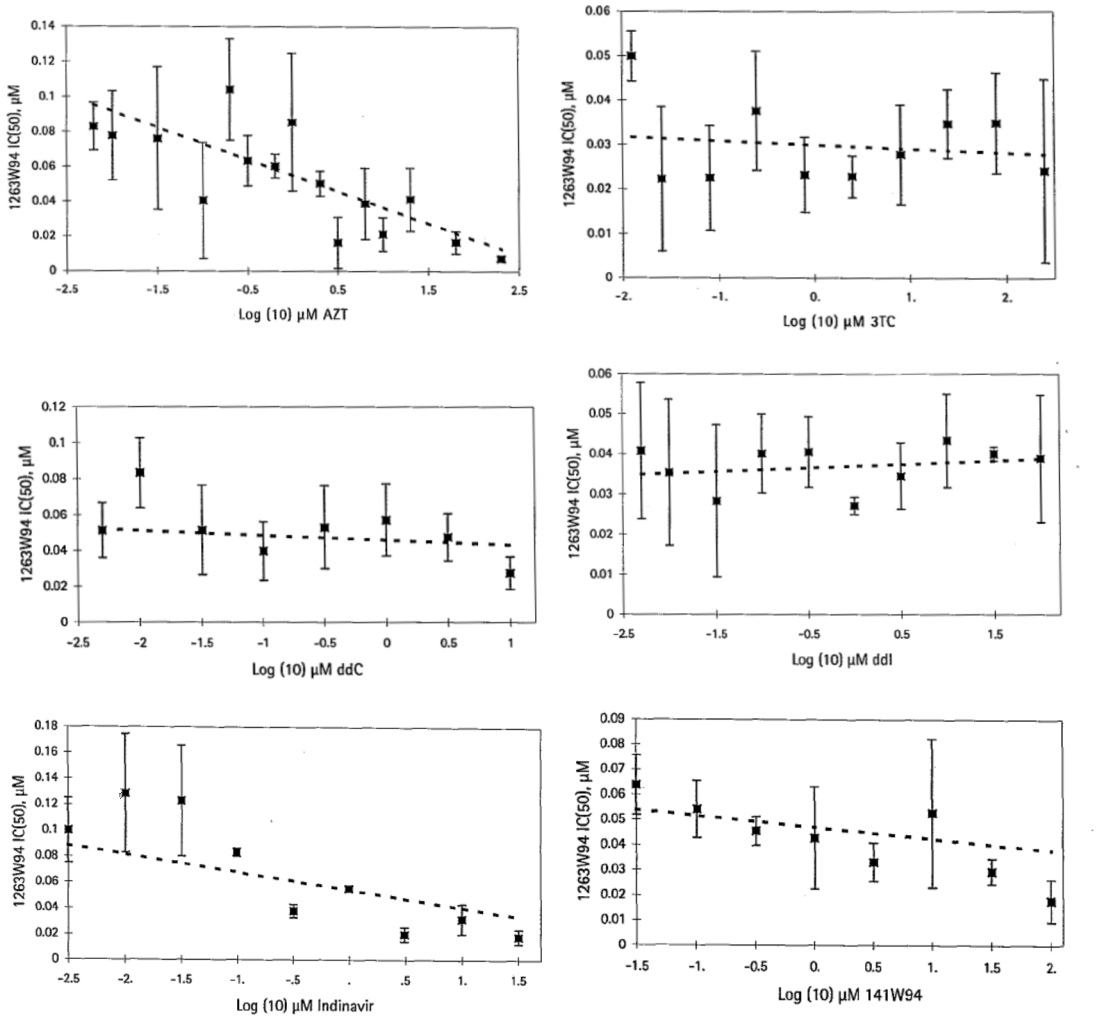
図 2.6.2.2-4　レテルモビル、ガンシクロビル及びラパマイシンの相加作用、相乗作用及び拮抗作用

2.6.2.2.1.5.2 抗 HIV 薬と併用したときの TAK-620 の CMV 活性

：添付資料番号 4.2.1.1-14（参考）

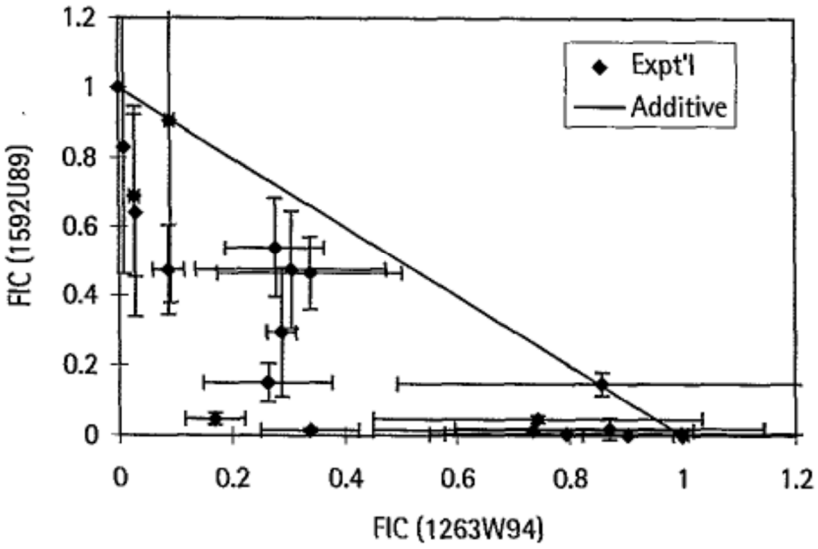
臨床において、HIV 及び CMV に対する抗ウイルス治療を同時に実施する可能性があるため、抗 HIV 薬及び抗 CMV 薬となる可能性がある薬剤との相互作用に関する知見が必要である。このため、CMV AD169 及び MRC-5 細胞を用いて、アジドチミジン（AZT）、ジデオキシイノシン（ジダノシン）（ddI）、ジデオキシシチジン（ddC）、ラミブジン（3TC）、141W94、インジナビル及び 1592U89 などの HIV 阻害薬と併用したときの、TAK-620 の CMV に対する相互作用を Elion 法により解析した（4.2.1.1-14、2.6.3.2）。

その結果、TAK-620 と 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た。逆転写酵素阻害薬（3TC、ddI 及び ddC）との併用は、TAK-620 の抗 CMV 活性に対して影響を及ぼさなかった（図 2.6.2.2-5）。一方、その他の HIV 阻害薬である 1592U89 と TAK-620 の併用では相乗作用が観察された（図 2.6.2.2-6）。



出典：4.2.1.1-14
1263W94：TAK-620、3TC：ラミブジン、AZT：アジドチミジン、CMV：ヒトサイトメガロウイルス、ddC：ジデオキシシチジン、ddI：ジデオキシイノシン（ジダノシン）、IC(50)：50%有効濃度

図 2.6.2.2-5　TAK-620 の抗 CMV 作用に及ぼす AZT、3TC、ddC、ddI、インジナビル又は 141W94 併用の影響



出典：4.2.1.1-14
1263W94：TAK-620、CMV：ヒトサイトメガロウイルス、Expt'l：実験値、FIC：阻害率

図 2.6.2.2-6　TAK-620 の抗 CMV 作用に及ぼす 1592U89 併用の影響

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 を抗 HIV 薬と併用しても、TAK-620 の CMV に対する抗ウイルス活性に負の影響を示す可能性は低いと考えられる。

2.6.2.2.1.5.3 TAK-620 と併用したときの抗 HIV 薬の抗 HIV 活性

：添付資料番号 4.2.1.1-15（参考）

次に、ヒト T 細胞リンパ親和性ウイルス 1 型感染細胞株（MT4）を用いた HIV 感染試験において、TAK-620 単剤又は HIV-1 プロテアーゼ阻害薬（141W94 又はインジナビル）若しくはヌクレオチド（AZT、ddI、ddC 又は 1592U89）を併用したときの抗 HIV 活性を評価した（4.2.1.1-15、2.6.3.2）。

MT4 を HIV-1（IIIB 株）に感染させ、ヨウ化プロピジウム DNA 染色で HIV による細胞傷害作用を定量することで抗 HIV 活性を評価した。TAK-620 単剤は 2～200 μM の範囲で HIV-1 に対して抗ウイルス活性を示さなかった。抗 HIV-1 活性について、TAK-620 と上記の抗 HIV 薬とのチェッカーボード試験を実施した。TAK-620 非存在下の活性と比較して、TAK-620（2 又は 10 μM）との併用によるプロテアーゼ阻害薬（141W94 又はインジナビル）又はヌクレオチド（AZT、ddI、ddC 又は 1592U89）の EC_{50} の変化はわずかであった。

TAK-620 は既知の HIV 阻害薬の抗 HIV 活性に対して拮抗作用又は相乗作用を示さないと考えられた。

2.6.2.2.1.5.4 抗 HIV 薬の抗 HIV 活性に対する TAK-620 の影響

：**添付資料番号 4.2.1.1-16（参考）**

さらに、5 種類の異なる HIV 薬（AZT、ddI、ddC、ネビラピン及び 3TC）の抗 HIV 活性に対する TAK-620 の影響を評価した（4.2.1.1-16、2.6.3.2）。

細胞増殖を 50%減少させるのに必要な量の 100 倍量で、MT4 を HIV-1（IIIB 株）に感染させた。感染後 1 時間で、TAK-620 の存在下（10 μM）又は非存在下で、感染細胞を 6 種類の異なる濃度の AZT、ddI、ddC、ネビラピン又は 3TC に曝露させた。5 日間培養した後、標準的なヨウ化プロピジウム DNA 染色で各ウェル中の細胞数を定量した。EC_{50} の平均値±標準誤差を算出することで、TAK-620 の存在下又は非存在下における各化合物の抗 HIV 活性を求めた（表 2.6.2.2-7）。

表 2.6.2.2-7　TAK-620 の存在下及び非存在下における各抗 HIV 薬の抗 HIV 活性

化合物	MT4 EC_{50} (μM)（平均値±SE）	TAK-620 10 μM 存在下の MT4 EC_{50} (μM)（平均値±SE）
AZT	0.050±0.01	0.047±0.01
ddI	20±4.5	17±2.7
ddC	6.1±0.3	5.2±1.6
ネビラピン	0.16±0.01	0.25±0.2
3TC	4.8±0.5	4.4±1.3

出典：4.2.1.1-16

3TC：ラミブジン、AZT：アジドチミジン、ddC：ジデオキシシチジン、ddI：ジデオキシイノシン（ジダノシン）、EC_{50}：50%有効濃度、HIV：ヒト免疫不全ウイルス、MT4：ヒト T 細胞リンパ親和性ウイルス 1 型感染細胞株、SE：標準誤差

TAK-620 10 μM の存在下で、評価した抗 HIV 薬の抗 HIV 活性は影響されなかった。

2.6.2.2.1.6 細胞傷害性試験

：**添付資料番号 4.2.1.1-17、4.2.1.1-18、4.2.1.1-19、4.2.1.1-20（参考）**

ウイルスの増殖は宿主細胞機構に依存しているため、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。TAK-620 の後者の作用の有無を明らかにするため、2 つの細胞傷害試験を実施した。

[31]及び[32]で記載した HUMARROW 試験で、ヒト骨髄前駆細胞を用いて、TAK-620 及び陽性対照 AZT の細胞傷害性を評価した。本試験では、2 種類の細胞〔顆粒球・マクロファージコロニー形成細胞（CFU-GM）及び赤芽球バースト形成細胞（BFU-E）〕における増殖阻害を評価することで細胞傷害作用を検討した。その結果、CFU-GM 及び BFU-E に対する TAK-620 単剤の EC_{50} の平均値はそれぞれ 90 及び 88 μM であった（4.2.1.1-17、2.6.3.2）。DNA ハイブリダイゼーション試験の結果から、TAK-620 は 0.27～2.8 μM の濃度範囲で臨床分離株の CMV 増殖を 90%阻害することが示された（4.2.1.1-5、2.6.2.2.1.2）。これらの濃度は、ヒト骨髄前駆細胞の増殖を 50%阻害する濃度よりも十分に低かった。別の in vitro 試験で、TAK-620（5 及び 50 μM）を AZT（0.1、1 又は 10 μM）と併用したときの細胞傷害性（EC_{50} は CFU-GM で 6 μM、BFU-E で 0.4 μM）は、AZT 単剤による細胞傷害性（EC_{50} は CFU-GM で 8～11 μM、BFU-E で 0.4 μM）と大きく変わらなかった（4.2.1.1-17 及び 4.2.1.1-18）。同一試験系で、GCV は TAK-620 より低い濃度で細胞傷害性を示した（EC_{50} は CFU-GM で 15 μM、

