

の酸性領域と塩基性領域)がある。

非変性条件下の試料をSECで分離したところ、高分子量の凝集体、二量体、単量体及びペバシズマブ低分子量の複数ピークの存在が確認された。また、SECで分離した低分子量の複数ピークをESI-MSにより解析した結果、複数のペバシズマブ切断体が確認された。SEC上メインピークと重なる#類縁物質Cを除く切断体(#類縁物質D、#類縁物質E、#類縁物質A)の含量は■%以下であった。凝集体には、解離性非■が存在し、それらは#類縁物質F又は#類縁物質Gからなり、原液(■mg/mL)では#類縁物質F及び#類縁物質Gの総量を、原液の■倍希釈液(■mg/mL)では主に#類縁物質G量を評価している。原液の希釈により凝集体の量は異なるが、単量体とそれぞれの凝集体が互いに平衡状態にある。いずれの凝集体も二量体、三量体、高分子量体からなり、二量体が主な成分であるが、#類縁物質Fの含量は、■、■、■、■の影響を受ける。一方、#類縁物質Fと比較して#類縁物質Gはこれらの影響をほとんど受けない。切断体、#類縁物質F及び#類縁物質Gについて、規格試験に設定されている。

電荷の異なる不純物はIECで評価された。IECの酸性領域には切断体(#類縁物質E、#類縁物質A)、#類縁物質H、#類縁物質I及び#類縁物質Jが、塩基性領域には#類縁物質K、#類縁物質L、#類縁物質Mが含まれることが確認された。塩基領域及び酸性領域の比活性はそれぞれ■%、■%であったことから、各領域が規格試験に設定されている。

製造工程由来の不純物を評価するため、UF/DF希釈プールを用いて細胞基材由来不純物(CHOタンパク質、DNA)、培養工程由来不純物(ゲンタマイシン、MTX、インスリン)、精製工程由来不純物(#培地成分F、#培地成分B、#培地成分G)及び残留溶媒の測定が、アフィニティープールを用いて#培地成分A及びプロテインAの測定がなされた。これらのプロセス・バリデーションの結果、製造工程由来の不純物は除去されていることが確認された。

(3) 規格及び試験方法

原薬の規格及び試験方法として、性状、確認試験(ペプチドマップ)、浸透圧、pH、純度試験(CE-SDS、IEC、SEC)、エンドトキシン(比色法又はゲル化法)、PS20、定量(タンパク質定量法)、力価(HUVEC増殖阻害活性)が設定されている。

(4) 原薬の安定性

12,000Lの実生産スケールで製造した原薬4ロットを、実生産で使用する120Lステンレス製タンクに保存し(Lot No. #A)、 -20 ± 5 で累積34カ月間(1031日間) 5 ± 3 で累積70日間、計5回の凍結/融解サイクルを繰り返した試料(120Lステンレス製タンクにおける長期保存試験)、55mLステンレス製タンク(Lot No. #B、#C及び#D)で -20 ± 5 、24カ月間保存(55mLステンレス製タンクにおける長期保存試験)又は 5 ± 3 、90日間保存した試料(加速試験)が用いられた。安定性の評価としては、性状、pH、定量、純度試験(CE-SDS、IEC、SEC)、力価(HUVEC増殖阻害活性)が実施された。

55mL及び120Lの長期保存試験の結果、いずれのロットも試験開始時と比較して変化は認められなかった。

加速試験の結果、IECにおいて3ロットともに試験開始時と比較して主ピークが減少し、それに伴い酸性領域及び塩基性領域のピークが増加する傾向が認められたものの、他の試験

新薬承認情報提供時に置き換えた

項目について、変化は認められなかった。

以上の結果から、原薬の保存期間はステンレス製可動式凍結融解タンクで -20 ± 5 で保存した場合、24 カ月とされた。

3) 製剤

(1) 製剤設計

製剤は、有効成分であるベバシズマブを1バイアルあたり25mg/mL充填した液体製剤で、種々の検討の結果(「2. 品質に関する資料1」)(6)製造工程の開発の経緯(同等性/同質性)の項参照) 等張化剤として60mg/mLトレハロース、緩衝剤として51mmol/Lリン酸ナトリウム緩衝液(pH6.2) 安定剤として0.04w/v% PS20 が選択されている。緩衝剤であるリン酸ナトリウムの組成は、リン酸二水素ナトリウム一水和物及び無水リン酸一水素ナトリウムである。なお、過量仕込みはされていない。

(2) 製剤化工程

原薬(等張化剤、緩衝剤、安定剤は原薬製造時に添加済み(「2. 品質に関する資料1」)(4)精製工程)の項参照))を融解後、ポアサイズ0.22 μ m 製フィルターで無菌ろ過し、これを無色ガラスバイアルに充填して、洗浄滅菌済みブチルゴム栓で打栓後、アルミニウムキャップを被せ巻き締めする。なお、工程及び工程が重要工程とされ、の工程内管理試験としてが、工程ではが設定されている。また、巻き締めを行った全数に対して目視検査が設定されている。

(3) 規格及び試験方法

製剤の規格及び試験方法として、性状、確認試験、キャピラリーゾーン電気泳動(CZE)、浸透圧、pH、純度試験(IEC及びSEC)、エンドトキシン、採取容量、不溶性異物、不溶性微粒子、無菌試験、定量及び力価が設定されている。

(4) 製剤の安定性

長期保存試験(2~8、24カ月)は、100mg/4mL製剤6ロット(Lot No. #E、#F、#G、#H、#I及び#J)、400mg/16mL製剤1ロット(Lot No. #K)、1,000mg/40mL製剤4ロット(Lot No. #L、#M、#N及び#O)を用いて実施され、性状、pH、不溶性微粒子、定量、純度試験(CE-SDS、IEC、SEC)、力価、容器の気密性の測定がなされた(測定項目は製剤に関する安定性試験で共通)。400mg/16mL製剤の検討は1ロットのみで実施されたが、その有効期間は、ICH-Q5C(平成10年1月6日医薬審第6号「生物薬品(バイオテクノロジー応用製品/生物起源由来製品)の安定性試験について」のブラケット法を適用し、100mg/4mL及び1,000mg/40mL製剤で得られた安定性試験データを基に設定された。

100mg/4mL製剤では、IECの主ピークの減少と、それに伴う酸性領域及び塩基性領域のピークの増加傾向が認められた。また、5回の再ろ過を実施した原薬(Lot No. #P)を用いて製造した製剤(Lot No. #G)の安定性も、18カ月までの結果ではあるものの、再ろ過を実施していない原薬から製造した製剤と同様であった。400mg製剤及び1,000mg製剤の測定結果も100mg製剤と同様であった。

加速試験(28~35、3カ月)は、100mg/4mL製剤5ロット、400mg/16mL製剤1ロット、及び1,000mg/40mL製剤3ロットを用いて行われた。すべての容れ目においてIEC

新薬承認情報提供時に置き換えた

での主ピークの減少とそれに伴う酸性領域及び塩基性領域のピークの増加、SEC 単量体ピークの減少並びに力価の減少が認められ、バイアルサイズ(100mg/4mL 製剤、400mg/16mL 製剤、1,000mg/40mL 製剤それぞれ 5mL、20mL、50mL 容量のバイアル)及び充填量によって安定性に差は生じないとされた。

苛酷試験は、輸送時に想定される保存条件への暴露及び光安定性について検討が行われた。輸送時に想定される保存条件に対する影響は、100mg/4mL 及び 400mg/16mL 製剤を 2~8 で 3~4 カ月、28~35 で 15 日間(1日振とう)、38~42 で 1日、-90~-50 で 3日保存したのち更に 2~8 で 24 カ月保存した結果、IEC での主ピークの減少と、それに伴う酸性領域及び塩基性領域のピークの増加、SEC 単量体ピークの減少並びに力価の減少が認められた。光安定性はラベル貼付前の 100mg/4mL、400mg/16mL 及び 1,000mg/40mL 製剤を用いて行われ、総照度 128 万 lux・h 及び総近紫外放射エネルギー 522 万 W・h/m² で光照射したとき、CE-SDS のパターンが標準物質と異なったこと、IEC での主ピークの減少と、それに伴う酸性領域及び塩基性領域のピークの増加が認められたこと、SEC での凝集体の増加及び単量体ピークの減少が認められたこと、力価は照射後に測定不能となったことから、強い光への長期間暴露は避けるべきとされた。

以上の結果から、製剤の有効期間は、遮光、2~8 で保存するとき 24 カ月、輸送温度は遮光、2~8 とされた。

上記の試験に加え、本薬は点滴静注するために希釈液に混合後、静注用バッグから静脈内投与されることから、想定される希釈液として生理食塩液及び 5w/v%ブドウ糖溶液、静注用バッグとして塩化ビニル製又はポリオレフィン製を用いたときの影響について検討がなされた。

生理食塩液との適合性の検討は、本薬と生理食塩液を混合し、ベバシズマブ濃度を ■■■ mg/mL 及び ■■■ mg/mL に調製後、Baxter 社製 100mL の Vialflex 静注用バッグを使用し、2~8 及び 30 で 48 時間後の安定性を評価した結果、ベバシズマブ濃度、pH、IEC、SEC 及び力価に変化は認められなかった。

5w/v%ブドウ糖溶液との適合性については、本薬と 5w/v%ブドウ糖溶液を混合し、ベバシズマブ濃度を約 ■■■ mg/mL 及び約 ■■■ mg/mL に調製後、Baxter 社製 100mL の Vialflex 静注用バッグを使用し、2~8 及び 30 で 48 時間後の安定性を評価した結果、30 保存の低濃度試料(■■■ mg/mL)において IEC の主ピークの割合が低下した。

また、塩化ビニル製及びポリオレフィン製の静注用バッグとの適合性を評価するために、塩化ビニル製及びポリオレフィン製の静注用バッグに生理食塩液を注入し、ベバシズマブ濃度が約 ■■■ mg/mL、約 ■■■ mg/mL 及び約 ■■■ mg/mL になるよう調製後、30 保存下での安定性を評価した結果、ベバシズマブ濃度、pH、IEC、SEC 及び力価に変化は認められなかった。

以上の結果より、生理食塩液及び静注用バッグとの相互作用は認められないことが確認された。また、添付文書の適用上の注意の項に、調製時には、日局生理食塩液以外は使用しないこと、本薬とブドウ糖溶液との混合時には、力価の低下が生じる恐れがあるため、本薬をブドウ糖溶液とは混合しないこと、及びブドウ糖を含む点滴液と同一の経路から注入をしないこととされている。

4) 標準物質

開発初期の標準物質として、細胞株 107N を用いて ■■■ L 生産スケール製造された原薬

3ロット(Lot No. #Q、#R 及び #S)から製造された antivegf898-1 が用いられた。これは ■mg/mL ベバシズマブ以外に ■mmol/L リン酸ナトリウム(pH■) ■mg/mL トレハロース及び ■w/v%■ を含み、■ ~ ■ で保存されていた。また、現行の標準物質は、細胞株 G7 を用いて 12,000L 生産スケールで製造された原薬 2 ロット(Lot No. #T 及び #A)から製造された antivegf801-2 が用いられた。これは ■mg/mL ベバシズマブ以外に、■mmol/L ■ (pH■) ■mg/mL トレハロース及び ■w/v%■ を含み、■ ~ ■ で保存されている。Antivegf801-2 は、性状、確認試験(CZE、ペプチドマップ)、純度試験(CE-SDS、IEC、SEC)、力価、定量(タンパク質量)、PS20、浸透圧について確認がなされている。なお、現行標準物質 antivegf801-2 は初代標準物質である antivegf898-1 との比較で ■量の減少が認められたが、その他の項目について違いはなかった。

標準物質の更新時の規格及び試験方法として、性状、確認試験(CZE、ペプチドマップ)、浸透圧、pH、純度試験(CE-SDS、IEC、SEC)、PS20、定量(タンパク質量)、力価が設定されており、確認試験(CZE、ペプチドマップ)、純度試験(CE-SDS)は更新前の現行標準物質との比較を行うとされている。

提出された品質に関する資料について、機構における審査の概要は審査報告(2)に記載する。

3. 非臨床試験に関する資料

非臨床試験に関する資料として、米国 Genentech 社によって実施された薬理試験、薬物動態試験及び毒性試験成績が提出された。

3.1 薬理試験に関する資料

<提出された資料の概略>

効力を裏付ける試験として22の報告書(評価資料として8報告書、参考資料として14報告書)及び薬力学的薬物相互作用試験として五つの報告書(すべて参考資料)が提出された。

1) 効力を裏付ける試験

(1) マウスモノクローナル抗体muMAb A4.6.1の特性解析 (Growth Factors 7: 53-64, 1992)

抗原刺激性キャリアータンパクのスカシガイ由来ヘモシアニンと結合させた遺伝子組換えヒトVEGF₁₆₅をマウスに免疫した。マウスから採取した脾臓細胞とマウス骨髄腫由来細胞P3X63Ag8U.1とのハイブリドーマを作成し、これら多クローンが産生するマウス抗ヒトVEGF抗体の中から、ヒトVEGFアイソフォームに対する結合活性、ヒトVEGFに対する結合特異性、VEGFで誘発される血管内皮細胞の増殖抑制活性に関する検討結果を踏まえ、IgG1タイプのmuMAb A4.6.1が選択された。検討した四つの候補抗体のうちmuMAb A4.6.1の結果を以下に示す。

免疫沈降法を用いてmuMAb A4.6.1の抗原特異性が検討された。muMAb A4.6.1はヒトVEGFの主なアイソフォームであるVEGF₁₂₁、VEGF₁₆₅及びVEGF₁₈₉のいずれも認識したが、検討した他の増殖因子(PDGF、EGF、酸性FGF、NGF及びHGF)には結合活性を示さなかった。また、muMAb A4.6.1は、ヒトVEGFに誘発されるウシ副腎皮質血管内皮細胞の増殖を抑制した。

新薬承認情報提供時に置き換えた

VEGFで惹起される血管透過性亢進に対するmuMAb A4.6.1の阻害作用を検討する目的で、エバンスブルー色素前処置モルモットにヒトVEGF₁₆₅とmuMAb A4.6.1を事前に反応させた混合液を皮下投与した。ヒトVEGF₁₆₅ 20ng/siteにより惹起した色素の皮下漏出はモル比で10倍量のmuMAb A4.6.1で完全に阻害された。

VEGFによる血管新生に対するmuMAb A4.6.1の阻害作用を検討する目的で、VEGF₁₆₅とmuMAb A4.6.1を含むメチルセルロースディスクをニワトリ胚の漿尿膜上に設置し、周辺部の血管新生を観察した。その結果、ヒトVEGF₁₆₅ 400ngによる血管新生はmuMAb A4.6.1 16μg（モル比でVEGF₁₆₅の10倍量）により阻害された。

(2) 本薬の特性解析 (Cancer Res 57: 4593-9, 1997 (参考資料)、■-0348-1753試験、1756-582-RPT-1_0試験)

muMAb A4.6.1産生株の抗体遺伝子のcDNAを作製し、6つの相補性決定領域が決定された。次に、この相補性決定領域をヒトκサブグループ 軽鎖 (VL-CL) 及びヒトγ1サブグループ (IgG1) 重鎖 (VH-CH1) の相補性決定領域部分に導入し、ヒト化Fabフラグメント遺伝子が作製された。その後、VEGFへの結合能を高めるため、相補性決定領域外のアミノ酸残基の置換が行われるよう塩基配列が改変され、ヒト化フラグメントFab-12が作製された。このFab-12のVH及びVLドメインにヒトIgG1重鎖定常領域CH1-CH2-CH3及びヒトκ軽鎖定常領域CLを結合し、ヒト化抗体であるペバシズマブ遺伝子が作製された。この組換え体を導入したCHO細胞より本薬は産生される（「2. 品質に関する資料」の項参照）。

