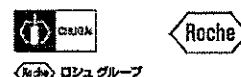

基礎WGの指示に基づき実施した非臨床試験 及び自主的に実施した試験・解析の結果について (その1)

中外製薬株式会社
F.Hoffmann-La Roche Ltd

目的



- 厚生労働省と基礎WGにて進められているタミフルの中枢神経系及び心血管系への安全性に関する評価のために、非臨床試験解析結果を提供する
- 構成
 - 中枢神経系への安全性
 - オセルタミビル及び活性代謝物の中枢神経系への分布や薬理学的作用を評価するための新たな試験
 - 心血管系への安全性
 - 本剤の心血管系に対する安全性を示すタミフルの開発段階で実施された非臨床及び臨床試験成績の概要
 - 基礎WGからの質問に応えるため、新たに実施された非臨床試験成績及びモデリング/シミュレーション結果

中枢神経系への安全性を支持する成績 新たな解析及び非臨床試験



| 主要な疑問点/課題 | 非臨床試験 |
|-------------------------|--|
| オセルタミビル及び活性代謝物の脳内移行・分布？ | ラットにおける単回静脈内投与後の血漿及び脳脊髄液中の曝露量評価 |
| | ヒト及びマウス由来のトランスポータータンパク質発現細胞系を用いたオセルタミビル及び活性代謝物の能動輸送解析 <i>In vitro</i> 試験 |
| | 脳内エステラーゼによるオセルタミビルから活性代謝物への変換に関する <i>In vitro</i> 評価試験 |

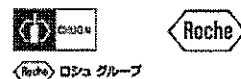
3

試験名: ラットにおける脳、脳脊髄液及び血漿中濃度の測定



成熟ラットにおけるリン酸オセルタミビル及び活性代謝物単回静脈内投与後(10及び100 mg/kg)の血漿及びCSF中のオセルタミビル及び活性代謝物濃度

背景及び試験目的



- これまで実施した試験から、げっ歯類の脳ホモジネート中にオセルタミビル(OP)及び量的には少ないが活性代謝物(OC)が検出されることが示された。
- ヒト脳中のOP及びOC濃度を予測するために、成熟ラットを用いて非臨床試験を実施した。血漿、脳脊髄液(CSF)及び脳ホモジネートの3コンパートメントにおける各濃度の相関関係を明確にするために、各組織のOP及びOC濃度を測定した。このようなアプローチによりヒト血漿及びCSF濃度からヒト脳中濃度を予測できると考える。

5

方法



- 成熟ラットにOPあるいはOC (10, 100 mg/kg、フリーベース換算値)を尾静脈内投与し、投与後5, 15, 30分, 1, 2, 6及び8時間(各時点2匹)にラットを屠殺して血漿、CSF及び脳ホモジネート試料を採取した。
- OP投与試験では血漿にdichlorvosを添加し、オセルタミビルから活性代謝物への分解を防止した。オセルタミビル及び活性代謝物濃度の測定はLC-MS/MS法を用いた。
- 現在、血漿及びCSF濃度については予備的な結果を得ている。脳中濃度は測定中である。

6

結果 (1) OC投与後のPK

10及び100 mg/kg OC静脈内投与:

- 投与5分後には、血漿中活性代謝物濃度はそれぞれ13,900及び278,000 ng/mLと高濃度を示した。
- 血漿中で高曝露が認められ、活性代謝物のAUC(0-inf.)はそれぞれ7,080及び122,000 h·ng/mLであった。
- 血漿中の曝露量と相関して、CSF中活性代謝物濃度は投与5分後にそれぞれ57及び1,870 ng/mLを示した。CSF/血漿中濃度比率は、非常に低かった(投与後1時間以降で3%から5%)。100 mg/kg投与後のCSF/血漿中AUC比率は1.1%であった。

7

結果 (2) OP投与後のPK

10及び100 mg/kg OP静脈内投与:

- 投与5分後には、血漿中オセルタミビル濃度はそれぞれ2,890及び36,200 ng/mLと高濃度を示した。
- CSF中オセルタミビル濃度は血漿中濃度に比較して明らかに低く、最高濃度はそれぞれ222及び3,020 ng/mLであった。100 mg投与時のCSF/血漿中AUC比率は約9%であった。
- CSF中活性代謝物濃度はOPを100 mg/kg投与した場合、投与後2時間までは検出され、その濃度は58.5から235 ng/mLであった。CSF/血漿中濃度比率は非常に低く、最大でも1.3%であった。

8



Roche ロシュグループ

Pharmacokinetic parameters of OC in plasma and CSF after single intravenous (bolus) administration of 10 and 100 mg/kg OC (free base equivalents) to male rats

| Parameter | Unit | Plasma | | CSF | |
|------------|---------------|-------------|--------------|-------------|--------------|
| | | 10 mg/kg OC | 100 mg/kg OC | 10 mg/kg OC | 100 mg/kg OC |
| Cmax | [ng/mL] | 13900 | 278000 | 57.0 | 1870 |
| tmax | [h] | 0.083 | 0.083 | 0.083 | 0.083 |
| t1/2 | [h] | 1.59 | 1.51 | 0.722* | 1.45 |
| AUC(0-inf) | [h·ng/mL] | 7080 | 122000 | 54.7* | 1380 |
| CL | [mL/(min·kg)] | 23.5 | 13.7 | - | - |
| Vss | [L/kg] | 1.1 | 0.456 | - | - |

