

平成 21 年 6 月 16 日

薬事・食品衛生審議会

医薬品等安全対策部会

安全対策調査会

リン酸オセルタミビル（タミフル）について

当調査会は、リン酸オセルタミビル（タミフル）の服用と異常な行動及び突然死との関係について検討を行うため、平成19年4月4日、6月16日、11月11日及び12月25日に会議を行った。

平成19年6月16日にはタミフルの安全性について希望団体等からの意見陳述の聴取を行った。また、平成19年6月16日、11月11日及び12月25日にはリン酸オセルタミビルの基礎的調査検討のためのワーキンググループ（基礎WG）及びリン酸オセルタミビルの臨床的調査検討のためのワーキンググループ（臨床WG）から調査検討の状況について報告を受け、検討を進めてきた（注1）。

（注1）タミフルの安全対策の経緯等については、別添「参考資料」参照

本日、当調査会は、基礎WG及び臨床WGにおける調査検討の結果について、それぞれ別添1及び別添2のとおり報告を受け、検討を行った。タミフルの服用と異常な行動及び突然死との関係についての当調査会の検討結果等は、下記のとおりである。

記

○ 本日、当調査会は、基礎WG及び臨床WGから非臨床試験（動物実験等）、臨床試験、疫学調査等の調査検討の結果について報告を受けた。

○ タミフルがインフルエンザに伴う異常行動のリスクを高めるかどうかについては、廣田班疫学調査の解析においては、重篤な異常行動（事故につながったりする可能性がある異常行動等）を起こした10代の患者に限定して解析すると、タミフル服用者と非服用者の間に統計的な有意差はなかった。なお、解析方法の妥当性に関して疫学及び統計学それぞれの専門家から異なる意見があり、データの収集、分析に関わるさまざまな調査の限界を踏まえると廣田班疫学調査の解析結果のみで、タミフルと異常な行動の因果関係に明確な結論を出すことは困難であると判断された。

○ 報告を受けた2つの疫学調査（岡部班疫学調査及び廣田班疫学調査）の解析により、タミフル服用の有無にかかわらず、異常行動はインフルエンザ自体に伴い発現する可能性があることが、より明確となった。

当調査会は、このようなことや、平成19年3月以降の予防的な安全対策（注2）により、それ以後、タミフルの副作用報告において10代の転落・飛び降りによる死亡等の重篤な事例が報告されていないことから、安全対策については一定の効果が認められる一方、これまでに得られた調査結果において10代の予防的な安全対策を変更する積極的な根拠が得られているという認識ではないため、現在の安全対策を継続することが適当と判断した。

- 以上を踏まえ、タミフルについて現在講じられている措置(注2)は、現在も妥当であり、引き続き医療関係者、患者・家族等に対し注意喚起を図ることが適当であると同時に、他の抗インフルエンザウイルス薬についても、同様に異常行動等に関する注意喚起を継続することが適当であると考えられる。

なお、現在のタミフルの使用上の注意においても、10代のインフルエンザ患者のうち、合併症、既往歴等からインフルエンザ重症化リスクの高い患者に対し、タミフルを慎重に投与することを妨げるものではない趣旨であることが理解されるよう、国は平易に説明するよう努めるべきである。また、新型インフルエンザ対策において、リスク・ベネフィットを考慮して、どのような状況でタミフル等が使用されるべきかについては、関係学会及び専門委員会等において専門的な立場から助言等をお願いしたい。

(注2)平成19年3月20日の緊急安全性情報：

10歳以上の未成年の患者においては、因果関係は不明であるものの、本剤の服用後に異常行動を発現し、転落等の事故に至った例が報告されている。このため、この年代の患者には、合併症、既往歴等からハイリスク患者と判断される場合を除いては、原則として本剤の使用を差し控えること。

また、小児・未成年者については、万が一の事故を防止するための予防的な対応として、本剤による治療が開始された後は、①異常行動の発現のおそれがあること、②自宅において療養を行う場合、少なくとも2日間、保護者等は小児・未成年者が一人にならないよう配慮することについて患者・家族に対し説明を行うこと。

なお、インフルエンザ脳症等によっても、同様の症状が現れるとの報告があるので、上記と同様の説明を行うこと。

- タミフルの服用と突然死との因果関係については、非臨床試験（動物実験等）、臨床試験（いわゆる夜間心電図試験）等の結果からみて、それを肯定する根拠は示されていないと考えられた。

【非臨床試験（動物実験等）の概要】

バインディング・アッセイの結果については、臨床用量投与時に推定されるタミフルの未変化体(OP)及び活性代謝物(OC)の脳中濃度では、トランスポーターの欠損や代謝阻害があったとしても、多くの中枢性の受容体やイオンチャネル系への影響を及ぼす可能性は低いとされた。

マウスのジャンピング行動の誘発に関する報告については、本剤による直接作用ではないこと、これら現象とOPの作用機序との関連性が不明確であること、また、投与量が高いことから、ヒトでの精神神経症状・異常行動との関連性について一定の判断をしようとするには不十分であり、引き続き関連研究を注視すべきと考えられるとされた。

マウスへの腹腔内投与による体温低下の報告については、他の作用との関連は不明であるが、体温に関わる脳幹等への薬理作用が示唆され、引き続き関連研究を注視すべきと考えられるとされた。ただし、ウサギプルキンエ線維活動電位試験結果の再解析等からは、オセルタミビルが突然死に結びつくような循環器系への影響を有することを示唆する結果は得られなかった。