BFU-E で 39 μM）（表 2.6.2.2-8）。同じヒト骨髄前駆細胞を用いた細胞傷害性試験において、TAK-620 の代謝物 VP 44469 単剤の CFU-GM 及び BFU-E に対する EC_{50} はそれぞれ 62 及び 60 μM であり、TAK-620 との差は 2 倍未満であった（4.2.1.1-19、2.6.3.2）。

また、3 種類のヒト T 細胞白血病細胞株（MOLT-4、CEM 及び CEM-CD4+）及び 1 種類のヒト B 細胞白血病細胞株（IM9）を用いて、急速に分裂する細胞に対する TAK-620（1.5～200 μM）の増殖阻害試験も実施した。これら 4 種類の細胞に対する EC_{50} は 35～76 μM であった（4.2.1.1-20、2.6.3.2）。

これらの試験から、in vitro で TAK-620 が CMV の増殖を阻害する濃度は、宿主細胞に対する傷害作用を示すのに必要な濃度よりも十分に低いことが示された。

表 2.6.2.2-8　初代培養ヒト骨髄前駆細胞に対するベンゾイミダゾールリボシド及びガンシクロビルの細胞傷害性

被験化合物	EC_{50} (μM)（平均値±SEM）		測定回数（ドナー数）
	CFU-GM	BFU-E	
TAK-620	90±4	88±4	4 (4)
BDCRB	110±18	90±10	9 (9)
ガンシクロビル	15±3	39±10	18 (15)

出典：[1]
BDCRB：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、BFU-E：赤芽球バースト形成細胞、CFU-GM：顆粒球・マクロファージコロニー形成細胞、EC_{50}：50%有効濃度、SEM：平均値の標準誤差

2.6.2.2.1.7 TAK-620 耐性の概括評価

2.6.2.2.1.2 及び 2.6.2.2.1.5 に記載した試験に加え、入手可能な TAK-620 の耐性データに関する文献調査を実施した。以下にその調査の概要を示す。考察した多くの in vitro 試験で、特異的遺伝子変異を CMV 株に導入して組換えウイルスを作製した後、2.6.2.2.1.2 及び 2.6.2.2.1.5 に記載したものと同様の試験方法を用いて、薬剤存在下で培養して EC_{50} を求めることで、薬剤感受性を判定した。

実験室で作製した CMV の TAK-620 耐性株を分析した試験で、TAK-620 耐性化には、主にウイルス UL97 遺伝子の変異及び UL27 の代償性変異が特定されている（[1][3][4][5][6][8][9][10][11][15][18][33][34][35]。CMV の UL97 キナーゼの触媒ドメインは、11 種類の I～XI に番号付けされた主要な保存領域で構成される。ウイルスの UL97 キナーゼは 707 アミノ酸から構成されるタンパク質であり、コドン 337～345（領域 I）、481～483（領域 VII）及び 553～557（領域 IX）に対応するそれぞれ ATP 結合部位、リン酸転移ドメイン（P ループ）及び基質認識部位を有する（図 2.6.2.2-7、[14]）。In vitro で TAK-620 に対する耐性を示す既知の UL97 及び UL27 の変異を表 2.6.2.2-9 に示し、以下に簡潔に説明する。

既知の GCV 耐性変異の上流にある UL97 のキナーゼ ATP 結合ドメイン及びリン酸転移ドメインのコドン 337、342、353、397、409、411 及び 480 に、TAK-620 に対する耐性を付与する変異が特定された（図 2.6.2.2-7、図 2.6.2.2-8、及び表 2.6.2.2-9）。これらの変異の大多数は UL97 キナーゼの ATP 結合部位に近接し（F342Y、V353A、L397R、T409M 及び H411L/N/Y）、別のアミノ酸変異（L337M、F342S 及び V356G）は ATP 結合 P ループ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た。これらのアミノ酸置換は、広い範囲の（約 3～200 倍超）TAK-620 耐性を付与する[4][5][7][9][10][11][12][13][18][33]。

TAK-620 に対する高度（200 倍超）の耐性を付与する最初の変異であり、実験室由来株から選択された L397R の解析により、TAK-620 の作用機序が明らかとなった[1]。TAK-620 存在下で継代した臨床分離株から選択された追加の 2 種類のアミノ酸置換である V353A 及び T409M は、TAK-620 の EC_{50} をそれぞれ 15 倍及び 80 倍増加させることが示された[4]。さらに、[5]の研究で、error-prone エキソヌクレアーゼ CMV 変異株の TAK-620 への曝露により、これらの変異の選択が促進され、また、コドン 411 におけるアミノ酸変異である H411L、H411N 及び H411Y も選択され、これにより TAK-620 の EC_{50} はそれぞれ 69 倍、9 倍及び 12 倍増加した。また、TAK-620 に曝露した error-prone エキソヌクレアーゼ CMV 変異株は保存領域の ATP 結合部位（P ループ）に位置する L337M 置換の選択も可能にし、これにより TAK-620 の EC_{50} は約 3.5 倍増加した[10]。また、抗 CMV 作用を示す cyclopropavir（CPV）存在下で選択された、その他のアミノ酸変異である F342S 及び V356G も P ループ及びその近傍に位置しており、これにより TAK-620 の EC_{50} はそれぞれ 18 倍及び 108 倍増加した[18]。正常な細胞変性効果及びウイルス増殖を示すコドン 353、397 及び 409 でのアミノ酸変異を有する遺伝子組換えウイルス株と比較して、V356G 変異株のウイルス増殖は中程度に減弱した[4][5][10][18]。

さらに、F342S 及び V356G は、重度のウイルス増殖障害を示し TAK-620 に耐性を付与した[18]。GCV を投与した患者から得られた臨床検体の配列決定により報告された、V466G や P521L などの UL97 キナーゼ活性及びウイルス増殖能を低下させる変異が、TAK-620 耐性を付与することも示されているが、これら変異株の臨床的な意義は不明である[18]。UL97 遺伝子に 3 種類の新規アミノ酸置換である D456N、C480R 及び Y617del を有する遺伝子組換え CMV は多剤耐性を示すことが報告され[33]、それぞれのアミノ酸置換が TAK-620 に対する耐性を付与した。

Marker transfer 実験において TAK-620 存在下で連続継代したエキソヌクレアーゼ変異 CMV 株で、UL97 変異の H411L/Y 及び 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 耐性を付与しないことが示された[5]。これらの知見は、エキソヌクレアーゼが欠損した T2294 変異株で、TAK-620 存在下において UL97 変異の蓄積が観察されたことと一致する[5]。また、2 種類の UL97 変異は（F342Y と H411Y の組合せは）、TAK-620 の EC_{50} を約 50 倍以上増加させた（EC_{50} は野生型で 0.11 μM であるのに対し、6.4 μM）[11]。

UL27 遺伝子はウイルス増殖に必須ではないが、本遺伝子は臨床分離株でよく保存されており、UL97 活性が低下又は欠損した場合のウイルスの増殖適応において、重要な機能を有する可能性がある[3][6]。例えば、TAK-620 に対する低度の耐性を付与する UL27 の変異（R233S、W362R 又は A406V と 415 の終止コドンの組合せ）は、薬剤存在下の in vitro、及び薬剤非存在下の UL97 遺伝的欠損 CMV 株で自然発生的に出現することが示されている[3]。また、さらなるアミノ酸変異又は欠失は、TAK-620 に曝露した CMV 臨床分離株（218delC、A269T 及び 301-311del）又は error-prone エキソヌクレアーゼ CMV 変異株（E22stop、W153R、L193F、V353E、R448P、D534Y 及び L426F）でも選択された[10][35]。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]、UL27 の機能として、

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[10][34]。

In vitro における UL97 と UL27 変異の相加作用を評価するデータは限られている。しかし、UL97 と UL27 で生じる変異の組合せが TAK-620 に対する耐性の程度を大きくすることが示されている（表 2.6.2.2-9）。[10]では、UL27 変異である R233S を UL97 変異である L337M 又は V353A を有する株に導入することで、TAK-620 の EC_{50} が 7～27 倍増加することが報告された。

TAK-620 濃度と 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が、TAK-620 濃度を増加させて継代することで、変異数が次第に増加する可能性があり（表 2.6.2.2-10）、また、上述した特定の変異は TAK-620 に対するウイルスの感受性を変化させる。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。

以上、CMV の TAK-620 耐性化には、主にウイルス UL97 遺伝子の変異及び UL27 遺伝子の代償性変異が関与していることが示唆された。

表 2.6.2.2-9　In vitro での TAK-620 による UL97 及び UL27 変異並びに表現型

変異	試験種別	ウイルス株	EC_{50} (μM)	EC_{50} 増加倍率	出典
UL97 変異					
F342Y	SEAP	実験室由来株、遺伝子組換えウイルス	0.51	4.5	[11]
L397R	· DNA ハイブリダイゼーション · PRA · SEAP	実験室由来株（2916W93 存在下）、遺伝子組換えウイルス	2.7～>28	24～>200	[1][4][5][9][15]
T409M	· PRA · SEAP	実験室由来株、遺伝子組換えウイルス、臨床分離株	10.5	>75	[4][5]
V353A	· PRA · SEAP	実験室由来株、遺伝子組換えウイルス	1.22～2.0	11～18	[4][5][10][18]
L337M	SEAP	実験室由来株、遺伝子組換えウイルス	0.37～0.39	3.4～3.5	[10]
K335del	· 酵素アッセイ · SEAP	UL97 欠損株（部位指向性変異導入）、遺伝子組換えウイルス	36.5	304	[18]
F342S	SEAP	実験室由来株（CPV 存在下）、遺伝子組換えウイルス	2.20	18	
V356G			12.98	108	
V466G		臨床分離株（GCV 存在下）、遺伝子組換えウイルス	38.51	321	
P521L			51.40～53.35	428～445	
D456N	SEAP	実験室由来株（メチレンシクロプロパン類縁体の存在下）、遺伝子組換えウイルス	37	278	[33]
C480R			32.4	243	
Y617del			49.7	372	

