目次

図一覧
略号及び用語の定義
2.6.1 緒言

図一覧

図 2.6.1-1　DOR の化学構造
図 2.6.1-2　ISL の化学構造

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。

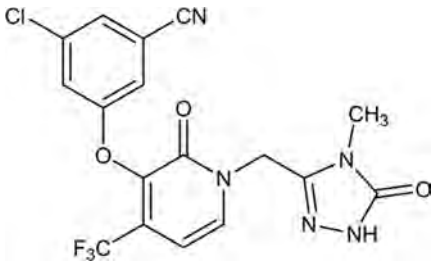
略号／頭字語	定義	
DOR	doravirine (MK-1439)	ドラビリン（MK-1439）
HIV-1	human immunodeficiency virus type one	ヒト免疫不全ウイルス1型
ISL	Islatravir (MK-8591 or [redacted])	イスラトラビル（MK-8591又は [redacted]）
NNRTI	non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor	非ヌクレオシド系逆転写酵素阻害剤
NRTTI	nucleoside reverse transcriptase translocation inhibitor	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

2.6.1　緒言

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、HIV-1感染症患者の治療に対する1日1回投与の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 の開発が支持される。

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 の詳細な薬理学的特性は DOR 単剤の製造販売承認申請資料[eCTD 受付番号310828004、2.6.2 項]に記載している。DOR の化学構造を[図 2.6.1-1]に示す。

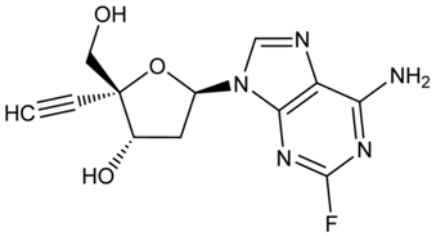
図 2.6.1-1　　DOR の化学構造



DOR=doravirine.
Note: Molecular Formula - DOR: $C_{17}H_{11}ClF_3N_5O_3$.

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 ISL 三リン酸（ISL-TP）に細胞内で変換される。ISL の化学構造を[図 2.6.1-2]に示す。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す。成人 HIV-1感染症患者の治療に用いる DOR/ISL のうち、ISL の使用を支持するために実施した非臨床試験については詳細を本製造販売承認申請に含める。

図 2.6.1-2　　ISL の化学構造



ISL=islatravir.
Note: Molecular Formula - ISL: $C_{12}H_{12}FN_5O_3 \cdot H_2O$.

DOR と ISL の特性を組み合わせることにより、従来の HIV-1に対する3剤併用療法に匹敵する高い活性、概して良好な忍容性、高い耐性バリア並びに広範なサブタイプ及び変異に対する有効性を示す経口投与による簡便な2剤併用療法が得られる。

DOR 又は ISL の単剤及び DOR と ISL を併用して実施した非臨床薬理、薬物動態及び毒性試験の詳細は、以降の2.6 項に要約する。DOR については関連するデータの概要のみ示し、非臨床試験データの詳細は 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。本製造販売承認申請では、ISL 単剤及び DOR と ISL を併用して評価した試験の結果を以降の2.6 項に示す。

単剤としての DOR 及び ISL 並びに併用時の非臨床試験における包括的な評価は、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。

目次

表一覧
図一覧
略号及び用語の定義
2.6.2 薬理試験の概要文
2.6.2.1 まとめ
2.6.2.1.1 DOR に関する薬理試験
2.6.2.1.2 ISL に関する薬理試験
2.6.2.1.3 DOR/ISL に関する薬理試験
2.6.2.2 効力を裏付ける試験
2.6.2.2.1 In vitro 薬理試験（ISL）
2.6.2.2.1.1 ISL による HIV-1逆転写酵素阻害の分子機構（PD001）
2.6.2.2.1.2 ISL の抗ウイルス活性（PD002及び PD005）
2.6.2.2.1.3 NRTI 及び NNRTI 耐性関連置換を有する HIV-1変異株に対する ISL の抗ウイルス活性（PD002、PD005及び PD023）
2.6.2.2.1.4 インテグラーゼ阻害剤耐性関連置換を有する HIV-1変異株に対する ISL の抗ウイルス活性（PD019）
2.6.2.2.1.5 ISL による耐性選択（PD003、PD016及び PD020）
2.6.2.2.1.6 ヒト PBMC における ISL の取込み及び同化（PD011）
2.6.2.2.1.7 代謝物 M4の抗ウイルス活性（PD010、PD012及び PD018）
2.6.2.2.2 In vitro 薬理試験（DOR/ISL）
2.6.2.2.2.1 DOR と ISL の併用時の in vitro 抗ウイルス活性（PD021）
2.6.2.2.2.2 DOR と ISL の併用による in vitro 耐性選択試験（PD022及び PD025）
2.6.2.2.2.3 In vitro で ISL により選択された HIV-1変異株及び NRTI 耐性関連変異株に対する DOR の抗ウイルス活性（PD026）
2.6.2.2.3 In vivo 薬理試験（ISL）
2.6.2.2.3.1 SIV 感染アカゲザルモデルにおける ISL の in vivo 有効性（PD004）
2.6.2.2.3.2 3TC により誘導された耐性を有する SIV 感染アカゲザルに ISL を週1回投与したときの in vivo 活性（PD015）
2.6.2.3 副次的薬理試験（ISL）
2.6.2.3.1 ISL の in vitro オフターゲット活性（PD001）
2.6.2.3.2 ISL を0.75 mg 以上の用量で1日1回投与した臨床試験で認められたリンパ球数減少に関する in vitro 検討試験
2.6.2.3.2.1 ISL-TP のヒト DNA ポリメラーゼ α、β 及び γ に対する in vitro 生化学的活性（PD001）
2.6.2.3.2.2 ISL：ヒトリンパ芽球 TK6細胞を用いて細胞毒性及びミトコンドリア DNA 量を評価する in vitro 探索的試験（TT #[redacted]-8852）
2.6.2.3.2.3 TAF、3TC、ABC、ISL 及び ddI：ISL 及び各種 NRTI の同程度の TP 濃度で

の TK6細胞（ヒトリンパ芽球細胞株）における in vitro 細胞増殖抑制（TT #[redacted]-8900～TT #[redacted]-8903、TT #[redacted]-8909及び TT #[redacted]-8905）
2.6.2.3.2.4 ISL、TAF 及び ddI：7日間インキュベートした TK6細胞におけるミトコンドリア毒性（ミトコンドリア DNA／核 DNA 比）評価、並びに TP 及び dNTP 濃度（TT #[redacted]-8907、TT #[redacted]-8908及び TT #[redacted]-8910）
2.6.2.3.2.5 ISL とインキュベートした後の静止期及び活性化 PBMC 中 ISL-TP 濃度（PD028）
2.6.2.3.2.6 In vitro で ISL とインキュベートしたヒト PBMC におけるリンパ球機能（PD029）
2.6.2.3.3 HIV と関連しないウイルスに対する ISL の抗ウイルス活性（PD002、PD008及び PD024）
2.6.2.3.4 初代培養細胞及び増殖性細胞株における ISL の in vitro 細胞毒性（PD007及び PD030）
2.6.2.3.5 ISL の代謝物 M4及び M4-TP の in vitro オフターゲット活性（PD013、PD014、PD017及び PD018）
2.6.2.3.6 初代培養細胞及び増殖性細胞株における M4の in vitro 細胞毒性（PD009）
2.6.2.3.7 補足的薬理試験（ISL）
2.6.2.3.7.1 ISL：心筋イオンチャネルパネルアッセイ（Patch Express）（TT #[redacted]-3082）
2.6.2.3.7.2 ISL：麻酔モルモットを用いた探索的心血管系試験（TT #[redacted]-5142）
2.6.2.3.7.3 ISL：ラットテレメトリー試験における血行動態作用の心血管系評価（TT #[redacted]-5421）
2.6.2.4 安全性薬理試験
2.6.2.4.1 ISL：CHO 細胞を用いた hERG チャネル電流に対する電気生理学的評価（TT #[redacted]-4707）
2.6.2.4.2 ISL：アカゲザルを用いた経口投与心血管系及び呼吸系テレメトリー試験（TT #[redacted]-5802）
2.6.2.4.3 ISL：アカゲザルを用いた探索的反復経口投与心血管系テレメトリー試験（TT #[redacted]-5851）
2.6.2.4.4 ISL：無麻酔下のラットを用いた FOB による神経行動学的影響評価［TT #[redacted]-1040（非 GLP）及び TT #[redacted]-1075（GLP）］
2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験
2.6.2.5.1 ISL と既承認抗レトロウイルス薬の併用時の抗ウイルス活性（PD002、PD006、PD021、PD027及び PD034）
2.6.2.5.2 ヒト PBMC 中 ISL-TP 濃度に対するヌクレオシド（ヌクレオチド）阻害薬の影響（PD035）
2.6.2.6 考察及び結論
2.6.2.6.1 DOR
2.6.2.6.2 ISL

2.6.2.6.3 DOR/ISL
2.6.2.7 参考文献

表一覧

表 2.6.2-1 異なる濃度の NHS 存在下での MT4-GFP 細胞における H9IIIB に対する ISL の抗ウイルス活性
表 2.6.2-2 ヒト PBMC 及び単球由来マクロファージにおける ISL 及び NRTI の抗ウイルス活性
表 2.6.2-3 異なる HIV-1サブタイプに対する ISL の抗ウイルス活性の変化倍率
表 2.6.2-4 MT4-GFP 細胞における野生型（R8）及び変異株に対する ISL の抗ウイルス活性
表 2.6.2-5 NRTI 耐性臨床分離株に対する ISL の抗ウイルス活性の変化倍率
表 2.6.2-6 100%NHS 存在下での MT4-GFP 細胞における NNRTI 耐性関連置換を有する HIV-1変異株パネルに対する ISL 及び DOR の抗ウイルス活性
表 2.6.2-7 100%NHS 存在下での MT4-GFP 細胞におけるインテグラーゼ阻害剤耐性関連置換を有する HIV-1変異株に対する ISL の抗ウイルス活性
表 2.6.2-8 ISL の耐性選択試験で認められた置換を有する HIV-1変異株パネルを用いた VIKING 法による100% NHS 存在下での ISL の抗ウイルス活性及び臨床での出現頻度
表 2.6.2-9 各 IC_{50}値の倍数濃度でみられた HIV-1逆転写酵素及びインテグラーゼの置換
表 2.6.2-10 各 IC_{50}値の倍数濃度でみられた HIV-1（R8）逆転写酵素領域の置換
表 2.6.2-11 DOR と ISL の併用処置時の耐性選択試験で認められた V108I/M184I に対する VIKING 法による100% NHS 存在下での DOR 及び ISL の抗ウイルス活性
表 2.6.2-12 各 TP（ISL、TAF、ABC、3TC、FTC 及び ddI）によるポリメラーゼ α の阻害（IC_{50}又は K_i）
表 2.6.2-13 ヒトの静止期及び活性化初代培養細胞に対する ISL の細胞毒性
表 2.6.2-14 増殖性細胞株における ISL の細胞毒性
表 2.6.2-15 ISL の安全性薬理試験（ICH S7A 及び S7B ガイドラインの推奨事項に準拠）

図一覧

図 2.6.2-1 R8ウイルス（野生型）の12回継代時における各ウェルでのウイルス複製
図 2.6.2-2 0日目及び7日目の ISL 投与に対する SIV 感染サルのウイルス学的応答
図 2.6.2-3 14日目及び21日目に30 mg/kg の ISL を経口投与したときのウイルス学的応答
図 2.6.2-4 ISL 又は各種 NRTI（3TC、ddI、ABC、FTC 及び TAF）による細胞集団倍加への影響

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
ATP	adenosine 5'-triphosphate	アデノシン5’-三リン酸
AZT	zidovudine	ジドブジン
bpm	beats per minute	1分間あたりの拍動数
CC_{50}	half-maximal cytotoxic concentration	50%細胞毒性濃度
CD	cluster of differentiation	―
CHO	chinese hamster ovary	チャイニーズハムスター卵巣
C24	concentration at 24 hours post dose	投与後24時間の濃度
Cmax	observed maximum concentration	最高濃度
Cmin	observed minimum concentration	最低濃度
dATP	deoxyadenosine triphosphate	デオキシアデノシン三リン酸
dCK	deoxycytidine kinasa	デオキシシチジンキナーゼ
ddA	2’,5’-dideoxyadenosine	2’,5’-ジデオキシアデノシン
ddI	dideoxyinosine, also known as didanosine	ジデオキシイノシン（別名、ジダノシン）
DMSO	dimethyl sulfoxide	ジメチルスルホキシド
DNA	deoxyribonucleic acid	デオキシリボ核酸
dNTP	nucleoside triphosphate containing deoxyribose	デオキシリボヌクレオチド三リン酸
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}	half-maximal effective concentration	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
FOB	functional observational battery	機能観察総合評価
FTC	emtricitabine	エムトリシタビン
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
IC_{50}	half-maximal inhibitory concentration	50%阻害濃度
ICaL	the L-type $Ca2^{+}$ channel encoded by hCav1.2 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	医薬品規制調和国際会議

	Human Use)	
IgG	immunoglobulin G	免疫グロブリン G
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
LEN	lenacapavir	レナカパビル
LC-MS/MS	liquid chromatography-tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析法
MP	monophosphate	一リン酸
NHS	normal human serum	正常ヒト血清
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
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
PEG	polyethylene glycol	ポリエチレングリコール
PHA	phytohemagglutinin	フィトヘマグルチニン
PoD	point of departure	ー
RHD	recommended human dose	予定臨床推奨用量
RNA	ribonucleic acid	リボ核酸
RS	respiratory syncytial	ー
SIV	simian immunodeficiency virus	サル免疫不全ウイルス
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
TFV	tenofovir	テノホビル
TP	triphosphate	三リン酸

2.6.2 薬理試験の概要文

2.6.2.1 まとめ

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 の開発が支持される。DOR 及び ISL の両薬物は、個々に非臨床薬理試験、すなわち効力を裏付ける試験、副次的薬理試験及び安全性薬理試験で詳細に評価している。

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。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。DOR の詳細な薬理学的特性は DOR の初回製造販売承認申請資料に記載しており、以下に要約する。

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薬理試験の詳細については本薬理試験の概要文に示し、薬理試験の一覧を[2.6.3.1 項]に示す。

2.6.2.1.1 DOR に関する薬理試験

DOR の詳細な薬理学的特性はその製造販売承認申請資料[eCTD 受付番号310828004、2.6.2 項]に記載している。DOR はポリメラーゼ活性部位近傍の p66/p51ヘテロ二量体の p66サブユニットにある疎水性ポケットと結合する NNRTI である。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。ICH S7A 及び S7B に準拠した in vitro 及び in vivo 安全性薬理試験により、心血管系、中枢神経系及び呼吸系に対する作用を評価した結果、ヒト臨床用量100 mg での曝露を超える曝露量において DOR に懸念される所見は認められなかった。

2.6.2.1.2 ISL に関する薬理試験

ISL は in vitro で HIV-1逆転写酵素の活性を特異的に阻害し、プライマー／鋳型に沿った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機序により逆転写を阻害する。ISL は HIV-1の複製を in vitro で強力に阻害し、ヒト PBMC における IC_{50}は0.21 nM であった。NRTI 耐性関連置換による ISL の抗ウイルス活性への影響は、影響なし又は中等度の低下のみであった。NRTI 耐性関連置換である逆転写酵素領域の M184I 及び M184V を有する HIV-1臨床分離株では、ISL の抗ウイルス活性は対照の野生型と比較してそれぞれ3.9倍及び5.0倍に低下した。インテグラーゼ阻害剤耐性関連置換及び NNRTI 耐性関連置換による ISL の抗ウイルス活性への影響は認められなかった。ISL の RHD である0.25 mg の1日1回投与で得られる曝露により[2.7.2.1 項]、広範な HIV-1のサブタイプ及び変異に対し抗ウイルス作用を示すと予想される。

SIVmac251を接種し、ISL を1日1回又は週1回経口投与したアカゲザルにおいて ISL の有効性が示された。ISL の週1回経口投与は逆転写酵素領域に M184V を有する SIVmac251の抑制にも有効であった。

120種類及び113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 及び ISL-TP（薬理活性を有する ISL 三リン酸）はそれぞれ10及び20 μM で臨床上のリスクとなりうるオフターゲット活性を示さなかった。ISL-TP は DNA ポリメラーゼ α に対して弱い阻害作用（IC_{50} = 29.6 μM）を示し、DNA ポリメラーゼ β 及びミトコンドリア DNA ポリメラーゼ γ に対しては検討した最高濃度（200 μM）まで阻害作用を示さなかった。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。また、ISL は12 μM 未満で初代培養細胞及び増殖性細胞株において細胞毒性をほとんど又は全く示さなかったことから、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の複製に対する固有の活性に起因するものであることが示された。

