

の 1/300 程度であった。

また、追加試験としてリコンビナントヒトカルボキシエステラーゼ (rHCE1 及び rHCE2) を用いた試験が実施され、OP は HCE1 により加水分解されることが確認された。なお、HCE1 は肝臓以外にも存在するが、その量は肝臓よりかなり少ない (Xie et al 2002)。

3) ラットにおける脳、脳脊髄液及び血漿中濃度の測定

ヒト脳中の OP 及び OC 濃度を予測する目的で、基礎 WG は成熟ラットを用いた血漿、脳脊髄液 (CSF) 及び脳中の OP 及び OC 濃度測定の実施を求めた。

試験方法としては、成熟ラットに OP10 及び 100mg/kg (フリーベース換算、リン酸塩として 13.1 及び 131mg/kg) 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) の血漿、CSF 及び脳ホモジネート試料を採取し、LC-MS/MS 法により濃度を測定した。なお、OP 投与試験では採取後の血漿に dichlorvos を添加し、OP から OC への分解を防止した。

ラットに OP100mg/kg を静脈内投与したときの脳ホモジネート/血漿の AUC 比は約 19% であり、OC100mg/kg を静脈内投与したときの脳ホモジネート/血漿の AUC 比は 1.3% であった。

この結果は当初の申請資料に示された経口投与後の体内分布の結果に対応するものである。なお、Ose et al (2008) もマウスに OP を静脈内投与した時の脳中分布量は血漿の 10% 以下であるとしている。

4) ヒトにおける脳脊髄液濃度の測定

健康成人 (白人 4 名、日本人 4 名) に OP を臨床用量の 2 倍に相当する用量 (150mg) を投与したとき OP、OC の血漿中 C_{max} はそれぞれ 120ng/mL、500ng/mL 程度であったのに対し、脳脊髄液中濃度はそれぞれ血漿中濃度の約 2% と 3.5% であった。

2 脳内におけるウイルス以外の内因性標的に対する活性の有無の検証に関する試験結果

1) 中枢作用に関連する受容体とのバインディング・アッセイ

OP 又は OC が中枢神経系のなんらかの受容体に作用することにより、異常行動などが惹起される可能性があることを考慮し、基礎 WG は中枢作用に関連する受容体と OP 及び OC とのバインディング・アッセイの実施を求めた。

試験方法としては、ドパミン、NMDA 受容体などの情動、行動関連分子を含む 155 のターゲットへの選択性を *in vitro* 放射性リガンドとの結合活性又は酵素反応にて評価した。その結果、5 種のグルタミン酸受容体 (NMDA, AMPA, Kinate, mGlu2, mGlu5)、BZD 受容体 (central 及び peripheral) 等を含む全てのターゲットについて OP、OC とも 30 μ M までの濃度において 50% 以上の阻害活性を認めなかったが、 σ 受容体、Na チャネル、Ca チャネルにおいては、OP によりそれぞれ 34%、38%、41% の結合抑制が認められた。しかし、3 μ M ではそれら 3 受容体への結合抑制についていずれも 20% 以下であった。OC では A1(h) 受容体の抑制が 30 μ M で 27% 認められたが、3 μ M では 20% 以下であった。

2) 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) への OP、OC 選択性の確認

OC はインフルエンザノイラミニダーゼを阻害することにより薬効を発揮するノイラミニダーゼ阻害剤であることから、また、ノイラミニダーゼの変異は様々な疾患に関与している