目次

2.6.4 薬物動態試験の概要文 4
2.6.4.1 まとめ 4
2.6.4.1.1 薬物動態試験の概要 5
2.6.4.2 分析法 11
2.6.4.2.1 動物における血清中非結合型 evolocumab 濃度測定法 11
2.6.4.2.2 動物における血清中非結合型 PCSK9 濃度の測定法 14
2.6.4.2.3 動物における血漿中のロスバスタチンの測定法 16
2.6.4.2.4 血清中の抗 evolocumab 抗体の測定法 16
2.6.4.3 吸収 16
2.6.4.4 分布 17
2.6.4.5 代謝 18
2.6.4.6 排泄 18
2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用 18
2.6.4.8 その他の薬物動態試験 18
2.6.4.8.1 PK/PD 18
2.6.4.8.2 生物薬剤評価 20
2.6.4.9 考察及び結論 23
2.6.4.9.1 計画及び実施中の薬物動態試験 23
2.6.4.10 参考文献 24

表一覧

表 2.6.4-1 非臨床薬物動態試験の一覧表 4
表 2.6.4-2 evolocumab をカニクイザルに単回皮下（SC）又は静脈内（IV）投与したときの非結合型 evolocumab の薬物動態パラメータ（平均値、括弧内は標準偏差） 6
表 2.6.4-3 evolocumab をゴールデンシリアンハムスターに 4 週間、13 週間および 104 週間反復 SC 投与した毒性試験における evolocumab のトキシコキネティックパラメータ[a]（平均値、括弧内は標準偏差） 10
表 2.6.4-4 evolocumab をカニクイザルに QW6 週間及び 26 週間反復 SC 投与した毒性試験における evolocumab のトキシコキネティックパラメータ[a]（平均値、括弧内は標準偏差） 11
表 2.6.4-5 動物における非結合型 evolocumab の測定法 14
表 2.6.4-6 動物における非結合型 PCSK9 の測定法 16
表 2.6.4-7 動物におけるロスバスタチンの測定法 16
表 2.6.4-8 evolocumab を 3.5 mg/kg の用量でカニクイザルに単回 SC 投与したときのノンコンパートメント PK パラメータ（116111 試験）（平均値、括弧内は標準偏差） 21

図一覧

図 2.6.4-1 evolocumab をカニクイザルに単回皮下（SC）又は静脈内（IV）投与したときの血清中低比重リポ蛋白コレステロール（LDL-C）—時間推移（平均値+標準偏差） 7
図 2.6.4-2 evolocumab をカニクイザルに単回 SC 投与（N = 4～5/群）したときの非結合型 evolocumab の血清濃度－時間推移（R20090025 及び 111322 試験）（平均値+標準偏差） 17
図 2.6.4-3 evolocumab のカニクイザルへの静脈内（IV）及び皮下（SC）投与時の血清中 evolocumab 濃度－時間推移（N = 4～5/群、111721 試験）（モデルによる予測値：実線、実測値：●、個体別の予測値：点線） 19
図 2.6.4-4 血清中 LDL-C 及び個々の被験動物データ並びに evolocumab 投与群（N=4～5/群、111721 試験）別の LDL-C 予測（母集団平均予測値：実線、実測値：●、個体別予測値：色つき線） 20

図 2.6.4-5　evolocumab を 3.5 mg/kg の用量でカニクイザルに SC 投与したときの PCSK9 濃度－時間推移（116111 試験）（平均値+標準偏差）.....21
図 2.6.4-6　evolocumab を 17.5 mg/kg の用量でカニクイザルに SC 投与したときの PCSK9 濃度－時間推移（116654 試験）（平均値+標準偏差）.....22

略語・用語一覧

Abbreviation or Term	Definition/Explanation
AMG 145	evolocumab
ApoB	apolipoprotein B（アポリポ蛋白 B）
AUC_{inf}	area under serum concentration-time curve from time zero to infinity（投与後 0 時間から無限大時間までの血中濃度－時間曲線下面積）
AUC_{last}	area under concentration-time curve from time zero until the last measurable concentration（投与後 0 時間から測定可能な最終濃度までの濃度－時間曲線下面積）
C_0	estimated concentration at time zero following an IV dose by extrapolation（外挿による静脈内投与後のゼロ時点における推定濃度）
C_{max}	maximum concentration（最高血中濃度）
CL	clearance（クリアランス）
CL/F	apparent clearance（見かけのクリアランス）
ECL	electrochemiluminescence（電気化学発光）
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay（酵素免疫測定法）
F	bioavailability（バイオアベイラビリティ）
HDL-C	high density lipoprotein cholesterol（高比重リポ蛋白コレステロール）
IV	intravenous（静脈内）
LC-MS/MS	liquid chromatography with tandem mass spectrometry（液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析）
LDL-C	low density lipoprotein cholesterol（低比重リポ蛋白コレステロール）
PCSK9	proprotein convertase subtilisin/kexin type 9（プロ蛋白転換酵素サブチリシン／ケキシン 9 型）
PD	pharmacodynamics（薬力学）
PK	pharmacokinetics（薬物動態）
QC	quality control（品質管理）
Q2W	once every 2 weeks（2 週に 1 回）
QW	once weekly（週に 1 回）
SC	subcutaneous（皮下）
$t_{1/2,z}$	terminal half-life（終末相半減期）
t_{max}	time to maximum concentration（最大濃度到達時間）
TG	triglyceride（トリグリセリド）
TK	toxicokinetics（トキシコキネティクス）
V_{ss}	volume of distribution at steady state（定常状態分布容積）
V_z/F	apparent volume of distribution（見かけの分布容積）

