

## 総説

# オセルタミビルの遅発型 害反応の機序

浜六郎 NPO 法人医薬ビジランスセンター（日本、大阪）

## 要旨

オセルタミビルは、インフルエンザ感染の高リスク者、例えば糖尿病や精神神経疾患、呼吸器疾患、心疾患、腎疾患、肝疾患、血液系疾患などを合併する患者の治療および予防に推奨されている。しかし、最近のコクランレビューでは、抗体産生の低下、腎障害、高血糖、精神障害の増加、QT 間隔の延長が、オセルタミビルの使用に関連しうることが報告された。本稿では、その発現機序について検討を加える。

決定的エビデンスは、ノイラミニダーゼ遺伝子を持たない RS ウイルス (RSV) を感染させたマウスに臨床使用相当量のオセルタミビルを投与すると、症状が緩和し、ウイルス消失が阻害されたことである。この作用は、ウイルス感染に反応して宿主の内因性ノイラミニダーゼによって制御されている（つまり増加するはずの）T 細胞表面のスフィンゴ糖脂質（ガングリオシド）GM1 が（オセルタミビルにより）低下するという現象を伴って起きている。ヒトのインフルエンザウイルス感染実験では、臨床用量のオセルタミビルは、ウイルスの排出を部分的に抑制するが、インターフェロン- $\gamma$ 、インターロイキン-6 (IL-6)、腫瘍壊死因子アルファ (TNF- $\alpha$ ) などの炎症性サイトカインはほぼ完全に抑制した。このような結果は、他の多くの臨床的、非臨床的エビデンスによって支持されている。腎疾患や心疾患（徐脈、QT 間隔の延長）に関する臨床的エビデンスは、動物の毒性試験により裏付けられており、代謝作用（糖尿病誘発作用）についても、毒性実験結果は矛盾しない。オセルタミビル使用後の抗体産生およびサイトカイン誘導の低下、腎障害、代謝障害、心疾患、遷延型の精神障害は、宿主の内因性ノイラミニダーゼの阻害に関連していると考えられる。通常用量のザナミビルにはこの作用はなさそうであるが、ザナミビルおよびその他のノイラミニダーゼ阻害剤を、より高用量または長期使用すると、抗体産生やサイトカイン産生の低下など同様の遅発型反応を誘発しうる。

**キーワード：**抗体、内因性ノイラミニダーゼ、オセルタミビル、炎症性サイトカイン、QT 間隔延長、腎障害

## 序論

ノイラミニダーゼ阻害剤 (NI) は、インフルエンザ感染時に、高リスク者に対して用い、合併症を減らすことが期待されており [1, 2]、オセルタミビルは WHO の必須薬モデルリストに掲載されている [3]。高リスク者とは、糖尿病、精神神経疾患、呼吸器疾患、心疾患、腎疾患、肝疾患または血液系疾患の患者などである [1, 2]。しかし、事故死につながる異常行動および突然死をはじめ、オセルタミビルによる重篤な精神神経系害反応が、臨床使用

が始まって以来、報告されている[4-8]。日本では、オセルタミビルは、10~19歳の小児および青年への使用は、異常行動のリスクを懸念して2007年から原則的に禁忌とされている[4-7]。オセルタミビルの害反応には、突発型、遅発型およびその他がある[6,7]。突然死も、オセルタミビル使用で懸念されるもう一つの問題である[5-8]。

コクランのノイラミニダーゼ阻害剤評価チームは、最新のレビュー[9]で、ノイラミニダーゼ阻害剤（NI）（オセルタミビルおよびザナミビル）は、成人で症状緩和作用を示すが、小児への作用は不明確であると報告した。オセルタミビルでは、4倍以上の抗体価上昇を得られる人の割合が減少した[9, 10]。オセルタミビルおよびザナミビルは両剤とも、入院を減少させることを示すエビデンスは得られなかった。オセルタミビルは、「重篤」または「試験からの脱落につながる」ような肺炎やその他の合併症を減少しなかった。両剤によって「検査で確認され、症状を伴うインフルエンザ感染」は減少したが、インフルエンザ様疾患は減少しなかった。オセルタミビルでは、悪心、嘔吐、頭痛、精神症状、腎臓、糖尿病／高血糖のイベント、四肢の痛みリスクが増加したが、ザナミビルでは増加しなかった。オセルタミビルは、下痢や心臓系のイベントが減少するように見えたが、QT間隔（バゼット補正）は延長した[9]。

この総説では、とくにオセルタミビルによる遅発型害反応の生物学的な根拠について検討を加える。

## ノイラミニダーゼ阻害剤の概略

### ノイラミニダーゼ阻害剤とその臨床使用

ノイラミニダーゼ阻害剤（NI）には、吸入ザナミビル（リレンザ、グラクソスミスクライン社）、経口オセルタミビル（タミフル、ギリアードサイエンス社、ロシュ社、日本では中外製薬）、ペラミビル（注射剤）[11]（バイオクリスト社、シオノギ製薬）、吸入ラニナミビル（第一三共）[12]、さらには開発中のその他の薬剤がある[13]。ザナミビルおよびオセルタミビルは、米国で1999年から販売されており、それに引き続き日本やその他の国でも販売が開始された。日本ではペラミビルが2010年1月、ラニナミビルが同年9月に販売が開始された。

ロシュ社はオセルタミビルを世界保健機関（WHO）に寄付し、WHOは大流行時に使用するためとしてノイラミニダーゼ阻害剤（とくにオセルタミビル）の備蓄を推奨するよう決定した[14]。

2009年にインフルエンザA/H1N1が発生するまでに、世界各国はオセルタミビルを2億2,000万回分備蓄し、2003年初頭からの累積売上げは76億スイスフラン（CHF）にも膨れ上がった[15]。ノイラミニダーゼ阻害剤の使用は、2009年4月にA/H1N1が発生して以来、飛躍的に増加した。

米国での最初の承認から 2006/2007 年シーズンの間に、世界中で約 4,800 万人の患者にオセルタミビルが[16]、400 万人の患者にザナミビル[17]が処方された。日本が世界のオセルタミビル総量の 76%、米国が 21%、その他の国が 3%を消費した[16]。小児（懸濁液）では、世界の総量の 85%が日本で消費された[16]。

