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)

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.6 毒性試験の概要文

塩野義製薬株式会社

目次

略号及び用語定義一覧表 3
2.6.6 毒性試験の概要文 4
2.6.6.1 まとめ 4
2.6.6.2 単回投与毒性試験 5
2.6.6.3 反復投与毒性試験 5
2.6.6.4 遺伝毒性試験 5
2.6.6.5 がん原性試験 5
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 5
2.6.6.6.1 新生児を用いた試験 5
2.6.6.6.1.1 幼若ラットにおける反復経口投与毒性試験 5
2.6.6.7 局所刺激性試験 8
2.6.6.8 その他の毒性試験 8
2.6.6.9 考察及び結論 8
2.6.6.10 図表 10
2.6.6.11 参考文献 10

表

表 2.6.6.1-1 主要なエンシトレルビルフマル酸の毒性試験一覧 4
表 2.6.6.6-1 幼若ラット反復経口投与毒性試験における血漿中エンシトレルビルの TK パラメータ 8
表 2.6.6.9-1 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 9
表 2.6.6.9-2 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 10

略号及び用語定義一覧表

略号	英語	日本語
AUC	area under the plasma concentration-time curve	血漿中濃度－時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}24hr}$	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
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
N/A	not applicable	
PND	postnatal day	生後日齢
TK	Toxicokinetic(s)	トキシコキネティクス

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

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) の安全性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]). 本申請では新たに, エンシトレルビルフマル酸の安全性評価に関し, 下表に示す幼若ラットを用いた反復投与毒性試験を, Good Laboratory Practice (GLP) 適用下で実施した. エンシトレルビルフマル酸の投与量はフリー体の量で示した.

表 2.6.6.1-1 主要なエンシトレルビルフマル酸の毒性試験一覧

試験の種類及び期間	動物種等	投与 (処置) 経路	GLP 適用
生殖発生毒性試験			
新生児を用いた試験			
幼若動物反復投与毒性試験	離乳後ラット (生後日齢 [PND] 21～45)	経口	適

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.

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.

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.

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.

生殖発生毒性試験

離乳後の幼若ラット (投与量：30, 90 及び 1000 mg/kg/日, PND [生後日齢] 21～28, PND 29～36 又は PND 37～45 に投与) を用いた反復投与毒性試験では, PND 21～28 に, 1000 mg/kg/日の用量でエンシトレルビルフマル酸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みられたほか, 雌性ラットにおいて大腿骨長の短縮が認められた. 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こと [1], 大腿骨の病理組織学的所見は認められなかったことから, 本試験で認め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. 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 にエンシトレルビルフマル酸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 に投与され

た雌雄ラットにおける無毒性量は，雌雄ともに 1000 mg/kg/日であった．以上より，エンシトレルビルルフマル酸の 6 歳以上 12 歳未満の小児 (小児集団) への使用において，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．

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．

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．

2.6.6.2　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．

2.6.6.3　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．

2.6.6.4　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．

2.6.6.5　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．

2.6.6.6　生殖発生毒性試験

2.6.6.6.1　新生児を用いた試験

2.6.6.6.1.1　幼若ラットにおける反復経口投与毒性試験

評価資料 4.2.3.5.4-02

参考資料 4.2.3.5.4-01

概要表 2.6.7.15.1，2.6.7.15.2

(1) 用量設定根拠

離乳後の Sprague Dawley 系ラットにおける用量設定試験 (投与量：30，120 又は 1000 mg/kg/日) では，エンシトレルビルフマル酸を PND 21～28 に 1 日 1 回 8 日間反復経口投与し，予備的に毒性を評価した [2.6.7.15.1 項参照]．本試験は GLP 非適用下で実施した．本試験では，雌雄ともに 1000 mg/kg/日までエンシトレルビルフマル酸投与に起因する毒性変化は認められず，無毒性量は 1000 mg/kg/日であると判断した．

成獣ラットにおける 2 週間反復経口投与毒性試験 (投与量：20，100 又は 1000 mg/kg/日) では，雌雄共に最高用量である 1000 mg/kg/日までエンシトレルビルフマル酸投与に起因する毒性変化は認められず，無毒性量は 1000 mg/kg/日であると判断した．

成獣ラットと幼若ラットにおいて，エンシトレルビルフマル酸投与後のエンシトレルビル曝

露は同程度であった.