2.6.4　薬物動態試験の概要文

2.6.4.1　まとめ

カニクイザルを用いて evolocumab（AMG145）の非臨床薬物動態／薬力学（PK/PD）に関する4試験を実施した。これらの試験の一覧を表 2.6.4-1 に示す。毒性試験の結果から、反復投与時の PK を評価した。それぞれの毒性試験に関連したトキシコキネティクス（TK）報告書のリストを 2.6.6 項に示す。

ゴールデンシリアンハムスター及びカニクイザルにおける evolocumab の薬物動態の概要を以下に示す。

- 非線形の薬物動態を示し、非結合型 evolocumab の見かけのクリアランス（CL/F）及び見かけの分布容積（V_Z/F）は用量とともに変化した。これに伴い、血清中プロ蛋白転換酵素サブチリシン／ケキシン 9 型（PCSK9）濃度も変化した（111322 試験、報告書 R20090025、カニクイザル）。
- SC 投与後の絶対バイオアベイラビリティは 82%であった（111322 試験、カニクイザル）。
- 分布容積は小さく、組織への移行は限られる（111322 試験、カニクイザル）。
- 抗 evolocumab 抗体の発現率は低かった（カニクイザルの 110359 試験、ハムスターの 112699 試験）。
- 血清中の非結合型 evolocumab と低比重リポ蛋白コレステロール（LDL-C）濃度の関連性は、メカニズムを考慮した PK/PD モデルにより十分に説明された（111322 試験、カニクイザル）。
- evolocumab をゴールデンシリアンハムスター又はカニクイザルに反復投与後の薬物動態において、雌雄差、想定外の蓄積、あるいは時間依存的変化は認められなかった（ハムスターの 112699 試験、114976 試験、114375 試験、カニクイザルの 110359 試験）。

表 2.6.4-1　非臨床薬物動態試験の一覧表

試験番号	試験の標題
111322	雄カニクイザルを用いた AMG145 の PK/PD 試験
111721	ヒトにおける AMG145 の PK/PD の予測
116111 （参考資料）	雄カニクイザルを用いたクロスオーバーデザインで 2 種類の濃度の AMG145 製剤を単回 SC 投与した後の PK/PD 解析
116654	雄カニクイザルにおける 3 種類の濃度の AMG145 製剤を単回 SC 投与した後の PK/PD 解析

2.6.4.1.1 薬物動態試験の概要

2.6.4.1.1.1 単回投与薬物動態試験

表 2.6.4-2 に、evolocumab をカニクイザルに単回皮下（SC）投与又は静脈内（IV）投与したときの PK パラメータを示す。図 2.6.4-1 に、単回 SC 投与又は IV 投与後の LDL-C の経時推移を示す。

カニクイザルを用いた単回投与試験では、非線形の薬物動態がみられた（111322 試験、R20090025 試験）。用量の増加に伴う非結合型 evolocumab の CL/F 及び Vss/F の減少、並びに用量比以上の C_{max} の増加がみられた。SC 投与後の最高血清中濃度到達時間（T_{max}）の中央値は約 3 日であった。AUC_{inf} 比で求めた 3 mg/kg 投与時の絶対バイオアベイラビリティは 0.82 であった。evolocumab をカニクイザルに単回投与したとき、投与後 7～14 日間に全投与群でおよそ 80%の有意な平均 LDL-C の低下が生じた。平均血清中 LDL-C がベースライン値に回復するまでの期間は、用量依存的に延長した（最大 63 日）。非結合型血清中 PCSK9 濃度は投与後速やかに減少して定量下限を下回った後、ベースラインの水準に回復した。平均 PCSK9 濃度のベースラインへの回復と血清中 LDL-C 濃度の回復は並行していた。

異なる濃度の製剤が PK 及び PD に及ぼす影響を予備的に評価するため、雄カニクイザルを用いて単回 SC 投与による 2 試験（116111（参考資料）及び 116654 試験）を実施した。製剤間において、非結合型 evolocumab の AUC_{last} 及び C_{max} におよそ 25%の差が認められたが、PCSK9 及び LDL-C 濃度低下の最大値あるいは経時推移はおおむね同様であった。

evolocumab のヒト PK パラメータを、カニクイザルにおけるモデルパラメータから、アロメトリックスケーリングにより推定した。evolocumab のヒト PD パラメータを、間接反応 PK/PD モデルにおけるカニクイザルのモデルパラメータから算出した。メカニズムを考慮した間接反応 PK/PD モデルは、カニクイザルにおける血清中非結合型 evolocumab と LDL-C 濃度を十分に関連づけることができた（111721 試験）。このモデルにより、first-in-human（FIH）試験における PK/PD が説明され、カニクイザルが良好な薬理モデルであることが示唆された。これらの試験において、抗 evolocumab 抗体は検出されなかった。