* Rough estimates

9



Roche ロシュグループ

Pharmacokinetic parameters of OP and OC in plasma and CSF after single intravenous (bolus) administration of 10 and 100 mg/kg OP (free base equivalents) to male rats

| Analyte: OP | | Plasma | | CSF | |
|-------------|---------------|-------------|--------------|-------------|--------------|
| Parameter | Unit | 10 mg/kg OP | 100 mg/kg OP | 10 mg/kg OP | 100 mg/kg OP |
| Cmax | [ng/mL] | 2890 | 36200 | 222 | 3020 |
| tmax | [h] | 0.083 | 0.083 | 0.083 | 0.083 |
| t1/2 | [h] | 1.58 | 1.00 | 0.406 | 1.04 |
| AUC(0-inf) | [h·ng/mL] | 1430 | 18900 | 114 | 1820 |
| CL | [mL/(min·kg)] | 117 | 88.3 | - | - |
| Vss | [L/kg] | 4.25 | 2.98 | - | - |

| Analyte: OC | | Plasma | | CSF | |
|-------------|-----------|-------------|--------------|-------------|--------------|
| Parameter | Unit | 10 mg/kg OP | 100 mg/kg OP | 10 mg/kg OP | 100 mg/kg OP |
| Cmax | [ng/mL] | 2150 | 25900 | BLQ** | 235 |
| tmax | [h] | 0.083 | 0.083 | NC *** | 0.25 |
| t1/2 | [h] | 1.48 | 1.86 | NC *** | NC *** |
| AUC(0-inf) | [h·ng/mL] | 3340 | 43600 | NC *** | NC *** |

* Rough estimates

** Below limit of quantification (OC): 10 ng/mL

*** not calculated

10

結論



Roche ロシュグループ

- CSF中のオセルタミビル及び活性代謝物濃度は血漿中濃度に比較して低値であった。
- 今回のデータは、オセルタミビル及び活性代謝物両者の脳への移行はそれぞれ異なるメカニズムにより制限されていることを示唆している。

11

結論



Roche ロシュグループ

-曝露量と安全域について-

- OPの臨床血漿中濃度は、総量で約0.2 μM 、そのうち非たんぱく結合が0.1 μM
- OCの臨床血漿中濃度は、約1.2 μM (ほぼすべて非たんぱく結合)
- 予備的なげっ歯類およびヒトのデータから、血漿中濃度に対する脳脊髄液中濃度の比率は、OP,OCとも10%以下と予測される。
- 脳内濃度と脳脊髄液中濃度が同じと仮定すると、予想される臨床的脳内濃度は、以下のようなものになる
 - OP < 0.01 μM
 - OC < 0.12 μM
- 前臨床安全性データと高い選択性を考慮すると、広い安全域が確保されている

12

中枢神経系への安全性を支持する成績 新たな解析及び非臨床試験



| 主要な疑問点/課題 | 非臨床試験 |
|-------------------------|--|
| オセルタミビル及び活性代謝物の脳内移行・分布？ | ラットにおける単回静脈内投与後の血漿及び脳脊髄液中の曝露量評価 |
| | ヒト及びマウス由来のトランスポータータンパク質発現細胞系を用いたオセルタミビル及び活性代謝物の能動輸送解析 <i>In vitro</i> 試験 |
| | 脳内エステラーゼによるオセルタミビルから活性代謝物への変換に関する <i>In vitro</i> 評価試験 |

13

試験名：脳内での曝露に関連する能動輸送過程(トランスポーター)に関する *in vitro* 試験



オセルタミビル及びその活性代謝物の脳内移行に及ぼす能動輸送機構の寄与

背景及び試験目的



- 中枢神経系への薬物移行性は、血液脳関門の受動拡散及び能動輸送機構によって影響される。本研究の目的は、オセルタミビル(OP)及びその活性代謝物(OC)が脳内移行する際、能動輸送機構が果たす役割を*in vitro*モデルを用いて検討することである。
- 既存のいずれの能動輸送機構によっても、脳内濃度を個体間変動内で増加させることが可能である。
- 能動輸送体の主な候補としては、P-糖蛋白(P-gp, MDR1), 乳癌抵抗性蛋白(BCRP)及びヒト多剤耐性関連蛋白2(MRP2)などがある。これらの全てが血液脳関門(BBB)を通過する際重要な役割を果たすことが知られている。

15

方法



- マウス及びヒト脳に発現している排泄トランスポーターであるMdr1a/MDR1, Bcrp1/BCRP 及びMRP2 について検討した。これらの発現細胞における、OP及びOCの能動輸送能をtranscellular assay systemを用いて評価した。
- 野生株であるLLC-PK1 又はMDCKII をコントロールとして用い、OP 及びOCの受動拡散能を評価した。

16

結果



- OPはマウス及びヒトP-gpの良好な基質であり、基底膜側から管腔側への輸送比が約10倍程度であったが、P-gpの阻害剤である verapamil によって完全に阻害された。
- OPは、MDCKII細胞に発現させたマウス及びヒト Bcrp1/BCRP又はヒトMRP2変異株と野生株との排泄輸送能比が同様であったことから、これらのトランスポーターの基質となる可能性は低い。
- OCでは Mdr1a/MDR1, Bcrp1/BCRP もしくは MRP2 のいずれのトランスポーターにも輸送活性を示さなかった。
- しかしながら、OCの受動拡散能が極めて低く、細胞内濃度が限定されることから、能動輸送能の結論を導き出すことは困難であった(例えば、LLC-PK1の野生株の受動拡散はOPの40nm/sに対してOCは4.8nm/s)。