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、臨床的に意味のある用量では HBV 又は HCV に対する抗ウイルス活性を示さない。ISL は他の関連のない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ず、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弱い抗ウイルス活性を示した。

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 試験の結果は、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あることを支持するものであり、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 の阻害を機序とする作用であると考えられる。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細胞の増殖抑制も認められている。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。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]。

循環血中の主要な ISL の代謝物であり、酸化的脱アミノ化によって生成される 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。ヒト PBMC 及び GFP レポーター遺伝子導入 MT4（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。M4による初代培養細胞及び増殖性細胞株に対する細胞毒性は100 µM まで認められなかった。また、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は認められなかった（いずれも IC_{50}は10 µM 超）。

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、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 に心血管系、呼吸系及び中枢神経系への懸念すべき影響は認められなかった。

これらの試験の詳細は[2.6.3.1 項]及び[2.6.3.4 項]に記載している。

2.6.2.1.3 DOR/ISL に関する薬理試験

DOR 及び ISL は強力な HIV-1複製阻害薬であり、既存の抗レトロウイルス薬の主要な耐性関連置換に対する活性を有する。また、これらは HIV-1逆転写酵素の特異的な阻害薬であり、臨床的に意味のある用量で懸念されるオフターゲット活性を示さない。

DOR と ISL の併用時の抗ウイルス（HIV-1）活性を、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。DOR と ISL 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。

In vitro 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、DOR 及び ISL の単独処置又は他の薬物の併用処置（DTG+3TC）と比較してより高い耐性出現に対するバリアを示した。DOR と ISL の併用処置による耐性選択試験におけるウイルス複製及び耐性関連置換の出現は、DOR 又は ISL の濃度が各薬物の IC_{50}値のそれぞれ3倍超又は2倍超となる濃度では認められなかった。各薬物の既知の耐性発現経路に対して、DOR と ISL の併用による変化は認められなかった。

ISL と DOR は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 HIV-1変異株に対して、in vitro で強力な抗ウイルス活性を示した。野生型と比較して 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。

DOR 及び ISL の心血管系、呼吸系及び中枢神経系を評価する安全性薬理試験において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予測されない。

DOR と ISL の併用による in vitro 試験の詳細を[2.6.2.2.2 項]に、試験一覧を[2.6.3.1 項]に示す。

以上の単剤としての DOR 及び ISL 並びに併用時の非臨床薬理学的プロファイルは、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。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

2.6.2.2.1 In vitro 薬理試験（ISL）

2.6.2.2.1.1 ISL による HIV-1逆転写酵素阻害の分子機構（PD001）

ISL はデオキシアデノシンアナログであり、内因性のキナーゼによっ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。野生型 HIV-1の全長逆転写酵素を用いた in vitro 生化学的アッセイにおいて、ISL-TP は HIV-1逆転写酵素の活性を強力かつ特異的に阻害した（IC_{50} = 346 ± 59 nM）[4.2.1.1.1: PD001]。

HIV の複製では、鋳型であるウイルス RNA にアニーリングするトランスファーRNA プライマーの3'末端への HIV 逆転写酵素によるヌクレオチドの取込みにより HIV の一本鎖 RNA ゲノムが二本鎖 DNA に変換され、宿主ゲノムへの組込みが可能となる。ヌクレオチドを取り込むと、逆転写酵素はウイルスのプライマー／鋳型に沿って1塩基分移動（トランスロケーション）し、次のヌクレオチドが結合して取り込まれるようになる。NRTI は絶対的なチェーンターミネーターとして逆転写酵素を阻害するヌクレオシド（ヌクレオチド）アナログである。NRTI が取り込まれると逆転写酵素のトランスロケーションが起こる一方で、取り込まれた NRTI はホスホジエステル結合

に必要な糖部分の3'-OH 基を欠くことから、新生 DNA 鎖はヌクレオチドの付加による更なる伸長が不可能となる。

既承認のいずれの NRTI とも異なり、ISL は3'-OH 基を含有する NRTTI であり、絶対的なチェーンターミネーターではない。ISL は次の複数の異なる機序を介して逆転写を阻害する。主な機序として、4'-ethynyl 基が逆転写酵素の活性部位に近接した疎水性ポケットで結合することで、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を阻害してデオキシヌクレオチド三リン酸の更なる結合及び取込みを妨げ、即時型の DNA 鎖伸長停止を引き起こす[4.3: 04LT7Y] [4.3: 04LT80] [4.3: 04R5Q4]。トランスロケーションが生じた場合、ISL が遅延型のチェーンターミネーターとして作用し、3'-OH 基により1つのヌクレオチドが付加されてウイルス DNA の構造的変化が起こり、更なる取込みが妨げられる[4.3: 04LT80] [4.3: 04LT7Z] [4.3: 04LT82] [4.3: 04R5Q4]。さらに、ISL は逆転写酵素により、効率的に誤って（相補塩基であるチミン又はウラシルではなく、グアニン、シトシン又はアデニンに対向して）取り込まれることで、伸長が困難でヌクレオチド除去修復から保護されるミスマッチプライマーを形成し、それにより耐性発現に関わる機序を回避する[4.3: 04R5Q4]。

2.6.2.2.1.2 ISL の抗ウイルス活性（PD002及び PD005）

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[表 2.6.2-1][4.2.1.1.2: PD002]。ISL の血漿蛋白質との結合率が低いことと一貫して[2.6.4.4.4 項]、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ける ISL の抗ウイルス活性を HIV p24 AlphaLISA kit を用いて検討した結果、いずれの細胞種においても IC_{50}は1 nM 未満であった[表 2.6.2-2]。

表 2.6.2-1 異なる濃度の NHS 存在下での MT4-GFP 細胞における H9IIIB に対する ISL の抗ウイルス活性

Amount of Serum	ISL IC_{50}, Mean ± SD (nM)
1% NHS	0.75 ± 0.13 (n=5)
10% NHS	0.87 ± 0.17 (n=23)
50% NHS	1.38 ± 0.32 (n=4)
100% NHS	0.94 ± 0.12 (n=3)
10% FBS	2.45 ± 0.50 (n=9)

FBS=fetal bovine serum; GFP=green fluorescent protein; IC_{50}=half-maximal inhibitory concentration; ISL=islatravir; n=number; NHS=normal human serum; SD=standard deviation.
Source: Nonclinical Study Report PD002 [2.6.3.1 項].

表 2.6.2-2 ヒト PBMC 及び単球由来マクロファージにおける ISL 及び NRTI の抗ウイルス活性

Drug	Human PBMCs, HIV-IIIB IC_{50}, Mean ± SD (nM)	Human MDMs IC_{50}, Mean ± SD (nM)
ISL	0.21 ± 0.12 (n=6)	0.03 ± 0.03 (n=3)

AZT	10.1 ± 3.9 (n=4)	10.5 ± 10.9 (n=3)
TDF	48.0 ± 29.5 (n=4)	11.1 ± 12.4 (n=2)
FTC	19.3 ± 6.1 (n=4)	7.56 ± 8.1 (n=2)
3TC	144 ± 68 (n=4)	16.5 ± 14.5 (n=2)

3TC=lamivudine; AZT=zidovudine; FTC=emtricitabine; HIV=human immunodeficiency virus; IC_{50}=half-maximal inhibitory concentration; ISL=islatravir; MDMs=monocyte-derived macrophages; n=number; NRTI=nucleoside/nucleotide reverse transcriptase inhibitor; PBMCs=peripheral blood mononuclear cells; SD=standard deviation; TDF=tenofovir disoproxil fumarate.
Source: Nonclinical Study Report PD002 [2.6.3.1 項].

In vitro [redacted]アッセイにおいて、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た[表 2.6.2-3][4.2.1.1.3: PD005]。ISL の IC_{50}値の変化倍率は、対照ウイルス株（HIV-1実験室株 NL4-3に由来するプロテアーゼ及び逆転写酵素の配列を有する薬剤感性標準株、IC_{50} = 6.0 nM）と比較して、検討した全てのウイルス株で1.15倍以下であった。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[4.3: 04R6QG]。

表 2.6.2-3 異なる HIV-1 サブタイプに対する ISL の抗ウイルス活性の変化倍率

Subtype	Fold-change in IC_{50} Value Compared to the Control Virus[a], Mean ± SD			
	ISL	AZT	TFV	3TC
A (n=5)	0.88 ± 0.09	1.54 ± 0.22	1.08 ± 0.08	0.87 ± 0.15
A1 (n=3)	0.66 ± 0.10	1.33 ± 0.41	0.84 ± 0.04	0.80 ± 0.31
AE (n=5)	0.52 ± 0.13	0.83 ± 0.21	0.90 ± 0.11	0.86 ± 0.14
AG (n=5)	0.90 ± 0.15	1.69 ± 0.45	1.14 ± 0.16	1.26 ± 0.26
B (n=6)	0.77 ± 0.17	1.08 ± 0.34	1.00 ± 0.06	1.04 ± 0.21
BF (n=5)	0.74 ± 0.16	1.06 ± 0.41	1.05 ± 0.18	1.08 ± 0.26
C (n=5)	0.94 ± 0.21	1.25 ± 0.5	1.13 ± 0.23	1.04 ± 0.10
D (n=5)	0.71 ± 0.16	0.74 ± 0.11	0.90 ± 0.07	0.96 ± 0.22
F1 (n=4)	0.85 ± 0.29	1.19 ± 0.55	1.12 ± 0.18	1.01 ± 0.07
G (n=5)	0.90 ± 0.15	1.43 ± 0.49	1.26 ± 0.17	1.04 ± 0.26
H (n=2)	0.55 ± 0.16	0.71 ± 0.25	0.78 ± 0.09	0.76 ± 0.25

3TC=lamivudine; AZT=zidovudine; HIV-1=human immunodeficiency virus type one; IC_{50}=half-maximal inhibitory concentration; ISL=islatravir; n=number; RT=reverse transcriptase; SD=standard deviation; TFV=tenofovir.
[a] ISL had an IC_{50} of 6.0 nM against the control virus, a drug sensitive reference strain with protease and RT sequence derived from HIV-1 laboratory strain NL4-3.
Source: Nonclinical Study Report PD005 [2.6.3.1 項].

2.6.2.2.1.3 NRTI 及び NNRTI 耐性関連置換を有する HIV-1変異株に対する ISL の抗ウイルス活性（PD002、PD005及び PD023）

NRTI 及び NNRTI に対して低感受性となることが知られている逆転写酵素領域の置換を有する HIV-1変異株を用いて、ISL の抗ウイルス活性を検討した。MT4-GFP 細胞を用いた1サイクル複製試験では、逆転写酵素領域の耐性関連置換である M184I 又は M184V により ISL の抗ウイルス活性がそれぞれ7.3倍又は9.5倍に低下した[表 2.6.2-4][4.2.1.1.2: PD002]。NNRTI 耐性関連置換である K103N 又は Y181C を有する HIV-1変異株では、複数サイクル複製試験において ISL の抗ウイルス活性に変化は認められなかった。

表 2.6.2-4 MT4-GFP 細胞における野生型（R8）及び変異株に対する ISL の抗ウイルス活性

HIV-1 Type	Amount of Serum	ISL IC_{50}, Mean ± SD (nM)[a]	Fold-shift[b]
Wild-type	1%	0.43 ± 0.06 (n=2)	1.0
K65R	1%	0.28 ± 0.04 (n=2)	0.7
M184I	1%	3.13 ± 0.63 (n=2)	7.3
M184V	1%	4.10 ± 0.61 (n=2)	9.5
Wild-type	50%	1.03 ± 0.0 (n=2)	1.0
K103N	50%	0.86 (n=1)	0.8
Y181C	50%	1.18 ± 0.0 (n=2)	1.1

GFP=green fluorescent protein; HIV-1=human immunodeficiency virus type one; IC_{50}=half-maximal inhibitory concentration; ISL=islatravir; n=number; SD=standard deviation.
Amino acid single letter code: C=cysteine; I=isoleucine; K=lysine; M=methionine; N=asparagine; R=arginine; V=valine; Y=tyrosine.
[a] Where n=2 values were averaged.
[b] Fold shift is calculated as (IC_{50} of mutant variant) / (IC_{50} of wild-type) for each amount of serum.
Source: Nonclinical Study Report PD002 [2.6.3.1 項].

また、94種類の NRTI 耐性関連臨床分離株パネルを用いて、ISL の抗ウイルス活性を in vitro [redacted]アッセイで評価した[表 2.6.2-5][4.2.1.1.3: PD005]。対照の NRTI（AZT、TFV 及び3TC）により、耐性関連置換を有するウイルスに対して予想どおりの抗ウイルス活性の変化が認められた。M184I 及び M184V を有する変異株では、野生型と比較して ISL の抗ウイルス活性がそれぞれ3.9倍及び5.0倍に低下した。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 又は M184V と比較して ISL の抗ウイルス活性が増強した。チミジンアナログ変異により ISL の抗ウイルス活性は中等度に低下（5倍未満）し、M184置換を有する場合は更に低下した。さらに、逆転写酵素領域の69位の挿入変異（69Ins）により ISL の抗ウイルス活性は約10倍に低下した。

表 2.6.2-5 NRTI 耐性臨床分離株に対する ISL の抗ウイルス活性の変化倍率

HIV-1 Mutant	Fold Shift [a] in IC_{50}, Mean ± SD [b]			
	ISL	AZT	TFV	3TC
M184I (n=5)	3.9 ± 0.4	0.37 ± 0.04	0.58 ± 0.03	>123
M184V (n=5)	5.0 ± 0.9	0.44 ± 0.21	0.60 ± 0.11	>79
K65R (n=7)	0.16 ± 0.04	0.39 ± 0.14	1.7 ± 0.4	11 ± 7
K65R + M184I/V (n=7)	2.1 ± 0.3	0.42 ± 0.22	1.3 ± 0.3	>69
K65R+L74I+M184V (n=1)	2.4	0.39	1.4	>123
K65R+L74V+Y115F+M184V (n=2)	1.2 ± 0.3	0.63 ± 0.18	1.9 ± 0.3	>123
K65R+T69I+Q151M (n=1)	0.26	790	9.8	>123
K65R+T69I+Q151M+M184V (n=1)	2.71	>1698	5.9	>123
69Ins (n=5)	10 ± 4	>895	17 ± 7	25 ± 20
69Ins + M184I/V (n=4)	21 ± 2	158 ± 117	5.1 ± 0.6	>79
K70E + M184I/V (n=6)	2.3 ± 0.7	0.22 ± 0.04	0.74 ± 0.10	>123
L74V (n=3)	0.21 ± 0.07	0.38 ± 0.10	0.54 ± 0.08	1.6 ± 0.6
L74V + M184V (n=2)	2.3 ± 0.4	0.20 ± 0.05	0.37 ± 0.11	>69
Q151M (n=5)	0.25 ± 0.11	84 ± 78	1.9 ± 0.8	11 ± 8
Q151M + M184I/V (n=6)	3.1 ± 2.5	71 ± 95	1.1 ± 0.5	>69
2 TAMs + L74I (n=1)	3.1	39	2.8	2.7
2 TAMs + M184I (n=1)	1.8	0.25	0.41	>123
2 TAMs + L74I + M184V (n=1)	14	7.3	0.96	>123
3 TAMs (n=3)	3.0 ± 0.4	90 ± 30	3.1 ± 0.4	2.2 ± 0.7
3 TAMs + L74V (n=4)	1.2 ± 0.4	12 ± 11	1.4 ± 0.5	4.1 ± 1.6
3 TAMs + M184I/V (n=8)	11 ± 5	34 ± 54	1.6 ± 0.7	>69
4 TAMs (n=1)	1.5	3.0	1.4	16

4 TAMs + M184I (n=1)	4.7	3.1	1.1	>123
4 TAMs + M184V (n=2)	14 ± 4	22 ± 8	1.7 ± 0.6	>69
5 TAMs + L74V (n=3)	1.9 ± 0.6	26 ± 26	1.4 ± 0.1	8.2 ± 1.6
6 TAMs (n=5)	3.6 ± 1.0	320 ± 220	3.4 ± 0.9	5.1 ± 1.1
6 TAMs + M184I/V (n=4)	18 ± 9	242 ± 349	3.1 ± 1.8	>79

3TC=lamivudine; AZT=zidovudine; HIV-1=human immunodeficiency virus type one; IC_{50}=half-maximal inhibitory concentration; Ins=insertion; ISL=islatravir; n=number; NRTI= nucleoside/nucleotide reverse transcriptase inhibitor; SD=standard deviation; TAMs=thymidine analog mutations; TFV=tenofovir.
Amino acid single letter code: E=glutamic acid; F=phenylalanine; I=isoleucine; K=lysine; L=leucine; M=methionine; Q=glutamine; R=arginine; T=threonine; V=valine; Y=tyrosine.
[a] Fold shift is calculated as (IC_{50} of mutant isolate) / (IC_{50} of wild-type reference) for each test article.
[b] Where n=2 values were averaged.
Source: Nonclinical Study Report PD005 [2.6.3.1 項].

