KW-3357

第 2 部（モジュール 2）：
CTD の概要（サマリー）

2.6　非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.1　緒言

協和発酵キリン株式会社

CONFIDENTIAL

略号及び用語の定義一覧

略号

略号	略していない用語
DIC	Disseminated intravascular coagulation（汎発性血管内凝固症候群）

2.6.1 緒言

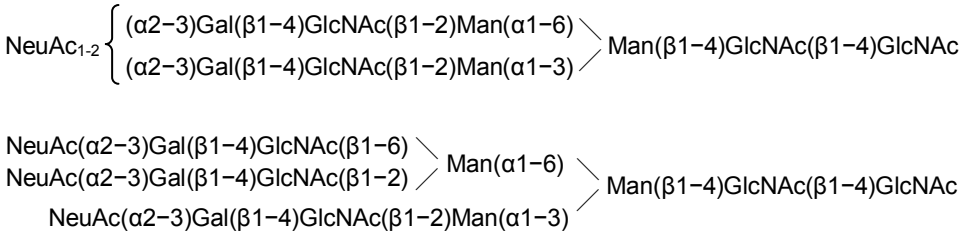
KW-3357（一般名：アンチトロンビン　ガンマ（遺伝子組換え））は、遺伝子組換え技術によって Chinese hamster ovary 細胞で産生された 432 個のアミノ酸からなる糖タンパク質である（図 2.6.1-1）。KW-3357 の分子量は約 57000 であり、そのアミノ酸配列及び分子内ジスルフィド結合はヒトアンチトロンビンと同一である。KW-3357 はヒト及び実験動物においてアンチトロンビン活性を有しており、血漿由来アンチトロンビン製剤と同様に血漿凝固時間を延長する。また、ラット汎発性血管内凝固症候群（DIC）モデルにおいて、血液凝固抑制作用を示す。

```
  1  HGSPVDICTA KPRDIPMNPM CIYRSPEKKA TEDEGSEQKI PEATNRRVWE
 51  LSKANSRFAT TFYQHLADSK NDNDNIFLSP LSISTAFAMT KLGACNDTLQ
101  QLMEVFKFDT ISEKTSDQIH FFFAKLNCRL YRKANKSSKL VSANRLFGDK
151  SLTFNETYQD ISELVYGAKL QPLDFKENAE QSRAAINKWV SNKTEGRITD
201  VIPSEAINEL TVLVLVNTIY FKGLWKSKFS PENTRKELFY KADGESCSAS
251  MMYQEGKFRY RRVAEGTQVL ELPFKGDDIT MVLILPKPEK SLAKVEKELT
301  PEVLQEWLDE LEEMMLVVHM PRFRIEDGFS LKEQLQDMGL VDLFSPEKSK
351  LPGIVAEGRD DLYVSDAFHK AFLEVNEEGS EAAASTAVVI AGRSLNPNRV
401  TFKANRPFLV FIREVPLNTI IFMGRVANPC VK
```

－：ジスルフィド結合（C^{8}-C^{128}、C^{21}-C^{95} 及び C^{247}-C^{430}）

N^{96}、N^{135}、N^{155} 及び N^{192}：糖鎖結合位置

主な糖鎖の推定構造：



GlcNAc: *N*-アセチルグルコサミン、Man: マンノース、NeuAc: N-アセチルノイラミン酸

図 2.6.1-1　KW-3357 の構造

本申請における効能・効果及び用法・用量の案は以下のとおりである。なお、効能・効果及び用法・用量での DIC の表記は、近年、より一般的に使用される「播種性血管内凝固症候群」とした。

【効能・効果（案）】

先天性アンチトロンビン欠乏に基づく血栓形成傾向

アンチトロンビン低下を伴う播種性血管内凝固症候群（DIC）

【用法・用量（案）】

本剤を添付の注射用水で溶解し、緩徐に静注もしくは点滴静注する。

1. 先天性アンチトロンビン欠乏に基づく血栓形成傾向
   1 日 1 回 24～72 国際単位/kg を投与する。
2. アンチトロンビン低下を伴う播種性血管内凝固症候群（DIC）
   通常、成人には、1 日 1 回 36 国際単位/kg を投与する。

なお、患者の状態に応じて適宜増減するが、1 日量として 72 国際単位/kg を超えないこと。

KW-3357

第 2 部（モジュール 2）：
CTD の概要（サマリー）

2.6　非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.2　薬理試験の概要文

協和発酵キリン株式会社

CONFIDENTIAL

略号及び用語の定義一覧

略号

略号	略していない用語
APTT	Activated partial thromboplastin time（活性化部分トロンボプラスチン時間）
AT	Antithrombin（アンチトロンビン）
DIC	Disseminated intravascular coagulation（汎発性血管内凝固症候群）
GFD	Glomerular fibrin deposition（腎糸球体フィブリン沈着率）
LPS	Lipopolysaccharide（リポポリサッカライド）
pAT	Plasma derived antithrombin（ヒト血漿由来アンチトロンビン）
PT	Prothrombin time（プロトロンビン時間）