本薬とmuMAb A4.6.1の抗VEGF活性を比較するため、ウシ副腎皮質血管内皮細胞をヒトVEGF₁₆₅ 3ng/mL及び各抗体存在下で培養し、培養後の細胞数より各抗体の増殖阻害活性 (IC₅₀) が算出された。その結果、本薬及びmuMAb A4.6.1のIC₅₀は、それぞれ50及び48ng/mLであった (Cancer Res 57: 4593-9, 1997)。また、ヒト臍帯静脈内皮細胞をヒトVEGF₁₆₅ 30ng/mL及び各抗体の存在下で培養し、培養後の細胞数より算出された本薬及びmuMAb A4.6.1のIC₅₀は、それぞれ0.89及び0.61nmol/Lであった (■-0348-1753試験)。

*in vivo*における本薬とmuMAb A4.6.1の腫瘍増殖抑制活性を比較するため、ヌードマウス (1群10匹) にヒト横紋筋肉腫由来A673細胞を移植し、移植翌日から本薬又はmuMAb A4.6.1 (各々0.5及び5mg/kg) を週2回腹腔内投与し、移植4週間後の腫瘍重量が検討された。本薬0.5及び5mg/kg群の腫瘍重量は対照群に対しそれぞれ90%及び95%抑制され、muMAb A4.6.1の0.5及び5mg/kg群では、対照群に対しそれぞれ85%及び93%抑制された (Cancer Res 57: 4593-9, 1997)。

主なヒトVEGFアイソフォームに対する本薬の阻害作用を検討する目的で、ヒト臍帯静脈内皮細胞をヒトVEGF₁₆₅、VEGF₁₂₁又はVEGF₁₁₀ 各10ng/mL及び本薬存在下で4日間培養した後、生細胞数より各アイソフォームに対する増殖阻害活性が検討された。その結果、VEGF₁₆₅、VEGF₁₂₁及びVEGF₁₁₀による増殖反応に対する本薬のIC₅₀は、それぞれ60、86及び32ng/mLであった (1756-582-RPT-1_0試験)。

(3) 種特異性について (■-0317-1753試験、■-0318-1753試験)

Biacore (表面プラズモン共鳴分析法) を用いて、ヒトVEGF₁₆₅、ウサギVEGF及びマウスVEGFに対する本薬の結合親和性が検討された。ヒトVEGF₁₆₅及びウサギVEGFに対する解離定数 (K_d値) は、それぞれ1.1 ± 0.8及び8.0 ± 5.1nmol/Lであった。一方、マウスVEGFについては、本薬650nmol/Lにおいても選択的な結合活性は検出されなかった。

(4) 本薬Fabフラグメント - VEGF複合体の結晶構造解析 (Structure 6: 1153-67, 1998)

本薬とヒトVEGFとの結合に重要なVEGFアミノ酸残基を特定するため、両者の接合面において接触しているアミノ酸残基のアラニンスキャニング解析を行った。その結果、本薬分子中でVEGFとの結合にかかわる境界面は25アミノ酸残基で形成され、このうち直接結合にかかわっている8残基を各々アラニンで置換すると結合能は1/150以下になった。また、VEGF分子中で本薬のFabフラグメントとの結合には19アミノ酸残基がかかわっているが、このうち、VEGF分子の中心部を形成している4本鎖βシートのβ5-β6内に局在する6残基 (Met⁸¹、Arg⁸²、Ile⁸³、Gly⁸⁸、Gln⁸⁹及びGly⁹²) を各々アラニン置換すると結合能は1/22 ~ 1/107になった。VEGF分子で本薬との結合にかかわる19アミノ酸残基は、VEGF受容体 (VEGFR-1及び-2) に結合するために重要なアミノ酸残基と一致していないものの、19残基の一部は受容体結合面に位置しているアミノ酸残基であることから、本薬と結合したVEGFは受容体との相互作用が立体的に障害されると考察されている。なお、VEGFR-1及び-2以外のVEGFファミリー受容体に対するVEGF及び本薬 - VEGF複合体の各々の結合能について、申請者に確認中である。

(5) 横紋筋肉腫、多形性神経膠芽腫及び平滑筋肉腫由来細胞の増殖に及ぼす影響 (Nature 362: 841-4, 1993)

ベージュヌードマウス (1群10例) の皮下にヒト横紋筋肉腫由来A673、多形性神経膠芽腫由来G55及び平滑筋肉腫由来SK-LMS-1細胞を各々 1×10^6 個移植し、muMAb A4.6.1 10 ~ 400 μ g/マウスを週2回腹腔内投与し、その後A673及びG55細胞移植マウスでは投与開始後4週目の、SK-LMS-1細胞移植マウスでは投与開始後10週目の腫瘍重量を測定し、腫瘍増殖抑制効果が検討された。A673及びG55細胞移植マウスにおいて、muMAb A4.6.1の腫瘍増殖抑制は10 μ g/マウスの投与量から認められ、100 μ g群の投与開始4週後の腫瘍重量はそれぞれ対照に比して96及び80%抑制された。また、SK-LMS-1細胞移植マウスでは、100 μ g群の腫瘍重量は70%抑制した。A673細胞移植マウスにおいて、移植した腫瘍周辺部位の血管密度を抗Factor 関連抗体を用いた免疫組織染色により計測した結果、muMAb A4.6.1群の腫瘍組織の血管密度は、対照群と比較して減少した。

一方、*in vitro*の細胞培養下においては、A673、G55及びSK-LMS-1細胞はVEGFを培養液中に放出するものの、培養液中へのmuMAb A4.6.1 0.2 ~ 20 μ g/mLの添加は細胞増殖への影響は与えず、VEGF 0.5 ~ 20ng/mLも細胞増殖に影響を及ぼさなかった。

以上の結果より、*in vivo*で観察されたmuMAb A4.6.1の細胞増殖抑制は、直接的な増殖抑制作用又はmuMAb A4.6.1によるVEGFのオートクリン作用の阻害ではなく、腫瘍から産生される血管新生因子を阻害することによって腫瘍の増殖を抑制すると考察されている。

(6) 薬力学と薬物動態 (Toxicol Pathol 27: 14-21, 1999)

ベージュヌードマウス (1群24匹 (14匹は薬物動態評価のみに使用)) にヒト横紋筋肉腫由来A673細胞を 2×10^6 個皮下移植し、移植24時間後よりmuMAb A4.6.1 (0.05 ~ 5mg/kg) を週2回、4週間腹腔内投与し、muMAb A4.6.1の腫瘍増殖に及ぼす影響と血漿中muMAb A4.6.1濃度が検討された。各muMAb A4.6.1投与群のうち2.5mg/kg群の腫瘍増殖抑制は5mg/kg群と同様であった。2.5mg/kg群の平均血漿中muMAb A4.6.1濃度 (最終投与4日後の血漿中濃度と時間を基にした相補的指数関数より算出) は30.6 μ g/mL (範囲12.47 ~ 56.93 μ g/mL) であった。

(7) その他

ヒト結腸・直腸癌組織及びヒト結腸直腸癌由来細胞におけるVEGFとその受容体の発現状況、ヒト由来腫瘍細胞（結腸・直腸癌を含む）を移植したヌードマウスにおける、腫瘍の増殖や転移、腹水貯留、腫瘍組織の血管密度、血管平滑筋細胞数と血管径、血管平滑筋の分布、血管透過性、間質圧と局所酸素分圧に及ぼすmuMAb A4.6.1の影響について、以下の13の公表論文が参考資料として提出された。なお、Neoplasia 2: 306-14, 2000で用いられた抗VEGF抗体がmuMAb A4.6.1であるか否かは不明であると申請者は説明している。

J Clin Invest 95: 1789-97, 1995、Am J Pathol 153: 1249-56, 1998、J Pediatr Surg 38: 308-14, 2003、Neoplasia 2: 306-14, 2000、Prostate 35: 1-10, 1998、Cancer Res 56: 4032-9, 1996、J Urol 161: 960-3, 1999、J Pediatr Surg 35: 30-3, 2000、Proc Natl Acad Sci USA 93: 14765-70, 1996、Am J Obstet Gynecol 183: 956-63, 2000、J Magn Reson Imaging 15: 233-40, 2002、Cancer Invest 16: 225-30, 1998、Cancer Res 60: 5565-70, 2000

以上の試験成績（公表論文を含む）より、本薬とmuMAb A4.6.1の作用機序について申請者は、以下のように考察している。

muMAb A4.6.1と本薬は抗原結合部分のアミノ酸配列が共通であり、両抗体のVEGFに対する結合特性等が極めて類似していることから、両者の薬理活性は同等である。

本薬（又はmuMAb A4.6.1）は、ヒトVEGF（VEGF-A）と選択的に結合することにより（機構注：VEGF-A以外のVEGFファミリーに対する本薬又はmuMAb A4.6.1の結合活性については、申請者に確認中である。）、血管内皮細胞に発現しているVEGF受容体へのリガンドの結合を阻害する。これにより、VEGFによるシグナル伝達は遮断され、その結果、VEGFによる腫瘍組織での血管新生の抑制、並びに腫瘍組織で亢進している血管透過性の抑制をもたらし、腫瘍の増悪・転移を抑制する。

腫瘍組織では、本薬（又はmuMAb A4.6.1）がVEGFのシグナル伝達を阻害することにより、異常な脈管構造の形成が抑制され、正常な構造を有する血管の比率が増加する。VEGFシグナルの遮断に伴う脈管構造の正常化及び血管透過性の低減は、腫瘍組織において亢進した間質圧の低下にも寄与すると考えられる。

2) 副次的薬理試験

本薬はヒトVEGFのシグナル伝達阻害により、血管新生を阻害することから、薬理作用による骨端軟骨異形成、創傷治癒、雌生殖器系機能等への影響が認められている（「3.3 毒性試験に関する資料」の項参照）。

3) 安全性薬理試験

カニクイザルを用いた本薬の反復投与毒性試験において、中枢神経系、心血管系、呼吸器系及び腎臓系に対する作用が検討され、4、13及び26週間反復投与試験において、1回50mg/kg（週1回又は週2回投与）の投与量まで、一般状態・行動、直腸温、血圧、心電図、呼吸数及び尿検査（尿量、尿pH等）に対する影響は認められなかった（「3.3 毒性試験に関する資料」の項参照）。

4) 薬力学的薬物相互作用試験

パクリタキセル (PTX)、トポテカン、塩酸ドキシソルピシン (DXR)、ドセタキセル水和物又は放射線とmuMAb A4.6.1との併用効果について、腫瘍増殖、血管新生等を指標とした以下の五つの公表論文が参考資料として提出された。

Am J Pathol 161: 1917-24, 2002、Clin Cancer Res 8: 3226-31, 2002、J Pediatr Surg 36: 1177-81, 2001、Anticancer Res 19: 4203-14, 1999、Cancer Res 61: 3369-72, 2001

以上の公表文献で認められた本薬と他の抗悪性腫瘍薬との併用効果の機序について、申請者は以下のように考察している。

腫瘍組織の間質圧は高く、これが化学療法薬の組織移行性の障害と考えられている。muMAb A4.6.1はイリノテカン等の腫瘍組織への移行性を改善することが報告されており (Br J Cancer 88: 1979-86, 2003)、ヒト腫瘍移植マウスで認められているmuMAb A4.6.1投与による腫瘍間質圧の低下が、併用における作用機序の一つと考えられる。

<機構における審査の概要>

機構は、固形癌患者に対して本薬単独投与が行われた海外 AVF0737 試験、AVF0776g 試験及び AVF0775g 試験では奏効症例は各々0/23 例、5/75 例及び 0/15 例であり、臨床試験では本薬単独投与で腫瘍が縮小した症例の割合は低いものの、*in vivo* 薬理試験では VEGF 非産生腫瘍移植モデルを除いて本薬単独で腫瘍増殖抑制が認められており、本薬単独投与時の腫瘍増殖抑制の発現機序に関する申請者の考察は受け入れられると考える。

本薬と他の抗悪性腫瘍薬との併用効果については、muMAb A4.6.1 の腫瘍間質圧への影響が認められた試験と投与スケジュールが異なっており、また併用試験では間質圧は検討されていないことから、併用効果に本薬の間質圧への影響が寄与しているか否かは判断できないと考える。

機構は、提出された薬理試験成績について以下の検討を行った。

1) muMAb A4.6.1と本薬の薬物動態について

機構は、*in vivo*試験では主にmuMAb A4.6.1が用いられていたことから、ヒト化抗体である本薬とマウス抗体muMAb A4.6.1のマウスにおける薬物動態の違いについて説明を求め、申請者は以下のように説明した。

免疫不全マウスにおけるマウスIgG1の血中消失半減期 ($t_{1/2}$) は6.5日と報告されており (Cancer Res 52: 1916-23, 1992)、マウスモノクローナル抗体のmuMAb A4.6.1もマウスIgG1と同様の体内挙動を示すと考える。一方、本薬を非担癌免疫不全マウスに投与した時の $t_{1/2}$ は6.8~7.2日であり、本薬とmuMAb A4.6.1の免疫不全マウスにおける $t_{1/2}$ は同程度であると考える。また、本薬とmuMAb A4.6.1のクリアランスは、細網内皮系による取込みが主な経路と考えるが (Drug Discov Today 11:81-8,2006)、この経路を仲介するマウスFcRn に対して、ヒト及びマウスIgG1は同程度の親和性を示すと報告されていることから (Int Immunol 13: 1551-59, 2001)、マウスにおける両抗体の細網内皮系によるクリアランスは同等であると推測される。なお、*in vivo*において、本薬がヒト結腸・直腸癌の増殖を抑制することを、承認申請後に得られた以下の薬理試験成績 (申請者が実施したPHM-0173S 試験) において確認している。

ヌードマウス（1群5～6匹）にヒト大腸癌由来COLO205細胞、ヒト大腸癌由来CXF280腫瘍組織片及びヒト大腸癌株COL-16-JCK腫瘍組織片を各々5×10⁶個、約2mm角及び約2mm角皮下移植し、週2回、計6回腹腔内投与の用法における本薬の腫瘍増殖抑制効果が検討された。また、COL-16-JCK腫瘍組織片移植ヌードマウスにおいて、本薬（1回4.0mg/kg、週2回、計6回腹腔内投与）とカペシタピン（1回359又は180mg/kg（オキサリプラチン併用時）、1日1回14日間連日経口投与）及びオキサリプラチン（1回5mg/kg静脈内投与）との併用効果が検討された。以下に各結果を示す。

投与量 (mg/kg)	TGI (%)		
	COLO205	CXF280	COL-16-JCK
本薬 0.4	-	22	-
本薬 1.2	33	40	46
本薬 2.5	41	47	59
本薬 4.0	44	-	55

$$TGI = [1 - (\text{試験群の平均腫瘍体積}) \div (\text{薬剤未処置群の平均腫瘍体積})] \times 100$$

薬 剤	TGI (%)	薬 剤	TGI (%)
本薬	35	本薬	44
カペシタピン (359mg/kg)	52	カペシタピン (180mg/kg)	38
本薬/カペシタピン	80	オキサリプラチン	23
		カペシタピン/オキサリプラチン	70
		本薬/カペシタピン/オキサリプラチン	86

$$TGI = [1 - (\text{試験群の平均腫瘍体積}) \div (\text{薬剤未処置群の平均腫瘍体積})] \times 100$$

2) 使用動物種について

機構は、muMAb A4.6.1の種特異性はヒトVEGF₁₆₅、ウサギVEGF及びマウスVEGFで検討されているが、本薬の副次的薬理及び安全性薬理に用いられたカニクイザルVEGFに対する本薬の結合性について説明を求め、申請者は以下のように回答した。

ヒトとカニクイザルのVEGFのアミノ酸配列は一致しており（Invest Ophthalmol Vis Sci 37: 1334-40, 1996）、本薬との結合に關与するVEGF分子上のエピトープ（N末端から79～94番目のアミノ酸配列）はカニクイザルVEGFにおいても保存されていることから、本薬はカニクイザルVEGFにも結合すると考えられる。なお、ウサギVEGFに対する本薬の結合能はヒトより低く、さらに投与中に抗ペバシズマブ抗体が産生されることも考慮して試験条件を設定したが、ウサギで本薬の薬理作用に起因する所見が認められた曝露量より低い曝露量から同様の所見がヒトで発現する可能性があることを考慮する必要があると考える。

