ゾフルーザ顆粒 2%分包

第 2 部 (モジュール 2) : CTD の概要 (サマリー)

2.4 非臨床試験の概括評価

塩野義製薬株式会社

目次

略号及び用語定義一覧表 3
2.4 非臨床試験の概括評価 4
2.4.1 非臨床試験計画概略 4
2.4.2 薬理試験 4
2.4.2.1 効力を裏付ける試験 4
2.4.2.1.1 PA/I38 変異ウイルスの野生株ウイルス共存下における競合増殖性 4
2.4.2.1.2 PA/I201T が PA/I38 変異の増殖性に与える影響 5
2.4.2.1.3 B 型インフルエンザウイルスの PA/T20K が薬剤感受性に与える影響 6
2.4.2.2 副次的薬理試験 6
2.4.2.3 安全性薬理試験 6
2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用 6
2.4.3 薬物動態試験 6
2.4.4 毒性試験 6
2.4.5 総括及び結論 6
2.4.6 参考文献一覧 7

略号及び用語定義一覧表

略号	英語	日本語
CEN	cap-dependent endonuclease	キャップ依存性エンドヌクレアーゼ
EC_{50}	50% effective concentration	50%有効濃度
PA	polymerase acidic protein	ポリメラーゼ酸性タンパク質
PA/I201T	isoleucine-to-threonine substitution at amino acid position 201 in polymerase acidic protein	PA の N 末端から 201 番目に位置するイソロイシンがスレオニンに変異
PA/I38	isoleucine at amino acid position 38 in polymerase acidic protein	PA の N 末端から 38 番目に位置するイソロイシン
PA/I38F	isoleucine-to-phenylalanine substitution at amino acid position 38 in polymerase acidic protein	PA の N 末端から 38 番目に位置するイソロイシンがフェニルアラニンに変異
PA/I38M	isoleucine-to-methionine substitution at amino acid position 38 in polymerase acidic protein	PA の N 末端から 38 番目に位置するイソロイシンがメチオニンに変異
PA/I38T	isoleucine-to-threonine substitution at amino acid position 38 in polymerase acidic protein	PA の N 末端から 38 番目に位置するイソロイシンがスレオニンに変異
PA/T20	threonine at amino acid position 20 in polymerase acidic protein	PA の N 末端から 20 番目に位置するスレオニン
PA/T20K	threonine-to-lysine substitution at amino acid position 20 in polymerase acidic protein	PA の N 末端から 20 番目に位置するスレオニンがリシンに変異
S-033447	active form of baloxavir marboxil	バロキサビル マルボキシル活性体

2.4　非臨床試験の概括評価

2.4.1　非臨床試験計画概略

バロキサビル マルボキシルは，塩野義製薬株式会社で創製され，他の既承認薬と異なる新規作用機序を有する抗インフルエンザウイルス薬である．バロキサビル マルボキシルはプロドラッグであり，体内で代謝 (加水分解) されてバロキサビル マルボキシル活性体 (以下，S-033447) に変換される．この S-033447 が，インフルエンザウイルスに特異的な酵素であるキャップ依存性エンドヌクレアーゼ (cap-dependent endonuclease [CEN]) の活性を選択的に阻害し，ウイルスの転写反応を妨げることで，インフルエンザウイルスの増殖を抑制する．インフルエンザウイルスのポリメラーゼ酸性タンパク質 (PA) が有する CEN 活性中心において，S-033447 と直接的に相互作用する可能性が高いアミノ酸残基の 1 つとして，PA の N 末端から 38 番目に位置するイソロイシン (PA/I38) が考えられている．アミノ酸コドンの変異によって，PA の N 末端から 38 番目に位置するイソロイシンがスレオニンに変異 (PA/I38T) 又はメチオニンに変異 (PA/I38M) したインフルエンザウイルスは，S-033447 に対する感受性の低下を示すが，それらの増殖性は野生型ウイルスに比べ低かった [1.13 項 既承認医薬品に係る資料 (初回申請)，2.7.2.4.2 項，2.7.2.4.2.2 項参照].

薬剤感受性低下ウイルスがその野生型ウイルスとの共存下で，野生型ウイルスと同等又はそれ以上の増殖性を示す場合，実臨床で薬剤感受性低下ウイルスが流行する可能性が考えられることから，PA/I38 変異を有する遺伝子組換えウイルス並びに青少年及び成人患者対象第 3 相臨床試験 (以下，T0831 試験) の患者検体由来の PA/I38 変異ウイルスを用いて，野生型ウイルス共存下における PA/I38 変異ウイルスの競合増殖性を評価した．また，T0831 試験及び小児患者対象の顆粒剤第 3 相臨床試験 (以下，T0833 試験) で認められた PA/I38 変異と同時に検出された PA/I201T (PA の N 末端から 201 番目に位置するイソロイシンがスレオニンに変異) が PA/I38T ウイルス又は PA/I38M ウイルスの増殖性に与える影響も検討した．

