目次

表一覧
略号及び用語の定義
2.4　非臨床試験の概括評価
2.4.1　非臨床試験計画概略
2.4.1.1　DOR
2.4.1.2　ISL
2.4.1.3　DOR/ISL
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　In vitro 薬理試験（ISL）
2.4.2.1.2　In vitro 薬理試験（DOR/ISL）
2.4.2.1.3　In vivo 薬理試験（ISL）
2.4.2.2　副次的薬理試験（ISL）
2.4.2.3　安全性薬理試験（ISL）
2.4.2.4　薬力学的薬物相互作用試験
2.4.3　薬物動態試験（ISL）
2.4.3.1　分析法とバリデーション報告書
2.4.3.2　吸収
2.4.3.3　分布
2.4.3.3.1　ラットにおける組織分布
2.4.3.3.2　サルにおける組織分布
2.4.3.3.3　ラットにおける胎盤通過性
2.4.3.3.4　In vitro における血漿蛋白質との結合及び血液－血漿分配比
2.4.3.3.5　In vitro における PBMC 中への分布
2.4.3.4　代謝
2.4.3.4.1　In vivo 代謝
2.4.3.4.2　In vitro 代謝
2.4.3.5　排泄
2.4.3.5.1　マウス、ラット、ウサギ及びサルにおける排泄
2.4.3.5.2　ラットにおける乳汁中排泄
2.4.3.6　薬物動態学的薬物相互作用（非臨床）
2.4.3.6.1　ISL の消失に関与する薬物代謝酵素
2.4.3.6.2　ISL の消失に関与するトランスポーター
2.4.3.6.3　M4の消失に関与する薬物トランスポーター
2.4.3.6.4　薬物代謝酵素の阻害
2.4.3.6.5　薬物トランスポーターの阻害
2.4.3.6.6　CYP 酵素の誘導

2.4.4 毒性試験
2.4.4.1 単回投与毒性試験
2.4.4.2 反復投与毒性試験
2.4.4.2.1 マウス
2.4.4.2.2 ラット
2.4.4.2.3 サル
2.4.4.3 遺伝毒性試験
2.4.4.3.1 In vitro
2.4.4.3.2 In vivo
2.4.4.4 がん原性試験
2.4.4.4.1 長期がん原性試験
2.4.4.4.2 短期又は中期がん原性試験
2.4.4.4.3 その他の試験
2.4.4.5 生殖発生毒性試験
2.4.4.5.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験
2.4.4.5.2 胚・胎児発生に関する試験
2.4.4.5.3 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験
2.4.4.5.4 出生児（幼若動物）を用いた追加検討試験
2.4.4.6 局所刺激性試験
2.4.4.7 その他の毒性試験
2.4.4.7.1 抗原性／免疫原性
2.4.4.7.2 免疫毒性
2.4.4.7.3 メカニズム試験
2.4.4.7.4 依存性試験
2.4.4.7.5 代謝物
2.4.4.7.6 不純物
2.4.4.7.7 その他
2.4.5 総括及び結論
2.4.5.1 DOR
2.4.5.2 ISL
2.4.5.3 DOR/ISL
2.4.6 参考文献

表一覧

表 2.4-1　　重要な試験における ISL の全身曝露比

略号及び用語の定義

この表は、略号又は用語の最初の使用となる。

略号／頭字語	定義	
3TC	lamivudine	ラミブジン
ABC	abacavir	アバカビル
ADA	adenosine deaminase	アデノシンデアミナーゼ
ADME	absorption, distribution, metabolism, and excretion	吸収、分布、代謝及び排泄
A/G	albumin/globulin ratio	アルブミン／グロブリン比
ALT	alanine aminotransferase	アラニンアミノトランスフェラーゼ
AME	absorption, metabolism, and excretion	吸収、代謝及び排泄
AST	aspartate aminotransferase	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
ATP	adenosine triphosphate	アデノシン三リン酸
AUC	area under the concentration-time curve	濃度－時間曲線下面積
AUC0-24	area under the concentration-time curve from zero to 24 hours	投与後0～24時間の濃度－時間曲線下面積
AUC0-inf	area under the concentration-time curve from zero to infinity	投与後0から無限大時間まで外挿した濃度－時間曲線下面積
BCRP	breast cancer resistance protein	乳癌耐性蛋白質
BDC	bile duct-cannulated	胆管カニュレートした
BSEP	bile salt export pump	胆汁酸塩排出ポンプ
CC_{50}	half-maximal cytotoxicity concentration	50%細胞毒性濃度
CLp	plasma clearance	血漿クリアランス
Cmax	observed maximum concentration	最高濃度
Cmin	observed minimum concentration	最低濃度
CNT	concentrative nucleoside transporter	濃縮型ヌクレオシドトランスポーター
CNT1	concentrative nucleoside transporter 1	濃縮型ヌクレオシドトランスポーター1
CNT2	concentrative nucleoside transporter 2	濃縮型ヌクレオシドトランスポーター2
CNT3	concentrative nucleoside transporter 3	濃縮型ヌクレオシドトランスポーター3
CT	computed tomography	コンピュータ断層撮影
CYP	cytochrome P450	チトクロム P450
dATP	deoxyadenosine triphosphate	デオキシアデノシン三リン酸
dCK	deoxycytidine kinase	デオキシシチジンキナーゼ
DNA	deoxyribonucleic acid	デオキシリボ核酸
DOR	doravirine (MK-1439)	ドラビリン（MK-1439）
DP	diphosphate	二リン酸
DTG	dolutegravir	ドルテグラビル
EC_{50}	effective concentration at 50% maximal activity	50%作用濃度
EFdA	4´-ethynyl-2-fluoro-2´-deoxyadenosine or ISL	4'-エチニル-2-フルオロ-2'-デオキシアデノシン又はISL
ENT	equilibrative nucleoside transporter	平衡型ヌクレオシドトランスポーター
ENT1	equilibrative nucleoside transporter 1	平衡型ヌクレオシドトランスポー

		ター1
ENT2	equilibrative nucleoside transporter 2	平衡型ヌクレオシドトランスポーター2
FDA	Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
FOB	functional observational battery	機能観察総合評価
FTC	emtricitabine	エムトリシタビン
GD	gestation day	妊娠日数
GFP	green fluorescent protein	緑色蛍光蛋白質
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
HCV	hepatitis C virus	C 型肝炎ウイルス
hERG	human ether-a-go-go related gene	ヒト急速活性型遅延整流カリウムチャネル遺伝子
HIV	human immunodeficiency virus	ヒト免疫不全ウイルス
HIV-1	human immunodeficiency virus type one	ヒト免疫不全ウイルス1型
HIV-2	human immunodeficiency virus type two	ヒト免疫不全ウイルス2型
HRMS	high resolution mass spectrometry	―
IC_{50}	half-maximal inhibitory concentration	50%阻害濃度
ICaL	the L-type $Ca2^{+}$ channel encoded by $hCa_V1.2$ subunits	ヒトカルシウムチャネル1.2サブユニットにコードされる L 型カルシウムイオンチャネル
ICH	International Council for Harmonisation (of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use)	医薬品規制調和国際会議
IKr	the rapidly activating, delayed rectifier cardiac potassium channel current encoded by hKCNH2/hKCNE2	ヒト KCNH2/KCNE2にコードされるヒト急速活性化遅延整流性カリウムイオンチャネル電流
IKs	the slowly activating, delayed rectifier cardiac potassium channel current encoded by hKCNQ1/hKCNE1	ヒト KCNQ1/KCNE1にコードされる緩徐活性化遅延整流性カリウムチャネル電流
INa	the human cardiac Na^{+} channel current encoded by $hNa_v1.5$	ヒトナトリウムチャネル1.5サブユニットで構成されるヒト心臓ナトリウムイオンチャネル電流
ISL	islatravir (MK-8591 or [redacted])	イスラトラビル（MK-8591又は [redacted]）
K_i	inhibitory constant	阻害定数
K_m	Michaelis constant	ミカエリス定数
LC-HRMS	liquid chromatography-high resolution mass spectrometry	液体クロマトグラフィー－高分解能質量分析
LC-MS/MS	liquid chromatography-tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィー－タンデム質量分析
LD	lactation day	授乳日数
LE	Long Evans	―
MATE1	multidrug and toxin extrusion protein 1	多剤・毒素排出輸送体1
MATE2K	multidrug and toxin extrusion protein 2	多剤・毒素排出輸送体2
MP	monophosphate	一リン酸
MRP2	multidrug resistance protein 2	多剤耐性蛋白質2
MRP3	multidrug resistance protein 3	多剤耐性蛋白質3
MRP4	multidrug resistance protein 4	多剤耐性蛋白質4
MTT	thiazolyl blue tetrazolium bromide	チアゾリルブルーテトラゾリウムブロミド

NHS	normal human serum	ヒト正常血清
NK	natural killer	ナチュラルキラー
NNRTI	non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor	非ヌクレオシド系逆転写酵素阻害剤
NRTI	nucleoside/nucleotide reverse transcriptase inhibitor	ヌクレオシド／ヌクレオチド系逆転写酵素阻害剤
NRTTI	nucleoside reverse transcriptase translocation inhibitor	ヌクレオシド系逆転写酵素トランスロケーション阻害剤
OAT1	organic anion transporter 1	有機アニオントランスポーター1
OAT3	organic anion transporter 3	有機アニオントランスポーター3
OATP1B1	organic anion transporting polypeptide 1B1	有機アニオン輸送ポリペプチド 1B1
OATP1B3	organic anion transporting polypeptide 1B3	有機アニオン輸送ポリペプチド 1B3
OCT1	organic cation transporter 1	有機カチオントランスポーター1
OCT2	organic cation transporter 2	有機カチオントランスポーター2
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development	経済協力開発機構
PBMC	peripheral blood mononuclear cell	末梢血単核細胞
PET	positron emission tomography	ポジトロン断層撮影法
P-gp	P-glycoprotein	P 糖蛋白質
PK	pharmacokinetic(s)	薬物動態
PND	postnatal day	生後日数
RHD	recommended human dose	臨床推奨用量
RS	respiratory syncytial	－
SIV	simian immunodeficiency virus	サル免疫不全ウイルス
t1/2	elimination half-life	消失半減期
TAF	tenofovir alafenamide fumarate	テノホビルアラフェナミドフマル酸塩
TDF	tenofovir disoproxil fumarate	テノホビルジソプロキシルフマル酸塩
TK	toxicokinetic(s)	トキシコキネティクス
TP	triphosphate	三リン酸
[redacted]	[redacted]	－
UGT	UDP-glucuronosyltransferase	ウリジン5’-二リン酸グルクロン酸転移酵素
Vdss	volume of distribution at steady state	定常状態分布容積
WH	Wistar Han	－

2.4 非臨床試験の概括評価

2.4.1 非臨床試験計画概略

DOR/ISL［MK-8591A、DOR（MK-1439、100 mg）と ISL（MK-8591又は[redacted]、0.25 mg）の固定用量配合剤］は、成人 HIV-1感染症患者の治療に対する1日1回投与による2剤レジメンとして開発している。両薬物は強力な抗ウイルス活性を示し、重複のない相補的な耐性プロファイル並びに良好な安全性及び忍容性プロファイルを有することから、HIV-1感染症に対する有効な併用療法としての DOR/ISL の製造販売承認申請が支持される。

DOR は NNRTI であり、本邦、米国、欧州、カナダ及び他の国々で HIV-1感染症の治療薬として承認されている。DOR は一般的な NNRTI 耐性関連置換に対する阻害作用を示し、その高い耐性バリア、薬物相互作用の可能性が低いこと並びに良好な有効性、忍容性及び安全性により、他の NNRTI とは異なる。DOR/ISL における DOR の使用を支持する広範な非臨床試験については、DOR の製造販売承認申請資料[eCTD 受付番号310828004、2.4 項、2.6 項及び4 項]に示している。

ISL は、トランスロケーションの阻害、遅延型チェーンターミネーターとしての作用及び誤取込みを含む複数の作用機序を介して HIV-1の複製を阻害する NRTTI である。ISL は内因性のキナーゼを介して薬理活性を有する三リン酸（ISL-TP）に細胞内で変換される。ISL の非臨床プロファイルは、強力な抗ウイルス活性、高い耐性出現に対するバリア、長い半減期及び良好な忍容性を示し、HIV-1感染症患者の治療に用いる DOR/ISL（100 mg/0.25 mg）としての ISL の使用を支持するものである。

DOR/ISL における ISL の使用を支持するために実施した非臨床試験の概要について、本非臨床試験の概括評価に詳細を示す。また、ISL と DOR を併用投与した際の非臨床安全性はラットを用いた1ヵ月間併用経口投与毒性試験において評価した。

2.4.1.1 DOR

DOR の非臨床試験プログラムは、本邦、米国、欧州、カナダ及び他の国々での2018年以降の DOR 単剤の製造販売承認申請を支持するものであった。既承認の DOR で実施した広範な非臨床試験プログラム（DOR の製造販売承認申請資料[eCTD 受付番号310828004、2.4 項、2.6 項及び4 項]を参照）は、DOR/ISL の本承認申請も支持するものである。非臨床での曝露比は、DOR の承認用量 100 mg をヒトに投与した際の全身曝露［AUC0-24（37.8 μM· hr）及び Cmax（2.26 μM）、幾何平均値］に基づいて算出した。DOR/ISL における DOR の用量は DOR 単剤の承認用量と同じであり、DOR 単独又は DOR と ISL を併用投与した際の DOR の曝露量は類似している。DOR は既承認薬であることから、本概括評価では DOR の非臨床試験の詳細については考察せず、ISL との併用により評価した DOR の結果のみを示す。

2.4.1.2　ISL

DOR/ISL における ISL の使用を支持するため、効力を裏付ける試験、副次的薬理試験、安全性薬理試験、ADME 試験及び毒性試験を含む非臨床試験を実施した。

ISL の薬理学的特性を明らかにするため、in vitro 及び in vivo 非臨床試験を実施した。ISL の効力を裏付ける試験として、HIV-1逆転写酵素に対する阻害活性を評価する生化学的試験、HIV-1分離株及び耐性関連変異株に対する抗ウイルス活性を評価する in vitro 試験並びに SIV 感染サルを用いて有効性を評価する in vivo 試験を実施した。副次的薬理試験として、種々のヒト DNA ポリメラーゼに対する ISL-TP の阻害作用、ISL 及び ISL-TP のオフターゲット活性並びに ISL によるミトコンドリア毒性の可能性を in vitro で評価した。循環血中の主要な ISL の代謝物である M4（4′-エチニル-2-フルオロ-2′-デオキシイノシン）についても、抗ウイルス活性及びオフターゲット活性を in vitro で評価した。また ICH S7A 及び S7B に準拠した in vitro 及び in vivo 非臨床安全性薬理試験により重要な器官系（心血管系、呼吸系及び中枢神経系）に対する ISL の影響を評価した。ISL 及び ISL-TP を用いて実施した非臨床薬理試験の一覧を[2.6.3.1 項]に示す。

ISL の ADME に関しては、毒性試験で用いた動物種であるマウス、ラット、ウサギ及びサルで広範に検討した。非臨床動物種及びヒトでの ISL の血漿蛋白質との結合、血液－血漿分配比、代謝及び排泄は、動物とヒトの種間での比較のために評価した。非臨床動物種及びヒトにおいて、ISL は主として ADA を介した M4への代謝と未変化体の腎排泄により消失する。種々の薬物代謝酵素及び薬物トランスポーターに関して臨床薬物相互作用試験でのリスク評価の必要性を判断するため、ISL と M4の基質としての認識性、ISL と M4の阻害作用及び誘導作用を検討する in vitro 試験を実施した。ISL 及び M4を用いて実施した非臨床薬物動態試験の一覧を[2.6.5.1 項]に示す。

ISL のヒトへのリスク評価のため、該当するガイダンスに従った非臨床安全性試験を実施し、HIV-1感染症患者に対する1日1回経口投与治療薬としての DOR との併用が支持された。全ての重要な毒性試験では、臨床適用経路である経口投与が用いられた。ISL の in vitro 及び in vivo 代謝プロファイル並びに良好な PK プロファイルが得られるという観点から、ラット及びサルを毒性評価のためのげっ歯類及び非げっ歯類としてそれぞれ選択した。非臨床安全性試験として、in vitro 及び in vivo 遺伝毒性試験、光毒性評価、マウス（3ヵ月）、ラット（最長6ヵ月）及びサル（最長9ヵ月）を用いた反復経口投与毒性試験、rasH2トランスジェニックマウス（6ヵ月）及びラット（2年）を用いたがん原性試験、ラットを用いた不純物／分解物評価試験（3ヵ月、2試験）、生殖発生毒性試験（ラットを用いた雌雄受胎能試験、ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生毒性試験、ラットを用いた乳汁移行性試験、ラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験、並びに幼若ラットを用いた忍容性試験）並びにラットを用いた歯の発生に関する試験（ISL による歯の所見について小児集団への外挿性をさらに評価するために実施）を含む試験を実施した。ISL の臨床試験において認められたリンパ球数減少の機序を検討するため、追加の in vitro 試験及び in vivo 試験（マウスを用いた ISL-TP 濃度測定のための TK 試験及び10週間イムノフェノタイピング試験）を実施した。労働安全プログラムのためにマウスを用いた局所リンパ

節試験を実施した。また、ラットを用いたISLとDORの1ヵ月間併用経口投与毒性試験を実施した[2.4.1.3 項]。ヒト主要血中代謝物として唯一同定されたM4は、マウス、ラット、ウサギ及びサルにおいても主要血中代謝物であり、薬理活性及びオフターゲット活性を示さず、マウス、ラット及びサルを用いた反復投与毒性試験、ラット及びウサギを用いた生殖発生毒性試験並びにトランスジェニックマウス及びラットを用いたがん原性試験おいて、十分な曝露を示した[2.6.6.8.5 項]。ヒトに対する非臨床試験での M4曝露比を[2.6.6.8.5 項]に示す。また非臨床毒性試験の概要を[2.6.7.1 項]に示す。ISL の活性体である ISL-TP の薬理学的標的は HIV-1逆転写酵素であり、動物又はヒトには存在しない外因性標的である。ISL-MP、ISL-DP 及び ISL-TP の生成を非臨床動物種及びヒトで確認するため、ISL を用いた in vitro 試験でこれらの同化物に関し、マウス、サル及びヒト PBMC 中濃度を測定した。また、マウス、ラット及びサルを用いた種々の反復経口投与毒性試験においてもこれらの PBMC 中濃度を測定した。

動物での投与頻度（1日1回：マウス、ラット及びウサギ、3日に1回：サル）は、臨床用量での ISL 曝露量を超えるよう選択した。ISL RHD 0.25 mg/日に対する非臨床試験での AUC 曝露比[表 2.4-1]に示す。曝露比の算出には、第I相、第II相及び第III相試験データを用いた母集団薬物動態解析に基づく ISL の定常状態における全身曝露量（AUC0-24 0.0314 μM· hr 及び Cmax 0.00345 μM、幾何平均値）を用いた。