17

Transport of OP and OC by P-gp MDR1 / Mdr1a using transporter expressing polarized cell lines



| Substrate | Inhibitor | Cell lines used to study P-gp mediated transport (transport ratios in apical direction) (mean of 2 independent studies) | | | Mean passive permeability Pe(nm/s)* |
|-----------------|-----------------|---|--------------------------------------|----------|-------------------------------------|
| | | Control cells | Cells expressing human or mouse P-gp | | Control cells |
| | | LLC-PK1 | LLC-Mdr1a | LLC-MDR1 | LLC-PK1 |
| Digoxin(tracer) | - | 1.97 | 14.7 | 20.5 | 47.4 |
| Digoxin(tracer) | Verapamil(80µM) | 1.13 | 2.26 | 1.36 | |
| OP(5µM) | - | 1.31 | 9.14 | 11.4 | 41.4 |
| OP(5µM) | Verapamil(80µM) | 1.03 | 1.42 | 1.04 | |
| OC(5µM) | - | 0.94 | 1.16 | 1.05 | 4.81 |
| OC(5µM) | Verapamil(80µM) | 1.23 | 1.04 | 0.87 | |

Method: Transcellular transport of the radiolabeled OP and OC with the polarized cells expressing the transporters was assessed. The transport was determined in both directions (basolateral to apical and apical to basolateral) in triplicates and the ratios calculated. The quality of cell monolayers was verified by the lack of Lucifer yellow leakage and the expression of MDR1 was determined by transport of model substrates digoxin(MDR1) in the same study.

*Mean a to b and b to a of two experiments

18

Transport of OP by BCRP/Bcrp1 and MRP2 using transporter expressing polarized cell lines



Roche ロシュグループ

| Substrate | Cell lines used to study BCRP/Bcrp1 mediated transport (transport ratios in apical direction) | | |
|------------------|---|-------------------------------|---------------------|
| | Control cells | Cells expressing transporters | |
| | MDCKII (mean±SD; n=4 or 5) | M-BCRP (mean, n=2) | M-Bcrp1 (mean, n=3) |
| PhIP(2μM) | 0.97±0.124 | 7.55 | 44.5 |
| OP(5μM) | 4.44 ±0.953 | 7.44 | 4.33 |
| Substrate | Cell lines used to study MRP2 mediated transport (transport ratios in apical direction) | | |
| | Control cells | Cells expressing transporter | |
| | MDCKII (mean, n=2) | M-MRP2 (mean, n=2) | |
| Saquinavir(3μM)* | 1.52 | 5.22 | |
| OP(5μM)* | 1.19 | 0.99 | |

Method: The experiment was performed by the same method as P-gp transport assay, using MDCKII cells expressing each transporter. The quality of cell monolayers was verified by the lack of inulin leakage and the expression of each transporter was determined by transport of the model substrates in the same study (PhIP for BCRP/Bcrp1 and Saquinavir for MRP2).

* Elacridar (1 μM) was added to block endogenous P-gp activity of the MDCKII cells.

19

結論



Roche ロシュグループ

- OPはP-gpの良好な基質となるが、Bcrp1/BCRPもしくはMRP2の基質となる可能性は低い。血漿中に対する脳内濃度比が低い理由はP-gpにより脳から排泄されるためと考えられる。
- OCに関して、水溶性化合物のため細胞中への受動拡散能が低いことから結論を出すのは難しいが、トランスポーターによる輸送能は低いことが示唆される。

20

中枢神経系への安全性を支持する成績 新たな解析及び非臨床試験



| 主要な疑問点/課題 | 非臨床試験 |
|-------------------------|--|
| オセルタミビル及び活性代謝物の脳内移行・分布？ | ラットにおける単回静脈内投与後の血漿及び脳脊髄液中の曝露量評価 |
| | ヒト及びマウス由来のトランスポータータンパク質発現細胞系を用いたオセルタミビル及び活性代謝物の能動輸送解析 <i>In vitro</i> 試験 |
| | 脳内エステラーゼによるオセルタミビルから活性代謝物への変換に関する <i>In vitro</i> 評価試験 |

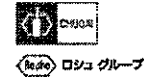
21

試験名: 脳内のカルボキシルエステラーゼ1 (hCE1) による
未変化体の代謝(エステル加水分解)に関する
in vitro 試験(脳組織)



幼若及び成熟ラット脳中におけるオセルタミビルの活性代謝物の動態: カルボキシルエステラーゼによりオセルタミビルが脳内で活性代謝物へ変換される可能性に関する検討

背景と目的



- オセルタミビル(OP)を高用量投与された幼若及び成熟ラット脳中には、OP及び活性代謝物(OC)が検出されている。
- 本試験の目的は、脳中で検出された活性代謝物が、脳内での代謝産物であるか否かについての理解を深めるために、幼若及び成熟ラットの脳及び肝におけるオセルタミビル代謝酵素(オセルタミビルエステラーゼ)活性を評価することである。

23

試験方法



- 7日齢(幼若)及び42日齢(成熟)雌雄ラット由来の脳及び肝S9画分のオセルタミビルエステラーゼ活性を、*in vitro*で評価した。

24

結果及び結論

- *In vitro*における幼若ラット脳のおセルタミビル エステラーゼ活性は非常に低く(< 0.2 pmol/min/mg) 成熟ラット脳の活性(約0.6 pmol/min/mg)よりも低かった。
- 同様に、幼若ラット肝の*in vitro* オセルタミビル エステラーゼ活性(約0.3 pmol/min/mg)は、成熟ラット肝の活性(約1.7 pmol/min/mg)よりも低値を示した。比較対照として測定したヒト肝のエステラーゼ活性は、約131 pmol/min/mgであった。
- 本実験で用いた脳および肝S9画分が酵素学的に活性を有することは確認しており、その活性は市販のラット肝S9標本の活性と遜色ないものであった。