以上の結果から，離乳後の幼若ラットを用いた反復投与毒性試験の最高用量を 1000 mg/kg/日と設定し，毒性の用量反応関係を確認するため，低用量及び中間用量として，それぞれ 30 及び 90 mg/kg/日を設定した.

(2) 試験方法及び成績

離乳後の Sprague Dawley 系ラット (各群雌雄各 20 例) 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．対照群には媒体 (0.5%メチルセルロース水溶液 [MC]) を投与した．本試験では，PND 21～45 を 3 つの投与期間 (PND 21～28，PND 29～36，及び PND 37～45) の 3 コホート (それぞれコホート 1，2，及び 3 とする) に分割し，評価を行った．各群雌雄各 10 例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．一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，血液学的検査，血液化学的検査，骨髄検査，性成熟検査，大腿骨長測定，器官重量測定，肉眼検査，及び病理組織学的検査を行った. また, エンシトレルビルのトキシコキネティクス (TK) 評価のため，別のラット (各時点雌雄各 4 例) に毒性評価群と同じ条件でエンシトレルビルフマル酸を投与し，各コホートにおいて，投与 1 日及び，最終投与日である投与 8 あるいは 9 日に採取した血漿試料を用い，血漿中エンシトレルビル濃度を測定した.

いずれのコホートにおいても，試験期間を通じて被験物質に起因した死亡及び瀕死は発生しなかった.

<u>コホート 1 (投与開始日齢 PND21)</u>

1000 mg/kg/日投与群の雌雄で摂餌量の減少を伴う体重の増加抑制と体重の低値が，加えて雌では大腿骨長の短縮が認められた．いずれの変化も休薬期間終了後に回復した．同投与群では成長又は発達への影響を示唆する他の所見は認められず，大腿骨に病理組織学的変化も認められなかった．また摂餌量，体重増加量及び大腿骨長が個体間でよく相関していたことから，体重の増加抑制と低値及び大腿骨長の短縮は，エンシトレルビルの成長への直接的な影響ではなく，摂餌量の減少によって生じたと考えられた.

その他，エンシトレルビルフマル酸投与に起因して以下の変化が認められたが，いずれの変化も毒性ではないと判断した.

90 及び 1000 mg/kg/日投与群では，雌雄で総コレステロール及びトリグリセリドが低値を示し，1000 mg/kg/日投与群の雄で総ビリルビン値が低値を示した．また，1000 mg/kg/日投与群では雌雄で尿素窒素が高値，雄ではカルシウムが高値となった．これらの変化は非常に軽微であり，関連する臓器や組織に被験物質投与に関連する病理組織学的変化は認められなかった.

1000 mg/kg/日投与群の雌雄及び 90 mg/kg/日投与群の雌で肝臓重量の高値が認められ，病理組織学的検査では 1000 mg/kg/日投与群の雌雄で小葉中心性の肝細胞肥大が認められた．これらの所見は，被験物質に関連した肝代謝酵素の誘導に対する適応反応と推察され，肝細胞肥大の程

度はごく軽度で肝細胞変性や壊死は認められなかった.

30 mg/kg/日投与群では，被験物質に関連した変化は雌雄ともに認められなかった.

コホート 2 (投与開始日齢 PND29)

コホート 2 では被験物質投与に関連して以下の変化が認められたが，いずれの変化も毒性ではないと判断した.

1000 mg/kg/日投与群の雄で一過性の摂食量の低下が認められたが，この変化は軽微であり，体重に変化が認められなかった.

90 mg/kg/日投与群の雌雄及び 1000 mg/kg/日投与群の雄で総コレステロールの低値，90 及び 1000 mg/kg/日投与群の雌雄でトリグリセリドの低値，1000 mg/kg/日投与群の雌雄で直接ビリルビンの低値，1000 mg/kg/日投与群の雄で総ビリルビンの低値が認められた．これらの変化は軽度であり，いずれの臓器や組織にも被験物質に関連する病理組織学的変化は認められなかった.