表 2.6.4-2　evolocumab をカニクイザルに単回皮下（SC）又は静脈内（IV）投与したときの非結合型 evolocumab の薬物動態パラメータ（平均値、括弧内は標準偏差）

皮下投与（n = 5）						
投与量 (mg/kg)	T_{max} (day)	C_{max} (μg/mL)	$AUC_{0\text{-}inf}$ (day* μg/mL)	CL/F (mL/day/kg)	V_z/F (mL/kg)	$T_{1/2,\,z}$ (日)
0.05[1)]	ND	0 (0)	ND	ND	ND	ND
0.2[1)]	1.0 (1.0 - 1.0)	1.82 (0.494)	4.12 (1.52)	55.2 (21.6)	64.8 (16.2)	0.86 (0.13)
0.5[1)]	1.0 (1.0 – 1.5)	7.83 (1.43)	21.2 (5.75)	24 (4.8)	26.4 (6.9)	0.74 (0.10)
3[2)]	3.0 (2.0 - 3.0)	71.1 (7.17)	469 (60.1)	6.5 (0.8)	19.3 (2.2)	2.07 (0.17)
10[2)]	3.0 (2.0 – 7.0)	172 (13.9)	2570 (751)	4.1 (0.9)	23.2 (5.0)	4.13 (1.28)
30[2)]	3.0 (2.0 – 7.0)	833 (157)	13500 (4010)	2.4 (0.8)	19.9 (5.2)	5.92 (1.47)
静脈内投与（n = 4）						
投与量 (mg/kg)	T_{max} （日）	C_0 (μg/mL)	$AUC_{0\text{-}inf}$ (day* μg/mL)	CL (mLday/kg)	V_{ss} (mL/kg)	$T_{1/2,\,z}$ （日）
3[2)]	ND	109 (16.1)	573 (109)	5.4 (1.0)	25.3 (1.7)	2.53 (0.50)

1) R20090025 試験

2) 111322 試験

C_0 = 急速静脈内投与後の推定初期濃度；$AUC_{0\text{-}inf}$ = 0 から無限大時間までの血中濃度-時間曲線下面積；$t_{1/2,\,z}$ = 終末相における半減期；CL = クリアランス；
CL/F = 皮下投与後の見かけのクリアランス；V_{SS}=定常状態分布容積；
Vz/F = 皮下投与後の見かけの分布容積；ND = 測定せず

個々のデータから平均値及び標準偏差を算出した。ただし、中央値として有効数字 2 桁まで報告した T_{max}（最小値–最大値）を除く

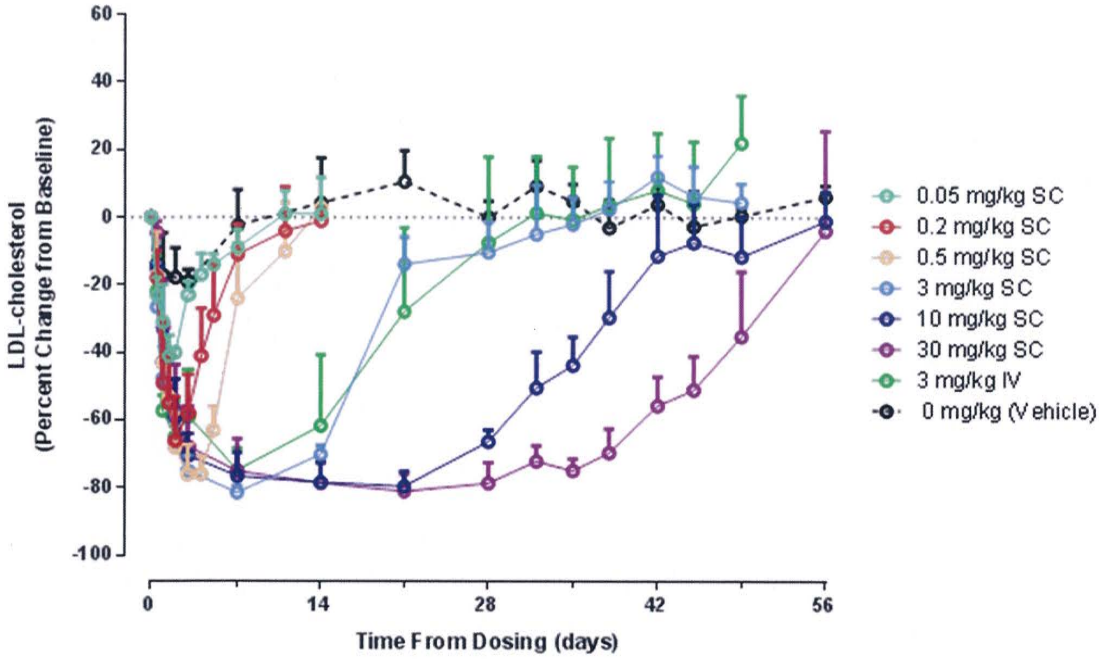


図 2.6.4-1　evolocumab をカニクイザルに単回皮下（SC）又は静脈内（IV）投与したときの血清中低比重リポ蛋白コレステロール（LDL-C）—時間推移（平均値+標準偏差）