25

Esterase Activities of Liver and Brain S9 Fractions Towards Oseltamivir and positive control (Paranitrophenyl Acetate)

| Gender | Age (PND) | Organ | Paranitrophenol Generation Rate (nmol/min/mg) | Oseltamivir Carboxylate Generation Rate* (pmol/min/mg) |
|------------------|-----------|-------|---|--|
| male | 7 | brain | 80 | <0.2 |
| female | 7 | brain | 92 | <0.2 |
| male | 42 | brain | 112 | 0.52±0.06 |
| female | 42 | brain | 70 | 0.60±0.13 |
| male | 7 | liver | 467 | 0.33±0.11 |
| female | 7 | liver | 538 | 0.34±0.13 |
| male | 42 | liver | 1446 | 2.11±0.04 |
| female | 42 | liver | 1001 | 1.37±0.11 |
| Rat liver S9** | | | 1282 | 1.42±0.23 |
| Human liver S9** | | | 757 | 131±11 |

Incubation with brain and liver S9 subcellular fractions from 7 day old and 42 day old rats or with commercially available rat and human liver S9 fractions.

*mean ± SD, **commercially available S9

26

結論



幼若及び成熟ラット脳でのオセルタミビルに対する*in vitro*カルボキシルエステラーゼ活性は低かったことから、この代謝経路によって脳内で活性代謝物が生成される可能性は低いことが示唆された。

27

中枢神経系への安全性を支持する成績 新たな解析及び非臨床試験



| 主要な疑問点/課題 | 非臨床試験 |
|--------------------------------------|---|
| 脳内でオセルタミビルないし活性代謝物は何らかの薬理学的な活性を有するか？ | <i>In vitro</i> 試験により、オセルタミビル及び活性代謝物の脳由来ノイラミニダーゼ阻害活性を検討し、ウイルスノイラミニダーゼに対する特異性を確認 |
| | ドーパミンや NMDA受容体のような情動や行動に関する分子を含む155 種類の標的分子に対する選択性の検討 |

28

試験名: 非ウイルス・シアリダーゼ(特にニューロン組織由来シアリダーゼの



Roche ロシュグループ

OP, OC選択性の確認

: 中枢性作用に関連する受容体とのバインディング・アッセイ

オセルタミビル及びその活性代謝物のノイラミニダーゼ及び他の分子標的に対する薬理学的作用の研究

背景及び試験目的



Roche ロシュグループ

- リン酸オセルタミビルの活性代謝物(OC)は強力で選択的なインフルエンザノイラミニダーゼ阻害剤である。リン酸オセルタミビル(OP)のウイルス及び哺乳類ノイラミニダーゼに対する選択性を確認するため、OP及びOCのラット脳組織及びPC12細胞由来ノイラミニダーゼ活性に対する作用を検討した。
- 更に、ドパミン及びNMDA受容体などの情動、行動関連分子を含む155ターゲットに対する選択性も検討した。

方法



- PC12細胞及びラット脳組織の膜分画由来ノイラミニダーゼ活性に対するOP及びOCの阻害作用を10 mMまでの濃度で検討した。
- 更に, 155 ターゲット(ほとんどがヒト由来) に対するOP及びOC(30 μ M まで濃度)の影響を*in vitro* 放射リガンドとの結合活性及び酵素反応にて評価した。

31

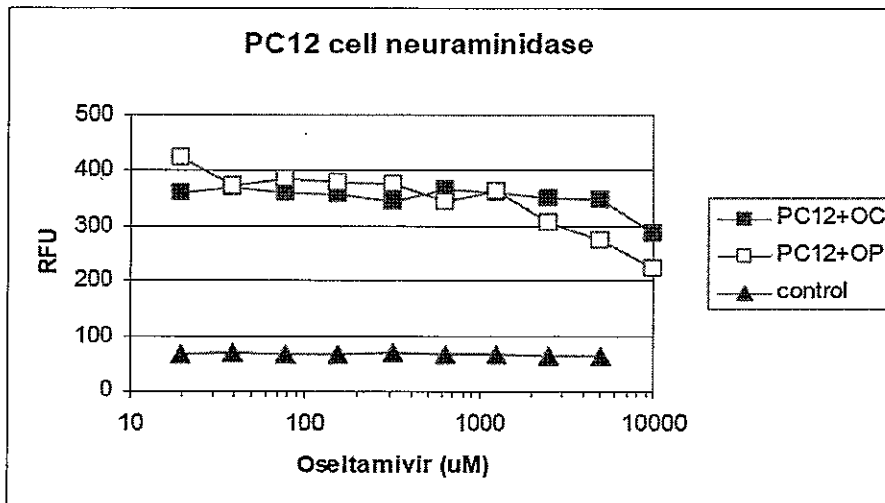
結果



- OP及びOCともに10 mMの濃度まで, PC12細胞及びラット脳組織由来ノイラミニダーゼに対して有意な阻害作用を示さなかった。
- OCについて今回得られた予備試験の結果は, 遺伝子配列の比較及びウイルスと哺乳類ノイラミニダーゼの活性部位に対するOCの結合特異性が異なっているという構造解析の結果に一致するものである。これらの結果からは, OCが哺乳類ノイラミニダーゼに結合する可能性が低いことが示唆される。
- サル脳抽出物及び4種のリコンビナントヒトノイラミニダーゼを用いたフォローアップ試験が進行中である。
- 155ターゲットにおいては, 30 μ Mまでの濃度のOP及びOCで臨床的に問題となる阻害活性は認められなかった。

32

Results (1)