【臨床試験（いわゆる夜間心電図試験）の概要】

いわゆる夜間心電図試験において、タミフルの投与により心電図上問題となる影響は認められなかった。

- 厚生労働省等は、引き続き、タミフルの服用と異常な行動等との因果関係についての情報収集に努め、必要な対応を行うべきである。

タミフルの安全対策の経緯等について

- リン酸オセルタミビル（タミフル）は、A型又はB型インフルエンザウイルス感染症（カプセル剤については、その予防を含む。）の適応を有する経口薬である。我が国では、平成13年2月から販売されている。
- （参考：タミフルの承認年月）
- ・平成12年12月 カプセル剤（治療効能）
 - ・平成13年12月 カプセル剤（小児用量追加）
 - ・平成14年 1月 ドライシロップ剤（治療効能）
 - ・平成16年 7月 カプセル剤（予防効能）
- タミフルによる「精神・神経症状」については、因果関係は明確ではないものの、医薬関係者に注意喚起を図る観点から、平成16年5月、添付文書の「重大な副作用」欄に「精神・神経症状（意識障害、異常行動、譫妄、幻覚、妄想、痙攣等）があらわれることがあるので、異常が認められた場合には投与を中止し、観察を十分に行い、症状に応じて適切な処置を行うこと。」と追記された。
- 平成19年2月に入り、タミフルを服用したとみられる中学生が自宅で療養中、自宅マンションから転落死するという痛ましい事例が2例報道された。このことなどを受け、万が一の事故を防止するための予防的な対応として、特に小児・未成年者については、インフルエンザと診断され治療が開始された後は、タミフルの処方の有無を問わず、異常行動発現のおそれがあることから、自宅において療養を行う場合、(1)異常行動の発現のおそれについて説明すること、(2)少なくとも2日間、保護者等は小児・未成年者が一人にならないよう配慮することが適切と考え、平成19年2月28日、その旨を患者・家族に対し説明するよう、インフルエンザ治療に携わる医療関係者に注意喚起された。
- 上記のような予防的な対応が行われてきたが、平成19年3月20日、タミフルの服用後に12歳の患者が2階から転落して骨折したとする症例が1例報告された。また、同日、2月上旬にタミフルの服用後に12歳の患者が2階から転落して骨折したとする症例についても報告がなされた。これらの報告を受け、同日、以下のとおり、添付文書を改訂するとともに、「緊急安全性情報」を医療機関等に配布し、タミフル服用後の異常行動について、更に医療関係者の注意を喚起するよう、製薬企業に指示された。

警告（抜粋）

10歳以上の未成年の患者においては、因果関係は不明であるものの、本剤の服用後に異常行動を発現し、転落等の事故に至った例が報告されている。このため、この年代の患者には、合併症、既往歴等からハイリスク患者と判断される場合を除いては、原則として本剤の使用を差し控えること。また、小児・未成年者については、万が一の事故を防止するための予防的な対応として、本剤による治療が開始された後は、(1)異常行動の発現のおそれがあること、(2)自宅において療養を行う場合、少なくとも2日間、保護者等は小児・未成年者が一人にならないよう配慮することについて患者・家族に対し説明を行うこと。

なお、インフルエンザ脳症等によっても、同様の症状が現れるとの報告があるので、上記と同様の説明を行うこと。

- 平成19年4月4日、薬事・食品衛生審議会医薬品等安全対策部会安全対策調査会（以下単に「安全対策調査会」という。）が開催され、タミフルの副作用について、販売開始（平成13年2月）から平成19年3月20日までに製薬企業から報告された全ての副作用報告（1,079症例）等について検討が行われた。その検討では、タミフルの服用と転落・飛び降り又はこれらにつながるような異常な行動（以下単に「異常な行動」という。）や突然死などの副作用との関係について、結論は得られなかった。

また、当面の措置として、上記の平成19年3月20日の緊急安全性情報の配布等に係る措置を継続することは妥当とされた。

さらに、タミフルの服用と異常な行動や突然死との因果関係などタミフルの安全性について臨床的な側面及び基礎的な側面から詳細な調査検討を行うため、安全対策調査会の下に、①タミフルの臨床的調査検討のためのワーキンググループ（臨床WG）及び②タミフルの基礎的調査検討のためのワーキンググループ（以下「基礎WG」という。）が設けられ、その結果を安全対策調査会に報告することとされた。

（参考：臨床WG及び基礎WGの主な検討事項）

①臨床WG

- ・ 異常な行動、突然死等の副作用についての詳細な検討
- ・ 今後の臨床研究（臨床試験）の計画、結果等の検討
- ・ 平成18年度厚生労働科学研究費補助金「インフルエンザに伴う随伴症状の発現状況に関する調査研究」の結果等についての検討

②基礎WG

- ・ 今後の基礎的研究（動物実験等）の計画、結果等についての検討

- 基礎WGは、平成19年5月2日及び同月30日に会議を開催し、タミフルの安全性について基礎的な側面から調査検討を行い、製薬企業に対し、以下のような臨床試験（動物実験等）を実施し、その結果を報告するよう指示することとされた。なお、この点については、同年6月16日の安全対策調査会に報告された。

① 脳における薬物動態・代謝研究

- ・ 脳内での暴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
- ・ 脳内のカルボキシエステラーゼ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* 試験及び代謝物の脳への透過を検討するための静脈内投与による薬物動態試験
- ・ ラットにおける脳、脳脊髄液及び血漿中濃度の測定

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

- ・ 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

③ 幼若ラット等を用いた追加毒性試験

- ・ 幼若ラット及び成熟ラットを用いた毒性試験（行動、脳内移行性等について検索）

④ 脳内直接投与による薬理学的試験

- ・ 脳内に投与した際の被験動物の行動への影響等に関する評価

⑤ 循環器系に対する影響評価に関する *in vitro* 試験

- ・ モルモット乳頭筋活動電位の各指標に対する作用を評価し、陽性対照薬と比較
- ・ HEK-293細胞に発現したHERGチャネル電流に対する作用を評価し、細胞系のHERGチャネル電流が陽性対照薬で抑制されることを確認