機構は、本薬の安全性薬理はカニクイザルにおいて評価可能と判断し、回答を了承した。また、カニクイザル及びウサギで認められた所見（創傷治癒遅延、骨端軟骨異形成、女性生殖系機能及び胚・胎児への影響）については注意喚起が必要と考える。

3) 血栓・塞栓症及び高血圧の発現機序について

「3.3 毒性試験に関する資料」の項参照。

4) 可逆性後白質脳症症候群の発現機序について

機構は、本薬の薬理作用（VEGFによる血管透過性亢進等の障害）と臨床使用で認められた可逆性後白質脳症症候群（reversible posterior leukoencephalopathy syndrom: RPLS）との関連性について説明を求めた。

申請者は、以下のように説明した。

RPLSの特徴は大脳後半部における血管性浮腫であり、急激な脳血流の増加、血管攣縮等による脳循環自動調節能の障害、又は血管内皮細胞障害の結果、血液-脳関門の透過性亢進/破綻により血管性浮腫が発症すると推定される（脳神経 57: 767-777, 2005）。脳浮腫はRPLS以外でも認められ、これらの病態ではVEGFによる血管透過性亢進が関与していることが推察されており（Brain 125: 2549-57, 2002、J Neuroimmunol 160: 170-7, 2005）、VEGFを阻害することにより脳浮腫が抑制されることが期待される。しかし、マウス低酸素症モデルでは、VEGF中和抗体の投与により脳浮腫が改善されることが報告されているが（Brain 125: 2549-57, 2002）、ウサギ菌性髄膜炎モデルでは本薬投与によっても脳浮腫の改善は認められておらず（J Neuroimmunol 160: 170-7, 2005）、一定の成績は得られていない。この原因の一つとして脳浮腫を誘発する機序により、脳血管の主たる透過性亢進因子が異なることが推察されている。RPLSの発現機序も複数あると考えられており、RPLSの発症・病態の成立にVEGF及びVEGFの阻害がどのように関与しているかは解明されていない。ただし、VEGFによる血管内皮細胞の一酸化窒素（NO）産生誘導を本薬が阻害し、その結果、血圧を変動させることが推察されており、RPLS発症の原因の一つとして高血圧が知られていることから、本薬投与に起因した血圧の変動がRPLSを誘発した可能性も否定はできないと考える。

機構は、文献調査を含めて今後もRPLSと本薬との薬理作用との関係について、情報収集するように申請者に指示した。

3.2 薬物動態に関する資料

<提出された資料の概略>

動物における本薬の薬物動態（PK）はマウス、ラット、ニュージーランドホワイトウサギ及びカニクイザルにおいて、また、他の抗悪性腫瘍薬との薬物動態学的相互作用はカニクイザルにおいて、本薬 - VEGF複合体のクリアランス及び非臨床と臨床試験に用いた各ロットの同等性はラットにおいて、それぞれ検討されている。

1) 吸収

(1) 単回投与

マウスに本薬0.8又は8.5mg/kgを単回静脈内投与したとき、本薬のクリアランス（CL）はそれぞれ34.1又は14.8mL/day/kg、半減期（ $t_{1/2\alpha}$ ）はそれぞれ3.1又は7.2dayであった。また、本薬0.8又は8.5mg/kg単回腹腔内投与時のbioavailability（BA）はAUC_{0-17d}比でそれぞれ94又は96%であった。

マウスに本薬9.3mg/kgを単回静脈内投与したとき、本薬のCLは15.7mL/day/kgであり、中心コンパートメント分布容積（ V_c ）及び定常状態分布容積（ V_{ss} ）はそれぞれ53.0mL/kg及び152mL/kg、分布相半減期（ $t_{1/2\alpha}$ ）及び消失相半減期（ $t_{1/2\beta}$ ）はそれぞれ1.2h及び6.8dayであった。また、本薬9.3mg/kg単回皮下投与時のBAはAUC比で110%であった。

ラットに本薬0.664又は10.1mg/kg（機構注：名目投与量はそれぞれ1又は10mg/kgとされている。）を単回静脈内投与したとき、CLはそれぞれ8.37又は4.83mL/day/kg、 $t_{1/2\beta}$ はそれぞれ5.42又は12.3dayであった。 V_c 及び V_{ss} は、0.664mg/kg群でそれぞれ25.0及び58.8mL/kg、10.1mg/kg群でそれぞれ30.8及び79.5mL/kgであった。また、本薬10.1mg/kg単回皮下投与時のBAはAUC比で69%であった。

ウサギに本薬0.5mg/kgを単回静脈内投与したとき、本薬のCLは14.0mL/day/kg、 $t_{1/2\beta}$ は3.88day、 V_c 及び V_{ss} はそれぞれ41.8及び69.5mL/kgであった。

カニクイザルに本薬 2、10 若しくは 50mg/kg を単回静脈内投与、又は 10mg/kg を単回皮下投与した。静脈内投与後の血清中ペバシズマブ濃度の AUC 及び C_{max} は投与量にほぼ比例して増加し、CL、 V_c 、 V_{ss} 、 $t_{1/2\alpha}$ 、 $t_{1/2\beta}$ 及び平均滞留時間 (MRT) は 3 用量間でほぼ同じであった (下表参照)。

Parameters	2mg/kg, i.v.	10mg/kg, i.v.	50mg/kg, i.v.	10mg/kg, s.c.
AUC ($\mu\text{g} \cdot \text{day}/\text{mL}$)	430 \pm 72	1810 \pm 140	8800 \pm 1400	1770 \pm 260
C_{max} ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	68 \pm 6.2	290 \pm 29	1400 \pm 210	120 \pm 3
CL (mL/day/kg)	4.76 \pm 0.88	5.56 \pm 0.46	5.78 \pm 0.84	5.74 \pm 0.85
V_c (mL/kg)	30.1 \pm 2.0	36.3 \pm 2.4	36.8 \pm 4.9	77.6 \pm 11
V_{ss} (mL/kg)	64.0 \pm 16	66.8 \pm 8.3	73.9 \pm 11	NA
$t_{1/2\alpha}$ (h)	11.5 \pm 5.0	10.9 \pm 2.4	19.2 \pm 9.5	—
$t_{1/2\beta}$ (day)	9.88 \pm .9	8.75 \pm 0.84	10.3 \pm 3.1	9.39 \pm 0.46
MRT (day)	13.4 \pm 2.2	12.0 \pm 1.0	13.1 \pm 3.5	13.5 \pm 0.66
bioavailability (%)	—	—	—	98

NA: not applicable、平均値 \pm 標準偏差、n=4

(2) 反復投与

ウサギに本薬10mg/kgを1、4、8及び11日目に静脈内投与し、最終投与後の血清中ペバシズマブ濃度が測定された。本薬0.5mg/kg単回静脈内投与時のPKパラメータと比べて(「3.2 薬物動態試験に関する資料 1」)(1)単回投与)の項参照)、 V_c 及び V_{ss} はほぼ同じであったが(それぞれ39.9及び62.9mL/kg)、CL(8.13mL/day/kg)は小さく、 $t_{1/2\beta}$ (5.52day)は延長した。CL及び $t_{1/2\beta}$ の差異は投与量の違いによると申請者は推察している。

カニクイザルに本薬2、10若しくは50mg/kgを週2回(4週及び13週間反復投与試験)、又は週1回(26週間反復投与試験、10mg/kg群のみ週1回及び週2回)静脈内投与し、血清中ペバシズマブ濃度が測定された。血清中ペバシズマブ濃度はほぼ用量に比例して増加した。本薬50mg/kgを4週及び13週間反復投与したときのPKパラメータは下表の表に示す。AUC、CL、 V_c 、 V_{ss} 及び $t_{1/2\beta}$ は、本薬50mg/kg単回静脈内投与時(「3.2 薬物動態試験に関する資料 1」)(1)単回投与)の項参照)とほぼ同じであったことから、反復投与に伴う蓄積効果は少ないと申請者は推察している。また、26週間反復投与後のCLが他の二試験よりも約30%低値を示した点については、検討例数が少ないこと(雌雄各2例)、26週間反復投与試験では4週間及び13週間反復投与試験よりも雌雄間のばらつきが大きかったこと等による誤差である可能性が高く、投与期間の延長に伴う変化である可能性は低いと申請者は考察している。

Dose	50mg/kg		
	4weeks, twice weekly	13weeks, twice weekly	26weeks, twice weekly
Parameters			
AUC ($\mu\text{g} \cdot \text{day}/\text{mL}$)	9900 \pm 760	8070 \pm 860	13000 \pm 2600
CL (mL/day/kg)	5.07 \pm 0.40	6.25 \pm 0.71	3.98 \pm 0.808
V_c (mL/kg)	38.5 \pm 4.8	46.9 \pm 5.3	33.1 \pm 3.22
V_{ss} (mL/kg)	68.4 \pm 5.5	84.3 \pm 2.5	64.7 \pm 9.61
$t_{1/2\alpha}$ (h)	14.1 \pm 4.2	28.2 \pm 34	77.0 \pm 30.3
$t_{1/2\beta}$ (day)	9.89 \pm 1.2	11.4 \pm 3.8	20.4 \pm 8.67

MRT (day)	13.6 ± 1.6	13.6 ± 1.4	16.5 ± 2.59
-----------	------------	------------	-------------

平均値 ± 標準偏差、n=4 (雌雄各2匹)

2) 分布

ウサギに¹²⁵I標識した本薬 (22.2 ~ 24.1MBq/kg、総タンパク量として4.8 ~ 5.2μg/kg) を単回静脈内投与し、放射能の組織分布が検討された。

投与後2時間及び48時間ともに、血漿を含むすべての組織で総放射能とトリクロロ酢酸 (TCA) 沈殿画分放射能の分布は類似した。

投与後2時間では総放射能は主に血漿中に局在化し、血漿以外の組織への分布は少なかった。血漿のTCA沈殿画分放射能(0.499% of dose/g tissue)は他の組織に比べて約10倍高く、血漿以外の組織では、腎臓、精巣、脾臓、心臓、肺、胸腺の順に低くなった(0.069% ~ 0.018% of dose/g tissue)。

投与後48時間においてもTCA沈殿画分放射能が最も高かった血漿では、投与後2時間値の約1/2に低下した(0.246% of dose/g tissue)。血漿以外の組織のTCA沈殿画分放射能の低下は僅かであった。

本薬と対照IgG1抗体 (¹²⁵I標識rhuMAb E25 (omalizumab)) の組織分布特性に差はなく、本試験の投与量では本薬の分布パターンはヒト化IgG1モノクローナル抗体の典型的な組織分布特性 (Arzneimittelforschung 44: 890-8, 1994、J Pharmacol Exp Ther 279: 1000-8, 1996) と一致したと申請者は考察している。

ウサギに本薬10若しくは100mg/kgを妊娠18日目に静脈内投与して妊娠21日目に剖検(単回投与群)、又は本薬10、30若しくは100mg/kgを妊娠6日目、9日目、12日目、15日目及び18日目に静脈内投与して妊娠29日目に剖検(反復投与群)し、母動物血清、胎児血清及び羊水中のベバシズマブ濃度が測定された。

単回投与群では、母動物の血清中ベバシズマブ濃度は投与量に比例して増加したが、胎児血清中ベバシズマブ濃度は10倍の投与量比に対して平均約3倍の増加であり、胎児血清/母動物血清濃度比は10mg/kg群に比べて100mg/kg群で低かった。また、胎児血清中及び羊水中ベバシズマブ濃度は母動物血清中濃度に比べてばらつきが大きかった。反復投与群の母動物血清中及び羊水中ベバシズマブ濃度は10 ~ 100mg/kgの範囲で概ね投与量に比例して増加したが、胎児血清中ベバシズマブ濃度の増加は投与量比よりも低かった。母動物血清中ベバシズマブ濃度に対する胎児血清中及び羊水中本薬濃度の比は、いずれも単回投与群に比べて反復投与群で高値を示した。

3) 代謝・排泄

ウサギに¹²⁵I標識した本薬 (22.2 ~ 24.1MBq/kg、総タンパク量として4.8 ~ 5.2μg/kg) を単回静脈内投与し、SDS-PAGEオートラジオグラフィーにより血漿、尿及び組織中の代謝分解物が検討された。投与後48時間の血漿では主に未変化体が検出され、分解物は極めて僅かなバンドであった。腎臓、精巣、脾臓、心臓及び肺の組織中では低分子量分解物が少量認められたが、分解パターンは各組織で異なった。対照IgG1抗体omalizumabも同様の結果であった。これらの結果は、IgG抗体が代謝を受け難いことと一致しており、本薬は典型的なヒト化IgG1モノクローナル抗体と同じ代謝プロファイルを示すことが示唆されたと申請者は考察している。

尿中排泄物については、¹²⁵I標識した本薬及び対照IgG1抗体投与後2時間及び48時間の尿

のTCA沈殿画分放射能は6～9%と僅かであり（機構注：尿中総放射能に占めるTCA沈殿画分放射能の割合と思われる。）、投与後48時間の尿中に本薬の未変化体は確認されなかった。対照IgG1抗体も同様の結果であり、本薬の尿中排泄形態は対照IgG1抗体とほぼ同じであると申請者は考察している。

4) 薬物動態学的相互作用の検討

(1) シスプラチン/パクリタキセル併用療法との併用

カニクイザルに本薬10mg/kgを1、4、8、11、15及び18日目に静脈内投与し、18日目にシスプラチン（CDDP）1mg/kg及びパクリタキセル（PTX）4mg/kgを静脈内投与したときの、各薬剤の血清中濃度が検討された。CDDP及びPTXのPKは本薬反復投与の影響を受けず、本薬のPKもCDDP/PTX併用による影響を受けなかった。

(2) IFL療法との併用

カニクイザルに本薬とIFL療法とを併用した時のイリノテカン及び5-FUの血漿中濃度が測定された。1日目及び8日目に本薬10mg/kg、塩酸イリノテカン125mg/m²、5-FU 500mg/m²及びLV 20mg/m²が静脈内投与された。イリノテカン及び5-FUのCLはそれぞれ25.0及び8.33L/h/m²で、本薬非併用時（それぞれ26.9L及び9.72L/h/m²）と差はなく、CL以外のPKパラメータも本薬非併用時と類似していたことから、イリノテカン及び5-FUのPKは本薬併用により変化しないと申請者は考察している。なお、本試験では、採血量の限界から本薬のPKに対するIFL療法の影響は検討されていない。

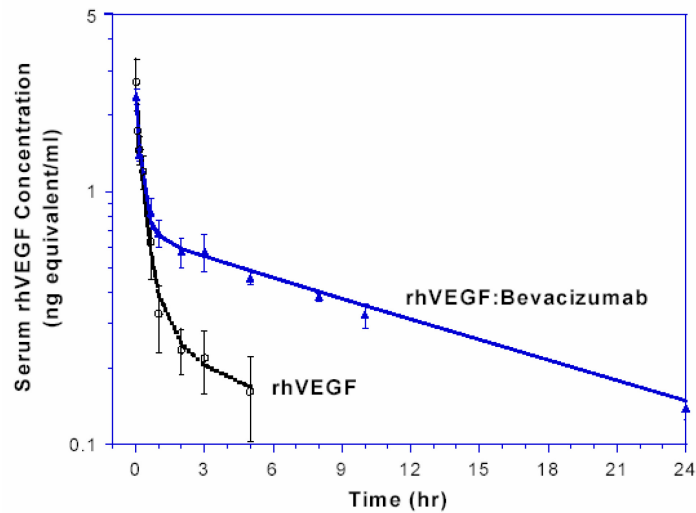
なお、上記の二試験における血清中ベバシズマブ濃度は、臨床試験における血清中ベバシズマブ濃度（本薬5mg/kgを2週間隔で7回投与した際の最高値207 ± 60.7µg/mL）と同程度以上の範囲を含んでいた。