用語の定義

用語	定義
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
IU	国際単位
LD	乳酸脱水素酵素

目次

略号及び用語の定義一覧 2
目次 3
2.6.2 薬理試験の概要文 4
2.6.2.1 まとめ 4
2.6.2.2 効力を裏付ける試験 4
2.6.2.2.1 ヒト血漿凝固時間への影響（4.2.1.1-1） 4
2.6.2.2.2 LPS 誘発凝固亢進モデルにおける作用（4.2.1.1-2） 5
2.6.2.2.3 トロンボプラスチン誘発凝固亢進モデルにおける作用（4.2.1.1-3） 6
2.6.2.3 副次的薬理試験 7
2.6.2.4 安全性薬理試験（4.2.3.2-2、4.2.3.2-6） 7
2.6.2.4.1 心血管系に及ぼす影響 7
2.6.2.4.2 中枢神経系に及ぼす影響 7
2.6.2.4.3 呼吸系に及ぼす影響 8
2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用 8
2.6.2.5.1 LPS 誘発凝固亢進モデルにおける未分画ヘパリンとの併用作用（4.2.1.4-1） 8
2.6.2.6 考察及び結論 10
2.6.2.7 図表 10
2.6.2.8 参考文献 10

2.6.2 薬理試験の概要文

2.6.2.1 まとめ

KW-3357 の薬力学的特性を明らかにする目的で、効力を裏付ける試験を実施し、併せてヒト血漿由来アンチトロンビン（pAT）製剤であるノイアート®と効力を比較した。更に 2 週間の KW-3357 反復投与毒性試験において、心血管系、中枢神経系及び呼吸系に及ぼす影響を評価した。

ヒト新鮮血漿に KW-3357 又はノイアート®を添加し、ヘパリン存在下で凝固時間を計測した。KW-3357 又はノイアート®の存在下で、血漿凝固時間の延長が認められ、KW-3357 はノイアート®と同程度に血漿凝固時間を延長させた。

ラットを用いた汎発性血管内凝固症候群（DIC）モデルであるリポポリサッカライド（LPS）誘発凝固亢進モデル及びトロンボプラスチン誘発凝固亢進モデルを用いて KW-3357 及びノイアート®の薬効を比較した。LPS 又はトロンボプラスチンの投与により、血小板数及びフィブリノーゲンの減少、プロトロンビン時間（PT）及び活性化部分トロンボプラスチン時間（APTT）の延長並びに血漿中アンチトロンビン（AT）活性の低下を生じた。KW-3357 投与群及びノイアート®投与群のいずれにおいても、血小板数及びフィブリノーゲンの減少、PT 及び APTT の延長並びに血漿中 AT 活性の低下が有意に抑制された。いずれの検査項目においても KW-3357 とノイアート®の抑制作用に有意な差は認められなかった。

ラット LPS 誘発凝固亢進モデルを用いて未分画ヘパリンとの併用作用を比較した。未分画ヘパリンと KW-3357 又はノイアート®との併用投与群では、血小板数及びフィブリノーゲンの減少が抑制された。また、血漿中 AT 活性の上昇が認められた。一方、APTT は未分画ヘパリンの投与により延長され、KW-3357 又はノイアート®と併用投与することで更に延長された。いずれの検査項目についても、ヘパリン併用時の KW-3357 とノイアート®の作用に有意な差は認められなかった。

安全性薬理試験として、ラット及びカニクイザルを用いた 2 週間反復投与毒性試験において、心血管系、中枢神経系及び呼吸系に及ぼす影響を評価した。その結果、一般状態の観察並びに体温、血圧及び心電図パラメータの測定において、KW-3357 投与に起因したと考えられる異常は観察されず、KW-3357 は心血管系、中枢神経系及び呼吸系の機能に直接的な影響を及ぼさないと考えられた。

以上の結果から KW-3357 は血液凝固抑制作用を有し、その作用はノイアート®と同程度であった。更に KW-3357 の血液凝固抑制作用に関する未分画ヘパリンとの併用作用においてもノイアート®と同程度であると考えられた。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

2.6.2.2.1 ヒト血漿凝固時間への影響（4.2.1.1-1）

血漿凝固への影響を検討するため、ヒト新鮮血漿に KW-3357 又はノイアート®を添加し、血漿凝固時間を計測した。外因系凝固抑制の指標として PT を、内因系凝固抑制の指標として APTT を用いた。PT 及び APTT は、それぞれヘパリン 2 及び 0.2 U/mL 存在下で計測した。

PT に対する KW-3357 の評価において、ヘパリン（2 U/mL）単独の凝固時間は、47.90±6.79 秒であったのに対して、3 IU/mL の KW-3357 を併用すると、66.16±9.57 秒に延長した。APTT に対