DOR の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[4.3: 084FDJ]、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、野生型及び M184V を有する変異株を比較対照として MT4-GFP 細胞を用いた複数サイクル試験（VIKING 法[4.3: 04LP05]）で検討した[4.2.1.1.4: PD023]。これまでの分析性能に基づくと、2倍以内（0.5～2倍）の抗ウイルス活性の変化は野生型と同程度とみなされる。

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（nM での）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野生型と比較して ISL の抗ウイルス活性が2倍超に低下した[表 2.6.2-6]。V106A/M184V を有する HIV-1変異株で ISL の抗ウイルス活性が最も低下したが、MT4-GFP 細胞及び PBMC のいずれにおいてもその複製能は低かった。V106A/M184V を有する変異株は複製能が低く、ISL を0.25 mg で1日1回経口投与した際、野生型 HIV-1の IC_{50}に対する定常状態における ISL-TP の細胞中濃度の比（定常状態における ISL-TP の C24 / IC_{50}）は101であり[2.7.2.1 項]、ISL の抗ウイルス活性は維持されると考えられることから、臨床的な意味はないと考えられる。

表 2.6.2-6 100%NHS 存在下での MT4-GFP 細胞における NNRTI 耐性関連置換を有する HIV-1 変異株パネルに対する ISL 及び DOR の抗ウイルス活性

HIV-1 Variant	ISL		DOR	
	IC_{50} (nM) (replicates)[a]	FC[b]	IC_{50} (nM) (replicates)[a]	FC[b]
WT	1.06 ± 0.21 (n=40)	1.0	12.63 ± 4.45 (n=67)	1.0
M184V	7.25 ± 1.81 (n=18)	6.8	13.76 ± 1.95 (n=9)	1.1
A98G	0.85 ± 0.09 (n=4)	0.8	72.82 ± 5.75 (n=7)	5.8
K103N	0.85 ± 0.25 (n=10)	0.8	21.42 ± 6.83 (n=45)	1.7
V106A	1.04 ± 0.19 (n=20)	1.0	197.52 ± 42.65 (n=17)	15.6
V106I	0.83 ± 0.07 (n=4)	0.8	22.35 ± 1.90 (n=7)	1.8
V108I	0.89 ± 0.08 (n=6)	0.8	85.31 ± 11.55 (n=3)	6.8
E138G	0.54 ± 0.08 (n=10)	0.5	24.38 ± 1.95 (n=14)	1.9
Y181C	0.63 ± 0.07 (n=9)	0.6	30.88 ± 10.03 (n=44)	2.4
Y188L	1.22 (n=2)[c]	1.1	>8403.33 ± 0.00 (n=5)	>665.3
F227C	0.15 ± 0.03 (n=11)	0.1	884.13 ± 342.21 (n=20)[d]	70.0
F227I	0.27 ± 0.05 (n=6)	0.3	67.68 ± 2.32 (n=5)	5.4
F227L	0.54 ± 0.06 (n=6)	0.5	59.89 ± 6.60 (n=4)	4.7
F227V	0.26 ± 0.05 (n=6)	0.2	147.03 ± 32.22 (n=4)	11.6
M230I	0.78 ± 0.08 (n=3)	0.7	266.40 ± 62.55 (n=10)	21.1

M230L	0.48 ± 0.09 (n=4)	0.5	665.85 ± 207.50 (n=9)	52.7
L234I	0.44 ± 0.07 (n=6)	0.4	136.47 ± 18.27 (n=5)	10.8
K311R	0.96 ± 0.28 (n=4)	0.9	21.38 ± 1.61 (n=7)	1.7
Y318F	0.81 ± 0.10 (n=10)	0.8	130.30 ± 11.63 (n=6)	10.1
A62V / Y318F	1.19 ± 0.09 (n=10)	1.1	160.41 ± 29.75 (n=12)	12.7
A98G / F227C	0.14 ± 0.03 (n=7)	0.1	4063.11 ± 618.52 (n=9)	321.7
K103N / Y181C	0.81 ± 0.16 (n=9)	0.8	35.14 ± 4.19 (n=7)	2.8
V106A / M184V	32.09 ± 3.69 (n=11)	30.3	538.07 ± 30.22 (n=6)	42.6
V106I / M184V	13.86 ± 1.47 (n=6)	13.1	46.00 ± 4.12 (n=4)	3.6
V106M / M184V	5.30 ± 0.64 (n=8)	5.0	176.75 ± 65.70 (n=18)	14.0
V106I / F227C	0.35 ± 0.05 (n=7)	0.3	2017.24 ± 331.33 (n=7)	159.7
V106M / F227C	0.30 ± 0.05 (n=5)	0.3	>8403.33 ± 0.00 (n=7)	>665.3
V108I / F227L	0.40 ± 0.09 (n=14)	0.4	130.32 ± 15.76 (n=11)	10.3
A98G / F227C / M184V	2.59 ± 0.30 (n=13)	2.4	3748.91 ± 560.04 (n=6)	296.8
V106I / F227C / M184V	4.84 ± 0.21 (n=8)	4.6	1786.25 ± 125.70 (n=6)	141.4
V106I / F227C / H221Y	0.40 ± 0.07 (n=4)	0.4	2648.88 ± 155.07 (n=6)	209.7
V106A / Y318F / P225H	0.71 ± 0.11 (n=18)	0.7	>8403.33 ± 0.00 (n=14)	>665.3
A98G / V106I / H221Y / F227C	0.81 ± 0.12 (n=8)	0.8	>8403.33 ± 0.00 (n=14)	>665.3

DOR=doravirine; FC=fold-change; GFP=green fluorescent protein; HIV-1=human immunodeficiency virus type 1; IC_{50}=half-maximal inhibitory concentration; ISL=islatravir; n=number of replicates; NHS=normal human serum; NNRTI=non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor; WT=wild-type.
Amino acid single letter code: A=alanine; C=cysteine; E=glutamic acid; F=phenylalanine; G=glycine; H=histidine; I=isoleucine; K=lysine; L=leucine; M=methionine; N=asparagine; P=proline; R=arginine; V=valine; Y=tyrosine.
[a] IC_{50} displayed as geometric mean ± standard deviation.
[b] FC is calculated as (IC_{50} of mutant variant) / (IC_{50} of wild-type) for each test article.
[c] Individual IC_{50} values for two Y188L replicates with ISL are 1.11 and 1.33 nM.
[d] F227C results for DOR are a combination of 6 replicates with 100% NHS (IC_{50} = 1215.20 ± 253.53 nM) and 14 replicates with 50% NHS (IC_{50} = 771.47 ± 305.69 nM).
Source: Nonclinical Study Report PD023 [2.6.3.1 項].

2.6.2.2.1.4 インテグラーゼ阻害剤耐性関連置換を有するHIV-1変異株に対するISLの抗ウイルス活性（PD019）

インテグラーゼ阻害剤に関連する置換である E92Q、Y143R、Q148K、Q148R、N155H 及び G140S/Q148H を有する HIV-1変異株に対する ISL の抗ウイルス活性を、100%NHS 存在下で MT4-GFP 細胞を用いて検討した[4.2.1.1.5: PD019]。対照としてラルテグラビルを用いた。インテグラーゼ阻害剤耐性関連置換を有する変異株に対するラルテグラビルの抗ウイルス活性は低下し、野生型 HIV-1（R8）と比較した IC_{50}値の変化倍率は3.5～107.7倍超であった。ISL の抗ウイルス活性は検討した全ての変異株に対して同程度であり、IC_{50}値の変化倍率は0.7～0.8倍であったことから、インテグラーゼにおける置換は ISL の抗ウイルス活性に影響しない、すなわち交差耐性は予想されないことが示された[表 2.6.2-7]。

表 2.6.2-7 100%NHS 存在下での MT4-GFP 細胞におけるインテグラーゼ阻害剤耐性関連置換を有する HIV-1 変異株に対する ISL の抗ウイルス活性

HIV-1 Variant	ISL		Raltegravir	
	IC_{50} (nM)[a]	Fold-change[b]	IC_{50} (nM)[a]	Fold-change[b]
WT	1.06 ± 0.21 (n=40)	1.0	78.03 ± 4.16 (n=4)	1.0
E92Q	0.82 ± 0.07 (n=4)	0.8	273.40 ± 73.39 (n=60)	3.5
Y143R	0.75 ± 0.07 (n=4)	0.7	1085.33 ± 302.30 (n=62)	13.9
Q148K	0.82 ± 0.16 (n=3)	0.8	2444.66 ± 483.44 (n=56)	31.3
Q148R	0.80 ± 0.18 (n=4)	0.8	1546.70 ± 298.73 (n=65)	19.8
N155H	0.82 ± 0.09 (n=4)	0.8	737.18 ± 212.32 (n=60)	9.4
G140S/Q148H	0.85 ± 0.14 (n=4)	0.8	>8403.33 ± 0.00 (n=209)	>107.7

GFP=green fluorescent protein; HIV-1=human immunodeficiency virus type 1; IC_{50}=half-maximal inhibitory concentration; ISL=islatravir; n=number; NHS=normal human serum; WT=wild-type.
Amino acid single letter code: E=glutamic acid; G=glycine; H=histidine; K=lysine; N=asparagine; Q=glutamine; R=arginine; S=serine; Y=tyrosine.
[a] IC_{50} displayed as geometric mean ± standard deviation.
[b] Fold change is calculated as (IC_{50} against mutant variant) / (IC_{50} against wild-type) for each test article.
Source: Nonclinical Study Report PD019 [2.6.3.1 項].

2.6.2.2.1.5 ISL による耐性選択（PD003、PD016及び PD020）

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[4.2.1.1.6: PD003]。最初の試験は低感染多重度で MT4-GFP 細胞及び HIV-1サブタイプ B を用い、ISL 濃度を漸増して実施した。ウイルスの複製は、ウイルス感染により GFP が発する緑色蛍光を検出することでモニターした。M184I 及び M184V により in vitro での ISL の抗ウイルス活性は低下するが[2.6.2.2.1.3 項]、RHD 投与時の濃度ではこれらの変異による ISL に対する耐性の付与は予想されない。

ISL の持続的曝露により生じる、複数の HIV-1サブタイプ逆転写酵素領域における耐性発現経路を同定するため、追加の耐性選択試験を実施した[4.2.1.1.7: PD016]。HIV-1サブタイプ A、B 及び C に相当する野生型ウイルスを MT4-GFP 細胞を用いて漸増濃度の ISL 存在下で連続的に継代培養した。また、野生型サブタイプ B ウイルス又は単一の主要な NRTI 耐性関連置換を有するサブタイプ B ウイルスを固定濃度の ISL 存在下で継代培養した。

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 濃度でウイルス複製は認められなかった。NRTI 耐性関連置換である K65R、L74I 又は V90I を有するウイルスでも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なかった。NRTI 耐性関連置換を有するウイルスを用いたいずれの耐性選択試験においても、その他の置換は検討したいずれの濃度でも出現しなかった。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[2.6.2.2.1.6 項]、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。

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 NRTI 耐性関連置換を有するその他の HIV-1変異株に対する ISL の抗ウイルス活性を評価した[4.2.1.1.8: PD020]。ISL は検討した変異株に対して強力な抗ウイルス活性を維持した[表 2.6.2-8]。検討した全ての単一コドン変異株のうち、逆転写酵素領域の M184I 及び M184V により ISL の抗ウイルス活性が最も低下した（それぞれ6.2倍及び6.8倍）。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。

表 2.6.2-8 ISL の耐性選択試験で認められた置換を有する HIV-1 変異株パネルを用いた VIKING 法による 100% NHS 存在下での ISL の抗ウイルス活性及び臨床での出現頻度

HIV-1 Variant	IC_{50} (nM)[a]	FC[b]	Frequency[c] (Total PLWH)	Frequency[c] (NRTI-experienced PLWH)
WT	1.06 ± 0.21 (n=40)	1.0	ND	ND
M41L	0.80 ± 0.06 (n=6)	0.8	9.85	25.01
L74I	0.97 ± 0.09 (n=12)	0.9	1.54	4.02
V90I	0.93 ± 0.15 (n=13)	0.9	3.47	6.55
A114S	2.10 ± 0.31 (n=11)	2.0	0.01	0.01
A158T	0.97 ± 0.12 (n=9)	0.9	0.20	0.37
C162Y	0.63 ± 0.08 (n=5)	0.6	2.42	2.86
T165A	0.90 ± 0.13 (n=6)	0.8	0.09	0.16
M184I	6.56 ± 1.37 (n=18)	6.2	0.95	2.90
M184V	7.25 ± 1.81 (n=18)	6.8	20.69	56.26
A400T	0.77 ± 0.12 (n=4)	0.7	66.39	69.17
M41L/A114S	3.31 ± 0.69 (n=4)	3.1	0.00	0.00
M41L/M184V	5.98 ± 0.83 (n=5)	5.6	6.50	16.55
L74I/M184I	4.44 ± 0.73 (n=5)	4.2	0.03	0.09
V90I/M184I	5.86 ± 1.75 (n=5)	5.5	0.31	0.98
A114S/M184V	40.14 ± 3.97 (n=9)	37.9	0.00	0.01
C162Y/M184I	3.87 ± 0.28 (n=5)	3.6	0.05	0.15
C162Y/M184V	13.33 ± 1.15 (n=5)	12.6	0.69	1.72
T165A/M184I	7.80 ± 0.95 (n=5)	7.4	0.00	0.01
T165A/M184V	13.78 ± 2.24 (n=5)	13.0	0.03	0.10
M184V/H221Y	7.93 ± 0.66 (n=6)	7.5	1.78	5.27
M41L/A114S/M184V	68.68 ± 5.79 (n=5)	64.8	0.00	0.00
M41L/A114S/M184V/A400T	62.34 ± 4.56 (n=4)	58.8	0.00	0.00

FC=fold-change; HIV=human immunodeficiency virus; HIV-1=human immunodeficiency virus type 1; IC_{50}=half maximal inhibitory concentration; ISL=islatravir; n=number; ND=not determined; NRTI=nucleoside/nucleotide reverse transcriptase inhibitor; PLWH=people living with HIV; WT=wild-type.
Amino acid single letter code: A=alanine; C=cysteine; H=histidine; I=isoleucine; L=leucine; M=methionine; S=serine; T=threonine; V=valine; Y=tyrosine.

[a] IC_{50} is displayed as geometric mean ± standard deviation.

[b] FC is calculated as (IC_{50} against mutant variant) / (IC_{50} against WT) for each test article.

[c] Frequency of each variant=(Number of PLWH with specified substitutions / total number of PLWH with sequence available at the specified residues) × 100. This value was determined without excluding variants with additional substitutions or mixtures at the designated residues using the Stanford HIV Drug Resistance Database [4.3: 05K4QL]. The frequency data were calculated based on the database dated in FEB-2019.

Source: Nonclinical Study Report PD020 [2.6.3.1 項].