1000 mg/kg/日投与群の雌雄で，肝臓重量の高値と小葉中心性の肝細胞肥大が認められた．これらの所見は，被験物質に関連した肝代謝酵素の誘導に対する適応反応と推察され，肝細胞肥大の程度はごく軽度で肝細胞変性や壊死は認められなかった.

30 mg/kg/日投与群では，被験物質に関連した変化は雌雄ともに認められなかった.

コホート 3 (投与開始日齢 PND37)

コホート 3 では被験物質投与に関連して以下の変化が認められたが，いずれの変化も毒性ではないと判断した.

1000 mg/kg/日投与群の雄で一過性の摂餌量の低下が認められたが，軽微な変化であり，体重に変化が認められなかった.

90 及び 1000 mg/kg/日投与群の雄でトリグリセリド及び総コレステロールの低値が認められ，1000 mg/kg/日投与群の雌で総ビリルビンの低値が認められたが，これらの変化は軽度で，いずれの臓器及び組織にも被験物質に関連する病理組織学的変化は認められなかった.

30 mg/kg/日投与群では，雌雄ともに被験物質関連の変化は認められなかった.

各コホートにおいて，投与期間中または投与終了時に認められた被験物質に関連する変化は，休薬期間終了後に回復した.

エンシトレルビルの最高血漿中濃度 (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（$AUC_{0\text{-}24hr}$）の値を表 2.6.6.6-1 に示す．血漿中エンシトレルビルの C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24hr}$ は，30 及び 90 mg/kg/日投与群の間で，概ね用量比で増加し，90 及び 1000 mg/kg/日投与群の間は用量比未満で増加した．コホート 3 の雄性ラットでは 1000 mg/kg/日の用量で反復投与による $AUC_{0\text{-}24hr}$ の減少が認められた.

本試験において，PND 21～28 にエンシトレルビルフマル酸塩を投与した結果，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/日であると判断した．これらの変化は休薬期間中に回復した．また，PND 29～36 及び PND 37～45 にエンシトレルビルを投与した結果，1000 mg/kg/日の用量まで毒性変化は認められなかったことから，無毒性量は雌雄ともに 1000 mg/kg/日であると判断した．

表 2.6.6.6-1　幼若ラット反復経口投与毒性試験における血漿中エンシトレルビルの TK パラメータ

TK parameters of ensitrelvir		Dose (mg/kg/day)					
		30		90		1000	
		Male	Female	Male	Female	Male	Female
Cohort-1 (PND 21～28)							
C_{max} (μg/mL)	Day 1	41.7	46.1	123	144	333	310
	Day 8	53.2	63.9	127	145	266	248
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (μg·hr/mL)	Day 1	687	722	1950	2270	6310	5750
	Day 8	734	715	1870	2340	4030	4440
Cohort-2 (PND 29～36)							
C_{max} (μg/mL)	Day 1	45.7	44.5	119	108	268	256
	Day 8	38.5	54.1	113	120	193	221
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (μg·hr/mL)	Day 1	400	503	1730	1630	4590	4850
	Day 8	446	571	1770	1660	3000	3740
Cohort-3 (PND 37～45)							
C_{max} (μg/mL)	Day 1	33.7	49.1	125	146	265	293
	Day 9	41.0	64.4	142	168	185	305
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (μg·hr/mL)	Day 1	403	683	1580	2360	4720	5070
	Day 9	562	809	1890	2530	2360	3530

Data are expressed as the mean values of 4 rats in each sex.

2.6.6.7　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．

2.6.6.8　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．

2.6.6.9　考察及び結論

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，離乳後幼若ラット反復投与毒性試験を実施した．本試験では，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．

本試験で認められた主な毒性所見及び無毒性量を表 2.6.6.9-1，各試験における血漿中曝露量 (C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24hr}$) 並びに小児集団に対する申請用法用量における血漿中曝露量との比を表 2.6.6.9-2 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/日であると判断した．これらの変化は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/日であると判断した．

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 [1]．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と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．一方で大腿骨の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，すわわち，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 2.6.6.9-2)．

以上より，エンシトレルビルルフマル酸の小児集団への使用において，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 2.6.6.9-1　　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 2.6.6.9-2 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).

2.6.6.10 図表

図表は本文中の適切な場所に記載した.

2.6.6.11 参考文献

1. 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.