重要な毒性試験は GLP（米国連邦規則集第21巻58条）及び／又は OECD データ相互受入れ制度の加盟国における OECD-GLP 原則に準拠して実施した。全ての GLP 適用試験の報告書は GLP 遵守の陳述書を含む。

ICH Q3A(R2)及び ICH Q3B(R2)ガイドラインに従い、ISL 原薬不純物及び分解生成物を3ヵ月以上の反復投与毒性試験で用いた ISL ロットで評価した。また、ISL の潜在的及び実際の不純物について、ICH M7ガイドラインに従って変異原性の評価を行い、その結果を[3.2.S.3.2 項]（原薬）及び[3.2.P.5.5 項]（製剤）に示す。290～700 nm におけるモル吸光係数が1,000 L $mol^{-1}cm^{-1}$未満であったことから、ISL が光毒性を有する可能性は低いと考えられた。

以上より、ISL の非臨床プロファイルは、HIV-1感染症患者の治療に用いる DOR/ISL としての ISL（0.25 mg、1日1回）の使用を支持するものである。

2.4.1.3　DOR/ISL

DOR 及び ISL は、既存の治療法と比較して HIV-1に対し高い抗ウイルス活性を示し、広範な変異に対しても抗ウイルス活性を有する HIV-1逆転写酵素の特異的な阻害薬である。DOR/ISL では2つの有効成分を含有する固定用量配合剤として開発しているため、併用による in vitro での拮抗的、相加的若しくは相乗的な抗ウイルス活性又は細胞毒性の可能性及び ISL と DOR を併用投与した際の in vivo における相加的若しくは相乗的な毒性又は TK の相互作用の可能性を評価する試験を実施した。

GFP レポーター遺伝子導入 MT4（MT4-GFP）細胞を用いたウイルス複製法による評価の結果、DOR と ISL の併用による抗ウイルス活性に対する拮抗作用は認められなかった。また、in vitro 耐性選択試験における DOR と ISL の併用では、各薬物と比較して耐性出現に対するバリアの低下又は耐性発現経路の顕著な変化は認められなかった。ISL 耐性関連変異株に対する DOR の抗ウイルス活性についても評価した。DOR と ISL を併用投与した安全性薬理試験は実施しなかった。DOR と ISL の併用により実施した非臨床薬理試験の概要を[2.4.2.1.2 項]に示す。

DOR（AUC 曝露比は4.2倍）及び ISL（AUC 曝露比は104倍）を、ラットを用いた1ヵ月間併用経口投与毒性試験において評価した。DOR 及び ISL の非臨床安全性試験プログラムにおいて重複した毒性が認められなかったことと一貫して、本試験においても DOR と ISL を併用投与した際に相加的又は相乗的な毒性、又は TK の相互作用は認められなかった。

2.4.2　薬理試験

ISL の薬理作用を検討する in vitro 及び in vivo 非臨床試験を実施した。作用機序、抗ウイルス活性、耐性プロファイル及び選択性を評価するため、ISL の薬力学的作用を in vitro で検討した。循環血中の主要な代謝物（M4）の抗ウイルス活性についても in vitro で評価した。また、DOR と ISL の併用時の評価を抗ウイルスアッセイ及び耐性選択試験で実施した。ISL を用いた in vivo 試験では、ウイルス感染非ヒト霊長類モデルを用いた抗ウイルス作用を評価した。さらに、in vitro 及び in vivo 非臨床安全性薬理試験により重要な器官系に対する ISL の潜在的影響を評価した。

これらの試験の詳細は[2.6.2 項]、[2.6.3.1 項]及び[2.6.3.4 項]に記載する。

全体として、一連の非臨床薬理試験及び安全性薬理試験により ISL は網羅的に評価された。これらの試験結果は提唱している ISL の作用機序と一致するものであり、意味のあるオフターゲット活性は認められなかった。

2.4.2.1　効力を裏付ける試験

2.4.2.1.1　In vitro 薬理試験（ISL）

ISL は、内因性のキナーゼを介して薬理活性を有する三リン酸（ISL-TP）に細胞内でリン酸化されるデオキシアデノシンアナログである。ISL-TP は in vitro で HIV-1逆転写酵素の活性を強力かつ特異的に阻害する。ISL は、プライマー／鋳型に沿った逆転写酵素のトランスロケーションの阻害、遅延型チェーンターミネーターとしての作用及び誤取込みを含む複数の異なる機序により逆転写酵素を阻害する NRTTI である。

ISL は MT4細胞株における野生型 HIV-1（H9IIIB）の複製を強力に阻害した。また、ISL の血漿蛋白質結合率は低く、1%～100%の濃度の NHS 存在下で ISL の抗ウイルス活性への影響は僅かであった。初代培養 PBMC 及び単球由来マクロファージにおいても ISL は強力な抗ウイルス活性を示し、IC_{50}は1 nM 未満であった。

ISL は11種類の異なる HIV-1サブタイプ臨床分離株に対して同程度の抗ウイルス活性を示し、対照ウイルス株（IC_{50} = 6.0 nM）と比較した時の IC_{50}は同程度であった。ISL は HIV-1株と比較して HIV-2株のパネルに対して平均で4.8倍高い抗ウイルス活性（HIV-1株及び HIV-2株の EC_{50}はそれぞれ2.0～3.8 nM 及び0.25～0.76 nM）を示した。

ヒト PBMC への ISL の取込み及び PBMC 中での活性体である ISL-TP への同化を、IC_{50}値の1/9～9倍の濃度範囲で評価し、既承認の NRTI（3TC、FTC 及び TDF）の結果と比較した。ISL、3TC、FTC 及び TDF は各薬物の IC_{50}付近の濃度で、PBMC 中で MP、DP 及び TP へと効率的にリン酸化された。薬理学的活性体である ISL-TP の抗ウイルス活性を示すのに必要な細胞内濃度（0.00974 ± 0.00406 pmol/10^6 cell）は、検討した他のヌクレオシド（ヌクレオチド）阻害薬の活性体の濃度（0.0276～0.869 pmol/10^6 cell）の2倍超低い濃度であった。

耐性関連置換に対して活性を示す範囲を検討するため、94種類の NRTI 耐性関連臨床分離株パネルに対する ISL の抗ウイルス活性を評価した。ISL は大部分の変異株に対して阻害作用を示した。数種類の変異株でのみ、ISL の抗ウイルス活性が中等度に低下した。NRTI 耐性関連置換のうち、M184I 及び M184V を有する変異株では ISL の抗ウイルス活性がそれぞれ3.9倍及び5倍に低下した。主要な NRTI 耐性関連置換である K65R、Q151M 又は L74V により ISL の抗ウイルス活性は増強し、これらの置換が M184置換を有する場合は M184I 及び M184V と比較して ISL の抗ウイルス活性が増強した。

NRTI 耐性関連置換に加えて、他のクラスの抗レトロウイルス薬の耐性関連置換を有するウイルスに対しても ISL は活性を示す。DOR の第III相臨床試験において治験実施計画書で規定したウイルス学的失敗例から検出された変異株を含む、31種類の NNRTI 耐性関連置換を有する HIV-1変異株パネルに対する ISL の抗ウイルス活性を評価した。ISL は、単一コドンの NNRTI 耐性関連置換を有する全ての HIV-1変異株に対し in vitro で強力な抗ウイルス活性を示した。DOR の抗ウイルス活性を著しく低下させる F227置換を有する変異株の大部分は ISL に高い感受性を示し、ISL が DOR に対する相補的な耐性プロファイルを有することが示された。NNRTI 耐性関連置換を有する変異株のうち、M184V を有する変異株のみで ISL の抗ウイルス活性が2倍超に低下した。100%NHS 存在下の MT4-GFP 細胞において、ISL は主要なインテグラーゼ阻害剤関連置換である E92Q、Y143R、Q148K、Q148R、N155H 及び G140S/Q148H を有する HIV-1変異株に対しても抗ウイルス活性を維持した。したがって、NNRTI 又はインテグラーゼ阻害剤に分類される抗レトロウイルス薬の間で交差耐性は予想されない。

ISL は逆転写酵素阻害剤に関連する置換に対して強力な抗ウイルス活性を示すことから、ISL の耐性発現経路を同定するため、in vitro 耐性選択試験を実施した。HIV-1サブタイプ A、B 及び C の野生型ウイルスを用いた ISL の漸増濃度耐性選択試験並びに逆転写酵素領域に単一の主要な NRTI 耐性関連置換を有するサブタイプ B ウイルスを用いた ISL の固定濃度耐性選択試験を MT4-GFP 細胞を用いて実施した。サブタイプ A、B 及び C ウイルスを用いた漸増濃度耐性選択試験で最も高頻度に選択された置換は M184I 及び M184V であった。固定濃度耐性選択試験の結果、逆転写

酵素領域に M184I 又は M184V を有するウイルスでは6.25 nM（M184I 又は M184V を有するウイルスに対する ISL の IC_{50}と同程度）以上の ISL 濃度で、K65R、L74I 又は V90I を有するウイルスでは12.5 nM（検討した最低濃度）以上の ISL 濃度でウイルス複製は認められず、検討したいずれの濃度でもその他の置換は出現しなかった。ISL はそれぞれ約0.0625 pmol/10^6 cell 又は約0.125 pmol/10^6 cell という低い細胞内 ISL-TP 濃度に相当する濃度で、最低11回継代した際のウイルス複製の阻害に有効であった。これらの試験で検出された変異株はいずれも、RHD である0.25 mg を1日1回投与した際に得られる曝露量[2.7.2.1 項]で ISL の耐性を付与することは予想されない。

ISL の in vitro 耐性選択試験で出現した置換の表現型への影響を、逆転写酵素領域に NRTI 耐性関連置換を有する HIV-1変異株を用いた MT4-GFP 細胞での複数サイクル試験で評価した。ISL は検討した変異株に対して強力な活性を維持し、全ての単一コドン変異株における抗ウイルス活性の低下は10倍未満であった。M184I 又は M184V を含む耐性関連置換を複数有する変異株では、ISL の抗ウイルス活性は3.1倍超に低下するのみであった。ISL の抗ウイルス活性が最も低下する A114S と M184V の両方を有する HIV-1変異株は、臨床で認められることはまれ（0.01%以下）であること及び PBMC での複製能が低かったことから、臨床使用時の ISL への影響は予想されない。

循環血中の主要な ISL の代謝物である M4についても、抗ウイルス活性又は耐性付与の可能性を in vitro で検討した。ヒト PBMC 及び MT4-GFP 細胞における M4の野生型 HIV-1に対する抗ウイルス活性は、それぞれ ISL の約9,000倍及び約7,000倍低かった。M184V 及び M184I により、野生型 HIV-1と比較して M4の抗ウイルス活性は3～4倍に低下した。抗ウイルス活性が弱く、細胞内への蓄積が認められなかったことから、M4による抗ウイルス活性への影響及び耐性発現への選択圧の発生はないと予想される。

2.4.2.1.2 In vitro 薬理試験（DOR/ISL）

DOR と ISL の併用時の抗ウイルス（HIV-1）活性を、レポーター細胞株である MT4-GFP 細胞を用いたウイルス複製法により in vitro で評価した。細胞毒性の指標として、同じ MT4-GFP 細胞から得た細胞可溶化物中の ATP 濃度を測定した。薬物相互作用の統計学的評価のための MacSynergy II 3次元モデルを用いて、抗ウイルス活性及び細胞毒性の複合解析を実施した。DOR と ISL の併用処置は HIV-1複製阻害に対して相加的であり、拮抗作用は認められなかった。本併用で検討した濃度範囲では、細胞毒性に対する顕著な相乗又は拮抗作用は認められなかった。

また、併用時の耐性出現に対するバリアを検討するため、野生型サブタイプ B（R8）ウイルス又は逆転写酵素領域に M184I を有する変異株を用いて、ISL 又は DOR の単独処置及び DOR と ISL の併用処置による耐性発現経路に関する評価を in vitro で実施した。DOR と ISL の併用処置は、各薬物の IC_{50}値のより低い倍数濃度で野生型及び M184I を有する変異株のウイルス複製を効果的に抑制し、各薬物の単独処置と比較して耐性バリアが高いことが示された。特定された耐性発現経路は、上述した ISL[2.4.2.1.1 項]又は DOR の耐性発現経路と同様であった。併用処置時に最も多く認められた置換は V108I 及び M184I であり、これらはそれぞれ DOR 及び ISL の抗ウイ

ルス活性を低下させることが知られている。In vitro 試験における DOR と ISL の併用処置では、対照薬として用いた既承認の2剤併用処置（DTG＋3TC）と比較して各薬物の IC_{50}値のより低い倍数濃度でウイルス複製を効果的に抑制し、耐性出現に対するバリアが高いことが示された。

ISL と DOR は併用療法として開発していることから、ISL 又は他のヌクレオシドアナログに影響しうる逆転写酵素領域の置換を有する HIV-1変異株から成るパネルを用いて、DOR の抗ウイルス活性を評価する試験を実施した。ISL を用いた in vitro 耐性選択試験で選択された HIV-1変異株及び既知の NRTI 耐性関連置換を有する HIV-1変異株に対して、DOR は in vitro で強力な抗ウイルス活性を示した（IC_{50}の変化倍率は0.4～2.7倍）。A114S 及びチミジンアナログ変異を有する大部分の変異株に対して DOR の抗ウイルス活性が増強（IC_{50}の変化倍率は0.4～1.1倍）したことから、ISL に対する補完的な耐性プロファイルが示された。DOR 及び ISL のそれぞれ3倍及び1倍の IC_{50}値で DOR と ISL を併用処置した耐性選択試験で出現した逆転写酵素領域の V108I/M184I 二重変異を有する HIV-1に対しても、DOR 及び ISL は強力な抗ウイルス活性を維持し、この二重変異に対する両薬物の活性は DOR/ISL の RHD（100 mg/0.25 mg、1日1回投与）においても維持されると予想される。

2.4.2.1.3　In vivo 薬理試験（ISL）

SIV 感染アカゲザルを用いて ISL の有効性を検討した。ISL は SIV 分離株である SIVmac251のサル PBMC での増殖を阻害し、EC_{50}は0.16 nM であった。この EC_{50}はヒト PBMC における抗 HIV-1活性と同程度であり、SIV 感染アカゲザルモデルを用いた抗ウイルス作用の評価の可能性が示された。週1回又は1日1回経口投与したときのウイルス複製抑制作用を in vivo で評価するため、アカゲザルに SIVmac251を接種し、安定したウイルス血症が認められた後で ISL を経口投与した。2アームアダプティブデザインにおいて、各群3匹に対して0日目及び7日目に溶媒、又は1.3、3.9、13若しくは18.2 mg/kg の ISL を投与するか、0～13日目に0.19 mg/kg の ISL を1日1回投与した。ウイルス減少量は、3.9～18.2 mg/kg の週1回投与時に最大値付近となり、抗ウイルス活性は ISL の Cmin と関連していた。0.19 mg/kg の1日1回14日間投与時のウイルス減少量は、3.9 mg/kg の週1回投与時と同様であった。3.9～18.2 mg/kg の週1回投与により最終投与後7日間にわたりウイルス量抑制を維持することができ、休薬期間中に用量依存的なウイルス量のリバウンドが認められた。ポピュレーションシークエンス解析の結果、ISL により十分な治療に対する反応（ウイルス減少量が1 log 超）を示したサル及び示さなかったサルから分離したウイルスの逆転写酵素領域に M184V の出現が確認され、M184V の出現による1 log 超のウイルス複製抑制の維持に対する影響は認められなかった。

M184の耐性関連置換を有する SIV 変異株に対する有効性を評価するため、野生型ウイルスを接種したアカゲザルに5 mg/kg の3TC を1日1回14日間投与し、耐性関連置換である M184V を有する変異株を選択した。続いて30 mg/kg の ISL を週1回で計2回投与した結果、ウイルス血症の抑制が野生型ウイルスと同程度で認められた。本試験の結果から、ISL は有効曝露量において M184V を

有するウイルスを効果的に抑制する可能性が示された。

2.4.2.2　副次的薬理試験（ISL）

120種類の酵素及び受容体のパネルを用いた結合試験では、ISL は10 µM でオフターゲット活性（50%以上の阻害）を示さなかった。同様の113種類の酵素及び受容体のパネルを用いて活性体である ISL-TP を20 µM で評価したところ、50%以上の阻害が認められたのは細胞外受容体であるラットプリン作動性 P2Y 受容体（K_i = 0.61 µM）のみであった。ISL-TP は細胞外に存在しないため、この阻害作用は臨床上のリスクにはならないと予想される。

ヒト DNA ポリメラーゼ β 及びヒトミトコンドリア DNA ポリメラーゼ γ に対して、ISL-TP は検討した最高濃度（200 µM）まで in vitro で阻害作用を示さず、ヒト DNA ポリメラーゼ α に対しては弱い阻害作用（IC_{50} = 29.6 µM）を示した。

ISL は12 µM 未満で、ヒトの静止期及び活性化初代培養細胞（PBMC、CD4陽性 T 細胞、単球及びマクロファージ）のほか、増殖性の腫瘍細胞株（MT4、SupT1及び HL-60）において細胞毒性をほとんど又は全く示さなかった。活性化初代培養細胞と静止期初代培養細胞で CC_{50}値は同程度であった。活性化 PBMC で認められた CC_{50}値（21.8 µM）は、ヒト PBMC で抗ウイルス活性に必要な ISL の IC_{50}（0.00021 µM）の100,000倍超であった。細胞毒性及び抗 HIV-1活性の両データが得られている他の細胞種でも同様の細胞毒性指標が認められた。これらのデータから、ISL の抗ウイルス活性は細胞生存性に対する影響ではなく、HIV-1複製に対する固有の活性に起因するものであること及び ISL の培養細胞に対する細胞毒性は僅かであることが示された。

循環血中の主要な ISL の代謝物である M4は、100 µM まで初代培養細胞及び増殖性細胞株に対する細胞毒性を示さず、臨床上のリスクとなりうる M4又は M4-TP のオフターゲット活性を示さなかった。

ISL は HIV-1及び HIV-2の複製に対する特異的な阻害薬であり、他の関連のない12種類のウイルス（ウシウイルス性下痢ウイルス、デングウイルス2型、ジカウイルス、黄熱ウイルス、RS ウイルス、コクサッキーウイルス B 群、ライノウイルス14型、ベネズエラウマ脳炎ウイルス、単純ヘルペスウイルス1型、A 型インフルエンザウイルス、B 型インフルエンザウイルス及びエンテロウイルス）に対していずれも抗ウイルス活性を示さなかった。ISL は、ヒトサイトメガロウイルス及びワクシニアウイルスに対して in vitro で弱い抗ウイルス活性を示した（EC_{50}はそれぞれ34.8 µM 及び22.3 µM）。以上より、これらのウイルスに対する活性は臨床では予想されない。

HIV-1感染者の大部分は共通する感染経路により HBV 及び HCV に重複感染するため[4.3: 08SBV8] [4.3: 04VGBG]、これらのウイルスに対する ISL の影響を評価した。ISL の抗 HBV 活性及び細胞毒性を、HepG2 2.2.15細胞及び AD38細胞を用いて評価した。HBV 阻害に必要な ISL 濃度は、PBMC において HIV-1阻害に必要な濃度の10,000倍超であり、臨床的に意味のある用量では HBV 複製阻害作用は認められないと考えられる。また、ISL の抗 HCV 活性及び細胞毒性を、ジェ