ザナミビルは、以前日本では、ほとんど処方されることはなく（インフルエンザに対する抗ウイルス剤の処方総数の 1%未満）、処方されるようになってきたのは、厚生労働省（厚労省）が 2007 年 3 月に 10 歳から 19 歳の患者へのオセルタミビル使用を原則禁忌[4, 6]として以降である。この規制後、オセルタミビルの処方はかなり減少した。ラニナミビルが 2010 年 9 月に日本で発売されると、ラニナミビルのシェアが急増した。2013/14 年シーズンに、日本でのオセルタミビルの処方シェアは 36%、ザナミビル 19%、ラニナミビル 42%、ペラミビルは 3%であった[18]。

### 非感染状態での作用機序と薬物動態

ノイラミニダーゼ阻害剤は、感染の極めて初期段階にウイルスが粘液に侵入する能力を低下させることがあるが[19-24]、ノイラミニダーゼ阻害剤の主な作用機序は、インフルエンザウイルスのノイラミニダーゼを阻害することで、感染宿主からの子孫インフルエンザウイルスの放出および拡散を防ぐことにあると思われる[21, 23, 24]。オセルタミビルが、有症状期間を短縮するのは、おそらくはウイルス量を減らし、ウイルスの拡散を抑制し、サイトカインの誘導を抑制することによるのではないかと、一般的には信じられている[25]。

しかし、オセルタミビルの米国の添付文書（2010 年 4 月改訂）には、「細胞培養でインフルエンザウイルスの阻害に要するオセルタミビル・カルボキシレートの濃度は、使用したアッセイ法およびウイルスの種類によって大きく変化した。（中略）細胞培養における抗ウイルス作用や、ノイラミニダーゼのアッセイ系における阻害作用と、ヒトにおいてインフルエンザウイルスの複製をどの程度に阻害するか、それらの関連性は確立されていない」[24]とある。症状緩和の機序がウイルス量の低下に因るとは、明記されてはいないのである。

リン酸オセルタミビル（OP）は、エチルエステル型のプロドラッグであり、ノイラミニダーゼ阻害剤の活性体であるオセルタミビル・カルボキシレート（OC）への転換には、エステル加水分解が必要である。タミフルカプセルは、OP の商品名であり、フリーベース換算でオセルタミビル（OT）75 mg を含有する。これは 98.6 mg の OP と同等である。OP は胃腸管で解離して OT を形成する。OT は吸収され肝酵素エステラーゼ（hCE）によって OC へと代謝される。

健康な被験者で、OP の血中濃度曲線下面積（AUC）は、OC の 3~5%である。OP の血液脳関門（BBB）の通過は、非感染の成熟動物では P-糖タンパク（P-gp）によって制限されている（10%未満）[26-28]。

健康な成人被験者に OT 75 mg (OP 98.6 mg と同等) を使用すると OP の  $C_{max}$  (ng/mL) 、  $T_{max}$  (h) 、 AUC (ng · h/mL) 、 消失半減期 ( $t_{1/2}$ :h) は、それぞれ平均で約 60 ng/mL 、 約 0.7 ~ 2 h 、 約 150 ~ 200 ng · h/mL 、 約 1.2 ~ 1.9 h であった。 OC は、それぞれ平均で約 200 ~ 300 ng/mL 、 約 4 ~ 5 h 、 約 3,000 ~ 4,000 ng · h/mL 、 約 5 ~ 10 h であった[29]。 3 歳以上の健康な小児での薬物動態 (PK) パラメーターは、成人のパラメーターとほとんど差がなかった。クレアチニンクリアランスが低下 (<30 mL/分) した患者 5 人に対して、OT 100 mg (フリーベース換算) を 6 日間使用した後の OC の PK パラメーター (±標準偏差) は以下のとおりであった。  $C_{max}$ : 4,052 (±1,519) ng/mL 、  $T_{max}$ : 5.20 h (±1.11) 、 AUC<sub>0-12</sub>: 43,086 ng · h/mL (±18,068) 、  $t_{1/2}$ : 16.1 h (±2.69)[29]。

血液透析治療を受けた患者 12 人に OT 75 mg 使用後の PK パラメーターは以下のとおりであった。  $C_{max}$ : 2,131 (±533) ng/mL 、  $T_{max}$ : 27.3 (±6.9) h 、 AUC<sub>0-last</sub>: 106,314 (±26,029) ng · h/mL 、  $t_{1/2}$ : 159h (このデータは、透析 48 時間後、次回透析前のデータから算出された：標準偏差は示されず)[29]。したがって、OC はほぼ完全に尿中に排泄され、患者のクレアチニンクリアランスが 30 mL/分未満である場合、用量の調整が必要である[24, 29, 30]。

## オセルタミビルによる害反応の証拠：ヒトおよび動物

これまでに、オセルタミビルの害作用には、突発型、遅発型、その他の型があると考えられている[6, 7]。本項では主に、臨床試験および疫学調査で報告された、オセルタミビルの遅発型害反応について述べる。このことは、他のノイラミニダーゼ阻害剤で生じ得る害作用の説明にも役立つと考えられる。なお、オセルタミビルによる突発型の精神神経系の害作用についても簡潔に述べる。

### 突発型の精神神経系反応

突発型の反応には、異常行動、幻覚、突然の呼吸停止とそれに続く心停止および死亡などの精神神経系反応がある。悪心、嘔吐、低体温なども突発型である[6, 7, 31]。これらの反応は、オセルタミビルの初回服用の直後 (1 時間未満から 24 時間以内) に発現し、呼吸停止により突然死を生じたり後遺障害を生じたりしなければ、急速に消失する[6, 7, 31]。これらの反応は、オセルタミビルを服用し続けても消失することが多いが、同剤を複数回服用することにより症状が再発することもある。突発型反応の発現機序については、別論文で詳細に論じている[6, 31]。

### 遅発/遷延型反応

遅発型の害反応には、腎臓、代謝系、心臓、肝臓、血液系、免疫系、神経系、精神系など様々な臓器や系統の障害および全身性の障害 (疲労または倦怠感) がある。QT 間隔の延長は、オセルタミビルの初回服用であっても、オセルタミビル・カルボキシレートの血中濃度に緊密に関係しているが (詳細は後述)、遅発型の害反応の大部分は、オセルタミビル

の初回服用から少なくとも数日後に発現する。これらの害反応、とくに精神神経系害反応の症状の期間は長期間にわたる傾向があり、数か月間または年余にわたることさえある[6]。