する KW-3357 の評価において、ヘパリン（0.2 U/mL）単独の凝固時間は、69.68±6.21 秒であったのに対して、3 IU/mL の KW-3357 を併用すると、86.94±7.19 秒に延長した。KW-3357 の PT 及び APTT に対する作用は、ノイアート®のそれと比較して統計学的に有意な差は認められなかった（Student の *t* 検定、有意水準 5%）（表 2.6.2.2.1-1）。

表2.6.2.2.1-1　ヒト血漿凝固時間に対する影響

1）KW-3357

	KW-3357（IU/mL）			
	0	1	2	3
PT（秒）	47.90±6.79	55.44±7.81	61.04±7.18	66.16±9.57
APTT（秒）	69.68±6.21	73.94±5.40	81.84±6.41	86.94±7.19

平均値±標準誤差（n=5）

2）ノイアート®

	ノイアート®（IU/mL）			
	0	1	2	3
PT（秒）	45.68±6.56	51.74±7.04	58.60±8.88	64.76±8.10
APTT（秒）	68.38±4.67	78.58±5.72	82.78±6.78	87.58±4.53

平均値±標準誤差（n=5）

2.6.2.2.2　LPS 誘発凝固亢進モデルにおける作用（4.2.1.1-2）

ラットを用いた DIC モデルの一つである LPS 誘発凝固亢進モデルにおける KW-3357 及びノイアート®の薬効を比較した。雄性 Crl:CD（SD）系ラットに LPS を 4 時間かけて持続的に静脈内注入した。KW-3357 又はノイアート®は、それぞれ 250 IU/kg を LPS 注入開始直前に静脈内投与した。LPS 注入終了から 3 時間後に採血し、血小板数、PT、APTT、フィブリノーゲン、血漿中 AT 活性、LD、AST 及び ALT の測定を行った。また、腎における血栓形成の指標として、腎糸球体フィブリン沈着率（GFD）を評価した。

LPS を投与した対照群では、血小板数及びフィブリノーゲンの減少、PT 及び APTT の延長、血漿中 AT 活性の低下、LD、AST 及び ALT の上昇、並びに GFD の上昇が認められた。KW-3357 投与群及びノイアート®投与群のいずれの投与群においても、これらすべての検査項目の変化は統計学的に有意に抑制された。また、両薬剤の抑制作用に統計学的に有意な差は認められなかった（表 2.6.2.2.2-1）。

表2.6.2.2.2-1　LPS 誘発凝固亢進モデルにおける影響

1）KW-3357

検査項目	正常群 1	対照群 1	KW-3357 投与群
血小板数（×10^4 cell/μL）	137.42±5.42***	32.90±3.51	60.63±3.32***
PT（秒）	15.64±0.30†††	23.30±1.29	17.07±0.30†††
APTT（秒）	19.03±0.21†††	32.82±1.56	24.90±0.42†††
フィブリノーゲン（mg/dL）	238.6±4.8***	64.2±4.6	136.5±8.8***
AT 活性（%） a)	100.6±2.2***	57.0±3.4	192.4±4.4***
LD（IU/L）	176.3±10.1†††	11684.0±2199.0	2368.5±469.2††
AST（IU/L）	109.8±4.3††	964.3±198.3	338.7±31.9†
ALT（IU/L）	38.1±1.7††	317.4±83.8	69.2±6.0†
GFD（%）	0.0±0.0‡‡	10.7±3.6	0.3±0.3‡‡

平均値±標準誤差（n=10）
***P<0.001 vs 対照群 1（Student の t 検定）
†P<0.05, ††P<0.01, †††P<0.001 vs 対照群 1（Aspin-Welch 検定）
‡‡P<0.01 vs 対照群 1（Wilcoxon の順位和検定）
正常群 1 には LPS の溶媒及び KW-3357 の溶媒を投与。対照群 1 には KW-3357 の溶媒及び LPS を投与。KW-3357 投与群には LPS 及び KW-3357 を投与。
a) 合成基質法に基づく抗 Factor Xa 活性を測定、既知濃度のヒト標準血漿を標準物質とし、ヒト標準活性に対する相対活性として算出、動物由来の活性を含む

2）ノイアート®

検査項目	正常群 2	対照群 2	ノイアート®投与群
血小板数（×10^4 cell/μL）	130.06±5.87***	31.50±4.48	62.73±3.74***
PT（秒）	15.40±0.16†††	23.31±0.85	17.01±0.23†††
APTT（秒）	18.88±0.21†††	32.36±1.32	25.21±0.62†††
フィブリノーゲン（mg/dL）	232.1±6.8***	62.4±5.4	142.5±8.4***
AT 活性（%） a)	101.9±2.1***	59.5±3.5	190.1±2.7***
LD（IU/L）	187.5±13.2††	11908.7±3317.6	2354.5±269.3†
AST（IU/L）	112.5±3.7††	894.2±192.5	341.4±22.8†
ALT（IU/L）	38.3±2.0††	376.3±101.5	61.2±5.4†
GFD（%）	0.0±0.0‡‡	13.4±7.2	0.1±0.1‡‡