ノタイプ1a の Huh7レプリコン細胞を用いて評価した。ISL は20 μM まで HCV に対する抗ウイルス活性を示さなかったことから、臨床的に意味のある用量では HCV 複製阻害作用は認められないと考えられる。

ISL のミトコンドリア毒性の可能性を検討するため、陰性対照（TAF）及び陽性対照（ザルシタビン及び ddI）を含む NRTI と比較した。ISL 及び TAF は増殖性ヒト TK6細胞とのインキュベーション後7日目において、ミトコンドリア DNA／核 DNA 比に変化は認められなかった。一方で、陽性対照であるザルシタビン及び ddI は同試験において顕著なミトコンドリア DNA／核 DNA 比の低下が認められた。ISL がミトコンドリア DNA 量に影響を及ぼさなかった結果は、ISL-TP（Sohl et al.の論文では EFdA-TP）はミトコンドリア DNA ポリメラーゼ γ により効率的に取り込まれないという Sohl et al.（2012）の報告[4.3: 04R6S6]（ポリメラーゼ γ は、EFdA-TP と比較して天然基質である dATP に対し4,300倍の選択性を示す）と一致する。TK6細胞におけるミトコンドリア DNA／核 DNA 比の評価及び ISL-TP は DNA ポリメラーゼ γ により効率的にミトコンドリア DNA に取り込まれないという報告に基づき、ISL はミトコンドリア毒性のリスクを示さないと考えられる。

ISL を0.75 mg 以上の用量で1日1回投与した臨床試験において認められたリンパ球数減少の機序を検討するため[5.3.5.1.13: 08L2VG]、探索的試験を実施した。PBMC 及び TK6細胞を用いた in vitro 試験の結果から、リンパ球で ISL-TP が選択的に蓄積することにより高濃度の ISL-TP が細胞増殖抑制及びアポトーシスを引き起こす可能性が示唆される。DNA 複製及び細胞分裂に関与する酵素である DNA ポリメラーゼ α に対する ISL-TP の阻害作用（IC_{50} = 29.6 μM）を示した in vitro データから、本濃度を超える濃度の ISL-TP による DNA ポリメラーゼ α 阻害作用が細胞増殖抑制及びアポトーシスの誘導に寄与している可能性が示唆される。DNA ポリメラーゼ α の阻害は ISL に固有のものではなく、他のヌクレオシド／ヌクレオチドアナログ（3TC、FTC、ABC 及び TAF）も DNA ポリメラーゼ α の阻害作用を有し[4.3: 03W0NT] [4.3: 08PFDR] [4.3: 080P9Y] [4.3: 080P9L]、同程度の等モル換算した TP 濃度で TK6細胞の増殖抑制が認められている。総リンパ球数及びリンパ球サブセット数の減少が臨床試験で ISL を0.75 mg 以上の用量で1日1回投与した際に認められ[5.3.5.1.13: 08L2VG]、その時の PBMC 中 ISL-TP の Cmax は34 μM 以上であった一方で、より低濃度の PBMC 中 ISL-TP の平均 Cmax（0.25 mg を1日1回投与した009試験の薬物動態学的データに基づき約9 μM[2.7.2.2.1.3 項]）では認められなかったことからも本仮説が支持される[4.3: 08PBCT]。また、上述のとおりミトコンドリア毒性はリンパ球数減少に関連する機序ではなかった。さらに、ヒト PBMC を用いた in vitro 試験で、ISL はリンパ球のアポトーシス、増殖誘導による活性化又は機能に対する影響を及ぼさず、その時の細胞内 ISL-TP 濃度は300 μM 未満であった[2.6.2.3.2 項]。この結果と一貫して、ISL 0.75 mg と DOR 100 mg の1日1回併用投与を受けた HIV-1血清反応陽性の臨床試験参加者から採取した PBMC では、ビクテグラビル／FTC／TAF（50/200/25 mg）を1日1回投与した臨床試験参加者と比較して ex vivo におけるリンパ球生存率及び機能に変化は認められなかった[4.3: 08CFSY]。

補足的薬理試験については[2.4.2.3 項]に要約する。

2.4.2.3　安全性薬理試験（ISL）

ISL の心血管系、呼吸系及び中枢神経系に対する作用を確認するため、確立された安全性薬理モデルを用い、ISL の探索的及び重要な安全性薬理試験を実施した[2.6.3.4 項]。重要な安全性薬理試験は ICH S7A 及び S7B ガイドラインの推奨事項並びに GLP（米国連邦規則集第21巻58条）及び／又は OECD-GLP 原則に準拠して実施した。安全性薬理試験における曝露比の算出には、第I相、第II相及び第III相試験データに基づく母集団薬物動態解析により推定した定常状態における ISL の Cmax（0.00345 μM、幾何平均値）を用いた。

ISL が主要な心臓のイオンチャネルに及ぼす影響を探索的及び重要な（IKr、GLP 適用の hERG 試験）in vitro 電気生理学的評価モデルにおいて評価した。検討した最高濃度の30 μM（RHD におけるヒト非結合型 Cmax の8,955倍）まで ISL の IKs、INa 又は ICaL に対する影響は検出されなかった。また、GLP 適用の hERG 試験での IC_{50}は291 μM 超（RHD におけるヒト非結合型 Cmax の86,000倍超）であった。

ISL が心電図間隔に与える影響を、麻酔モルモットを用いた探索的試験及びサルを用いた単回投与テレメトリー試験において評価した。麻酔モルモットを用いた試験では、462 μM（RHD におけるヒト Cmax の133,913倍）まで心電図間隔の延長は認められなかった。PR 及び QTcB 間隔の軽度の短縮は中等度の心拍数増加の二次的変化によるものであり、ISL による影響ではないと考えられた。同様に、サルを用いた単回投与テレメトリー試験においても心拍数の増加の二次的変化である PR 及び QT 間隔の短縮が認められた。重要なこととして、最高用量である100 mg/kg（RHD におけるヒト Cmax の10,290倍）まで心電図間隔（QTci 間隔を含む）の延長はみられなかった。また、ISL が呼吸系パラメータ及び体温に及ぼす影響を、サルを用いた単回投与テレメトリー試験において評価した。100 mg/kg（RHD におけるヒト Cmax の10,290倍）では、軽度の呼吸数増加（平均呼吸数の最大変化量：+6 回／分、投与後4～16時間）及び体温上昇（最大変化量：+0.5°C、投与後最初の2日間の夜間）が認められ、30 mg/kg（RHD におけるヒト Cmax の5,130倍）では影響はみられなかった。

ISL が血行動態に与える影響を、ラット（非 GLP）及びサル（GLP）を用いた単回投与試験及びサルを用いた反復投与テレメトリー試験（非 GLP）において評価した。ラットでは、50 mg/kg（推定される曝露比は RHD におけるヒト Cmax の5,478倍）において一過性で軽度の血圧上昇及び心拍数増加が認められた。サルでは、100 mg/kg（RHD におけるヒト Cmax の10,290倍）の単回経口投与において、投与後1～16時間に血圧上昇及び心拍数増加がみられた。血行動態及び心拍数に対する無影響量は30 mg/kg（17.7 μM、RHD におけるヒト Cmax の5,130倍）であった。反復投与テレメトリー試験では、ISL 100 mg/kg を4回投与（3日間隔）した際に心拍数増加が認められたが、反復投与による心拍数増加の増悪は認められず、また血圧の変化もみられなかったことから、ISL 反復投与による血行動態への影響の増悪はみられなかった。

ISL をラットに単回経口投与した際の中枢神経系機能に及ぼす影響を評価するため、ラットを用いた探索的試験及びGLP適用の毒性試験の一部としてFOBを行った。探索的試験では200 mg/kg

（Cmax = 24.1 µM、RHD におけるヒト Cmax の6,986倍）、GLP 適用試験では50 mg/kg、（Cmax = 16.6 µM、RHD におけるヒト Cmax の4,812倍）まで神経行動学的変化は認められなかった。

全体として、確立された安全性薬理モデルを用いたこれらの試験結果から、ISL の心血管系、呼吸系及び中枢神経系に対する懸念すべき影響は認められなかった。

2.4.2.4　薬力学的薬物相互作用試験

抗ウイルス活性及び細胞毒性に対する影響を評価するため、ISL と既承認の抗レトロウイルス薬との2剤併用試験を実施した。検討した濃度範囲における ISL 及び他の抗レトロウイルス薬の併用処置では、HIV-1複製阻害に対して相加的であり、拮抗作用は認められなかった。本併用試験で検討した濃度範囲では、細胞毒性に対する顕著な相乗又は拮抗作用は認められなかった。

ISL は細胞内で ISL から ISL-MP、次いで ISL-DP、最終的に ISL-TP へと順次リン酸化される。ISL リン酸化の律速段階は ISL から ISL-MP へのリン酸化であり、酵素である dCK により触媒される[4.3: 04R5C4]。dCK は NRTI である3TC 及び FTC を含む他の抗ウイルス剤のリン酸化にも関与している[4.3: 08FGFX] [4.3: 08FGFV] [4.3: 08FGFQ]。ISL を dCK により各 MP にリン酸化される薬物（FTC 又は3TC）の存在下で活性化ヒト PBMC とインキュベートした結果、細胞内 ISL-MP、ISL-DP 及び ISL-TP 濃度が減少した。ISL を dCK によるリン酸化を受けない薬物（ABC 又は TAF）の存在下で活性化ヒト PBMC とインキュベートした結果、細胞内 ISL-MP、ISL-DP 又は ISL-TP 濃度に影響は認められなかった。ISL と活性化ヒト PBMC をインキュベートした際に FTC、3TC、ABC 又は TAF の活性体濃度に変化が認められなかったことから、dCK を介した NRTI のリン酸化が ISL のリン酸化に及ぼす影響は非相互的であることが示され、これらの結果は dCK の基質親和性の程度（すなわち、相対的 K_m 値）と矛盾しない（[2.4.3.6.1 項]参照）。

2.4.3　薬物動態試験（ISL）

ISL の非臨床 ADME 試験の概要を[2.6.4 項]に示す。また、ISL の非臨床 ADME 試験の薬物動態試験一覧表を[2.6.5.1 項]に、概要表を[2.6.5 項]に示す。

2.4.3.1　分析法とバリデーション報告書

非臨床試験で採取した血漿試料中の ISL と M4 の測定には、LC-MS/MS を用いた分析法を使用した。GLP 試験の検体測定は、GLP に従って実施した。GLP 試験で使用したマウス、ラット、ウサギ及びサル血漿中の ISL 濃度の分析法は、試験実施時の規制ガイダンスに従ってバリデートした。バリデートした ISL の血漿中濃度分析法の定量下限は 0.1～2 ng/mL、定量上限は 200～5000 ng/mL であった。

マウス、ラット及びサルにおける PBMC 中の ISL、ISL-MP、ISL-DP 及び ISL-TP 濃度は、探索的検討のための品質保証を行った分析法を用いて測定した。

2.4.3.2 吸収

非臨床動物種において、静脈内投与後の ISL の CLp は中程度又は大きい（ウサギ及びサル：17 mL/min/kg、ラット：72 mL/min/kg）、Vdss は概して中程度（1.5～4.3 L/kg）、t1/2は0.7～6.3時間であった。経口バイオアベイラビリティは、マウスでは低く（21%）、ウサギ（45%）とサル（38%）では中程度、ラットでは高かった（約100%、ほぼ完全な吸収を示した）。

2.4.3.3 分布

2.4.3.3.1 ラットにおける組織分布

ラットに[^{14}C]ISL の単回経口投与又は 28 日間 1 日 1 回反復経口投与を行った際の ISL の組織分布を、定量的全身オートラジオグラフィーにより評価した。

単回経口投与後では、[^{14}C]ISL に関連した放射能は広範な組織に分布し、部分有色 LE ラット及び無色素の WH ラットのリンパ系組織、代謝／排泄組織並びに消化管の大部分の組織で投与 1 時間後に最高濃度を示した。その後、放射能の速やかな消失が認められ、投与後 168 時間までに全ての組織で定量下限未満となった。LE ラットと WH ラットの間で、[^{14}C]ISL 関連の放射能の組織濃度は概して類似していたが、眼球のぶどう膜では LE ラットの方が WH ラットよりも僅かに高い放射能濃度を示した。また、LE ラットの有色皮膚部分における[^{14}C]ISL に関連した放射能濃度は、検討した最初の時点で、同ラットの無色素皮膚部分の放射能濃度よりも僅かに高かったが、投与後 24 時間までに無色素皮膚と同程度の放射能濃度まで低下した。これらの結果から、眼及び皮膚のメラニンに ISL 関連物質が可逆的に結合することが示唆された。

WH ラットに[^{14}C]ISL を28日間反復経口投与した際も、[^{14}C]ISL に関連した放射能は広範な組織に分布し、腎、脾、肝、リンパ節及び褐色脂肪組織で最も高い放射能濃度が認められた。主要組織中の[^{14}C]ISL に関連した放射能濃度は1日1回投与で14日間にわたって増加したが、14日目と28日目の組織中放射能濃度は同程度で、14日目と28日目の間で定常状態に達すると考えられた。初回投与後58日目までに、組織中放射能濃度の大部分は定量下限未満になった。

ラットに[redacted]ISL を単回静脈内マイクロドージングした際の組織分布を PET により評価した（胸部より上の部分について画像評価した）。[redacted]ISL 関連物質は投与後速やかにリンパ節に分布し、また歯、手首（手根骨）、肩及び脊椎に認められたが、脳ではバックグラウンドを超える放射能は検出されなかった。

2.4.3.3.2 サルにおける組織分布

サルに[redacted]ISL を単回静脈内マイクロドージングした際の組織分布を PET により評価した。放射能は広範な組織に分布し、[redacted]ISL の関連物質が最も高濃度で認められた組織は膀胱、胆嚢及び脊椎であった。リンパ節では、より低濃度で[redacted]ISL の関連物質が認められたが、脳ではバックグラウンドを超える放射能は検出されなかった。この結果は、in vitro で ISL の受動的透過性が低く（1.6～3.6×10^{-6} cm/s）、BCRP の基質であったことと一貫していた。

2.4.3.3.3 ラットにおける胎盤通過性

胎児／母動物の血漿中 ISL 濃度比は 0.463～0.877 であり、ISL はラットの胎盤を通過することが示された。

2.4.3.3.4 In vitro における血漿蛋白質との結合及び血液－血漿分配比

ISL の血漿蛋白質との可逆的結合の程度は種間にわたって低く、マウス、ラット、ウサギ、サル及びヒトでの平均非結合型分率はそれぞれ 0.963、0.928、0.825、0.855 及び 0.968 であった。ISL は 0.1～10 μM の範囲で濃度依存的な結合を示さなかった。

主要な血中代謝物である M4 の血漿蛋白質との可逆的結合の程度も種間にわたって低く、マウス、ラット、ウサギ、サル及びヒトでの平均非結合型分率はそれぞれ 0.961、0.972、0.849、0.909 及び 0.936 であった。M4 も 0.1～10 μM の範囲で濃度依存的な結合を示さなかった。

ISL の血液－血漿分配について、0.1～10 μM の検討濃度範囲で ISL 濃度依存性はみられなかった。動物種間及びヒトにおける血液／血漿中濃度比は 1.1～1.3 であり、ISL は血球へ移行することが示された。

M4 の血液－血漿分配比は ISL と比べ動物種間にわたって概して低く、平均としてマウス、ラット、ウサギ、サル及びヒトでそれぞれ 1.0、0.8、0.8、0.6 及び 0.6 であった。0.1～10 μM の検討濃度範囲において、M4 の血液－血漿分配に濃度依存性はみられなかった。

2.4.3.3.5 In vitro における PBMC 中への分布

ナトリウム依存性 CNT 又はナトリウム非依存性 ENT に対する選択的阻害薬の存在下と非存在下で、新鮮ヒト PBMC を用いて[^{14}C]ISL の取込みを in vitro で評価した。[^{14}C]ISL の取込みにおいて時間及び濃度依存性がみられ、受動拡散に加え、ヌクレオシドトランスポーターを介した能動輸送でも PBMC 中に取り込まれることが示された。

2.4.3.4　代謝

2.4.3.4.1　In vivo 代謝

非臨床動物種及びヒトにおいて、ISL は主に腎排泄と酸化的脱アミノ反応による M4（4'-エチニル-2-フルオロ-2'-デオキシイノシン）への代謝を介して消失した。非臨床動物種とヒトの排泄物中に認められた代謝物に関し、推定された構造を[2.6.4.5 項]に示す。

ヒトの排泄物中及び血漿中で認められた全ての ISL の代謝物はマウス、ラット、ウサギ及び／又はサルでも認められた.。

無処置マウスに[^{14}C]ISL（5 mg/kg）を経口投与した際、ISL は尿中の主要な成分であり、投与量の約 42.5%が未変化体として尿中に排泄された。M4 も尿中に多く排泄され、投与量の約 25.5%に相当した。ISL の直接グルクロン酸抱合体である M7 は尿中に僅かに検出された。ISL 及び M4 はともにマウス血漿中の主要成分であったが、血漿中の M4 の曝露量は ISL より低く、ISL の約 1/3 倍であった。

無処置及び胆管カニュレートしたラットに[^{3}H]ISL（5 mg/kg）を経口投与し、ISL の代謝を評価した。ISL の消失には、M4 への代謝が主要な役割を担っており、投与量の 43.1%に相当する M4 が尿中に排泄された。また、ISL の直接グルクロン酸抱合体である M6 が胆汁中に認められ、投与量の 2.6%であった。胆汁中に認められた M1、M2、M3 及び M5 を含む M4 の複数のグルクロン酸抱合体は二次代謝物であり、これらを併せると投与量の 2.4%を占めた。M4 は胆汁中では微量代謝物として投与放射能の 0.1%を占めた。尿中排泄もラットでの ISL の消失に寄与しており、投与量の 22.3%が未変化体として尿中に排泄された。

無処置ラットに[^{3}H]ISL（5 mg/kg）を経口投与した際、血漿中で同定された薬物関連物質は ISL、M4 及び M1 のみであり、M4 の血漿中曝露量は ISL と同程度であった。

無処置ウサギに[^{14}C]ISL（5 mg/kg）を経口投与した際、投与放射能の大部分（60.3%）は尿中に排泄され、ISL 及び M4 がそれぞれ投与量の 30.2%及び 25.3%を占めた。ISL の直接グルクロン酸抱合体である M8 及び酸化代謝物 M9 は少量ながら尿中に検出され、それぞれ投与量の 1.2%及び 0.6%であった。さらに、ISL の 2 つの直接グルクロン酸抱合体である M6 及び M7 は尿中に微量検出された。血漿中では、ISL と M4 が主要な放射性成分であり、M8 はマイナーな放射性成分であった。代謝物 M6、M7 及び M9 は HRMS 分析でのみ微量に検出された。