表 2.6.2.2-9　In vitro での TAK-620 による UL97 及び UL27 変異並びに表現型（続き）

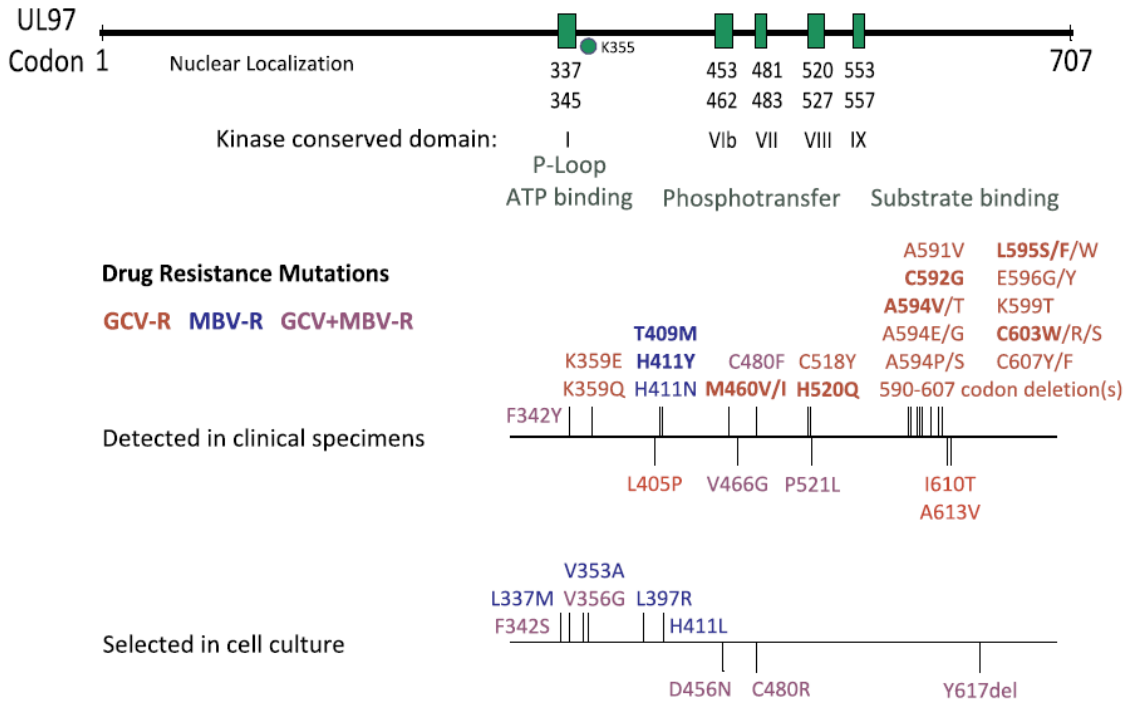
変異	試験種別	ウイルス株	EC_{50} (μM)	EC_{50} 増加倍率	出典
H411L	SEAP	実験室由来株、遺伝子組換えウイルス	7.6	69	[5]
H411N			1.0	9	
H411Y			1.3	12	
UL97 変異の組合せ					
V353A+H411L	SEAP	実験室由来株、遺伝子組換えウイルス	25	227	[5]
V353A+H411Y			18	164	
F342Y+H411Y	SEAP	実験室由来株、遺伝子組換えウイルス	6.4	56	[11]
UL27 変異					
R233S	ウイルス増殖抑制及び SEAP	実験室由来株（2916W93 存在下）、遺伝子組換えウイルス	0.2～0.52	1.8～4.7	[3][10]
Del（1～497）	ウイルス増殖抑制	実験室由来株、遺伝子組換えウイルス	0.35	3.2	[3]
W362R	ウイルス増殖抑制及び SEAP	実験室由来株、遺伝子組換えウイルス	0.21	1.9	[3][34]
218delC	ウイルス増殖抑制及び SEAP	・実験室由来株、遺伝子組換えウイルス ・臨床分離株	0.23	2.5	[35]
A269T			0.19	2.0	
E22stop			0.19	2.0	
301-311del+A311 フレームシフト、欠失			0.29	3.1	
V353E			0.2	2.1	
L426F			0.21	2.2	
L193F	ウイルス増殖抑制及び SEAP	実験室由来株、遺伝子組換えウイルス	0.24	2.6	[34][35]
W153R			0.16	1.7	
R448P	SEAP	実験室由来株、遺伝子組換えウイルス	0.17	1.5	[10]
D534Y			0.15	1.4	
UL27 変異の組合せ					
A406V/C415 STOP	ウイルス増殖抑制	実験室由来株（2916W93 存在下）	0.39	3.5	[3]
UL27 変異と UL97 変異の組合せ					
R233S+L337M	SEAP	遺伝子組換えウイルス	0.79	7.2	[10]
R233S+V353A			2.94	27	

BDCRB：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、CPV：cyclopropavir、DNA：デオキシリボ核酸、EC_{50}：50%有効濃度、GCV：ガンシクロビル、PRA：プラーク減少試験、SEAP：分泌型アルカリホスファターゼ、WT：野生型

表 2.6.2.2-10　UL97 変異及び UL27 変異の in vitro 選択に対する TAK-620 の濃度の影響

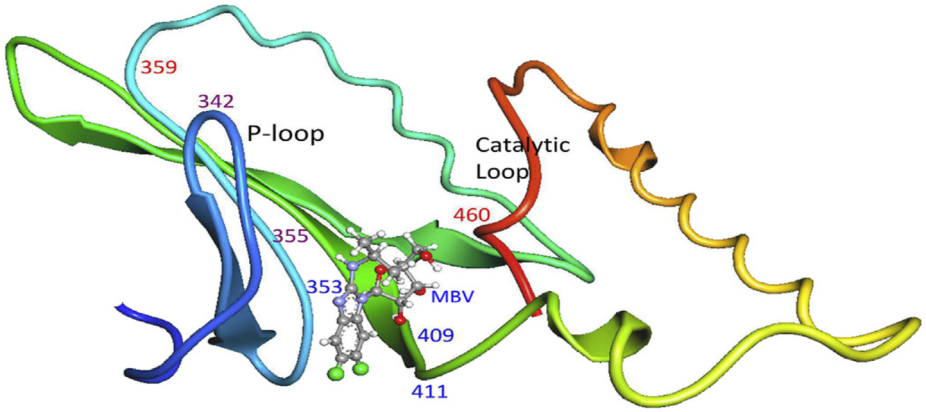
TAK-620 (μM)(a)	UL97 変異（初回検出時の継代数）	UL27 変異（初回検出時の継代数）
0.5	H411Y（6）	該当せず
0.5	H411N/Y（6）	該当せず
0.5	H411N（6）	該当せず
5	L337（7）、H411L（16）	D534Y（7）
5	H411Y（10）、V353A（15）、T409M（18）	該当せず
5	H411Y（5）、V353A（10）	R448P（10）
10	H411Y（5）、V353A（10）	該当せず
15	H411L（5）、V353A（15）	該当せず
15	T409M（5）、H411Y（15）、V353A（15）	該当せず
25	H411N（5）、H411L（10）、V353A（15）	該当せず

出典：[10]
TAK-620 存在下でのウイルスの連続増殖による試験
(a) 最大継代培養数における TAK-620 の濃度



出典：[12]
ATP：アデノシン三リン酸、GCV-R：ガンシクロビル耐性、MBV-R：TAK-620 耐性

図 2.6.2.2-7　UL97 の機能的ドメイン及び変異マップ



出典：[11]
P ループ（残基 335～346）の中心部にある交差耐性の遺伝子座である残基 342、及び機能的に重要な K355 残基の下流に位置する残基 359 を示す、酵母 GCN2 キナーゼに基づく UL97 キナーゼの ATP 結合領域の公表された構造モデル。ATP と競合的に TAK-620 が結合する部位を示す。TAK-620 に対する耐性を付与する変異（V353A、T409M 及び H411Y 置換）は、この結合を阻害することが予想される。残基 460 によくみられるガンシクロビル耐性変異は別の触媒ループに存在する。
ATP：アデノシン三リン酸

図 2.6.2.2-8　酵母 GCN2 キナーゼに基づいた UL97 キナーゼの ATP 結合領域の構造モデル

2.6.2.2.1.8 交差耐性の概括評価

薬剤耐性を示す CMV に起因する感染症は、特に免疫不全宿主においては新たな問題となる。GCV は、CMV 感染及び感染症の治療及び予防のため米国食品医薬品局（FDA）が承認した最初の CMV 薬であり、FOS 及び CDV がそれに続いた。これらの薬剤すべてが、最終的にウイルス DNA 合成を阻害することを目的として、UL54 遺伝子がコードする CMV DNA ポリメラーゼを標的としている。また、GCV の活性発現には、ウイルスがコードする UL97 キナーゼによるリン酸化も必要である。FOS 及び CDV の抗ウイルス活性は、UL97 キナーゼに依存しない。

現在の抗ウイルス薬に対する 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り、長期の GCV 投与後に発現し、既存の UL97 変異が付与した耐性の程度を上昇させる可能性がある。GCV-CDV 二重耐性は UL54 エキソヌクレアーゼドメイン及びコドン 987 に一般的にマッピングされるが、FOS 耐性変異は領域 II を含むポリメラーゼ触媒ドメイン全体に広がって存在する[34]。最もよくみられる交差耐性は GCV-CDV であり、GCV-FOS 及び三重薬剤耐性がそれに続く。薬剤耐性を付与する多くの変異は、UL54 ポリメラーゼの保存部位で生じる。GCV に対する耐性を付与する変異の頻度は、UL97 と比較して UL54 では少ない[14]。これらの薬剤は造血細胞移植患者における CMV 感染の負荷を軽減するが、耐性株の発現によりその使用はしばしば制限される。

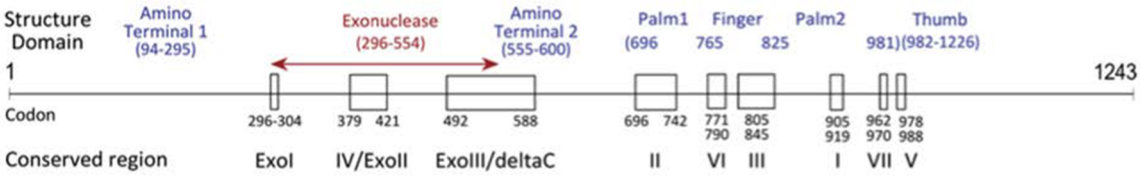
ここで重要な点は、TAK-620 の薬効が、GCV/VGCV、CDV 及び FOS に対する耐性を付与する UL54 遺伝子にコードされているウイルスポリメラーゼの変異に、影響されない点である。UL97 及び UL54 がコードする構造ドメインをそれぞれ図 2.6.2.2-7 及び図 2.6.2.2-9 に示す。これらの遺伝子は、ウイルス DNA ポリメラーゼを標的として承認された抗ウイルス薬に対する CMV の耐性獲得に関連している。既知の UL97 変異並びにそれらの変異による TAK-620、GCV 及び CPV に対する薬剤耐性の相対レベルを表 2.6.2.2-11 に示す。

通常、UL97 キナーゼは、複数の細胞タンパク質及びウイルスタンパク質のセリン残基及びスレオニン残基をリン酸化し、効率的な CMV の増殖に必要である。このキナーゼは、抗ウイルス活性に必要な GCV の最初のリン酸化を触媒するので、このリン酸化に影響する UL97 変異は GCV に対する耐性獲得の機序となる[34]。既知の UL97 の GCV 耐性関連アミノ酸置換は、リン酸転移に必要な保存領域にあるコドン 460 及び 520 周辺と、コドン 590～607 の基質結合領域にあると推定される[9][14]。7 種類の UL97 の標準的変異（M460V/I、H520Q、C592G、A594V、L595S 及び C603W）は 80%超の GCV 耐性 CMV 臨床株に認められ、これらの変異は、正常なキナーゼ機能を損なうことなく基質特異性を変化させる変異であることが示される。これらの変異により、GCV の EC_{50} は、C592G で 3 倍増加することを除き、5～15 倍増加する[12]。他の複数の耐性変異が、ATP 結合 P ループ及び重要な触媒残基である K355 を含有する領域であるコドン 460 の上流で生じることが知られている。この領域における変異（F342Y、K359E 及び K359Q）は、GCV に対する耐性を 4 倍以上増加させることが示されている[11]。

In vitro 及び臨床被験者の両方において、ATP 結合ドメインに近接する UL97 変異（V353A、L397R、T409M 及び H411L/N/Y）の大多数が TAK-620 耐性を付与するが、GCV に対する耐性を付与する変異と重複しなかった。このため、これらの CMV 変異株は GCV に対する感受性を示した[1][5][13]。

別の in vitro 研究で、GCV、FOS 又は CDV に対する耐性を示す 4 種類の UL97（C592G、L595S、M460I、A594V）又は 3 種類の UL54（A987G、K513E、A809V）DNA ポリメラーゼの変異を有する実験室樹立株及び臨床分離株が、TAK-620 に対する感受性を維持していたことも示されている[15]。これらのデータは、アシクロビル及び BDCRB に耐性を示す CMV 株、並びに臨床における GCV 治療の無効化に関連した臨床的に意義のある UL97 遺伝子変異を有する株に対して、TAK-620 が in vitro で活性を有することを追加的に示したデータと良く一致している（4.2.1.1-21、2.6.2.2.1.2.3）。