平均値±標準誤差（n=10）
***P<0.001 vs 対照群 2（Student の t 検定）
†P<0.05, ††P<0.01, †††P<0.001 vs 対照群 2（Aspin-Welch 検定）
‡‡P<0.01 vs 対照群 2（Wilcoxon の順位和検定）
正常群 2 には LPS の溶媒及びノイアート®の溶媒を投与。対照群 2 にはノイアート®の溶媒及び LPS を投与。ノイアート®投与群には LPS 及びノイアート®を投与。
a) 合成基質法に基づく抗 Factor Xa 活性を測定、既知濃度のヒト標準血漿を標準物質とし、ヒト標準活性に対する相対活性として算出、動物由来の活性を含む

2.6.2.2.3　トロンボプラスチン誘発凝固亢進モデルにおける作用（4.2.1.1-3）

ラットを用いた DIC モデルの一つであるトロンボプラスチン誘発凝固亢進モデルにおける KW-3357 及びノイアート®の薬効を比較した。雄性 Crl:CD（SD）系ラットにトロンボプラスチンを 4 時間かけて持続的に静脈内注入した。KW-3357 又はノイアート®は、それぞれ 250 IU/kg をトロンボプラスチン注入開始直前に静脈内投与した。トロンボプラスチン注入終了から 1 時間後に採血し、血小板数、PT、APTT、フィブリノーゲン及び血漿中 AT 活性の測定を行った。

トロンボプラスチンを投与した対照群では、血小板数及びフィブリノーゲンの減少、PT 及び APTT の延長並びに血漿中 AT 活性の低下が認められた。KW-3357 投与群及びノイアート®投与群のいずれの投与群においても、これらすべての検査項目の変化は統計学的に有意に抑制された。また、両薬剤の抑制作用に統計学的に有意な差は認められなかった（表 2.6.2.2.3-1）。

表2.6.2.2.3-1　トロンボプラスチン誘発凝固亢進モデルにおける影響

1）KW-3357

検査項目	正常群 1	対照群 1	KW-3357 投与群
血小板数（×10^4 cell/μL）	127.2±5.1***	44.9±2.5	73.1±3.0***
PT（秒）	15.7±0.2†††	24.0±1.2	17.0±0.5†††
APTT（秒）	20.8±0.5†††	42.8±2.9	30.3±1.5**
フィブリノーゲン（mg/dL）	222.3±5.5***	39.6±3.8	76.1±8.4**
AT 活性（%） a)	98.0±2.9**	81.8±3.1	220.1±8.4†††

平均値±標準誤差（n=8）
***P*<0.01, ****P*<0.001 vs 対照群 1（Student の *t* 検定）
†††*P*<0.001 vs 対照群 1（Aspin-Welch 検定）
正常群 1 にはトロンボプラスチンの溶媒及び KW-3357 の溶媒を投与。対照群 1 には KW-3357 の溶媒及びトロンボプラスチンを投与。KW-3357 投与群にはトロンボプラスチン及び KW-3357 を投与。
a) 合成基質法に基づく抗 Factor Xa 活性を測定、既知濃度のヒト標準血漿を標準物質とし、ヒト標準活性に対する相対活性として算出、動物由来の活性を含む

2）ノイアート®

検査項目	正常群 2	対照群 2	ノイアート®投与群
血小板数（×10^4 cell/μL）	120.8±5.6***	44.3±4.1	74.6±6.0***
PT（秒）	15.5±0.2†††	22.5±1.0	16.8±0.5***
APTT（秒）	20.7±0.2†††	41.2±2.6	28.4±1.4***
フィブリノーゲン（mg/dL）	220.2±3.7***	42.3±3.3	86.8±13.3†
AT 活性（%） a)	101.3±2.0***	80.0±2.0	213.0±7.9†††

平均値±標準誤差（n=8）
****P*<0.001 vs 対照群 2（Student の *t* 検定）
†*P*<0.05, †††*P*<0.001 vs 対照群 2（Aspin-Welch 検定）
正常群 2 にはトロンボプラスチンの溶媒及びノイアート®の溶媒を投与。対照群 2 にはノイアート®の溶媒及びトロンボプラスチンを投与。ノイアート®投与群にはトロンボプラスチン及びノイアート®を投与。
a) 合成基質法に基づく抗 Factor Xa 活性を測定、既知濃度のヒト標準血漿を標準物質とし、ヒト標準活性に対する相対活性として算出、動物由来の活性を含む