2.6.2.2.1.6 ヒト PBMC における ISL の取込み及び同化（PD011）

PBMC 中でリン酸化され、HIV-1逆転写酵素の阻害に利用される ISL 量を測定するため、ISL の取込み及び同化を検討する試験を実施した[4.2.1.1.9: PD011]。本試験では既承認の数種類の NRTI（3TC、FTC 及び TDF）の取込み及びリン酸化についても評価した。各薬物は IC_{50}未満～IC_{50}超の濃度範囲（IC_{50}値の1/9～9倍）で検討した。ISL を PBMC とインキュベーションした後、ISL-MP、ISL-DP 及び ISL-TP の濃度を測定した。同様に、3TC、FTC 及び TDF を PBMC とインキュベーションした後、各薬物のリン酸化体の濃度を測定した。

ISL 及び既承認の NRTI は、各薬物の IC_{50}付近の濃度において PBMC 中で MP、DP 及び TP へと効率的にリン酸化された。抗ウイルス活性を示すのに必要な薬理学的活性体である ISL-TP の細胞内濃度（0.00974 ± 0.00406 pmol/10^6 cell）は、検討した他のヌクレオシド阻害薬の活性体の濃度（0.0276～0.869 pmol/10^6 cell）と比較して低かった。

2.6.2.2.1.7 代謝物 M4の抗ウイルス活性（PD010、PD012及び PD018）

ISL を1日1回経口投与した健康被験者の血漿検体（009試験の臨床試験報告書[5.3.3.1.3: P009]）において、M4は ISL の唯一の主要血中代謝物（血中総薬物関連物質の10%超）として同定された。In vitro 酵素アッセイで、M4-TP は HIV-1逆転写酵素に対して弱い阻害活性を示した（IC_{50} = 4.5 ± 1.6 µM）[4.2.1.1.12: PD018]。

PBMC（10% NHS）及び MT4-GFP 細胞（100% NHS）を用いて、野生型 HIV-1（R8）及び NRTI 耐性関連置換（M184I、M184V 及び K65R）を有する変異株に対する M4の抗ウイルス活性を評価した[4.2.1.1.11: PD012]。

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。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（IC_{50}）は、それぞれ1,686 ± 186 nM 及び7,188 ± 656 nM であり、同試験での ISL 未変化体の抗ウイルス活性と比較してそれぞれ約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。K65R により、野生型 HIV-1と比較して M4の抗ウイルス活性は5倍に増強した。

PBMC 中でリン酸化され、HIV-1逆転写酵素の阻害に利用される M4-TP 量を測定するため、M4の取込み及び同化を検討する試験を実施した[4.2.1.1.10: PD010]。PBMC に M4又は ISL を処置後、M4-MP、M4-DP 及び M4-TP の濃度を測定した。本試験ではいずれの M4リン酸化体も定量下限（0.123 pmol/10^6 cell）未満であったことから、M4を処置した PBMC において M4リン酸化体は蓄積しないことが示された。

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によるウイルス学的活性への影響及びウイルス耐性発現への選択圧の発生はないと予想される。

2.6.2.2 In vitro 薬理試験（DOR/ISL）

2.6.2.2.1 DOR と ISL の併用時の in vitro 抗ウイルス活性（PD021）

DOR と ISL の併用時の抗ウイルス（HIV-1）活性を in vitro で評価した[4.2.1.1.13: PD021]。本併用試験は、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実施した。併用処置による細胞毒性の増強がないことを確認するため、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。

2.6.2.2.2.2 DOR と ISL の併用による in vitro 耐性選択試験（PD022及び PD025）

既承認の抗レトロウイルス2剤併用療法で用いられるインテグラーゼ阻害薬（DTG）と NRTI（3TC）の併用時と比較したときの、DOR と ISL の併用時の耐性バリアを in vitro 耐性選択試験で評価した[4.2.1.1.14: PD022]。

DOR と ISL の併用処置では、既承認の2剤併用処置（DTG+3TC）と比較して 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、耐性バリアが高いことが示された[表 2.6.2-9]。DOR と ISL の併用処置では、各薬物の IC_{50}値の2倍超となる濃度で HIV-1感染細胞は検出されなかった。DTG と3TC の併用処置では、各薬物の IC_{50}値の最大8倍となる濃度で HIV-1感染細胞が認められた。

表 2.6.2-9 各 IC_{50} 値の倍数濃度でみられた HIV-1 逆転写酵素及びインテグラーゼの置換

Combination	IC_{50} Multiple	RT Substitutions Observed[a]	IN Substitutions Observed
DOR+ISL	8-fold	NA	NA
	4-fold	NA	NA
	2-fold	**V106A, V108I, M184I**	NA
	1-fold	E36EG, **V106A**, **V106VA**, **V108VI**, **M184I**, **M184MI**, **M184MV**, P236PL, **Y318F**, **Y318YF**	NA
	0.5-fold	**V108VI**, **M184MV**, **M184MI**	NA
	0.25-fold	K395KI	NA
DTG+3TC	8-fold	**M184I**, R206K	None observed
	4-fold	V70I, **M184I**, R203K	S39N, S153ST
	2-fold	I142IT, **M184I**, **M184MI**, **M184V**, G196R, I202IT, A360AT	M154MI
	1-fold	**M184MI**	None observed
	0.5-fold	None observed	None observed
	0.25-fold	None observed	None observed

3TC=lamivudine; DOR=doravirine; DTG=dolutegravir; HIV-1=human immunodeficiency virus type one; IC_{50}=half-maximal inhibitory concentration; IN=integrase; ISL=islatravir; NA=not applicable (no sequencing performed); RT=reverse transcriptase.
Amino acid single letter code: A=alanine; E=glutamic acid; F=phenylalanine; G=glycine; I=isoleucine; K=lysine; L=leucine; M=methionine; N=asparagine; P=proline; R=arginine; S=serine; T=threonine; V=valine; Y=tyrosine.
[a] Substitutions shown in bold font represent those seen in more than one well across all IC_{50} multiples for the same combination.
Source: Nonclinical Study Report PD022 [2.6.3.1 項].

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、DOR 及び ISL の単独処置並びに DOR と ISL の併用処置による追加の固定濃度耐性選択試験を in vitro で実施し、耐性出現に対するバリアを評価した[4.2.1.1.15: PD025]。

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又は 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出現に対するバリアが高いことが示された（表 2.6.2-10、図 2.6.2-1）。併用処置によるウイルス複製が検出された DOR 及び ISL の最高濃度（DOR 及び ISL の IC_{50}値のそれぞれ3倍及び1倍の濃度）で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。DOR 及び ISL の単独処置では、耐性関連置換を有するウイルスは DOR

及び ISL の IC_{50}値のそれぞれ48倍及び8倍で検出可能であったことから、これらの結果は DOR と ISL の併用により、より高い耐性バリア（約8倍の増強）が得られることを示している。

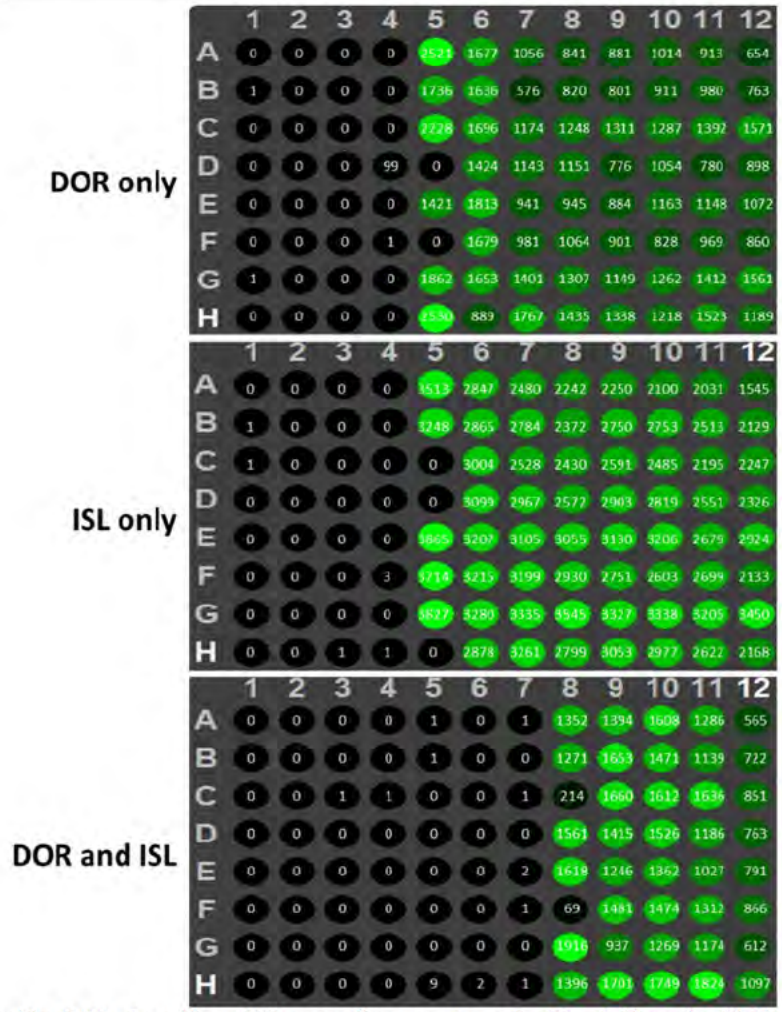
表 2.6.2-10　各 IC_{50} 値の倍数濃度でみられた HIV-1（R8）逆転写酵素領域の置換

Agent	IC_{50} Multiple		RT Substitutions Observed[a]
DOR	48-fold		**L234I**
	24-fold		I31IL, **V108VI, V108I,** F227FL, **L234I**
	12-fold		**V106VA, V106A, V108VI, V108I, L234LI, L234I**
	6-fold		**D67DN, V106VA, V108VI, V108I,** A158AT, **L234LI, L234I**
	3-fold		**D67DN, V108VI, V108I, V106VA,** F227FY, **L234LI**
	1.5-fold		**V108VI,** Y188YF, K395KM
	0.75-fold		**V108VI**
	0.375-fold		NSD
ISL	8-fold		**M184I**
	4-fold		**M184I**
	2-fold		**M184I,** M184MIV
	1-fold		**M184MI, M184I**
	0.5-fold		D67DN, **M184MI, M184I,** NSD
	0.25-fold		**M184MI,** NSD
	0.125-fold		NSD
DOR+ISL	**DOR**	**ISL**	
	3-fold	1-fold	**V108VI, V108I, M184I,** M184V
	1.5-fold	0.5-fold	**V108VI, V108I, M184MI,** E399EG
	0.75-fold	0.25-fold	**V108VI**
	0.375-fold	0.125-fold	NSD

DOR=doravirine; HIV-1=human immunodeficiency virus type one; IC_{50}=half-maximal inhibitory concentration; ISL=islatravir; NSD=no substitutions detected compared to starting virus; RT=reverse transcriptase.
Amino acid single letter code: A=alanine; D=aspartic acid; E=glutamic acid; F=phenylalanine; G=glycine; I=isoleucine; K=lysine; L=leucine; M=methionine; N=asparagine; T=threonine; V=valine; Y=tyrosine.
[a] Substitutions shown in bold font represent those seen in more than one well across all IC_{50} multiples on each plate.
Source: Nonclinical Study Report PD025 [2.6.3.1 項].

図 2.6.2-1 R8 ウイルス（野生型）の 12 回継代時における各ウェルでのウイルス複製

Compound	IC_{50} Multiple in each column											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
DOR	384×	192×	96×	48×	24×	12×	6×	3×	1.5×	0.75×	0.375×	DMSO
ISL	128×	64×	32×	16×	8×	4×	2×	1×	0.5×	0.25×	0.125×	DMSO



DMSO=dimethyl sulfoxide; DOR=doravirine; GFP=green fluorescent protein; IC_{50}=half-maximal inhibitory concentration; ISL=islatravir; n=number.
Each plate, DOR, (top panel), ISL (middle panel) and DOR+ISL (bottom panel), is shown with the IC_{50} multiple (fold change from the IC_{50}) for the appropriate compound(s) noted at the top above each column. Wells in rows A through H within each column are replicates (n=8). Green shading intensity and numerical values indicate the number of infected cells (GFP Positive Cells) that were detected in each well at passage 12.
Source: Nonclinical Study Report PD025 [2.6.3.1 項].

2.6.2.2.2.3 In vitro で ISL により選択された HIV-1変異株及び NRTI 耐性関連変異株に対する DOR の抗ウイルス活性（PD026）

ISL と DOR は配合剤として開発していることから、ISL 又は NRTI に影響しうる逆転写酵素領

域の置換を有する HIV-1変異株パネルを用いて、DOR の抗ウイルス活性を評価した[4.2.1.1.16: PD026]。DOR と ISL の併用処置時の耐性選択試験で認められた逆転写酵素領域の置換（V108I/M184I）を有する HIV-1変異株に対する DOR 及び ISL の抗ウイルス活性も評価した。野生型及び変異株に対する抗ウイルス活性は、100% NHS の存在下でレポーター細胞株（MT4-GFP 細胞）を用いた複製試験により評価した。

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（nM での）抗ウイルス活性を示した（IC_{50} 値の変化倍率は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}値の変化倍率は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 は、DOR と ISL の併用処置時の耐性選択試験で認められた逆転写酵素領域の V108I/M184I 二重変異を有する HIV-1変異株に対しても強力な抗ウイルス活性を維持し（[表 2.6.2-11]）、この二重変異に対する両薬物の抗ウイルス活性は臨床用量においても維持されると予想される。

表 2.6.2-11 DOR と ISL の併用処置時の耐性選択試験で認められた V108I/M184I に対する VIKING 法による 100% NHS 存在下での DOR 及び ISL の抗ウイルス活性

HIV-1 Variant	DOR		ISL	
	IC_{50} (nM)[a]	FC[b]	IC_{50} (nM)[a]	FC[b]
V108I/M184I	53.41 ± 5.55 (n=3)	4.2	8.10 ± 0.35 (n=4)	7.6

DOR=doravirine; FC=fold-change; HIV-1=human immunodeficiency virus type 1; IC_{50}=half-maximal inhibitory concentration; ISL=islatravir; n=number; NHS=normal human serum.
Amino acid single letter code: I=isoleucine; M=methionine; V=valine.
[a] IC_{50} (nM) displayed as geometric mean ± standard deviation.
[b] FC is calculated as (IC_{50} against mutant variant) / (IC_{50} against wild-type) for each test article.
Source: Nonclinical Study Report PD026 [2.6.3.1 項].

2.6.2.2.3 In vivo 薬理試験（ISL）

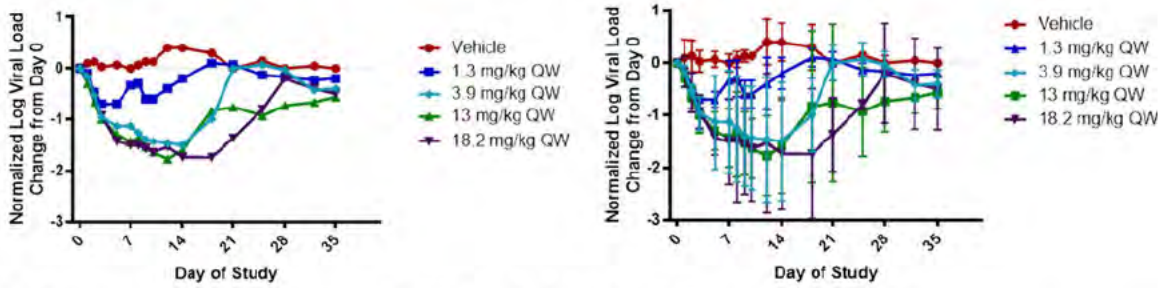
2.6.2.2.3.1 SIV 感染アカゲザルモデルにおける ISL の in vivo 有効性（PD004）

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[4.2.1.1.2: PD002]。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。SIV 感染アカゲザルにおける ISL の有効性を評価するため、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 を週1回又は1日1回経口投与した[4.2.1.1.17: PD004]。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 を投与又は0～13日目に0.19 mg/kg の ISL を1日1回投与した。血漿を採取し、薬物動態、ウイルス量及び SIV 逆転写酵素の遺伝子型を解析した。

反応には個体間で大きなばらつきが認められた（ウイルス量の結果を[図 2.6.2-2]に示す）。平均化したデータからウイルス量減少を示す用量反応曲線が得られ、投与中止（休薬）後のウイルス

量はベースライン値に回復することが示された。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回で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 の出現が確認された。M184V の出現による1 log 超のウイルス減少量の維持に対する影響は認められなかった。

図 2.6.2-2　0 日目及び 7 日目の ISL 投与に対する SIV 感染サルのウイルス学的応答

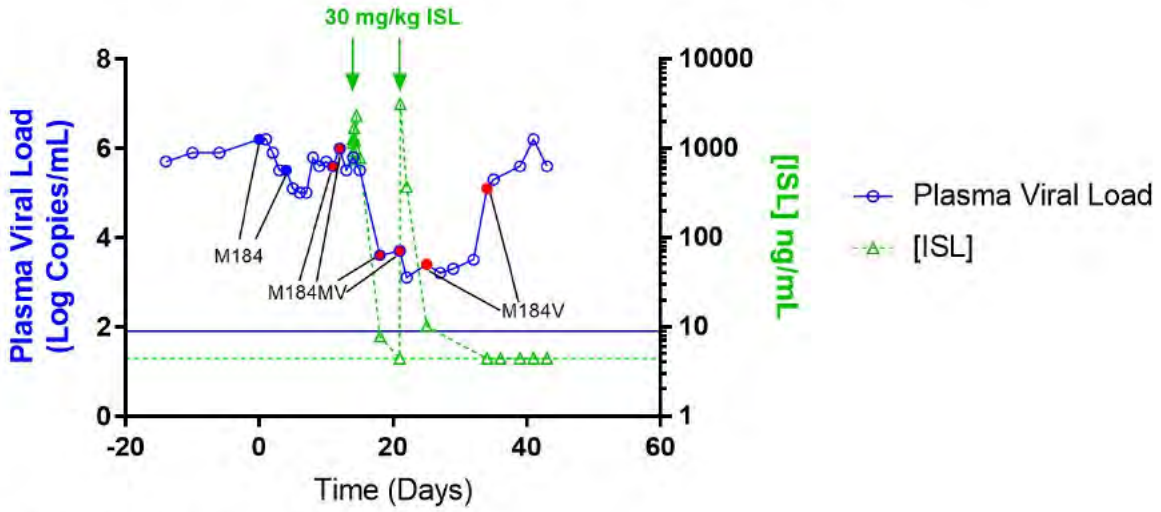


ISL=islatravir; n=number; QW=once weekly; SD=standard deviation; SIV=simian immunodeficiency virus.
Left panel: Error bars are removed for ease of viewing. Right panel: Error bars represent ± SD. The group size was n=3, except for the vehicle group from Day 21 onwards, where the number was n=2. Although n=2, error bars were included for the vehicle group.
Source: Nonclinical Study Report PD004 [2.6.3.1 項].