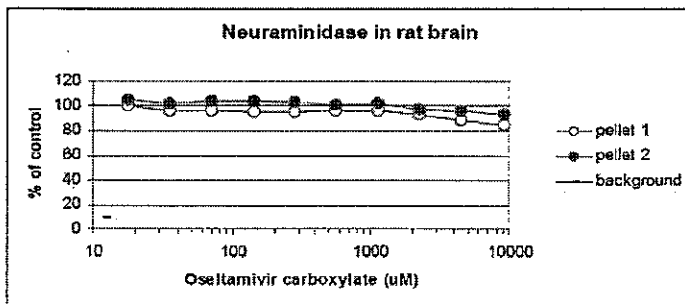
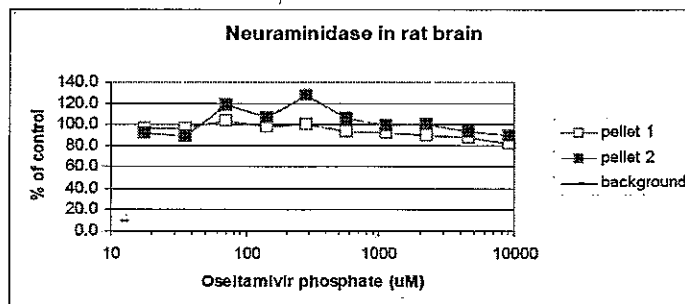


Test of neuraminidase activity in PC12 cells using a generally accepted assay by cleavage of a fluorogenic substrate 2'-(4-Methylumbelliferyl)- α -D-N-acetylneuraminic acid. Control: Cell-free buffer with the indicated concentrations of OC; RFU=Relative fluorescent units

Results (2)

Neuraminidase activity in the microsome (1) and membrane (2) fractions from brain (Wistar rat).

Note that the soluble protein fraction is devoid of neuraminidase activity (not shown)



結論



・ OP及びOC ともに以下の標的に対して作用を示さなかった。

- げっ歯類脳由来ノイラミニダーゼ
- PC12細胞由来ノイラミニダーゼ
- 155 のターゲット (ほとんどがヒト由来)

このことから、OP及びOCは高濃度であっても受容体、イオンチャンネル及び酵素に対し、影響を示さないことが確認された。

この検討には、情動及び行動などのようなCNS機能に関連することが知られている多くのターゲットが含まれているが、今回の結果からはオセルタミビルがCNSに対し影響することを支持するような機序についてのデータは得られなかった。

35

心血管系への安全性を支持する成績 タミフル開発プログラムより



| 主要な疑問点/課題 | 非臨床試験 | 結論のまとめ |
|---|--|--|
| オセルタミビルあるいはその活性体が心血管系に影響を及ぼす可能性を示唆する作用機序は存在するか？ | 心血管系 専門家報告 オセルタミビルの非臨床及び臨床の安全性成績がまとめられている | hERGチャンネル試験ではカリウム電流を抑制しない ウサギPurkinje線維の試験では、脱分極、再分極ともに異常は見られなかった in-vivo 試験では、心電図QTc間隔に異常は見られなかった Dedicated QT試験では、450mg bid for 5 daysの投与量まで心筋刺激伝導に影響を与えなかった 臨床試験では、単回1000 mg、反復500 mg b.i.d. x 6 daysまでの投与量で心血管系に影響なし |

36

オセルタミビルの心血管系に関する前臨床安全性データから得られた知見の要約

- hERG チャンネル試験では、カリウム電流の抑制はみられなかった
 - 未変化体(OP)および活性代謝物(OC)濃度は、それぞれ7.5および100 μM まで検討
 - CHO細胞に発現させたhERG チャンネルで検討
- *in-vitro* 試験では、脱分極、再分極ともに異常はみられなかった
 - OPおよびOC濃度は、それぞれ22.5および100 μM まで検討
 - 雌性ウサギPurkinje線維で検討
- *in-vivo* 試験*では、心電図QTc間隔に異常はみられなかった
 - OPおよびOC血漿中濃度は、23,000 ng/mL (74 μM)および352,000 ng/mL (1,238 μM)まで検討
 - 覚醒下イヌでOC、麻酔下イヌでOPおよびOCの作用を検討

*非生理的な高用量を麻酔下イヌに投与した1試験でQTcの変化がみられたが、その後行ったより厳密な覚醒下イヌを用いた試験では再現できなかったことから、この変化は偶発的なものであると考えられる。

Expert report 臨床安全性データから得られた知見の要約

Dedicated QT 試験

- プラセボ, 75 mg, 225 mg, 450 mg, b.i.d. x 5 days
- 男女293名の被験者にオセルタミビルを投与
 - 450mg bid投与後の曝露量
 - OP ($C_{\text{max,ss}} = 352$ [111-877]ng/mL; $AUC_{0-12\text{hss}} = 822$ [263-1550]ng.h/mL)
 - OC ($C_{\text{max,ss}} = 2480$ [803-4260]ng/mL; $AUC_{0-12\text{hss}} = 19,600$ [5710-33,900]ng.h/mL)
- 用量依存的な心血管系あるいはQTc所見はみられず
 - 用いた投与量では心筋刺激伝導(特にQTc間隔)に対する影響はみられず