以上より、ヒトにおいても化学療法に本薬を併用することは薬物動態的に問題ないと申請者は推測している。

5) 本薬 - VEGF 複合体のクリアランスに関する検討

海外臨床試験において、本薬投与後に血中総VEGF濃度（本薬結合VEGF複合体及び非結合の遊離型VEGFの総濃度）が経時的に上昇したことは（「4.2 臨床薬理に関する資料」の項参照）、本薬とVEGFとの複合体の形成に伴いVEGFのCLが減少したことによると推定され、ラットにおいてその仮説が検討された。

¹²⁵I標識したヒトVEGF₁₆₅と本薬（モル比は1：10）の複合体を形成させた後に、それぞれ25.7µg/kg（1.12MBq/kg）及び1mg/kgを単回静脈内投与し、ヒトVEGF及び本薬の血清中濃度を測定した（下図参照）。本薬併用時のヒトVEGFのCLは65.9mL/h/kgであり、ヒト単独投与時（225mL/h/kg）の約1/3に減少した。一方、本薬のCLはヒトVEGF併用時には8.97mL/day/kg、本薬単独投与時には7.83mL/day/kgで差はなかった。これは未反応の本薬に対して、本薬とVEGFの複合体の比率が低いためと申請者は考察している。また、本薬併用時のヒトVEGFのCLの低下は、抗IgE抗体omalizumab投与時に標的抗原であるIgEの血中濃度が上昇したとの報告（J Allergy Clin Immunol 95 (1 Pt 2): 356, 1995）と一致したと申請者は考察している。



6) ロット間の同等性/同質性試験

ラットに本薬の異なるロット(カニクイザル4週間及び13週間反復投与試験で用いたロット(Lot No. #AC)とカニクイザル26週間反復投与試験で用いたロット(Lot No. #AD))10mg/kgを静脈内投与し、ロット間のPKが検討された。

Lot No. #ACとLot No. #ADのCLはそれぞれ6.35mL/day/kg及び6.70mL/day/kgと近似し、AUC₀₋₁₁比は0.944(90%信頼区間:[0.89, 1.00])であった。したがって、両ロットの本薬のPKには差異がなく、4週間及び13週間反復投与試験に比べて26週間反復投与試験において本薬のCLが低下した原因は(「3.2 薬物動態試験に関する資料1」)(2)反復投与」の項参照)、ロット間差によるものではないことが確認されたと申請者は述べている。

また、海外第相試験で使用した新規細胞株G7由来のロット(Lot No. #X)と海外第相試験で使用した対照ロット(Lot No. #Z)、海外第相試験で使用したロット(Lot No. #AB)と製造販売予定ロット(Lot No.#AA)について、ラットを用いてPKを比較した結果、各ロットのPKパラメータは近似し、曝露量はほぼ同じであると申請者は説明している。

7) 申請者による考察

本薬はカニクイザル及びウサギのVEGFに結合するが、げっ歯動物のVEGFとは結合しない。検討したいずれの動物種においても本薬は血清中から緩やかに消失し、組織移行性が低かったことから、本薬は主に血漿に分布し、本薬のPKは内因性VEGFとの結合の有無にかかわらず影響を受けないことが確認されたと申請者は説明している。

また、IgG1抗体が小さな分布容積を示し、血清中から緩慢に消失することについて、IgG1抗体のカニクイザルページ受容体である新生児Fc受容体(FcRn)の関与が強く示唆されており、FcRnの主要発現部位や作用機序が解明されつつある(Eur J Immunol 26: 690-6, 1996、J Exp Med 180: 2377-81, 1994、Ann Rev Immunol 18: 739-66, 2000、Int Immunol 10: 1289-98, 1998等)。血清中の本薬は長い消失半減期を示しており、他のIgG抗体と同様に、FcRnとの結合やlysosome内での分解代謝が起こると申請者は推測している。

更に、マウス、ラット、カニクイザル及びヒトの単回静脈内投与後の薬物動態成績を基に、体重と本薬のCLとの関係がアロメトリー法により評価された結果、体重と本薬のCLの間に

新薬承認情報提供時に置き換えた

直線関係が認められたことから[$CL(\text{mL/day}) = 6.1605 \times \text{体重}^{0.8179}(\text{kg})$ 、 $R^2 = 0.9881$]、本薬のCLは動物種によらず類似することが示唆されたと申請者は考察している。

< 機構における審査の概要 >

機構は、提出された資料及び以下の検討から、非臨床における本薬の吸収、分布、代謝、排泄及び薬物動態学的相互作用に関する申請者の考察は概ね受け入れられるものと判断した。ただし、本薬のCLに関する申請者の考察を裏付ける試験成績を今後も収集し、本薬のPKに関する基礎的な情報や機序について、更に検討・考察されることが望ましいと機構は考える。

1) マウス及びラット単回投与試験におけるCLについて

機構は、マウス及びラット単回投与試験の低用量群において、本薬のCLが増大傾向を示した理由を考察するよう求めた。

申請者は、以下のように回答した。

マウス単回投与試験では、一頭からの経時的な採血により血清中ベバシズマブ濃度推移を検討することは不可能で、各測定時間毎に別の個体から全血を採取して血清中薬物濃度を測定したため ($n=2$)、試験デザイン上個体間のばらつきが生じやすいと考えられ、実際、0.80mg/kg群 (低用量群) の投与後5日以降の測定値で、個体間のばらつきが特に大きかった。したがって、低用量群において、CLの増大傾向が認められた原因として、特に投与後5日以降のばらつきが大きかったためにCLの算出に影響を与えたことが考えられる。

また、ラット単回投与試験で血清中ベバシズマブ濃度が検討された期間は投与後14日までであるが、これは低用量群 (0.664mg/kg) の $t_{1/2\beta}$ (5.42day) に比べて十分長い、高用量群 (10.1mg/kg) の $t_{1/2\beta}$ (12.3day) とほぼ同じであった。一方、ラットを用いたロット比較試験 (投与量10mg/kg) において、 $t_{1/2\beta}$ (5.96 ~ 11.6day) より十分長い投与後21 ~ 29日までの血清中ベバシズマブ濃度を解析した結果、CL値は6.35 ~ 14.7mL/day/kgであり、ラット単回投与試験の低用量群のCL値 (8.37mL/day/kg) とほぼ同じであった。したがって、ラット単回投与試験の高用量群でCLが低値を示した原因の一つとして、消失相を十分に捉えきれなかったことが考えられ、 $t_{1/2\beta}$ よりも十分に長い測定期間で評価した場合には、CL値は用量に依存せず一定になると考えられる。

なお、IgG抗体の血中からの消失について、抗原との免疫複合体の生成によるCL (CL_{target}) 及び非特異的な細網内皮系によるCL (CL_{RES}) の二つの機序が報告されているが、生体内に抗原が存在しない場合には、 CL_{target} の飽和に伴うCLの低下はなく、いずれの用量においてもCLは一定であると推定されている (Drug Discov Today 11: 81-8, 2006)。本薬はマウス及びラットのVEGFとは結合しないことから、両動物種における本薬の消失には CL_{RES} のみの寄与が考えられ、CL値は一定であると推定される。

以上より、両試験で認められた低用量群におけるCLの増加傾向は実験手技上の誤差に基づくものであり、マウス及びラットのCLに非線形性はないと考える。

機構は、申請者が考察した理由による可能性も考えられるものの、その考察を裏付ける試験成績が得られていないため、当該二試験における用量間のCL値の差異に、評価期間及び試験成績のばらつき以外の要因が関与した可能性は否定できないと考える。

2) 反復投与時のCLについて

カニクイザルを用いた4週間及び13週間反復投与試験に比べて26週間反復投与試験にお

いてCLの低下が認められた点について、検討例数が少ないこと及び個体間のばらつきが大きいことを申請者は考察している（「3.2 薬物動態試験に関する資料 1）（2）反復投与」の項参照）。

機構は、26週間反復投与試験において4週間及び13週間反復投与試験に比べて個体間のばらつきが大きかった理由も含め、試験間で認められたCLの差異について再度考察するよう求めた。

申請者は、以下のように回答した。

カニクイザルを用いた当該三試験における個体別のCL値を確認した結果、雌のCLはほぼ一定であり、三試験の総平均CL値は5.26mL/kg/day、CV値は13.0%であった。一方、雄では、4週間反復投与試験の平均CL値に比べて、13週間反復投与試験の1匹でCLが大きく（7.24mL/kg/day）、26週間反復投与試験の2匹のCLは小さく（3.27及び3.32mL/kg/day）、雄の総平均CLのCV値は30.8%とばらつきが大きかった。また、本薬の半減期（約10day）を考慮すると、本薬が週1回反復投与された26週間反復投与試験では、1週間に2回投与された他の二試験に比べて初回投与時の各個体の消失を比較可能であると考へ、26週間反復投与試験の雌雄各2匹の初回投与時の血清中濃度推移を比較検討したところ、雌と比べて雄で血清中ペバシズマブの消失が緩慢であった。

以上より、26週間反復投与試験のCLが他の二試験に比べて低値を示した理由は、2匹の雄のCLが低値を示したことによる個体間のばらつきであると考えられる。

機構は、各試験の検討例数や個体間のばらつきにより、試験間の比較を十分に行うことが困難である点は理解するものの、カニクイザルにおけるCL値の試験間の差異をばらつきのみで説明可能であるか否かは、不明であると考えられる。

マウス、ラット及びカニクイザルにおける本薬のCLに関する上記の点について、機構は、臨床試験成績（「4.3 臨床的有効性及び安全性に関する資料」の項参照）を踏まえると、本薬の承認の可否の判断に影響を及ぼすものではないと考えるものの、申請者の考察を直接裏付ける試験成績が得られていないため、今後、検討例数や評価期間を含めてより適切な試験デザインの非臨床試験において本薬のPKが評価される機会があれば、申請者の考察を裏付ける試験成績を得ることが望ましいと考える。

3.3 毒性試験に関する資料

< 提出された資料の概略 >

本薬は、VEGFに結合し、リガンドのVEGF受容体への結合を遮断することによりVEGFのシグナル伝達を阻害する。毒性試験に用いた動物種は、カニクイザルとヒトのVEGFアミノ酸配列は同一と予測されていること、及びVEGFとの結合実験の結果より、ヒトVEGFよりも親和性は低いものの本薬がウサギVEGFに結合することから（「3.1 薬理試験に関する資料」の項参照）カニクイザル及びニュージーランドホワイトウサギが用いられている。

なお、一般的に毒性試験に汎用されるげっ歯動物では、本薬はマウスVEGFとの結合性がなく、またマウスVEGFアミノ酸配列との相同性からラットVEGFにも結合性はないと推察され（「3.1 薬理試験に関する資料」の項参照）これらの動物種は本薬の毒性試験に使用されていない。

1) 単回投与

本薬の単回投与毒性試験は実施されていない。その理由として、開発初期の毒性試験開始

時点で使用可能な製剤の濃度は 10mg/mL であり、単回投与で物理的に投与可能な本薬の最大用量は 50～100mg/kg 程度と考え、単回投与で十分な毒性評価が可能な用量を投与することは困難と判断された。

カニクイザル 4 週間反復投与試験において、50mg/kg 群の初回投与後の Cpeak (雌雄：1200µg/mL) は、結腸・直腸癌患者の一次治療に対する本薬の臨床推奨用量 (5mg/kg) 投与時の Cpeak (臨床第 Ⅲ 相試験 AVF0780g の定常状態：207µg/mL) の約 6 倍あったが、死亡や一般症状の異常は認められていない。また、ウサギを用いた腎臓組織への沈着検討試験では本薬 100mg/kg を 2 回投与されたが、死亡や一般症状の変化は認められていない。

2) 反復投与 (トキシコキネティクスを含む)

(1) カニクイザル 4 週間反復投与試験

2～7 歳の雌雄カニクイザルに、溶媒又は本薬 2、10、50mg/kg を週 2 回、4 週間静脈内投与した。このうち対照群及び最高用量群の雌雄各 2 匹を投与終了後、4 週間の回復性試験に供している (トキシコキネティクスは「3.2 薬物動態試験に関する資料」の項参照。)

死亡動物はなく、一般症状、体重、摂餌量、血圧、生理学的検査 (直腸温、呼吸数)、心電図、眼科学的検査、網膜電位図、臨床検査 (血液生化学的検査、血液学的検査、尿検査)、臓器重量、肉眼的所見に異常はみられていない。

病理組織学的検査で、10 及び 50mg/kg 群の雄で大腿骨遠位端に骨端軟骨異形成がみられている。病理組織学的特徴として、成長板軟骨 (骨端軟骨) の肥厚、過形成性軟骨細胞の集塊、軟骨下骨板形成、成長板への血管侵入の障害と、軟骨基質部の変性が認められた。骨端軟骨異形成の程度は、雄では 10mg/kg 群で軽～中等度、50mg/kg 群で中～重度であったが、雌ではいずれの投与群においても骨端軟骨に異常はみられていない。雄の高用量回復群は、2 匹とも 4 週間の休薬後にも骨端軟骨異形成を認めているが、その程度は軽微 1 匹、重度 1 匹と休薬により回復する傾向が示唆されている。休薬後にも重度の骨端軟骨異形成を示した個体は、骨幹端の骨髄に軽微なびまん性の変性と壊死がみられていた。その他、本薬投与に起因する病理組織学的な異常所見はみられていない。

抗バシズマブ抗体はいずれの時点 (day 1、15、22、29、56 (回復群のみ)) においても検出されていない。

本試験における無毒性量は 2mg/kg と判断された。

(2) カニクイザル 13 週間反復投与試験

3～6 歳の雌雄カニクイザルに、溶媒又は本薬 2、10、50mg/kg を週 2 回、13 週間静脈内投与した。このうち対照群及び最高用量群の雌雄各 2 匹を投与終了後 4 週間の回復試験に供した (トキシコキネティクスは「3.2 薬物動態試験に関する資料」の項参照。)

死亡動物はなく、一般症状、体重、摂餌量、血圧、心電図、生理学的検査 (直腸温、呼吸数)、眼科学的検査、臨床検査 (血液学的検査、凝固検査、尿検査) や肉眼的所見にも異常は認められていない。

50mg/kg 群の雄 1 匹で、血清総タンパク質及びアルブミンの著明な減少、コレステロール増加が 13 週目にみられ、病理組織学的検査より膜性増殖性糸球体腎炎と診断された。カニクイザルでは特発性糸球体腎炎が自然発生するとの報告があり、本所見も自然発生性の変化と推察されている。なお、最長 26 週間までの反復投与試験で雌雄計 92 匹のカニクイザルに 2～50mg/kg が週 1 回又は 2 回投与されているが、上記の個体以外に糸球体腎炎を認めた個体はなかった。

卵巣及び子宮重量が 10 及び 50mg/kg 群で減少し、この変化に一致して黄体数の減少や欠失がみられている。50mg/kg 群では、4 週間の休薬後も黄体の減少は継続するが、卵巣及び子宮の重量減少は認められていないことより、雌生殖器に対する本薬の影響は、休薬により回復する傾向が示されている。

4 週間反復投与と同様、骨端軟骨異形成の程度と発現頻度は用量依存性が認められ、本試験では更に軟骨成長板の線状亀裂が散見されている。骨端軟骨異形成は本薬が投与されたすべての雄でみられ、その程度は 2mg/kg 群では軽微～重度、10 及び 50mg/kg 群では軽度～重度であった。一方、雌では 10 及び 50mg/kg 群の全例で軽微～軽度の所見が認められたが、2mg/kg 群ではみられていない。4 週間の回復群においても骨端軟骨異形成がみられているが、その程度は投与終了時に比べて軽減し、回復する傾向が示されている。骨端軟骨異形成は雌より雄の方がより高頻度にみられた理由について、本試験に用いた動物では成熟した個体が雄よりも雌が多かったことによるものであり、性差に関連した変化ではないと考察されている。