2.6.2.2.3.2　3TC により誘導された耐性を有する SIV 感染アカゲザルに ISL を週1回投与したときの in vivo 活性（PD015）

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[4.2.1.1.18: PD015]。続いて30 mg/kg の ISL を週1回で計2回経口投与した結果、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 が 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[図 2.6.2-3]。

図 2.6.2-3　14 日目及び 21 日目に 30 mg/kg の ISL を経口投与したときのウイルス学的応答



3TC=lamivudine; ISL=islatravir.
Amino acid single letter code: M=methionine; V=valine.
Plasma viral load (left y-axis, blue open circles, solid line) and ISL plasma concentration (right y-axis, green open triangle, dashed line) are displayed for a rhesus monkey with M184V substitution appearing as early as Day 11. This monkey was also dosed with daily oral 3TC (5 mg/kg) from Day 0 to Day 27 to induce the appearance of M184V. The horizontal blue solid line indicates the lower limit of quantitation for determination of plasma viral load; the horizontal dashed green line indicates the lower limit of quantitation for determination of ISL concentration.
Source: Nonclinical Study Report PD015 [2.6.3.1 項].

2.6.2.3　副次的薬理試験（ISL）

2.6.2.3.1　ISL の in vitro オフターゲット活性（PD001）

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[4.2.1.1.1: PD001]。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。

2.6.2.3.2　ISL を0.75 mg 以上の用量で1日1回投与した臨床試験で認められたリンパ球数減少に関する in vitro 検討試験

2.6.2.3.2.1　ISL-TP のヒト DNA ポリメラーゼ α、β 及び γ に対する in vitro 生化学的活性（PD001）

ISL-TP はヒト DNA ポリメラーゼ α に対して弱い阻害作用（IC_{50} = 29.6 μM）を示したが、DNA ポリメラーゼ β 又はミトコンドリア DNA ポリメラーゼ γ に対しては同じ試験条件で検討した最高濃度（200 μM）まで阻害作用を示さなかった[4.2.1.1.1: PD001]。

ISL-TP と同様に、TAF、ABC、3TC 及び FTC の TP（それぞれ TFV-DP、carbovir-TP、3TC-TP 及び FTC-TP）も DNA ポリメラーゼ α に対する弱い阻害作用を有することが報告されている[表

2.6.2-12]。一方、ddA-TP（ddI の活性体である三リン酸化体）は DNA ポリメラーゼ α 阻害作用に関する報告はないが、重度のミトコンドリア DNA 減少を引き起こす[2.6.2.3.2.4 項]。既承認の各種 NRTI に関して報告されている DNA ポリメラーゼ α 阻害作用を示す値はいずれも同程度であったものの（ddA-TP を除く）、試験は様々な施設で実施されており試験条件及び試験方法が異なるため、値にばらつきが認められる。したがってこれらの値は阻害濃度そのものの正確な評価ではなくその方向性を示すものと考えるべきである。

表 2.6.2-12 各 TP（ISL、TAF、ABC、3TC、FTC 及び ddI）によるポリメラーゼ α の阻害（IC_{50} 又は K_i）

Compound	Polymerase α IC_{50} or K_i (μM)	Reference
ISL-TP	29.6	[4.2.1.1.1: PD001].
TFV-DP (TP of TAF)	5	[4.3: 080P9L]
Carbovir-TP (TP of ABC)	22	[4.3: 080P9Y]
3TC-TP	175	[4.3: 03W0NT]
FTC-TP	6	[4.3: 08PFDR]
ddA-TP (active TP form after conversion of ddI)	>500	[4.3: 03W0NT]

3TC=lamivudine; ABC=abacavir; ddA=2',5'-dideoxyadenosine; ddI=dideoxyinosine; DP=diphosphate; FTC=emtricitabine; IC_{50}=half-maximal inhibitory concentration; ISL=islatravir; K_i=inhibitory constant; TAF=tenofovir alafenamide fumarate; TFV=tenofovir; TP=triphosphate.

2.6.2.3.2.2 ISL：ヒトリンパ芽球 TK6細胞を用いて細胞毒性及びミトコンドリア DNA 量を評価する in vitro 探索的試験（TT #[redacted]-8852）

ヒトリンパ芽球 TK6細胞に ISL を1、10、50、250及び500 μM で7日間連日処置し、細胞増殖への影響を3日目、5日目及び7日目に、ミトコンドリア DNA／核 DNA 比を7日目に評価した[4.2.1.2.1: TT[redacted]8852]。また、陽性対照としてザルシタビンを1 μM で処置した。ISL による顕著な細胞増殖抑制が、10～500 μM では3日目に認められ、1 μM では5日目までに認められた。10 μM 以上の濃度では顕著な抑制が認められたことから、1 μM の ISL でのみミトコンドリア DNA 量を評価した。ISL を1 μM で連日処置した結果、7日目にミトコンドリア DNA 量（核 DNA に対する割合）への顕著な影響は認められなかった。一方、陽性対照のザルシタビンでは、5日目及び7日目に顕著な細胞増殖抑制が認められ、7日目にはミトコンドリア DNA 量の顕著な減少が認められた（同時対照の1%未満に減少）。

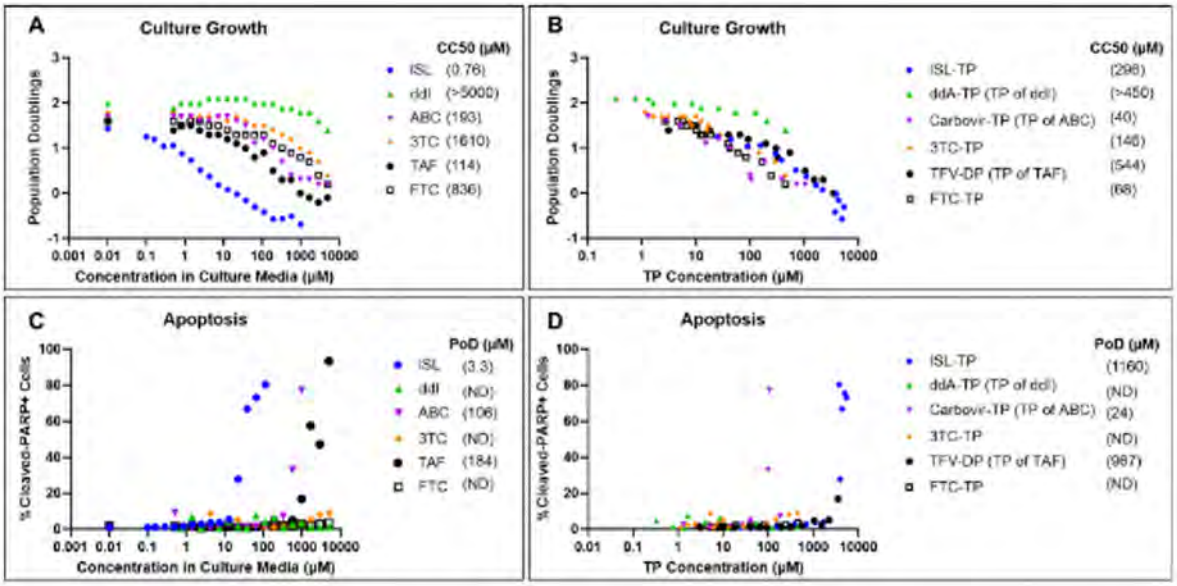
2.6.2.3.2.3 TAF、3TC、ABC、ISL 及び ddI：ISL 及び各種 NRTI の同程度の TP 濃度での TK6細胞（ヒトリンパ芽球細胞株）における in vitro 細胞増殖抑制（TT #[redacted]-8900～TT #[redacted]-8903、TT #[redacted]-8909及び TT #[redacted]-

8905）

ISL 及び各種 NRTI（3TC、TAF、ABC、FTC 及び ddI）が細胞集団倍加阻害（細胞毒性）及びアポトーシスに及ぼす影響を、TK6細胞と24時間インキュベートして評価した[4.2.1.2.2: TT[redacted]8900] [4.2.1.2.3: TT[redacted]8901] [4.2.1.2.4: TT[redacted]8902] [4.2.1.2.5: TT[redacted]8903] [4.2.1.2.6: TT[redacted]8909] [4.2.1.2.7: TT[redacted]8905]。これらの薬物を比較する際の基準として、同時対照群と比較して細胞集団倍加を50%低下させる培地中薬物濃度（CC_{50}）を測定した。[図 2.6.2-4]パネル A に示す通り、ISL、ddI、ABC、3TC、FTC 及び TAF の CC_{50}は広範にわたり（約数千倍の差異）、細胞増殖抑制作用は ISL が最も強く（CC_{50} = 0.76 µM）、ddI が最も弱かった（CC_{50}は5,000 µM 超）。対応する細胞内 TP 濃度でプロットした場合には（[図 2.6.2-4]パネル B）化合物間の CC_{50}に大きな差は認められず、ISL-TP の CC_{50}は ddA-TP（ddI が変換された後の活性型 TP 体）を除く他の化合物とほぼ同等であった。したがって ddA-TP を除き、NRTI-TP 及び ISL-TP の細胞集団倍加に対する用量反応性は同程度であることから、細胞増殖抑制を引き起こす ISL-TP 濃度は、NRTI の細胞増殖抑制を引き起こす TP 濃度と同程度であることが示唆された。ddA-TP の細胞増殖抑制作用は最も弱いが、重度のミトコンドリア DNA 減少を引き起こす可能性があることに留意する必要がある。ISL-TP 及び NRTI（TAF、ABC、3TC 及び FTC）の TP（TFV-DP、carbovir-TP、3TC-TP、FTC-TP）は DNA ポリメラーゼ α の弱い阻害作用を示すことが報告されている。一方で ddA-TP（ddI が変換された後の活性型 TP 体）の DNA ポリメラーゼ α の阻害作用は報告がなく、この差異の原因となっている可能性がある。

切断 PARP 陽性細胞の4倍の増加（対照群との比較）をアポトーシスマーカーとして、アポトーシスに関する PoD を検討した。ISL、評価した既承認の NRTI（[図 2.6.2-4]パネル C）及びそれぞれの TP（[図 2.6.2-4]パネル D）のアポトーシスに関する PoD は、細胞増殖抑制を引き起こす濃度（CC_{50}）と比べて概して高かった。いくつかの NRTI は検討した濃度ではアポトーシスを引き起こさなかった。以上のことから、細胞増殖抑制に関する CC_{50}は NRTI 及び ISL の毒性を in vitro で評価する際のより鋭敏なマーカーであることが示唆された。

図 2.6.2-4　　ISL 又は各種 NRTI（3TC、ddI、ABC、FTC 及び TAF）による細胞集団倍加への影響



ABC=abacavir; 3TC=lamivudine; ddA-TP=TP form of ddI; ddI=didanosine; FTC=emtricitabine; ISL=islatravir; ND=not determined; PoD=point of departure; TAF=tenofovir alafenamide fumarate; TP=triphosphate.
Population doubling response based on drug concentration in the media (A) or on TP levels (B). Apoptosis response based on drug concentration in media (C) or on TP levels (D). ND because a PoD was not reached.
Panel C represents apoptosis induction against concentration of compound in the culture media and shows that ISL, TAF, and ABC reached concentrations that induced substantial apoptosis.
Source: Nonclinical Study Reports TT #[redacted]-8900 to TT #[redacted]-8903,TT #[redacted]-8909 and TT #[redacted]-8905 [2.6.3.1 項].

2.6.2.3.2.4　ISL、TAF 及び ddI：7日間インキュベートした TK6細胞におけるミトコンドリア毒性（ミトコンドリア DNA／核 DNA 比）評価、並びに TP 及び dNTP 濃度（TT #[redacted]-8907、TT #[redacted]-8908及び TT #[redacted]-8910）

陰性対照（TAF）及び陽性対照（ザルシタビン及び ddI）を含む NRTI との比較により、ISL のミトコンドリア毒性の可能性をさらに検討した[4.2.1.2.8: TT[redacted]8907] [4.2.1.2.9: TT[redacted]8908] [4.2.1.2.10: TT[redacted]8910]。これらの評価では、TK6培養細胞を ISL、TAF 又は ddI で7日間継続的に処理し、単一濃度（1 μM）のザルシタビンを陽性対照として各実験に含めた。

これらの実験で評価した ISL 及び TAF の最高濃度では、軽微な細胞増殖抑制及び細胞毒性が認められ、その時の各 TP（ISL-TP 又は TFV-DP）濃度は約90 μM であった。この TP 濃度は、第III相臨床試験で評価した ISL 用量（0.25 mg を1日1回投与）並びに TAF の承認用量を投与したときのヒト PBMC 中平均 TP 濃度［ISL-TP の Cmax は約9 μM（009試験の薬物動態学的データ[2.7.2.2.1.3 項]）、TFV-DP の Cmax は約1～5 μM[4.3: 080PLR] [4.3: 080PLM] [4.3: 080Q3G]］よりもはるかに高い TP 濃度に相当する。

評価したいずれの ISL 及び TAF 濃度でもミトコンドリア DNA／核 DNA 比の低下は認められなかったが、陽性対照のザルシタビンはミトコンドリア DNA／核 DNA 比を顕著に低下させた（99%超）。

ミトコンドリア毒性により程度の異なるミトコンドリア DNA／核 DNA 比の低下が起こる可能性を証明するため、ミトコンドリア DNA を減少させることがよく知られている ddI を用いた7日間の TK6アッセイも実施した。予想された通り、ddI によるミトコンドリア DNA／核 DNA 比の濃度依存的な低下が認められたことから、ミトコンドリア DNA を減少させる薬物の同定には7日間の処置で十分であることが示された。最高培地中濃度100 µM の場合［この条件での ddA-TP（ddI の TP）濃度は2 µM］を除き、検討した全ての濃度で細胞内 ddA-TP は定量下限未満であった。

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 によるミトコンドリア DNA ポリメラーゼ γ 阻害の欠如及び 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 によって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）と一貫する。

結論として、TK6細胞におけるミトコンドリア DNA／核 DNA 比の評価並びに ISL-TP が DNA ポリメラーゼ γ 阻害作用を示さないこと及び DNA ポリメラーゼ γ によって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。

2.6.2.3.2.5　ISL とインキュベートした後の静止期及び活性化 PBMC 中 ISL-TP 濃度（PD028）

静止期及び活性化 PBMC 中で生成される ISL-TP 濃度の差について検討するため、複数ドナーから得た PBMC を用いた ISL の取込み及びリン酸化に関する試験を実施した[4.2.1.2.11: PD028]。ISL と24～72時間インキュベートした後に静止期（未刺激）PBMC 及び活性化（PHA で刺激）PBMC 中の ISL-TP 濃度を比較した。In vitro における ISL の特徴を明らかにするため、得られたデータを同様に実施したヒト B リンパ芽球細胞株である TK6細胞株の試験データと比較した[4.2.1.2.5: TT[redacted]8903]。

ISL は静止期及び活性化ヒト PBMC のいずれにおいても効率的に取り込まれ、ISL-TP へのリン酸化が認められた。細胞内 ISL-TP 濃度は試験に用いた ISL 濃度に依存し、24時間と72時間及び静止期 PBMC と活性化 PBMC の間で同程度であった。ヒト PBMC 中細胞内 ISL-TP 濃度は、同程度の ISL 濃度存在下で24時間インキュベートした際の TK6細胞株の結果と同様であった。

2.6.2.3.2.6　In vitro で ISL とインキュベートしたヒト PBMC におけるリンパ球機能（PD029）

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]。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。

対照と比較して、静止期 PBMC では24時間後に27 μM の ISL で B 細胞及び NK 細胞のアポトーシスが増加した。また、いずれのリンパ球集団においても48時間後までに低濃度の ISL（3 μM 以上）でアポトーシスの増加が認められた。刺激物質存在下でインキュベートした PBMC では、いずれのリンパ球集団においても9 μM 以上の ISL でアポトーシスが増加した。最も感受性の高い細胞種は B 細胞であった。