胆管カニュレートしたサルに[^{3}H]ISL（5 mg/kg）を経口投与し、ISL の代謝を評価した。経口投与後、投与放射能の大部分（46.6%）が尿中に排泄され、糞中にも投与放射能の多くが排泄された（投与量の31.0%）が、胆汁中の排泄量は少量（投与量の3.6%）であった。尿中に排泄された主要成分は未変化体であり、投与量の34.3%を占めた。M4は尿中及び糞中に排泄された主要代謝物であり、それぞれ投与量の5.2%及び28.3%であった。尿中では ISL のグルクロン酸抱合体2種（M6及び M7）も少量ながら検出され、それぞれ投与量の4.8%及び0.9%であった。サル血漿中で検出された薬物関連物質は ISL と M4のみであった。

これらの結果は、ヒト AME 試験で尿中の主要な ISL 関連物質は M4 であり（投与量の 53%）、投与量の 32%が ISL 未変化体として尿中に排泄されたことと一貫していた[2.7.2.2.1.5 項]。

M4 はマウス、ラット、ウサギ及びサルの試験において血漿中代謝物として認められ、マウス、ラット及びサルの反復投与経口毒性試験でも M4 への曝露がみられた。マウス、ラット、ウサギ、サルの無毒性量で投与した際に推定された M4 の AUC に基づくヒトに対する曝露量比を[2.6.6.8.5 項]に要約する。

ISL 並びにリン酸化同化物である ISL-MP、ISL-DP 及び ISL-TP は、ラット及びサルに ISL を経口投与した際に PBMC 中で検出された。薬理活性を示す ISL-TP の細胞内での消失半減期は、ラット及びサルでそれぞれ 25 時間及び 49 時間と推定された。細胞内の ISL、ISL-MP、ISL-DP 及び ISL-TP の濃度はマウス、ラット及びサルの反復経口投与毒性試験において PBMC 中でも測定した。

2.4.3.4.2　In vitro 代謝

非臨床動物種及びヒトの肝細胞を用いて[^{3}H]ISL の in vitro 代謝を検討したところ、ISL の代謝率は低かった。標準的な反応条件下において、ラット及びサルの肝細胞では ISL の直接グルクロン酸抱合体が認められたが、ヒト肝細胞では代謝物は検出されなかった。細胞内における ISL の ISL-MP、ISL-DP 及び ISL-TP へのリン酸化は、ラット、サル、そしてヒトの肝細胞において認められた。

ラット、サル及びヒトの腸管 S9 画分中で[^{3}H]ISL をインキュベートしたところ、酸化的脱アミノ反応を介した M4 の生成が確認された。この反応の代謝速度は遅かったが、発現系ヒト ADA を用いて ISL の in vitro 代謝を評価した際にも M4 の生成が認められた。

マウス、サル及びヒトの血液を用いた in vitro 試験において、ISL の PBMC 中への取込みは良好であり、PBMC 中で同化物である ISL-MP、ISL-DP、そして ISL-TP へ効率的にリン酸化されることが示された。

2.4.3.5　排泄

2.4.3.5.1　マウス、ラット、ウサギ及びサルにおける排泄

無処置のマウス、ラット、ウサギ及びサルに非標識の ISL（1 mg/kg）を静脈内投与し、ISL の排泄を評価したところ、ISL の尿中排泄率はそれぞれ投与量の約 61%、18%、31%及び 51%であった。これらの結果は、動物種間にわたって腎排泄が ISL の消失に関与していることを示している。

また、放射標識した ISL（[^{3}H]ISL 又は[^{14}C]ISL）を無処置のマウスとウサギ、及び胆管カニューレ処置したラットとサルに経口投与し、各動物種においてマスバランスを評価した。無処置マウスに[^{14}C]ISL を経口投与した際、投与後 72 時間までに投与量の 78.5%が回収され、その大部分（投与量の 70.9%）は尿中に排泄された。この結果は静脈内投与での結果と一貫しており、マウス

において腎排泄は ISL の主要な消失経路であることが示された。

胆管カニューレ処置したラットに[^{3}H]ISL を投与した際、投与後 72 時間までに投与放射能の 91.1%が回収され、その大部分は尿中に排泄された（投与量の 73.7%）。尿中の放射能排泄率が高かったことから、ラットで ISL の吸収は良好であることが示された。静脈内投与時の未変化体の尿中排泄率を考慮すると、ラット尿中における[^{3}H]ISL 関連物質の大部分は代謝物であることが示唆された。

無処置ウサギに[^{14}C]ISL を投与した際、投与後 72 時間までに投与放射能の 72.6%が回収され、その大部分は尿中に排泄された（投与量の 60.3%）。静脈内投与時の未変化体の尿中排泄率と比較して経口投与後の[^{14}C]ISL 関連物質の尿中排泄率は高く、尿中に代謝物が存在することと一貫した結果が得られた。

胆管カニューレ処置したサルに[^{3}H]ISL を投与した際、投与後 120 時間までに投与放射能の 82.4%が回収され、投与量に対する尿中排泄率は 46.6%、糞中排泄率は 31.0%であった。[^{3}H]ISL 関連物質の尿中排泄率は、静脈内投与時の未変化体の尿中排泄率と同程度であり、未変化体の腎排泄がサルでの ISL の主要な消失経路であることが支持された。

健康被験者に[^{14}C]ISL 10 mg を単回経口投与した際、投与放射能の 97.7%が排泄物中に回収された。本結果は、[2.7.2.2.1.5 項]で述べる。

2.4.3.5.2　ラットにおける乳汁中排泄

ISL の乳汁中への排泄は検討しなかった。

出生後ラットを用いた試験では、母ラットに ISL を10 mg/kg/日で（妊娠6日目から授乳10日目まで）経口投与した。授乳10日目における仔ラットの ISL 濃度は、母ラットの投与後1時間及び3時間の血漿中濃度のそれぞれ0.1%及び1.5%であった。仔ラットの血漿中に ISL が存在していたことから、ISL はラットの乳汁中に排泄されることが示された。

2.4.3.6　薬物動態学的薬物相互作用（非臨床）

2.4.3.6.1　ISL の消失に関与する薬物代謝酵素

In vitro 代謝試験において、ISL の酸化的脱アミノ化反応には ADA が関与していることが示され、その K_m 値は 250 µM 超であった。ヒト尿中に ISL のグルクロン酸抱合体が微量に検出されたが、ISL の全体的な消失への寄与は僅かであった。ISL は主に ISL 未変化体の腎排泄及び ADA による代謝を介して消失することから、ISL が CYP 又は UGT の阻害剤又は誘導剤によって影響を受ける可能性は低い。

ISL から ISL-MP への最初のリン酸化は dCK によって触媒される[2.4.2.4 項]。酵素速度論的試験において、ISL は dCK の低親和性基質であり、K_m 値は 106 µM であった。一方、3TC 及び FTC

は dCK の高親和性基質であり、K_m 値はそれぞれ 3.2 及び 2.4 μM であった。dCK の基質親和性に大きな差があることから、dCK（ISL-MP の生成に関与）に対する 3TC 及び FTC の阻害作用を評価したところ、IC_{50} 値はそれぞれ 4.4 及び 2.5 μM であった。この結果は、ISL を 3TC、FTC 又は dCK の他の高親和性基質と併用した際に、ISL が dCK を介した相互作用を受ける可能性を示唆している。3TC との臨床薬物相互作用試験（058 試験）で、PBMC 中の ISL-TP の AUC0-inf は ISL を 3TC の治療用量と併用した際に 87%減少した[2.7.2.2.3.1.3 項]。

2.4.3.6.2　ISL の消失に関与するトランスポーター

ISL は薬物トランスポーターOAT1、OAT3、OCT2、MATE1、MATE2K 及び P-gp の基質ではなく、ISL をこれらの薬物トランスポーターの阻害剤と併用投与した際、臨床的に意味のある薬物相互作用が生じる可能性は低いと考えられる。ISL は BCRP の基質であるが、ヒト腎皮質での BCRP の発現は低く、腎の BCRP を介して臨床的に意味のある薬物相互作用が生じる可能性は低いことが報告されており[4.3: 08RGJ3] [4.3: 05LFJQ]、また、ヒトでの ISL の吸収率は高く（約 91%）、胆汁中への排泄は重要な消失経路ではないことから、BCRP を介して ISL が薬物相互作用を受ける可能性は低いと考えられる。PBMC への ISL の取込みにはヌクレオシドトランスポーターである CNT が部分的に関与していると考えられる。ISL は CNT3 の基質であり、CNT1 及び CNT2 に対しても弱い基質認識性を有する可能性が示唆されたが、ENT1 及び ENT2 の基質ではなかった。PBMC 中への ISL の取込みに複数の経路が関与していることと、CNT を介した輸送は高い輸送能を有していることを考慮すると、PBMC 中への ISL の取込みにおいて臨床的に意味のある薬物相互作用は生じないと考えられる。

2.4.3.6.3　M4の消失に関与する薬物トランスポーター

M4 は OAT1、OCT2、MATE1 及び P-gp の基質ではなく、OAT3、MATE2K 及び BCRP の基質である。M4 の排泄に腎での糸球体ろ過及び複数の薬物トランスポーターが寄与していることから、腎薬物トランスポーターの阻害により、M4 が臨床的に意味のある薬物相互作用を受ける可能性は低いと考えられる。

2.4.3.6.4　薬物代謝酵素の阻害

ISL と M4 は主要な薬物代謝酵素である CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP3A、UGT1A1 及び UGT2B7 を阻害せず、これらの代謝阻害を介した薬物相互作用を引き起こさないと考えられる。ICH M12 ガイドラインに基づき算出した ISL 及び M4 の薬物相互作用のリスク評価に関するパラメータ値は、同ガイドラインで設定されている閾値よりも顕著に低く、ISL 及び M4 が検討した薬物代謝酵素を阻害して薬物相互作用を引き起こす可能性は低いと考えられる。

2.4.3.6.5　薬物トランスポーターの阻害

ISL 及び M4 は OATP1B1、OATP1B3、OCT1、OCT2、OAT1、OAT3、MATE1、MATE2K、BCRP、P-gp 及び BSEP を阻害しなかった。また、ISL は MRP2、MRP3 及び MRP4 も阻害しなかった。ICH M12 ガイドラインに基づき算出した ISL 及び M4 の薬物相互作用のリスク評価に関するパラメータ値は、同ガイドラインで設定されている閾値よりも顕著に低く、ISL 及び M4 が検討したトランスポーターを阻害して薬物相互作用を引き起こす可能性は低いと考えられる。

2.4.3.6.6　CYP 酵素の誘導

In vitro 評価において ISL 及び M4 はいずれも CYP1A2、CYP2B6 又は CYP3A4 を誘導しなかったため、ISL 又は M4 が CYP を誘導して薬物相互作用を引き起こす可能性は低いと考えられる。

2.4.4　毒性試験

各規制ガイドラインに従い、ISL の包括的な非臨床毒性試験プログラムとして in vitro 及び in vivo 遺伝毒性試験、光毒性評価、マウス（3ヵ月）、ラット（最長6ヵ月）及びサル（最長9ヵ月）を用いた反復経口投与毒性試験、rasH2 トランスジェニックマウス（6ヵ月）及びラット（2年）を用いたがん原性試験、ラットを用いた不純物／分解物評価試験（3ヵ月、2試験）、生殖発生毒性試験（ラットを用いた雌雄受胎能試験、ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生毒性試験、ラットを用いた乳汁移行性試験、ラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験、幼若動物を用いた忍容性試験）並びにラットを用いた歯の発生に関する試験（ラットでみられた ISL による歯の所見について小児集団への外挿性をさらに評価するために実施）を含む試験を実施した。臨床試験で0.75 mg 以上の用量の ISL を1日1回投与した際に認められた総リンパ球数及びリンパ球サブセット数の減少の機序を検討するための追加の in vitro 試験及び in vivo 試験（マウスを用いた ISL-TP 濃度を測定するための7日間 TK 試験及び10週間イムノフェノタイピング試験）を実施した。

労働安全プログラムのためにマウスを用いた局所リンパ節試験を実施した。また、ラットを用いた ISL と DOR の1ヵ月間併用経口投与毒性試験においても ISL を評価した。ヒト主要血中代謝物として唯一同定された M4は、マウス、ラット、ウサギ及びサルにおいても主要血中代謝物であり、M4の評価も行った。ISL を用いた非臨床毒性試験の概要を[2.6.7.1 項]に示す。各試験の詳細を[2.6.6 項]で述べ、[2.6.7 項]に概要を示す。非臨床試験での曝露比の算出には、第I相、第II相及び第III相試験データを用いた母集団薬物動態解析に基づく ISL の全身曝露量（AUC0-24 0.0314 μM· hr 及び Cmax 0.00345 μM、幾何平均値）を用いた。

2.4.4.1　単回投与毒性試験

ISL を用いた独立した急性毒性試験は実施しなかった。しかしながら、単回投与後の毒性はマウ

ス、ラット及びサルを用いた反復経口投与毒性試験、並びにマウス、ラット、ウサギ及びサルを用いた単回投与 TK 試験の結果から評価可能であった。最大100 mg/kg（マウス）又は200 mg/kg（ラット、ウサギ及びサル）を単回経口投与した際、死亡及び一般状態の変化は認められなかった。

2.4.4.2　反復投与毒性試験

ラットに最長6ヵ月間、サルに最長9ヵ月間反復投与した際の ISL の忍容性は良好であり、それぞれの無毒性量での AUC 曝露比はラットで529倍、サルで539倍であった。マウスではがん原性試験の用量設定のために、最長3ヵ月間の反復投与試験を実施した。rasH2野生型マウス及び CD-1マウスを用いた3ヵ月間毒性試験の無毒性量での AUC 曝露比は、それぞれ1,061倍及び1,783倍であった。CD-1及び rasH2野生型マウスでは、末梢血リンパ球数の減少（脾臓でのリンパ組織の萎縮に関連）が認められた。結果として、臨床で認められたリンパ球数減少を検討するためのその後の検証試験のモデルとして CD-1マウスを選択した。

反復投与毒性試験で特定された標的臓器は歯、骨及び脾臓（ラット）、精巣（マウス及びラット）、皮膚及び骨髄（サル）であり、無毒性量での高い安全域（AUC 曝露比は529倍以上）に基づき、標的臓器毒性がヒトで生じるリスクは低いと考えられた。さらなる所見として用量制限毒性試験（非 GLP）では、最大耐量を超える用量（AUC 曝露比は6,783倍以上）で肝臓（ラット）及び胃（ラット及びサル）に所見が認められたが、臨床上問題となる可能性は低いと考えられた。

ヒトで同定された唯一の主要血中代謝物（M4）は、マウス、ラット、ウサギ及びサルにおいても主要血中代謝物であり、非臨床試験での評価は、ヒトでの M4濃度を十分に上回る濃度（223倍以上）の M4で行われた[2.6.6.8.5 項]。

2.4.4.2.1　マウス

rasH2野生型マウス及び CD-1マウスを用いた3ヵ月間用量設定試験では、いずれも[2.4.4.2.1.1 項]に詳述のとおり脾臓でのリンパ組織の萎縮及びリンパ球数の減少がみられた。結果として、臨床で認められたリンパ球数減少を検討するための検証試験のモデルとして CD-1マウスを選択した。マウスの3ヵ月間試験でみられたリンパ球数減少に関してさらに検討するため、また臨床試験でみられたリンパ球数減少のモデルとして、雄 CD-1マウスを用いた7日間 TK（TT #[redacted]-1006）試験及び10週間イムノフェノタイピング試験（TT #[redacted]-1015）を実施した。マウスを用いた毒性試験では、ヒトでリンパ球数減少が認められた ISL-TP 濃度と同程度の濃度でリンパ球数減少がみられたが、重要なこととして12週間の回復期間後には完全な回復性が認められた。

rasH2野生型マウスを用いた3ヵ月間用量設定試験では、高用量群（35 mg/kg/日、AUC 曝露比は2,239倍）の雌で顕著な体重減少及び体重増加量の減少がみられた。また、同群の雄では精巣の精上皮変性が認められた[2.4.4.2.1.2 項]。rasH2野生型マウス及び CD-1マウスを用いた試験の無毒性量における AUC 曝露比はそれぞれ1,061及び1,783倍であった。

2.4.4.2.1.1 脾臓及びリンパ球の所見

CD-1及び rasH2野生型マウスを用いた反復投与毒性試験において、脾臓でのリンパ組織の萎縮に関連した末梢血リンパ球数減少が認められた。これらの所見により、臨床試験で認められたリンパ球数減少を検討するために CD-1マウスを用いることの妥当性が示された。rasH2野生型マウスを用いた3ヵ月間試験では、10 mg/kg/日以上の群の雌雄でごく軽度から中等度のリンパ球数の減少（同時対照群と比較して-40%～-73%）が認められ、この変化に伴い白血球数の減少（同時対照群比較して-38%～-63%）もみられた。リンパ球数の減少は18 mg/kg/日以上の群の雌及び10 mg/kg/日以上の群の雄で認められた脾臓におけるごく軽度のリンパ組織の萎縮と関連していた。リンパ球数は概して文献で報告されているマウス背景値の正常範囲内であり、また、6ヵ月間がん原性試験では最高用量である13 mg/kg/日まで脾臓での所見は認められなかった。CD-1マウスを用いた3ヵ月間用量設定試験においても同様の傾向がみられ、ごく軽度から中等度のリンパ球数の減少（10 mg/kg/日以上の群の雌では同時対照群と比較して-44%～-60%、3.5 mg/kg/日以上の群の雄では-50%～-79%）がみられた。この変化に伴い認められた脾臓におけるごく軽度のリンパ組織の萎縮は、脾臓重量の軽度な減少とも関連していた。両系統のマウスでみられたリンパ球数の減少は概して中等度で、報告されているマウス背景値の正常範囲内であり[4.3: 07XG40]、ごく軽度の脾臓の変化を伴っていた。以上から、これらの所見は有害ではないと考えられた。CD-1マウスを用いた試験では、3.5 mg/kg/日以上の群で認められた末梢血リンパ球数の中等度の減少及び10 mg/kg/日以上の群の脾臓におけるごく軽度のリンパ組織の変化がみられたが、動物にこれらに起因した機能的な影響はみられなかったことから、無毒性量は45 mg/kg/日以上（AUC 曝露比は1,783倍以上）であった。rasH2マウスを用いた試験では、35 mg/kg/日群の雌で認められた平均体重増加量の減少及び同群の雄における精巣の精上皮変性に基づき、無毒性量は18 mg/kg/日（AUC 曝露比は1,061倍）であった。