### 抗体産生の阻害と再感染

8件の報告(10試験)を対象としたメタ解析によると、オセルタミビルは、4倍以上の抗体価上昇を示した患者のオッズを20%近く(リスクは8%)有意に減少させた[9, 10]。異質性は有意でなかった( $I^2=4%$ )。

分泌型IgA (sIgA)の低下は、さらに顕著であった[32-35]。Sawabuchiらの報告によると、オセルタミビルを服用した小児では、服用しなかった小児と比べて、インフルエンザウイルスA型に対するsIgAの誘導が低下した。sIgA抗体価が10倍以上上昇した小児のオッズ(上昇/非上昇)は、オセルタミビルを服用しなかった小児(3/3)に対して、同剤を服用した小児で低かった(2/12)。統計学的には有意ではないもののオッズ比は0.17と低かった(95%信頼区間: 0.01-2.39,  $p=0.13$ ) (文献32、図1のデータから算出)。

抗インフルエンザウイルスA型のsIgAの低下は、オセルタミビルまたはザナミビルを服用した小児のいずれでも認められた[33]。

これらの所見は、インフルエンザA/H1N1感染マウスで臨床用量以下の用量を用いた動物実験のエビデンスと一致している[34, 35]。赤血球凝集素(HA)特異的IgG抗体は血清中および脾臓でわずかに減少し、有意差はなかったが、HA特異的分泌型IgA抗体(sIgA Ab)は、鼻洗浄液および気管支肺胞洗浄液(BALF)で12日目に約80%有意に減少した[34]。

ヒトの臨床試験では、通常用量のザナミビルでは、抗体(抗HA Ab)産生は低下しなかったが[9]、sIgA抗体は有意に低下した[33]。健康な被験者を対象として、ザナミビル治療(20 mg/日、14日間)のインフルエンザに対する液性免疫への影響を調べた二重遮蔽プラセボ対照試験では、ザナミビル群でH1N1に対する抗体価が有意に低かった[36]。成人でインフルエンザウイルス接種前に、極めて高用量(600 mg)のザナミビルを静注したランダム化比較試験(RCT)で、IL-6、TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、その他のケモカイン類など炎症性サイトカインのレベルはほぼ完全に抑制された[37]。

Shinaharaら[33]は、「2009/2010年に新しいウイルス亜型が流行した際でさえ、無治療群の小児のわずか8.6%が再感染しただけであった。しかし、オセルタミビルおよびザナミビル治療を前年に受け、2009~2010年に再感染した小児の割合は、それぞれ37.3%および45.0%であり、無治療群の小児と比べて有意に高かった( $p<0.01$ )」と報告した。

同一シーズンに同じインフルエンザウイルスに再感染したという数件の症例が、報告されている[38, 39]。Kopelらは、RT-PCR法で2009A/H1N1インフルエンザ陽性とされた、脳性麻痺の13歳男児に発熱のエピソードが3回起こったことを報告した[38]。患児には初回エピソードの際に、標準用量(75 mg、1日2回、5日間)のオセルタミビルが用いられた。2回目のオセルタミビルは、用量を年齢に合わせて調節し、初回の用量より倍増させて10日間使用された。患児のHI価は高かったが、分泌型IgAのレベルは測定されなかった。

## 腎障害

細尿管の組織学的な変化や、尿量増加、肝臓および腎臓の相対重量の増加が、オセルタミビルを様々な期間および用量で使用した様々な動物で、用量依存的に認められた[29]。

例えば、6 か月間のラット毒性試験では、最高用量群（761 mg/kg）で腎臓の重量（相対重量および絶対重量）が増加し、組織学的検査では細尿管上皮、基底膜、ボウマン嚢に変性および再生、細尿管上皮に空胞形成や石灰化が認められた。これらの組織病理学的な所見は、8 週目にオセルタミビル投与を中止しても回復しなかった。中等用量群（152 mg/kg）では、腎臓の相対重量および絶対重量が増加し、細尿管上皮に空胞形成が認められた[29]。

「製薬企業に対する指針（Guidance for Industry）」[40]によると、体重 60 kg のヒトの場合、ヒト等価用量（HED）の換算係数は、マウスが 12.3、ラット 6.2、フェレット 5.3、マーモセット 6.2、ウサギ 3.1、イヌが 1.8 であった。したがって、ラットで 152 mg/kg は HED 換算で 24.5 mg/kg であり、腎障害の最大無影響量（NOAEL）は 38 mg/kg であった。38 mg/kg の HED は、体表面積換算で 6.1 mg/kg であり、OC の AUC レベルで換算した場合の用量は 5.5 mg/kg である（両者は近似している）。これら（6.1、5.5mg/kg）は、体重 60 kg のヒトの通常 1 日用量（2mg/kg）の 2.4 倍、2.2 倍にすぎない。オセルタミビルの最高用量群の腎障害は、水分摂取量の増加、白血球数増加、ビリルビン増加、BUN 増加、クレアチニン増加、尿量増加、NAG/クレアチニン比の増加に伴って生じていた。

## 代謝障害：高血糖および糖尿病

2 週間のラット経口投与試験で、血糖値の上昇が最高用量群（1,522 mg/kg）で認められたと報告されている[29]。データは記載されていないが、この血糖値の上昇は、白血球数増加、BUN の用量依存的に有意な増加（ $p < 0.01$ ）、腎臓および肝臓の重量増加、腎髄質の尿細管の石灰化（オス：8/10）、肺泡マクロファージの軽度から中等度の集積に伴って生じていた[29]。

## 心疾患：徐脈および QT 間隔の延長

オセルタミビルは、マーモセットを用いた 9 か月間の反復投与毒性試験で心拍数を低下させた。オセルタミビル投与期間中の平均心拍数は、328 回/分であり、対照群の心拍数（368 回/分）およびベースラインと回復期間中の平均心拍数（392 回/分）と比べて、それぞれ 11% および 16% の低下であった[29]。

ビーグル犬を用いて QT 間隔などの心機能を調べた実験[41]では、ベースラインの QT 間隔の中央値（ミリ秒±標準誤差）は、対照群（溶媒）（n=4）で  $417 \pm 16$ 、オセルタミビル・カルボキシレート（OC）群（n=4）で  $374 \pm 2$  であった。この差は、要約データを用いた t 検定により有意であった（ $p=0.0372$ ）。対照群のほうが、変動が大きかったこと（ $p=0.005$ ；パートレット検定）はもう一つのエビデンスである[42]。OC 100 mg/kg を 30 分かけて静