- 臨床WGは、平成19年5月14日及び同年6月4日に会議を開催し、タミフルの安全性について臨床的な側面から調査検討を行い、製薬企業に対し、以下のような調査等を実施し、その結果を報告するよう指示することとされた。なお、この点については、同年6月16日の安全対策調査会に報告された。
- ① リン酸オセルタミビルの服用と「異常な行動」との関係について
- (1) 「異常な行動」の副作用についての詳細な調査検討
「異常な行動」の副作用症例について、その症状、経過等が、睡眠障害に類似しているものがあることから、詳細な調査検討を行うため、以下の点について追加調査を実施
- ・ 「異常な行動」が就寝中又は覚醒直後に発現したか否か
 - ・ 「異常な行動」の回復に要した時間
 - ・ 「異常な行動」に関する記憶の有無
 - ・ 睡眠障害の既往歴・家族歴の有無 等
- (2) 今後の臨床研究の計画等についての検討
リン酸オセルタミビルの服用が睡眠に及ぼす影響を検討するため、「リン酸オセルタミビルの健康成人男子を対象とした睡眠に関する製造販売後臨床試験」(いわゆる睡眠検査室試験)を実施
- ② リン酸オセルタミビルの服用と「突然死」との関係について
- (1) 「突然死」の副作用についての詳細な調査検討
「突然死」の副作用症例について、詳細な調査検討を行うため、以下の点について、追加調査を実施
- ・ 心電図
 - ・ 剖検等の結果
 - ・ 心疾患の既往歴・家族歴の有無 等
- (2) 今後の臨床研究の計画等についての検討
リン酸オセルタミビルの服用が心機能に及ぼす影響を検討するため、上記①(2)の「いわゆる睡眠検査室試験」に心電図検査を含めるよう指示
- 平成19年6月16日の安全対策調査会においては、リン酸オセルタミビルの安全性に関し、陳述等を希望する団体等(計7団体等)から意見の聴取が行われた。
- 上記の基礎WGが指示した調査等の結果については、平成19年10月24日及び同年12月10日に開催された基礎WGに報告され、調査検討が行われた。
また、上記の臨床WGが指示した調査等の結果については、平成19年11月21日、同年12月16日及び同月25日に開催された臨床WGに報告され、調査検討が行われた。
以上の両WGにおける調査検討の結果については、平成19年12月25日に開催された安全対策調査会に報告(一部の結果については、同年11月11日に開催された同調査会に報告)され、検討が行われた。この時点における同調査会の検討結果は、以下のとおりとされた。

- 本日、当調査会は、基礎WG及び臨床WGから非臨床試験(動物実験等)、臨床試験、疫学調査(現時点では、明確な結論を得るために必要な解析には至っていない)等の結果について報告を受けた。現時点において、直ちにタミフルの服用と異常な行動及び突然死との因果関係を示唆するような結果は得られていないが、特に、疫学調査及び臨床試験については、十分かつ慎重な検討や分析を進め、可及的速やかに臨床WG及び当調査会に報告することが適当である。
- (1) 非臨床試験

バインディング・アッセイの結果、臨床用量投与時に推定されるタミフルの未変化体及び活性代謝物の脳中濃度では多くの中枢性の受容体やイオンチャネル系への作用を持たないとされたこと 等

(2) 臨床試験

睡眠検査室試験の中間解析によると、タミフルについて、睡眠異常を起こさないこと、心電図検査において著明な変化が認められないことなどが確認されたこと 等

- このようなことから、当調査会としては、引き続き基礎WG及び臨床WGにおいて、現在実施中又は解析中の非臨床試験、臨床試験及び疫学調査等の結果を含めた更なる調査検討を進め、できるだけ早期に最終的な結論の取りまとめを行うこととする。
- インフルエンザによって異常行動が起こり得ることに対し、改めて医療関係者及び国民の注意を喚起する必要がある。
- 以上を踏まえ、タミフルについて現在講じられている措置（注）は、現在も妥当であり、引き続き医療関係者、患者・家族等に対し注意喚起を図ることが適当である。

（注）平成19年3月20日の緊急安全性情報：

- さらに、ザナミビル水和物（リレンザ）及び塩酸アマンタジン（シンメトレル等）について、次の点を添付文書の使用上の注意に記載し、インフルエンザに罹患した小児・未成年者の異常行動発現のおそれについて改めて医療関係者、患者・家族等に対し注意喚起を図ることが適当である。
 - ・ 因果関係は不明であるものの、本剤の使用後に異常行動等の精神神経症状を発現した例が報告されている。小児・未成年者については、異常行動による転落等の方が一の事故を防止するための予防的な対応として、本剤による治療が開始された後は、(1)異常行動の発現のおそれがあること、(2)自宅において療養を行う場合、少なくとも2日間、保護者等は小児・未成年者が一人にならないよう配慮することについて患者・家族に対し説明を行うこと。なお、インフルエンザ脳症等によっても、同様の症状が現れるとの報告があるので、上記と同様の説明を行うこと。

- 上記の安全対策調査会の検討結果を受け、平成19年12月26日、ザナミビル水和物及び塩酸アマンタジンの製薬企業に対し、添付文書を改訂し、服用・使用後の異常行動等について、医療関係者の注意を喚起するよう指示が行われた。
- その後、基礎WGが指示した調査等の結果（上記の実施中の非臨床試験等の結果）については、平成20年6月19日及び平成21年2月6日に開催された基礎WGに報告され、調査検討が行われた。

また、臨床WGが指示した調査等の結果（上記の実施中又は解析中の臨床試験及び疫学調査等の結果）については、平成20年6月17日、同年7月10日及び平成21年6月3日に開催された臨床WGに報告され、調査検討が行われた。
- 両WGにおける具体的な調査検討の経過（概要）は、次頁の表のとおりである。