ISL に関連したリンパ球数減少についてさらに検討するため、CD-1マウスを用いた試験を2試験実施した。1試験目は7日間 TK 試験（TT #[redacted]-1006）であり、3.5、10及び45 mg/kg/日での PBMC 中 ISL-TP 濃度を測定した。2試験目は10週間イムノフェノタイピング試験（TT #[redacted]-1015）であり、ISL 単独又は[redacted] と併用投与した際のリンパ球サブセットを解析し、リンパ球機能に及ぼす影響及びリンパ球に対する影響の回復性を評価した。ISL の投与により全ての B リンパ球及び T リンパ球サブセット数で用量及び時間依存的な減少がみられ、NK 細胞でも同様の変化が認められたが、脾臓の病理組織学的所見はみられなかった。また脾臓での T 細胞及び B 細胞活性化の抑制が高用量群で認められた［それぞれ45 mg/kg/日（AUC 曝露比は1,783倍）及び10 mg/kg/日以上（AUC 曝露比は243倍以上）］。しかしながら、CD-1マウス（TT #[redacted]-1020）及び rasH2野生型マウス（TT #[redacted]-6002）を用いた3ヵ月間毒性試験、マウスイムノフェノタイピング試験（TT #[redacted]-1015）、ラットを用いた6ヵ月間毒性試験（TT #[redacted]-6011及び TT #[redacted]-6005）並びにサルを用いた9ヵ月間試験（TT #[redacted]-1068）において感染症は認められず、マウスを用いた6ヵ月間がん原性試験（TT #[redacted]-9007）及びラットを用いた2年間がん原性試験（TT #[redacted]-1043）でも感染症又は腫瘍発現率の上昇は認められなかったことから、ISL は免疫機能を阻害しないことが示唆された。さらに、ヒトに ISL を投与した際

にも他の投与群と比較して感染症発生率の上昇はみられなかった。マウスに[redacted]と ISL を併用投与した際に、ISL に関連した影響の増悪はみられなかった。重要なこととして、マウスでリンパ球数減少がみられた ISL-TP 濃度は、ヒトでリンパ球数減少が認められた濃度と同程度であり、ISL 投与に関連した全ての変化は、12週間の回復期間後には完全な回復性が認められた。

臨床試験で認められたリンパ球数減少の発現機序のさらなる検討及びリスク評価のために、PBMC 及び TK6細胞を用いた追加の in vitro 試験を実施した。これらの試験結果から、リンパ球で ISL-TP が選択的に蓄積することにより高い ISL-TP 濃度において細胞増殖抑制及びアポトーシスが誘導されるという結論が支持された。ポリメラーゼ α に対する ISL-TP の阻害作用（IC_{50}＝29.6 μM）を示した in vitro における IC_{50}（IC_{50}＝29.6 μM）から、本濃度を超える ISL-TP 濃度による DNA ポリメラーゼ α（DNA 複製及び細胞分裂に関与する酵素）の阻害作用が細胞増殖抑制及びアポトーシスの誘導に寄与している可能性が示唆された。DNA ポリメラーゼ α 阻害は ISL に固有のものではなく、他のヌクレオシド／ヌクレオチドアナログ（3TC、FTC、ABC 及び TAF）も DNA ポリメラーゼ α の阻害作用を有し[4.3: 03W0NT] [4.3: 08PFDR] [4.3: 080P9Y] [4.3: 080P9L]、同程度の等モル換算した TP 濃度で TK6細胞の増殖抑制が認められている。以上の所見に関する総合的な評価を[2.6.2.3.2 項]及び[2.4.4.7.2 項]に示す。

リンパ球数減少に関する非臨床及び臨床評価の結果を総合すると、RHD において懸念されるものではないと考えられる。マウス及びヒトではリンパ球数の減少が認められたが、これらの減少は RHD の ISL-TP 濃度（平均 ISL-TP Cmax は約9 μM、0.25mg を1日1回投与した009試験の PK データに基づく[2.7.2.2.1.3 項]）と比較して高い PBMC 中 ISL-TP 濃度（Cmax は約30 μM 以上）で認められた。第III相試験（051及び052試験）では、ISL が RHD（0.25mg、1日1回）において総リンパ球数及びリンパ球サブセット数の減少を引き起こさないことが確認された。さらに、ISL を投与した動物では感染症及び腫瘍発現率の上昇は認められず、ヒトでも他の投与群と比較して ISL 投与群で感染症発生率の上昇は認められなかったことから、ISL は免疫機能を阻害しないことが示唆された。

2.4.4.2.1.2　精巣毒性

マウスでは、rasH2野生型マウスを用いた3ヵ月間試験の35 mg/kg/日群（1日1回投与、AUC 曝露比は2,239倍）において、雄での精巣におけるごく軽度の精上皮変性が認められたが、同じ系統の18 mg/kg/日群（AUC 曝露比は1,061倍）及び CD-1マウスの45 mg/kg/日群（高用量群、AUC 曝露比は1,783倍）ではみられなかった。精巣の病理組織学的変化は精巣重量の減少と部分的に関連していた。また、rasH2ヘミ接合マウスを用いた6ヵ月間がん原性試験では、最高用量（13 mg/kg/日、AUC 曝露比は729倍）まで精巣の所見は認められなかった。

マウスと同様にラットでも高い AUC 曝露比（4,363倍）において精巣毒性が認められた[2.4.4.2.2.2 項]が、サルでは AUC 曝露比で3,259倍まで投与した際に精巣毒性はみられなかった（TT #[redacted]-1068）。

以上のデータの総合的な評価及び精巣毒性が高い AUC 曝露比で認められたことを考慮すると、精巣毒性が RHD において臨床上問題となる可能性は低いと考えられた。

2.4.4.2.2 ラット

ラットを用いた慢性毒性試験において AUC 曝露比で529倍まで ISL を最長6ヵ月間反復投与した際、ヒトの成人に外挿性のない切歯の所見を除き、ISL の忍容性は良好であった。より高い全身曝露では、ヒトのリスク評価への外挿性は低いと考えられるが、ラットを用いた反復投与毒性試験で標的臓器として歯（臼歯を含む）、骨及び精巣が特定された。他の所見として、最大耐量を超えた非常に高い曝露量で脾臓、肝臓及び胃での所見が認められたが、同様にヒトへの外挿性は低い（肝臓及び胃）又は有害ではない（脾臓）と考えられた。

2.4.4.2.2.1 歯及び骨密度への影響

歯及び骨密度への影響は、急速に成長するラットでのみ高い曝露量（AUC 曝露比はそれぞれ529倍以上及び4,363倍）で認められ、回復性がみられたことから、ヒトの成人に対する外挿性は低いと考えられた。重要なこととして、サルに9ヵ月間（AUC 曝露比は539倍）又はより高い曝露量で約2ヵ月間（AUC 曝露比は3,259倍）投与した試験、CD-1マウス（AUC 曝露比は1,783倍）及び rasH2 野生型マウス（AUC 曝露比は2,239倍）を用いた試験並びに rasH2 トランスジェニックマウスでの6ヵ月間がん原性試験（AUC 曝露比は729倍）において、歯又は骨に対する影響は認められなかった。ラットにおける ISL による歯及び骨密度への影響の機序は明らかになっていないが、ラットに PET トレーサーである[redacted]標識 ISL を静脈内マイクロドージングした際の画像評価では、投与後60～180分時点において[redacted]ISL 関連物質が高い濃度で歯、手首、肩及び脊椎に認められた。脳では[redacted]ISL 由来の放射能は検出されなかった。この結果はラットを用いた定量的全身オートラジオグラフィー試験で認められた ISL の分布と一致しており、高い AUC 曝露比においてラットの歯及び骨に毒性が認められた理由が説明されうる。

持続的に成長する切歯の所見はヒトの成人には外挿されないため、この所見を除きラットでの歯の所見に対する無毒性量は10 mg/kg/日（AUC 曝露比は529倍）であった。ラットでは切歯の変色及び破折がみられ、この所見は病理組織学的検査では切歯（10 mg/kg/日以上）及び臼歯（18 mg/kg/日以上）における象牙芽細胞の変性、エナメル芽細胞の細胞質減少と関連しており、50 mg/kg/日群では切歯の歯髄の炎症とも関連していた。ISL のラットの歯に対する影響は、4又は6ヵ月の回復期間後に回復し、無毒性量での AUC 曝露比は529倍以上であった。一度萌出した後は成長しないヒト成人の歯とは異なり、ラットの切歯は持続的に成長することから、ラットの切歯における所見はヒトには外挿されない。幼若ラットを用いた追加の試験では、50 mg/kg/日（AUC 曝露比は4,618倍）まで歯の発生又は一般状態への ISL に関連した影響は認められなかった。妊娠ラットに GD 6～LD 3に ISL を7 mg/kg/日まで投与し、その後出生児に直接 ISL を PND 4～20まで投与した試験では、ISL に関連した切歯萌出時期及び歯の構造への影響はみられず、歯の発達に関

する ISL の影響がないことが示唆された（児における AUC 曝露比は691倍）。

サルでは、慢性毒性試験において最高用量まで歯の所見は認められなかった。サルの歯の発達は進化学的にも解剖学的にもヒトに類似していることを考慮し、試験を通して CT 画像検査でサルに所見が認められなかったことに基づくと、ISL 投与によってヒトの歯に潜在的な影響が生じる可能性は低いと考えられる。さらに、CD-1マウス、rasH2野生型マウス及び rasH2トランスジェニックマウスを用いた同様の試験でも歯の所見は認められなかった。ラットを用いた慢性毒性試験のマイクロ CT 検査では、高い全身曝露量を示す用量（50 mg/kg/日、AUC 曝露比は4,363倍）に限定して病理組織学的変化を伴わない可逆的な骨密度の低下が認められた。以上の所見を総合すると、急速に成長するラットにおいて高い曝露量でのみ観察された歯及び骨密度の所見は、RHD の治療用量における曝露量ではヒトに対する毒性学的意義は低いと考えられる。

2.4.4.2.2.2　精巣毒性

ラットに ISL を50 mg/kg/日で2ヵ月間連日投与した高い AUC 曝露比（AUC 曝露比は4,363倍、TT #[redacted]-6011）において精巣毒性（精子／精上皮変性）が認められた。精子形成の増殖段階にあたる精原細胞及び初期段階の精母細胞には形態学的な影響はみられず、投与中止後に所見が回復する可能性が示唆された。この所見と一貫して、4ヵ月間の回復期間後には、精巣の病理組織学的所見の発現頻度及び程度に部分的な回復がみられ、関連して精巣重量のごく軽度の減少がみられた。50 mg/kg/日を約6ヵ月間投与したラットでは、精巣重量の減少を伴った精巣の所見は類似していたが、程度がより重度であった。18 mg/kg/日を約6ヵ月間投与したラットでは精巣の所見はみられなかった（AUC 曝露比は1,306倍）。さらに、雄ラット受胎能試験では、評価した最高用量（18 mg/kg/日、AUC 曝露比は1,306倍、TT #[redacted]-7030）まで交尾行動、受胎能及び胚／胎児生存率を含む ISL に関連した生殖毒性は認められなかった。

rasH2野生型マウスでは同様に精巣毒性が認められたが[2.4.4.2.1.2項]、CD-1マウス及びサルでは認められなかった。

以上より、精巣毒性は rasH2マウス及びラットで認められたが、高い曝露比でみられた所見に限定され、18 mg/kg/日以下の群（AUC 曝露比は1,306倍）のラットではみられておらず、雄受胎能にも影響を及ぼさず、また、サルでも同様の所見は認められなかった。したがって、精巣毒性が RHD において臨床上問題となる可能性は低いと考えられる。

2.4.4.2.2.3　脾臓の所見

6ヵ月間毒性試験で18 mg/kg/日以上の ISL を投与した群（AUC 曝露比は1,306倍以上）のラットに限定して、ヘモジデリンに一致した有害ではない脾臓での色素沈着の増加が認められた。ヘモジデリンは老齢ラットの脾臓で一般的にみられる。本所見は50 mg/kg/日を2ヵ月間投与したラットで最初に認められ（AUC 曝露比は4,363倍、TT #[redacted]-6011）、6ヵ月間投与終了時に発現頻度が上昇

したが、所見の性質及び程度は長期投与によっても進行せず、4ヵ月間の回復期間後に回復した。本所見に関連した血液学的パラメータの変化が認められなかったことから、本所見は有害ではないと考えられた。結論として、脾臓での色素沈着はラットで高い曝露量（18 mg/kg/日以上、AUC曝露比は1,306倍以上）のみで認められたことから、本所見が RHD において臨床上問題となる可能性は低いと考えられる。

2.4.4.2.2.4 最大耐量を超える投与量で行われた忍容性試験における他の毒性

2.4.4.2.2.4.1 ラットにおける消化管毒性

2.4.4.2.2.4.1.1 胃の所見

ISL の忍容性プロファイルの確認及び後の GLP 試験の用量選択のために実施したラットを用いた7日間及び5日間探索的用量制限毒性試験（TT #[redacted]-2513及び TT #[redacted]-1040）では、高い曝露比（投与量及び AUC に基づく）の連日経口投与により胃腺変性が認められた（100及び200 mg/kg/日、AUC 曝露比はそれぞれ6,783及び8,790倍）。ラットの胃の所見に関する無影響量は、ラットに6ヵ月間連日投与した慢性毒性試験の最高用量である50 mg/kg/日［AUC 曝露比は4,363倍、用量比ベース（体重50 kg）では10,000倍、TT #[redacted]-6011］であった。胃の所見は、用量比ベース［100 mg/kg/日以上の用量は RHD（ISL 0.25 mg、体重50 kg）と比較して20,000倍以上］及び AUC ベース（AUC曝露比は6,783倍以上）において非常に高い用量でのみ所見がみられたことから、ヒトへの外挿性は低いと考えられた。

同様に、サルを用いた10日間用量漸増経口投与毒性試験では高い AUC 曝露比において胃腺変性が認められた[2.4.4.2.3.3 項]。

ラット及びサルにおいて胃の変化が認められた高い用量（体重50 kg、RHD の20,000倍以上）及び AUC 曝露比（6,783倍以上）に基づくと、RHD における ISL の治療用量及び曝露量では、胃の所見が臨床上問題となる可能性は低いと考えられる。さらに、労働安全プログラムの一環としてウシ摘出角膜の混濁度及び透過性試験、並びに MatTek EpiDerm™ MTT 皮膚刺激性試験を実施し、ISL は非刺激性物質に分類された[2.4.4.6 項]。

2.4.4.2.2.4.1.2 最大耐量を超える用量で認められた肝胆道系の所見

ISL の忍容性プロファイルの確認及び後の GLP 試験の用量選択のために実施したラットを用いた5日間経口探索的用量制限毒性試験（TT #[redacted]-1040）では、200 mg/kg/日群（AUC 曝露比は8,790倍）でのみ体重減少を伴う肝胆道系毒性、並びに臨床検査及び病理組織学的検査における変化が認められた。最大耐用量を超える用量でみられた病理組織学的所見は、肝細胞変性、胆管上皮の過形成及び門脈周囲の炎症であり、これらに伴って重度の AST 及び ALT の増加（30～60倍）並びに中等度の総ビリルビンの増加が認められた。高い曝露比（AUC 曝露比は8,790倍）に基づき、これらの変化のヒトへの外挿性は低いと考えられた。このことは、ラット及びサル（それぞれ6ヵ月

間及び9ヵ月間まで投与）を用いた非臨床毒性試験（GLP）より、ラット及びサルでそれぞれ AUC 曝露比の4,363倍及び3,259倍まで肝胆道系毒性が認められなかったことからもさらに支持される。

2.4.4.2.2.5　DOR と ISL の併用投与

DOR（30 mg/kg/日、AUC 曝露比は4.2倍）及び ISL（最大3 mg/kg/日、AUC 曝露比は104倍）の毒性を、ラットを用いた1ヵ月間併用経口投与毒性試験において評価した。DOR 及び ISL の非臨床安全性プログラムにおいて重複した毒性がみられなかったことと一貫して、本試験においても DOR と ISL を併用投与した際に相加的若しくは相乗的な毒性、又は TK の相互作用の証拠は認められなかった。

2.4.4.2.3　サル

サルを用いた慢性毒性試験において AUC 曝露比で539倍（20 mg/kg/回、3日に1回投与）まで ISL を最長9ヵ月間反復経口投与した際、ISL の忍容性は良好であった。より高い AUC 曝露比において皮膚（3,259倍、100 mg/kg/回、3日に1回投与）及び骨髄（2,070倍以上、75 mg/kg/回以上、3日に1回投与）に標的臓器毒性が認められたが、標的臓器毒性がヒトで生じるリスクは低いと考えられた。また、他の所見としてサルを用いた探索的用量漸増経口投与毒性試験（10 mg/kg/日を3日間、30 mg/kg/日を4日間、75 mg/kg/日を3日間投与、75 mg/kg/日での AUC 曝露比は7,081倍）において胃の所見が認められたが、極めて高い曝露量でみられたことからヒトへの外挿性は低いと考えられた。

2.4.4.2.3.1　皮膚毒性

サルに限定して皮膚毒性がみられた。以下に示すように、皮膚毒性は9ヵ月間毒性試験において忍容性のない高用量で認められ、無毒性量は20 mg/kg/回（AUC 曝露比は539倍）であった。サルを用いた9ヵ月間毒性試験（TT #[redacted]-1068）では、高用量群（100 mg/kg/回、3日に1回投与、AUC 曝露比は3,259倍）において皮膚毒性が認められ、試験59又は63日に高用量群の複数例を早期に安楽殺した。一般状態所見として、指の疼痛、四肢の腫脹及び耳介における皮膚変色（紫色化）、耳介の疼痛が認められ、関連した病理組織学的所見として手足の背側及び指間皮膚又は耳介辺縁における限局的な慢性炎症がみられ、一部で関連する表皮の変化（表皮肥厚、びらん又は潰瘍）を伴っていた。関連する臨床検査値の変化として、デーレ小体の出現、フィブリノゲン及びグロブリンの増加、アルブミン及び／又は A/G 比の減少がみられた。サルにおいて試験59日に軽度のリンパ球数の減少が認められたが、試験63日の残りのサルでは観察されなかった。リンパ球数減少は明らかな毒性がみられた用量で認められたことからグルココルチコイド関連のストレス反応によるものと考えられた[4.3: 07XDNW] [4.3: 08NPTD]。しかしながら、ISL-TP がリンパ球数減少に直接的に影響した可能性も否定できなかった。血液学的検査における好中球及び単球の減少は、試

験63日の剖検時の骨髄の変化と関連していた。高用量群の残りの動物への投与は中止され、試験9週から回復期間を開始した。試験13週までに明らかな一般状態所見（雌2例の耳介における皮膚紫色化を除く）及び臨床検査所見は全て回復した。重要なこととして、剖検において真皮の限局性炎症は解剖学的に皮膚の非常に狭い範囲に限局していたことが確認され、その他の部位では炎症が認められず、また、細菌培養、直腸温及び病理組織学的検査では所見がみられなかったことから、感染症の証拠はみられなかった。20 mg/kg/回群で観察された耳介皮膚の変色は有害ではないと考えられため、無毒性量は20 mg/kg/回（3日に1回投与、AUC 曝露比は539倍）であった。皮膚に対する影響は3,259倍の AUC 曝露比でみられたことを考慮すると、RHD におけるヒトへの外挿性は低いと考えられる。