注した麻酔イヌの QT 間隔の平均±標準誤差は、静注前 (376±2) と比べて有意に延長した (390±4)。平均 QT 間隔は、投与中止から 1.5 時間で回復 (374±6) したが、標準誤差は増加した。QT 間隔の延長は、OC の血中濃度と密接に関連している[29, 41, 42]。このように、データの大きな不均衡が、系統的に生じた原因は不明であるが、偶然によって生じたとは考え難い。

動物実験で発生した徐脈および QT 間隔の延長は、ヒトの RCT でも認められ、その発現はオセルタミビル・カルボキシレート濃度上昇のタイミングと密接に関連していた[9]。

### 遅発型および遷延型の精神症状

筆者は、以下の精神反応の症例を報告した[6]。15 歳の中学生男子が体温 39.2°C で、迅速検査によって B 型インフルエンザと診断され、タミフル 75 mg を 1 日 2 回、5 日間服用した。男子の体温は 5 日目に正常化した。男子は、嗜眠感をおぼえた。6 日目午前中に最後 (10 回目) のタミフルを服用した後、男子は登校し、授業中に机の上に座って大声で歌い始めた。男子はクラスメイトと意思疎通ができなかった。男子はせん妄状態にあったと考えられる。このエピソードの 4 日後、両親が男子を一般病院に受診させた。入院前に、男子は「顔に虫がいる」と話したが、これは幻覚の兆候である。入院後、男子は、「これは病院じゃない。老人ホームだ」と叫びながら、静脈ラインを外して帰宅しようとした。男子は診察の順番を待たず、病院を出て表通りへ飛び出し、もう少しで車にひかれるところであった。16 日目に男子は退院し、19 日目および 20 日目に、自分の携帯電話の記録から異常行動をとっていたことを知った。異常行動の始まりから精神症状が完全に消失するまで、13 日間かかった[6]。

コクランのシステマティックレビューで分析された予防 RCT の報告書 4 件[9]に記載されていた例のうち、回復に最も時間を要した患者は、WV15825 試験の被験者 23639/3122 であった[43]。臨床試験報告書のモジュール 1 の説明文には、次のように書かれていた。

**69 歳女性の本患者は、試験 8 日目に妄想型統合失調症のため入院した。患者の病歴には、妄想型統合失調感情障害、高血圧、冠動脈疾患があった。患者は、ケトコナゾール、アムロジピン、ハロペリドール、ロラゼパムを服用していた。試験 8 日目に患者は、自宅から逃走したが、発見され、治療のために病院に搬送された。試験製剤は 8 日目に中止され、重症の妄想型統合失調症と診断された。その後、患者は病院から逃亡し、試験 15 日目に中等度の脳震盪の状態で見られた。患者は 10 日間にわたり、再び入院した。妄想型統合失調症は 68 日目に消失し、試験製剤との関連はないと考えられた。**

予防 RCT (4 報告書、5 試験) では、遅発型で回復に 14 日間以上を要した遷延性の精神系イベントがオセルタミビル群で 11 例、プラセボ群で 2 例報告された。Peto 法による統合オッズ比は、3.37 であった (95%信頼区間 : 1.11-10.23, p=0.032, I<sup>2</sup>=0%)。

回復までに時間のかかる遅発型精神反応との関連を確認する動物実験は、実施されていない。

### その他の害作用（肺炎、喘鳴、胃出血、その他）

臨床の血中濃度曲線下面積の12倍の用量のOCを2週間静注したラット6匹のうち3匹が急性肺炎を来した[29]。その3匹のうち、1匹が14日目に喘鳴を来し、翌日に屠殺された。びまん性出血性肺炎（肺炎）および肺微小血管血栓塞栓症が、このラットで認められた。OC静注の安全用量は、ヒトの通常臨床用量のAUCの2倍未満である。

マーモセットを用いた7日間の経口毒性試験[29]では、臨床等価用量（HED）の127倍のOTを投与された4匹すべてが重度の嘔吐、睡眠、行動低下、虚脱を来して瀕死状態となったため、4日以内に屠殺された（2日目に1匹、4日目に3匹）。すべてのマーモセットの胃に、肉眼的な胃粘膜表面の赤色化（発赤）、組織学的にびらん、潰瘍、萎縮を伴う粘膜出血がみられた[29]。

75mgカプセル1日2回を服用した際のヒトの平均AUC<sub>0-24</sub>と無毒性用量における動物のAUC<sub>0-24</sub>を指標にした安全係数は、ラットの4週間毒性試験で3、ラットの6か月間経口毒性試験で3、ラットの2週間経口毒性試験で8、マーモセットの7日間経口毒性試験で10であった。

### オセルタミビルおよびその他のノイラミニダーゼ阻害剤で起こり得る害反応

オセルタミビルおよびその他のノイラミニダーゼ阻害剤で起こり得る害反応を表1にまとめた。

表1：オセルタミビルおよびその他のノイラミニダーゼ阻害剤の害反応のスペクトル

障害臓器系統	症状群	個別の症状/反応
<b>突然型反応(オセルタミビルのみ)</b>		
消化器系	胃腸系	嘔気、嘔吐、
中枢神経系	軽度～中等度の症状	低体温、睡眠、頭痛、嘔吐、大泉門膨隆
	精神神経系症状	知覚障害、認識の障害、異常行動(抑制もしくは興奮性)、意識障害～意識喪失、パノイア、妄想、幻覚、精神病、うつ病、攻撃性、激越(異常興奮)、譫妄、自殺関係(自殺念慮、自殺企図、自殺既遂)
	呼吸抑制	チアノーゼ、呼吸困難、過呼吸(頻呼吸)、呼吸抑制、不規則呼吸、呼吸不全、呼吸停止、心肺停止、死亡
<b>遅発発症もしくは長期持続型の反応(すべてのノイラミニダーゼ阻害剤)</b>		
免疫/炎症/感染症に関連する反応	抗体	抗体産生(特に気道の分泌系IgA)の減少
	サイトカイン	サイトカイン/ケモカイン(IL-6、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ など)の誘導抑制
	細胞への影響	鼻洗浄液や肺洗浄液中の炎症細胞の減少、肺CD <sup>8+</sup> T細胞の減少
腎臓	再感染の危険	インフルエンザの再感染、肺炎罹患、他の感染症の増悪
代謝	組織学的/機能の変化	尿管上皮やボーマン嚢の変性/再生性変化、尿量増加、腎臓重量増加、蛋白尿など
心臓	糖尿病患者	高血糖、真性糖尿病の増悪、新しい発症糖尿病
神経系	収縮	心拍数減少、徐脈、QT延長
精神系	侵害受容性	四肢痛など
精神系	遅発発症/持続型	遅発発症型精神障害(異常行動、精神病、幻覚、妄想、激越、統合失調症、うつ病など)が持続する
消化器系	消化管	消化管出血
その他		出血(肝障害または血液系障害として)