Expert report

臨床安全性データから得られた知見の要約

臨床薬理試験

- 7試験(オセルタミビル投与例数n=152)で、複数回の心電図測定(日本人被験者、薬物間相互作用、腎機能低下例、の試験を含む)
 - 16試験(オセルタミビル投与例数n=413)で、心電図と臨床的安全性を評価
 - 用量は、単回投与で1000 mgまで、連投では 500 mg b.i.d. x 6日まで
 - 1000 mg単回投与時の曝露量
 - OP ($C_{max_{ss}} = 809 [449-969] \text{ng/mL}$; $AUC_{0-inf} = 1624 [1140-2250] \text{ng.hr/mL}$)
 - OC ($C_{max_{ss}} = 3955 [1763-7036] \text{ng/mL}$; $AUC_{0-inf} = 40,646 [23,903-54,385] \text{ng.h/mL}$)
- 心電図および心血管系の所見がみられないことを確認

39

Expert report

臨床安全性データから得られた知見の要約

臨床試験(プラセボ 2440例;タミフル 3727例)

- プラセボ対照成人治療試験成績を総合すると、心血管イベント発生率はプラセボ投与群よりもタミフル投与群で低値であった。
 - 心肺疾患を有する患者および高齢患者において、心血管系イベントは増加しなかった。
 - 1歳から17歳の患者では、心血管系イベントの報告はなかった。
 - インフルエンザ感染患者の筋炎/心筋炎発症を評価する試験では、プラセボ群に比べてオセルタミビル群で筋炎/心筋炎発症が増加することはなかった。
- 患者において心血管系所見がみられないことを確認

40

Expert report

臨床安全性データから得られた知見の要約

疫学研究

- 米国保険データベースを用いた後ろ向きコホート研究では、オセルタミビルを投与されたインフルエンザ患者(n= 60,267)と投与されていない患者(n=175,933)の間で、呼吸器および循環器疾患による死亡には差が見られなかった。
- 肺炎あるいはインフルエンザによる死亡は、すべて非投与群でみられたものであった。

→患者において心血管系所見がみられないことを確認

41

Cardiovascular Expert Reportの結論

- 公表された文献に掲載された成人および小児のデータを精査した結果、前臨床試験、臨床試験、疫学研究のいずれにおいても、オセルタミビル投与と不整脈、他の心疾患、および突然死との間には関連性は認められなかった。
- また、これらのデータは、オセルタミビルを投与された日本人集団において心イベントに対する感受性が高まることはないことを示している。

42

心血管系への安全性を支持する成績 新たな解析及び非臨床試験



Roche ロシュグループ

| 主要な疑問点/課題 | 非臨床試験 | 結論のまとめ |
|---|--|---|
| オセルタミビルあるいはその活性体が心血管系に影響を及ぼす可能性を示唆する作用機序は存在するか？ | <p>プルキンエ線維試験の追加解析</p> <p>代謝障害を想定した薬剤曝露量に関するシミュレーション及び心血管系に対する曝露量安全域の算出</p> | <p>臨床的に意味のある所見なし</p> <p>オセルタミビルが全く代謝されない場合を想定しても、その推定曝露量は前臨床の安全域内にあり、心血管系イベントが発生しなかった臨床薬理試験での曝露量と同等であった</p> |

43

自主報告: ウサギPurkinje線維活動電位試験結果の再解析



Roche ロシュグループ

オセルタミビル及びその活性代謝物のウサギ単離プルキンエ線維における活動電位に対する作用の評価

背景



Roche ロシュグループ

- リン酸オセルタミビル(OP)及びその活性代謝物(OC)の活動電位に及ぼす影響を、ウサギ単離プルキンエ線維を用いて評価した。この試験では、 APD_{90} 及び V_{max} に対する作用を検討し、OP及びOCがQT間隔延長及び／あるいは不整脈を誘発する根拠が認められなかったと結論付けた。
- さらに、不整脈に関連したイオンチャネルに対するOP及びOCの影響を評価するために、広範囲の活動電位パラメーターについて検討を行った。

45

目的及び試験の概要



Roche ロシュグループ

- 既に実施したウサギプルキンエ線維試験に関して、活動電位パラメータ(APD_{30} 、 APD_{50} 、 APD_{70} 、 APD_{90} 、 APD_{30-90} 、RMP、APA 及び V_{max})の追加分析を行うと共に、試験結果の再評価を計画した。これらの再評価は、OP及びOCの催不整脈作用のより広範囲の評価を可能にする。

46

結果



ロシュグループ



- ウサギプルキンエ線維にOP (0.0075-22.5 μM)あるいはOC (0.01-100 μM)を適用した時、正常頻度(1 Hz)及び高頻度(2 Hz)刺激条件下における8つの電気生理学的パラメーターに対する有意な作用は認められなかった。
- 非生理学的な低頻度(0.2 Hz)刺激条件下においてのみ、OPの7.5 μM 及びOCの10 μM 以上で、僅かではあるが統計学的に有意なAPD₅₀の延長が認められた(最大差は、それぞれ、72.9 ms 及び 92.8 ms)。しかし、他の7つのパラメータに変化は認められなかった。