今回，ゾフルーザ顆粒 2%の小児患者に対する新用量医薬品に係る製造販売承認申請に際して，効力を裏付ける試験以外の薬理試験，薬物動態試験及び毒性試験は，新たに実施していない．

2.4.2　薬理試験

2.4.2.1　効力を裏付ける試験

2.4.2.1.1　PA/I38 変異ウイルスの野生株ウイルス共存下における競合増殖性

2016/2017 シーズンに実施した小児患者対象の錠剤第 3 相臨床試験 (T0822 試験) で認められた PA/I38T ウイルスや PA/I38M ウイルスの S-033447 に対する感受性及びそれら変異ウイルスの増殖性を，リバースジェネティクス法により作製した遺伝子組換えウイルスを用いて検討した．その結果，PA/I38T ウイルスや PA/I38M ウイルスの S-033447 に対する感受性は，それらの野生型ウイルスと比較して低下した．また，PA/I38T ウイルスや PA/I38M ウイルスの増殖性は，それらの野生型ウイルスと比較して低下した [1.13 項 既承認医薬品に係る資料 (初回申請)，2.7.2.4.2.2 項参照].

今回，野生型ウイルス共存下における PA/I38 変異ウイルスの競合増殖性を評価するため，

リバースジェネティクス法により作製した PA/I38 変異を有する遺伝子組換えウイルス及び患者検体由来の PA/I38 変異ウイルスを用いて検討した.

PA/I38 変異 (PA/I38T，PA の N 末端から 38 番目に位置するイソロイシンがフェニルアラニンに変異 [PA/I38F] 又は PA/I38M) を有する遺伝子組み換えウイルス (rgA/WSN/33-PA/I38T，rgA/WSN/33-PA/I38F，rgA/Victoria/3/75-PA/I38T，rgA/Victoria/3/75-PA/I38M 又は rgB/Maryland/1/59-PA/I38T) とそれぞれの野生型ウイルス (rgA/WSN/33，rgA/Victoria/3/75 又は rgB/Maryland/1/59) を 1:1 で混合し，MDCK 細胞 (イヌ腎臓由来株化細胞) に共感染させ，継代培養を 3 回繰り返した．継代ごとの培養上清に含まれる野生型ウイルスと PA/I38 変異ウイルスの存在比を，サンガーシークエンス法で PA/I38 コドンを含む塩基配列を解析することにより，定性的に評価した結果，今回評価したいずれの PA/I38 変異ウイルスにおいても，継代培養回数に従ってその存在比が低下し，野生型ウイルスが優勢となった [2.6.2.2.1.1 項参照].

臨床分離株における PA/I38T ウイルスの増殖性を検討するため，第 2 相臨床試験 (T0821 試験) で A/H1N1pdm09 型の PA/I38T ウイルスが検出された 2 患者，第 3 相臨床試験 (T0831 試験) で A/H3N2 型の PA/I38T ウイルスが検出された 3 患者，T0831 試験で B 型の PA/I38T ウイルスが検出された 1 患者のバロキサビル マルボキシル投与前検体から分離した野生型ウイルス及びバロキサビル マルボキシル投与後検体から分離した PA/I38T ウイルスを，それぞれヒト鼻腔上皮由来の初代培養細胞に感染させて，経時的に培養上清中のウイルス力価を測定した．その結果，A/H1N1pdm09 型及び B 型患者由来の PA/I38T ウイルスについては野生型と比して有意な増殖性の低下を示し，A/H3N2 型については，1 患者由来の PA/I38T ウイルスは，野生型ウイルスと比較して増殖性の低下を示したが，その他 2 患者由来の PA/I38T ウイルスは，野生型ウイルスと同等の増殖性を示した [2.6.2.2.1.2 項参照].

増殖性を確認した上記の患者検体由来の野生型ウイルスと PA/I38T ウイルスを 1:1 又は 2:8 で混合し，ヒト鼻腔上皮由来の初代培養細胞に共感染させ，継代培養を 3 回繰り返した．継代ごとの培養上清に含まれる PA/I38T ウイルスの存在比率を，次世代シークエンス法で PA/I38 コドンを含む塩基配列を解析することにより，定量的に評価した．その結果，いずれの条件下，いずれの PA/I38T ウイルスにおいても，複数回の継代培養に従ってその存在比率が低下し，野生型ウイルスの割合が増加することが確認された [2.6.2.2.1.3 項参照].