基礎WG及び臨床WGにおける調査検討の経過（概要）について

<基礎WG>

1. 脳における薬物動態・代謝研究	
脳内での曝露に関連する能動輸送過程に関する in vitro 試験	第3回基礎WGに報告
脳内のカルボキシエステラーゼ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 試験及び代謝物の脳への透過を検討するための静脈内投与による薬物動態試験	第3回及び第4回基礎WGに報告。rhCE1を用いた in vitro 試験は第5回基礎WGに報告
ラットにおける脳、脳脊髄液及び血漿中濃度の測定	第3回及び第4回基礎WGに報告
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	
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（企業が自主的に実施した試験である「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OP、OC選択性の確認」の結果を含む。）	第3回基礎WGに報告
3. 幼若ラット等を用いた追加毒性試験	
幼若ラット及び成熟ラットを用いた毒性試験（行動、脳内移行性等について検索）	第4回基礎WGに報告
4. 脳内直接投与による薬理学的試験	
脳内に投与した際の被験動物の行動への影響等に関する評価	第5回基礎WGに報告
5. 循環器系に対する影響評価に関する in vitro 試験	
モルモット乳頭筋活動電位の各指標に対する作用を評価し、陽性対照薬と比較	第4回基礎WGに報告
HEK-293細胞に発現したHERGチャネル電流に対する作用を評価し、細胞系のHERGチャネル電流が陽性対照薬で抑制されることを確認	第4回基礎WGに報告
企業が自主的に実施した試験	
ウサギPurkinje繊維活動電位試験結果の再解析	第3回基礎WGに報告
未変化体の代謝障害時を想定したPKシミュレーション解析	第3回基礎WGに報告
循環器系の基礎及び臨床試験成績に関するエキスパートレポート	第3回基礎WGに報告
脳内のカルボキシエステラーゼ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 [ヒト脳S9画分]	第4回基礎WGに報告
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OP、OC選択性の確認	第4回基礎WGに報告
健常ボランティア（日本人と白色人種）脳脊髄液のOP、OC濃度の評価	第4回基礎WGに報告

第3回基礎WG：平成19年10月24日開催

第4回基礎WG：平成19年12月10日開催

第5回基礎WG：平成20年 6月19日開催

第6回基礎WG：平成21年 2月 6日開催

<臨床WG>

1. 臨床試験	
健康成人男子を対象とした睡眠に関する製造販売後臨床試験（いわゆる睡眠検査室試験）	中間解析を第3回臨床WGに報告。最終解析を第6回臨床WGに報告
健康成人男子を対象とした夜間の心電図に関する製造販売後臨床試験	第6回臨床WGに報告
2. 疫学調査等	
インフルエンザ様疾患罹患時の異常行動情報収集に関する研究（主任研究者（研究代表者）：岡部信彦 国立感染症研究所感染症情報センター長）	2006/2007シーズンの調査について第4回及び第5回臨床WGに報告 2007/2008シーズンの調査について第7回臨床WGに報告 2008/2009シーズンの調査について第8回臨床WGに報告
インフルエンザ随伴症状の発現状況に関する調査研究（分担研究者（研究分担者）：廣田良夫 大阪市立大学大学院医学研究科公衆衛生学教室教授）	第一次予備解析を第5回臨床WGに報告 解析結果中間報告を第7回臨床WGに報告 分担研究報告書を第8回臨床WGに報告
3. 副作用症例についての詳細な調査検討	
「異常な行動」及び「突然死」の副作用についての詳細な調査検討	平成19年9月30日までの報告について第4回臨床WGに報告 平成20年3月31日までの報告について第7回臨床WGに報告 平成21年3月31日までの報告について第8回臨床WGに報告

第3回臨床WG：平成19年11月21日開催

第4回臨床WG：平成19年12月16日開催

第5回臨床WG：平成19年12月25日開催

第6回臨床WG：平成20年 6月17日開催

第7回臨床WG：平成20年 7月10日開催

第8回臨床WG：平成21年 6月 3日開催

平成 21 年 6 月 16 日

リン酸オセルタミビルの基礎的調査検討のためのワーキンググループ (基礎WG)における調査検討の結果について

リン酸オセルタミビルの基礎的調査検討のためのワーキンググループ（以下「基礎WG」という。）は、平成 19 年 5 月 2 日、同月 30 日、10 月 24 日、12 月 10 日、平成 20 年 6 月 19 日及び平成 21 年 2 月 6 日に会議を開催し、リン酸オセルタミビルの安全性について、基礎的な側面から調査検討を行った。

非臨床試験成績を中心とした基礎WGにおける調査検討の結果は、下記のとおりである。

記

第 1 オセルタミビルの中枢神経系に対する影響について

1 脳における薬物動態・代謝研究における試験結果

1) 脳内での暴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

リン酸オセルタミビル(OP)の 7 日齢の幼若ラットへの経口投与による脳内分布が 42 日齢ラットより約 3000 倍高いとの結果が申請時に示されていたことから、その機構について明らかにする必要があった。中枢神経系への薬物移行性は、血液脳関門における受動拡散及び能動輸送機構によって影響されることから、基礎 WG では、OP 及びその活性代謝物(OC)の脳内移行性に関し、能動輸送機構が果たす役割の検討を求めた。

試験方法としては、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(P-gp)、Bcrp1/BCRP 及び MRP2 について、OP 及び OC の能動輸送能を transcellular assay system を用いた in vitro モデルで検討した。その結果、OP は、マウス及びヒト P-糖蛋白(Mdr1a/MDR1; 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は約 10 倍程度であった。一方 OC に対しては、マウス及びヒト Mdr1a/MDR1 (P-gp)、Bcrp1/BCRP 及び MRP2 のいずれのトランスポーターも輸送活性を示さなかった。