ISL は主に3 μM 以上で、刺激物質存在下でインキュベートした PBMC の全リンパ球細胞種における増殖誘導による細胞活性化を濃度依存的に阻害した。ISL は3 μM でナイーブ B 細胞の IgG 産生を12.4倍減少させたが、1 μM 以下では顕著な減少は認められなかった。ISL は検討したいずれの濃度においても分化した CD4陽性又は CD8陽性メモリーT 細胞集団のサイトカイン産生に影響を及ぼさなかった。ISL は3 μM で pan-T 細胞刺激を伴いインキュベートした PBMC において CD4陽性及び CD8陽性 T 細胞の活性化を阻害した。

以上のデータから、ISL は1 μM 以下では in vitro での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ないことが示された。この in vitro での ISL 濃度は、300 μM 未満の細胞内 ISL-TP 濃度に相当する[4.2.1.2.11: PD028]。

2.6.2.3.3 HIV と関連しないウイルスに対する ISL の抗ウイルス活性（PD002、PD008及び PD024）

HIV 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[4.2.1.1.2: PD002]及び AD38細胞[4.2.1.2.13: PD008]を用いて評価した。これらの試験で得られた EC_{50}（それぞれ2.9 μM 及び8.02 μM）は、細胞毒性を伴う濃度と考えられた。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[4.2.1.2.13: PD008]。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 は他の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[4.2.1.2.14: PD024]。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する ISL の in vitro 抗ウイルス活性は弱く（EC_{50}はそれぞれ34.8 μM 及び22.3 μM）、臨床で抗ウイルス活性を示すことは予想されな

い。

2.6.2.3.4 初代培養細胞及び増殖性細胞株における ISL の in vitro 細胞毒性（PD007及び PD030）

HIV-1は静止期及び増殖中の両細胞に感染することから、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）並びに増殖性の腫瘍細胞株（MT4、SupT1及び HL-60）に対する ISL の in vitro 細胞毒性を検討した[4.2.1.2.15: PD007]。初代培養細胞（[表 2.6.2-13]）及び増殖性細胞株（[表 2.6.2-14]）において、ISL は12 µM 未満で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の 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 で抗ウイルス活性を示すのに必要な ISL の IC_{50}値（0.00021 µM）[4.2.1.1.2: PD002]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る。

表 2.6.2-13 ヒトの静止期及び活性化初代培養細胞に対する ISL の細胞毒性

Compound	Resting Cells CC_{50} (µM)				Activated Cells CC_{50} (µM)			
	PBMCs	CD4+ T Cells	Monocytes	MDMs	PBMCs	CD4+ T Cells	Monocytes	MDMs
ISL	12.39	13.4	34.3	>100	21.8	17.32	18.75	16.9
Positive Control	0.272	0.191	1.04	1.61	0.1033	0.153	0.175	0.473

CC_{50}=half-maximal cytotoxicity concentration; CD=cluster of differentiation; ISL=islatravir; MDMs=monocyte-derived macrophages; PBMCs=peripheral blood mononuclear cells.
Source: Nonclinical Study Report PD007 [2.6.3.1 項].

表 2.6.2-14 増殖性細胞株における ISL の細胞毒性

Compound	Cell Line CC_{50} (µM)		
	MT-4	SupT1	HL-60
ISL	44.77	22.49	36.47
Positive Control	0.0811	0.0463	0.286

CC_{50}=half-maximal cytotoxicity concentration; ISL=islatravir.
Source: Nonclinical Study Report PD007 [2.6.3.1 項].

さらに、複数ドナーから得た静止期及び活性化 PBMC における ISL の in vitro 細胞毒性を評価した[4.2.1.2.16: PD030]。各ドナーの PBMC における ISL の平均 CC_{50}は3,839 ± 2,634 nM（880～10,415 nM の範囲）であった。静止期 PBMC と活性化 PBMC で CC_{50}値に有意な差は認められなかった。

2.6.2.3.5 ISL の代謝物 M4及び M4-TP の in vitro オフターゲット活性（PD013、

PD014、PD017及び PD018）

108種類の酵素及び受容体のパネルを用いた結合試験では、循環血中の主要な ISL の代謝物である M4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[4.2.1.2.17: PD013]。同じパネルを用いて M4-TP を10 μM で評価したところ、50%以上の阻害が認められたのはヒスタミン H_3受容体（IC_{50} = 10.1 μM、K_i = 4.94 μM）のみであった[4.2.1.2.18: PD014]。

受容体結合試験で得られたヒスタミン H_3受容体の結果を追跡調査するため、ヒトヒスタミン H_3 受容体機能アッセイで検討した結果、M4-TP は拮抗作用（IC_{50} = 2.02 μM）を示した[4.2.1.2.19: PD017]。M4-TP は循環血中又はヒトヒスタミン H_3受容体が発現する中枢神経系には移行しないと考えられることから、この拮抗作用は臨床上のリスクにはならないと予想される。M4はラットにおいて主要な血漿中代謝物として検出されているが、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 ISL を評価した結果、脳組織中に検出された ISL 関連物質の推定総分布量の1日投与量に対する割合は0.01%以下であった（PK006）[2.6.5.6.6 項]。また、in vitro で PBMC を M4とインキュベートした結果 M4-TP は検出されなかったことから[2.6.2.2.1.7 項]、in vivo で M4-TP は生成されないと考えられる。

ヒト DNA ポリメラーゼアッセイを用いて、M4-TP の DNA ポリメラーゼに対する阻害作用についても検討した。M4-TP は検討した最高濃度（250 μM）までヒト DNA ポリメラーゼ α 又は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 β に対して弱い阻害作用（IC_{50} = 144 ± 29 μM）を示した[4.2.1.1.12: PD018]。

2.6.2.3.6 初代培養細胞及び増殖性細胞株における M4の in vitro 細胞毒性（PD009）

HIV-1の標的細胞（静止期又は未刺激及び PHA 刺激 PBMC、静止期又は未刺激及び PHA 刺激 CD4陽性 T 細胞、並びに未刺激の単球及びマクロファージ）及び確立された細胞株（MT4、SupT1 及び HL-60）に対する ISL の代謝物 M4の in vitro 細胞毒性を評価した[4.2.1.2.20: PD009]。検討した初代培養細胞及び確立された細胞株に対して、M4は100 μM まで細胞毒性を示さなかった。

2.6.2.3.7 補足的薬理試験（ISL）

2.6.2.3.7.1 ISL：心筋イオンチャネルパネルアッセイ（Patch Express）（TT #[redacted]-3082）

4種の心筋イオンチャネル電流［IKr（hERG）、IKs、INa 及び ICaL］への ISL の影響を in vitro で評価した。全てのイオンチャネルは CHO 又は HEK293細胞に安定して発現させたものを用いた。検討した最高濃度の30 μM［RHD のヒト非結合型 Cmax（0.00345 μM × 0.97 = 0.00335 μM）の8,955倍］では ISL は軽度の阻害作用を示した［hERG 電流に対する IC_{50}は30 μM 超（30 μM での阻害作用は19%）、IKs、INa 又は ICaL に対しては10%未満の阻害］。

2.6.2.3.7.2　ISL：麻酔モルモットを用いた探索的心血管系試験（TT #[redacted]-5142）

心拍数及び心電図間隔に及ぼすISLの影響を評価するため、麻酔下のHartleyモルモット（n＝3、雄）に20、30及び40 mg/kgのISLを3回連続で20分間持続静脈内投与し（累積投与量として20、50及び90 mg/kg）、心拍数及び心電図間隔［PR、QRS、QT及びQTcB間隔（改変されたBazettの補正式を用いて補正、QTcB間隔 ＝ 0.5×QT/√RR）］をモニタリングした[4.2.1.2.22: TT[redacted]5142]。各持続投与期の終了近くの時点で採血を行い、血漿中薬物濃度を測定した。ISL 投与との比較のため、同時対照として溶媒単独（DMSO：PEG200を1：1で混合、1 mL/kg/20分）の影響を別の3匹の雄モルモットで評価した。

ISL 投与による主要な被験物質に関連した影響として、20、30及び40 mg/kg の静脈内投与中に心拍数の増加が認められた（心拍数の最大変化率：それぞれ+33%、+42%及び+47%）。20、30及び40 mg/kg で認められた心拍数の増加は、PR 間隔（最大変化率：-10%、-19%及び-20%）及びQTcB間隔（最大変化率：-17%、-25%及び-26%）の短縮と同時に認められた。20、30及び40 mg/kgの投与終了付近に測定した平均最高血漿中ISL濃度（平均値±標準誤差）は、それぞれ114 ± 5、239 ± 34及び462 ± 68 µM（RHDにおけるヒトCmaxの33,043倍以上）であった。

2.6.2.3.7.3　ISL：ラットテレメトリー試験における血行動態作用の心血管系評価（TT #[redacted]-5421）

雌Wistar Hanラット（n＝5）に、溶媒（30% Captisol®脱イオン水溶液、同時対照）のみを単回経口投与し、次いでISLを10及び50 mg/kgで漸増経口投与（ISL投与は3日間空けて実施）したときの心拍数、収縮期血圧、拡張期血圧及び平均血圧に対するISLの影響を評価した[4.2.1.2.23: TT[redacted]5421]。各パラメータを溶媒（対照）及びISLを投与後約20時間にわたり、ラジオテレメトリーによりモニタリングした。

10 mg/kgのISL［ラットを用いた1ヵ月間反復投与試験（TT #[redacted]-1075、[2.6.7.7.C項]）の10 mg/kg/日でのCmax（4.88 µM）から推定される曝露比はRHDにおけるヒトCmaxの1,414倍］を投与したところ、心拍数又は動脈血圧パラメータに被験物質に関連した影響は認められなかった。50 mg/kg［ラットを用いた1ヵ月間反復投与試験（TT #[redacted]-1075、[2.6.7.7.C項]）の50 mg/kg/日でのCmax（18.9 µM）から推定される曝露比はRHDにおけるヒトCmaxの5,478倍］では、投与約1時間後から4～5時間後まで収縮期血圧、拡張期血圧及び平均血圧の上昇（平均血圧の最大変化量：約+10 mmHg）並びに心拍数の増加（心拍数の最大変化量：約+60 bpm）が認められた。パラメータ値の上昇は個体間でばらつきがあり、50 mg/kgのISLを投与したラット5匹の内2～3匹で動脈血圧パラメータ及び心拍数に影響が観察された。

2.6.2.4　安全性薬理試験

ISL の呼吸系、心血管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、ICH S7A 及び S7B ガイドラインに準拠した ISL の安全性薬理試験を実施した。概要を本項及び[2.6.3.4 項]に記載する。重要な安全性薬理試験は、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。

安全性薬理試験における曝露比の算出には、DOR/ISL の第I相から第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 Cmax（0.00345 µM、幾何平均値）を用いた。

ISL の安全性薬理試験を[表 2.6.2-15]に示し、各安全性薬理試験でみられた所見の概要を後述する。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。

表 2.6.2-15　ISL の安全性薬理試験（ICH S7A 及び S7B ガイドラインの推奨事項に準拠）

Study Type / Duration	Route	Species / Strain	Dose Levels	Study No. (GLP Status)
hERG / in vitro	In vitro	In vitro	30, 100, 300 µM	TT #[redacted]-4707 (GLP)
Cardiovascular and respiratory function / single dose	Oral (gavage)	Monkey / Rhesus	0, 30, 100 mg/kg	TT#[redacted]-5802 (GLP)
Cardiovascular	Oral (gavage)	Monkey / Rhesus	0, 30, 100 mg/kg[a]	TT#[redacted]-5851 (Non-GLP)
Neurobehavioral function / 5 days[b]	Oral (gavage)	Rat / Wistar Han	0, 30, 200 mg/kg[b]	TT #[redacted]-1040 (Non-GLP)
Neurobehavioral function / 29 days[c]	Oral (gavage)	Rat / Wistar Han	0, 3, 10, 50 mg/kg[c]	TT #[redacted]-1075 (GLP)

FOB=functional observational battery; GLP=Good Laboratory Practice; hERG=human ether-à go-go related gene; ICH=International Conference on Harmonisation; No.=number.

a. Rhesus monkeys (2 separate treatment groups of animals run in parallel) were treated with 4 oral doses of ISL, with 3 days between the test article doses.
b. FOB assessments were conducted in 4 males and 4 females/group on Study Day 1 (after a single oral dose).
c. FOB assessments were conducted in 6 males/group on Study Day 1 (after a single oral dose).

2.6.2.4.1　ISL：CHO 細胞を用いた hERG チャネル電流に対する電気生理学的評価（TT #[redacted]-4707）

パッチクランプ法を用いた電気生理学的試験において ISL の hERG 電流（IKr：心室再分極に影響する主要な電流）に与える影響を評価した。CHO-K1細胞に異種発現させた hERG チャネルに対する ISL（名目濃度30、100及び300 µM）の影響を標準的な whole-cell 膜電位固定法により評価した[4.2.1.3.1: TT[redacted]4707]。GLP 適用の hERG 試験における IC_{50}は291 µM 超であった［ISL は実測濃度291 µM で IKr を17.7%阻害した。291 µM は RHD におけるヒト非結合型 Cmax（0.00345 µM × 0.97 = 0.00335 µM）の86,866倍］。

2.6.2.4.2 ISL：アカゲザルを用いた経口投与心血管系及び呼吸系テレメトリー試験（TT #[redacted]-5802）

無麻酔下のテレメトリー装着アカゲザルに ISL を30及び100 mg/kg の用量で単回経口投与し、ISL の心血管系、呼吸系及び体温への影響を評価した[4.2.1.3.2: TT[redacted]5802]。投与群は2群［各群4匹（雄3匹及び雌1匹）］設定した。全てのサル（8匹）に溶媒のみ（時間を一致させて投与した対照群）を単回経口投与した4日後に、ISL 30又は100 mg/kg を投与した（4匹／群）。ラジオテレメトリーを介して溶媒及び ISL 投与から72時間にわたり、心拍数、収縮期血圧、拡張期血圧、平均血圧、心電図パラメータ及び心電図間隔（PR、QRS、RR 及び QT）、呼吸パラメータ（呼吸数及び呼吸深度）及び体温を記録した。各動物の QT/RR 関係の対数回帰分析に基づく個体別補正法を用い、QT 間隔の心拍数補正を行った（QTci 間隔）。

30 mg/kg の単回経口投与では、収縮期血圧、拡張期血圧、平均血圧、心拍数、心電図間隔、呼吸パラメータ及び体温に ISL に関連した変化は認められなかった。最高用量の100 mg/kg では、心拍数、血圧、呼吸数及び体温の増加／上昇が認められた。また、心拍数の増加に伴い RR 及び QT 間隔の短縮も認められた。心拍数の増加は投与1～16時間後にみられ［平均心拍数の最大変化量：+42 bpm、最大変化率+51%（投与5時間後）］、投与した4例全てで心拍数への影響が認められた。血圧上昇は投与3～16時間後にみられ［平均血圧の最大変化量：約+10 mmHg、最大変化率：+11%（投与10時間後）］、主に100 mg/kg 投与群で心拍数変化が大きかった2例で変化が顕著であった。また、呼吸数増加は100 mg/kg 投与後4～16時間に（最大変化量：+6回／分、最大変化率：+27%）、体温上昇は投与後最初の48時間のみ夜間に認められた（最大変化量：+0.5°C、最大変化率+1%）。100 mg/kg 群の心拍数の増加は RR 及び QT 間隔の短縮を伴っていたが、溶媒対照と比較した際に QTci 間隔及び QT/RR 間隔に ISL に関連した変化は認められなかった。

心血管系及び呼吸系を評価した本テレメトリー試験の結果から、ISL をサルに単回経口投与した際の血行動態（心拍数及び血圧）並びに呼吸系に対する無影響量は30 mg/kg であった［Cmax = 17.7 µM、RHD におけるヒト Cmax の5,130倍、サル慢性毒性試験の20 mg/kg/日群における試験1日の Cmax = 11.8 µM を用いて算出（TT #[redacted]-1068、[2.6.7.7.H 項]）］。また、QTci 間隔に対する無影響量は100 mg/kg であった［RHD におけるヒト Cmax の10,290倍、サル慢性毒性試験の100 mg/kg/日群における試験1日の Cmax = 35.5 µM を用いて算出（TT #[redacted]-1068、[2.6.7.7.H 項]）］。

2.6.2.4.3 ISL：アカゲザルを用いた探索的反復経口投与心血管系テレメトリー試験（TT #[redacted]-5851）

アカゲザルに ISL を30及び100 mg/kg の用量で4回反復経口投与し（3日間隔）、ISL の反復投与による動脈血圧（収縮期血圧、拡張期血圧及び平均血圧）、心拍数に対する影響を評価した[4.2.1.3.3: TT[redacted]5851]。投与群は2群（雄4匹／群）設定し、一方に30 mg/kg、もう一方に100 mg/kg を投与した。ISL の投与前に全てのサルに溶媒単独（時間を一致させて投与した対照群）を4回経口投与し