2.4.4.2.3.2 骨髄の所見

サルを用いた1ヵ月間毒性試験（TT #[redacted]-1063）の75 mg/kg/回群（3日に1回投与、AUC 曝露比は2,070倍）及びサルを用いた9ヵ月間毒性試験（TT #[redacted]-1068）で100 mg/kg/回（3日に1回投与、AUC 曝露比は3,259倍）を約2ヵ月間投与した際の骨髄塗抹標本において、成熟好中球及び有核正染性赤芽球サブセットに細胞の変化が認められたが、骨髄における細胞密度、赤芽球系及び骨髄系細胞の成熟度、並びに巨核球及び血小板はいずれも正常であった。その他の様々な造血系の細胞成分に特記すべき所見はみられなかった。骨髄塗抹標本検査において認められたわずかな変化は、骨髄の病理組織検学的検査及び末梢血塗抹標本の所見とは関連していなかったため、骨髄塗抹標本の所見は有害ではないと考えられた。

2.4.4.2.3.3 胃の所見

サルでは、10 mg/kg/日を3日間、30 mg/kg/日を4日間、75 mg/kg/日を3日間投与した10日間用量漸増毒性試験において胃腺変性が認められた（75 mg/kg/日：AUC 曝露比は7,081倍）。一方、最大75 mg/kg を3日に1回投与したサル1ヵ月間試験（AUC 曝露比は2,070倍）、20 mg/kg（3日に1回）を9ヵ月間（AUC 曝露比は539倍）及び100 mg/kg（3日に1回）を約2ヵ月間投与（AUC 曝露比は3,259倍）したサル慢性毒性試験では所見は認められなかった。それぞれの用量は、用量比ベースで ISL RHD（0.25 mg、体重 50kg）の15,000、4,000及び20,000倍に相当する。サルの胃の所見は用量比ベース［75 mg/kg/日、RHD（ISL 0.25 mg、体重 50kg）と比較して15,000倍］及び AUC ベース（AUC 曝露比は7,081倍）で非常に高い用量でのみみられたことから、これらの所見のヒトへの外挿性は低いと考えられた。同様に、ラットでは高い曝露比（用量及び AUC に基づく）で ISL を連日経口投与した際に胃腺変性が認められた[2.4.4.2.2.4.1.1 項]。

ラット及びサルの胃の所見がみられた高い用量（ヒト体重50kg と仮定した場合、用量比ベースで ISL RHD の20,000倍以上）及び AUC 曝露比（6,783倍以上）に基づくと RHD における用量及び曝露量では ISL はヒトで胃の毒性を引き起こさないと考えられる。さらに、労働安全プログラムの一環としてウシ摘出角膜の混濁度及び透過性試験、並びに MatTek EpiDerm™ MTT 皮膚刺激性

試験を実施し、ISL は非刺激性物質に分類された[2.4.4.6 項]。

2.4.4.3　遺伝毒性試験

2.4.4.3.1　In vitro

ICH S2(R1)（医薬品の遺伝毒性試験及び解釈に関するガイダンス）に従って実施された一連の in vitro 及び in vivo 試験結果に基づき、ISL はヒトへの使用に際して遺伝毒性リスクをもたらさないことが示された。

In vitro 変異原性試験（Ames 試験）において ISL は陰性であった。In vitro 染色体異常試験で ISL は陽性であったが、重要なこととして、ヌクレオシドアナログでは染色体異常の誘発がよく知られている[4.3: 03T473]。また、探索的及び in vivo ラット骨髄小核試験（GLP）では、十分な ISL 曝露比（AUC 曝露比は2,755倍以上）で ISL は陰性であった。

ISL-TP はリン酸化されたヌクレオチドアナログであり、in vitro 染色体異常試験で用いた高い濃度ではヌクレオチドプール不均衡を引き起こす可能性がある。イノシンはヌクレオチド合成前駆体であり、同様にヌクレオチドプール不均衡に影響を及ぼす可能性がある。ISL を用いた探索的染色体異常試験では、ヌクレオチドを適切なレベルに回復させるためにイノシンを添加した場合、ISL による染色体異常が改善されることが示された。このことから、ヌクレオシド／ヌクレオチドレベルの不均衡が ISL による in vitro 染色体異常の誘発に寄与している可能性が示唆された。ヌクレオシドアナログによる染色体異常誘発機序は、閾値が存在する又は用量反応性が非線形であると考えられており[4.3: 044KX8] [4.3: 04TXFV]、in vitro で所見のみられた濃度はヒトへのリスクには関連しないと考えられる。In vivo で実施した探索的及び GLP 適用ラット骨髄小核試験では、十分な曝露比（AUC 曝露比は2,755倍以上）で ISL は陰性であった。また、rasH2 トランスジェニックマウスを用いた6ヵ月間がん原性試験及びラット2年間がん原性試験（AUC 曝露比はそれぞれ729倍以下及び618倍以下）ではいかなる腫瘍形成の証拠もみられなかった。したがって、これらの in vitro での所見はヒトへのリスクには関連しないと考えられる。

2.4.4.3.2　In vivo

探索的及び GLP 適用 in vivo ラット骨髄小核試験では、十分な曝露比（AUC 曝露比は2,755倍以上）において ISL は陰性であった。

2.4.4.4　がん原性試験

ラットを用いた2年間がん原性試験及び rasH2 トランスジェニックマウスを用いた6ヵ月間がん原性試験の ISL の用量設定は、特別プロトコル評価プロセスを経て米国食品医薬品局（FDA）のがん原性評価委員会において承認されている。ISL はマウス及びラットがん原性試験においてそ

れぞれ AUC 曝露比の729倍及び618倍までがん原性を示さなかった。M4はマウス及びラットにおいても ISL の主要血中代謝物であることから、ISL を用いたがん原性試験では M4のがん原性プロファイルも評価された[2.4.4.7.5 項][2.6.6.8.5 項]。

2.4.4.4.1 長期がん原性試験

ラットに10 mg/kg/日までの用量を投与した2年間がん原性試験において、ISL に関連した腫瘍性所見は認められなかった。ISL に関連した非腫瘍性所見は10 mg/kg/日群のみにみられ、ほとんどの雌雄で切歯の赤色化並びに上顎及び／又は下顎切歯の破折が、また雄で軽度の体重増加量減少が認められた（試験102週に同時対照群と比較して-9%）。これらの変化は、先に実施した ISL のラットを用いた毒性試験（TT #[redacted]-6011及び TT #[redacted]-6005、[2.4.4.2.2.1 項]）でも観察された特徴が明らかで回復性のあるラット特異的な変化と類似していた。10 mg/kg/日群以上の群では腫瘍性所見が認められなかったことから、がん原性に関する無影響量は10 mg/kg/日以上（AUC 曝露比は618倍以上）であった。

2.4.4.4.2 短期又は中期がん原性試験

CByB6F1/Tg rasH2ヘミ接合体マウスを用いた26週間がん原性試験において、13 mg/kg/日まで ISL に関連した腫瘍性又は非腫瘍性所見は認められなかった。非腫瘍性所見及びがん原性に関する無影響量は13 mg/kg/日以上であった［AUC 曝露比は729倍以上、rasH2野生型マウス用量設定試験（TT #[redacted]-6002）の10 mg/kg/日群から外挿した AUC0-24（22.9 µM·hr）を用いて算出］。

2.4.4.4.3 その他の試験

標準的ながん原性試験において腫瘍性所見が認められなかったことから、がん原性評価に関連したその他の試験は実施しなかった。

2.4.4.5 生殖発生毒性試験

ISL を用いた生殖発生毒性試験として、ラットを用いた雌雄受胎能試験、ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生毒性試験、ラットを用いた乳汁移行性試験、ラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験、幼若動物を用いた忍容性試験並びにラットを用いた歯の発生に関する試験（ラットでみられた ISL による歯の所見について小児集団への外挿性をさらに評価）を実施した。ISL をラットに AUC 曝露比で1,306倍まで投与した際に、受胎能、交尾能及び初期胚発生に影響は認められなかった。ISL を AUC 曝露比でそれぞれ532倍から5,159倍（ラット）及び1,322倍（ウサギ）まで投与した際に、母動物毒性、胚・胎児発生（ラット及びウサギ）並びに出生前及び出生後の発生（ラット）への影響はみられなかった。ラットにおいて ISL は胎盤を

介して胎児に移行することが示されており（TT #[redacted]-7190、[2.4.3.3.3 項]）、ISL を授乳ラットに投与した際に哺乳児の血漿中から ISL が検出された（TT #[redacted]-7100、[2.4.3.5.2 項][2.4.4.5.3 項]）。M4 はラット及びウサギにおいて ISL の主要血中代謝物であることから、ISL を用いた生殖発生毒性試験では代謝物 M4の毒性プロファイルも評価した[2.4.4.7.5 項][2.6.6.8.5 項]。

2.4.4.5.1　受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

ISL を雌雄ラットに18 mg/kg/日（AUC 曝露比は1,306倍）まで経口投与した際に受胎能、交尾能、初期胚発生に影響は認められなかった。18 mg/kg/日群の雌雄でみられた一時的な平均体重増加量の減少に基づき、一般毒性に関する無影響量は10 mg/kg/日（AUC 曝露比は532倍）であった。

2.4.4.5.2　胚・胎児発生に関する試験

最終的な胚・胎児発生毒性試験において、妊娠ラット（GD 6～20に50 mg/kg/日まで投与、AUC 曝露比は5,159倍）及び妊娠ウサギ（GD 7～20に10 mg/kg/日まで投与、AUC 曝露比は1,322倍）に ISL を経口投与した。ラット及びウサギを用いた探索的胚・胎児発生及びラットを用いた反復投与毒性試験の結果に基づくと、胚・胎児発生毒性試験の最高用量は最大耐量であった。重要なこととしてラット及びウサギにおいて最高用量まで胚・胎児又は母動物への影響は認められなかった（AUC 曝露比はそれぞれ5,159及び1,322倍）。

2.4.4.5.3　出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

ISL を10 mg/kg/日まで GD 6～LD 20のラットに経口投与した。出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験では、母動物毒性及び離乳前又は離乳後の F1世代に対する ISL に関連した毒性は評価した最高用量まで（10 mg/kg/日、AUC 曝露比は532倍）認められなかった。また、出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験の試験条件を模倣した別の新生児ラットを用いた経口投与 TK 試験（TT #[redacted]-7100）では、授乳ラットに ISL 10 mg/kg/日を GD 6から LD 10まで投与した際、哺乳児（PND 10）の血漿中から ISL が検出され、LD 10の投与後1及び3時間における ISL の哺乳児／母動物血漿中濃度比はそれぞれ0.1%及び1.5%であり、ISL の乳汁を介した出生児への移行が示唆された[2.4.3.5.2 項]。

2.4.4.5.4　出生児（幼若動物）を用いた追加検討試験

歯の発生に対する潜在的影響を評価するために幼若ラットを用いた追加の試験を実施した。1試験目（TT #[redacted]-7035）では、ISL 3、10、25又は50 mg/kg/日を PND 4～20の幼若ラットに1日1回経口投与した際の忍容性及び TK プロファイル（PND 14）を評価した。ISL に関連した死亡、一般状態所見又は切歯の萌出への影響は評価した最高用量（50 mg/kg/日；曝露比は4,618倍）まで認められなかった。本試験の後、より完全な歯の発生及び TK を評価する試験をラットで実施した。2試験目

（TT #[redacted]-7130）では、妊娠ラット（F0世代）に GD 6～LD 3にかけて ISL を0.3、3又は7 mg/kg/日の用量で1日1回経口投与し、その後出生児（F1世代）に直接 ISL を PND 4～20まで投与した。切歯萌出時期に ISL に関連した影響は認められず、切歯、臼歯、上顎、下顎並びに各歯に隣接する上顎骨及び下顎骨にも肉眼的又は病理組織学的変化はみられなかった。そのため、ラットの歯の発生に関する ISL の影響は検討した最高用量（児における AUC 曝露比は691倍）まで認められなかった。

2.4.4.6　局所刺激性試験

反復経口投与毒性試験の一部として局所刺激性を評価した。ラット及びサルで認められた胃の毒性（胃腺変性）は限られた用量（ラットでは100 mg/kg/日以上、サルでは10 mg/kg/日を3日間、30 mg/kg/日を4日間及び75 mg/kg/day を3日間投与した用量漸増試験）及び RHD を十分に上回る曝露（AUC 曝露比は6,783倍以上）においてのみ認められた。これらの所見に対する考察は[2.4.4.2.2.4.1 項][2.4.4.2.3.3 項]に記述する。さらに、労働安全プログラムの一環としてウシ摘出角膜の混濁度及び透過性試験、並びに MatTek EpiDerm™ MTT 皮膚刺激性試験を実施し、ISL は非刺激性物質に分類された。

ラット及びサルで胃の所見は高い用量（ヒト体重50kg と仮定した場合、用量比ベースで ISL RHD の20,000倍以上）及び AUC 曝露比（6,783倍以上）でみられたこと、並びにウシ角膜の混濁度及び透過性試験、MatTek EpiDerm 試験の結果に基づき、結論として、RHD において ISL はヒトで局所刺激性を引き起こす可能性は低いと考えられた。

2.4.4.7　その他の毒性試験

2.4.4.7.1　抗原性／免疫原性

通常の反復投与毒性試験において、ISL の抗原性に起因すると考えられる所見又は変化は認められなかった。したがって、抗原性試験は実施しなかった。

2.4.4.7.2　免疫毒性

通常の反復投与毒性試験では、マウスにおけるリンパ球数の減少を除き、ISL に直接的な免疫毒性を示唆する所見は認められなかった。リンパ球数の減少はサルでも認められたが、所見がみられたのは明らかな毒性を伴う高い曝露に限られた。ラットでは、白血球数及びリンパ球数の増加が高い AUC 曝露比（4,363倍）で観察されたが、程度が小さく病理組織学的所見が認められなかったことから、毒性学的意義は低いと考えられた。したがって、ICH S8「医薬品の免疫毒性試験に関するガイドライン」に従い、in vivo 試験ではマウスを用い、免疫毒性を評価する一連の非臨床試験を実施した。評価には以下が含まれる。

- 血液学的検査、血液生化学検査、臓器重量、病理組織学的検査及び毒性試験での感染症の明らかな増加に関するデータの評価
- 用量／曝露関係及び回復性を評価する in vivo 探索的試験
- リンパ球サブセットを評価するイムノフェノタイピング試験
- 代謝プロファイル、DNA ポリメラーゼ阻害、リンパ球活性化並びに増殖及びアポトーシスに及ぼす影響を検討するための機序検討試験

総合的なデータ評価から、RHD での ISL 及び ISL-TP 濃度では、複数の感度の高い免疫毒性学的評価項目に免疫毒性の証拠は認められないことが示唆された。これらのデータから、臨床で 0.75 mg 以上の用量の ISL を1日1回投与した際にみられた ISL による総リンパ球数及びリンパ球サブセット数の減少は、NNRTI の併用投与の影響によるものではなく、ISL と同程度の TP 濃度においてヌクレオシド／ヌクレオチドアナログ（3TC、FTC、ABC 及び TAF）で全般にみられるリンパ球の増殖に対する影響と類似しており、予測可能な閾値のある濃度に起因した現象と考えられた。

ISL の反復投与毒性試験の結果から、ラット及びサルの AUC 曝露比でそれぞれ4,363倍及び539倍まで免疫抑制、炎症性の有害所見及びリンパ組織での有害所見は認められなかった。マウスでは、RHD を上回る AUC 曝露比においてリンパ組織の萎縮（AUC 曝露比は243倍以上）、リンパ球数減少（AUC 曝露比は65倍以上）並びに脾細胞での B 細胞及び T 細胞活性化の抑制（AUC 曝露比はそれぞれ243倍及び1,783倍以上）が認められた。サルでは、過度な毒性がみられた AUC 曝露比（3,259倍）において皮膚の炎症、骨髄への影響及びリンパ球を含む白血球の減少が認められた。

リンパ球数の減少はサルでも認められたが、所見がみられたのは明らかな毒性を伴う高い曝露（AUC 曝露比は3,259倍）に限られ、グルココルチコイド関連のストレス反応によるものと考えられた[4.3: 07XDNW] [4.3: 08NPTD]。しかしながら ISL-TP がリンパ球数減少に直接的に影響した可能性も否定できなかった。サルでみられた皮膚毒性は高用量群（100 mg/kg、3日に1回投与、AUC 曝露比は3,259倍）に限定してみられたが、細菌培養、直腸温及び病理組織学的検査では所見がみられなかったことから、これらの動物に感染症の証拠は認められなかった。重要なことに、サルを用いた慢性毒性試験では、無毒性量であるより低い忍容用量（20 mg/kg、3日に1回投与、AUC 曝露比は539倍）及び十分な曝露量で、炎症性所見、リンパ系組織の重量及び／又は病理組織学的所見、皮膚、骨髄への影響、リンパ球数の減少並びに血液学的変化は認められなかった。同様に、ラットでは慢性毒性試験で評価した最高用量（50 mg/kg/日、AUC 曝露比は4,363倍）まで、顕著な炎症性所見、リンパ系組織の変化及びリンパ球数の減少はみられなかった。

CD-1マウス（TT #[redacted]-1020）及び rasH2野生型マウス（TT #[redacted]-6002）を用いた3ヵ月間毒性試験、マウスイムノフェノタイピング試験（TT #[redacted]-1015）、ラットを用いた6ヵ月間毒性試験（TT #[redacted]-6011 及び TT #[redacted]-6005）、サルを用いた9ヵ月間試験（TT #[redacted]-1068）では感染症は認められず、マウスを用いた6ヵ月間がん原性試験（TT #[redacted]-9007）及びラットを用いた2年間がん原性試験（TT #[redacted]-1043）

では感染症及び腫瘍発現率の上昇も認められなかったことから、ISL は免疫機能に影響を及ぼさないことが示唆された。さらに、ヒトに ISL を投与した際にも他の投与群と比較して感染症発生率の上昇は観察されなかった。

ISL は骨髄造血幹細胞（リンパ系前駆細胞及び骨髄系前駆細胞並びに最終的には全ての成熟血球細胞系列に分化）に影響を与えなかった[2.4.4.7.2.1 項]。マウスでは造血幹細胞に対する影響が認められなかったことと一貫して、マウスでのリンパ球系細胞集団に対する ISL 関連の影響は、12週間の回復期間後に回復性が示された（TT #[redacted]-1015）。同試験では、[redacted]（[redacted]）と ISL の併用投与により、末梢血及び脾臓の総リンパ球数又はリンパ球サブセット数において、ISL に関連した減少の増悪は認められなかった。

動物を用いた試験に加えて、ISL がヒトリンパ球のアポトーシス、活性化及び機能に及ぼす潜在的な影響を in vitro で評価するため、アポトーシス細胞（アネキシン V）及び増殖誘導による細胞活性化（Ki67）をフローサイトメトリーを用いて定量した[4.2.1.2.12: PD029] [2.6.2.3.2.6 項]。また、抗体及びサイトカイン産生並びに pan-T 細胞活性化を in vitro で検討し、ISL が B 細胞及び T 細胞の機能に及ぼす潜在的な影響を評価した。これらの実験では、1 μM 以下の in vitro 濃度（ISL-TP 濃度は300μM 未満に相当）では、ISL はリンパ球のアポトーシス、増殖誘導活性化又は機能に影響を及ぼさなかった。重要なこととして、ISL 0.75 mg（以前ヒトでリンパ球数減少がみられた用量）と DOR 100 mg を1日1回併用投与を受けた HIV-1血清反応陽性の臨床試験参加者から採取した PBMC では、ビクテグラビル／FTC／TAF（50/200/25 mg）を1日1回投与した臨床試験参加者と比較した際に免疫機能に影響を及ぼさなかった[4.3: 08CFSY]。