2.6.2.3　副次的薬理試験

該当する試験は実施していない。

2.6.2.4　安全性薬理試験（4.2.3.2-2、4.2.3.2-6）

2.6.2.4.1　心血管系に及ぼす影響

カニクイザルを用いた 2 週間反復投与毒性試験（2.6.6.3.5）において、血圧及び心電図パラメータを測定し、KW-3357 の心血管系に及ぼす影響を評価した。1000 IU/kg/日投与群において重篤な貧血が認められた雄 1 例で、血圧の低下が認められた。この変化は、KW-3357 の血液凝固抑制作用に起因した重度の出血による二次的な変化と考えられた。その他の動物では試験期間を通して血圧に KW-3357 の影響は認められなかった。また、すべての動物において、心電図に KW-3357 の影響は認められなかった。

2.6.2.4.2　中枢神経系に及ぼす影響

ラットを用いた 2 週間反復投与毒性試験（2.6.6.3.2）における一般状態観察により、KW-3357 の中枢神経系に及ぼす影響を評価した。その結果、中枢神経系に KW-3357 の影響は認められなかった。

カニクイザルを用いた 2 週間反復投与毒性試験（2.6.6.3.5）において、一般状態観察及び体温測定により、KW-3357 の中枢神経系に及ぼす影響を評価した。1000 IU/kg/日投与群において重

篤な貧血が認められた雄 1 例で、体温の低下及び自発運動の減少が認められた。これらの変化は KW-3357 の血液凝固抑制作用に起因した重度の出血による二次的な変化と考えられた。その他の動物では試験期間を通して同様な変化は認められなかった。

2.6.2.4.3 呼吸系に及ぼす影響

ラットを用いた 2 週間反復投与毒性試験（2.6.6.3.2）における一般状態観察により、KW-3357 の呼吸系に及ぼす影響を評価した。その結果、呼吸系に KW-3357 の影響は認められなかった。

カニクイザルを用いた 2 週間反復投与毒性試験（2.6.6.3.5）において、一般状態観察により、KW-3357 の呼吸系に及ぼす影響を評価した。その結果、呼吸系に KW-3357 の影響は認められなかった。

ラット及びカニクイザルの 2 週間反復投与毒性試験における一般状態観察において、呼吸に及ぼす明らかな影響は認められていないことから、呼吸系に特化した安全性薬理試験は実施しなかった。

2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用

2.6.2.5.1 LPS 誘発凝固亢進モデルにおける未分画ヘパリンとの併用作用（4.2.1.4-1）

ラットを用いた LPS 誘発凝固亢進モデルにおいて、KW-3357 又はノイアート®と未分画ヘパリンとの併用作用を比較した。雄性 Crl:CD（SD）系ラットに LPS を 4 時間かけて持続的に静脈内注入した。KW-3357 又はノイアート®は、それぞれ 250 IU/kg を LPS 注入開始直前に静脈内投与した。未分画ヘパリンは KW-3357 又はノイアート®投与直前から採血直前まで持続的に 7 時間静脈内注入した（350 U/kg）。LPS 注入終了から 3 時間後に採血し、血小板数、PT、APTT、フィブリノーゲン、血漿中 AT 活性、LD、AST 及び ALT の測定を行った。

LPS を投与した対照群では、2.6.2.2.2項と同様に血小板数、フィブリノーゲン、PT、APTT 及び AT 活性に変化が認められた。未分画ヘパリンと KW-3357 又はノイアート®の併用投与群において、血小板数及びフィブリノーゲン減少の抑制が認められた。血漿中 AT 活性は、KW-3357 又はノイアート®の投与により上昇し、未分画ヘパリン併用投与による影響を受けなかった。AST 上昇は、未分画ヘパリンと KW-3357 又はノイアート®の併用投与により有意な抑制が認められた。一方、APTT は未分画ヘパリンの投与で延長され、KW-3357 又はノイアート®と併用投与することにより更に延長された。いずれの検査項目においても、ヘパリン併用時の KW-3357 とノイアート®の作用に統計学的に有意な差は認められなかった（表 2.6.2.5.1-1）。