2) 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

OP を高用量投与された幼若及び成熟ラットの脳中には OP と同時に OC が検出されている知見があることから、基礎 WG は脳内で検出された OC が脳内での代謝による産物であるかどうかを検討するため、また、ヒト脳での存在形態を推定するため、ラット(幼若及び成熟)及びヒト脳及び肝におけるオセルタミビル代謝酵素活性の評価を求めた。

試験方法としては、7 日齢(幼若)及び 42 日齢(成熟)ラット(雌雄)由来の脳及び肝 S9 画分のオセルタミビル代謝酵素活性を in vitro で評価した。その結果、幼若ラット脳 S9 画分のオセルタミビルエステラーゼ活性は 0.2 pmol/min/mg protein と非常に低かった。また成熟ラット脳 S9 画分の同酵素活性は 0.6 pmol/min/mg protein であった。ヒト脳 S9 画分において、オセルタミビルから活性代謝物への加水分解は速やかではなく、ヒト肝 S9 画分

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

可能性が示唆されていることから、基礎 WG は、OP 及び OC のウイルス及びほ乳類ノイラミニダーゼに対する選択性の確認を求めた。

試験方法としては、PC12 細胞及びラット脳組織の膜分画由来のノイラミニダーゼ並びにサル脳組織由来ノイラミニダーゼを用い、その活性に対する OP 及び OC の阻害作用を 10mM までの濃度で検討した。

その結果、OP 及び OC ともに 1mM の濃度までラット由来 PC12 細胞及びラット脳組織ノイラミニダーゼ並びにサルノイラミニダーゼ活性に対する明らかな阻害を認めなかった。

また、追加試験としてリコンビナントヒトノイラミニダーゼを用いた選択性試験の結果が報告されたが、OP、OC ともヒトノイラミニダーゼのいずれのサブタイプ (Neu1-4) に対しても 1mM 以上の高濃度域に至るまで阻害活性を示さなかった。

3 幼若ラット等を用いた追加毒性試験結果

1) リン酸オセルタミビル申請時に添付された旧試験の結果(参考)

旧幼若ラット試験では、7、14、21 及び 42 日齢ラットに OP を 500、700、1000 mg/kg (リン酸塩換算量) 単回経口投与し、7 日齢ラットにおいて、薬物に関連した死亡例が 700 及び 1000mg/kg 群で認められた。また、幼若動物、特に 7 日齢ラットの脳中 OP 濃度が著しい高値を示した (1000mg/kg 単回経口投与時の成熟ラットとの血漿中 AUC 比が 7 日齢で 9.1、14 日齢で 10.0 に対し、脳中 AUC 比は 7 日齢で 1540、14 日齢で 649 など)。

2) 新試験の結果

今回実施された新試験では、リン酸塩換算量として 394、657、788、920、1117、1314mg/kg の用量で OP を単回経口投与し、薬物に関連した死亡が 7 日齢ラットで 657mg/kg (臨床用量の約 250 倍) 以上で認められているが、成熟ラットでは 1314mg/kg でも死亡例は無かった。7 日齢 394mg/kg 群で雄トキシコキネティクス測定用サテライト群に 48 例中 1 例認められた死亡は、本用量の他の全ての動物において関連した症状変化が見られず、単独の所見であることから、偶発的なものとされている。

新試験における OP の脳/血漿中 AUC 比は 7 日齢ラットで 0.31、成熟ラットで 0.22 であり、旧試験における同士の 243 (7 日齢)、93 (14 日齢)、1.4 (成熟) と著しい違いが認められた。このため、企業側で前回試験データの再確認を行った結果、前回試験における脳中濃度算出時の計算式にデータにより 500 倍の誤りがあったことが見いだされた。

4 脳内直接投与による薬理学的試験

OP の投与が異常行動と関連すると仮定した場合、その作用機序としては、一般的には OP、OC が脳を含む中枢神経系への移行により薬理作用を発揮することが想定されること、また旧幼若ラット試験結果では、実際に幼若ラットにおいて OP の脳内への高濃度の移行・蓄積が報告されていたが、幼若動物での行動観察は十分に行えないこと、また、経口投与や静脈内投与などの通常の投与方法によっては成熟動物の脳内濃度をそれまで高めることはできないと考えられたことから、基礎 WG では脳内直接投与の試験系による動物での行動評価の実施を求めた。

予備試験として、OP、OC とも 0.2 μ g/動物、2 μ g/動物をカニユーレを用い脳室内に直接投与し、その後の薬物に起因する行動変化及び顕著な毒性徴候の有無について観察す

るとともに、血漿、脳脊髄液、嗅球(脳前方部)、海馬(脳中間部)及び小脳(脳後方部)を採取し、OP 及び OC の組織内濃度を測定した。同時に経口投与(OP 200mg/kg)群を設け、比較検討した。

その結果、これらの試験において、行動に対する影響は見られなかった。しかしながら、脳室内投与では、投与部位に近い海馬において比較的高い OP 又は OC 濃度が認められたものの、動物個体間差が著しく大きく、また特に OP の脳内分布の均一性が低いなどの問題点が判明した。このため、以下に述べる本試験は、より高い暴露量と均質な濃度分布が得られる経口投与を用いて、行動評価が行われた。

本試験では、雄ラットに OP (500、763、1000mg/kg:フリー体換算)を経口投与し、Irwin 変法による行動評価を投与 1、2、4、6 及び 8 時間後に実施した。併せて直腸温も測定した。脳への暴露については、763mg/kg 群及び 1000mg/kg 群について血漿、脳脊髄液、脳を採取し薬剤濃度を測定した。

本試験の結果、OP 経口投与後の中枢神経系機能に影響は見られず、ごくわずかな体温変化(最大 0.5°C の低下)が得られたのみであり、無毒性量(NOEL)は 1000mg/kg 以上であると考えられた。763mg/kg 及び 1000mg/kg 経口投与による脳中 OP 及び OC 濃度の最大値は、それぞれ 2300ng/g、640ng/g であり、OP 及び OC の脳/血漿 AUC 比は、それぞれ 0.12 及び 0.01 であった。