2.6.4.1.1.1.1　雄カニクイザルを用いた evolocumab の PK/PD 試験（111322 試験）

この試験では、雄カニクイザルに evolocumab を IV 及び SC 投与し、その薬物動態、薬力学、並びに PK/PD 関連性を評価した。この試験は、GLP の適用範囲外で実施し、[redacted] 社の S08-10162 試験実施計画書と標準操作手順書（SOP）、Amgen 社の SOP に従った。

evolocumab（原料番号 [redacted]、74.8 mg/mL、ロット番号 [redacted]）及びプラセボ溶液（原料番号 [redacted]、ロット番号 [redacted]）は、Amgen 社から提供された。投与液は、適量の evolocumab をプラセボ溶液で希釈して調製した。健康な雄カニクイザル 24 匹を使用し、すべての動物に標準食を与えた。投与開始前 3 週間は、体重測定と薬力学パラメータのベースラインのばらつきを評価するため、週 1 回空腹時に臨床検査を実施した。この馴化期間中に 4 匹を第 1 群に割り付けた。残りの 20 匹（5 匹／群）は 4 つの SC 投与群のいずれかに無作為に割り付けた。

投与日には、一晩の絶食後に投与前の採血を行った後、evolocumab 又はプラセボを単回 IV 投与（3 mg/kg）又は SC 投与（0、3、10、30 mg/kg）した。IV 投与群の PK 評価用試料採取時点は、投与前及び投与後の 10、30 分、1、3、8、12 時間、1 日（24 時間）、2 日（48 時間）、3 日（72 時間）、並びに投与後 7、14、21、28、32、35、38、42、45、49、56、63、70 日とした。SC 投与群の試料採取時点は、投与後の試料採取を投与後 12 時間から開始することを除き、上述と同様とした。PD 評価用の試料採取時点は、投与後 12 時間から PK 評価と同一とした。実薬投与群における PK 及び PD 測定用の試料採取は、平均 LDL-C が平均ベースライン値に回復するまで継続し、それ以後は行わなかった。

evolocumab をカニクイザルに 3 mg/kg の用量で単回 IV 投与したとき、非結合型 evolocumab の血清中濃度推移は、非線形な消失を示した。この用量では、平均全身クリアランスは 5.4 mL/day/kg で

あった。平均定常状態分布容積（V_{ss}）は 25.3 mL/kg であった。evolocumab の SC 投与後の薬物動態から、用量の増加に伴う CL/F の減少及び用量比を上回る C_{max} の増加を特徴とした非線形な薬物動態が確認された。吸収のばらつきは小さく、SC 投与後の T_{max} の中央値は全群で約 3 日であった。絶対バイオアベイラビリティは 0.82 であり、evolocumab は SC 投与後の吸収率が高いことが示唆された。

血清中 LDL-C のベースラインは安定しており、馴化期間における個体間のばらつきは小さかった。evolocumab の単回投与により平均 LDL-C は有意に低下し、投与後の最初の 7～14 日間に全投与群で 80%低下した（$P < 0.001$）。平均血清中 LDL-C がベースライン値に回復するまでに要した時間は用量に依存し、3 mg/kg の SC 投与群で最も早く（14 日）、次いで 10 mg/kg（38 日）、30 mg/kg（63 日）であった。evolocumab の投与による HDL-C 及び TG の変化は見られなかった。馴化期間における絶食時の非結合型 PCSK9 の血清中濃度のベースラインの平均値は 540 ng/mL であったが、個体間で 10 倍の差が認められた（108～1100 ng/mL）。非結合型 PCSK9 の血清中濃度は evolocumab 投与後速やかに最大の低下を示し、定量下限を下回った。非結合型 PCSK9 の低下後に平均 LDL-C が最低値に達した。平均 PCSK9 がベースラインの水準に回復するのと同時に血清中 LDL-C も回復した。非結合型 PCSK9 の血清中濃度は、おおむねベースライン値を超えなかった。投与と関連した血清中 ApoB の変化が観察され、その推移は血清中 LDL-C の変化を反映していた。

非結合型 evolocumab の PK 及び PD を、非線形混合効果モデルを用いて解析した。皮下吸収及び非線形（Michaelis-Menten）消失を想定した 1 コンパートメントモデルを用いて、IV 並びに SC 投与後の PK データを解析した。生理的なメカニズムに基づき、薬物が LDL-C の除去を促進する間接反応 PK/PD モデルを選択した。各個体の薬物濃度－時間推移を PK モデルで解析し、PD モデルに用いた。ベースラインの LDL-C 濃度の母集団パラメータ推定値は 40.4 mg/dL、LDL-C 合成速度は 7.24 mg/dL/day であった。LDL-C の消失を表す S_{max} は 4.67、LDL-C の最大低下率の 50%の低下を生じる非結合型 evolocumab 濃度（SC_{50}）は 11400 ng/mL と推定された。このモデルにより、非結合型 evolocumab と LDL-C 濃度の関係が十分に明らかになった。