抗バシズマブ抗体はいずれの時点 (day - 6、11、15、22、53、92、119 (回復群のみ)) においても検出されていない。

本試験における無毒性量は 2mg/kg 未満と判断されている。

(3) カニクイザル 26 週間反復投与試験

4～7 歳の雌雄カニクイザルに、溶媒又は本薬 2、10、50mg/kg を週 1 回、又は 10mg/kg を週 2 回、それぞれ 26 週間静脈内投与した。このうち対照群及び最高用量群の雌雄各 2 匹を投与終了後 12 週間の回復試験に供した (トキシコキネティクスは「3.2 薬物動態試験に関する資料」の項参照。)

死亡動物はなく、生理学的検査 (直腸温、呼吸数)、心電図、血圧、X 線検査、眼科学的検査、臨床検査 (血液学的検査、凝固検査、尿検査) や肉眼的所見に異常は認められていない。

平均体重 (投与開始時の体重を共変量として調節) は、対照群に比べ、雄の 10mg/kg (週 2 回) 群で投与 24 週より 5～10%、50mg/kg 群で投与 14 週より 8～13% 低下し、いずれも有意であった。また、雄 50mg/kg 群 1 匹で投与 24 週時に削瘦がみられ、当該所見の発現と一致して摂食量が減少した。2 及び 10mg/kg (週 1 回) 群の平均体重は対照群と比べ 5～7% と軽度であるが低下が認められた。雄の 10mg/kg (週 2 回) 及び 50mg/kg 群では体重の低下に一致して摂餌量も減少した。12 週間の休薬後には、体重及び摂餌量に本薬投与の影響は認められていない。

10mg/kg 以上群では投与頻度に関わらず、雌で月経周期の異常 (月経の減少)、子宮重量及び子宮内膜の増殖が減少している。さらに 10mg/kg (週 2 回) 群及び 50mg/kg 群では、卵胞の成熟が阻害 (早期グラーフ卵胞期で停止) され、黄体が欠失した。12 週間の休薬後は、50mg/kg 群の 2 匹中 1 匹に黄体欠失がみられている。

骨端軟骨異形成の程度と発現頻度は用量依存的に増加し更に線状亀裂が、雄 10mg/kg (週 2 回) 群及び雄 50mg/kg 群で 1 匹ずつみられている。骨端軟骨異形成の程度は、雄では 2mg/kg 群で軽微～軽度、10mg/kg (週 1 回) 群で軽微～中等度、50mg/kg 群で軽度～中等度であった。雄の 10mg/kg (週 2 回) 群ではすべての個体が中等度に発現している。一方、雌では、2mg/kg 群の 4 匹中 1 匹が軽微、10 (週 1 回) 及び 50mg/kg 群の各 4 匹中 2 匹が軽度であった。雌の 10mg/kg (週 2 回) 群では 1 匹のみで中等度の骨端軟骨異形成が発現した。雄の著しい体重変化が認められた 10mg/kg (週 2 回) 群及び 50mg/kg 群では、体重

に著変がなかった 2、10mg/kg (週 1 回) 群及び雌の全投与群に比べ骨端軟骨異形成がより重篤であった。雄の 10mg/kg (週 2 回) 及び 50mg/kg 群の体重低下は骨端軟骨異形成により成長が遅延したことによる可能性が推察されている。12 週間の回復期間後に骨端軟骨異形成は認められなかった。

13 週間反復投与試験の 50mg/kg 群で膜性増殖性糸球体腎炎が認められていることから、雌雄の対照群、10mg/kg (週 2 回投与) 群、50mg/kg 群の腎臓について、過ヨウ素酸メセナミン銀染色 (periodic acid-Schiff-methenamine silver staining) により精査が行われたが、異常は認められていない。

抗バシズマブ抗体は、対照群の 1 匹が day 15 に、50mg/kg 群の 1 匹が day 183 に陽性結果を得たが、いずれも検出限界を僅かに上回る程度の陽性反応であった。対照群の抗体陽性例は他の測定時点 (4、13、27 及び 39 週) では陰性であり、day 15 (3 週) での陽性結果は偽陽性の可能性が示唆されている。

無毒性量は 2mg/kg 未満であった。

(4) IFL 療法との併用

塩酸イリノテカン、5-FU 及び LV を併用する IFL 療法と本薬との併用時の毒性についてカニクイザルで検討された。

2 ~ 3.5 歳の雄性カニクイザルに塩酸イリノテカン 100 又は 125mg/m²、5-FU 500mg/m²、LV 20mg/m² を day 1 及び 8 に静脈内投与し、本薬 10mg/kg は day 1 及び 8 に静脈内投与し (本薬との併用時の塩酸イリノテカンの用量は 125mg/m² のみ) day 15 に剖検が行われた。

いずれの投与群においても死亡動物は認められていない。IFL 療法群では下痢、体重・摂餌量の減少が認められ、白血球数・血小板数減少、貧血、コレステロール・総タンパク質・カリウムの減少等の血液学的及び血液生化学的検査値の変動がみられている。また、リンパ球枯渇に伴う胸腺の縮小が IFL 療法群 7 匹中 2 匹、IFL 療法+本薬群の 5 匹中 2 匹で認められ、多くの動物は胸骨骨髓で主に赤血球系細胞の過形成又は骨髓系細胞の低形成がみられている。IFL 療法+本薬群でみられた変化は IFL 療法群と同様であり、本薬の併用投与による毒性の増強は認められていない。

(5) シスプラチン/パクリタキセル療法との併用

シスプラチン (CDDP) 及びパクリタキセル (PTX) と本薬との併用時の毒性についてカニクイザルで検討された。

4 ~ 10 歳の雄性カニクイザルに CDDP 1mg/kg、PTX 4 mg/kg を day 18 に静脈内投与し、本薬 10mg/kg は day 1、4、8、11、15 及び 18 に静脈内投与された。

いずれの投与群においても死亡動物は認められていない。本薬単独群では、一般症状、体重、摂餌量、臨床検査 (血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査) に影響はみられていない。本薬単独群、CDDP/PTX 群及び CDDP/PTX+本薬群では、生理学的検査 (直腸温、呼吸数) や心電図への影響もみられていない。CDDP/PTX 群及び CDDP/PTX+本薬群では嘔吐が認められ、対照群に比べ体重低下、一過性の白血球数及び好中球数減少も認められている。CDDP/PTX+本薬群でみられた変化は、CDDP/PTX 群の変化と同様であり、本薬の併用投与による毒性の増強は認められていない。

3) 遺伝毒性

in vitro 及び *in vivo* の遺伝毒性試験は実施されていない。

4) がん原性

がん原性試験は実施されていない。

5) 生殖発生毒性 (トキシコキネティクス評価を含む)

(1) 受胎能及び着床までの初期発生に関する試験

試験は実施されていない。

(2) ウサギ胚及び胎児発生に関する試験 (用量設定試験)

5~5.5 カ月齢の妊娠ウサギに、本薬 10、30、100mg/kg が器官形成期 (妊娠 6~18 日、以下、妊娠日は DG と略す。) の DG 6、9、12 又は DG 12、15、18 に静脈内投与された。投与レジメンは平均血清中ベバシズマブ濃度がヒトの臨床曝露量とほぼ同様に維持され、かつ、器官形成期における抗ベバシズマブ抗体及び抗原抗体複合体の曝露量が最小限になるよう設定された。

100mg/kg 群 (DG 12、15、18 投与) は、母動物の体重及び体重増加量が妊娠期間を通じ低下、投与終了後の妊娠期間 (DG 19~29) は摂餌量も減少した。また、平均胎児体重が 100mg/kg 投与群 (DG 12、15、18 投与) で減少している。帝王切開時では、DG 6、9、12 に本薬を投与した動物の 47%で、DG 12、15、18 に本薬を投与した動物の 33%で抗ベバシズマブ抗体の産生が認められている。

(3) ウサギ胚及び胎児発生に関する試験

5~6 カ月齢の妊娠ウサギに溶媒又は本薬 10、30、100 mg/kg を DG 6、9、12、15、18 に静脈内投与し、DG 29 に帝王切開した (毒性試験群)。別途、薬物動態サンプル採取群としてサテライト群 (1 群 5 羽) を設定している。サテライト群は、本薬 10、100mg/kg を DG 18 に投与して DG 21 に剖検 (サテライト A 群) 又は 10、100mg/kg を DG 6、9、12、15、18 に投与して DG 29 に剖検 (サテライト B 群) した。なお、サテライト群の胎児は観察対象とはしていない。

死亡動物はなく、本薬投与に起因する異常もみられていない。30、100mg/kg 群の DG 6~7 に母動物の体重増加量が減少したが、他の測定時点では影響は認められず、摂餌量にも変化はみられなかった。100mg/kg 群では、総吸収胚数、吸収胚を有する母動物数、母動物あたりの死亡胚数又は吸収胚率が増加したが、これらは主として後期吸収胚の増加によるものであった。

胎児体重は用量依存的に減少し、異常/変異胎児を有する母動物数は、30mg/kg 群及び 100mg/kg 群で増加している。更に異常/変異胎児総数及び母動物あたりの異常/変異胎児率も 100mg/kg で増加した。100mg/kg 群では胎児の外形及び骨格異常が増加し、中手骨の骨化数が 10mg/kg 以上の群で減少、尾椎、前肢・後肢趾節骨の平均骨化数も 100mg/kg 群で減少していた。

抗ベバシズマブ抗体は、毒性試験群の対照群で 1/20 羽、10mg/kg 群で 1/20 羽、30mg/kg 群で 4/20 羽、100mg/kg 群で 2/20 羽の母動物血清中に検出されている。サテライト A 群の母動物の血清中には、いずれの測定点 (DG 18、19、20、21) でも抗体は検出されていないが、サテライト B 群では、DG 29 に各投与量群で 1 羽ずつ抗体が検出されている。毒性

試験群とサテライト群全体では、本薬投与母動物の 12% (9/73 羽) に血清中に抗ベバシズマブ抗体が検出され、本薬投与群母動物の 13% (9/71 羽) 及び対照群母動物の 5% (1/19 羽) で、胎児血清中に抗体が検出されている。また、本薬投与母動物の 10% (7/73 羽) 及び対照母動物の 5% (1/19 羽) で、羊水中に抗体が検出されている。対照群 1 羽における抗体陽性は偽陽性である可能性も推察されるが、詳細な原因は不明である。

母動物の一般毒性に対する無毒性量は 10mg/kg、胎児発生に対する無毒性量は 10mg/kg 未満と判断された。

(4) 出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験

実施されていない。

6) 局所刺激性

局所刺激性試験は実施されていないが、カニクイザルを用いた反復静脈内投与試験において投与部位に薬物に関連した所見は認められず、本薬の局所忍容性は良好と考えられている。

7) その他の毒性

(1) 溶血性及び血液適合性試験

本薬の溶血性及び血液適合性はヒト及びカニクイザルの全血及び血清/血漿を用いて検討された。

溶媒又は本薬 (最終濃度 5mg/mL) をヒト及びカニクイザルの全血と混合し、上清中のヘモグロビン濃度を指標として溶血性が検討され、またヒト及びカニクイザルの血清又は血漿と混合し、沈降及び凝固の有無が肉眼的に観察された。

溶媒及び本薬に溶血作用は認められず、沈降及び凝固反応もみられていない。

(2) ビオチン化ベバシズマブと各動物種組織との交差反応性

ウサギ、カニクイザル及びヒト正常組織をビオチン化ベバシズマブ 10、400µg/mL を用いて免疫組織染色し、本薬の組織特異性が検討された。その結果、染色したウサギ 9 組織、カニクイザル 30 組織、ヒト 36 組織において、特異的な陽性反応は認められなかった。

(3) ウサギにおける抗体産生の検討

ウサギ VEGF に対して本薬の結合活性が認められるが、ウサギにおいて本薬投与により抗ベバシズマブ抗体が産生されることから、抗体が産生されず投与可能な期間を確認する目的で、抗体産生の経時変化が検討された。

2.5~2.8kg の雄性ウサギに溶媒又は本薬 10mg/kg を day 1、4、8 及び 11 に計 4 回静脈内投与し、投与期間中から day 50 まで血中抗体が測定された。day 8 ではいずれの群でも抗ベバシズマブ抗体は検出されていないが、day 11 で本薬群全例 (2/2 羽) に抗ベバシズマブ抗体が検出された。1 羽は day 36 まで、残りの 1 羽は day 50 まで抗体測定が可能であった。これらの結果より、ウサギでは投与開始 8~11 日の間に抗ベバシズマブ抗体が産生されることが確認された。

(4) ウサギにおける骨端軟骨異形成の検討

カニクイザル反復投与試験で、本薬の薬理作用に起因する長骨成長板の血管形成阻害により、骨端軟骨異形成が認められたが、骨端軟骨異形成の検討に用いる動物種としてウサギを

用いることが適切であるか否か検討された。

6週齢の雌性ウサギに、溶媒又は本薬 10、50、75mg/kg を day 1、4、7 及び 10 に静脈内投与し、day 14 に剖検が行われた。

死亡動物はなく、一般症状や体重にも影響は認められていない。本薬群で、成長板軟骨に僅かな肥厚がみられたものの、カニクイザルとは異なり、いずれの投与量においても血管侵入の阻害及び軟骨下骨板形成の惹起は見られなかった。ウサギでは、投与開始 8 から 11 日に抗ベバシズマブ抗体産生が確認されていることから、カニクイザルを用いた試験よりも投与期間は短縮されており、ウサギの長骨骨端における変化が軽度であった原因として、投与期間が短く暴露期間が十分でなかった可能性が推察されている。

(5) ウサギ卵巣機能に対する影響

カニクイザル反復投与試験で、卵巣・子宮重量及び黄体数の減少が認められ、雌性生殖機能に対する本薬の影響が示唆されたことより、ウサギ卵巣機能に対する影響を体重、血清中プロゲステロン、子宮・卵巣重量、黄体の有無を指標に精査された。

試験 1 黄体プロゲステロンの産生能：

約 6 カ月齢の雌性ウサギにヒト絨毛性ゴナドトロピン (hCG) を静脈内投与して排卵を惹起した (day 1)。溶媒又は本薬 50mg/kg は hCG 投与の 3 日前、day 1、4 及び 7 の計 4 回静脈内投与し、各群 4 羽ずつを day 8 に剖検し、残り各群 4 羽 (回復群) は約 1 カ月間の休薬を設定し、hCG 再投与後、day 48 に剖検した。

hCG 投与により血清中プロゲステロン濃度が上昇したが、本薬群では、その上昇が抑制された。day 8 の剖検時に本薬投与群は、対照群に比べ卵巣及び子宮重量が減少、表層卵胞数及び黄体数が減少していた。約 1 カ月間の休薬後に hCG を再投与したところ、血清中プロゲステロン濃度は対照群と本薬群でほぼ同程度に上昇した。day 48 の剖検で、子宮重量に変化がみられたが、子宮及び子宮頸の病理組織学的所見で異常はみられなかった。

以上の結果より、ウサギに本薬 50mg/kg を 3 日間隔で計 4 回投与することにより卵巣機能が阻害されるが、休薬により回復する可逆的な変化であった。これらの傾向はカニクイザルにおける所見と同様と考えられた。

試験 2 用量反応：

卵巣機能に対する本薬の用量反応について、血清中プロゲステロン、卵巣重量、黄体の有無を指標に検討された。

hCG を静脈内投与して排卵を惹起し (day 1)、溶媒又は本薬 2、10、50mg/kg を hCG 投与 4 日前、day 1、5 に計 3 回静脈内投与し day 7 に剖検した。

2 及び 10mg/kg 群は血清中プロゲステロン濃度に変化は認められなかったが、50mg/kg 群では溶媒群に比べ著明に低下した。また、卵巣重量は用量依存的に減少し、黄体数は 50mg/kg 群で対照群に比べて減少した。