## 症状緩和の機序と宿主の内因性ノイラミニダーゼ

本項では、主に症状緩和の機序について議論する。遅発型反応の機序については、主に次項で検討する。両者とも宿主のノイラミニダーゼの阻害に関連していると考えられる。

### 宿主のノイラミニダーゼ阻害および症状緩和

#### オセルタミビルによってRSV感染マウスの症状が緩和

Mooreら[44]が決定的なエビデンスを示している。

Mooreらによると、ノイラミニダーゼ遺伝子が欠損したRSウイルスを感染させたマウスに臨床用量相当量のオセルタミビルを投与すると、症状緩和（体重減少の緩和）がみられ、ウイルスの消失が阻害された。これらの作用は、ウイルス感染時に、内因性シアリダーゼ（ノイラミニダーゼ）によってコントロールされている（増加するはずの）CD8<sup>+</sup>T細胞表面におけるsialoglycosphingolipid（ガングリオシド）GM1レベルが低下し、サイトカイン発現が抑制されるという現象に伴って生じていた。現時点では、ザナミビル、ラニナミビルまたはペラミビルに関するこのような研究は行われていない。

#### GM1ガングリオシドの低下と炎症性サイトカインの抑制

ヒトの第II相ランダム化比較試験として実施した感染実験[25]では、IL-6、TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ などの炎症性サイトカインは、インフルエンザウイルスを接種した28時間後にオセルタミビルを使用すると、完全に抑制された。一方、鼻洗浄液中のウイルス量の減少は部分的であった。

IL-6、TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ など炎症性サイトカイン誘導の低下は、樹状細胞などの免疫細胞[45]、多形核白血球[46]、CD8<sup>+</sup>T細胞[44, 47]による分泌の低下に関連している。サイトカイン誘導の低下は、宿主の内因性ノイラミニダーゼ（またはシアリダーゼ）、とくにNeu3（主に細胞膜に発現する、ノイラミニダーゼの3番目の亜型）[45]の阻害に関連して、これらの細胞でGM1ガングリオシドの発現が低下することによる[44-47]。

#### GM1ガングリオシドの低下と痛み

Crainら[48]は、臨床用量オセルタミビルの100~1000分の1のHEDで、宿主のノイラミニダーゼに影響をもたらす、内因性GM1ガングリオシドを低下させ、宿主にいくつかの反応を引き起こす可能性があることを報告した。Crainらは、「インフルエンザを阻害する用量のオセルタミビルを臨床的に使用すると、侵害受容ニューロンのGM1レベルを低下させることで、追加的な影響をもたらす可能性がある」と示した[48]。

## 動物感染モデル：症状、炎症性／サイトカイン反応、ウイルス量

### フェレットモデル：ウイルス量はほとんど変化なく、発熱と炎症反応を軽減

フェレットは、ヒトのインフルエンザ感染の研究に際して最良の動物モデルの一つである。ロシュ社は同モデルを用い、治療目的のランダム化比較試験の大部分の臨床研究報告のプロトコール（モジュール II）で次のように報告している[43\*a]。

成熟フェレット（1 グループに 4 匹）に、インフルエンザ強毒株を接種した。5 mg/kg または 25mg/kg の Ro-0796 を、接種の 2 時間後から 3 日間、1 日 2 回経口投与した。対照群のフェレット 4 匹には、溶媒のみを投与した。この実験において Ro64-0796 は、用量依存的に発熱反応を緩和し、鼻洗浄液中の炎症性細胞数を減少させることを示した。しかし、いずれの用量においても、感染動物の肺や鼻洗浄液のウイルス量は減少しなかった。

Ro-0796 はリン酸オセルタミビルを指す。

オセルタミビルに関する（この実験を報告した）公表論文によると[49]、5 mg/kg/日と 25mg/kg/日の経口用量でのウイルス量の曲線下面積（AUC）および 5 mg/kg/日群のピークウイルス量は、有意に減少しなかったが、25mg/kg/日群の平均ピークウイルス量は有意に減少したとされている。

これとは対照的に、発熱反応の AUC はオセルタミビルの両用量群で用量依存的に有意に減少した。さらに、オセルタミビル両用量群の感染動物から得た鼻洗浄液中の炎症性細胞の総数は、96 時間以上減少し続けた。

「製薬企業に対する指針（Guidance for Industry）」[40]によれば、フェレット用量から体重 60kg のヒト等価用量（HED）への換算係数は、5.3 である。したがって、成熟フェレットの 5 mg/kg および 25mg/kg は、ヒトの約 1 mg/kg および 5 mg/kg に相当する。5 mg/kg は、ヒトでのオセルタミビル 1 回量（75 mg/60 kg）とほぼ同等用量であり、25mg/kg は 4 ～5 倍の用量である。

したがって、臨床用量のオセルタミビルが発熱反応を軽減し、感染動物の肺または鼻洗浄液から得たウイルス量を有意に減らすことなく、鼻洗浄液中の炎症性細胞の数を減少させる可能性がある、ということを示している。

**\*a:** 主要なランダム化比較試験（RCT）である 2 件(WV15670, WV15671)をはじめ、他の試験(WV15673/15697, WV15707, WV15708, WV15730, WV15758, WV15759/15871, WV15799, WV15812/872, WV15819/15876/15978, WV15825)を含め、成人の治療 RCT の大部分の治験総括報告書（CSR）のモジュール II で、同じ文言で記載されていた。3 つの CSR（M76001, WV16277, ML16369）では記載がなかった。これら CSR の全文は、文献 43 (<http://data-dryad.org/resource/doi:10.5061/dryad.77471>) で入手できる。