た（3日間隔）。ラジオテレメトリーを介して溶媒及びISLそれぞれの投与から72時間にわたり、d動脈血圧パラメータ（収縮期血圧、拡張期血圧及び平均血圧）、心拍数及び体温を記録した。本試験では ISL 100 mg/kg を反復投与した際の血行動態変化が、サルの単回投与テレメトリー試験[4.2.1.3.2: TT[redacted]5802] [2.6.2.4.2 項]で認められた変化よりも増悪するか否かを評価することを目的とした。

100 mg/kg の反復投与では、対照群と比較して約+6～+21 bpm（最大変化量：+21 bpm、最大変化率：+24%）の心拍数増加が投与1回目～4回目の各投与1～18時間後に認められた。100 mg/kg 群で試験1～4日に認められた心拍数変化の程度及び持続時間は、単回投与試験で100 mg/kg を投与した際に認められた心拍数変化と同程度であった（TT #[redacted]-5802、最大変化量：約+11～+24 bpm、最大変化率：+13～+22%の心拍数増加、6時間時点の平均値）。100 mg/kg 群の試験2～4日の心拍数変化は、試験1日と比較して変化の増悪はみられなかった。また、血圧パラメータ（平均値又は個体別値）の変化は、いずれの投与日にも認められなかった。単回投与試験の30 mg/kg 群で血行動態への影響が認められなかったこと、また、100 mg/kg の反復投与［RHD におけるヒト Cmax の10,290倍、サル慢性毒性試験の100 mg/kg/日群における試験1日の Cmax = 35.5 µM を用いて算出（TT #[redacted]-1068、[2.6.7.7.H 項]）］においても心拍数変化の増悪が認められなかったことから、30 mg/kg 群のデータは解析しなかった。

2.6.2.4.4　ISL：無麻酔下のラットを用いた FOB による神経行動学的影響評価［TT #[redacted]-1040（非 GLP）及び TT #[redacted]-1075（GLP）］

ラットに ISL を単回経口投与後、試験1日に FOB 評価を行う独立した2つの毒性試験を実施し、ISL が中枢神経機能に及ぼす影響を評価した。FOB 評価は各群の動物（Wister Han ラット）の投与状況に関して盲検化された観察者が実施し、自律神経機能、感覚運動機能（ホームケージ及びオープンフィールド）、刺激反応性、覚醒、姿勢異常、自発運動及び／又は歩行異常、着地開脚幅、痛覚反応（ホットプレート法による反応時間又はテールピンチ反応）、常同行動並びに体温を評価した。

1回目の毒性試験[4.2.3.2.3: TT[redacted]1040]：ラットを用いた探索的5日間経口投与毒性試験（非 GLP）では、0（溶媒対照群）、30及び200 mg/kg の用量で ISL を単回経口投与した後、FOB 評価（非 GLP）を投与後約1時間（推定 Tmax）に実施した（4匹／性／群）。ISL 30及び200 mg/kg の単回経口投与では、ISL に関連した神経行動学的影響は認められなかった（Cmax = 24.1 µM、RHD におけるヒト Cmax の6,986倍）。

2回目の毒性試験[4.2.3.2.5: TT[redacted]1075]：ラットを用いた29日間経口投与毒性試験（GLP）では、0（溶媒対照群）、3、10及び50 mg/kg の用量で ISL を単回経口投与した後、投与後約1時間（推定 Tmax）に FOB 評価（GLP）を実施した（雄6匹／群）。ISL の3、10及び50 mg/kg の単回経口投与では、ISL による神経行動学的影響は認められなかった（Cmax = 16.6 µM、RHD におけるヒト Cmax の4,812倍）。

2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験

2.6.2.5.1 ISL と既承認抗レトロウイルス薬の併用時の抗ウイルス活性（PD002、PD006、PD021、PD027及び PD034）

ISL と NRTI である3TC、FTC 及び TFV を含む15種類の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[4.2.1.1.2: PD002] [4.2.1.4.1: PD006]。抗ウイルス活性は CEM-SS 細胞又は MAGI-CCR5細胞で HIV-1 IIIB 又は HIV-1 BaL を用いて測定した。検討した濃度範囲では、ISL といずれの15種類の薬物の間においても抗ウイルス活性に対する拮抗作用は認められなかった。一方、拮抗作用を示す陽性対照（サニルブジンとリバビリンの併用）では、全ての実験で強い拮抗作用が認められた。検討した ISL の濃度範囲で相乗的な細胞毒性の増強は認められなかった。

また、ヒト PBMC を用いた ISL と3TC 又は TDF の2剤併用試験を実施した[4.2.1.4.3: PD034]。ISL と3TC 又は TDF の併用処置では、PBMC における HIV-1複製阻害作用に対して相加的であり、検討した濃度範囲で拮抗作用は認められなかった。

DOR と ISL 又は ISL と LEN の併用による抗ウイルス活性及び細胞毒性に対する影響を、MT4-GFP 細胞を用いて in vitro で評価した[4.2.1.1.13: PD021] [4.2.1.4.2: PD027]。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解析を実施した。いずれの併用処置でも HIV-1複製阻害作用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。

2.6.2.5.2 ヒト PBMC 中 ISL-TP 濃度に対するヌクレオシド（ヌクレオチド）阻害薬の影響（PD035）

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。薬理学的活性体である 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[2.6.2.2.1.1 項]。

リン酸化の律速段階は ISL から ISL-MP へのリン酸化であり、dCK により触媒される[4.3: 04R5C4]。dCK は複数の抗がん剤並びに NRTI である3TC 及び FTC を含む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]。dCK によるリン酸化の基質となる薬物間で競合が生じ、その結果 ISL のリン酸化が減少し、薬物相互作用が生じる可能性がある[4.3: 08FGFS] [4.3: 08FGFR] [4.3: 08FGFP] [4.3: 08FGFM]。

ISL の取込み及びリン酸化に対する既承認の NRTI である FTC、3TC、ABC 又は TAF の影響を、ヒト PBMC を用いて in vitro で評価した。逆に、既承認の NRTI である FTC、3TC、ABC 又は TAF の取込み及びリン酸化に対する ISL の影響についても、PBMC を用いて同様に評価した。薬物を PBMC と24時間インキュベートした後、上清あるいは細胞中の ISL、FTC、3TC、ABC 及び TAF 並びに各リン酸化体の濃度を LC-MS/MS を用いて測定した[4.2.1.4.4: PD035]。

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た。

いずれの薬物も、他のヌクレオシド（ヌクレオチド）の取込みに対して影響を及ぼさなかった。

これらの in vitro 試験の結果は、3TC による ISL-TP の曝露量への影響が認められた第I相薬物相互作用試験で得られた結果と一貫している[2.7.2.3.3.1 項]。

2.6.2.6 考察及び結論

2.6.2.6.1 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。詳細な薬理学的特性は DOR の製造販売承認申請資料[eCTD 受付番号310828004、2.6.2 項]に記載している。DOR はポリメラーゼ活性部位近傍の p66/p51ヘテロ二量体の p66サブユニットにある疎水性ポケットと結合する NNRTI である。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。ICH S7A 及び S7B に準拠した In vitro 及び in vivo 安全性薬理試験により心血管系、呼吸系及び中枢神経系に対する作用を評価した結果、ヒト臨床用量100 mg での曝露を超える曝露量において DOR に懸念される所見は認められなかった。

2.6.2.6.2 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。サル及びヒト血液を用いた in vitro 試験で、ISL は PBMC 中で効率的にリン酸化され、活性体である ISL-TP が生成されることが示された。ISL-TP は細胞内に保持され、細胞外では検出されなかった。

ISL は HIV-1複製に対する強力かつ特異的な阻害薬である。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た。主要な NRTI 耐性関連置換を有する HIV-1臨床分離株に対する ISL の抗ウイルス活性は、野生型と同程度又は中等度の低下を示すのみであった。NRTI 耐性関連置換である M184I 及び M184V により、ISL の抗ウイルス活性がそれぞれ3.9倍及び5.0倍に低下した。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 の1日1回投与で得られる曝露により[2.7.2.1 項]、広範な HIV-1のサブタイプ及び変異に対して抗ウイルス作用を示すと予想される。

In vitro で示された ISL の強力な抗ウイルス活性は、in vivo アカゲザルモデルにおいても確認された。SIVmac251を接種したアカゲザルに ISL を1日1回又は週1回で経口投与した結果、ISL の有効性が示された。ISL の週1回経口投与は逆転写酵素領域に M184V を有する SIVmac251の抑制にも有効であった。

ISL が HIV-1逆転写酵素の特異的な阻害薬であることが in vitro で示されている。120種類及び113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 及び ISL-TP はそれぞれ10及び20 μM で臨床上のリスクとなりうるオフターゲット活性を示さなかった。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に対して検討した最高濃度（200 μM）ま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 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。ISL は臨床用量では抗 HBV 活性又は抗 HCV 活性を示さないと考えられる。ISL は他の12種類のウイルスに対して抗ウイルス活性を示さず、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のみ弱い抗ウイルス活性を示した。

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 試験の結果は、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あることを支持するものであり、DNA 複製及び細胞分裂に関与する DNA ポリメラーゼαの阻害を機序とする作用であると考えられる。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、ABC、FTC 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細胞の増殖抑制も認められている。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。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]。

循環血中の主要な ISL の代謝物であり、酸化的脱アミノ化によって生成される M4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。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（IC_{50}）は、それぞれ ISL の約9,000倍及び約

7,000倍低かった。M4による初代培養細胞及び増殖性細胞株における細胞毒性は認められず、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は認められなかった。

中枢神経系、心血管系及び呼吸系に対するISLの影響を確認するため、十分に確立された非臨床安全性薬理モデルにおいて評価を実施した。ISLに中枢神経系、心血管系及び呼吸系への懸念すべき影響は認められなかった。

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た。

ISLをdCKにより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た。

結論として、ISLの非臨床薬理学的プロファイルは、成人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。

2.6.2.6.3 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、良好な薬物相互作用プロファイル、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。

In vitro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、DOR及びISLの単独処置又は他の薬物の併用処置（DTG＋3TC）と比較してより高い耐性出現に対するバリアを示した。DORとISLの併用処置によるウイルス複製及び耐性関連置換の出現は、DOR又はISLの濃度が各薬物のIC_{50}値のそれぞれ3倍超又は2倍超となる濃度では認められなかった。各薬物の既知の耐性発現経路に対して、DORとISLの併用による変化は認められなかった。

ISLとDORは相補的な耐性プロファイルを有することがin vitroで示されている。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。また、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、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。

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。

以上より、単剤としての DOR 及び ISL 並びに併用時の非臨床薬理学的プロファイルは、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。

2.6.2.7 参考文献

参考文献は、[1.12 項]の「4.3参考文献」に示した。

目次

2.6.3 薬理試験概要表
2.6.3.1 薬理試験：一覧表
2.6.3.2 効力を裏付ける試験
2.6.3.3 副次的薬理試験
2.6.3.4 安全性薬理試験
2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験

2.6.3 薬理試験概要表

2.6.3.1 薬理試験：一覧表

被験物質：イスラトラビル

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location
Primary Pharmacodynamics					
Biochemical activity: pd001mk8591 - MK-8591: In Vitro Biochemical Activity of MK-8591	In vitro: biochemical assays	NA	MRL-WP, [redacted]	PD001	[4.2.1.1.1: PD001]
Antiviral activity: pd002mk8591 - MK-8591: In Vitro Antiviral Activity of MK-8591	In vitro: PBMCs, MDMs, and MT4-GFP cells	NA	MRL-WP	PD002	[4.2.1.1.2: PD002]
Resistance selection in vitro: pd003mk8591 - MK-8591: In Vitro Resistance Selection with MK-8591	In vitro: MT4-GFP cells	NA	MRL-WP	PD003	[4.2.1.1.6: PD003]
In vivo antiviral activity: pd004mk8591 - MK-8591: Evaluation of MK-8591 Efficacy in SIV-Infected Rhesus Macaques	Monkey / Rhesus	Oral (gavage)	MRL-WP: [redacted]	PD004	[4.2.1.1.17: PD004]
Antiviral activity: pd005mk8591 - MK-8591: In Vitro Antiviral Activity of MK-8591 Against HIV-1 Clinical Isolates	In vitro: [redacted] assays	NA	MRL-WP, [redacted]	PD005	[4.2.1.1.3: PD005]
Antiviral activity of M4: pd010mk8591 - MK-8591: In Vitro Evaluation of [redacted] (M4) Uptake by Human Peripheral Blood Mononuclear Cells	In vitro: PBMCs	NA	MRL-WP	PD010	[4.2.1.1.10: PD010]

2.6.3.1 薬理試験：一覧表（続き）

被験物質：イスラトラビル

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location
Primary Pharmacodynamics (Continued)					
PBMC uptake and conversion: pd011mk8591 - MK-8591: In Vitro Evaluation of Uptake by Human Peripheral Blood Mononuclear Cells and Determination of Inhibitory Quotients for Antiviral Activity	In vitro: PBMCs	NA	MRL-WP	PD011	[4.2.1.1.9: PD011]
Antiviral activity of M4: pd012mk8591 - MK-8591: Assessment of Antiviral Activity and Cytotoxicity of MK-8591 Metabolite M4 ([redacted])	In vitro: PBMCs and MT4-GFP cells	NA	MRL-WP	PD012	[4.2.1.1.11: PD012]
In vivo antiviral activity: pd015mk8591 - MK-8591: In Vivo Activity of Once-Weekly MK-8591 (Islatravir) in Simian Immunodeficiency Virus-Infected Rhesus Monkeys with 3TC-Induced Resistance	Monkey / rhesus	Oral (gavage)	MRL-WP; [redacted]	PD015	[4.2.1.1.18: PD015]
Resistance selection in vitro: pd016mk8591 - MK-8591: In Vitro Resistance Selection Studies With HIV-1 Subtypes A, B, and C	In vitro: MT4, MT4-GFP, MT4-GFP-CCR5 cells	NA	MRL-WP	PD016	[4.2.1.1.7: PD016]
Antiviral activity of M4-TP: pd018mk8591 - MK-8591: Determination of In Vitro Biochemical Activity of 5′-Triphosphate of Islatravir Metabolite M4	In vitro: enzyme assay	NA	MRL-WP; [redacted]	PD018	[4.2.1.1.12: PD018]
Antiviral activity against resistance-associated mutations: pd019mk8591 - MK-8591: Antiviral Activity of MK-8591 (Islatravir) Against a Panel of Viruses Bearing Integrase Strand Transfer Inhibitor Resistance-associated Mutations	In vitro: MT4-GFP cells	NA	MRL-WP	PD019	[4.2.1.1.5: PD019]

2.6.3.1　薬理試験：一覧表（続き）

被験物質：イスラトラビル又はドラビリン＋イスラトラビル

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location
Primary Pharmacodynamics (Continued)					
Antiviral activity against resistance-associated mutations: pd020mk8591 - MK-8591: Assessment of Antiviral Activity Against HIV-1 Variants Selected By MK-8591 (Islatravir) In Vitro and Variants that Are Associated with Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor Resistance	In vitro: MT4-GFP cells, PBMCs	NA	MRL-WP	PD020	[4.2.1.1.8: PD020]
Antiviral activity of DOR/ISL: pd021mk8591 - MK-8591: Evaluation of Antiviral Activity of Islatravir in Combination with Doravirine	In vitro: MT4-GFP cells	NA	MRL-WP	PD021	[4.2.1.1.13: PD021]
Resistance selection in vitro of DOR/ISL: pd022mk8591 - MK-8591: In Vitro Resistance Selection Studies With The Combination Of Doravirine And Islatravir	In vitro: MT4-GFP cells	NA	MRL-WP	PD022	[4.2.1.1.14: PD022]
Antiviral activity against resistance-associated mutations: pd023mk8591 - MK-8591: Assessment of Antiviral Activity of Islatravir Against Non-Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor (NNRTI) Resistance-Associated HIV-1 Variants	In vitro: MT4-GFP cells, PBMCs	NA	MRL-WP	PD023	[4.2.1.1.4: PD023]
Resistance selection in vitro of DOR/ISL: pd025mk8591 - MK-8591: Increased Barrier to Resistance for the Combination of Doravirine and Islatravir	In vitro: MT4-GFP cells	NA	MRL-WP	PD025	[4.2.1.1.15: PD025]
Antiviral activity against resistance-associated mutations: pd026mk8591 - MK-8591: Assessment of Antiviral Activity of Doravirine Against HIV-1 Variants Selected by MK-8591 (Islatravir) In Vitro and Variants That Are Associated With Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor Resistance	In vitro: MT4-GFP cells	NA	MRL-WP	PD026	[4.2.1.1.16: PD026]

