ゾコーバ錠 125mg, 同錠 25mg

第 2 部 (モジュール 2) : CTD の概要 (サマリー)

2.4 非臨床試験の概括評価

塩野義製薬株式会社

目次

略号及び用語定義一覧表 3
2.4 非臨床試験の概括評価 4
2.4.1 非臨床試験計画概略 4
2.4.2 薬理試験 4
2.4.2.1 効力を裏付ける試験 4
2.4.2.1.1 In vitro 活性 4
2.4.3 薬物動態試験 5
2.4.4 毒性試験 5
2.4.4.1 単回投与毒性試験 5
2.4.4.2 反復投与毒性試験 5
2.4.4.3 遺伝毒性試験 5
2.4.4.4 がん原性試験 5
2.4.4.5 生殖発生毒性試験 6
2.4.4.5.1 新生児を用いた試験 6
2.4.4.6 局所刺激性試験 7
2.4.4.7 その他の毒性試験 7
2.4.5 総括及び結論 7
2.4.6 参考文献 8

表

表 2.4.2-1 VeroE6/TMPRSS2 細胞を用いた SARS-CoV-2 に対する本薬及びレムデシビルの抗ウイルス活性 5
表 2.4.4-1 エンシトレルビルフマル酸の離乳後幼若ラット反復投与毒性試験における主な毒性所見 6
表 2.4.4-2 エンシトレルビルフマル酸の離乳後幼若ラットにおける反復投与後の血漿中曝露量及び臨床との曝露比 7

略号及び用語定義一覧表

略号	英語	日本語
3CL	3C-like	(3C 様)
$AUC_{0\text{-}24hr}$	area under the plasma concentration-time curve from time 0 to 24 hours post-dose	時間 0 から投与後 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
C_{max}	maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
COVID-19	coronavirus disease 2019	新型コロナウイルス感染症
EC_{50}	50% effective concentration	50%有効濃度
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)
PND	postnatal day	生後日齢
TMPRSS2	transmembrane protease, serine 2	Ⅱ型膜貫通型セリンプロテアーゼ
WHO	World Health Organization	世界保健機関

2.4 非臨床試験の概括評価

2.4.1 非臨床試験計画概略

SARS-CoV-2 は新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) と命名され，世界保健機関 (WHO) は 2020 年 1 月 30 日に「国際的に懸念される公衆衛生上の緊急事態 (PHEIC)」を宣言した．その後，世界的な感染拡大の状況や重症度等から，2020 年 3 月 11 日に COVID-19 はパンデミック (世界的な大流行) の状態であると表明されたが，変異株の主流がオミクロン株となったことによる臨床症状の軽症化やワクチンの普及により，重症化率や死亡率は低下してきた状況を受け，WHO は 2023 年 5 月 6 日に PHEIC の宣言を終了した [1]．本邦でも，2023 年 5 月 8 日に SARS-CoV-2 感染症は 2 類感染症からインフルエンザ感染症と同じ 5 類感染症の扱いとなった．しかし，SARS-CoV-2 は変異を繰り返しながら流行を繰り返しており，最近では 2024 年 6 月～9 月，2025 年 12 月～2 月にかけて感染が拡大した [2]．今後も流行状況は不透明であり，引き続き注目すべき感染症の 1 つとされている [3]．

エンシトレルビルフマル酸共結晶 (以下，エンシトレルビルフマル酸) は，塩野義製薬株式会社によって創製された COVID-19 治療薬である．SARS-CoV-2 遺伝子にコードされる複合タンパク質のプロセシング及びウイルス複製に必須である 3C-like (3CL) プロテアーゼを阻害することにより SARS-CoV-2 の増殖を阻害する．

エンシトレルビルフマル酸の非臨床評価は通常申請時に実施しており，その試験成績は通常申請時に提出した資料に基づき審査されている (1.13 項 既承認医薬品に係る資料 [通常承認])．6 歳以上 12 歳未満の小児 (小児集団) における SARS-CoV-2 感染症の治療に係る製造販売承認申請に伴い，新たな非臨床試験として，動態試験ではラット血漿中エンシトレルビル濃度測定バリデーション試験，安全性試験では，離乳後の幼若ラットを用いた反復投与毒性試験を追加実施した．