2.6.4.1.1.1.2　ヒトにおける evolocumab の PK/PD の予測（111721 試験）

本試験は以下の目的で実施された。

1) カニクイザルにおける evolocumab の PK 及び PD パラメータを用いて、ヒトにおける PK 及び PD パラメータを予測する。
2) ヒトにおける PK 及び PD パラメータの推定値を使用して、ヒトにおける evolocumab の曝露及び LDL-C の低下を種々の用量でシミュレートする。
3) カニクイザルで定めた NOAEL と比較して、ヒト曝露マージンの推定値を決定する。
4) FIH 試験の用量設定の根拠を提示する。

PK データは、111322 試験から得た。カニクイザル 24 匹（4 又は 5 匹／群）に evolocumab を 0、3、10、30 mg/kg の用量で単回 SC、または 3 mg/kg の用量で単回 IV 投与し、血清中 evolocumab 濃度を測定した。

間接反応 PK/PD モデルによりカニクイザルにおける血清中 evolocumab 濃度の経時推移及び PD 反応を解析した。ヒト PK パラメータは、アロメトリックスケーリングにより算出し、ヒト PD パラメ

ータはサルと同様と仮定、あるいは文献値に基づいて算出した。ヒト PK/PD パラメータの推定値を用いて、FIH 試験における IV 又は SC 投与後の曝露量及び LDL-C の低下を間接反応 PK/PD モデルによりシミュレートした。最小予測生物学的影響量（MABEL）に基づいて、最低用量を、また、安全域、予測される作用、並びに試験デザインを考慮して、FIH 試験における最高用量を設定した。

FIH 試験における最高用量である 420 mg IV における C_{max} に基づいた曝露マージンは 41、AUC に基づいた曝露マージンは 17 と推定された。

2.6.4.1.1.2　反復投与時のトキシコキネティクス

ゴールデンシリアンハムスター及びカニクイザルを用いた薬理及び毒性試験から得られたデータを用いて、evolocumab の反復 SC 投与後の TK を明らかにした。ゴールデンシリアンハムスター及びカニクイザルの TK パラメータを、それぞれ表 2.6.4-3 及び表 2.6.4-4 に示す。

2.6.4.1.1.2.1　ゴールデンシリアンハムスターにおける反復 SC 投与試験

ゴールデンシリアンハムスターに evolocumab を 30、100、300 mg/kg の用量で週に 1 回（QW）4 週間（112699 試験）、100 又は 300 mg/kg の用量で QW3 カ月間（114375 試験）、10、30、100 mg/kg の用量で 2 週に 1 回（Q2W）104 週間（114976 試験）反復 SC 投与し、TK を明らかにした。これらの長期試験では、QW 又は Q2W で投与したとき、上記の用量範囲で、C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}last}$ はおおよそ用量と比例して増加し、2 倍を超える evolocumab の顕著な蓄積は観察されなかった。evolocumab の TK パラメータに雌雄差は認められなかった。evolocumab をゴールデンシリアンハムスターに 104 週間反復投与したとき、evolocumab のトラフ血清中濃度に明らかな時間依存的変化は認められなかった。

表 2.6.4-3　evolocumab をゴールデンシリアンハムスターに 4 週間、13 週間および 104 週間反復 SC 投与した毒性試験における evolocumab のトキシコキネティックパラメータ [a]（平均値、括弧内は標準偏差）

試験期間 [c]	投与量 [d] (mg/kg/dosing interval)	試験 [b] 112699[e]		114375		114976[e,f]	
		C_{max} (μg/mL)	$AUC_{0\text{-last}}$ (μg*day/mL)	C_{max} (μg/mL)	$AUC_{0\text{-last}}$ (μg*day/mL)	C_{max} (μg/mL)	$AUC_{0\text{-last}}$ (μg*day/mL)
初回	10	NA	NA	NA	NA	75.7	446
	30	202	1060	NA	NA	280	2020
	100	702	3620	434 (228)	2780 (767)	982	8130
	300	1890	9380	1610 (289)	8670 (1780)	NA	NA
最終	10	NA	NA	NA	NA	59.5	407
	30	305	1610	NA	NA	247	1870
	100	1010	5580	993 (203)	5750 (1130)	984	7170
	300	2630	13800	2080 (429)	11100 (2770)	NA	NA

[a] 112699、114375、並びに 114976 試験の投与期間はそれぞれ 4、13、104 週間であった。
[b] 両性のデータを合わせて報告した。
[c] 初回 = 112699、114375、114976 試験でそれぞれ第 1、1、5 週
[c] 最終 = 112699、114375、114976 試験でそれぞれ第 3、12、27 週
[d] 112699 及び 114375 試験では QW で投与し、114976 試験では Q2W で投与した。
[e] 複合サンプリング（実験に使用したことがない動物を合わせた解析）－分散は推定しなかった。
[f] 114976 試験では 2 週間ごとに投与を行った。
NA = 該当なし、QW = 週に 1 回