C Confidential

2.6.3.1 薬理試験：一覧表（続き）

被験物質：イスラトラビル

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location
Secondary Pharmacodynamics					
Off-target functional activity: pd001mk8591 - MK-8591: In Vitro Biochemical Activity of MK-8591	In vitro: enzyme and receptor binding assays	NA	MRL-WP, [redacted]	PD001	[4.2.1.1.1: PD001]
Activity against other viruses: pd002mk8591 - MK-8591: In Vitro Antiviral Activity of MK-8591	In vitro: HepG2 2.2.15 cells	NA	MRL-WP	PD002	[4.2.1.1.2: PD002]
In vitro cytotoxicity: pd007mk8591 - MK-8591: Assessment of In Vitro Cytotoxicity of MK-8591	In vitro: primary human cells, proliferating tumor cell lines	NA	MRL-WP	PD007	[4.2.1.2.15: PD007]
Activity against viruses unrelated to HIV: pd008mk8591 - MK-8591: Activity Against Hepatitis B Virus and Hepatitis C Virus	In vitro: AD38 and genotype 1a Huh7 replicon cells	NA	MRL-WP; [redacted]	PD008	[4.2.1.2.13: PD008]
In vitro cytotoxicity of M4: pd009mk8591 - MK-8591: Assessment of In Vitro Cytotoxicity of MK-8591 Metabolite M4	In vitro: primary human cells, proliferating tumor cell lines	NA	[redacted]	PD009	[4.2.1.2.20: PD009]
Off-target functional activity of M4: pd013mk8591 - MK-8591: [redacted] Data Report for Pharmacology Services, Compound [redacted]	In vitro: enzyme and receptor binding assays	NA	[redacted]	PD013	[4.2.1.2.17: PD013]
Off-target functional activity of M4-TP: pd014mk8591 - MK-8591: [redacted] Data Report for Pharmacology Services, Compound [redacted]	In vitro: enzyme and receptor binding assays	NA	[redacted]	PD014	[4.2.1.2.18: PD014]

2.6.3.1 薬理試験：一覧表（続き）

被験物質：イスラトラビル

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location
Secondary Pharmacodynamics (Continued)					
Off-target functional activity of M4-TP: pd017mk8591 - MK-8591: [redacted] Data Report for Pharmacology Services, Compound [redacted]	In vitro: human histamine H3 functional assay	NA	[redacted]	PD017	[4.2.1.2.19: PD017]
Off-target functional activity of M4-TP: pd018mk8591 - MK-8591: Determination of In Vitro Biochemical Activity of 5′-Triphosphate of Islatravir Metabolite M4	In vitro: DNA polymerase assays	NA	MRL-WP; [redacted]	PD018	[4.2.1.1.12: PD018]
Activity against other viruses: pd024mk8591 - MK-8591: Evaluation of Merck & Co., Inc. Islatravir [redacted] Against a Panel of 14 Viruses	In vitro: antiviral assays	NA	[redacted]	PD024	[4.2.1.2.14: PD024]
Investigational studies related to lymphocytes: pd028mk8591 - MK-8591: Assessment of Islatravir-Triphosphate Concentrations in Human PBMCs Incubated With Islatravir In Vitro	In vitro: PBMCs	NA	MRL-WP	PD028	[4.2.1.2.11: PD028]
Investigational studies related to lymphocytes: pd029mk8591 - MK-8591: Assessment of Lymphocyte Function in Human PBMCs Incubated With Islatravir In Vitro	In vitro: PBMCs	NA	MRL-WP	PD029	[4.2.1.2.12: PD029]
In vitro cytotoxicity: pd030mk8591 - MK-8591: Assessment of In Vitro Cytotoxicity of Islatravir in Resting and Activated PBMCs	In vitro: PBMCs	NA	MRL-WP	PD030	[4.2.1.2.16: PD030]

2.6.3.1　薬理試験：一覧表（続き）

被験物質：イスラトラビル

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location
Secondary Pharmacodynamics (Continued)					
Investigational studies related to lymphocytes: tt[redacted]8900fin - Exploratory Assay to Determine Cytotoxicity and Intracellular Triphosphate Levels in vitro in TK6 Human Lymphoblast Cells	In vitro: TK6 cells	NA	MRL-WP	TT #[redacted]-8900	[4.2.1.2.2: TT[redacted]8900]
Investigational studies related to lymphocytes: tt[redacted]8901fin - Exploratory Assay to Determine Cytotoxicity and Intracellular Triphosphate Levels in vitro in TK6 Human Lymphoblast Cells	In vitro: TK6 cells	NA	MRL-WP	TT #[redacted]-8901	[4.2.1.2.3: TT[redacted]8901]
Investigational studies related to lymphocytes: tt[redacted]8902fin - Exploratory Assay to Determine Cytotoxicity and Intracellular Triphosphate Levels in vitro in TK6 Human Lymphoblast Cells	In vitro: TK6 cells	NA	MRL-WP	TT #[redacted]-8902	[4.2.1.2.4: TT[redacted]8902]
Investigational studies related to lymphocytes: tt[redacted]8903fin - Exploratory Assay to Determine Cytotoxicity and Intracellular Triphosphate Levels in vitro in TK6 Human Lymphoblast Cells	In vitro: TK6 cells	NA	MRL-WP	TT #[redacted]-8903	[4.2.1.2.5: TT[redacted]8903]
Investigational studies related to lymphocytes: tt[redacted]8909fin - Exploratory Assay to Determine Cytotoxicity and Intracellular Triphosphate Levels in vitro in TK6 Human Lymphoblast Cells	In vitro: TK6 cells	NA	MRL-WP	TT #[redacted]-8909	[4.2.1.2.6: TT[redacted]8909]
Investigational studies related to lymphocytes: tt[redacted]8905fin - Emtricitabine (FTC): Exploratory Assay to Determine Cytotoxicity and Intracellular Triphosphate Levels in vitro in TK6 Human Lymphoblast Cells	In vitro TK6 cells	NA	MRL-WP	TT #[redacted]-8905	[4.2.1.2.7: TT[redacted]8905]

2.6.3.1　薬理試験：一覧表（続き）

被験物質：イスラトラビル

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location
Secondary Pharmacodynamics (Continued)					
Investigational studies related to lymphocytes: MK-8591: [redacted] (EFda): Exploratory Assay to Determine Cytotoxicity and Mitochondrial DNA Content in vitro, in TK6 Human Lymphoblast Cells	In vitro TK6 cells	NA	MRL-WP	TT #[redacted]-8852	[4.2.1.2.1: TT[redacted]8852]
Investigational studies related to lymphocytes: tt[redacted]8907fin - Exploratory Assay to Determine Cytotoxicity and Mitochondrial DNA Content in vitro, in TK6 Human Lymphoblast Cells	In vitro: TK6 cells	NA	MRL-WP	TT #[redacted]-8907	[4.2.1.2.8: TT[redacted]8907]
Investigational studies related to lymphocytes: tt[redacted]8908fin - Exploratory Assay to Determine Cytotoxicity and Mitochondrial DNA Content in vitro, in TK6 Human Lymphoblast Cells	In vitro: TK6 cells	NA	MRL-WP	TT #[redacted]-8908	[4.2.1.2.9: TT[redacted]8908]
Investigational studies related to lymphocytes: tt[redacted]8910fin - Exploratory Assay to Determine Cytotoxicity and Mitochondrial DNA Content in vitro, in TK6 Human Lymphoblast Cells	In vitro: TK6 cells	NA	MRL-WP	TT #[redacted]-8910	[4.2.1.2.10: TT[redacted]8910]
Ancillary Pharmacology					
Cardiac Ion Channel Assay	In vitro: CHO or HEK293 cells	NA	MRL-WP	TT #[redacted]-3082	[4.2.1.2.21: TT[redacted]3082]
Cardiovascular Function	Guinea Pig / Hartley (Anesthetized)	IV	MRL-WP	TT #[redacted]-5142	[4.2.1.2.22: TT[redacted]5142]
Cardiovascular Function	Rat / Wistar Han	Oral (gavage)	MRL-KW	TT #[redacted]-5421	[4.2.1.2.23: TT[redacted]5421]

Confidential

2.6.3.1 薬理試験：一覧表（続き）

被験物質：イスラトラビル

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location
Safety Pharmacology					
hERG Assay	In vitro: hERG channels expressed stably in Chinese hamster ovary (CHO-K1) cells	NA	MRL-WP	TT #[redacted]-4707[a]	[4.2.1.3.1: TT[redacted]4707]
Cardiovascular and Respiratory Function	Monkey / Rhesus	Oral (gavage)	MRL-WP	TT #[redacted]-5802[a]	[4.2.1.3.2: TT[redacted]5802]
Cardiovascular Function	Monkey / Rhesus	Oral (gavage)	MRL-WP	TT #[redacted]-5851	[4.2.1.3.3: TT[redacted]5851]
Behavioral and CNS Function as a component of 5-Day Study	Rat / Wistar Han	Oral (gavage)	MRL-WP	TT #[redacted]-1040	[4.2.3.2.3: TT[redacted]1040]
Behavioral and CNS Function as a component of 29-Day Study	Rat / Wistar Han	Oral (gavage)	MRL-WP	TT #[redacted]-1075[a]	[4.2.3.2.5: TT[redacted]1075]
Pharmacodynamic Drug Interactions					
Activity in combination with other compounds: pd002mk8591 - MK-8591: In Vitro Antiviral Activity of MK-8591	In vitro: CEM-SS cells	NA	MRL-WP	PD002	[4.2.1.1.2: PD002]
Activity in combination with other compounds: pd006mk8591 - MK-8591: Anti-HIV Evaluation of EFdA in 2-Drug Combination Studies with Twelve FDA-Approved Antiretroviral Drugs and One Merck Compound	In vitro: CEM-SS and MAGI-CCR5 cells	NA	[redacted]	PD006	[4.2.1.4.1: PD006]
Activity in combination with other compounds: pd021mk8591 - MK-8591: Evaluation of Antiviral Activity of Islatravir in Combination With Doravirine	In vitro: MT4-GFP cells	NA	MRL-WP	PD021	[4.2.1.1.13: PD021]

2.6.3.1　薬理試験：一覧表（続き）

被験物質：イスラトラビル

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location
Pharmacodynamic Drug Interactions (Continued)					
Activity in combination with other compounds: pd027mk8591 - MK-8591: Evaluation of Antiviral Activity of Islatravir in Combination With Lenacapavir	In vitro: MT4-GFP cells	NA	MRL-WP	PD027	[4.2.1.4.2: PD027]
Activity in combination with other compounds: pd034mk8591 - MK-8591: Antiviral Activity of Islatravir in Combination With Lamivudine or Tenofovir Disoproxil Fumarate in PBMCs	In vitro: PBMCs	NA	MRL-WP	PD034	[4.2.1.4.3: PD034]
Activity in combination with other compounds: pd035mk8591 - MK-8591: Assessment of the Effect of Nucleos(t)ide Inhibitors on Islatravir Triphosphate Concentrations in Human PBMCs In Vitro	In vitro: PBMCs	NA	MRL-WP	PD035	[4.2.1.4.4: PD035]

3TC=lamivudine; CHO=Chinese hamster ovary; CNS=central nervous system; DNA=deoxyribonucleic acid; DOR=doravirine; FDA=Food and Drug Administration; FTC=emtricitabine; GFP=green fluorescent protein; GLP=Good Laboratory Practice; HEK=human embryonic kidney; hERG=human ether-à-go-go related gene; HIV=human immunodeficiency virus; HIV-1=human immunodeficiency virus type one; ISL=islatravir, [redacted], EFda (4'-ethynyl-2-fluoro-2'-deoxyadenosine); IV=intravenous(ly); [redacted]=M4 metabolite of ISL; [redacted]=ISL-TP (ISL-triphosphate); M4-TP=triphosphate version of M4; MDM=monocyte-derived macrophage; NA=not applicable; NNRTI=non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor; PBMC=peripheral blood mononuclear cell; ROC=Republic of China; SIV=simian immunodeficiency virus; USA=United States of America.
Testing Facilities: [redacted], ROC; [redacted], USA; [redacted], USA; MRL-KW=Merck Research Laboratories, Kenilworth, NJ, USA; MRL-WP=Merck Research Laboratories, West Point, Pennsylvania, USA; [redacted], USA; [redacted], USA; [redacted], USA; [redacted]. China.

[a] Report contains a GLP compliance statement.

Confidential

2.6.3.2　効力を裏付ける試験

効力を裏付ける試験は[2.6.2.2 項]を参照のこと。

2.6.3.3　副次的薬理試験

副次的薬理試験は[2.6.2.3 項]を参照のこと。

C Confidential

2.6.3.4 安全性薬理試験

被験物質：イスラトラビル

Organ Systems Evaluated	Species / Strain	Method of Administration	Dose/ Concentration Level[a]	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Study Number
hERG Assay	CHO-K1 hERG cell line	In vitro	30, 100, 300 µM[b]	NA	ISL inhibited hERG current by 17.7% at the highest tested actual concentration of 291 µM.	Yes	[4.2.1.3.1: TT[redacted]4707]
Cardiovascular and Respiratory Function	Monkey / Rhesus	Oral (gavage)	0, 30, 100 mg/kg	3M, 1F / Group	30 mg/kg: No effects 100 mg/kg: No effects on QTc and QT:RR distribution. Increases in SBP (peak=Δ +11 mmHg [+ 10%]), DBP (peak Δ=+ 9 mmHg [+ 12%]) and MBP (peak Δ=+ 10 mmHg [+ 11%]), with increases in SBP evident from 8 to 16 h and increases in DBP and MBP lasting from 3 to 16 h.[c] Increases in HR (peak Δ=+ 42 bpm [+ 51%]) were observed from 1 to 16 h, along with coinciding decreases in RR interval dose (peak Δ=- 180 ms [- 24%]). Decreases in uncorrected QT interval (peak Δ - 31 ms [- 11%]) were also coincident with the increases in HR. Small increases in rate of respiration (peak Δ=+ 6 bpm [+ 27%]) from 4 to16 h. Small increases in body temperature (peak Δ=+ 0.5°C [+ 1%]) during the nighttime hours on the 1st two days after dosing.	Yes	[4.2.1.3.2: TT[redacted]5802]

C Confidential

2.6.3.4 安全性薬理試験（続き）

被験物質：イスラトラビル

Organ Systems Evaluated	Species / Strain	Method of Administration	Dose/ Concentration Level[a]	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Study Number
Cardiovascular Function	Monkey / Rhesus	Oral (gavage)	0, 30, 100 mg/kg (Q3D for a total of 4 doses)	4M / Group	100 mg/kg: Increases in HR ranging from +6 to +21 bpm (peak Δ=+ 21 bpm [+ 24%]) from 1 to 18 h on Treatment Days 1 to 4.[d]	No	[4.2.1.3.3: TT[redacted]5851]
Behavioral and CNS Function (FOB)	Rat / Wistar Han	Oral (gavage)	0, 30, 200 mg/kg (for 5 days)	4M,4F/ Group	No effects.	No	[4.2.3.2.3: TT[redacted]1040] (reported in exploratory 5-day toxicity study)
Behavioral and CNS Function (FOB)	Rat / Wistar Han	Oral (gavage)	0, 3, 10, 50 mg/kg (for 1 month)	6M/Group	No effects.	Yes	[4.2.3.2.5: TT[redacted]1075] (report in 1-month toxicity study)

Δ=delta (change); bpm=beats per minutes; CHO=Chinese hamster ovary; CNS=central nervous system; DBP=diastolic blood pressure; F=female; FOB=functional observational battery; GLP=Good Laboratory Practice; h=hour(s); hERG=human ether-à-go-go related gene; HR=heart rate; ISL=islatravir; M=male; MBP=mean blood pressure; ms=milliseconds; No.=number; Q3D=once every 3 days; RR=respiratory rate; SBP=systolic blood pressure.

a. Single dose unless specified otherwise.
b. TT #[redacted]-4707: Actual ISL concentrations were 29.4, 102, and 291 µM.
c. TT #[redacted]-5802: Increases in blood pressure parameters occurred in the two monkeys that exhibited the largest HR responses after dosing with 100 mg/kg of ISL.
d. TT #[redacted]-5851: Data from 30 mg/kg group were not analyzed because there were no effects on hemodynamics in the single-dose study at 30 mg/kg (TT #[redacted]-5802) and there was no evidence of exacerbation of the HR responses after repeat dose administration of 100 mg/kg in this study.

C Confidential

2.6.3.5　薬力学的薬物相互作用試験

薬力学的薬物相互作用試験は[2.6.2.5 項]を参照のこと。

C Confidential