表2.6.2.5.1-1 LPS 誘発凝固亢進モデルにおける未分画ヘパリン併用の影響

1）KW-3357

検査項目	正常群 1	対照群 1	ヘパリン 単独投与群	KW-3357 単独投与群	KW-3357+ ヘパリン併用投与群
血小板数 （×10^4 cell/μL）	114.9±4.5***	47.3±3.6	63.5±4.5	61.7±4.7	75.3±4.4¶¶¶
PT（秒）	14.9±0.1‡‡‡	17.1±0.5	17.4±0.5	15.8±0.2	16.3±0.3
APTT（秒）	16.4±0.3‡‡‡	30.0±2.1	53.3±2.8§§, ∥ ∥	24.6±1.4 ∥ ∥ ∥	82.2±6.8§§§
フィブリノーゲン（mg/dL）	213.1±4.5‡‡‡	81.7±7.7	114.6±10.6 ∥ ∥ ∥	139.5±8.1§§, ∥ ∥	184.1±8.4§§§
AT 活性（%） a)	97.7±3.9***	63.3±2.7	60.3±3.5 ∥ ∥ ∥	188.3±5.2§§§	178.8±6.5§§§
LD（U/L）	77.8±8.3††	1106.4±240.4	821.8±188.6	416.7±46.7§	334.8±48.8§
AST（IU/L）	101.0±4.7†††	287.4±18.3	275.3±19.6	205.6±5.0§§	202.1±14.0§
ALT（IU/L）	30.5±1.8***	53.0±2.3	56.5±4.1 ∥ ∥	41.9±1.9§	41.5±1.9§§

平均値±標準誤差（n=10~12、対照群 1 の 2 例について、PT、APTT 及びフィブリノーゲンの欠損値を生じた）

****P*<0.001 vs 対照群 1（Student の *t* 検定）

††*P*<0.01, †††*P*<0.001 vs 対照群 1（Aspin-Welch 検定）

‡‡‡*P*<0.001 vs 対照群 1（Wilcoxon の順位和検定）

¶¶¶*P*<0.001 vs 対照群 1（Tukey 検定）

§*P*<0.05, §§*P*<0.01, §§§*P*<0.001 vs 対照群 1（Steel-Dwass 検定）

∥ ∥ *P*<0.01, ∥ ∥ ∥ *P*<0.001 vs KW-3357+ヘパリン併用投与群（Steel-Dwass 検定）

正常群 1 には LPS の溶媒、ヘパリンの溶媒及び KW-3357 の溶媒を投与。対照群 1 にはヘパリンの溶媒、KW-3357 の溶媒及び LPS を投与。ヘパリン単独投与群には KW-3357 の溶媒、ヘパリン及び LPS を投与。KW-3357 単独投与群にはヘパリンの溶媒、KW-3357 及び LPS を投与。KW-3357＋ヘパリン併用投与群には LPS、ヘパリン及び KW-3357 を投与。

a) 合成基質法に基づく抗 Factor Xa 活性を測定、既知濃度のヒト標準血漿を標準物質とし、ヒト標準活性に対する相対活性として算出、動物由来の活性を含む

2）ノイアート®

検査項目	正常群 2	対照群 2	ヘパリン 単独投与群	ノイアート® 単独投与群	ノイアート®+ ヘパリン併用投与群
血小板数 （×10^4 cell/μL）	111.2±2.7†††	48.4±5.7	57.5±5.6	67.7±5.0¶	75.1±3.2¶¶
PT（秒）	15.0±0.2‡‡	18.3±1.0	16.7±0.3	15.6±0.4	15.9±0.2
APTT（秒）	17.2±0.3‡‡‡	28.4±1.9	48.7±2.7§§§, ∥ ∥	24.4±1.4 ∥ ∥ ∥	75.2±4.5§§§
フィブリノーゲン（mg/dL）	206.2±6.4‡‡‡	82.1±14.3	133.2±13.6	142.4±12.2§	182.9±7.1§§§
AT 活性（%） a)	96.4±3.5***	65.0±3.9	62.0±3.3###	182.8±5.1¶¶¶	176.3±5.2¶¶¶
LD（U/L）	72.1±6.8††	1098.3±264.9	734.4±163.4	415.1±41.7	355.6±34.7
AST（IU/L）	98.9±5.5†††	299.0±31.7	277.7±19.6 ∥	207.5±11.1	200.3±13.1§
ALT（IU/L）	33.8±2.7**	51.4±4.6	53.5±3.5 ∥	40.9±1.2	41.7±2.5

平均値±標準誤差（n=10~12、対照群 2 の 2 例について、PT、APTT 及びフィブリノーゲンの欠損値を生じた）

***P*<0.01, ****P*<0.001 vs 対照群 2（Student の *t* 検定）

††*P*<0.01, †††*P*<0.001 vs 対照群 2（Aspin-Welch 検定）

‡‡*P*<0.01, ‡‡‡*P*<0.001 vs 対照群 2（Wilcoxon の順位和検定）

¶*P*<0.05, ¶¶*P*<0.01, ¶¶¶*P*<0.001 vs 対照群 2（Tukey 検定）

###*P*<0.001 vs ノイアート®+ヘパリン併用投与群（Tukey 検定）

§*P*<0.05, §§§*P*<0.001 vs 対照群 2（Steel-Dwass 検定）

∥ *P*<0.05, ∥ ∥ *P*<0.01, ∥ ∥ ∥ *P*<0.001 vs ノイアート®+ヘパリン併用投与群（Steel-Dwass 検定）

正常群 2 には LPS の溶媒、ヘパリンの溶媒及びノイアート®の溶媒を投与。対照群 2 にはヘパリンの溶媒、ノイアート®の溶媒及び LPS を投与。ヘパリン単独投与群にはノイアート®の溶媒、ヘパリン及び LPS を投与。ノイアート®単独投与群にはヘパリンの溶媒、ノイアート®及び LPS を投与。ノイアート®＋ヘパリン併用投与群には LPS、ヘパリン及びノイアート®を投与。