2.6.4.1.1.2.2　カニクイザルにおける反復 SC 投与試験

カニクイザルに evolocumab を 3～300 mg/kg の用量で QW 6 週間（110149 試験）又は 6 カ月間（110359 試験）投与し、TK を明らかにした。上記の用量範囲において、非結合型 evolocumab の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}\tau}$ はおおよそ用量と比例して増加し、evolocumab の蓄積は QW 投与時に予想される程度（2～4 倍）であった。evolocumab の TK パラメータに雌雄差は認められなかった。非結合型 evolocumab の濃度－時間推移は、試験した用量範囲でおおむね線形であった。evolocumab をカニクイザルに 6 カ月間反復投与したとき、evolocumab のトラフ血清中濃度に明らかな時間依存的変化は認められなかった。

表 2.6.4-4　evolocumab をカニクイザルに QW6 週間及び 26 週間反復 SC 投与した毒性試験における evolocumab のトキシコキネティックパラメータ [a]（平均値、括弧内は標準偏差）

試験期間	投与量 (mg/kg/QW)	試験 [b] 110149 C_{max} (μg/mL)	110149 $AUC_{0\text{-last}}$ (μg*day/mL)	110359 C_{max} (μg/mL)	110359 $AUC_{0\text{-last}}$ (μg*day/mL)
初回	3	46.6 (3.6)	194 (57)	37.4 (6.71)	189 (45)
	30	451 (107)	2420 (399)	481 (48.3)	2690 (321)
	300	5900 (364)	34700 (3050)	4950 (1030)	26900 (2600)
最終	3	65.3 (17.8)	360 (169)	88.7 (41.2)	546 (275)
	30	1370 (830)	8580 (4580)	1830 (489)	11300 (2290)
	300	9940 (1080)	64600 (6250)	11700 (1960)	72100 (13200)

[a] 110149 及び 110359 試験の投与期間はそれぞれ 6、26 週間であった。
[b] 両性のデータを合わせて報告した。

2.6.4.1.1.2.3　生殖毒性試験におけるトキシコキネティクス

evolocumab をカニクイザルに 50 mg/kg Q2W で SC 投与した拡充型出生前及び出生後発生毒性試験（110370 試験）において、evolocumab の TK を評価した。妊娠 133 日に観察された血清中 evolocumab の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}\tau}$ の平均値は、それぞれ 598 μg/mL 及び 5600 day•μg/mL（134400 hr•μg/mL）であった。以上の結果は、カニクイザルに 30 mg/kg QW で SC 投与した毒性試験の結果に類似していた（表 2.6.4-4）。分娩 14 日に、平均血清中 evolocumab 濃度の児／母体比は 3.7 となった。分娩 91 日までに、血清中 evolocumab 濃度は、母体では検出不能に、児では検出限界以下か、それに近い水準となった。

2.6.4.2　分析法

生体試料中の非結合型 evolocumab 及び PCSK9 濃度の測定方法の要約を、それぞれ表 2.6.4-5 及び表 2.6.4-6 に示す。

2.6.4.2.1　動物における血清中非結合型 evolocumab 濃度測定法

2.6.4.2.1.1　カニクイザル

2.6.4.2.1.1.1　Amgen 社

バリデーション済の酵素免疫測定法（ELISA）に従い、カニクイザル血清中の非結合型 evolocumab 濃度を測定した。非結合型 evolocumab 濃度測定法は 2 種類の抗イディオタイプ抗体を捕捉及び検出に使用し、抗原結合部位が PCSK9 に占有されていない evolocumab を検出した。定量範囲は 400～5000 ng/mL であった。

evolocumab を 100%カニクイザルプール血清に添加し、標準試料（STD）及び QC サンプル（QCs）を調製した。マイクロプレートのウェルをマウス抗 evolocumab モノクローナル抗体 1.18.1（Amgen 社）でコーティングした。ブロッキング後、STD、マトリクスブランク試料（NSB）、QCs、並びに測定サンプルを StartingBlock™ T20 緩衝液で 50 倍に希釈した後、マイクロプレートのウェルに添加した。サンプル中の evolocumab は、マイクロプレートに固相化されたマウス抗 evolocumab 抗体により捕捉した。マイクロプレートのウェルを洗浄した後、西洋ワサビペルオキシダーゼ（HRP）標識マウス抗 evolocumab モノクローナル抗体 1.46.1（Amgen 社）を添加し、捕捉した evolocumab と結合させた。再度洗浄を行った後、3, 3`, 5, 5`-テトラメチルベンジジン（TMB）基質溶液をマイクロプレートのウェルに添加した。TMB 基質溶液は HRP 存在下で過酸化水素と反応し、捕捉試薬に結合した evolocumab の量に比例して発色する。硫酸を用いて発色を停止させ、SoftMax Pro GxP version 5.2 を使用して 450 nm と 650 nm の吸光度の差を測定した。重み付け係数を 1 とした 4-パラメータロジスティック回帰モデルを使用し、Watson 7.0.0.01 を用いてデータを解析した。