5 基礎 WG における調査検討結果

1) OP の能動輸送過程に P-gp が関与していることについては、今回実施された *in vitro* による成績以外に *in vivo* 試験の成績が学会等 (Morimoto et al 2007, Ose et al 2008) に報告されており、それらは互いに矛盾するものではない。当該 *in vivo* 試験では P-gp ノックアウトマウスにおいて脳内濃度として野生型マウスより 5-10 倍弱の上昇があることが報告されている。野生型マウスに P-gp 阻害剤を投与した場合も同様であると報告されている。即ち、何らかの原因で P-gp が欠損あるいは抑制されたとしても脳内濃度の上昇は 10 倍以下であろうと推定されるが、これらの結果では、幼若動物と成熟動物との間の脳内分布における大きな差を説明できなかった。しかし、先に述べたように、申請者よりデータの計算に 500 倍の過ちがあったことが示された。WG では個別データを確認するとともに、この修正によりデータ間の大きな乖離が無くなったと思われることから、最終報告書が適正に修正されることを前提に、データの修正に同意した。

また、P-gp 以外のトランスポーターに関しても、Mrp4 ノックアウトマウスにおいて、OC の脳内濃度が 4-6 倍程度上昇するとの報告 (Ose et al 2009) もなされており、Mrp4 の活性を低下させる遺伝子多型は日本人で 18% 以上存在するとの報告 (Krishnamurthy et al 2008) もある。

これらの報告によれば、トランスポーターの欠損による脳内分布の増加は OP で 5-10 倍程度、OC でも同程度以内と考えられる。

2) 成熟ラットにおいては、OP 及び OC の脳への移行は少ないことが示された。新たに行われた幼若ラット試験において幼若ラットにおける OP の脳への移行は成熟ラットの 20-30 倍、OC の移行は 2-5 倍であったが、血漿中濃度と比較すると、OP では血漿中濃度以下、OC では血漿中濃度の 1/10 以下であった。Ose et al (2008) も同様の報告を行っている。こ

れは、幼若動物では血中 OP 及び OC 濃度が相対的に高いこと、および一般に幼若動物では血液脳関門が未発達であることと矛盾しない結果であった。ちなみに、Ose et al (2008)はラット脳での P-gp 発現量が生後6日齢では 42 日齢の 20%以下であること、また、ラット OP 血中濃度が幼若動物で高いことを報告している。

- 3) 脳内におけるカルボキシルエステラーゼによるオセルタミビルの代謝活性化はラット、ヒトともに低かった。また、Morimoto et al (2007)および Ose et al (2008)は P-gp 阻害剤投与や P-gp ノックアウトマウスで OP の脳内濃度が5倍程度高まっている状況でも OC の脳中濃度は有意に増加しないと報告しているが、これらは脳内での OP の活性化が低いことによると思われる。
- 4) バインディング・アッセイでは、イオンチャネル系 (Ca、Na) ターゲット及び σ 受容体 (non-selective) に対して OP が $30 \mu\text{M}$ 濃度で 30-40%の抑制効果を示していることから、また、申請時の幼若ラット分布データでは脳内濃度がきわめて高いとされていたことから、当初、より高濃度でのバインディング・アッセイでは臨床的に意味のある阻害活性が得られるかもしれないと考えた。しかしながら、新幼若ラット試験において得られた脳中濃度から推定されるヒト幼小児への臨床使用時の脳内濃度に対して $30 \mu\text{M}$ は十分な過剰量であり、これ以上の高濃度で試験を行う意義は少ないと思われた。また、臨床用量投与時に推定される OP および OC の脳中濃度ではドパミン受容体、グルタミン酸受容体、BZD 受容体を含む多くの中枢性の受容体やイオンチャネル系への作用を持たないと思われた。
- 5) これらをまとめると、OC の脳内濃度は、幼若ラットで血漿中濃度の 1/10 以下であり、トランスポーター欠損がある場合でも、OCの脳内濃度の上昇は最大6倍程度であることから、申請時概要にある 13-18 才に対する 2mg/kg 単回投与時の血漿中濃度 (OC の C_{max} は $1.12 \mu\text{M}$ 程度) を基に、血液脳関門が幼若ラットと同様に未成熟と仮定しても、脳内濃度の上昇は多くても血漿中濃度の60%程度、すなわち、 $0.6 \mu\text{M}$ 程度以下と計算される。さらに、これに重篤な肝障害等の代謝の阻害が加わったとしても、上昇は10倍の $6 \mu\text{M}$ 程度と想定され、受容体結合抑制濃度からみて、薬物受容体に直接作用して影響を及ぼす可能性は低いと考えられる。

OPの脳内濃度は血液脳関門の未成熟な幼若動物では血漿中濃度に近くなることがある。同様に申請時概要にある 13-18 才の OP 血漿中濃度 (OP の C_{max} は $0.233 \mu\text{M}$ 程度) を基にし、血液脳関門の未成熟な幼若ラットと同様に脳内濃度が血漿中濃度に近似すると仮定しても、そのような状況ではトランスポーターの欠損による影響は受けにくいと考えられるため、代謝の阻害による10倍程度の上昇が同時に起きたとしても、OPの脳内濃度はせいぜい $2.33 \mu\text{M}$ 程度までの上昇と推計することが適当と考えられる。一方、血液脳関門が成熟している場合については、成熟動物の結果から OP の脳・血漿中分布比は、血漿中濃度の 1/10 程度と考えて良いと思われる。この場合では、トランスポーターの欠損による約6倍の脳内濃度の上昇と、代謝阻害による約10倍の血漿中濃度上昇が同時に起きたとしても、脳中濃度は $1.4 \mu\text{M}$ 程度までの上昇と推計することが適当と考えられる。いずれの仮定による推計値においても、受容体結合抑制濃度からみて、薬物受容体に直接作用して影響を及ぼす可能性は低いと考えられる。