a) 合成基質法に基づく抗 Factor Xa 活性を測定、既知濃度のヒト標準血漿を標準物質とし、ヒト標準活性に対する相対活性として算出、動物由来の活性を含む

2.6.2.6 考察及び結論

KW-3357 はヘパリン存在下で、PT 及び APTT を指標にしたヒト血漿凝固時間を延長した。KW-3357 の APTT 及び PT に対する作用は、ノイアート®と比較して、統計学的に有意な差は認められなかった。ラット DIC モデルにおいて、KW-3357 は LPS 及びトロンボプラスチンにより惹起された凝固系評価項目の変化（血小板数及びフィブリノーゲンの減少、PT 及び APTT の延長並びに血漿中 AT 活性の低下）を抑制した。ラット DIC モデルのいずれの評価項目においても、KW-3357 とノイアート®の作用に有意な差は認められなかった。ラット DIC モデルにおいて未分画ヘパリンと同時投与した結果から、ヘパリンとの併用作用についても KW-3357 とノイアート®に有意な差は認められなかった。以上の結果から、KW-3357 は血液凝固抑制作用を有し、その作用はノイアート®と同程度であった。

ラット及びカニクイザルを用いた 2 週間反復投与毒性試験において、一般状態、体温、血圧及び心電図に及ぼす影響を評価した。その結果、KW-3357 が心血管系、中枢神経系及び呼吸系に対して、薬理作用の過剰発現（カニクイザル 1000 IU/kg/日）による血圧低下等を除き、影響を及ぼしたと考えられる所見は認められなかった。また、血漿由来 AT 製剤の一般薬理試験において、中枢神経系、自律神経系、呼吸及び循環器系、末梢神経系、腎機能及び凝固線溶系に対する作用が評価されており、薬理作用である抗凝固作用以外の薬理作用を示さないことが報告されている[1)]。以上の結果から、KW-3357 は心血管系、中枢神経系及び呼吸系の機能に影響を及ぼさないと考えられた。

以上の結果から KW-3357 は先天性アンチトロンビン欠乏に伴う血栓形成傾向及びアンチトロンビン低下を伴う DIC に対し、ノイアート®と同程度の血液凝固抑制作用が期待される。

2.6.2.7 図表

図表は本文中の適切な箇所に記載した。

2.6.2.8 参考文献

1. 阿部俊一, 小柴博, 高橋順一, 川畑好之康, 中村勝信, 代本卓正, et al. Nildic の一般薬理試験. 基礎と臨床. 1986;20:765-80.

KW-3357

第 2 部（モジュール 2）：
CTD の概要（サマリー）

2.6　非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.3　薬理試験概要表

協和発酵キリン株式会社

CONFIDENTIAL

目次

目次 2
2.6.3 薬理試験概要表 3
2.6.3.1 薬理試験：一覧表 3
2.6.3.2 効力を裏付ける試験 4
2.6.3.3 副次的薬理試験 5
2.6.3.4 安全性薬理試験 6
2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用 7

2.6.3 薬理試験概要表

2.6.3.1 薬理試験：一覧表

被験物質: KW-3357					
試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	CTD における記載箇所
効力を裏付ける試験					
ヒト血漿凝固時間への影響	ヒト血漿	*In vitro*	協和発酵工業	d-[redacted]-261	4.2.1.1-1
リポポリサッカライド誘発凝固亢進モデルにおける作用	ラット/Crl:CD(SD)	静脈内	協和発酵工業	d-[redacted]-260	4.2.1.1-2
トロンボプラスチン誘発凝固亢進モデルにおける作用	ラット/Crl:CD(SD)	静脈内	協和発酵工業	d-[redacted]-299	4.2.1.1-3
安全性薬理試験					
心血管系に及ぼす影響	カニクイザル	静脈内	[redacted]	[redacted]07[a)]	4.2.3.2-6
中枢神経系に及ぼす影響	ラット/Crl:CD(SD)	静脈内	[redacted]	[redacted]08[a)]	4.2.3.2-2
	カニクイザル	静脈内	[redacted]	[redacted]07[a)]	4.2.3.2-6
呼吸系に及ぼす影響	ラット/Crl:CD(SD)	静脈内	[redacted]	[redacted]08[a)]	4.2.3.2-2
	カニクイザル	静脈内	[redacted]	[redacted]07[a)]	4.2.3.2-6
薬力学的薬物相互作用試験					
リポポリサッカライド誘発凝固亢進モデルにおける未分画ヘパリンとの併用作用	ラット/Crl:CD(SD)	静脈内	協和発酵キリン	d-[redacted]-671	4.2.1.4-1