これらの結果は、カニクイザルでみられた本薬の雌性生殖器に対する影響と同様であり、本薬の高用量投与により、黄体形成とその後にみられるプロゲステロン分泌が阻害されることが示唆されている。

(6) 創傷治癒に対する影響

VEGF は創傷治癒過程に関与し、手術実施時に本薬投与により創傷治癒が遅延する可能

性が懸念されることより、創傷治癒に対する影響について、線形切開創傷及びこれとは異なる潰瘍病変を模した円形創傷に対して検討された。

線形切開創傷に対する影響：

約 6 週齢の雌性ウサギに、直線状の全層切開創 (2.5cm) を背部に作製し、縫合した (day 1)。溶媒又は本薬 0.5、1、2mg/kg を創傷作製の 2 日前、day 1、3 の計 3 回静脈内投与し、創傷作製 5 日後に剖検が行われた。一般症状及び体重に著変は認められなかったが、本薬群では創傷の抗張力 (tensile strength) が用量に依存して減少し、本薬が創傷治癒を阻害することが示された。

なお、線形切開創傷と下記の円形創傷治癒に対する本薬の有効用量が大きく異なる理由については、創傷に対する評価項目が異なること、及び線形切開創傷に及ぼす影響について検討した試験では、本薬と ████████ VEGF ████████ とを比較する目的で、創傷治癒を遅延させるが剖検日までには完全に治癒しない低用量が用いられたためであると申請者は説明している。

円形創傷治癒に対する影響：

雄性ウサギに直径 8mm の円形創傷を耳内側に作製し (day 1) 溶媒又は本薬 50mg/kg を day 1、3、5、7、10 の計 5 回静脈内投与した。陽性対照とした創傷治癒の遅延作用が知られているメチルプレドニゾロン 35mg/kg は、創傷作製 2 日前、day 1、3、5、7、11 に計 6 回筋肉内投与し、day 12 に剖検が行われた。

メチルプレドニゾロン群の 1 羽が day 12 に大腸菌性腸炎で死亡したが、これ以外はすべて剖検時まで生存した。本薬投与に起因する一般症状や体重の変化は認められなかった。day 12 までに、対照群では創傷の 78% の部分 (創傷の直径から算出した面積を基に計算) が閉鎖したが、メチルプレドニゾロン群では 33%、本薬群では 46% の創傷閉鎖率であった。病理組織学的検査で上皮再形成が認められた割合は対照群 67%、メチルプレドニゾロン群 50%、本薬投与群 17% であった。これらの結果より、ウサギ円形創傷モデルで、本薬 50mg/kg の投与により創傷の治癒が阻害されることが示された。

円形創傷治癒遅延に対する用量反応：

ウサギに直径 8mm の円形創傷を耳内側に作製し (day 1) 溶媒又は本薬 2、10mg/kg を day 1、4、8、11 に計 4 回静脈内投与し、10 日間の休薬後の day 21 に剖検が行われた。

day 12 の創傷閉鎖率は、対照群 69%、2mg/kg 群 47%、10mg/kg 群 36% であった。休薬により、2 及び 10mg/kg 群ともに円形創傷は完全に閉鎖したが、対照群に比較し創傷閉鎖までの期間が 3~5 日間遅延した。

カニクイザルにおける創傷治癒に対する影響：

カニクイザルに全層線形切開創傷 (2cm) を肩甲骨部付近に作製し (day 1) 本薬 0.5、2mg/kg を創傷作製 2 日前、day 1、3、5 に計 4 回静脈内投与し day 7 に剖検が行われた。

本薬群で創傷の抗張力 (tensile strength) が減少するなど、ウサギと同様、創傷治癒に対する影響が認められたが、個体間のばらつきが大きく、明らかな用量反応は認められなかった。個体間のばらつきが大きい理由として、ウサギでは月齢や体重がほぼ均一であったが、カニクイザルでは年齢や体重のばらつきが原因の一つと考えられている。

(7) 血栓症に関する検討

臨床試験において血栓・塞栓症の発現率が本薬群で増加したが、カニクイザルの反復投与試験の血液学的検査及び凝固検査で著変はみられていない。血栓症発現に対する本薬の影響について、ウサギ急性血栓症モデルを作製して検討された。

ウサギに、溶媒又は本薬 75mg/kg を 8 日間連続静脈内投与し 8 回目の投与終了後、頸静脈をクランプではさみ、軽度の損傷を起こすことにより血栓を惹起させ血餅生成までの時間及び血餅重量を指標に血栓形成に対する影響が評価された。更に、表皮出血時間の測定、血液学的検査及び凝固検査（プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間、血球数、D-ダイマー、カルシウム再加凝固時間、血小板凝集能、活性化血液凝固時間）が実施された。

血液学的検査及び凝固検査、血餅生成時間、血餅重量及び表皮出血時間に著変は認められず、機械的操作により惹起された血栓症モデルに対し、本薬投与は血栓症を悪化しないと判断されている。

(8) 腎臓に対する影響及び腎臓への沈着に関する検討

臨床試験において、タンパク尿の発現率が本薬群で増加したが、カニクイザルを用いた反復投与試験の血液生化学検査及び尿検査では腎機能障害を示唆する変化はみられていない。本薬の腎機能への影響を精査する目的で、本薬の腎臓への沈着について探索試験が実施された。

正常ウサギでの検討：

ウサギに溶媒又は本薬 2、10、100mg/kg を day 1 及び day 3 に静脈内投与し、day 5 に剖検が行われた。光学顕微鏡及び電子顕微鏡観察による腎臓の病理組織学的所見では、対照群と本薬群に差異は認められず、また抗ペバシズマブ抗体による免疫組織染色でも本薬の腎臓への沈着は確認されていない。

CDDP 誘発腎障害モデルでの検討：

近位尿細管に対する毒性が知られている CDDP で腎障害を誘発したウサギを用いて、腎障害に対する本薬の影響が検討された。

ウサギに、CDDP 1mg/kg 又は生理食塩液を day 1、3、5、8、10、12 に計 6 回静脈内投与し、2 週目からは溶媒又は本薬 50mg/kg を day 8、10、12 に計 3 回静脈内投与し、day 14 に剖検が行われた。

CDDP 及び本薬投与に関連した一般症状の変化は認められず、尿中タンパク質濃度及び血液学的検査に著変はみられなかった。

本薬群では体重、血中尿素窒素 (BUN)、クレアチニン及び尿比重に変化は認められなかった。CDDP 群及び CDDP+本薬群では、対照群 (溶媒/生理食塩液) に比較して体重が減少した。また、BUN 及びクレアチニンが上昇し、尿比重が投与前値及び対照群に比べて減少した。しかしながら、CDDP 群と CDDP+本薬群の比較では、いずれの項目にも有意差は認められなかった。

病理組織学的検査では、腎臓病変 (髄質尿細管の拡張、間質に炎症散見) が CDDP 単独群及び CDDP+本薬群に観察された。発現頻度と病変の程度は両群ほぼ同様であり、CDDP 投与でみられる腎臓病変と一致した変化であった。

以上の結果、ウサギ CDDP 誘発腎障害モデルでは、本薬 50mg/kg 投与による腎障害の悪

化はみられなかった。

ウシ血清アルブミン負荷腎障害モデルでの検討：

CDDP 誘発腎障害とは発現機序は異なるタンパク質負荷により誘発される腎障害として、ウシ血清アルブミン(BSA)負荷ウサギを用いて本薬の腎障害に及ぼす影響が検討された。

試験 1：

ウサギに BSA 5 又は 20mg/kg を第 1 週～第 2 週は週 5 日間、第 3 週～第 6 週は連日静脈内投与し、第 6 週時に本薬 50mg/kg を隔日に計 4 回静脈内投与した(BSA+本薬群)。また、本試験では、試験開始後 5 週間は無処置とし、6 週時に本薬 50mg/kg を隔日に計 4 回静脈内投与する群(本薬群)、第 1 週～第 6 週まで BSA 20mg/kg を静脈内投与し、第 6 週は無処置とする群(BSA 群)を設定している。各群で明確な体重の差や、尿比重及び尿タンパク質濃度にも一貫した変化はみられず、その変化の程度も僅かであった。BSA 投与群(BSA 群及び BSA+本薬群)では、ばらつきはあるものの BUN 及びクレアチニンの上昇を伴う軽度の腎機能障害が認められた。BSA+本薬群の 2/8 羽は、BUN 及びクレアチニンが投与前値の 4～7 倍の高値、また正常範囲の 2～3 倍の高値を示し、中等度の糸球体腎炎が認められている。しかしながら、BSA に対するアナフィラキシー反応による死亡例が認められ、各群の検討例数も少なく、本試験では本薬の BSA 誘発腎障害に及ぼす影響については明確な結論は得られていない。

試験 2：

雄性ウサギに、BSA 20mg/kg 又は生理食塩液を 6 週間連日静脈内投与し、第 7 週目は無処置とし、第 8 週目に溶媒又は本薬 50mg/kg を隔日に計 4 回静脈内投与した(BSA 群、BSA+本薬群)。

BSA 投与期間中、2 羽がアナフィラキシー等で死亡した。また、耳の皮疹が BSA 群(BSA 群及び BSA+本薬群)の 50%に発現したが、この症状は本薬投与前から認められており、BSA 投与によるアナフィラキシー反応を回避する目的で投与した高用量の抗ヒスタミン薬に起因したものと推察されている。BSA 未処置ウサギに本薬を投与したところ、試験期間を通じて尿タンパク質濃度や腎臓の病理組織学的所見に異常は認められていない。

BSA 群では、本薬の併用の有無に関わらず尿タンパク質濃度が上昇したが、個体間のばらつきが大きかった。BSA 群では BUN 及びクレアチニンにも軽微な変化がみられ、軽度の糸球体腎炎を特徴とする腎障害が惹起されたが、いずれの項目にも本薬投与の影響は認められなかった。

本試験では BSA 投与により軽度の腎障害が誘発されたが、本薬 50mg/kg によって BSA による腎障害の増悪は認められなかった。また、本薬 50mg/kg 単独投与による腎障害の惹起も認められていない。

<機構における審査の概要>

1) 回復性について

機構は、カニクイザル反復投与試験では投与終了後では大腿骨遠位端の骨端軟骨異形成がみられ、休薬後には骨幹端の骨髄に壊死が見られていることから、「異形成」と「壊死」の関連について説明を求めた。

申請者は、以下のように回答した。

カニクイザル4週間反復投与試験では、回復期間中も本薬の薬理作用である血管新生の阻害が持続し、成長板への血管侵入の阻害、成長板軟骨（骨端軟骨）の肥厚、過形成性軟骨細胞の集塊、軟骨下骨板形成を特徴とする骨端軟骨異形成が高用量群の雄に認められた。重度の骨端軟骨異形成を認めた個体では、更に骨幹端の骨髄に軽微なびまん性の変性及び壊死が認められた。「骨髄の壊死」とは成長板下の骨髄間質に認められた壊死であり、その発生機序の詳細は不明であるが、壊死は血管新生の場である成長板下で認められていることから、本薬の血管新生阻害作用に関連した骨髄組織の微小環境変化に起因したものと考えられる。回復期間終了後に軽微な骨髄間質の壊死が認められた個体では、重度の骨端軟骨異形成も認められており、骨端軟骨異形成が極めて強く発現した場合に、骨髄間質の壊死が認められることがあるものと推察される。

機構は、骨端軟骨異形成と骨幹端骨髄壊死の関連性については、回復群の検討例数が2匹と少ないため断定することは困難であるが、申請者の説明は概ね了承できると判断した。

次に機構は、カニクイザル26週間反復投与試験で認められた体重低下と雌性生殖器への影響の回復性について説明を求め、申請者は以下のように回答した。

雄の体重低下の回復性について：

本試験では、投与期間中の平均体重が、対照群に比べ、10mg/kg群で5～10%、50mg/kg群で8～13%と有意に低下したが（ $p \leq 0.05$ ）、50mg/kg群の回復群2匹は、休薬により回復する傾向があったと考える。なお、26週間反復投与試験において、本薬群で認められた体重の増加抑制は、骨端軟骨異形成による成長遅延に起因すると考えられ、骨端軟骨異形成についても休薬により回復傾向が認められた。

雌性生殖器への影響と回復性について：

10mg/kg以上群では、投与間隔にかかわらず月経周期の異常（月経の減少）が認められ、投与終了時には子宮重量減少及び子宮内膜の増殖減少が認められた。10mg/kg（週2回）群及び50mg/kg群では、更に卵胞の成熟阻害（早期グラーフ卵胞期で停止）、黄体欠失が確認された。卵胞・黄体の発達には血管新生が深く関連し、卵巣の内卵胞膜では周期的な血管新生が起こり、VEGFによるコントロールが行われている。本薬投与により認められた卵巣機能に対する影響は、活発に血管新生が起こっている組織においてVEGFを介したシグナル伝達を阻害した結果と推察される。回復期間終了時の剖検において、対照群2匹の子宮重量は各々6.3及び14.1gであったのに対して、50mg/kg群2匹では5.4及び6.7gであった。また、月経周期（月経数）も対照群2匹では各々1及び2回、と50mg/kg群2匹では各々0及び1回であり、群間に大きな差は認められなかった。投与終了時の病理組織学的検査では、50mg/kg群の雌全例に黄体欠失と卵胞の成熟阻害がみられたが、回復期間終了時では2匹は卵胞の成熟阻害は認められず、1匹では黄体欠失が認められた。以上の所見から、雌性生殖器に対する本薬の影響は休薬により回復傾向が認められたと考える。

機構は、雄性カニクイザルの体重増加抑制は休薬により回復する傾向が認められているが、体重増加抑制の原因が骨端軟骨異形成による成長遅延に起因すると結論するのは検討例数が1匹で根拠に乏しいと考える。また、雌性生殖器に対する影響については、対照群の子宮重量測定時の月経周期が不明であること、月経回数がゼロ回は月経周期が休止状態あるいは延長かが不明であり、回復性について結論することは困難であると考え、休薬により卵巣・子宮の重量やホルモン（ウサギのプロゲステロン産生能）は回復傾向を示すものの生殖

機能に対する回復性は不明であると判断した。

2) 血管内皮への影響について

機構は、■■■■年■月開催の対面助言では、既存の毒性試験成績において本薬の血管内皮細胞への影響を精査するよう助言しているが、その検討内容と結果について説明を求め、申請者は以下のように回答した。

毒性試験における血管（血管内皮細胞を含む）に対する影響について：

カニクイザルを用いた4週間、13週間及び26週間反復投与試験における病理組織学的検査結果について、大動脈及び各臓器の血管（血管内皮細胞を含む）に対する影響を再検討した結果、いずれの試験においても、本薬の影響と考えられる変化は認められなかった。

VEGF阻害による血管への影響についての文献的考察について：

VEGFは正常な生体及び腫瘍増殖に伴う病的プロセスにおいて血管形成を制御しており、血管内皮細胞の細胞分裂促進・生存因子として作用する。正常な胎児発生における血管形成の重要性は多数報告されており、VEGFノックアウトマウス（VEGF^{-/-}及びVEGF^{+/-}）及びVEGF受容体ノックアウトマウス（Flt-1^{-/-}、KDR^{-/-}）では、妊娠早期の胚死亡、血管系の異常、造血細胞の形成異常及び血管内皮細胞の異常が報告されている。一方、成長段階にある血管と成熟血管ではVEGF阻害剤に対する反応性（影響の程度）が異なることが示唆されているが（Development 126: 1149-59, 1999, Circ Res 94: 984-92, 2004, J Biol Chem 274: 31047-54, 1999, Cell Mol Life Sci 61: 2224-43, 2004）、現時点では、本薬投与により正常カニクイザルで血管内皮細胞に傷害が認められなかった原因は解明されていない。ただし、VEGFに関する研究が活発に行なわれており、今後、知見が積み重ねられることにより、成熟血管におけるVEGFの役割が明らかにされれば、正常カニクイザルで血管内皮細胞の傷害が認められない原因について考察が可能になるものと考ええる。