別の試験で、臨床的に意義のあるレテルモビルのターミナーゼ耐性変異株（V236M）が TAK-620 に対する感受性を維持していたことも示されている[7]。また、GCV に対する耐性を付与することが既に知られている M460I 及び M460V 置換は、TAK-620 に対する感受性が高いことも示されている[2][4][15]。なお、キナーゼの全体的な機能を重度に阻害又は欠損させる K355M などの UL97 変異に対して、GCV-TAK-620 交差耐性の出現が予測されるが、これら変異は CMV の重度の増殖障害を伴うことが原因と推定されることにより、臨床分離株においてこれまでに認められていない。例外として、GCV 投与後の臨床検体中で認められた変異株で、UL97 キナーゼ活性が欠損してウイルス増殖能が低下した V466G 及び P521L が、TAK-620 に加えて GCV 及び CPV に対して耐性を示す[18]。抗 CMV 活性を有するメチレンシクロプロパン類縁体に曝露した CMV 株 AD169 から選択された D456N、C480R 及び Y617del の変異は、異常な細胞変性効果及び重度の増殖障害を示し、GCV 及び TAK-620 に対する交差耐性を付与することも示されている[33]。



出典：[12]
CMV：ヒトサイトメガロウイルス、DNA：デオキシリボ核酸

図 2.6.2.2-9　CMV UL54 DNA ポリメラーゼ遺伝子の構造ドメイン及び保存領域

まれな UL97 変異である F342S 及び V356G は、in vitro において CPV 存在下で増殖させた後に認められたもので、GCV、CPV 及び TAK-620 に対して耐性を示すが、これらの変異を有する株は UL97 自己リン酸化能力を維持しており、細胞培養において正常な細胞変性効果を示した。F342S 変異は、ともにキナーゼ ATP 結合 P ループ（Hanks サブドメイン I）の保存モチーフを規定する 3 つのグリシン残基（338、340 及び 343）のうち 1 つと近接している[18]。また、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（4.5 倍）を付与することが[11]、第 2 相及び第 3 相試験で報告されている。相対的にウイルス増殖能が維持され、かつ、多剤耐性を示す UL97 変異株は、重度な増殖障害を示す UL97 ノックアウト変異株よりも抗ウイルス治療において大きな懸念がある[18]。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する[12]。

なお、第 2 相試験で得られたデータから、2 種類の UL97 変異に起因した TAK-620 及び GCV/VGCV に対する交差耐性の臨床的エビデンスが示されている。TAK-620 及び GCV の EC_{50} は、F342Y によりそれぞれ 4.5 倍及び 6.0 倍増加し[11]、C480F によりそれぞれ 224 倍及び 2.3 倍増加した[13]。

以上、CMV の DNA ポリメラーゼ及びターミナーゼの変異は TAK-620 に対する感受性に影響しないことが示唆された。また、一部の UL97 キナーゼの変異は、TAK-620 だけでなく GCV に対する交差耐性を付与することが示された。

表 2.6.2.2-11　CMV UL97 変異株の薬剤耐性の相対レベル

	UL97 変異株				
EC_{50} 増加倍率	<2.2	2.2～4.9	5～20	21～99	>100
TAK-620	M460V/I、H520Q、A594V、L595S、C603W	F342Y、L337M	V353A、H411Y、H411N	T409M、H411L	L397R、V466G、C480F、P521L
ガンシクロビル	T409M、H411Y、K599E/R、L600I、T601M、D605E	K359E/Q、L405P、C480F、A591V、C592G、A594E/S/T、E596G、E596del、L600del、L600del2、I610T、A613V	F342Y、M460V/I、V466G、C518Y、H520Q、P521L、A594V/G、L595S/F/W/del、E596Y、K599T、C603W/R、C607Y、A591del4、L595del、N597del3、T601del3	NA	NA
Cyclopropavir	L595S	M460V、C592G、A594V、C603W	M460I、H520Q	NA	NA

出典：[5][9][10][12]
臨床検体に認められた／臨床分離株に転移された UL97 変異の薬剤感受性表現型
CMV：ヒトサイトメガロウイルス、del：インフレームコドン欠失（末尾は 2 つ以上が欠失する場合のコドン数を示す）、
EC_{50}：50%有効濃度、NA：該当せず

2.6.2.2.2 In vivo 薬力学試験

CMV は種特異的に感染するため、ヒト以外の動物に直接感染しない。動物モデルにおける TAK-620 の抗ウイルス活性を検討するため、重症複合免疫不全マウスに 2 種類のヒト胎児組織（網膜組織及び胸腺／肝臓組織）をそれぞれ移植した[36]。その後、これらの組織を CMV〔2,000～9,000 プラーク形成単位（PFU）〕に感染させ、TAK-620、GCV 又は溶媒対照を移植組織の感染後 24 時間から 28 日間投与した。GCV（腹腔内投与）は両モデルで CMV 増殖を有意に抑制し有効性を示した。TAK-620（経口投与）も、網膜組織モデル及び胸腺／肝臓組織モデルにおいて、溶媒対照と比較して、CMV 増殖を有意に抑制した。

これらの結果から、TAK-620 はこれらの CMV 感染動物モデルにおいて有効性を示すことが明らかとなった。

別の検討で、マウス、ラット、モルモット及びアカゲザル由来のサイトメガロウイルス株を用いて、in vitro で TAK-620 及び GCV の抗ウイルス活性を評価した。選択指数（定常期 MRHF 細胞における細胞傷害性を抗ウイルス活性で除することで算出）から、GCV と比較して、TAK-620 は動物由来サイトメガロウイルス株に対する抗ウイルス活性をほとんど示さないことが認められた。なお、TAK-620 はアカゲザルサイトメガロウイルス分離株に対して弱い抗ウイルス活性を示した[37]（表 2.6.2.2-12）。

上記試験で、TAK-620 が良好な増殖抑制作用を示す動物由来のサイトメガロウイルスは認められないことから、これらウイルスを用いた TAK-620 の in vivo 薬力学試験を実施しなかった。

表 2.6.2.2-12　複数の動物サイトメガロウイルス株に対するベンゾイミダゾールヌクレオチドの作用

動物サイトメガロウイルス株	薬剤	EC_{50} の平均値（μM）（±SD、算出可能な場合）(a)		
		抗ウイルス活性	細胞傷害性	SI(b)
マウスサイトメガロウイルス	ガンシクロビル	2.9±1.4	>36	>12
	BDCRB	37	151	4
	TAK-620	>11	50±4	<4.5
	GW275175X	20±6.5	158±7.3	7.9
ラットサイトメガロウイルス	ガンシクロビル	31±1.4	>361	>12
	BDCRB	26±4.5	190±6.5	7.3
	TAK-620	>11	31.6±1.3	<3.0
	GW275175X	28.2±3.8	117±12	4.2
モルモットサイトメガロウイルス	Cidofovir	1.6±1.0	>317	>198
	ガンシクロビル	191±15	>361	>1.9
	BDCRB	2.0±7	188±28	94
	TAK-620	>53	60±9	<1.1
	GW275175X	27±8	130±4	4.8
アカゲザルサイトメガロウイルス	ガンシクロビル	22±8	>72	>3.3
	BDCRB	0.4	>250	>625
	TAK-620	48±4.5	227±3.7	4.7
	GW275175X	6.3±0.8	179±14	28

出典：[37]
BDCRB：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、EC_{50}：50%有効濃度、SD：標準偏差、SI：選択指数
(a) 2 件以上のプラーク減少試験から値を算出した。
(b) (定常期ヒト包皮線維芽細胞における細胞傷害性)/(抗ウイルス活性)として SI を算出した。

2.6.2.3 副次的薬理試験

：**添付資料番号 4.2.1.2-1、4.2.1.2-2（参考）**

TAK-620 の、中枢神経系、心血管系、代謝系、消化器系、並びに微生物に対する薬理作用を含む、広範な標的外活性を特定するため、PharmaScreen プロファイリングパネル（[redacted]社）の in vitro 及び in vivo 試験を実施した。In vivo 試験はマウス及びラットを用いた（4.2.1.2-1、2.6.3.3）。

中枢神経系については、in vivo で TAK-620 をマウスに 30、100 若しくは 300 mg/kg の用量で単回経口投与、ラットに 30 mg/kg/日の用量で単回経口投与、又はマウス及びラットにそれぞれ 30 及び 10 mg/kg の用量で単回腹腔内投与し、機能的運動試験及び行動試験を実施した。

心血管系については、in vitro で（TAK-620 濃度：3～30 μg/mL）陽性変力作用／変時作用、α_1、α_2、β_1 アドレナリン受容体の作動作用／拮抗作用、及び P_1 プリン受容体の作動作用／拮抗作用を検討した。In vivo で TAK-620 をマウスに 100 mg/kg の用量で経口投与若しくは腹腔内投与、又は自然発症高血圧ラットに 100 mg/kg の用量で経口投与し、TAK-620 の抗不整脈作用、並びにシアン化カリウム誘発性低酸素症、血圧及び心拍数に対する作用を検討した。

代謝系については、in vitro（TAK-620 濃度：3～30 μg/mL）でモルモットのブラジキニンやサブスタンス P 拮抗作用など、及びウサギの血小板凝集作用などを評価した。In vivo では TAK-620 をマウス及びラットにそれぞれ 100 又は 300 mg/kg 及び 30 又は 100 mg/kg の用量で単回経口投与し、代謝系に対する TAK-620 の影響を評価した。

消化器系については、in vitro ではモルモットの回腸（TAK-620 濃度：3 μg/mL）を用いて試験した。In vivo では、TAK-620 をマウスに 100 mg/kg の用量で経口投与又は 10 mg/kg の用

量で腹腔内投与、ラットに 30 若しくは 100 mg/kg の用量で経口投与又は 10 mg/kg の用量で腹腔内投与し、消化器系に対する TAK-620 の影響を評価した。

最後に、複数の細菌種を用いて（TAK-620 濃度：10 μg/mL）、TAK-620 の微生物増殖阻害試験を実施した。

いずれの試験においても、TAK-620 の著明な薬理作用は認められなかったため、中枢神経系、心血管系、代謝系、消化器系及び微生物に対する TAK-620 の標的外活性は非常に低いことが示された。

また、TAK-620 の自律神経系に対する作用をさらに評価するため、追加の in vitro 試験も実施した。モルモットの回腸を用いて、コリン作動性受容体及びヒスタミン作動性受容体の活性に対する TAK-620 の影響を評価し、ウサギの大動脈を用いて、α アドレナリン受容体活性に対する TAK-620 の直接的な修飾能を評価した（4.2.1.2-2、2.6.3.3）。

単一濃度の TAK-620（10^{-5} M）の存在下及び非存在下で、アセチルコリン及びヒスタミン誘発性のモルモット回腸収縮に対する作用を評価した。アセチルコリンは 3×10^{-10}～3×10^{-6} M の濃度範囲で、ヒスタミンは 3×10^{-11}～3×10^{-6} M の濃度範囲で評価した。また、L-ノルエピネフリン誘発性のウサギ大動脈収縮に対する作用については、TAK-620（10^{-5} M）の存在下及び非存在下で、L-ノルエピネフリンは 10^{-9}、10^{-8}、10^{-7}、10^{-6} 及び 3×10^{-6} M の濃度で評価した。

TAK-620 はモルモット回腸又はウサギ大動脈片の静止時張力に対する作用を示さなかった。TAK-620 はアセチルコリン又はヒスタミン濃度の上昇に伴うモルモット回腸の収縮反応を阻害したが、ノルエピネフリンに対するウサギ大動脈片の収縮反応に対して影響を及ぼさなかった。アセチルコリン及びヒスタミンに対する濃度－反応曲線の右方向への変化はわずかであったが、統計学的に有意であった。TAK-620 の抗コリン作用及び抗ヒスタミン作用が最初に認められる濃度を明らかにするには、より低濃度の TAK-620 で試験を実施する必要があると考えられた。