### マウスモデル：軽症インフルエンザではウイルス量減少のエビデンスはない

10 mg/kg/日の OP を、90%致死量の A 型または B 型インフルエンザウイルスのある種の株に感染させたマウスに経口投与すると、肺のホモジネートウイルス量が 100 分の 1 に減少し、生存が増えた[24, 49]。同様の実験がペラミビルについても報告されている[50-52]。

しかしながら、軽症インフルエンザに感染させたマウスを用い非致死量のインフルエンザウイルスを接種した Wong ら[53]の研究（ヒトの季節性インフルエンザにおけるオセルタミビルの効果を調べるためのより適したモデル）では、オセルタミビルの臨床用量相当量（10 mg/kg の HED は、約 0.8 mg/kg）を接種 4 時間前、24 時間後および 48 時間後に（異なる 3 つの試験で）投与したところ、接種後 5 日目においては、ウイルス量に有意な影響を認めなかった。

Wong ら[53]は、オセルタミビルの使用が予防か治療かに関わらず、肺の炎症細胞の反応および TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子（GM-CSF）、ケラチノサイト由来ケモカイン（KC）、マクロファージ炎症性タンパク質-1 $\alpha$ （MIP-1 $\alpha$ ）、単球走化性タンパク質-1（MCP-1）などの炎症性サイトカインおよびケモカインの誘発を低下させることを認めた。しかし、これらに伴うウイルス量への効果はわずかであり、有意ではなかった。これらの所見に基づき、Wong らはオセルタミビルに内在する抗炎症作用について考察している[53]。

ザナミビルやラニナミビル、ペラミビルでは、致死量のインフルエンザウイルスを用いた感染モデルの動物試験のみが入手可能であり、非致死量のインフルエンザウイルスを用いた軽症感染モデルの動物試験は行われていない。

### 免疫細胞への阻害作用を示すインビトロの所見

健康な成人の全血から得た末梢 T リンパ球を、インフルエンザウイルスで前感作した抗原提示細胞（APC）とともに培養し、その増殖能力をオセルタミビル・カルボキシレートありの場合となしの場合で比較検討した。T リンパ球の増殖は、オセルタミビル・カルボキシレート 1  $\mu$ M および 10  $\mu$ M とともに培養された際、対照群と比較して、それぞれ 15% および 20% 抑制された[29]。オセルタミビル・カルボキシレート（OC）1  $\mu$ M の濃度は、OC のヒト臨床濃度と一致する[29, 30]。医薬品医療機器総合機構（PMDA）（による審査報告書）も承認審査概要（SBA）も、これらの知見を報告した公表論文を参考文献としてあげていない[29, 30]。また、これらのデータを示す公表論文を、見つけることができなかった。

### 遅発型反応の機序

#### 遅発型・遷延型の精神症状およびその他の神経症状

急性の行動変化（異常行動）および死亡につながる呼吸抑制など、使用後極めて初期に発現する精神症状や神経症状は、未変化体リン酸オセルタミビル（OP）の中枢神経系（CNS）への作用に基づくと考えられる。もしも OP が NMDA 受容体に対して親和性があり[31, 54,

55]、そして長期間にわたり使用された場合には、オセルタミビルの予防 RCT[9, 43]が示すように、突発型反応と同様の機序でヒトに、統合失調症様の反応を引き起こす可能性があるという。

精神病、昏迷、攻撃性的のように治療の後半に長期間にわたって発現し、予防の RCT で頻繁にみられた症状（「その他の害作用（肺炎、喘鳴、胃出血、その他）」の項を参照）も、オセルタミビル・カルボキシレート（OC）の CNS への作用にもとづくと考えられる。四肢の痛み[9]もこれら両方の機序によって誘発される可能性がある。

Izumi らは、オセルタミビル（50 mg/kg、腹腔内投与）をラットに全身投与すると、エタノール注入後に正向反射の消失時間が有意に変化したと報告した。オセルタミビル使用時にエタノールを注入すると、低体温症も増強された[56]。Izumi らは、オセルタミビルと他の神経刺激剤を併用すると、シナプスの可塑性を変化させ、これら薬剤に関連する行動変化の一因となりうるとしている[57]。

「心疾患：徐脈および QT 間隔の延長」の項で述べたとおり、QT 間隔の延長はオセルタミビル・カルボキシレートの血中濃度と密接に関連している。

これらの点を考慮すると、オセルタミビル・カルボキシレートがニューロンおよび心筋の細胞の興奮性に直接的に変化をもたらす可能性があると考えられる。しかし、この変化が宿主のノイラミニダーゼ阻害によるのか、他の受容体または酵素に対する作用など、その他の機序によるのかは不明である。Lindeman ら[58]が調べた受容体または酵素のうち、用量依存的な増加の可能性がある受容体または酵素を表 2 に示した。

表 2: 気分、認知能、行動に強く関係する標的分子に対する OP および OC の結合アッセイと機能的アッセイの結果（データは文献 [58] から抜粋）

標的分子(受容体など)/アッセイ方法	阻害(対照に対する%) OT濃度		阻害(対照に対する%) OC濃度	
	3 $\mu$ M	30 $\mu$ M	3 $\mu$ M	30 $\mu$ M
アデニンA受容体	8	13	15	27
L-型カルシウムチャンネル(ジルチアゼム部位)	14	41	10	9
ナトリウムチャンネル(部位2)	11	38	n.i.d.	9
NMDA型グルタミン酸受容体(PCP)	14	23	21	12
AMPA-型グルタミン酸受容体	4	17	n.i.d.	n.i.d.
NMDAR(ストリキニーネinsens)上のグリシン-部位	n.i.d.	n.i.d.	1	24
カイニン酸型グルタミン酸受容体	n.i.d.	14	10	10
ムスカリン受容体M <sub>4</sub>	n.i.d.	n.i.d.	1	10
ニューロペプチドY受容体Y <sub>1</sub>	8	6	n.i.d.	11
セブチン受容体	9	8	8	16
ノルエピネフリン輸送体	n.i.d.	n.i.d.	5	11
ニコチン性アセチルコリン受容体( $\alpha_4\beta_3$ , BGTx insens.)	5	n.i.d.	n.i.d.	11
hERGカリウムチャンネル(Kv11.1)	n.i.d.	17	8	16
シグマ受容体(非選択的)	9	34	n.i.d.	3
GABA輸送体	15	15	n.i.d.	17
セロトニン5-HT <sub>2A</sub> 受容体	3	2	2	8
セロトニン5-HT <sub>4e</sub> 受容体	10	18	15	12
ケモカイン受容体1(CD191)	3	2	2	8
ケモカイン受容体3(CD193)	10	18	15	12
CXCケモカイン受容体2(IL-8B)	1	2	11	16