- 6) インフルエンザウイルスのノイラミニダーゼに対して OC の特異性は高く、ほ乳類のノイラミニダーゼに対してはヒトの 4 種のサブタイプを含め有意な抑制を示さないと考えられた。

一方 Li et al (2007)はノイラミニダーゼ 2 (NEU2)のアジア人に多い多型では酵素活性が低下するだけでなく、オセルタミビルによる抑制がかかりやすくなると報告している。しかし、この時の K_i 値は $175 \mu\text{M}$ であり、修正された幼若ラットの脳中の濃度から推定される臨床用量時の脳中濃度(約 $0.2 \mu\text{M}$)と比較し、また、臨床用量の2倍量を健康成人に投与した時の脳脊髄液濃度(おおよそ OC 10ng/mL 、OP 1ng/mL)と比較し、十分に高いこと、また、NEU2 は骨格筋にのみ発現しているとの報告もあり(Monti et al 1999)、オセルタミビルによる NEU2 の抑制が中枢性の副作用に関与しているとは考えにくい。しかし、添付文書によれば、重篤な腎障害時の血漿中濃度は $10 \mu\text{M}$ に近くなるとされており、そのような状況で作用を示す可能性については、今後、検討すべき問題と思われた。また、高用量 (50mg/kg 以上)の OP をドパミン D2 受容体アゴニストとともに腹腔内投与したとき、異常行動を引き起こしたとの報告(Suzuki & Masuda 2008)等もあり、中枢性副作用を生じた患者において、未知のノイラミニダーゼ多型が無いかについても今後の検討課題と思われた。

このようなことから、ノイラミニダーゼに対する作用に関しては引き続き関連研究を注視すべきと考えられる。

- 7) 調査検討の最終段階で旧幼若ラット試験における計算誤りが報告されたことは基礎 WG としては極めて遺憾であった。当該報告はこれまでの調査検討内容に大きな影響を及ぼすことから、企業側報告内容の信頼性を担保するため、基礎 WG は当該試験にかかる関係書類及び生データの写しを企業側から取り寄せ、企業側の「計算誤り」の説明の裏付けとなる試験プロトコル、試料調製記録、クロマトデータ等を確認したところ、企業側の「計算誤り」の説明は確認した範囲で生データとの整合性があった。

また、WG では、新試験のプロトコルに示された抽出法に疑問があったところから、企業側にバリデーションデータを求めたところ、存在しなかった。このため、企業側から新試験と同一抽出条件でのバリデーションが実施され、そのデータが追加提出された。その結果によれば、新試験での抽出法による抽出効率は 75%程度であり、100%として計算された結果に過ちがあったことから、その事実を報告書に記載することを求めた。

また、GLP 試験として実施された旧試験の計算誤りについては、企業側から試験報告書の修正が報告されたが、その修正方法について GLP の考え方に沿っていない点がみられたため、修正を求めた。

8) 死亡例についての考察

788mg/kg 以上の用量を投与した幼若動物において、低覚醒、振戦、痙攣、体姿勢の変化、呼吸の異常、粘膜および皮膚の蒼白化、自発運動の減少が認められた。申請者はこのような症状の認められた動物のほとんどが、その後死亡したことから、それらが瀕死状態に関連する症状であると考えていた。しかし、中枢性や呼吸器系の作用により死んだのか判断は困難である。基礎 WG ではこれら症状と死亡との関連について考察するため、症状の時間的経過を含む、より詳細なデータを求めたが、得られなかった。ただし、これらの症状や死亡はいずれも臨床用量(オセルタミビルとして 2mg/kg)の 250 倍以上の高用量で認められたものであり、臨床での異常行動や死亡に関連づけることは困難と考えている。

9) 脳内投与試験に関する考察

脳内投与試験の結果では、特に、ラットの行動に大きな影響は認められなかった。脳内

直接投与後の脳内分布に均一性が乏しかったが、元々本試験の実施を要請した大きな動機であった、幼若動物での高い脳内分布に関するデータが過ちであったことから、これ以上の検討は不要と考えた。

10) 体温低下に関する考察

OP をマウスに腹腔内投与すると 30mg/kg 以上で用量依存的に体温を低下させるとの報告(Ono et al 2008)がある。一方で、臨床試験で低体温が認められたのは OP 投与した患者 6974 人で 1 人、投与しなかった患者 4187 人では 1 人と両者に有意な差がないとされている。マウス腹腔内投与 30mg/kg でみられた体温低下はわずかであるが、用量依存性があることから、他の作用との関連は不明であるが、体温に関わる脳幹等への薬理作用が示唆され、また、体表面積当たりで換算すれば、タミフルの臨床用量に近いところで発生していることから、引き続き関連研究を注視すべきと考えられる。

11) 動物実験による神経症状・異常行動等への影響について

OP がマウスに対するドパミン受容体作動薬 PPHT のジャンピング行動誘発に対し、促進的に作用したとの報告(Suzuki & Masuda 2008)や、マウス対し、ハロペリドールとクロニジン併用によるジャンピング行動誘発を OP 経口 50mg/kg 投与で増加させた(小野ら学会発表 2008)との報告、ラットに OP 腹腔内投与後、エタノール投与による正向反射消失時間が短縮し、体温も低下したとの報告(Izumi et al 2007)や、OP とエタノールの同時投与でマウスの行動抑制が起きたとの報告(Izumi et al 2008)などの学会、文献報告についても検討を加えた。しかし、いずれも本剤による直接作用ではないこと、これら現象と OP の作用機序との関連性が不明確であること、また、投与量が高いことから、ヒトでの精神神経症状・異常行動との関連性について一定の判断をうる知見とするには不十分であり、引き続き関連研究を注視すべきと考えられる。