2.6.2.4 安全性薬理試験

TAK-620 のヒトでの安全性を裏付けるため、一連の in vitro 及び in vivo 安全性薬理試験を実施した。In vivo 試験では、マウス、ラット及びイヌを用い、TAK-620 を経口又は静脈内投与した。別途、中枢神経系に及ぼす影響を評価したマウス及びラットを用いた副次的薬理試験（2.6.2.3）では、腹腔内投与も使用した。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。In vitro 心血管系試験（hERG 試験、4.2.1.3-2）（2.6.3.4）を除き、TAK-620 の安全性薬理試験は 2000 年よりも前（医薬品規制調和国際会議ガイドライン S7 の制定よりも前）に完了したため、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）や現在の標準的試験デザインに準拠しなかった。ただし、試験は結果の統計解析が可能な適切な群構成により実施されたため、全体的な試験パッケージとして適切であると考えられる。

2.6.2.4.1 中枢神経系

2.6.2.4.1.1 In vivo

：**添付資料番号 4.2.1.3-1（参考）**

雄性CD-1マウスにTAK-620を250、500及び1,000 mg/kgの用量で単回経口投与し、TAK-620の急性薬理活性及び行動への影響を検討した（2.6.3.4）。投与前（呼吸数のみ）並びに投与後 30 及び 60 分に、呼吸数、並びに牽引反射、把握反射、協調運動、耳介反射、逃避反応、正向反射、角膜反射及び視覚性置き直し反応などの反射行動を評価した。また、体重、直腸温及びテールピンチ法によって鎮痛作用も評価した。

TAK-620 を単回経口投与したマウスにおいて、250 mg/kg の用量では活動性低下、体温低下、眼瞼痙攣及び呼吸数の変動が認められた。500 mg/kg の用量では失調性歩行、粗大振戦、下痢及び筋緊張低下が認められ、1,000 mg/kg の用量では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。500 mg/kg を超える用量では、牽引反射、協調運動及び正向反射が消失した。無影響量は 250 mg/kg 未満であり、LD_{50} は 500～1,000 mg/kg であった。1,000 mg/kg 投与後の生存時間は 60～250 分であった。250 mg/kg 投与後にみられた変化の回復時間は 240 分超であった。マウスを用いた最長 13 週間までの毒性試験では、300 mg/kg/日以上の用量で投与に関連した症状として、活動性低下、体表温低下及び呼吸不整が認められた。ラット及びサルを用いたそれぞれ最長 26 及び 52 週間までの反復投与毒性試験では、いずれも 400 mg/kg/日までの用量を初回経口投与したとき、マウスと同様の一般状態所見は認められなかった（2.6.6.3）。

副次的薬理試験において、マウスに 30、100 又は 300 mg/kg の用量で単回経口投与、ラットに 30 mg/kg/日の用量で単回経口投与、又はマウス及びラットにそれぞれ 30 及び 10 mg/kg の用量で単回腹腔内投与し、中枢神経系に関する追加の機能的運動及び行動検査を実施した（2.6.2.3）。評価した用量で投与に関連した変化は認められなかった。

2.6.2.4.2 心血管系

2.6.2.4.2.1 In vitro

：**添付資料番号 4.2.1.3-2（参考）**

TAK-620（名目濃度：0、50、155、750 及び 1,500 µg/mL、それぞれの実濃度：0、58.7、188.6、568.5 及び 1,254 µg/mL）のカリウム選択的 I_{Kr}（テール）電流に対する作用を、hERG 遺伝子を安定的に発現させた HEK293 細胞を用いて、ホールセルパッチクランプ法により、GLP 下で実施した in vitro 試験において検討した（2.6.3.4）。評価した濃度で、TAK-620 の作用は認められなかった。

2.6.2.4.2.2 In vivo

：**添付資料番号 4.2.1.3-3（参考）**

麻酔下の閉胸雄性ビーグル犬（3 匹／群）に媒体（クエン酸緩衝液）又は 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し（累計用量 43 mg/kg）、心血管系機能に対する TAK-620 の影響を in vivo で検討した（2.6.3.4）。この試験では、動脈血圧、心拍数及び不整脈発現に対する急性作用についてモニタリングし、迷走神経の電気刺

激及び頸動脈の閉塞で誘発した血行動態反応により、自律神経系機能に対する TAK-620 の影響も評価した。

媒体投与群との比較では、分散分析において有意な心拍数の増加（p=0.02）が TAK-620 投与群に認められたが、事後検定ではいずれの評価時点においても統計学的な有意差は認められなかった。30 mg/kg の用量では心拍数の一過性の増加が認められたが、その後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血圧に 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ず、頸動脈閉塞に対する血圧応答又は迷走神経刺激による心拍数応答を評価した実験では、自律神経系機能に対する重大な影響も認められなかったことから、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。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（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）。なお、臨床 thorough QT 試験において、TAK-620 は 100 又は 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（2.7.2.2.1.6（1））。

2.6.2.4.3 呼吸系

：**添付資料番号 4.2.1.3-3（参考）**

上記の麻酔下閉胸雄性ビーグル犬（3 匹／群）を用いて、呼吸機能に対する TAK-620 の影響を in vivo で評価した（2.6.3.4）。Fleisch 型呼吸流量計に接続した Grass PT-5A 差圧変換器を用いて、呼吸流量を記録した。Grass モデル 7P10 積分器を用いて 1 分間の吸気シグナルを電気的に集積することで分時呼吸量を得た。10 及び 30 mg/kg の用量では、呼吸数（p=0.002）及び呼吸量（p<0.001）が媒体投与群と比較して増加したが、その変化は一過性であった。

2.6.2.4.4 依存性

TAK-620 の依存性の可能性を以下のデータにより評価した。

- ラット、サル及びヒト由来肝細胞を用いた in vitro 代謝試験から、TAK-620 の主要な生体内変換経路は、イソプロピル部分の N-脱アルキル化反応による VP 44469（M4）の生成、それに続くグルクロン酸抱合、TAK-620 の直接的なグルクロン酸抱合による 3 種類の異性体であるグルクロン酸抱合体生成、及び N-グリコシド結合の開裂であることが示された（2.6.4.5.1.1）。ヒトでの主要代謝物は尿中（投与量の 34.0%）及び糞便中（投与量の 7.2%）で認められた VP 44469 である（2.7.2.2.1.3）。
- マウス及びラットを用いた分布試験において、TAK-620 の脳組織への透過は低く（2.6.4.4.1.2）、カニクイザルを用いた 28 日間反復投与毒性試験において、脳、脳脊髄液及び硝子体液中 TAK-620 濃度は対応する血漿中濃度のそれぞれ約 4%～20%、1%～2% 及び 1%未満であった（2.6.4.4.1.2）。
- マウス及び／又はラットを用いた一般的な運動刺激試験、行動抑制試験、5-メトキシ-N,N-ジメチルトリプタミン増強試験、ドーパミン作動性／拮抗性試験及び中枢性／末梢性コリン作動性試験などの in vivo 薬理スクリーニングにおいて、顕著な作用は認められなかった。さらに、ラット摘出組織を用いた in vitro 試験において P_1 プリン作動作用／拮抗作用や α1 又は α2 アドレナリン受容体作動作用／拮抗作用に対する影響は認められなかった（2.6.2.3）。

・マウスを用いた安全性薬理試験において、TAK-620 を単回経口投与したとき、250 mg/kg の用量では活動性低下及び眼瞼痙攣が、500 mg/kg の用量では失調性歩行及び粗大振戦が、500 mg/kg 超の用量では牽引反射、協調運動及び正向反射の消失が生じた（2.6.2.4.1.1）。しかし、ラット及びサルを用いたそれぞれ最長 26 及び 52 週間の反復投与毒性試験において、行動への影響は認められなかった（2.6.6.3）。

・TAK-620 の化学構造について、規制薬物との構造上の関連性を評価した。[redacted] の [redacted] では、規制薬物との関連性は認められなかった。

TAK-620 の作用機序、薬物動態、末梢及び中枢神経系への作用、化学構造、並びに臨床試験における有害事象等の発現状況から、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。

2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験

2.6.2.2.1.5 参照。

2.6.2.6 考察及び結論

TAK-620 は、実験室樹立株 MRC-5 細胞、HEL 細胞及び MRHF 細胞を用いた in vitro 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、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）であり、GCV の 17 倍、FOS の 200 倍以上活性が強いことが示された。TAK-620 は、10 種類の臨床分離株に対しても、強い抗ウイルス活性を示した。また、4 つの gB 遺伝子型、gB1～gB4 を有する異なる CMV 型の間で、TAK-620 EC_{50} に大きな差はないことも明らかになった。

TAK-620 の N-脱アルキル化代謝物である VP 44469 は、TAK-620 よりも非常に弱い抗 CMV 活性を示し、CMV 野生型株 T2211 及び CMV 変異株 T2890 における EC_{50} は、TAK-620 のそれぞれ 100 倍超及び約 12 倍高かった。

TAK-620 を他の抗ウイルス化合物である GW275175X、レテルモビル、FOS 及び CDV と併用して CMV に対する影響を評価したとき、明らかな相乗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。TAK-620 は GCV と併用すると強力な拮抗作用を示したが、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、mTOR 阻害剤との併用は有用な治療法となる可能性が示唆された[7]。

TAK-620 は HIV に対する抗ウイルス活性を示さず、既知の HIV 増殖阻害薬である AZT、ddI、ddC、3TC、141W94、インジナビル及び 1592U89 との併用で CMV に対する拮抗作用を示さなかった。このため、TAK-620 を抗 HIV 薬と併用しても、TAK-620 の CMV に対する効果が負に影響されないと考えられる。

抗ウイルス薬は、その使用により薬剤耐性変異株が高頻度に出現する。GCV/VGCV 及び／又は CDV に対する耐性を付与する UL54 遺伝子にコードされるウイルスポリメラーゼの変異は、TAK-620 の抗 CMV 活性に影響を及ぼさない。TAK-620 に対する薬剤耐性を付与する遺伝子として、主にウイルス UL97 遺伝子の変異及び UL27 遺伝子の代償性変異が特定された。

In vitro で、TAK-620 に対する耐性を付与するアミノ酸変異の大多数が UL97 キナーゼの ATP 結合部位（F342Y、V353A、L397R、T409M、H411L/N/Y）に近接していた。別のアミノ

酸変異（L337M、F342S 及び V356G）が ATP 結合 P ループ又はその近傍に位置しており、D456N、V466G、C480R、P521L 及び Y617del などの数種類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た。これらの変異は、広い範囲の（約 3～200 倍超）TAK-620 耐性を付与していた（表 2.6.2.2-9）。文献報告において、過去の臨床試験で TAK-620 に関する 3 種類の標準的変異として T409M、H411Y 及び C480F が特定されている。近年では、F342Y も TAK-620 耐性（4.5 倍の増加）を示す臨床症例に関与していることが示唆された[11]。

UL27 の生物学的機能は、現時点でまだ解明されていない。In vitro データから、 UL27 のアミノ酸変異（R233S、W362R、A406V と 415 の終止コドンの組合せ、W153R、L193F、A269T、V353E、L426F、E22stop、W362stop、218delC 及び 301-311del）により、TAK-620 に対する感受性は 5 倍未満低下することが示されている[3][6][10][35]。

交差耐性については、in vitro 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 に対する感受性を示した[15][16][17]。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 株又はレテルモビルに対する抵抗性を示す 1 種類の CMV 株に対する活性を有することも示された。さらに、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 交差耐性を付与しなかった[4][5][13]。

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 の抗ウイルス活性に対して負の影響を及ぼさないことが予想された。一方、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、GCV-TAK-620 交差耐性の出現が予想された。しかし、こういった変異株は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も示された[33]。

よりまれな UL97 変異である F342S 及び V356G は、in vitro において CPV 存在下で増殖させた後に認められたもので、GCV、CPV 及び TAK-620 対して耐性を示すが、UL97 自己リン酸化能力を維持しており、細胞培養において正常な細胞変性効果を示した。また、F342S と同じコドンで生じる F342Y は、in vitro で F342S よりも良好な増殖能を示すが、in vivo で低度の TAK-620 耐性を付与した[11]。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[12]。

TAK-620 の添加、又は動物への単回投与により、in vitro 及び in vivo での中枢神経系、心血管系、代謝系、消化器系への薬理作用及び抗菌作用を評価し、本剤の潜在的な有害作用を検討した結果、これらの評価試験項目において、TAK-620 は明確な薬理作用を示さなかった。モルモット回腸を用いた in vitro 試験のデータから、TAK-620 は高濃度（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。マウスを用いた行動試験では、TAK-620 を 250 mg/kg 以上の用量で単回経口投与したとき、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。500 mg/kg より高い用量では、脊髄運動反射が影響を受

け、一般状態所見には中等度の失調性歩行、粗大振戦及び下痢が含まれた。1,000 mg/kg の用量では、あえぎ呼吸及びチアノーゼが先行する死亡が確認された。同様の所見は、ラット及びカニクイザルを用いたそれぞれ最長 26 及び 52 週間の反復投与毒性試験において、いずれも 400 mg/kg/日までの用量を初回経口投与したときには認められなかった。TAK-620 は 1,254 µg/mL までの濃度で in vitro で hERG 電流を阻害しなかった。麻酔下のイヌに TAK-620 を投与したとき、30 mg/kg の用量で心拍数が一過性に増加し、10 及び 30 mg/kg の用量で呼吸数及び呼吸量が一過性に増加したが、平均動脈血圧又は自律神経機能に対して明らかな影響を示さなかった。なお、thorough QT 試験において、健康被験者に TAK-620 を 100 又は 1,200 mg の用量で単回経口投与したとき、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（2.7.2.2.1.6（1））。

2.6.2.7 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] 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.