a) GLP 適合試験

協和発酵工業（現　協和発酵キリン）

2.6.3.2 効力を裏付ける試験

被験物質: KW-3357							
評価対象	動物種/系統	投与方法	投与量	性別及び動物数/群	特記すべき所見	GLP適用	試験番号
ヒト血漿凝固時間への影響	ヒト血漿	*In vitro*	KW-3357 : 0、1、2、3 IU/mL ノイアート®:0、1、2、3 IU/mL	男性 5 例	KW-3357 及びノイアート®は、PT 及び APTT を延長させた。KW-3357 とノイアート®の作用に有意な差は認められなかった（Student の *t* 検定、有意水準 5%)。	非適	d-[redacted]-261
リポポリサッカライド誘発凝固亢進モデルにおける作用	ラット /Crl:CD(SD)	静脈内	KW-3357 : 0、250 IU/kg ノイアート®:0、250 IU/kg	雄性 10 例	KW-3357 及びノイアート®は、リポポリサッカライドによる血漿中 AT 活性の低下、血小板数及びフィブリノーゲンの減少、PT 及び APTT の延長並びに LD、AST、ALT 及び GFD の上昇を抑制した。KW-3357 とノイアート®の作用に有意な差は認められなかった（Student の *t* 検定又は Wilcoxon の順位和検定、有意水準 5%)。	非適	d-[redacted]-260
トロンボプラスチン誘発凝固亢進モデルにおける作用	ラット /Crl:CD(SD)	静脈内	KW-3357 : 0、250 IU/kg ノイアート®:0、250 IU/kg	雄性 8 例	KW-3357 及びノイアート®は、トロンボプラスチンによる血漿中 AT 活性の低下、血小板数及びフィブリノーゲンの減少並びに PT 及び APTT の延長を抑制した。KW-3357 とノイアート®の作用に有意な差は認められなかった（Student の *t* 検定、有意水準 5%)。	非適	d-[redacted]-299

2.6.3.3 副次的薬理試験

該当する試験は実施していない。

2.6.3.4 安全性薬理試験

被験物質: KW-3357							
評価対象	動物種/系統	投与方法(投与期間)	投与量(IU/kg/日)	性別及び動物数/群	特記すべき所見	GLP適用	試験番号
心血管系に及ぼす影響	カニクイザル	静脈内(2週間)	0、100、300、1000	雌雄 5例/性/群	1000 IU/kg/日投与群の雄1例で、被験物質投与に起因した重度の出血による二次的変化と考えられる血圧の低下が認められた。その他の動物では、試験期間を通して血圧にKW-3357の影響は認められなかった。 すべての動物において、心電図にKW-3357の影響は認められなかった。	適用	[redacted]07
中枢神経系に及ぼす影響	ラット/Crl:CD(SD)	静脈内(2週間)	0、500、2000	雌雄 0及び2000 IU/kg/日群：15例/性/群 500 IU/kg/日群：10例/性/群	一般状態観察において、中枢神経系にKW-3357の影響は認められなかった。	適用	[redacted]08
	カニクイザル	静脈内(2週間)	0、100、300、1000	雌雄 5例/性/群	1000 IU/kg/日投与群の雄1例で、被験物質投与に起因した重度の出血による二次的変化と考えられる体温の低下及び自発運動の減少が認められた。その他の動物では、試験期間を通して同様な変化は認められなかった。	適用	[redacted]07
呼吸系に及ぼす影響	ラット/Crl:CD(SD)	静脈内(2週間)	0、500、2000	雌雄 0及び2000 IU/kg/日群：15例/性/群 500 IU/kg/日群：10例/性/群	一般状態観察において、呼吸系にKW-3357の影響は認められなかった。	適用	[redacted]08
	カニクイザル	静脈内(2週間)	0、100、300、1000	雌雄 5例/性/群	一般状態観察において、呼吸系にKW-3357の影響は認められなかった。	適用	[redacted]07

2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用

被験物質: KW-3357							
評価対象	動物種/系統	投与方法	投与量	性別及び動物数/群	特記すべき所見	GLP適用	試験番号
リポポリサッカライド誘発凝固亢進モデルにおける未分画ヘパリンとの併用作用	ラット /Crl:CD(SD)	静脈内	KW-3357:0、250 IU/kg ノイアート®：0、250 IU/kg ヘパリン：0、350 U/kg	雄性 10~12 例	リポポリサッカライド誘発凝固亢進モデルにおけるヘパリン併用時の KW-3357 とノイアート®の作用に有意な差は認められなかった（Student の *t* 検定、有意水準 5%)。	非適	d-[redacted]-671