47

Effects of OP on action potential parameters at a stimulation frequency of 1 Hz



ロシュグループ



| Parameters | OP concentration (μM) | | | | | |
|-----------------------------|------------------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | Baseline | 0.0075 | 0.075 | 0.75 | 7.5 | 22.5 |
| APD ₃₀ (msec) | 17.7 \pm 4.2 | 22.3 \pm 8.5 | 19 \pm 5.4 | 19.1 \pm 6.4 | 20.4 \pm 7.9 | 23 \pm 8.8 |
| APD ₅₀ (msec) | 169.6 \pm 11.4 | 185.7 \pm 12 | 194.6 \pm 12.7 | 204.2 \pm 12.8 | 206.7 \pm 12.4 | 202.5 \pm 11.9 |
| APD ₇₀ (msec) | 224 \pm 13.5 | 228.8 \pm 16 | 234.3 \pm 14.7 | 241.9 \pm 14.4 | 246 \pm 13.3 | 244 \pm 12.7 |
| APD ₉₀ (msec) | 255.8 \pm 17.8 | 262.6 \pm 20.2 | 266.9 \pm 19.2 | 271.1 \pm 19.1 | 273.8 \pm 17.7 | 271.4 \pm 17.7 |
| APD ₃₀₋₉₀ (msec) | 238.1 \pm 14.8 | 240.3 \pm 20.1 | 247.9 \pm 17.1 | 252 \pm 17.1 | 253.4 \pm 16.4 | 248.4 \pm 17.6 |
| Vmax(V/sec) | 415.1 \pm 54.1 | 413.4 \pm 57.3 | 442 \pm 54.7 | 456.5 \pm 52.8 | 458 \pm 57.1 | 448.6 \pm 51.9 |
| RPM(mV) | -89.6 \pm 2.3 | -89.2 \pm 2.9 | -90 \pm 2.7 | -93.3 \pm 1.8 | -91.2 \pm 2.3 | -91.6 \pm 2.3 |
| APA(mV) | 123.2 \pm 1.5 | 125.2 \pm 2.2 | 124.3 \pm 2.2 | 127.3 \pm 1.3 | 126.4 \pm 1.8 | 126.4 \pm 1.4 |

Each data point shows the means \pm S.E.M. (n=6-8)

*Significant effect vs baseline, P<0.05

48

Effects of OP on action potential parameters at a stimulation frequency of 0.2 Hz



Roche ロシュグループ

| at 0.2 Hz | OP concentration(μ M) | | | | | |
|-----------------------------|----------------------------|------------------|------------------|------------------|-------------------|------------------|
| Parameters | Baseline | 0.0075 | 0.075 | 0.75 | 7.5 | 22.5 |
| APD ₃₀ (msec) | 23.3 \pm 6.5 | 24.7 \pm 10.8 | 19.6 \pm 5.5 | 18.8 \pm 6.2 | 34.8 \pm 13.3 | 38.5 \pm 14.8 |
| APD ₅₀ (msec) | 175.0 \pm 22.3 | 200 \pm 21.6 | 227.7 \pm 18.4 | 220.4 \pm 23.1 | 247.9 \pm 22.9* | 228.3 \pm 26* |
| APD ₇₀ (msec) | 292.4 \pm 31.9 | 303.9 \pm 34.6 | 300.9 \pm 27 | 302.5 \pm 28.9 | 319.2 \pm 29.4 | 316.6 \pm 25 |
| APD ₉₀ (msec) | 345.5 \pm 43.2 | 345.5 \pm 42.8 | 341.1 \pm 37.2 | 357.6 \pm 43.1 | 360.5 \pm 40.8 | 356.5 \pm 36 |
| APD ₃₀₋₉₀ (msec) | 322.2 \pm 35 | 320.8 \pm 41.2 | 321.5 \pm 29.8 | 338.8 \pm 30.3 | 325.7 \pm 34.4 | 318 \pm 34.1 |
| V _{max} (V/sec) | 413.2 \pm 55 | 413 \pm 58.4 | 442.4 \pm 56.3 | 501.3 \pm 39 | 468 \pm 57.8 | 462.3 \pm 53.8 |
| RPM(mV) | -88.2 \pm 2.3 | -86.5 \pm 3.4 | -88 \pm 2.8 | -89.6 \pm 2.3 | -90.7 \pm 1.9 | -90.1 \pm 1.9 |
| APA(mV) | 122 \pm 1.7 | 122.1 \pm 2.7 | 123.9 \pm 2.2 | 127.9 \pm 4.7 | 127.1 \pm 1.2 | 125.9 \pm 1.5 |

Each data point shows the means \pm S.E.M. (n=6-8)

*Significant effect vs baseline, P<0.05

49

Effects of OC on action potential parameters at a stimulation frequency of 1 Hz



Roche ロシュグループ

| at 1 Hz | OC concentration (μ M) | | | | | |
|-----------------------------|-----------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| Parameters | Baseline | 0.01 | 0.1 | 1 | 10 | 100 |
| APD ₃₀ (msec) | 11.6 \pm 1.5 | 10.6 \pm 0.7 | 10.8 \pm 0.8 | 10.6 \pm 0.7 | 10.8 \pm 0.7 | 10.9 \pm 0.7 |
| APD ₅₀ (msec) | 219.4 \pm 22.4 | 246.5 \pm 22 | 247.3 \pm 24.4 | 240.7 \pm 30.3 | 252.2 \pm 24.2 | 259.8 \pm 24.1 |
| APD ₇₀ (msec) | 301.4 \pm 26.8 | 313.9 \pm 26.5 | 306.3 \pm 29.6 | 318.8 \pm 32.1 | 326.9 \pm 28.6 | 335.7 \pm 29.8 |
| APD ₉₀ (msec) | 331.5 \pm 35.6 | 349 \pm 37.2 | 346.2 \pm 41.7 | 370.5 \pm 43.2 | 339.1 \pm 43.5 | 361.2 \pm 40.5 |
| APD ₃₀₋₉₀ (msec) | 319.9 \pm 29.9 | 338.4 \pm 29.6 | 335.4 \pm 32.6 | 359.9 \pm 34.9 | 328.3 \pm 31.2 | 350.3 \pm 32.5 |
| V _{max} (V/sec) | 493.4 \pm 34.2 | 503.9 \pm 55 | 507.8 \pm 55.4 | 507.2 \pm 74.5 | 481.8 \pm 60 | 516 \pm 43.5 |
| RPM(mV) | -89 \pm 1.3 | -91.9 \pm 0.9 | -91.8 \pm 2 | -88 \pm 2.2 | -88.6 \pm 1.7 | -88.4 \pm 1.8 |
| APA(mV) | 124.5 \pm 2.1 | 127.2 \pm 0.8 | 127.2 \pm 2.4 | 123.8 \pm 3.3 | 128 \pm 1.5 | 123.4 \pm 3.3 |