TK6細胞を用いた in vitro 探索的試験から、臨床試験でみられた ISL によるリンパ球数減少には、ISL-TP による DNA 複製及び細胞分裂に関与する酵素である DNA ポリメラーゼ α の阻害作用が寄与している可能性が示唆された。DNA ポリメラーゼ α の阻害は ISL に固有のものではなく、他のヌクレオシド／ヌクレオチドアナログ（3TC、FTC、ABC 及び TAF）も DNA ポリメラーゼ α の阻害作用を有し[4.3: 03W0NT] [4.3: 08PFDR] [4.3: 080P9Y] [4.3: 080P9L]、同程度の等モル換算した TP 濃度で TK6細胞の増殖抑制が認められている[2.6.2.3.2 項]。

これらの試験における血液学的検査、臓器重量、剖検及び病理組織学的評価、並びに in vitro 及び in vivo 試験結果を総合すると、ISL は RHD において免疫毒性の懸念を示さないことが示唆された。マウス及びヒトではリンパ球数の減少が認められたが、これらの減少は RHD の ISL-TP 濃度（平均 ISL-TP Cmax は約9 μM、009試験の PK データに基づく[2.7.2.2.1.3 項]）と比較して高い PBMC 中 ISL-TP 濃度（Cmax は約30 μM 以上）で認められた。第III相試験（051試験及び052試験）では ISL が RHD（0.25mg、1日1回）において総リンパ球数及びリンパ球サブセット数の減少を引き起こさないことが確認された。さらに、ISL を投与した動物では感染症及び腫瘍発現率の上昇は認められず、ヒトでも他の投与群と比較して ISL 投与群で感染症発生率の上昇は認められなかったことから、ISL は免疫機能を阻害しないことが示唆された。したがって、これまでの結果を総合的に評価した結果、免疫毒性の懸念は示唆されなかった。

2.4.4.7.2.1 造血幹細胞に対する毒性は ISL によるリンパ球及び CD4+T 細胞数減少の機序に寄与しない

利用可能な非臨床データから ISL は骨髄造血幹細胞（リンパ系前駆細胞及び骨髄系前駆細胞並びに最終的には全ての成熟血球細胞系列に分化）に影響を与えなかったとの結論に至った。以降に示すように、造血幹細胞に対する影響の証拠がみられなかったことと一貫して、マウスでの ISL に関連したリンパ球系細胞集団への影響は12週間の回復期間後に回復性がみられた。

マウス、ラット及びサルの病理組織学的検査では、評価した最高用量まで［最高用量及び AUC 曝露比はそれぞれ rasH2野生型マウスでは35 mg/kg/日及び2,239倍（TT #[redacted]-6002）、CD-1マウスで45 mg/kg/day 及び1,783倍（TT #[redacted]-1020）、ラットでは50 mg/kg/day 及び4,363倍（TT #[redacted]-6011）並びにサルでは100 mg/kg/日及び3,259倍（TT #[redacted]-1068）］骨髄における幹細胞への影響又は前駆細胞の変化を示唆する所見は認められなかった。

より高い用量及び曝露量でみられた所見又はサルでの明らかな毒性に関連した所見の毒性学的意義は低いと考えられた。特に、骨髄の変化はサルを用いたより短期間の1ヵ月間毒性試験（TT #[redacted]-1063）の高い全身曝露量（75 mg/kg/回、AUC 曝露比は2,070倍）及びサルを用いた慢性毒性試験（TT #[redacted]-1068）の高用量群の早期安楽殺動物でのさらに高い非忍容用量／曝露量において（100 mg/kg/回、3日に1回投与、AUC 曝露比は3,259倍）みられた骨髄塗抹標本での成熟好中球及び正染性赤芽球サブセットの変化に限定された。骨髄における細胞密度、赤芽球系及び骨髄系（顆粒球及び単球）の成熟度、並びに巨核球及び血小板はいずれも正常であったことから、本所見は成熟細胞のみで観察される所見であり、血球細胞系列の成熟度には影響しないことが示唆された。

非臨床試験での明らかな血液学的変化はマウスにおけるリンパ球数の減少のみであり、他の動物種における他の成熟血球細胞の減少は認められなかった［ただしサルで明らかな毒性のみられた用量である100 mg/kg/回（3日に1回投与）は除く］。また、このことは骨髄の病理組織学的検査及び／又は細胞学的検査ではいずれの骨髄細胞の増殖、成熟及び細胞密度に対する変化、並びに影響を示唆する所見はみられなかったことと一貫していた。他の骨髄系細胞サブセット（顆粒球、単球、赤芽球及び巨核球）の減少は認められなかったことから、ISL による造血幹細胞に対する影響はないことが示唆された。また、上記の考察と一貫してマウス試験（TT #[redacted]-1015）でみられたリンパ球数の減少は完全な回復性がみられた。

臨床試験における血液学的検査の変化は、ISL を1日1回0.75 mg 以上の用量で投与した際の総リンパ球数及びリンパ球サブセット数の減少のみであり、RHD（0.25 mg、1日1回）では認められなかった。臨床試験では ISL 投与を中止した後に、用量依存的な総リンパ球数及びリンパ球サブセット数の回復性が認められた[5.3.5.1.13: 08L2VG]。

2.4.4.7.2.2　フローサイトメトリーを用いたマウス局所リンパ節試験（TT #[redacted]-7827）

労働安全プログラムの一環として、マウスを用いた局所リンパ節試験を実施した。DMSO に溶解した ISL 5%、10%、25% (w/v)を局所適用した結果、刺激指数はそれぞれ2.2、2.0、4.0であり、陽性対照群の値は9.3であった。25% (w/v)での刺激指数は3.0以上であったことから、ISL は皮膚感作性物質であると考えられた。

2.4.4.7.3　メカニズム試験

ISL の作用機序（HIV-1逆転写酵素阻害）並びに ISL 及び ISL-TP のオフターゲット活性を薬理試験の一部として評価した[2.6.2.3.1 項]。

臨床試験において0.75 mg 以上の用量の ISL を1日1回投与した際に総リンパ球数及びリンパ球サブセット数の減少が認められたため、PBMC 及び TK6細胞を用いた ISL の in vitro 検討試験を実施し、リンパ球数減少の機序を検討した[2.6.2.3.2 項]。また過去に実施した CD-1マウス試験で認められたごく軽度から中等度のリンパ球数の減少について検討するため、マウスを用いた検討試験（2試験）を臨床と同程度の PBMC 中 ISL-TP 濃度で実施した。これらの試験結果から、リンパ球に ISL-TP が選択的に蓄積することで、高い ISL-TP 濃度において細胞増殖抑制及びアポトーシスが誘導されるという結論が支持された。ポリメラーゼ α に対する ISL-TP の阻害作用（IC_{50} = 29.6 μM）を示した in vitro における IC_{50}（IC_{50} = 29.6 μM）から、本濃度を超える ISL-TP 濃度による DNA ポリメラーゼ α（DNA 複製及び細胞分裂に関与する酵素）の阻害作用が細胞増殖抑制及びアポトーシスの誘導に寄与している可能性が示唆された。DNA ポリメラーゼ α の阻害は ISL に固有のものではなく、他のヌクレオシド／ヌクレオチドアナログ（3TC、FTC、ABC 及び TAF）も DNA ポリメラーゼ α の阻害作用を有し[4.3: 03W0NT] [4.3: 08PFDR] [4.3: 080P9Y] [4.3: 080P9L]、同程度の等モル換算した TP 濃度で TK6細胞の増殖抑制が認められている[2.4.4.2.1.1 項][2.6.2.3.2 項]]。

2.4.4.7.4　依存性試験

ISL のターゲットである HIV-1逆転写酵素は哺乳類において内因性に存在せず、ISL 又はその主要血中代謝物である M4の薬理学的プロファイルからは、薬物乱用の可能性は示唆されなかった。また、[^{14}C]標識 ISL の組織分布に関して中枢神経系における[^{14}C]標識 ISL 関連物質の濃度は低かった。ラット及びサルに[redacted]標識 ISL をマイクロドーズで静脈内投与した際に、両動物種の脳において[redacted]標識 ISL 関連物質の高い濃度での分布は認められなかった。また、FOB 評価の一部として実施したラットの神経行動学的検査では中枢神経系作用及び薬物乱用における潜在的リスクはみられなかった[2.6.2.4 項]。さらに、ラット及びサルを用いた最長6ヵ月及び9ヵ月間の反復投与毒性試験では、いずれの用量でも中枢神経系の投与期間中検査所見及び病理組織学的所見は認められず、向精神作用（すなわち、鎮静又は刺激作用）の証拠も認められなかった[2.6.6.3 項]。した

がって、動物を用いた薬物乱用に関する試験は実施していない。

2.4.4.7.5　代謝物

ヒトで同定された唯一の ISL の主要血中代謝物は M4であった。M4は酸化的脱アミノ反応により生成され、マウス、ラット、ウサギ及びサルでも主要な血中代謝物として同定された。

M4の in vitro 抗ウイルス活性[2.4.2.1.1 項]及びオフターゲット活性[2.4.2.2 項]を評価した。M4は野生型 HIV-1及び既承認の NRTI に耐性を示す HIV-1変異株に対して弱い抗ウイルス活性を示した。M4は増殖性細胞株及び初代培養細胞に対して細胞毒性を示さず、臨床上のリスクとなるような M4及び M4-TP のオフターゲット活性は特定されなかった。

M4はマウス、ラット、ウサギ及びサルでも主要な血中代謝物として同定され、M4代謝物の毒性及びがん原性は、マウス、ラット及びサルを用いた ISL の反復投与毒性試験、マウス及びラットを用いたがん原性試験、並びにラット及びウサギを用いた ISL の生殖発生毒性試験の一部として評価した。主要な非臨床安全性試験の無毒性量における M4曝露量を[2.6.6.8.5 項]に示す。いずれの試験でも、動物における M4曝露量は RHD におけるヒト平均 M4曝露量（0.75 nM）を大幅に上回っていた（223倍以上）。したがって、追加の代謝物に関する試験は実施しなかった。M4のヒトに対する動物の曝露比を[2.6.6.8.5 項]に示す。

結論として、ヒトで同定された唯一の主要血中代謝物（M4）は非臨床安全性試験において十分に評価されており、マウス、ラット、ウサギ及びサルを用いた非臨床安全性試験では、ヒト ISL RHD で予想される濃度を十分に上回る濃度の M4が検出された。

2.4.4.7.6　不純物

ICH Q3A(R2)ガイドラインに従い、3ヵ月間不純物評価毒性試験（TT #[redacted]-1000及び TT #[redacted]-1013）で使用した ISL ロット中に存在する不純物から、ISL 原薬の不純物の安全性を評価した。さらに ICH Q3B(R2)ガイドラインに従い、製剤の分解生成物である[redacted]の評価も行った。各 ISL 関連の原薬由来不純物及び製剤の分解生成物について、安全性が確認された量とヒト1日投与量（0.25 mg）に含まれる不純物量の用量比を[2.6.6.8.6 項]に示す。

さらに、ISL の潜在的及び実際の不純物及び分解生成物について、ICH M7ガイドラインに従って変異原性の評価を行い、その結果を[3.2.S.3.2 項]（原薬）及び[3.2.P.5.5 項]（製剤）に示す。ICH M7ガイドラインの注1に基づくと、不純物の量がいずれも1 mg/日未満であったことから、さらなる遺伝毒性試験は実施しなかった。

2.4.4.7.7　その他

2.4.4.7.7.1　光毒性

ICH S10ガイダンス（医薬品の光安全性評価ガイドライン）に基づき、ISL は290～700 nm の光を吸収せず、モル吸光係数は1,000 L mol-^{1} cm^{-1}未満（TT #[redacted]-7834）であることから、光毒性試験は必要ない。したがって、ガイダンスで設定された基準に従い光反応性又は光毒性に関する更なる評価は実施しなかった。

2.4.4.7.7.2　TK 試験

反復投与毒性試験、がん原性試験及び生殖発生毒性試験の種選択及び用量設定のため、マウス、ラット、サル及び非妊娠ウサギを用い TK 試験を実施した。ISL に関連した顕著な毒性は認められなかった。

2.4.4.7.7.3　その他の併用投与試験

ISL と他の開発中の抗レトロウイルス薬［[redacted]（[redacted]）、[redacted]（[redacted]）又は[redacted]（[redacted]）］との併用投与による TK 及び毒性試験も実施した。懸念される相加的若しくは相乗的な毒性、又は TK の相互作用は認められなかった。これらの試験において ISL に新たな毒性はみられず、試験結果は DOR/ISL の併用投与に関連するものではなかった。

2.4.5　総括及び結論

2.4.5.1　DOR

DOR は本邦、米国、欧州、カナダ及び他の国々で HIV-1感染症の治療薬として承認されている。詳細な非臨床薬理学的、薬物動態学的、毒性学的プロファイルは DOR の初回製造販売承認申請資料[eCTD 受付番号310828004、2.4 項、2.6 項及び4 項]に記載している。

2.4.5.2　ISL

ISL は、内因性の細胞内キナーゼを介して薬理活性を有する三リン酸（ISL-TP）に変換される NRTTI である。ISL は in vitro で HIV-1逆転写酵素の活性を強力に阻害し、主にウイルスのプライマー／鋳型に沿った HIV-1逆転写酵素のトランスロケーションを阻害することで逆転写を阻害する。トランスロケーションが生じた場合、伸長するウイルス DNA 鎖に1つのヌクレオチドが付加され、遅延型のチェーンターミネーターとして作用することで逆転写を阻害する。ISL は検討した逆転写酵素領域に耐性関連置換を有する M184I 及び M184V を含むいずれの変異株に対しても強力な阻害作用を示したことから、他のヌクレオシドアナログとは異なる。耐性選択試験では ISL の高い耐性出現に対するバリアが示された。ISL の RHD である0.25 mg を1日1回投与した際の曝

露は[2.7.2.1 項]、広範な HIV-1のサブタイプ及び M184I 及び M184V を含む変異に対して抗ウイルス作用を示すと予想される。

マウス、サル及びヒト血液を用いた in vitro 試験において、ISL は PBMC 中で活性体である ISL-TP に効率的にリン酸化されることが示された。ISL-TP は細胞内で認められたが、細胞外では検出されなかった。In vitro で示された ISL の強力な抗ウイルス活性は、in vivo SIV 感染アカゲザルモデルにおいても確認された。

ISL 又は ISL-TP を用いた in vitro 試験の結果から、RHD におけるオフターゲット活性による臨床上のリスクは予想されない。また、ISL は検討した全てのクラスの既承認抗レトロウイルス薬に対して相加的な抗ウイルス活性を示し、拮抗作用は認められなかった。ISL-TP はヒト DNA ポリメラーゼ β 及びヒトミトコンドリア DNA ポリメラーゼ γ に対して阻害作用を示さず、ヒト DNA ポリメラーゼ α に対しては弱い阻害作用（IC_{50}＝29.6 μM）を示した。ISL は in vitro でミトコンドリア DNA／核 DNA 比に影響を及ぼさなかったことから、ミトコンドリア毒性のリスクは低いことが示唆された。

確立された安全性薬理モデルを用いた試験結果から、ISL の呼吸系、心血管系及び中枢神経系に対する懸念すべき影響は認められなかった。

ISL の吸収、分布、代謝及び消失は一連の in vitro 試験及び in vivo 試験で評価した。非臨床動物種での ISL の薬物動態について、CLp は中程度又は大きい、Vdss は概して中程度、半減期は0.7～6.3時間であった。ラットにおける[^{14}C]ISL の組織分布を定量的全身オートラジオグラフィーで測定した。[^{14}C]ISL 関連物質は全身に広範に分布し、消失は速やかであり、体内での顕著な滞留はないことが示された。また、[^{14}C]ISL 関連物質は、メラニンへ可逆的に結合することが示唆されている。[redacted]ISL を静脈内投与した際、ラット及びサルのいずれにおいても、脳では[redacted]ISL 関連物質の放射能は検出されなかった。各非臨床動物種における ISL の血漿蛋白質に対する結合率は低く、濃度依存的な結合を示さなかった。血球移行率（血液／血漿中濃度比）は1.1～1.3であった。

非臨床動物種及びヒトで、ISL は主に未変化体の腎排泄と M4への酸化的脱アミノ反応を介して消失した。ヒト血漿中の主要な ISL 関連物質は ISL と M4であり、M4はマウス、ラット、ウサギ及びサル血漿中でも認められた。ヒト PBMC 及び MT-4 GFP 細胞において、HIV-1の野生型に対する M4の抗ウイルス活性は ISL より弱く、それぞれ約1/9000及び1/7000倍に相当した。初代培養細胞や増殖性細胞株に対し、M4は細胞毒性は示さず、臨床的なリスクを引き起こすと考えられる M4 や M4-TP のオフターゲット活性は特定されなかった。M4は非臨床動物種において血中の主要な代謝物であり、ISL の心血管系の安全性、一般毒性、生殖毒性及びがん原性を評価する試験で、M4の毒性プロファイルも評価したが、臨床的に重要な所見は認められなかった。

主要な薬物トランスポーターとの in vitro での評価において、ISL は BCRP に対してのみ基質となることが示されたものの、BCRP に関する報告[4.3: 08RGJ3] [4.3: 05LFJQ] や ISL の体内動態に基づくと、ISL が BCRP を介した薬物相互作用を受ける可能性は低いと考えられる。また in vitro

データから、dCK の高親和性基質と併用した際、ISL は dCK を介した相互作用を受ける可能性が示唆された。これらの in vitro 試験の結果は、臨床試験（058試験）において、3TC が ISL-TP の曝露量に影響を及ぼしたことと一貫している[2.7.2.2.3.1.3 項]。

非臨床動物種及びヒトで ISL の PBMC 中への取込みは良好であり、PBMC 中で同化物である ISL-MP、ISL-DP、ISL-TP へ効率的にリン酸化された。

ISL の毒性プロファイルを確立し、HIV-1感染症患者での長期使用を支持するために ISL の包括的な非臨床毒性試験プログラムを実施した。これらの試験では RHD のヒトでの曝露量を大きく上回る全身曝露量を達成しており、頑健な ISL の毒性プロファイルの評価を行った。また、ラットを用いた ISL と DOR の1ヵ月間併用投与毒性試験を実施した。ヒトで同定された唯一の主要血中代謝物（M4）は、マウス、ラット、ウサギ及びサルにおいても主要血中代謝物であり、代謝物に関する評価も行った。さらに、ISL の臨床試験で認められたリンパ球数減少に関する機序を検証するため追加の in vitro 及び in vivo 試験（マウスを用いた ISL-TP を評価する7日間 TK 試験及び10週間イムノフェノタイピング試験）を実施した。