2.4.2.1.2　　PA/I201T が PA/I38 変異の増殖性に与える影響

T0831 試験及び T0833 試験で PA/I38 変異と同時に検出された PA の N 末端から 201 番目に位置するイソロイシンがスレオニンに変異 (PA/I201T) が，PA/I38T ウイルス又は PA/I38M ウイルスの増殖性に与える影響を検討するため，リバースジェネティクス法により，A/H3N2 型の A/Victoria/3/75 ウイルスに，PA/I38T，PA/I38M，又は PA/I201T，並びに PA/I38T と PA/I201T 又は PA/I38M と PA/I201T を導入した遺伝子組換えウイルスを作製し，MDCK 細胞又は RPMI2650 細胞 (ヒト鼻扁平上皮癌由来細胞) に感染させ，経時的に培養上清中のウイルス力価を測定した．その結果，PA/I38T ウイルス及び PA/I38M ウイルスの力価は，野生型ウイルスの力価に比べて低下傾向を示したが，PA/I201T ウイルスの力価は，野生型ウイルスの力価とほぼ同等であった．PA/I201T を導入した PA/I38T ウイルス又は PA/I38M ウイルスの力価は，

PA/I201T を導入していない PA/I38 変異のみを有するウイルスの力価とほぼ同等であった．本試験条件下で評価した PA/I201T は，PA/I38 変異ウイルスの増殖性に影響を与える変異ではないと考えられる [2.6.2.2.2 項参照].

2.4.2.1.3　B 型インフルエンザウイルスの PA/T20K が薬剤感受性に与える影響

本薬と B 型インフルエンザウイルス PA タンパク質の共結晶構造において，本薬と PA の N 末端から 20 番目に位置するスレオニン (PA/T20) は近接していることから, PA/T20 の変異が本薬の標的への結合性に影響し，薬剤感受性の減弱につながる可能性があり，小児患者を対象とした海外第 3 相臨床試験 (CP40559 試験) で PA の N 末端から 20 番目に位置するスレオニンがリシンに変異 (PA/T20K) したウイルスが検出された. PA/T20K ウイルスの本薬に対する感受性を検討するため，リバースジェネティクス法により作成した PA/T20K を導入した遺伝子組み換えウイルスを作製し，MDCK 細胞に感染させ，ウイルス由来核タンパク質を発現する感染細胞数を測定した．その結果，PA/T20K ウイルスの 50%有効濃度 (EC_{50}) は 23.92 nmol/L で，野生型ウイルスの EC_{50} の 6.88 倍であり，本薬に対する薬剤感受性の低下を示した [2.6.2.2.3 項参照].

2.4.2.2　副次的薬理試験

本申請に際して新たな試験は実施していない.

2.4.2.3　安全性薬理試験

本申請に際して新たな試験は実施していない.

2.4.2.4　薬力学的薬物相互作用

本申請に際して新たな試験は実施していない.

2.4.3　薬物動態試験

本申請に際して新たな試験は実施していない.

2.4.4　毒性試験

本申請に際して新たな試験は実施していない

2.4.5　総括及び結論

S-033447 に対する感受性を低下させる PA/I38 変異がウイルスの増殖性に与える影響を検討するため，PA/I38 変異ウイルスの増殖性及びその野生型ウイルスとの競合増殖性を評価した．また，T0831 試験及び T0833 試験で PA/I38 変異と同時に検出された PA/I201T が PA/I38 変異ウイルスの増殖性に与える影響を評価した．その結果，A/H1N1 型，A/H3N2 型又は B 型インフルエンザウイルスに，薬剤感受性を低下させる PA/I38T，PA/I38M 又は PA/I38F を導入した遺伝子組換えウイルスのそれぞれに対応する野生型ウイルスとの競合増殖性は，低いことが明らかとなった．また，T0821 試験の患者の検体から分離した A/H1N1pdm09 型の PA/I38T ウイルス及び

T0831 試験の患者の検体から分離した A/H3N2 型及び B 型の PA/I38T ウイルスには，単一感染下ではその野生型ウイルスと同等の増殖性を示す PA/I38 変異ウイルスも認められたが，このような PA/I38 変異ウイルスでも，それらに対応する野生型ウイルスとの競合増殖性は低いことが明らかとなった．今回評価した野生型ウイルス共存下における PA/I38 変異ウイルスの競合増殖性は，遺伝子組換えウイルス並びに臨床分離株を用いた評価において，いずれも低いと結論した．さらに，今回実施した試験条件下において，PA/I201T は，ウイルスの増殖性を低下させる PA/I38 の変異を相補し，PA/I38 変異ウイルスの増殖性に影響を与える変異ではないと考えられる．CP40559 試験で検出された B 型インフルエンザウイルスの PA/T20K の本薬に対する感受性への影響を検討したところ，野生型ウイルスと比べて 6.88 倍の薬剤感受性低下を示した．本薬と PA/T20 は近接していることから，PA/T20K が本薬の標的への結合性に影響し，薬剤感受性の低下につながった可能性が考えられる．インフルエンザウイルスのアミノ酸配列データベース解析の結果，PA/T20K を有するウイルスは極めて稀であり，流行株において PA/T20K が本薬の有効性に懸念を及ぼす可能性は低いと考えられる．

2.4.6　　参考文献一覧

該当なし．