2.6.4.2.1.1.2 [redacted]社

カニクイザル血清中の evolocumab を定量する測定法を開発し、最初に Amgen 社（ワシントン州シアトル）でバリデーションを行った。evolocumab を 100%カニクイザル血清プールに添加して STD、QC 及びバリデーションサンプル（VS）、並びに該当する場合は希釈バリデーションサンプル（DVS）を調製した。マイクロプレート（Corning Costar Inc.）のウェルをマウス抗 evolocumab 抗体、クローン 1.18.1（Amgen 社）でコーティングした。ブロッキング後、STD、QC/VS、DVS、NSB、又は測定サンプルを、StartingBlock™ T20（Thermo Scientific）で 50 倍に希釈した後、マイクロプレートのウェルに添加した。マイクロプレートに固相化された抗 evolocumab 抗体クローン 1.18.1 により、サンプル中の evolocumab を捕捉した。マイクロプレートのウェルを洗浄した後、HRP 標識マウス抗 evolocumab 抗体 クローン 1.46.1（Amgen 社）を添加して、捕捉した evolocumab と結合させた。マイクロプレートのウェルを洗浄して非結合の HRP 標識抗 evolocumab 抗体を除去した。TMB 基質溶液（BioFx）をマイクロプレートのウェルに添加した。TMB 基質溶液は HRP 存在下で過酸化水素と反応し、捕捉試薬に結合した evolocumab の量に比例して発色する。硫酸（VWR）を用いて発色を停止させ、450 nm と 650 nm の吸光度の差を測定した。サンプル及び QCs の濃度は、同じプレート上で測定した検量線より算出した。なお、検量線は、重み付け因子を 1 とし、バリデーション済みの Watson LIMS™ version 7.3（あるいは最新のバージョン）を用いてロジスティック回帰モデルに従って回帰した。

2.6.4.2.1.1.3 [redacted]社

バリデーション済みの分析法 ICD 376.2 に従って正常なカニクイザル血清中の evolocumab 濃度を測定した。正常なカニクイザル血清中の evolocumab を定量する分析法は、Amgen 社（ワシントン州シアトル）で開発され、[redacted]社（[redacted]）でバリデーションが行われた（Amgen115226 試験、[redacted]プロジェクトコード QMX2）。evolocumab を正常カニクイザル血清プール及び Blocker Blotto の TBS 緩衝液に添加して STD を作成した。evolocumab を正常カニクイザル血

清プールに添加して QCs を作成した。抗 evolocumab 抗体（クローン 1.18.1、Amgen 社）を MA 6000 High Bind マイクロプレートウェル（Meso Scale Discovery［MSD］）に吸着させた。ブロッキング後、STD、NSB、QCs、並びに測定サンプルを、Blocker™ BLOTTO の TBS 緩衝液で 100 倍に希釈した後、マイクロプレートのウェルに添加した。マイクロプレートに固相化された抗 evolocumab 抗体により、サンプル中の evolocumab を捕捉した。マイクロプレートのウェルを洗浄した後、ルテニウム（Ru）標識抗 eveolocumab 抗体（1.46.1、Amgen 社）を添加して、捕捉した evolocumab と結合させた。洗浄後、結合した Ru 標識抗 evolocumab 抗体を検出するため、Read Buffer（MSD）を添加した。Multi-Array 96-well High Bind マイクロプレートを電気的に刺激したとき、Ru 標識抗体は、read buffer 中の共反応物質トリプロピルアミン（TPA）の存在下で evolocumab の量に比例して 620 nm の光を発する。1/Y の重み付けで [redacted] の Assist LIMS データベースを用いた 5-パラメータロジスティック回帰モデルに従って検量線を回帰し、STD、QCs、測定サンプルの濃度をもとめた。

2.6.4.2.1.2 ハムスター

2.6.4.2.1.2.1 Amgen 社

バリデーション済みの電気化学発光（ECL）の分析法（MET-002532）に従って、ハムスター血清中の非結合型 evolocumab 濃度を測定した。この方法は、Amgen 社（ワシントン州シアトル）にて開発及びバリデーションが行なわれた。マウス抗 evolocumab 抗体、クローン 1.18.1（Amgen 社）を MA 6000 High Bind マイクロプレートウェル（MSD）に吸着させた。マイクロプレートのウェルから余分なコーティング抗体を除去した後、Blocker™ BLOTTO の TBS 緩衝液（Thermo Scientific）を添加した。evolocumab を 100%ハムスター血清プールに添加して作成した STD 及び QCs、NSB、測定サンプルを、Blocker™ BLOTTO の TBS 緩衝液で 100 倍に希釈した後、ウェルに添加した。インキュベーション中に、STD、QCs、並びに測定サンプル中の evolocumab は、固相化された抗 evolocumab モノクローナル抗体に結合する。洗浄ステップ後、Ru 標識マウス抗 evolocumab モノクローナル抗体、クローン 1.46.1（Amgen 社）をウェルに添加した。検出抗体は、前のステップで捕捉された evolocumab と結合する。最終洗浄ステップ後、結合した Ru 標識抗 evolocumab 抗体を検出するために、Read Buffer（MSD）をウェルに添加した。マイクロプレートを電気的に刺激したとき、Ru 標識抗体は、read buffer 中の共反応物質 TPA の存在下で捕捉試薬に結合した evolocumab の量と比例して 620 nm の光を発する。重み付けを 1/Y とした 5 パラメータロジスティック回帰モデルを使用し、Watson Laboratory Information Management System（LIMS）（7.0.0.01 及び 7.4 SP3 版）を用いて解析した。