データは文献 [58] から抜粋。n.i.d.: 抑制検出せず。BGTx:  $\alpha$ -ブンガロトキシン。検査された OP と OC の最大濃度が 30 $\mu$ M であったことに注意すべきである。下線を付けた分子への結合は、用量依存性が否定できない。アッセイ方法（分析方法）

Lindeman らは、(ニコチン性アセチルコリン受容体  $\alpha_4\beta_3$  や)、MAO-A など、臨床的に重要な標的分子 155 個のパネルで薬理活性を検討した結果、オセルタミビルとオセルタミビル・カルボキシレートは、活性を示さなかったと報告した。

一方、Muraki ら[55]は、オセルタミビルが直接的にヒトニューロンのニコチン性アセチルコリン受容体 ( $\alpha_3\beta_4$ ) を遮断するが、オセルタミビル・カルボキシレートは遮断しないことを示した。

Hiasa ら[59]は、オセルタミビルがヒトの MAO-A を競合的および選択的に阻害するが、オセルタミビル・カルボキシレートは阻害しないことを発見した。Hiasa らは論文で、Ki 値が 25~28  $\mu\text{M}$  と推定し、IC<sub>50</sub> は 50~100  $\mu\text{M}$  であったという結果を報告している。

Lindeman らと Muraki らまたは Hiasa らの研究の結果の違いは、使用した分析 (assay) 方法 (あるいは、受容体のサブタイプ) が異なるからかもしれない。

したがって、オセルタミビル・カルボキシレートが特異的に作用する標的受容体または酵素が存在する可能性があると言える。

### 抗原産生低下、免疫抑制、再感染

抗原産生の低下[32-34]は、様々な免疫細胞で宿主のノイラミニダーゼが阻害され、GM1 ガングリオシドの発現が低下し、サイトカイン誘導が低下するのと同じ機序が働いた結果と考えられる[44-47]。これらの所見は、特定の用量のオセルタミビルおよびザナミビルが、ヒトおよびその他の動物で抗体産生を低下させるという事実と一致している。

Marois ら[47]は、オセルタミビル (5 mg/kg または 50 mg/kg、1 日 2 回、EC<sub>50</sub> 49 nM インビトロ) を投与したマウスの肺で、インフルエンザ特異的 CD<sup>+</sup>エフェクター T 細胞の動員が、生理食塩液対照群と比べて、81%低下した (約 5 分の 1 になった) ことを示した。また、Marois らは、オセルタミビルを投与すると、生理食塩液対照群と比べて、組織常在性ならびに、血中循環中のエフェクターの記憶プール (pools of tissue-resident and circulating effector memory) を 93.7%、中枢性記憶 CD8<sup>+</sup>T 細胞のプールを 45%、低下させることを証明した。さまざまな病原体による二次感染を受けた際、記憶 CD8<sup>+</sup>T 細胞のプールの減少と、リンパ節における二次性インフルエンザ特異的エフェクター (secondary influenza-specific effector) の産生の低下によって、CD8<sup>+</sup>T 細胞の記憶を取り戻す反応が 10 分の 1 に低下し、マウスの罹患率が増加し、ウイルス消失を遅延させた。さらに、Marois らは、抗ウイルス剤の投与により、機能的抗インフルエンザ抗体の産生を 5.7 分の 1 に、有意に低下させたと述べている。Marois らは、オセルタミビル投与は、マウスモデルでのマウス適合インフルエンザ (PR8; H1N1) の感染の際に、自然免疫、獲得免疫、および免疫記憶の動態やその程度、性質に影響を与える、とまとめている。Marois らは、感染者へのオセルタミビル使用は、再感染を防御する免疫の産生を低下させるため、病気の発生につながる可能性がある」と指摘した[47]。

次シーズン[33]または同一シーズン中[38, 39]に再感染したというエビデンスは、免疫系統に対する両ノイラミニダーゼ阻害剤（オセルタミビルとザナミビル）の害作用を証明するものである。

また、これらの結果は、動物モデル[49, 53]、ヒトインフルエンザの実験的ランダム化比較試験[25]、免疫細胞への阻害作用を示すインビトロの所見[29]から得られた、オセルタミビルの作用機序のエビデンスと一致している。

### その他の害反応：腎障害、代謝障害、心疾患、遷延型の精神障害、出血性疾患、肺炎等

哺乳動物の細胞では、4種類のシアリダーゼ（ノイラミニダーゼ）が確認されている。その4種類は、細胞内局在によってリソソームシアリダーゼ（NEU1）、細胞質シアリダーゼ（NEU2）、細胞膜シアリダーゼ（NEU3）、ミトコンドリアシアリダーゼ（NEU4）に分類されている[60, 61]。

肝臓の NEU3 は、ガングリオシドの構成を変化させ、ペルオキシソーム増殖活性化受容体ガンマ（PPAR- $\gamma$ ）のシグナル伝達を介することでインスリン感受性および耐糖能に関連しているようである[62]。

インフルエンザウイルスを阻害する用量のオセルタミビルを臨床で使用すると、免疫細胞[44-47]、侵害受容性ニューロン[48]、インスリンやペルオキシソーム増殖活性化受容体ガンマ（PPAR- $\gamma$ ）のシグナル伝達[62]、おそらく腎臓、肝臓、心臓または中枢神経系のその他の重要な細胞を含め、様々な細胞で GM1 レベルが低下し、これらに対する影響が追加されうる。

これらの報告から得られるエビデンスから、オセルタミビル・カルボキシレートによって、ヒトの内因性シアリダーゼ（ノイラミニダーゼ）活性が低下すると、ノイラミニダーゼ阻害剤誘発性の遅発型害反応が生じるといえる。これら遅発型害反応には、抗体および炎症性サイトカイン誘発の阻害だけでなく、遷延型の精神神経反応、高血糖、腎障害、肝障害、肺炎、インフルエンザの再感染など感染の悪化、胃腸管出血なども含まれる。