Each data point shows the means \pm S.E.M. (n=6-8)

*Significant effect vs baseline, P<0.05

50

Effects of OC on action potential parameters at a stimulation frequency of 0.2 Hz



Roche ロシュグループ



| Parameters | OC concentration (μM) | | | | | |
|-----------------------------|------------------------------------|------------------|------------------|------------------|-------------------|------------------|
| | Baseline | 0.01 | 0.1 | 1 | 10 | 100 |
| APD ₃₀ (msec) | 9.3 \pm 0.7 | 11.7 \pm 1.7 | 12 \pm 1.6 | 12.8 \pm 2.6 | 12.8 \pm 3 | 11.6 \pm 1.2 |
| APD ₅₀ (msec) | 249.6 \pm 38.6 | 282.1 \pm 36.1 | 309.4 \pm 43.7 | 317.3 \pm 44.4 | 320.7 \pm 40.8* | 342.4 \pm 46* |
| APD ₇₀ (msec) | 433.4 \pm 66.5 | 425.7 \pm 55.8 | 411.8 \pm 55.7 | 484.9 \pm 61.4 | 437.5 \pm 65.2 | 473.1 \pm 60.7 |
| APD ₉₀ (msec) | 455.1 \pm 61.8 | 454.3 \pm 64.5 | 469.6 \pm 76.3 | 520.8 \pm 83.1 | 430.7 \pm 79.6 | 483.5 \pm 75.8 |
| APD ₃₀₋₉₀ (msec) | 445.8 \pm 65.3 | 442.6 \pm 62.9 | 457.6 \pm 60.6 | 508 \pm 67.3 | 407.9 \pm 70.4 | 471.9 \pm 64.8 |
| Vmax(V/sec) | 495 \pm 35 | 518.5 \pm 51.6 | 507.3 \pm 43.6 | 528.9 \pm 73 | 492.3 \pm 45.6 | 514.8 \pm 39.2 |
| RPM(mV) | -87.4 \pm 1.3 | -89.9 \pm 0.8 | -89.4 \pm 2 | -87.7 \pm 2.3 | -85.5 \pm 2.5 | -86.1 \pm 1.8 |
| APA(mV) | 123.9 \pm 2.3 | 126.5 \pm 0.9 | 125.2 \pm 2.4 | 126 \pm 2.3 | 125.9 \pm 2.5 | 123.9 \pm 2.9 |

Each data point shows the means \pm S.E.M. (n=6-8)

*Significant effect vs baseline, P<0.05

51

結論



Roche ロシュグループ



- APD₉₀に影響を与えず、1及び2 Hzでいずれも作用が認められなかったことから、0.2 HzにおけるAPD₅₀の変化は、催不整脈作用の増強を反映するものではない。
- この結論は、外部機関の心血管専門家により確認された。

52

代謝障害を想定したPKシミュレーション及び心血管への曝露量に関する安全域の算出

背景

- 活性代謝物への変換が起こらないと仮定した場合の、タミフル標準治療量投与時のオセルタミビルの曝露量を、モデル解析により求めた。
- 心血管系の安全域を算定するために、心臓への作用を検討した臨床及び非臨床試験の曝露量と、代謝障害時の最高曝露量とを比較した。

方法



- ポピュレーションPKモデル解析(Nonmemを用いた混合効果モデル)には単回静脈内・経口投与試験及び反復経口投与試験を含む4臨床試験から収集した137被験者のデータを用いた。
- 以下の条件でStructural PKモデルシミュレーションを用いて実施した。
 - 代謝変換がないものとする。
 - ポピュレーションPKモデルからのパラメータを使用するが、オセルタミビルから活性代謝物への代謝クリアランス及び肝臓における初回通過代謝をゼロとする。

55

要約及び結論



- オセルタミビルが活性代謝物に変換しないという最悪なケースにおいても、75 mgを1日2回投与した場合に予測されるオセルタミビル曝露量(Cmax ~555 ng/mL)は、非臨床安全性試験の安全域内であった。
- また、臨床用量を投与した場合、代謝がないと仮定した時の曝露量は、既に実施済み及び進行中の臨床試験で心臓毒性が示されていない投与量における曝露量と同程度であった。(1000 mg単回投与時のCmaxの最大は969 ng/mL, 450 mg1日2回投与(Cmaxは最大877 ng/mL))
- このように、現実では生じない代謝障害を想定した状況においても、現在得られている非臨床及び臨床のデータからは臨床における心臓への作用の可能性は示唆されなかった。

56

- 中枢神経系への安全性検討のために新たに実施した非臨床試験からはタミフルの中枢神経系への悪影響を示す成績は得られていない
 - オセルタミビルとその活性代謝物は脳脊髄液では非常に低濃度でしか検出されない。
 - 非常に高濃度(脳脊髄液濃度の大幅過剰量)の検討結果においてさえ、オセルタミビル及び活性代謝物は脳中ノイラミニダーゼを含むさまざまな標的分子に対して何らの作用も示していない。
- 新たな非臨床及びモデリング試験成績はタミフルの心血管系への安全性プロファイルを支持しており、これまでの非臨床及び臨床成績と一致している