毒性試験は Good Laboratory Practice (GLP) 基準，分析バリデーションは信頼性基準を適用して実施した．

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 活性

エンシトレルビルフマル酸の抗 SARS-CoV-2 効果を評価するために，SARS-CoV-2 易感染性の II 型膜貫通型セリンプロテアーゼ (TMPRSS2) を発現させたアフリカミドリザルの腎臓上皮細胞由来の細胞株である VeroE6/TMPRSS2 細胞を用いて，エンシトレルビルフマル酸の細胞変性抑制効果を検討した．SARS-CoV-2 臨床分離株として，スパイクタンパクに変異を有する複数のオミクロン株 (Pango lineage LP.8.1，LF.7.6.2，XFG.11 及び NB.1.8.1) を用いた．SARS-CoV-2 臨床分離オミクロン株に対するエンシトレルビルフマル酸の 50%有効濃度 (EC_{50}) は，0.137～0.469 μmol/L であった．

これまでの VeroE6/TMPRSS2 細胞を用いた評価から，エンシトレルビルフマル酸は，従来株及びスパイクタンパク質に変異が認められている複数の SARS-CoV-2 臨床分離株 (アルファ株，ベータ株，ガンマ株，デルタ株，シータ株，ラムダ株，ミュー株及びオミクロン株) に対して，

抗 SARS-CoV-2 活性を有すること (臨床分離株に対する EC_{50} は 0.22～0.99 μmol/L) が示されている．今回の検討から，エンシトレルビルフマル酸の抗ウイルス活性の感受性の違いは株間で小さいことが明らかとなった．

表 2.4.2-1 VeroE6/TMPRSS2 細胞を用いた SARS-CoV-2 に対する本薬及びレムデシビルの抗ウイルス活性

Strains	Pango Lineage	EC_{50} (nmol/L)			
		Ensitrelvir fumaric acid		Remdesivir	
		Mean	SD	Mean	SD
hCoV-19/France/IDF-RELAB-IPP14356/2024	LP.8.1	137	48	557	340
hCoV-19/France/IDF-RELAB-IPP03956/2025	LF.7.6.2	469	45	1040	68
hCoV-19/France/GES-RELAB-IPP04557/2025	XFG.11	200	32	727	119
hCoV-19/France/GES-RELAB-IPP04823/2025	NB.1.8.1	446	2	1030	215
hCoV-19/Japan/TY/WK-521/2020 (reference strain)	A	477	73	2550	280

Data from Study S-217622-EB-234-X [4.2.1.1-01]
EC_{50} = 50% effective concentration, SD = standard deviation
The mean and SD were calculated from 3 independent experiments

2.4.3 薬物動態試験

ラット血漿中エンシトレルビル濃度測定分析バリデーションを除き，本申請に際して新たな試験は実施していない．ラット血漿中定量法及び定量下限は，エンシトレルビルの動態解析に十分な選択性及び感度を示していた．

2.4.4 毒性試験

2.4.4.1 単回投与毒性試験

本申請に際して新たな試験は実施していない．

2.4.4.2 反復投与毒性試験

本申請に際して新たな試験は実施していない．

2.4.4.3 遺伝毒性試験

本申請に際して新たな試験は実施していない．

2.4.4.4 がん原性試験

本申請に際して新たな試験は実施していない．

2.4.4.5　生殖発生毒性試験

2.4.4.5.1　新生児を用いた試験

エンシトレルビルフマル酸の小児集団に対する安全性を評価するため，離乳後の幼若ラットに，0 (対照群)，30，90 又は 1000 mg/kg/日のエンシトレルビルフマル酸を 1 日 1 回反復経口投与し，一般毒性及び発達への影響を評価した．本試験では，生後日齢 (PND) 21～45 の動物を，3 つの投与期間 (PND 21～28，PND 29～36，PND 37～45) に分割し (それぞれコホート 1，2 及び 3 とする)，毒性評価を行った．また各群一部の動物は投与期間終了後に休薬期間を設け，毒性変化の回復性と性成熟への影響を検討した．コホート 1, 2 及び 3 の休薬期間はそれぞれ, 22, 14，13 日とした．