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

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

[6] 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.

[7] 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.

[8] Alain S, Revest M, Veyer D, Essig M, Rerolles JP, Rawlinson W, et al. Maribavir use in practice for cytomegalovirus infection in French transplantation centers. Transplant Proc. 2013;45(4):1603-7.（添付なし）

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

[10] 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.

[11] 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.

[12] Chou S. Advances in the genotypic diagnosis of cytomegalovirus antiviral drug resistance. Antiviral Res. 2020;176:104711.
[13] 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.
[14] Lurain NS, Chou S. Antiviral drug resistance of human cytomegalovirus. Clin Microbiol Rev. 2010;23(4):689-712.（添付なし）
[15] 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.
[16] 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.
[17] 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.
[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] Prichard MN. Function of human cytomegalovirus UL97 kinase in viral infection and its inhibition by maribavir. Rev Med Virol. 2009;19(4):215-29.
[20] Chou S, Marousek GI. Maribavir antagonizes the antiviral action of ganciclovir on human cytomegalovirus. Antimicrob Agents Chemother. 2006;50(10):3470-2.
[21] Vanarsdall AL, Ryckman BJ, Chase MC, Johnson DC. Human cytomegalovirus glycoproteins gB and gH/gL mediate epithelial cell-cell fusion when expressed either in cis or in trans. J Virol. 2008;82(23):11837-50.（添付なし）
[22] Kinzler ER, Compton T. Characterization of human cytomegalovirus glycoprotein-induced cell-cell fusion. J Virol. 2005;79(12):7827-37.（添付なし）
[23] Foglierini M, Marcandalli J, Perez L. HCMV envelope glycoprotein diversity demystified. front microbiol. 2019;10:1005.（添付なし）
[24] 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.
[25] 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.
[26] Andrei G, Trompet E, Snoeck R. Novel therapeutics for Epstein-Barr virus. Molecules. 2019;24(5):997.（添付なし）
[27] Evers DL, Komazin G, Shin D, Hwang DD, Townsend LB, Drach JC. Interactions among antiviral drugs acting late in the replication cycle of human cytomegalovirus. Antiviral Res. 2002;56(1):61-72.（添付なし）

[28] Drouot E, Piret J, Boivin G. Artesunate demonstrates in vitro synergism with several antiviral agents against human cytomegalovirus. Antivir Ther. 2016;21(6):535-9.（添付なし）

[29] Elion GB, Singer S, Hitchings GH. Antagonists of nucleic acid derivatives. VIII. Synergism in combinations of biochemically related antimetabolites. J Biol Chem. 1954;208(2):477-88.（添付なし）

[30] Wildum S, Zimmermann H, Lischka P. In vitro drug combination studies of Letermovir (AIC246, MK-8228) with approved anti-human cytomegalovirus (HCMV) and anti-HIV compounds in inhibition of HCMV and HIV replication. Antimicrob Agents Chemother. 2015;59(6):3140-8.（添付なし）

[31] Dornsife RE, St Clair MH, Huang AT, Panella TJ, Koszalka GW, Burns CL, et al. Anti-human immunodeficiency virus synergism by zidovudine (3'-azidothymidine) and didanosine (dideoxyinosine) contrasts with their additive inhibition of normal human marrow progenitor cells. Antimicrob Agents Chemother. 1991;35(2):322-8.（添付なし）

[32] Dornsife RE, Averett DR. In vitro potency of inhibition by antiviral drugs of hematopoietic progenitor colony formation correlates with exposure at hemotoxic levels in human immunodeficiency virus-positive humans. Antimicrob Agents Chemother. 1996;40(2):514-9.（添付なし）

[33] 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.

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

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

[36] Kern ER, Hartline CB, Rybak RJ, Drach JC, Townsend LB, Biron KK, et al. Activities of benzimidazole D- and L-ribonucleosides in animal models of cytomegalovirus infections. Antimicrob Agents Chemother. 2004;48(5):1749-55.

[37] Williams SL, Hartline CB, Kushner NL, Harden EA, Bidanset DJ, Drach JC, et al. In vitro activities of benzimidazole D- and L-ribonucleosides against herpesviruses. Antimicrob Agents Chemother. 2003;47(7):2186-92.（添付なし）

目次

2.6.3 薬理試験概要表 2
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....5
2.6.3.3 副次的薬理試験 13
2.6.3.4 安全性薬理試験 14
2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験.... 15

表

表 2.6.3.1-1 薬理試験：一覧表....2
表 2.6.3.2-1 効力を裏付ける試験....5
表 2.6.3.3-1 副次的薬理試験 13
表 2.6.3.4-1 安全性薬理試験 14

2.6.3 薬理試験概要表

2.6.3.1 薬理試験：一覧表

表 2.6.3.1-1　薬理試験：一覧表

Test Article: maribavir

試験の種類	動物種／系統	投与経路／方法	実施施設	GLP 適用 [a]	添付資料番号	区分
Primary Pharmacodynamics						
Effect of maribavir on the synthesis and maturation of HCMV DNA	Human lung fibroblasts (MRC-5 cells) infected with HCMV laboratory strain AD169	In vitro (72-hr yield reduction assay and concatemer processing inhibition)	[redacted], US	Non-GLP	4.2.1.1-1	参考
		In vitro (DNA hybridization assay)	[redacted]	Non-GLP	4.2.1.1-2	参考
		In vitro	[redacted], US	Non-GLP	4.2.1.1-3	参考
Target screening of maribavir against UL97	Histone kinase screen	In vitro	[redacted]	Non-GLP	4.2.1.1-4	参考
Anti-HCMV activity of maribavir	HCMV laboratory strain AD169 and clinical isolates in MRC-5 lung fibroblasts, and HCMV laboratory strain AD169 in HEL[b] cells and MRHF human foreskin cells	In vitro (DNA hybridization, plaque reduction, and yield reduction assays)	[redacted]	Non-GLP	4.2.1.1-5	参考
	Human lung fibroblasts (MRC-5 cells) infected with HCMV clinical isolates or laboratory strains AD169 or Towne	In vitro (DNA hybridization, yield reduction, and plaque reduction assays)	[redacted]	Non-GLP	4.2.1.1-6	参考
Activity of maribavir against HCMV gB subtypes	Human diploid fibroblasts (foreskin or embryonic lung)	In vitro (plaque reduction assay)	[redacted]	Non-GLP	4.2.1.1-7	参考
Anti-HCMV activity of both maribavir and its metabolite VP 44469	Human lung fibroblasts (HEL cells) infected with HCMV laboratory strains T2211 and T2890 (derived from AD169)	In vitro (yield reduction assay)	[redacted]	Non-GLP	4.2.1.1-8	参考
Antiviral selectivity of maribavir	Madin-Darby bovine kidney, Vero cells, HEp-2 cells, MRC-5 cells and, MA104 cells	In vitro (virus cytopathic assay, ELISA, and plaque reduction assays)	[redacted], US	Non-GLP	4.2.1.1-9	参考

表 2.6.3.1-1　薬理試験：一覧表（続き）

Test Article: maribavir

試験の種類	動物種／系統	投与経路／方法	実施施設	GLP 適用 [a]	添付資料番号	区分
	HepG2 cells for HBV, MT4 cells for HIV, MRC-5 cells for VZV, Vero cells for simian virus 40	In vitro (DNA fluorescence assay, PCR, or hybrid capture detection)	[redacted], US	Non-GLP	4.2.1.1-10	参考
Antiviral activity of maribavir alone and in combination with other antiviral compounds	ARPEp cells infected with HCMV strains T4190, T4198, T4200, UL54(pol) 981del2, UL56 V236M, UL89 D344E, UL97 T409M, and UL97 H411Y (15,000 cells/well)	In vitro	[redacted], US	Non-GLP	4.2.1.1-11	参考
	MRC-5 cells	In vitro (DNA hybridization assay)	[redacted]	Non-GLP	4.2.1.1-12	参考
		In vitro (DNA hybridization assay)	[redacted], US	Non-GLP	4.2.1.1-13	参考
		In vitro (DNA hybridization assay)	[redacted], US	Non-GLP	4.2.1.1-14	参考
Anti-HIV activity of maribavir alone and in combination with known inhibitors of HIV replication	MT4 cells infected with HIV-1 (Strain IIIB)	In vitro	[redacted], US	Non-GLP	4.2.1.1-15	参考
Effect of maribavir on the anti-HIV activity of HIV drugs	MT4 cells infected with HIV-1 (Strain IIIB)	In vitro	[redacted], US	Non-GLP	4.2.1.1-16	参考
Cytotoxicity potential	Human marrow progenitor cells	In vitro	[redacted], US	Non-GLP	4.2.1.1-17	参考
		In vitro	[redacted], US	Non-GLP	4.2.1.1-18	参考
	Human marrow progenitor cells, MOLT-4, IM9, CEM, and CEM-CD4 cells	In vitro	[redacted], US	Non-GLP	4.2.1.1-19	参考
		In vitro	[redacted], US	Non-GLP	4.2.1.1-20	参考
Anti-HCMV activity of maribavir against GCV-resistant HCMV strains	GCV-resistant, UL97-altered, DNA polymerase, or UL89 terminase mutant HCMV strains	In vitro (DNA hybridization)	[redacted], US	Non-GLP	4.2.1.1-21	参考

表 2.6.3.1-1　薬理試験：一覧表（続き）

Test Article: maribavir

試験の種類	動物種／系統	投与経路／方法	実施施設	GLP 適用 [a]	添付資料番号	区分
Secondary Pharmacodynamics						
Effects on the CNS, CV system, and GI system, as well as effects on metabolic, inflammation and allergy, and microbiological activity	Rat, guinea pig, and rabbit tissues; bacterial cells	In vitro	[redacted], US	Non-GLP	4.2.1.2-1	参考
	Mice and rats	PO or IP				
Effects of maribavir on contractile response	Guinea pig ileum, rabbit aortic strips	In vitro	[redacted], US	Non-GLP	4.2.1.2-2	参考
Safety Pharmacology						
Central Nervous System						
Effects of maribavir on motor and behavioral endpoints	CD-1 mice	PO	[redacted] US	Non-GLP	4.2.1.3-1	参考
Cardiovascular						
Effects of maribavir on the hERG potassium channel	HEK293 cells	In vitro	[redacted], CA	GLP	4.2.1.3-2	参考
Effects of maribavir on blood pressure, heart rate, and heart arrythmias	Beagle dogs	IV	[redacted], US	Non-GLP	4.2.1.3-3	参考
Respiratory						
Effects of maribavir on respiratory rate and minute volume	Beagle dogs	IV	[redacted], US	Non-GLP	4.2.1.3-3	参考
Pharmacodynamic Drug Interactions						
No studies						

ARPEp cells=human retinal pigment epithelial cell line expressing platelet-derived growth factor alpha receptor CEM=human T lymphoblastoid cell line; CEM-CD4=T lymphoblast leukemic cell line expressing high CD4 (cluster of differentiation 4); CNS=central nervous system; CV=cardiovascular; DNA=deoxyribonucleic acid; ELISA=enzyme-linked immunosorbent assay; gB=glucoprotein B; GCV=ganciclovir; GI=gastrointestinal; GLP=Good Laboratory Practice; [redacted]; HBV=hepatitis B virus; HCMV=human cytomegalovirus; HEK=human embryonic kidney; HEL=human embryonic lung; HEp-2=hepatocyte carcinoma cell line; HepG2=human liver cancer cell line; hERG=human ether-à-go-go-related gene; HIV=human immunodeficiency virus; IM9=human B-cell leukemia line; IP=intraperitoneal(ly); IV=intravenous(ly); MA104=non-human primate cell line; MOLT-4=human acute T lymphoblastic leukemia cell line; MRC-5=human lung fibroblast cell line; MRHF=human foreskin fibroblast cell line; MT4=human T-cell lymphotropic virus type 1-transformed cell line; PCR=polymerase chain reaction; PO=oral(ly); Vero=non-human primate kidney epithelial cells; VZV=varicella zoster virus

[a] Indicates study includes a GLP compliance statement.