ISL の AUC と Cmax に関して、RHD 0.25 mg で1日1回投与した際のヒト曝露量と重要な毒性試験における動物での曝露量の比（動物／ヒト）を[表 2.4-1]に示す。総じて、毒性試験の無毒性量での ISL 曝露は RHD におけるヒト曝露量を上回っていた。M4のヒトに対する動物の曝露比を[2.6.6.8.5 項]に示す。

表 2.4-1 重要な試験における ISL の全身曝露比

Study Type	Species and Studies	Dose Level (mg/kg/day)	AUC0-24 (h*µM)	AUC EM[a]	Cmax (µM)	Cmax EM[b]
Repeat Dose Toxicity	3-Month Dose Range-Finding Study in CD-1 Mice (TT #[redacted]-1020)	3.5	2.05	65-fold	1.58	458-fold
		10	7.63	243-fold	6.20	1797-fold
		22	23.3	742-fold	13.3	3855-fold
		45 (NOAEL)	56.0	1783-fold	33.4	9681-fold
	3-Month Dose Range-Finding Study in rasH2 WT Mice (TT #[redacted]-6002)	3.5	4.53	144-fold	3.25	942-fold
		10	17.6	561-fold	9.90	2870-fold
		18 (NOAEL)	33.3	1061-fold	18.5	5362-fold
		35	70.3	2239-fold	37.8	10957-fold
	29-Day Toxicity Study in Rats (TT #[redacted]-1075)	3	2.75	88-fold	1.45	420-fold
		10	12.4	395-fold	4.88	1414-fold
		50 (NOAEL)[c]	86.5	2755-fold	18.9	5478-fold
	First 6-Month Chronic Toxicity Study in Rats (TT #[redacted]-6011)	3 (NOEL)	3.73	119-fold	1.43	414-fold
		10 (NOAEL)[c]	16.6	529-fold	4.05	1174-fold
		50	137	4363-fold	22.0	6377-fold
		1	1.14	36-fold	0.516	150-fold

	Second 6-Month Chronic Toxicity Study in Rats (TT #[redacted]-6005)	3 (NOEL)	4.32	138-fold	1.58	458-fold
		18	41.0	1306-fold	8.92	2586-fold
	1-Month (Combination with DOR) in Rats (TT #[redacted]-1012)	3 (NOEL)	3.45	110-fold	1.42	412-fold
		1 + 30 DOR	0.916	29-fold	0.339	98-fold
		3 + 30 DOR (NOAEL)	3.27	104-fold	1.19	345-fold
Study Type	**Species and Studies**	**Dose Level (mg/kg/q3d)**	**AUC0-72 (h*µM)**	**AUC EM[d]**	**Cmax (µM)**	**Cmax EM[b]**
Repeat Dose Toxicity. Continued	28-Day Toxicity Study in Monkeys (TT #[redacted]-1063)	5	9.40	100-fold	2.38	690-fold
		20	37.4	397-fold	8.41	2438-fold
		75 (NOAEL)	195	2070-fold	31.6	9159-fold
	9-Month Chronic Toxicity Study in Monkeys (TT #[redacted]-1068)	5	9.64	102-fold	1.55	449-fold
		20 (NOAEL)	50.8	539-fold	11.2	3246-fold
		100	307[e]	3259-fold	37.6	10899-fold
Study Type	**Species and Studies**	**Dose Level (mg/kg/day)**	**AUC0-24 (h*µM)**	**AUC EM[a]**	**Cmax (µM)**	**Cmax EM[b]**
Carcinogenicity	6-Month Carcinogenicity with TK in Tg rasH2 Mice (TT #[redacted]-9007)	1.5	1.94[f]	62-fold	1.39[f]	403-fold
		4	5.18[f]	165-fold	3.71[f]	1075-fold
		13 (NOEL)	22.9[f]	729-fold	12.9[f]	3739-fold
	2-Year Carcinogenicity with TK in Rats (TT #[redacted]-1043)	1	1.08	34-fold	0.497	144-fold
		3	4.27	136-fold	1.58	458-fold
		10 (NOAEL)[c]	19.4	618-fold	5.42	1571-fold
Developmental and Reproductive Toxicity	Fertility (Female and Male) in Rats (TT #[redacted]-7030)	1	1.14[g]	36-fold	0.516[g]	150-fold
		3	3.22[h]	103-fold	1.39[h]	403-fold
		10	16.7[h]	532-fold	4.73[h]	1371-fold
		18 (NOAEL)[i]	41.0[g]	1306-fold	8.92[g]	2586-fold
	EFD Toxicity & TK in Rats (TT #[redacted]-7080)	3	3.22	103-fold	1.39	403-fold
		10	16.7	532-fold	4.73	1371-fold
		50 (NOAEL)[i]	162	5159-fold	21.7	6290-fold
	EFD Toxicity & TK in Rabbits (TT #[redacted]-7040)	1	3.99	127-fold	0.966	280-fold
		3	11.5	366-fold	3.48	1009-fold
		10 (NOAEL)[i]	41.5	1322-fold	10.5	3043-fold
	PPND in Rats (TT #[redacted]-7080)	1	1.14[g]	36-fold	0.516[g]	150-fold
		3	3.22[h]	103-fold	1.39[h]	403-fold
		10 (NOAEL)[i]	16.7[h]	532-fold	4.73[h]	1371-fold
	Tooth Development & TK at PND 14 in Rats (TT #[redacted]-7130)	0.3	0.771	25-fold	0.202	59-fold
		3	9.24	294-fold	2.62	759-fold
		7 (NOAEL)[i]	21.7	691-fold	4.92	1426-fold

AUC0-X=area under the concentration-time curve from time 0 to X hours; Cmax=observed maximum concentration;

DOR=doravirine; EFD=embryo-fetal development(al); EM=exposure multiple; h=hour(s); ISL=islatravir; NOAEL=no observed adverse effect level; NOEL=no observed effect level; PK=pharmacokinetic(s); PND=postnatal day; PPND=pre and post-natal developmental; q3d=once every 3 days; qd=once daily; RHD=recommended human dose; TK=toxicokinetic(s); WT=wild type.

a. AUC EMs for mice, rats, and rabbits were calculated by dividing the corresponding ISL AUC0-24h exposure from the animal studies by the geometric mean human steady state plasma AUC0-24h of 0.0314 h*μM projected by the population PK model for the RHD of 0.25 mg qd [2.7.2.3.1 項].
b. Cmax EMs were calculated by dividing the corresponding Cmax concentration from the animal studies by the geometric mean human steady state plasma Cmax of 0.00345 μM projected by the population PK model for the RHD of 0.25 mg qd [2.7.2.3.1 項].
c. NOAEL excluding findings in continuously growing incisors, which are not relevant for the human adult population, because rat teeth, unlike erupted adult human teeth, are continuously growing.
d. AUC EMs for the monkey study were calculated by dividing the corresponding ISL AUC0-72h exposure for the monkey by the projected geometric mean human steady state plasma exposure over 3 days, AUC0-72h (AUC0-24h [0.0314 h*μM] × 3 doses=0.0942 h*μM) for the RHD of 0.25 mg qd, as monkeys were dosed q3d.
e. TK value from Study Day 1 was used for the 100 mg/kg dose because only AUC0-48h was collected on Study Day 61 due to early termination of the animals.
f. TK values for 1.5 and 4 mg/kg/day are extrapolated from the 3.5 mg/kg/day dose in the 3-month mouse toxicity study (TT #[redacted]-6002 [2.6.7.7.A 項]). TK values for 13 mg/kg/day are extrapolated from the 10 mg/kg/day dose in the 3-month mouse toxicity study (TT #[redacted]-6002 [2.6.7.7.A 項]).
g. TK values from the 6-month rat toxicity studies (TT #[redacted]-6011 [2.6.7.7.D 項] and TT #[redacted]-6005 [2.6.7.7.E 項]).
h. TK values from the EFD toxicity and TK study in rats (TT #[redacted]-7080 [2.6.7.13.A 項]).
i. In the pivotal developmental and reproductive toxicity studies the NOAEL listed is for both maternal and developmental toxicity.

CD-1マウス及び rasH2野生型マウスを用いた反復投与毒性試験では、末梢血リンパ球数の減少（関連する脾臓のリンパ組織の萎縮に関連）が認められた。反復投与毒性試験で特定されたその他の標的臓器［歯、骨及び脾臓（ラット）、精巣（マウス及びラット）並び皮膚及び骨髄（サル）］は無毒性量での高い安全域（AUC 曝露比は529倍以上）に基づき、標的臓器毒性がヒトで生じるリスクは低いと考えられた。用量設定／用量制限毒性試験（非 GLP）では、さらなる所見として最大耐量を超える用量（AUC EM は6,783倍以上）で肝臓（ラット）及び胃（ラット及びサル）に所見が認められたが、臨床上問題となる可能性は低いと考えられた。ラット及びサルの慢性毒性試験での無毒性量における AUC 曝露比は、それぞれ529倍及び539倍であった。rasH2マウス及びCD-1マウスの3ヵ月間毒性試験における無毒性量での AUC 曝露比は、それぞれ1,061倍及び1,783倍であった。

マウスを用いた毒性試験では、ヒトでリンパ球数減少が認められた用量（0.75 mg 以上、1日1回）での ISL-TP 濃度と同程度の濃度でリンパ球数減少が観察された。追加のイムノフェノタイピング試験では、高い AUC 曝露比（45 mg/kg/日：AUC 曝露比は1,783倍、10 mg/kg/日以上：AUC 曝露比は243倍以上）において、投与に関連した脾臓での T 細胞及び B 細胞活性化の軽度の抑制も認められた。マウスのリンパ球数減少並びに T 細胞及び B 細胞活性化への影響は、12週間の回復期間後に完全に回復した。

臨床試験で認められた ISL 投与によるリンパ球数減少の発現機序を検討するための in vitro 試験を実施した。PBMC 及び TK6細胞を用いた in vitro 試験の結果から、リンパ球で ISL-TP が選択的に蓄積することにより高濃度の ISL-TP が細胞増殖抑制及びアポトーシスを引き起こす可能性が示唆された。DNA ポリメラーゼ α に対する ISL-TP の阻害作用（IC_{50} = 29.6 μM）を示した in vitro における IC_{50}（IC_{50} = 29.6 μM）から、本濃度を超える ISL-TP 濃度による DNA ポリメラーゼ α

（DNA 複製及び細胞分裂に関与する酵素）の阻害作用が細胞増殖抑制及びアポトーシスの誘導に寄与している可能性が示唆された。DNA ポリメラーゼ α の阻害は ISL に固有のものではなく、ヌクレオシド／ヌクレオチドアナログ（3TC、FTC、ABC 及び TAF）も DNA ポリメラーゼ α の阻害作用を有し[4.3: 03W0NT] [4.3: 08PFDR] [4.3: 080P9Y] [4.3: 080P9L]、同程度の等モル換算した TP 濃度で TK6細胞の増殖抑制が認められている。総リンパ球数及びリンパ球サブセット数の減少が臨床試験で ISL を0.75 mg 以上の用量で1日1回投与した際に認められ[5.3.5.1.13: 08L2VG]、その時の PBMC 中 ISL-TP の Cmax は34 μM 以上であった一方で、ISL を0.25 mg の用量で1日1回投与した際に得られたより低濃度の PBMC 中 ISL-TP の平均 Cmax（009試験の薬物動態学的データに基づき約9 μM）ではリンパ球数減少が認められなかったことからも本仮説が支持される[2.7.2.2.1.3 項]。ミトコンドリア毒性はリンパ球数減少に関連する機序ではなかった[2.6.2.3.2 項]。さらに、ヒト PBMC を用いた in vitro 試験で、ISL はリンパ球のアポトーシス、増殖誘導による活性化又は機能に対する影響を及ぼさず、その時の細胞内 ISL-TP 濃度は300 μM 未満であった。この結果と一貫して、ISL 0.75 mg と DOR 100 mg を1日1回併用投与した HIV-1血清反応陽性の臨床試験参加者から採取した PBMC では、ビクテグラビル／FTC／TAF（50/200/25 mg）を1日1回投与した臨床試験参加者と比較して、ex vivo におけるリンパ球生存率及び機能に変化は認められなかった[4.3: 08CFSY]。第III相試験（051試験及び052試験）では、ISL が RHD（0.25mg、1日1回）において総リンパ球数及びリンパ球サブセット数の減少を引き起こさないことが確認された。さらに、動物では感染症や腫瘍発現率の上昇は認められず、ヒトでも他の投与群と比較して感染症発生率の上昇は認められなかったことから、ISL は免疫機能を阻害しないことが示唆された。

ラットでは、臨床検査パラメータのごく軽度から軽度の変化（白血球数及びリンパ球数の増加）が、非常に高い AUC 曝露比（4,363倍）で認められたが、程度が小さく病理組織学的所見が認められなかったことから、毒性学的意義は低いと考えられた。サルでは、高用量及び高い曝露比（100 mg/kg、3日に1回投与、AUC 曝露比は3,259倍）において、可逆的な皮膚の炎症性変化及び骨髄塗抹標本での僅かな変化が認められた。明らかな毒性発現用量を投与した高用量群のサルで認められたリンパ球数減少を含む臨床検査値の変化は、グルココルチコイド関連のストレス反応によるものと考えられた[4.3: 07XDNW] [4.3: 08NPTD]。しかしながら、ISL-TP がリンパ球数減少に直接的に影響した可能性も否定できなかった。全体として、これまでの結果を総合的に評価した結果、RHD において免疫毒性の懸念は示唆されなかった。

In vitro 及び in vivo 遺伝毒性試験の結果から、臨床使用における ISL の in vivo 遺伝毒性リスクは低いと考えられた。

AUC 曝露比でそれぞれ729倍及び618倍まで経口投与した rasH2トランスジェニックマウス（6ヵ月間）及びラット（2年間）の経口投与がん原性試験において、ISL のがん原性は陰性であった。

ISL の生殖発生毒性試験では、ISL を AUC 曝露比で532倍～5,159倍（ラット）及び1,322倍（ウサギ）まで投与した際に母動物毒性、胚・胎児発生（ラット及びウサギ）、並びに出生前及び出生後の発生（ラット）に毒性学的に意義のある影響は認められなかった。ラットに ISL を AUC 曝露

比で1,306倍まで投与した際、受胎能、交尾能及び初期胚発生への影響は認められなかった。ラットでは ISL は胎盤を介して胎児に移行することが示され、授乳ラットに ISL を投与した際に哺乳児の血漿中に ISL が検出された。

ICH Q3A(R2)及び ICH Q3B(R2)ガイドラインに従い、ISL 原薬不純物及び分解生成物を3ヵ月以上の反復投与毒性試験で用いた ISL ロットで評価した。また、ISL の潜在的及び実際の不純物及び分解生成物について、ICH M7ガイドラインに従って変異原性の評価を行い、その結果を[3.2.S.3.2 項]（原薬）及び[3.2.P.5.5 項]（製剤）に示す。

ISL は290～700 nm の光を吸収せず、モル吸光係数は1,000 L mol^{-1} cm^{-1}未満であることから、ISL が光毒性を有する可能性は低いと考えられる。労働安全プログラムの一環として実施したマウスを用いた局所リンパ節試験から、ISL は皮膚感作性物質であると考えられた。

結論として、ISL の非臨床毒性プロファイルから DOR/ISL としての ISL（0.25 mg、1日1回）の安全な使用が支持される。

2.4.5.3　DOR/ISL

DOR 及び ISL は個々に非臨床試験で広範に評価されている。両薬物は強力な抗ウイルス活性を示し、薬物相互作用の可能性が低いこと、異なる耐性プロファイル並びに良好な安全性及び忍容性プロファイルを有することから、HIV-1感染症に対する有効な併用療法としての DOR/ISL の開発が支持される。

DOR と ISL の併用は、HIV-1複製阻害に対して相加的であり、拮抗作用は認められなかった。本併用で検討した濃度範囲では、細胞毒性に対する顕著な相乗又は拮抗作用は認められなかった。

耐性選択試験において、DOR と ISL の併用処置では、各薬物の IC_{50}値のより低い倍数濃度でウイルス複製を効果的に抑制し、より高い遺伝子的耐性出現に対するバリアを示した。野生型サブタイプ B（R8）又は逆転写酵素領域に M184I を有するウイルスを用いた際、併用処置時に最も多く認められた置換は V108I 及び M184I であり、これらはそれぞれ DOR 及び ISL の活性を低下させることが知られている。

ISL 及び DOR は重複のない相補的な耐性プロファイルを有することが in vitro で示された。DOR は、ISL を用いた in vitro 耐性選択試験で選択された HIV-1変異株及び既知の NRTI 耐性関連置換を有する変異株に対して、in vitro で強力な抗ウイルス活性を示した。A114S 及びチミジンアナログ変異を有する大部分の変異株に対して DOR の抗ウイルス活性は増強し、IC_{50}値の変化倍率は0.4～1.1倍であった。ISL は NNRTI 耐性関連置換に対して強力な抗ウイルス活性を示し、F227置換を有する変異株の大部分は ISL に高い感受性を示した。また、DOR 及び ISL のそれぞれ3倍及び1倍の IC_{50}値で DOR と ISL を併用処置した時の耐性選択試験で出現した逆転写酵素領域の V108I/M184I 二重変異に対しても、DOR 及び ISL は強力な抗ウイルス活性を維持した。

DOR 及び ISL のいずれの安全性薬理試験においても懸念すべき所見は認められなかったことから、RHD で DOR と ISL を併用投与した際の心血管系、呼吸系及び中枢神経系に対する相乗的な影響はないものと予想される。

DOR 及び ISL の単剤での非臨床薬物動態プロファイルから、DOR と ISL は相互に作用しないことが示されたため、DOR と ISL の併用における非臨床薬物動態試験は実施しなかった。臨床薬物相互作用試験において、DOR と ISL の各配合剤成分間での薬物相互作用が起こりにくいことを確認した[2.7.2.2.3.1.1 項][2.7.2.2.3.2.2 項]。配合剤成分の薬物動態に関しては、CYP3A 誘導剤又は阻害剤と併用した際に、DOR の薬物動態は顕著に影響を受ける可能性があると考えられる。また、dCK 基質と併用した際に、ISL の薬物動態は顕著に影響を受ける可能性があると考えられる。

DOR 及び ISL は個々の化合物として非臨床試験で広範に評価されており、DOR 及び ISL は予定臨床曝露量に対して適切な安全域が確認されており、これらの試験において懸念すべき毒性の重複はみられなかった。

ラットを用いた1ヵ月間併用経口投与毒性試験では、DOR（AUC 曝露比は4.2倍）及び ISL（AUC 曝露比は104倍まで）を評価した。DOR 及び ISL の個々の非臨床安全性プログラムにおいて重複した毒性がみられなかったことと一貫して、本試験においても ISL と DOR の併用投与による相加的若しくは相乗的な毒性、又は TK の相互作用の証拠は認められなかった。

結論として、DOR 及び ISL の非臨床プロファイルは、成人 HIV-1感染症患者の治療における DOR（100 mg）と ISL（0.25 mg）の併用療法を支持するものである。

2.4.6　参考文献

参考文献は、[1.12 項]の「4.3参考文献」に示した。