本試験で認められた主な毒性所見及び無毒性量を表 2.4.4-1，各試験における最高血漿中濃度 (C_{max}) 及び時間 0 から投与後 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積 ($AUC_{0\text{-}24hr}$) と申請用法用量における血漿中曝露量との比を表 2.4.4-2 に示す．

本試験において，PND 21～28 にエンシトレルビルフマル酸を投与した動物では，1000 mg/kg/日投与群で，摂餌量の減少を伴う体重増加抑制及び体重低値が雌雄で，加えて雌では大腿骨長の短縮も認められたことから，無毒性量は雌雄ともに 90 mg/kg/日と判断した．これらの変化は一時的であり，休薬期間中に回復した．PND 29～36 及び PND 37～45 に投与した動物では，いずれの用量でも毒性変化は認められず，無毒性量は，雌雄ともに 1000 mg/kg/日と判断した．

体重低値に関連する二次的な影響として, 大腿骨長の短縮が起こることが報告されている [4]. 離乳後の幼若ラットを用いた反復投与毒性試験では，摂餌量の減少を伴う体重増加抑制及び体重低値が認められた．摂餌量と体重増加量の程度は個体値でよく相関しており，体重増加量と大腿骨長は個体値で相関していた．一方で大腿骨に病理組織学的所見は認められなかったことから，離乳後の幼若ラットを用いた反復投与毒性試験でみられた大腿骨長の短縮は，エンシトレルビルの骨への直接的な作用ではなく，摂餌量減少及び体重増加抑制に伴う二次的な変化であると考えられた．また，これまで実施された成獣ラット，サルでの一般毒性試験の結果と比較して，幼若動物特有の毒性は認められなかった (1.13 項 既承認医薬品に係る資料 [通常承認]).

本試験の無毒性量における曝露量 (C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24hr}$) は，それぞれ 127～305 μg/mL 及び 1870～3740 μg·hr/mL であった．エンシトレルビルフマル酸は，小児集団では体重換算で投与量を調節する．母集団薬物動態モデルにおいて，小児集団の中で，一番曝露が高くなる用法用量，すなわち，体重 30 kg 以上 40 kg 未満の小児に対して 250/125 mg (投与 1 日目のみ 250 mg，その後投与 2～5 日目に 125 mg 投与の 1 日 1 回反復投与) を投与したときの予測血漿中曝露量に対し，幼若ラットにおける無毒性量の曝露 (C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24hr}$) は，それぞれ 3.4～8.2 倍及び 2.2～4.4 倍であった (表 2.4.4-2).

以上より，エンシトレルビルルフマル酸の小児集団の使用において，発育と発達への影響及び成人で認められなかった新たな毒性発現の懸念は低いと結論付けられた．

表 2.4.4-1　エンシトレルビルフマル酸の離乳後幼若ラット反復投与毒性試験における主な毒性所見

投与経路	投与量 (mg/kg/日)	主な毒性所見と無毒性量
経口	30，90，1000	コホート 1 (PND 21～28) 1000 mg/kg/日: 体重増加抑制，体重低値，及び摂餌量の減少 大腿骨長の短縮 (雌) コホート 2 (PND 29～36) 及び 3 (PND 37～45) 毒性変化なし 無毒性量 コホート 1：90 mg/kg/日 コホート 2 及び 3：1000 mg/kg/日

表 2.4.4-2　　エンシトレルビルフマル酸の離乳後幼若ラットにおける反復投与後の血漿中曝露量及び臨床との曝露比

動物種 (投与期間)	投与量 (mg/kg/日)	性別	C_{max} (μg/mL)	$AUC_{0\text{-}24hr}$ (μg·hr/mL)	曝露比	
					C_{max}[a]	$AUC_{0\text{-}24hr}$[b]
幼若ラット PND 21～28	90 (無毒性量)	雄	127	1870	3.4	2.2
		雌	145	2340	3.9	2.7
幼若ラット PND 29～36	1000 (無毒性量)	雄	193	3000	5.2	3.5
		雌	221	3740	5.9	4.4
幼若ラット PND 37～45	1000 (無毒性量)	雄	185	2360	5.0	2.8
		雌	305	3530	8.2	4.1
ヒト (6 歳以上 12 歳未満，体重 30 kg 以上 40 kg 未満)	250/125 mg	男性/女性	37.2	853.5	N/A	N/A