機構は、成熟血管と新生血管ではVEGFの作用が異なるが、正常カニクイザルの成熟血管で傷害性変化が認められなかった理由については現時点で不明であり、今後の研究に委ねたいと考える。

3) 血栓・塞栓症及び高血圧について

機構は、本薬の臨床使用で見られた血栓・塞栓症及び高血圧の発症機序について、またカニクイザルでこれらの所見が発現しなかった理由について説明を求めた。

申請者は、ヒトでの有害事象発現機序及び正常カニクイザルとの反応性の違いについては不明であるが、現時点では以下のように考察していると回答した。

高血圧の発現機序について：

妊娠高血圧腎症（preeclampsia）では病態初期に胎盤からsFlt1（可溶性VEGFR-1）の分泌が亢進すること、妊娠高血圧腎症患者では血中のVEGF及びplacenta-derived growth factor（PlGF）が低下していること、またラットにsFlt1を投与したとき、血圧が上昇し、尿タンパクが認められ（J Clin Invest 111: 649-58, 2003）、sFlt1によるVEGF及びPlGFの阻害により血圧上昇、尿タンパクが誘発されると推察されている。VEGFのシグナル伝達経路を阻害する他の血管新生阻害剤（vatalanib）も副作用として高血圧が報告されており（Curr Opin Oncol 17: 578-83, 2005）、この経路の阻害が高血圧の発症に関連していることが示唆されている。VEGFにより血管内皮細胞から産生された一酸化窒素（NO）により

血管平滑筋が弛緩し、血管が拡張するという機序も推察されている (Am J Physiol Cell Physiol 280: C1375-86, 2001)。VEGFに誘発されるヒト臍帯静脈内皮細胞からのNO産生は本薬投与により阻害された (Angiogenesis 7: 335-45, 2004)。このような血管内皮細胞におけるVEGF誘導NO産生の阻害も、本薬投与による高血圧の原因の一つとして考えられる。

血栓・塞栓症について：

血管内皮細胞は、抗血栓性と血栓形成の両方の因子を産生し、正常状態においては、抗血栓性因子の産生が血栓形成因子の産生に勝って血液凝固が抑制されている。しかし、がん患者では合併症として血栓症が認められ、凝固系が亢進した状態にあると推察されている。がん細胞から産生されるtissue factor (TF) やcancer procoagulant (CP) 等の血栓形成因子の作用がIL-8、VEGF、TNF- α 及びIL-18等により増強された結果、正常状態では抗血栓性に傾いている血管内皮が凝固系亢進状態になる (Thromb Res 102: V215-24, 2001)。VEGFは、TF、von Willebrand因子等の発現を誘導して血栓形成作用を有する一方で、NO及びPGI₂の産生誘導による血小板凝集の阻害、urokinase-type plasminogen activator、tissue-type plasminogen activatorの発現及びその活性化により、抗血栓作用をも発揮する。したがって、VEGFを阻害した場合には、凝固系・線溶系ともに影響を受けると考えられる。VEGFシグナル阻害作用 (VEGFR-1及び-2の阻害) を有するSU5416の臨床試験で、血栓・塞栓症が発現した患者において投与前から血管内皮細胞の活性化及び凝固系の亢進が認められ、SU5416投与によりそれらが増強されたことが報告されている (Arterioscler Thromb Vasc Biol 22: 1500-5, 2002)。本薬の海外臨床試験 (AVF0780g試験) では、9例でトロンビン時間及び活性化部分トロンビン時間、 α 2 antiplasmin、D-ダイマー及び血小板機能について検討がなされたが、いずれの測定項目にも異常は認められなかった (J Clin Oncol 21: 60-5, 2003、J Clin Oncol 21: 3542-6, 2003)。しかしながら、検討例数が9例と少なく、本薬の凝固系に対する影響については、最終的な結論は得られていないと考える。以上、がん患者では凝固系が亢進状態にある場合が多く、VEGFは血栓形成作用及び抗血栓作用の両方に関与しているが、本薬が凝固系・線溶系にどのように作用しているのか不明であり、現在のところ本薬投与による血栓・塞栓症の増加の機序は解明されていない。

カニクイザルで血栓塞栓症及び高血圧が発現しないことについて：

VEGFによる血管平滑筋細胞の増殖阻害、血管内皮細胞の生存性の維持、血栓形成の抑制及び抗炎症作用は (Am J Physiol Cell Physiol 280: C1375-86, 2001)、VEGFにより血管内皮細胞から産生が誘導されるNO及びPGI₂が主たるメディエータであると推察されている。*in vitro*において、本薬はヒト臍帯静脈内皮細胞のVEGF誘導NO産生を抑制したが、カニクイザル反復投与毒性試験では、1週間あたり臨床推奨用量の20～40倍を投与したが、血圧の変化は認められず、血小板数、プロトロンビン時間、活性化部分トロンビン時間等の凝固系に対する影響も認められなかった。本薬の高血圧及び血栓塞栓症の発現機序は解明されておらず、正常カニクイザルにおいて、血圧及び凝固系に対する影響が認められない理由も明らかでない。本薬の臨床試験において高血圧及び血栓・塞栓症が発現した患者の多くは、既往症又は危険因子を有しており、これらの患者では正常状態では調節可能なVEGF阻害による血圧、凝固系への影響がより顕在化しやすかった可能性が一つとして考えられる。

機構は、本薬投与による血栓・塞栓症及び高血圧の発現機序については、非臨床を含めて

今後も継続して検討する必要があると考える。

4) 性差について

カニクイザル13週間反復投与試験において、骨端軟骨異形成は雄では2mg/kg以上から、雌では10mg/kg以上から発現が認められ、また程度は雄の方が重篤であった。性差の原因が当該試験では雄より雌で成熟個体が多いためと申請者が考察していることに関して、機構は同様の性差が認められる4週反復投与試験成績も含めて骨端軟骨異形成の発症に対し、年齢、性成熟度、卵巣機能等を考慮して説明するよう求めた。

申請者は以下のように回答した。

4週間及び13週間反復投与試験において、大腿骨、上腕骨の成長板への血管侵入の阻害、成長板軟骨層（骨端軟骨）の肥厚、過形成性軟骨細胞の集塊、軟骨下骨板形成といった病理組織学的変化を特徴とする骨端軟骨異形成が認められ、その程度と頻度は投与量の増加に伴い増加したが、雄のほうが雌より重篤であった。しかし、4週間及び13週間投与試験とも血中薬物濃度のトラフ値に性差は認められず、骨端軟骨異形成の性差は曝露量の違いに起因するものではないと考えられた。

成長板の閉鎖には性ホルモンが関与し、カニクイザルの大腿骨及び上腕骨における成長板閉鎖は雄では平均6歳、雌では平均4歳9カ月であることが報告されている（Exp Anim 27: 387-97, 1978）。本薬はVEGFに結合して成長板への血管侵入を阻害（血管新生阻害）し、軟骨内骨化を阻害すると考えられ、投与開始時に成長板閉鎖前の個体では、骨端軟骨異形成に対する感受性が高いと考えられる。4週間及び13週間反復投与試験で用いた雌動物の各群の平均年齢は3.8～4.8歳で、大腿骨及び上腕骨の成長板閉鎖の年齢に近似していた。一方、雄動物の各群の平均年齢は2.5～4歳で、成長板閉鎖の年齢より若年齢であった。なお、試験に用いた雌雄動物の年齢に違いはあったが、体重は雌雄ほぼ同様であった。

使用動物の性成熟度について、4週間反復投与試験の病理組織学的検査で精巢の「未成熟」所見が投与群で多数みられ、殆どの雄動物は投与開始時点において性的に未成熟で、成長板閉鎖前であったと考えられる。一方、13週間反復投与試験では、精巢の「未成熟」所見は高用量の2匹のみであったが、当該試験の投与開始時の雄の年齢は4週間反復投与試験に比べて僅かに高いものの、大きな差はなく、両試験で使用した動物の投与開始時の精巢の成熟度に差はなかったと考えられる。雌性動物の性成熟度の指標の1つとして月経があるが、本薬投与で雌性生殖器に対する影響（26週間反復投与試験：子宮重量減少、子宮内膜増殖減少、卵胞成熟阻害、黄体欠失、月経の減少等）が認められ、13週間反復投与試験においても雌生殖器に対する影響（卵巣・子宮重量減少、黄体減少）が認められ、月経が不規則（減少）になっていることが予想されること、26週間反復投与試験における対照群の性周期は、1周期が1～3カ月であり、4週間反復投与試験の投与期間では月経の有無を正確に観察する期間としては短いことから、4週間及び13週間反復投与試験に用いた雌性動物で月経の有無を正確に把握することは困難であった。

機構は、体重と年齢のみで成熟度を判断し、本薬の骨に及ぼす影響に関する性差の結論を導いていくことは不十分であると考える。本薬や類薬の成熟雄カニクイザルに対する骨端軟骨異形成の発症とそれに対するエストロゲンの影響、雌生殖器での障害に対する機能的回復性等については今後情報を収集し、骨端軟骨異形成の発症についての性差の有無に反映させることが必要であると考える。

4. 臨床試験に関する資料

4.1 生物薬剤学及び関連する分析法に関する資料

<提出された資料の概略>

1) ベバシズマブの定量法

ヒト血清中のベバシズマブの定量は、固相化したrhVEGF(遺伝子組換えヒトVEGF)とヤギ抗ヒトIgG Fc-HRP(検出試薬)を用いたELISA法により行われた。

2) 抗ベバシズマブ抗体の定量法

ヒト血清中の抗ベバシズマブ抗体の定量は、二つの方法により行われた。一つは、ベバシズマブのFab部分に対する抗体を検出するELISA法であり、国内第 相試験JO18157試験の開始以前に開始された海外臨床試験において用いられた。もう一方は、Fc領域を含むベバシズマブ全体に対する抗体を検出する電気化学発光測定法(ECLA法)であり、国内JO18157試験以降に開始された国内外の臨床試験で採用された。なお、固相化したベバシズマブと試料中のVEGFが反応するため、本ECLA法では、血清中VEGF濃度が1ng/mL以上の場合に偽陽性を示す。

3) VEGFの定量法

ヒト血清又は血漿中の内因性VEGFの定量はELISA法により行われた。国内臨床試験では血漿中のベバシズマブ非結合VEGF濃度が、またVEGFが定量されたすべての海外臨床試験では血清又は血漿中の総VEGF濃度(ベバシズマブ結合型VEGF及び遊離型のVEGFの総濃度)が測定された。なお、海外臨床試験のVEGF測定法では、試料中にベバシズマブが100µg/mL以上含まれる場合、VEGF濃度の測定値は真の値より低値を示す。

<機構における審査の概要>

1) VEGF濃度測定に及ぼすベバシズマブの影響について

機構は、試料中ベバシズマブ濃度が100µg/mL以上の場合、VEGF濃度は真の値より低く見積もられること、及び海外AVF0737g試験において本薬投与後の血漿中VEGF濃度の上昇には用量相関性が認められていないことから、国内外の各臨床試験のVEGF濃度測定試料中のベバシズマブ濃度を基に、VEGF濃度が適切に評価されているのか説明するよう求めた。

申請者は、以下のように回答した。

海外臨床試験で用いた総VEGF濃度測定法では、試料中にベバシズマブが100µg/mL共存する場合、総VEGF濃度の測定値は真の値より20~30%低下した。したがって、海外臨床試験で得られた試料のうち、ベバシズマブ濃度が100µg/mL以上の試料(各試験の10mg/kg群及び3mg/kg以上の反復投与群のすべて又は一部)については、共存するベバシズマブがVEGF濃度測定に影響し、その測定値は実際のVEGF濃度より低値を示したと推測される。

一方、国内臨床試験で用いた、ベバシズマブ非結合の遊離型VEGFを測定対象とする市販キット(社製、)のバリデーション試験において、試料中にベバシズマブが3µg/mL以上共存する場合、定量限界未満となることが確認されている。しかし、国内JO18157試験におけるベバシズマブ濃度(最低用量3mg/kg群のトラフ値:7.07µg/mL以上)は、遊離型VEGFの定量に影響を及ぼす3µg/mLを超えていたものの、測定値は定量限界(15.6pg/mL)未満とはならず(3、5及び10mg/kg群でそれぞれ23.81~52.87pg/mL、27.00~67.44pg/mL及び30.17~45.28pg/mL)、バリデーション試験成績と矛盾した。したがって、国内臨床試験で得られた試料では、遊離型VEGFのみで

はなく、ペバシズマブ結合VEGF複合体も測定された可能性があり、真の遊離型VEGF濃度を反映していないと考えられる。

申請者は、国内臨床試験で用いた 社製のキットのバリデーションデータと矛盾したことから、試料中の本薬 - VEGF 複合体を含めて測定されているとして、測定結果が真の遊離型 VEGF 濃度を反映していないと結論付けている。しかし、当該考察の根拠は乏しく、当該現象を十分考察しないことは問題があると考ええる。また、申請者は申請資料中の海外臨床試験において、各用量群の VEGF 濃度推移を定量的に比較・考察しているものの、照会に対する回答において当該測定結果は真の値ではないと説明し、申請資料中の関係する比較・考察内容（「4.2 臨床薬理に関する資料」の項参照）を根本から否定しており、申請資料を作成した申請者としての対応には矛盾がある。

機構は、現時点、提出された資料において本薬投与量（又は血中ペバシズマブ濃度）と血中 VEGF 濃度との関係を定量的に評価することは困難であると判断するが、申請者は得られているデータの矛盾に関して根拠のある考察を行い、当該事項については今後も十分な検討を進める必要がある、と機構は考える。加えて、血中 VEGF 濃度は臨床試験において本薬の薬力学的指標として測定されていたことから、血液試料中の VEGF 定量法が確立された後に、今後、臨床試験等において更なる薬力学的検討が行われる際には、本薬投与後の血中 VEGF 濃度推移と本薬投与量（又は血中ペバシズマブ濃度）との関係についても定量的に評価できるようにすることが本薬の開発者として必要であると考ええる。

4.2 臨床薬理に関する資料

< 提出された資料の概略 >

ヒトにおける本薬のPKは、国内外の臨床試験において各種固形癌患者又は結腸・直腸癌患者を対象に、単剤投与又は他の抗悪性腫瘍薬との併用投与について検討された。なお、乳癌患者、非小細胞肺癌患者及び前立腺癌患者における本薬のPKに関する資料は、参考資料として提出された。

1) 国内臨床試験

(1) 国内第 Ⅰ 相 5-FU/FLV 療法併用試験（試験番号 JO18157）

進行・再発結腸・直腸癌患者18例を対象に、本薬3、5又は10mg/kgを静脈内投与した際の血清中ペバシズマブ濃度が検討された。また、本薬単剤投与3週間後から5-FU/FLV療法（5-FU 500mg/m²及びFLV 250mg/m²を週1回、6週間静脈内投与し、2週間休薬するレジメン）併用下で、単剤投与時と同一用量の本薬を2週毎に静脈内投与した際の血清中ペバシズマブ濃度が検討された。本薬単剤投与時のAUC_{inf}は投与量に比例して増加し、クリアランス（CL）は一定であったことから（下表参照）、線形性が認められたと申請者は考察している。また、本薬のCL及び中心コンパートメント分布容積（V_c）の5-FU/FLV療法併用時/単剤投与時の比（推定値）は、それぞれ0.899及び1.093であり（機構注：承認申請後に提出された薬物動態解析報告書では、それぞれ0.863及び1.118である。）、5-FU/FLV療法の併用により、ペバシズマブのCLは低下傾向、V_cは上昇傾向を示すが、その程度は小さく、PKへの影響は小さいと申請者は考察している。

	3mg/kg	5mg/kg	10mg/kg
AUC _{inf} (µg·day/mL)	852.3 ± 237.4	1387.2 ± 426.9	2810.9 ± 334.8
Vd (mL/kg)	62.50 ± 11.10	73.47 ± 18.34	60.26 ± 8.93
CL (mL/day/kg)	3.80 ± 1.20	3.94 ± 1.34	3.61 ± 0.48

t _{1/2} (day)	12.33 ± 4.52	13.40 ± 2.82	11.68 ± 1.74
--------------------------	--------------	--------------	--------------