### オセルタミビルと他のノイラミニダーゼ阻害剤で遅発型反応に違いはあるか

たとえ用量が 20 mg を 1 日 2 回、5 日間でも経口服用したリン酸オセルタミビルは、宿主の内因性ノイラミニダーゼに作用し、免疫反応を低下させるに十分なオセルタミビル・カルボキシレートの血中濃度が得られる[25]。しかし、吸入ザナミビルの生体利用率（バイオアベイラビリティ）は、吸入時と 30 分間かけて静注した場合の曲線下面積（AUC）から推定すると 11%であり、ピーク濃度（Cmax）はザナミビル静注の 3.1%であった[63]。日本のザナミビルの承認審査概要によると[64]、ザナミビル吸入の生体利用率は、約 9~72%（幾何平均=25%）であった。ザナミビルの生体利用率が低いことが、ザナミビルのシステマティックレビューで抗体上昇の低減がみられなかった主な原因と考えうる[9]。

しかし、ザナミビルも、高用量で用いられるか、長期間使用された場合、あるいは患者

の感受性が非常に高い場合には、吸入で用いられたとしても、免疫反応を低下させるほどの濃度に達することがある。実際に、20 mg/日のザナミビル吸入を14日間使用すると、H1N1に対する抗体価がプラセボ群と比べて、有意に減少した[36]。成人を対象にしてインフルエンザウイルス接種前に、極めて高用量(600 mg)のザナミビルを静注しておいたインフルエンザウイルス感染実験 RCT で、様々な炎症性サイトカインおよびケモカインのレベルはほぼ完全に抑制された[37]。

ラニナミビルによるサイトカイン誘発の抑制を検討した報告は、公表論文にも承認審査概要[65]にも見つけることができないが、致死量のインフルエンザウイルスに感染させた動物モデルにおいてペラミビルを投与すると、炎症性サイトカインの誘発が抑制されたことを示すいくつかの報告がある[49-51]。生存期間中央値の延長がこれらの動物で報告されたが、死亡率はほとんど100%であった。しかし、ラニナミビルのフェレット感染モデル実験では、生存期間中央値の延長は報告されていない[65]。さらに、インフルエンザウイルス接種の4時間後にラニナミビルを吸入投与したフェレットでは、溶媒対照群と比べて、72時間後における鼻洗浄液中のウイルス量がより多かった。一方、ラニナミビルを吸入群の鼻洗浄液中のウイルス量は、接種から24時間および48時間後では、対照群よりも少なかった[65]。

ラットを用いた動物実験で用いたザナミビルの最大用量(90 mg/kg 静注後に191 µg/mL)で得られた AUC[64]は、健康な男性成人の最大用量(30分かけて600 mg/kg 静注後に86.6 µg/mL)のわずか2.2倍であった[63]。毒性試験でのラニナミビル吸入の最大用量は、AUCに基づくと通常臨床用量の7.4倍にすぎない[65]。したがって、ザナミビルおよびラニナミビルの腎毒性を、既存の動物毒性試験を用いて検出することは困難であろう。

日本の承認審査概要によると[66]、腎臓がペラミビルの毒性標的臓器である。ウサギでのペラミビルの腎毒性のNOAELは、100 mg/kgであり、HED(換算係数3.1)では32 mg/kgまたはペラミビルの最大臨床用量(600 mg/50 kg)の2.7倍であった。腎毒性の安全域は、ウサギの経口毒性試験での単回投与および反復投与のAUCをもとにして求めると、3.0および2.1であると推定される[66]。毒性の早期の兆候を検出するためには、感受性の高い動物を用いることが非常に重要である[67]。例えば、カナリアは、一酸化炭素の濃度の上昇を検出するために、鉱山労働者に利用されていた[68]。

抗体産生の阻害作用が、オセルタミビルおよびザナミビルについて報告されている。サイトカインまたはケモカインに対する阻害作用は、オセルタミビル、ザナミビル、ペラミビルで報告されている。腎毒性は、オセルタミビルおよびペラミビルで報告されている。一方で、ガングリオシド GM1 への作用を含むその他の細胞および細胞機能に対する毒性は、オセルタミビル以外では検討されていない。

これらの知見に基づけば、ノイラミニダーゼ阻害剤は一般に(どの薬剤も)、宿主の内因性ノイラミニダーゼに対する阻害剤として作用することによって、オセルタミビルにおいて示されたような、遅発型の様々な反応を誘発しうると言える。

## 要約およびまとめ

ノイラミニダーゼ阻害剤 (NI) は、インフルエンザウイルスのノイラミニダーゼを阻害することでインフルエンザの症状を緩和すると、一般的に信じられている。しかし、臨床用量相当量のオセルタミビルを、ノイラミニダーゼを持たない RS ウイルスに感染させたマウスに投与すると症状が緩和する。この現象の発生機序は、宿主の内因性ノイラミニダーゼが阻害され、免疫細胞の GM1 ガングリオシドが減少したためであると説明することができる。この結果、IL-6 やインターフェロン、TNF- $\alpha$  などの炎症性サイトカインの誘導が低下する。ウイルス量が有意に減少することなく、症状が緩和するのは、このような機序が密接に関連しているであろう。また、同じ機序によって、インフルエンザに特異的な分泌型 IgA 抗体および血漿中 HI 抗体の産生が低下することになり、さらには、同一シーズンまたは次シーズンのインフルエンザへの再感染が引き起こされる原因となると考えられる。

精神病など精神症状、腎臓、代謝（高血糖あるいは糖尿病）、および心疾患系の反応（QT 間隔の延長）など遅発型・遷延型の反応の機序は、宿主の内因性ノイラミニダーゼの阻害に関連しているであろう。

## 利益相反の開示

浜六郎 (HR) は英国健康科学研究資金 (健全な成人と小児インフルエンザの予防のためのノイラミニダーゼ阻害剤に関する 2 件の合同研究チーム : HTA 10/80/01、Update : [www.nets.nihr.ac.uk/projects/hta/108001](http://www.nets.nihr.ac.uk/projects/hta/108001)) の共同受領者の一人であった。HR は、オセルタミビルと解熱剤の害に関する 2 冊の本 (2008 年出版) の著者である。HR は、PMDA (医薬品医療機器総合機構) に対して救済を求めたオセルタミビルの害反応の被害者 (14 家族) について、専門家としての意見書を書き、さらには、PMDA の決定取り消しを求める裁判において意見書書き、証言をした。大部分の症例は文献[6]で記載している。

## 参考文献 :

英文原本を参照ください。