[b] Cell type understood to be incorrectly denoted as human embryonic kidney cells in the study report.

2.6.3.2 効力を裏付ける試験

表 2.6.3.2-1　効力を裏付ける試験

Test Article: maribavir

Study Type	Test System	Method of Administration	Concentration/ Dose	Noteworthy Findings	添付資料番号	区分
Mechanism of action	MRC-5 cells infected with HCMV laboratory Strain AD169	In vitro (72-hr yield reduction assay and concatemer processing inhibition)	Maribavir: 0 to 0.5 µM; GCV: 5 µM	Maribavir inhibits the replication of HCMV by inhibiting viral DNA synthesis without inhibiting viral DNA concatemer maturation. EC_{50} values for the concatemer maturation inhibition assay: maribavir=27 µM; GCV>25 µM; 1038U90 (a known inhibitor of human cytomegalovirus) =0.08 µM; phosphonoformate>500 µM EC_{50} values for the 72-hr yield reduction assay: maribavir=0.1 µM; GCV=0.4 µM; 1038U90=0.03 µM; phosphonoformate=30 µM	4.2.1.1-1	参考
Mechanism of action	MRC-5 cells infected with HCMV laboratory Strain AD169	In vitro (DNA hybridization assay)	Maribavir: 1, 5, or 100 µM; Maribavir monophosphate or maribavir triphosphate: 100 µM; GCV: 1 µM; BDCRB: 1.5 µM	Inhibition (HCMV DNA <200 ng) by maribavir, GCV, and BDCRB for up to 48 hr PI; inhibition by maribavir and GCV continued for up to 96 hr PI. In comparison HCMV DNA levels rose to 1000 ng with BDCRB and the infection control. High inhibition (HCMV replication centers present in <20 nuclei) when maribavir was added at 0 and 24 hr PI; moderate inhibition (HCMV replication centers present in ~40 nuclei) when maribavir was added at 40 hr PI; no inhibition (HCMV replication centers peaking in 80 nuclei) for control. No increase in percentage control activity of deoxyribose nucleotide triphosphate were observed at 100 µM maribavir and its phosphate derivates.	4.2.1.1-2	参考

表 2.6.3.2-1　効力を裏付ける試験（続き）

Test Article: maribavir

Study Type	Test System	Method of Administration	Concentration/ Dose	Noteworthy Findings	添付資料番号	区分
Mechanism of action	MRC-5 cells infected with HCMV laboratory Strain AD169	In vitro	100 μM	Maribavir nor its 5′ phosphorylated derivatives, inhibited HCMV DNA polymerase. At a concentration of 100 μM, maribavir and its 5'-triphosphate derivative failed to inhibit human DNA polymerase delta, while the 5'-monophosphate derivative inhibited this enzyme by approximately 55%.	4.2.1.1-3	参考
Mechanism of action	Not reported	In vitro incubation	Not reported	Two main categories of inhibitors, oxindoles-CDK2 inhibitors and benzimidazoles, potently inhibited UL97 (a serine protein kinase from HCMV) with low nanomolar IC_{50} values.	4.2.1.1-4	参考
Activity of maribavir against HCMV	Human diploid fibroblasts (MRC-5 lung, embryonic lung[a], and foreskin) infected with HCMV clinical isolates or laboratory Strain AD169	In vitro (DNA hybridization, single cycle yield reduction, and plaque reduction assays)	Maribavir: 0.001 to 50 μM; GCV: 0.6 to 25 μM; Foscarnet: 20 to 240 μM	Maribavir inhibited clinical isolates of HCMV with a mean EC_{50} of 0.08 μM as measured by DNA hybridization assay in MRC-5 lung fibroblast cells (GCV EC_{50}=0.59 μM). In the DNA hybridization assay, maribavir was active against CMV laboratory Strain AD169 in 3 human diploid fibroblasts: MRC-5 lung, embryonic lung, and foreskin (EC_{50}=0.03 μM to 0.2 μM; GCV EC_{50}=0.15 μM to 0.5 μM). Plaque reduction EC_{50} values for maribavir against HCMV Strain AD169 in MRC-5 cells ranged from 0.22 μM to 2.2 μM (GCV EC_{50}=5.3 μM). Maribavir inhibited the single cycle yield of infectious AD169 in MRC-5 cells with an EC_{50} of 0.16 μM (GCV EC_{50}=0.9 μM and foscarnet EC_{50}=42 μM).	4.2.1.1-5	参考
Activity of maribavir against HCMV	Human diploid fibroblasts (MRC-5 lung) infected with HCMV clinical isolates or laboratory strains AD169 or Towne	In vitro (DNA hybridization, yield reduction, and plaque reduction assays)	Not reported	Maribavir inhibited clinical isolates of HCMV with a mean EC_{50} of 0.31 μM (range 0.12 μM to 0.56 μM) as measured by plaque reduction assay (GCV EC_{50}=3.9 μM). In the DNA hybridization assay, maribavir was active against HCMV laboratory Strain AD169 (mean EC_{50}=0.1 μM; GCV EC_{50}=0.53 μM). The yield reduction IC_{90} value for maribavir against HCMV Strain Towne was 0.6 μM (GCV IC_{90}=1.3 μM).	4.2.1.1-6	参考

表 2.6.3.2-1　効力を裏付ける試験（続き）

Test Article: maribavir

Study Type	Test System	Method of Administration	Concentration/ Dose	Noteworthy Findings	添付資料番号	区分
Activity of maribavir against HCMV gB subtypes	Human diploid fibroblasts (foreskin or embryonic lung)	In vitro (plaque reduction assay)	Known sensitive strains: 0.125 to 2.0 µM; Known resistant strains: 2.0 to 32 µM, or 4.0 to 64 µM	Mean EC_{50} values of each gB type fell within the mean of all EC_{50} values, indicating no clear differences by gB type: EC_{50} values were 0.28 to 0.38 µM for subtype gB1, 0.51 µM for subtype gB2, 0.34 to 0.45 µM for subtype gB3, and 0.35 µM for subtype gB4.	4.2.1.1-7	参考
Comparative activity of maribavir and its metabolite VP 44469 against HCMV	Human diploid fibroblasts (HEL) infected with HCMV laboratory strains T2211 and T2890 (derived from AD169)	In vitro (yield reduction assay)	Maribavir: up to 0.4 µM against Strain T2211 and up to 4 µM against Strain T2890; VP 44469: up to 32 µM against both strains	Various lots of maribavir powder did not differ in potency against T2211 (wild type) and T2890 (moderately maribavir resistant; UL97 mutation, V353A) CMV strains. The maribavir metabolite, VP 44469 had measurable but much weaker anti-CMV activity than maribavir. The IC_{50} of VP44469 (8.9 µM) is over 100 times higher than maribavir (0.076 µM) for Strain T2211 and about 12 times higher for VP 44469 (11.5 µM) than maribavir (0.93 µM) for strain T2890.	4.2.1.1-8	参考
Antiviral specificity of maribavir	MDBK cells, Vero cells, HEp-2 cells, MRC-5 cells, MA104 cells	In vitro incubation	Plaque reduction assay: 0 to 30 µM Compound susceptibility testing and cytopathic effect assay: 0 to 50 µM	The EC_{50} of maribavir against several RNA and DNA viruses (bovine viral diarrhea virus, respiratory syncytial virus, lymphocytic choriomeningitis virus, herpes simplex virus 1, vaccinia virus, tacaribe virus, rotavirus, or severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus) was >50 µM. This is >700-fold higher than the EC_{50} for maribavir against HCMV (Strain AD169), in MRC-5 cells. Thus, maribavir displays excellent antiviral specificity.	4.2.1.1-9	参考

表 2.6.3.2-1　効力を裏付ける試験（続き）

Test Article: maribavir

Study Type	Test System	Method of Administration	Concentration/ Dose	Noteworthy Findings	添付資料番号	区分
Antiviral specificity of maribavir	HepG2 cells, MT4 cells, MRC-5 cells, Vero cells	In vitro incubation	10 to 200 µM	Maribavir did not demonstrate selective antiviral activity against HBV, HIV, VZV, or SV40. Maribavir did not inhibit the production of extracellular HBV at 10 µM, but inhibited both extracellular virus production and cell growth at 100 µM. At 200 µM, maribavir did not inhibit intracellular growth of HIV. The EC_{50} of maribavir against VZV was >50 µM, which was cytotoxic to MRC-5 cells. Maribavir also inhibited the growth of SV40 at 62.5 µM and 125 µM and was cytotoxic to Vero cells at 125 µM. Maribavir inhibition of the growth of HBV, HIV, and SV40 at concentrations >500-fold and of VZV at a concentration >450-fold its EC_{50} for HCMV.	4.2.1.1-10	参考
Anti-HCMV activity of maribavir alone and in combination with other antivirals	ARPEp cells infected with wild type and mutant HCMV strains: UL97 mutant T409M UL97 mutant H411Y UL56 mutant V236M UL89 mutant D344E UL54 mutant 981-2del	In vitro incubation (yield reduction assays)	Maribavir: 0.6 to 48 µM in combination with GW275175X: 4 or 40 µM Letermovir: 0.012 or 0.4 µM Foscarnet: 200 or 400 µM Cidofovir: 1 or 3 µM	When tested in combination with the other antiviral compounds GW275175X, letermovir, foscarnet, and cidofovir against wild type and mutant HCMV, no clear synergy or antagonism was demonstrated. Maribavir was active against a clinically relevant letermovir resistant HCMV strain (UL56 mutation V236M) with an EC_{50} of 0.12 µM against both WT and UL56 mutant virus, compared to letermovir with EC_{50} values of 2.2 µM and 103 µM against WT and UL56 mutant viral strains, respectively, with no evidence of cross resistance[b].	4.2.1.1-11	参考