基礎 WG では以上のような様々な角度から調査検討を行った結果、リン酸オセルタミビルの中枢神経系への作用に関し、異常行動や突然死などとの因果関係を直接的に支持するような結果は、現時点において得られていないと判断した。

第2 オセルタミビルの循環器系に対する影響について

1 循環器系に対する影響評価に関する in vitro 試験

これまで実施された循環器系の試験において、ウサギ単離プルキンエ線維試験では、低頻度電気刺激下の条件で APD₅₀ の軽度延長が認められたが、それ以外には OP、OC ともに心血管系への電気生理学的な影響は認められていない。基礎 WG では OP、OC の循環器系に対する影響についてより詳細な検討をする目的で、以下の 2 試験の実施を求めた。

1) モルモット乳頭筋活動電位の各指標に対する作用

試験標本としてモルモット乳頭筋を用い、OP 3、10、30、100 μ M、OC 10、30、100 μ M の各濃度における最大立ち上がり速度(V_{max})、活動電位時間(APD₃₀、APD₆₀、APD₉₀、APD₃₀₋₉₀)、活動電位高(APA)、静止膜電位(RMP)を刺激頻度 1Hz で測定した。陽性対照には Sotalol(30 μ M)を用いた。

その結果、OP は最高濃度の 100 μ M において、活動電位時間(APD₃₀、APD₆₀、APD₉₀)及び V_{max} を軽度減少させた。一方、OC では最高濃度の 100 μ M まで、活動電位に対し

て影響を認めなかった。

2) HEK-293 細胞に発現した hERG チャネル電流に対する作用に関する試験

試験には HEK-293 細胞を用い、OP、OC とも 10、30、100 μM の 3 濃度における hERG テール電流のピークを測定した。試験パルスは保持電位 -80mV 、脱分極パルス $+20\text{mV}$ (500msec)、再分極パルス -50mV (500msec)とし、15 秒毎に合計 40 刺激を行った。陽性対照には E-4031 100nM を用いた。

その結果、OP は 30 μM 及び 100 μM で濃度依存的に hERG 電流を抑制し、抑制率はそれぞれ 16.9% 及び 37.5% であった。一方、OC では最高濃度の 100 μM まで、hERG 試験のパラメータに対して影響を認めなかった。

2 基礎 WG の調査検討結果

以上の試験結果から、OP は 30 μM 以上の高濃度で Na、Ca 及び K チャネルをいずれも抑制する多チャネル阻害作用を有し、これらの効果を総合した結果、表現形としての活動電位では若干の短縮が観察されたものと思われた。しかしながら、この作用が見られた濃度はヒトの臨床血漿中濃度の 100 倍以上であり、安全域は十分確保されているものと判断した。

その他、企業が自主的に実施したウサギプルキンエ線維活動電位試験結果の再解析、未変化体の代謝障害時を想定した PK シミュレーション解析および循環器系の基礎および臨床試験成績に関するエキスパートレポートについても調査検討したが、これら提出された資料においても、オセルタミビルが突然死に結びつくような循環器系への影響を有することを示唆する結果は得られなかった。

第3 意見陳述等に対する基礎 WG の見解まとめ

平成 19 年 6 月 16 日の安全対策調査会において行われた意見陳述等に対する現時点での基礎 WG の見解は以下のとおりである。

- 1) オセルタミビル及びその活性代謝物の脳への移行については、これまでに提出された動物試験成績により明らかになったと考える。また、ヒトの肝エステラーゼの阻害時の挙動についても体内動態シミュレーションの結果からは安全域が保たれていると考えられる。
- 2) 人為的インフルエンザ感染動物のモデルは必ずしも確立しておらず、感染動物を用いた試験の実施は現時点で容易ではないこともあり、現時点では実現していない。
- 3) オセルタミビルが脳浮腫・肺水腫との関係で水チャネルに直接影響を及ぼす可能性については、成熟動物及び幼若動物における反復投与毒性試験において脳浮腫の所見が認められていないこと、肺水腫については、これまで 2 試験で認められているが、いずれも非常に高い用量が投与された動物のみに認められており、また、肺水腫については、アクアポリンが肺胞液の消失過程で重要な役割を果たすわけではないとの報告があることなど、これまで得られたデータからみて否定的である。
- 4) インフルエンザの急性期に血液脳関門機能の低下が認められることについては、脂肪酸代謝異常マウスで示されている(木戸ら 2003)。しかし、タミフル投与後のインフルエンザ脳症患者における脳脊髄液及び脳中の OP 及び OC 濃度は血漿中濃度をはるかに下回る事例 (Straumanis et al 2002) が確認されているが、インフルエンザ患者で脳脊髄液中

濃度が高まることは報告されていない。

- 5) これまでの安全性試験における OP 及び OC の中枢神経系に対する特異的作用は認められていない。死亡例にみられた中枢抑制を非特異的作用と言えるかどうかは、高い用量で現れたものであることから、当該試験結果からは判断できず、臨床的意義は少ないものと思われるが、体温に及ぼす影響に関する試験結果等から、臨床用量との関連については引き続き検討を行う必要がある。
- 6) 現在知られているターゲット(ドパミン、NMDA 受容体、代謝調節型グルタミン酸受容体、BZD 受容体を含む)に対する結合性はいずれも弱く、OP 投与時の脳中濃度から考えると中枢神経系に対して影響を及ぼすとは思われない。
- 7) オセルタミビル活性代謝物がアジア人に一定割合で認められるとされるヒトノイラミニダーゼ NEU2 の変異体を抑制する可能性については、NEU2 のヒトでの分布が筋肉に限定されるとの報告もあり、現段階では突然死や異常行動との関係ははっきりしない。

以上