平均値 ± 標準偏差、n=6、AUC_{inf}：無限大時間までのAUC

2) 海外臨床試験

(1) 海外第 相単独投与試験 (試験番号AVF0737g)

進行固形癌患者25例を対象に、本薬0.1、0.3、1、3又は10mg/kgを0、28、35及び42日目に静脈内投与した際の血清中本薬濃度が検討された。血清中ペバシズマブ濃度は一相性又は二相性に消失し、0.1及び0.3mg/kg群の二用量群の血清中ペバシズマブ濃度は1～10mg/kg群より急速に低下した(下表参照)。ペバシズマブのCLの平均値及び標準偏差は1～10mg/kg群に比べて0.1及び0.3mg/kg群の二用量群で大きく、V_cは血清容積と同程度であり、定常状態分布容積(V_{ss})及びV_cは本薬用量によらずほぼ一定であった。CL及びV_cは1～10mg/kgの範囲で変動せず、線形性が認められた。また、初回投与時データ又は初回投与後72日目までの全データに基づくPKパラメータの差異は小さかったことから、本薬反復投与時のPKは単回投与時と同等であり、単回投与時のPKから反復投与時のPKを予測可能であると申請者は考察している。

	0.1mg/kg、N=5	0.3mg/kg、N=5	1mg/kg、N=5	3mg/kg、N=4	10mg/kg、N=5
CL (mL/day/kg)	9.29 ± 7.07	5.07 ± 2.39	3.27 ± 0.81	3.65 ± 2.10	2.75 ± 0.47
V _c (mL/kg)	48.0 ± 17.4	48.6 ± 13.0	37.9 ± 7.77	41.4 ± 12.0	43.5 ± 12.6
V _{ss} (mL/kg)	50.1 ± 17.0	60.3 ± 7.30	60.4 ± 18.8	53.4 ± 12.0	53.0 ± 10.9
t _{1/2} initial (day) ^a	NA	1.9	1.30 ± 0.535	0.844	2.17
t _{1/2} terminal (day) ^b	5.21 ± 2.41	10.4 ± 5.34	14.7 ± 6.92	12.8 ± 6.60	14.2 ± 3.36
MRT (day)	7.40 ± 3.44	13.9 ± 6.11	19.9 ± 9.25	18.1 ± 9.36	19.3 ± 3.18

初回投与後72日目までの全データを用いた解析結果、平均値 ± 標準偏差

^a：2-コンパートメントモデルで解析した患者のみで算出 (n=1～4)

^b：1-コンパートメントモデルで解析した患者ではt_{1/2}を、2-コンパートメントモデルで解析した患者ではt_{1/2β}を用いた。

(2) 海外第 相併用投与試験 (試験番号AVF0761g)

進行固形癌患者12例を対象に、他の抗悪性腫瘍薬との併用下で本薬3mg/kgを週1回、8週間静脈内投与した際の血清中ペバシズマブ濃度が検討された。併用された抗悪性腫瘍薬は、塩酸ドキシソルピシン (DXR) (0及び28日目に50mg/m²を静脈内投与)、CBDCA/PTX (0及び28日目にCBDCA AUC = 6mg・min/mL及びPTX 175mg/m²を静脈内投与)又は5-FU/LV療法 (5-FU 500mg/m²及びLV 20mg/m²を週1回、6週間静脈内投与)であった。血清中ペバシズマブ濃度のPKパラメータは、いずれの群においてもほぼ等しく、本試験で得られたPKデータを併合解析した本薬のCL、V_c及びMRTの平均値 ± 標準誤差は、それぞれ3.11 ± 0.792mL/day/kg、56.8 ± 12.2mL/kg及び18.8 ± 3.98dayであり、また本薬を単独投与したAVF0737g試験成績と同程度であった(「4.2 臨床薬理に関する資料 2」(1)海外第 相単独投与試験」の項参照)。したがって、DXR、CBDCA/PTX、又は5-FU/LV併用時における本薬のPKは本薬単独投与時と比べて明確な違いは認められなかったと申請者は考察している。

また、各抗悪性腫瘍薬の初日及び28日目又は35日目の血漿中薬物濃度に大きな変動はなく、当該抗悪性腫瘍薬のPKは本薬投与によっても変動しないと申請者は考察している。

(3) 海外第 相5-FU/LV療法併用投与試験 (試験番号AVF0780g)

転移性結腸・直腸癌患者104例(本薬の薬物動態解析対象は62例)を対象に、5-FU/LV療法 (5-FU 500mg/m²及びLV 500mg/m²を週1回、6週間静脈内投与し、2週間休薬するレジ

メン)併用下で、本薬5又は10mg/kgを2週毎に静脈内投与した際の血清中ペバシズマブ濃度が検討された。本薬のトラフ濃度は反復投与後に上昇し、100日目までに定常状態に達した。本薬の投与量によらずCL及びVcは一定であり(それぞれ2.78~2.79mL/day/kg及び45.4~46.1mL/kg)、本試験成績とAVF0737g試験成績(「4.2 臨床薬理に関する資料 2」)(1)海外第 相単独投与試験」の項参照)との間に大きな差異はなかったと申請者は述べている。

(4) 海外第 相IFL療法併用投与試験(試験番号AVF2107g)

転移性結腸・直腸癌患者923例(本薬の薬物動態解析対象は214例、塩酸イリノテカン及びその代謝物の薬物動態解析対象はそれぞれ67例及び68例)に、IFL療法又は5-FU/LV療法併用下で本薬5mg/kgを2週毎に静脈内投与し、血清中ペバシズマブ濃度の母集団薬物動態(PPK)解析が実施された。IFL療法は、塩酸イリノテカン125mg/m²、5-FU 500mg/m²及びLV 20mg/m²を週1回、4週間静脈内投与し、2週間休薬するレジメンとし、5-FU/LV療法は、5-FU 500mg/m²及びLV 500mg/m²を週1回、6週間静脈内投与し、2週間休薬するレジメンとした。

患者数	214
母集団平均値 [CL (mL/h)]	10.2 (2.80)
母集団平均値 [Vc (mL)]	3230 (2.00)
個体間変動 [ωCL (%)]	30.8 (10.5)
個体間変動 [ωVc (%)]	18.7 (30.1)
個体内変動 [σProp (%)]	12.4 (38.4)
個体内変動 [σAdd (μg/mL)]	16.7 (18.3)

体重80kgの場合(母集団薬物動態解析対象患者の体重中央値は78.0kg)、血清中ペバシズマブ濃度のCL及びVcはそれぞれ3.06mL/kg/day及び40.3mL/kgであり、同一の5-FU/LV療法を併用したAVF0780g試験成績(5mg/kg群:それぞれ2.79mL/kg/day及び45.4mL/kg)と同等であった。IFL療法及び5-FU/LV療法併用下の血清中ペバシズマブ濃度のトラフ値(平均値±標準偏差)は、初回投与後14日目ではそれぞれ28.6±10.6及び32.5±18.8μg/mLであり、84日目ではそれぞれ83.6±31.4及び77.0±26.9μg/mLであった。IFL療法+本薬群と5-FU/LV療法+本薬群の血清中ペバシズマブ濃度はほぼ等しく、5-FU/LV療法と本薬を併用するレジメンに塩酸イリノテカンを追加してもペバシズマブのPKは影響を受けないと申請者は考察している。

また、IFL療法施行例において、イリノテカンとその活性代謝物(SN-38)の血漿中濃度が検討された。本薬併用群と非併用群のAUC_{0-t}比(併用群28例/非併用群36例、塩酸イリノテカン用量で補正)は、イリノテカンでは1.10、SN-38では1.33であった。本薬併用群でSN-38のAUCが大きかったことが本薬の影響によるか否か、現時点では不明であると申請者は考察している(機構注:照会事項に対する回答において、FOLFIRI療法と併用した海外臨床試験成績が示された。「4.2 臨床薬理に関する資料 <機構における審査の概略>の項参照)。

なお、参考資料として提出された、転移性乳癌患者を対象とした海外第 相試験(AVF2119g試験)において、本薬併用時のカペシタビン及びその代謝物のPKが検討されたが、試験成績のばらつきが大きく、薬物動態学的相互作用に関する明確な結論は得られなかった旨が示されている。

(5) 母集団薬物動態解析 (試験番号AVF0737g、AVF0761g、AVF0780g、AVF2107g、AVF0755g、AVF0776g、AVF0757g、AVF2119g)

癌患者491例を対象に、本薬1~20mg/kgを1週、2週又は3週間隔で静脈内投与した海外8試験成績を基にPPK解析が実施され、共変量が探索された。その結果、CLに対して、性別、体重、アルブミン、アルカリホスファターゼ、AST及び化学療法の種類の影響が認められた。また、Vcについては、性別、体重及びアルブミンの影響が認められた。

本薬のCLは、アルブミン又はアルカリホスファターゼが中央値である患者に比べ、血清アルブミン濃度が低い(29g/L:5パーセントタイル)患者で19.3%高く、アルカリホスファターゼ濃度が高い(483IU/L:95パーセントタイル)患者で23.0%高かった。また、CLは男性の方が女性よりも26.4%高く、共変量中央値を仮定した女性患者及び男性患者において、CLはそれぞれ0.207及び0.262L/dayであり、Vcはそれぞれ2.66及び3.25Lであった。本薬のCLは本薬単独群と本薬+IFL療法群で同等であったが、5-FU/LV療法、CBDCA/PTX療法、カペシタピン又はDXR併用時には、本薬単独投与時よりも17.4%低下した。

3) VEGF濃度を指標とした薬力学的検討

本薬はVEGFに結合し、リガンドの受容体への結合を阻害する結果、血管新生及び腫瘍の増殖を阻害するため、バイオマーカーとして血清/血漿中総VEGF濃度が検討された。(機構注:照会事項回答において、国内外の各臨床試験におけるVEGF定量法は十分にバリデートされたものではない旨が、申請者より示されている(「4.1 生物薬剤学及び関連する分析法に関する資料」の項参照)。

(1) 海外臨床試験

本薬単独投与について検討された海外AVF0737g試験において、0.1及び0.3mg/kg群の血清中総VEGF濃度は試験期間中ほぼ一定であったが、1~10mg/kg群では、投与後7日目には血清中総VEGF濃度は上昇し、その後低下した(機構注:1mg/kg投与群の血清中総VEGF濃度は3mg/kg投与群より上昇した。)。初回投与後28日目、35日目及び42日目に本薬を静脈内投与すると、血清中総VEGF濃度は更に上昇した。本薬10mg/kgの週1回投与で、血清中VEGF濃度はベースライン値の約10倍に達した。最終投与後、血清中総VEGF濃度は低下したものの、観察期間終了時(初回投与後72日、最終投与後30日)には投与前値までは低下しなかった。血清中総VEGF濃度の上昇は、本薬-VEGF複合体の形成に伴うCLの低下に起因すると申請者は考察している。なお、本薬-VEGF複合体の形成によりVEGFのCLが低下する現象は、ラットを用いた非臨床試験においても示されている(「3.2 薬物動態試験に関する資料」の項参照)。

抗悪性腫瘍薬との併用について検討されたAVF0761g試験及びAVF0780g試験において、DXR、CBDCA/PTX療法又は5-FU/LV療法併用下で本薬3~10mg/kgを静脈内投与した際にも、平均血清中総VEGF濃度は投与前値より上昇した。

(2) 国内臨床試験

申請時資料には、国内JO18157試験における血漿中VEGF濃度の測定結果は示されていない。なお、申請後に機構からの照会事項に対する回答として提出された当該試験のPK解析報告書において、血漿中VEGF濃度について以下のように記載されている。

JO18157試験において、本薬投与後の血漿中VEGF濃度は、本薬3mg/kg群では初回投与後8時間まで、5及び10mg/kg群では初回投与後24時間まで、定量下限値未満を示した後、

徐々に投与前値に回復する傾向にあった。また、初回投与3週後の本薬投与後も、血漿中VEGF濃度推移は初回投与後と同様であった。本薬の投与回数の増加に伴い、血漿中VEGF濃度が定量下限値未満になる症例は徐々に減少した。また、血漿中VEGFの濃度推移についてはいずれの投与群でも大きな差は認めなかった。JO18157試験における本薬投与後の見かけの血漿中VEGF濃度は海外臨床試験とは異なる推移を示したが、平均血清中ペバシズマブ濃度は5回目投与までは上昇傾向にあるにもかかわらず、血漿中VEGF濃度の減少幅は投与回数の増加に伴い小さくなったことから、血漿中総VEGF濃度は海外臨床試験成績と同様に、投与回数の増加に伴い増加している可能性がある。

4) 抗ペバシズマブ抗体検査

国内JO18157試験において、本薬投与前に3/18例(5mg/kg群 1例、10mg/kg群 2例)が、また、試験終了時(本薬最終投与3週間後)に4/4例(3mg/kg群及び5mg/kg群 各2例)が、血清中抗ペバシズマブ抗体検査で陽性反応を示した(20■■年■■月■■日データカットオフ)。

本薬投与前の抗体反応陽性例(症例No. #X1、#X2、#X3)と陰性例の血清中ペバシズマブ濃度推移に大きな差は認められなかった。また、初回投与から2回目投与直前までのペバシズマブ濃度の経時推移からノンコンパートメント解析により得られたPKパラメータ(CL、Vd、 $t_{1/2}$ 及びMRT)についても、投与前の抗体検査結果によらず同程度であった。当該3例は、試験開始前には本薬投与の経験がないこと、初回投与時と反復投与時のPKパラメータに大きな差異がないこと、抗ペバシズマブ抗体陰性例と比べてPKに明らかな差異がないこと、及び試験期間中に本薬を複数回投与しているにもかかわらず、投与中及び投与後に過敏症反応が明らかに疑われる有害事象は認められなかったことから、国内臨床試験における陽性反応は本薬に非特異的に結合する物質を検出した偽陽性反応である可能性が高いと申請者は考察している。

一方、本薬最終投与3週間後の抗体反応陽性例(症例No. #X4、#X5、#X6、#X1)のうち、本薬投与前の抗体反応が陰性であった3例(症例No. #X4、#X5、#X6)のCL及びVcは、1例(症例No. #X6)のCLを除き、単回及び反復投与時のPKパラメータの変化は少なかった(機構注:症例No. #X6の反復投与時のCLは、単回投与時の約1/2に低下した)。また、本薬投与前及び最終投与3週間後の抗体検査がいずれも陽性であった1例(症例No. #X1)についても、初回投与時と反復投与時のCLの差は7.79%、Vcの差は-4.02%であり、大きな変動は認められなかった。なお、当該4例についても、本薬投与前及び投与後に過敏症反応と明らかに疑われる有害事象の発現は認められていない。血清中VEGF濃度が高い場合には検査結果は偽陽性を示すこと、及び本薬によりVEGFの消失が遅延し、血漿中VEGF濃度が上昇することを考え併せると、最終投与3週間後の抗体検査において抗ペバシズマブ抗体を検出したのか否かは不明である。このような状況を踏まえ、本薬最終投与3週後に抗体検査で陽性を示した4例については、血清から本薬が十分に消失し、VEGF濃度が本薬の投与前値まで低下すると考えられる最終投与3カ月以降に再度検査をする予定であると申請者は説明している。

以上、本薬のPKは、抗体反応陽性例と陰性例とで大きな差異はないと申請者は考察している。なお、国内外の臨床試験で用いた抗ペバシズマブ抗体検査法は異なるため(「4.1生物薬剤学及び関連する分析法に関する資料」の項参照)、試験成績を単純に比較することは困難であるが、海外臨床試験の抗体検査において、本薬投与前では4/837例が陽性であり、本薬投与後に検査した494例に陽性例は認められていない。

新薬承認情報提供時に置き換えた