表 2.6.3.2-1　効力を裏付ける試験（続き）

Test Article: maribavir

Study Type	Test System	Method of Administration	Concentration/ Dose	Noteworthy Findings	添付資料番号	区分
Anti-HCMV activity of maribavir alone and in combination with other antivirals	Human diploid fibroblasts (MRC-5 lung) infected with HCMV laboratory Strain AD169	In vitro (DNA hybridization assay)	Not reported	Maribavir and GCV were shown to be additive using the Elion, Singer and Hitchings model: slope of isobologram -1.05±0.075 with intercept of 0.99±0.05.	4.2.1.1-12	参考
Anti-HCMV activity of maribavir alone and in combination with other antivirals	Human diploid fibroblasts (MRC-5 lung) infected with HCMV laboratory Strain AD169	In vitro (DNA hybridization assay)	Maribavir: 0 to 2 µM Acyclovir: 0 to 500 µM GCV: 0 to 5 µM Foscarnet: 0 to 100 µM Cidofovir: 0 to 2 µM	Maribavir combined with GCV, acyclovir, foscarnet, or cidofovir inhibited HCMV with EC_{50} values of 0.7, 40, 14, and 0.11 µM, respectively, and with D values of -0.02, -0.094, -0.11, and -0.46, respectively. The interaction of maribavir with GCV, acyclovir, and foscarnet was in each case additive, and the combination of maribavir with cidofovir was synergistic, as indicated by the D value approaching -0.5.	4.2.1.1-13	参考
Anti-HCMV activity of maribavir alone and in combination with anti-HIV compounds	Human diploid fibroblasts (MRC-5 lung) infected with HCMV laboratory Strain AD169	In vitro (DNA hybridization assay)	Maribavir: 0 to 2 µM AZT: 0 to 200 µM ddI: 0 to 100 µM ddC: 0 to 10 µM 3TC: 0 to 250 µM 141W94: 0 to 100 µM Indinavir: 0 to 10 µM 1592U89: 0 to 300 µM	AZT, indinavir, 1592U89, and 141W94 produced a slight but significant potentiation of the anti-HCMV effect of maribavir. 3TC, ddI and ddC, in combination with maribavir, showed no effect on the anti-HCMV activity of maribavir.	4.2.1.1-14	参考

表 2.6.3.2-1　効力を裏付ける試験（続き）

Test Article: maribavir

Study Type	Test System	Method of Administration	Concentration/ Dose	Noteworthy Findings	添付資料番号	区分
Anti-HIV activity of maribavir alone and in combination with anti-HIV compounds	MT4 cells infected with HIV-1 (Strain IIIB)	In vitro incubation	Cytotoxicity assay: maribavir at 2 to 200 µM Anti-HIV-1 activity assay: maribavir at 0.1 to 10 µM; 141W94 at 0.01 to 1 µM. Drug combination assay: maribavir at 0, 2 or 10 µM in combination with 141W94, indinavir, AZT, ddI, ddC, or 1592U89	Maribavir (32 to 200 µM) caused high levels of cellular toxicity, with the highest cytotoxicity (88.5%) in uninfected MT4 cells. Maribavir (2 to 200 µM) was not an inhibitor of HIV-1 replication. Maribavir (2 µM or 10 µM) did not antagonize or synergize with the anti-HIV effect of 141W94, indinavir, AZT, ddI, ddC, or 1592U89.	4.2.1.1-15	参考
Anti-HIV activity of maribavir alone and in combination with anti-HIV compounds	MT4 cells infected with HIV-1 (Strain IIIB)	In vitro incubation	AZT, ddI, ddC, nevirapine, or 3TC alone or in combination with maribavir at 10 µM	Maribavir (10 µM) did not significantly alter the anti-HIV activity of AZT, ddI, ddC, nevirapine, or 3TC.	4.2.1.1-16	参考

表 2.6.3.2-1　効力を裏付ける試験（続き）

Test Article: maribavir

Study Type	Test System	Method of Administration	Concentration/ Dose	Noteworthy Findings	添付資料番号	区分
Human in vitro marrow progenitor toxicity of maribavir alone and in combination with AZT (GR63367X) versus AZT alone	Human bone marrow progenitor cells, CFU-GM and BFU-E	In vitro incubation	50 to 150 µM 5 or 50 µM with AZT (0.1, 1, 10 µM)	Maribavir did not appear to be toxic to bone marrow progenitor cells. Maribavir in combination with AZT did not increase the inhibition of growth of human marrow progenitor cells versus AZT alone (maribavir+AZT IC_{50} values of 6 µM and 0.4 µM in CFU-GM and BFU-E, respectively versus AZT alone [AZT IC_{50} values of 8 µM and 0.4 µM in CFU-GM and BFU-E, respectively]; maribavir IC_{50} values of 90 µM and 88 µM in CFU-GM and BFU-E, respectively).	4.2.1.1-17	参考
Human in vitro marrow progenitor toxicity assay of maribavir alone and in combination with AZT (GR63367X) versus AZT alone	Human bone marrow progenitor cells, CFU-GM and BFU-E	In vitro incubation	5 or 50 µM with AZT (0.1, 1, 10 µM)	Maribavir in combination with AZT did not significantly affect the inhibition of human marrow progenitors when compared with AZT alone, with IC_{50} values of: Maribavir (5 or 50 µM)+AZT=6 µM and 0.4 µM in CFU-GM and BFU-E, respectively; AZT=8 µM and 0.4 µM in CFU-GM and BFU-E, respectively.	4.2.1.1-18	参考
Human in vitro marrow progenitor cell toxicity of VP 44469 versus AZT	Human bone marrow progenitor cells, CFU-GM and BFU-E	In vitro incubation	Not reported	VP 44469 produced IC_{50} values of 62 µM and 60 µM for CFU-GM and BFU-E, respectively, compared to 7.0 µM and 0.4 µM for AZT.	4.2.1.1-19	参考
Human in vitro cell line cytotoxicity of maribavir	Human leukemic cell lines (Molt-4, IM9, CEM, CEM-CD4)	In vitro	1.5 to 200 µM	Maribavir exhibited relatively moderate levels of growth inhibition with these human leukemic cell lines in vitro. These in vitro cell growth inhibition IC_{50} values were substantially above the IC_{50} values associated with anti-HCMV activity in vitro (35 µM, 43 µM, 44 µM, and 76 µM in Molt-4, IM9, CEM, and CEM-CD4 cell lines, respectively).	4.2.1.1-20	参考

表 2.6.3.2-1　効力を裏付ける試験（続き）

Test Article: maribavir

Study Type	Test System	Method of Administration	Concentration/ Dose	Noteworthy Findings	添付資料番号	区分
Anti-HCMV against virus strains resistant to ganciclovir, acyclovir, cidofovir, or BDCRB	Human diploid fibroblasts (MRC-5 lung) infected with wild-type clinical isolates and ganciclovir resistant clinical isolates	In vitro (DNA hybridization assays)	Not reported	In DNA hybridization assays, maribavir inhibited wild type clinical isolates of HCMV with a mean EC_{50} of 0.08 µM and ganciclovir-resistant clinical isolates with a mean EC_{50} of 0.1 µM (range 0.03 µM to 0.20 µM) compared to ganciclovir with mean EC_{50} values of 0.31 µM and 2.2 µM, respectively.	4.2.1.1-21	参考

3TC=lamivudine; ARPEp cells=human retinal pigment epithelial cell line expressing platelet-derived growth factor alpha receptor; AZT=azidothymidine; BDCRB=2-bromo-5,6-dichloro-1-β-$_D$-ribofuranosyl-1*H*-benzimidazole; BFU-E=burst forming unit-erythroid; CDK2=cyclin dependent kinase 2; CEM=human T lymphoblastoid cell line; CEM-CD4=T lymphoblast leukemic cell line expressing high CD4 (cluster of differentiation 4); CFU-GM=colony-forming units of granulocytes-macrophages; CMV=cytomegalovirus; ddC=dideoxycytidine; ddI=dideoxyinosine didanosine; DNA=deoxyribonucleic acid; D value=additivity value; EC_{50}=50% effective concentration; gB=glucoprotein B; GCV=ganciclovir; HBV=hepatitis B virus; HCMV=human cytomegalovirus; HEL=human embryonic lung; HEp-2=human carcinoma laryngeal epithelial cells; HepG2=human liver cancer cell line; HIV=human immunodeficiency virus; IC_{50}=50% inhibitory concentration; IC_{90}=90% inhibitory concentration; IM9=human B-cell leukemia line; MA104=monkey kidney epithelial cells; MDBK=Madin-Darby bovine kidney cells; MOLT-4=human acute T lymphoblastic leukemia cell line; MRC-5=human lung fibroblast; MT4=human T-cell lymphotropic virus type 1-transformed cell line; PI=post infection; RNA=ribonucleic acid; SV40=simian virus 40; Vero=non-human primate kidney epithelial cells; VZV=varicella zoster virus; WT=wild type

[a] Cell type understood to be incorrectly denoted as human embryonic kidney cells in the study report.

[b] 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.

2.6.3.3 副次的薬理試験

表 2.6.3.3-1　副次的薬理試験

Test Article: maribavir

Study Type	Test System	Method of Administration	Dose/Concentration	Noteworthy Findings	添付資料番号	区分
[redacted] PharmaScreen® evaluation of maribavir	In vivo: mouse, rat In vitro: rat vas deferens and portal mesenteric vein; guinea pig atria and ileum; rabbit platelet rich plasma; microbiological species[a]	In vivo: PO, IP In vitro incubation	PO: 30, 100, or 300 mg/kg IP: 10, 30, or 100 mg/kg In vitro: 3, 10, 30 µg/mL	No significant response was observed at the dose levels and concentrations tested in assays to evaluate central nervous system, cardiovascular, metabolic, GI, and microbiological activity.	4.2.1.2-1	参考
General autonomic effects	Guinea pig ileum, rabbit aortic strips (male)	In vitro	Maribavir 10 µM	No effect on resting tone of guinea pig ileum; maribavir inhibited contractile response of guinea pig ileum to increasing concentrations of acetylcholine or histamine; no effect of maribavir was observed on rabbit aorta contractile response to l-norepinephrine.	4.2.1.2-2	参考

GI=gastrointestinal; IP=intraperitoneal; PO=per os (oral)

[a] Microbiological species evaluated in V9522M-SHP620 (VP 1511) include: methicillin-resistant *Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Mycobacterium ranae, Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella pneumoniae, Proteus vulgaris, Candida albicans, Trichophyton mentagrophytes, Tritrichomonas foetus.*

2.6.3.4 安全性薬理試験

表 2.6.3.4-1　安全性薬理試験

Test Article: maribavir

Organ Systems Evaluated	Test System	Method of Administration	Concentration/ Dose	Sex/Number per Group	GLP Compliance	添付資料番号	区分
CNS	CD-1 mice	PO	Maribavir 250, 500, and 1000 mg/kg	Male/4	Non-GLP	4.2.1.3-1	参考
Noteworthy Findings: At 250 mg/kg, maribavir caused hypoactivity, hypothermia, blepharospasm, and variable changes in respiratory rate; at 500 mg/kg, ataxia, coarse tremors, diarrhea, and muscle tone decrease were observed, while at 1000 mg/kg gasping and cyanosis preceded death. A no-effect dose was not established.							
Cardiovascular	HEK293 cells	In vitro	Maribavir 58.7, 188.6, 568.5, and 1254 µg/mL	Not applicable	GLP	4.2.1.3-2	参考
Cardiovascular	Beagle dogs	IV	0, 3, 10, and 30 mg/kg (cumulative dose of 43 mg/kg)	Male/3	Non-GLP	4.2.1.3-3	参考
Noteworthy Findings: Up to 1254 µg/mL, maribavir did not produce any significant inhibition or variation of the hERG potassium channel in HEK293 cells. Maribavir administered to beagle dogs as 3 ascending bolus IV injections at 3, 10, and 30 mg/kg (43 mg/kg cumulative dose) produced only mild changes in heart rate compared to vehicle with no difference in mean arterial pressure.							
Respiratory	Beagle dogs	IV	0, 3, 10, and 30 mg/kg (cumulative dose of 43 mg/kg)	Male/3	Non-GLP	4.2.1.3-3	参考
Noteworthy Findings: Maribavir administered to beagle dogs as 3 ascending bolus IV injections at 3, 10, and 30 mg/kg (43 mg/kg cumulative dose) produced significant, but transient increases in respiratory rate ($p=0.002$; one-way analysis of variance [ANOVA]) and minute volume ($p<0.001$; ANOVA).							

CNS=central nervous system; GLP=Good Laboratory Practice; HEK=human embryonic kidney; hERG=human ether-à-go-go related gene; IV=intravenous(ly); PO=oral(ly)

2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験

該当する試験は実施していない。