N/A = 適用せず

a　母集団薬物動態モデルによる体重 30 kg 以上 40 kg 未満の小児集団に対して 250/125 mg (投与 1 日目のみ 250 mg，その後投与 2～5 日目に 125 mg 投与の 1 日 1 回反復投与) 投与 5 日目の C_{max} (37.2 μg/mL) に対する各毒性試験における投与最終日の C_{max} の比 (Study S-217622-CPK-025-B, 5.3.3.5-01 項).

b　母集団薬物動態モデルによる体重 30 kg 以上 40 kg 未満の小児に対して 250/125 mg (投与 1 日目のみ 250 mg，その後投与 2～5 日目に 125 mg 投与の 1 日 1 回反復投与) 投与 5 日目 $AUC_{0\text{-}24hr}$ (853.5 μg·hr/mL) に対する各毒性試験における投与最終日の $AUC_{0\text{-}24hr}$ の比 (Study S-217622-CPK-025-B, 5.3.3.5-01 項).

2.4.4.6　局所刺激性試験

本申請に際して新たな試験は実施していない.

2.4.4.7　その他の毒性試験

本申請に際して新たな試験は実施していない.

2.4.5　総括及び結論

エンシトレルビルフマル酸は，スパイクタンパクに変異を有する複数の SARS-CoV-2 臨床分離株に対して，抗 SARS-CoV-2 活性を有し，抗ウイルス活性の感受性の違いは株間で小さいことが明らかとなった.

離乳後の幼若ラット (投与量 : 30，90 及び 1000 mg/kg/日，PND 21～28，PND 29～36 又は PND 37～45 に投与，ヒトの 2～12 歳に対応) を用いた反復投与毒性試験では，PND 21～28 の期間に 1000 mg/kg/日の用量でエンシトレルビルを投与された雌雄ラットにおいて，摂餌量の減少を伴う体重増加抑制及び体重低値が認められたほか，雌性ラットにおいて大腿骨長の短縮が認められた．その他に，離乳後の幼若ラットでは，発育と発達に対する影響及び幼若動物特有の毒性は認められなかった．PND 21～28 でエンシトレルビルを投与された雌雄ラットにおける無毒性量は 90 mg/kg/日，PND 29～36 及び PND 37～45 で投与された動物における無毒性量は，雌雄ともに 1000 mg/kg/日であった．本試験の無毒性量における幼若ラットの曝露量 (C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24hr}$) は，小児集団の中で，一番曝露が高くなる用法用量である，体重 30 kg 以上 40 kg 未満の小児に対して 250/125 mg (投与 1 日目のみ 250 mg，その後投与 2～5 日目に 125 mg 投与の 1 日 1 回反復投与) を投与したときの予測血漿中曝露量に対し，それぞれ 3.4～8.2 倍及び 2.2～4.4 倍であったことから，小児集団の使用において，発育と発達への影響及び成人で認められなかった新たな毒性発現の懸念は低いと結論付けられた．

エンシトレルビルフマル酸の小児集団で注意すべき安全性は評価できており，非臨床評価は充足していると考える．

2.4.6　　参考文献

1. World Health Organization. Statement on the fifteenth meeting of the IHR (2005) Emergency Committee on the COVID-19 pandemic. https://www.who.int/news/item/05-05-2023-statement-on-the-fifteenth-meeting-of-the-international-health-regulations-(2005)-emergency-committee-regarding-the-coronavirus-disease-(covid-19)-pandemic ＜アクセス日：2025 年 5 月 23 日＞
2. 厚生労働省．新型コロナウイルス感染症に関する報道発表資料 (発生状況) 2025 年. https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/0000121431_00474.html ＜アクセス日：2025 年 5 月 23 日＞
3. 国立感染症研究所．新型コロナウイルス感染症サーベイランス月報：発生動向の状況把握. https://www.niid.go.jp/niid/ja/2019-ncov/2484-idsc/12015-covid19-surveillance-report.html ＜アクセス日：2025 年 5 月 23 日＞
4. Campion SN, Potter DM, Bowman CJ, et al. Lack of direct bone effect of tofacitinib, a JAK inhibitor, in juvenile rats and evaluation of the association between offspring growth and femur length. Reprod Toxicol, 2022;113:35-41.