2.6.4.2.1.2.2 [redacted] 社

バリデーション済みの分析法 ICD376.1 に従ってハムスター血清中の evolocumab 濃度を測定した。ハムスター血清サンプル中の evolocumab の定量法は、Amgen 社（ワシントン州シアトル）で開発され、[redacted] 社でバリデーションが行われた（試験番号 115227 [redacted]-PMX2）。開発した測定法は、捕捉試薬としてマウス抗 evolocumab 抗体、クローン 1.18.1（Amgen 社）を使用する ECL 免疫測定法である。evolocumab（Amgen 社）を 100 %正常ハムスター血清プールに添加して STD 及び QCs を作成

した。STD、NSB（100%正常ハムスター血清）、QCs、並びに測定サンプルを、Blocker™ BLOTTO の TBS 緩衝液で 100 倍に希釈した後、マイクロプレートのウェルに添加した。固相化された抗 evolocumab 抗体により、サンプル中の evolocumab を捕捉した。マイクロプレートのウェルを洗浄した後、捕捉した evelocumab を検出するために、Ru 標識マウス抗 eveolocumab 抗体 1.46（Amgen 社）を添加した。マイクロプレートのウェルを洗浄して、結合していない Ru 標識抗体を除去した後、Read Buffer（MSD）を添加した。Ru 標識抗体は、電気的刺激により、捕捉試薬に結合した evolocumab の量と比例して 620 nm の光を発する。電気化学発光信号（ECL カウント）を高めるために TPA 緩衝液と共反応させた。検量線は、1/Y の重み付け係数を用い、PPD の Assist LIMS データベース（version5.0 以上）を用いて回帰した。

表 2.6.4-5　動物における非結合型 evolocumab の測定法

Amgen 社試験番号	試験方法及びバージョン	動物種	定量範囲 (ng/mL)	分析法バリデーション（施設）	Non-GLP	捕捉抗体	検出抗体	Amgen 社試験番号（In-life）
111318	MET-002332 v1.0、2.0、3.0	カニクイザル	400～5,000	実施（Amgen）	適合	マウス抗 hu evolocumab クローン 1.18.1 MAb	HRP マウス抗 evolocumab クローン 1.46.1 MAb	110149 110150 111322
112922	MET-002532 v1.0、2.0、3.0	ハムスター	500～28,000	実施（Amgen）	適合	マウス抗 hu evolocumab クローン 1.18.1 MAb	SULFO-TAG 共役マウス抗 evolocumab クローン 1.46.1 Mab	112699 114375
113479	ELISA-0353-VAL-002	カニクイザル	400～5,000	実施（[redacted]）	適合	マウス抗 hu evolocumab クローン 1.18.1 MAb	HRP マウス抗 evolocumab クローン 1.46.1 MAb	110359
115226	ICD 376.2	カニクイザル	400～28,000	実施（[redacted]）	適合	マウス抗 hu evolocumab クローン 1.18.1 MAb	ルテニウム標識マウス抗 evolocumab クローン 1.46.1 Mab	110370 112311 116111 116654
115227	ICD 376.1	ハムスター	500～28,000	実施（[redacted]）	適合	マウス抗 hu evolocumab クローン 1.18.1 MAb	ルテニウム標識マウス抗 evolocumab クローン 1.46.1 Mab	114975 114976

2.6.4.2.2　動物における血清中非結合型 PCSK9 濃度の測定法

ELISA を用いて、カニクイザル血清中の非結合型 PCSK9 を測定した。表 2.6.4-6 に非臨床試験のために実施した測定法、測定範囲、関連する分析法バリデーションの一覧を示す。

2.6.4.2.2.1　カニクイザル

2.6.4.2.2.1.1　Amgen 社

カニクイザル又はヒト血清及び血漿中の非結合型 PCSK9 濃度を測定するための分析手順（PK0805PCSK9CySe/HuSe/HuPl）に従って、カニクイザル血清中の非結合型 PCSK9 濃度を測定した。

この方法は、Amgen社（ワシントン州シアトル）により開発された。マイクロプレートのウェルをevolocumab、クローン21B12（Amgen社）でコーティングした。PCSK9を100％ウシ胎児血清プールに添加してSTD及びQCsを作成した。サロゲートマトリクスとしてウシ胎児血清を使用するのは、カニクイザル血清中では内因性PCSK9濃度が高く、ばらつきがあるためである。コーティングしたプレートをブロックした後、STD、QCs、NSB、並びに測定サンプルを、SuperBlock® T20緩衝液で50倍に希釈した後、マイクロプレートのウェルに添加した。マイクロプレートに固相化されたevolocumabにより、サンプル中の非結合型PCSK9を捕捉した。洗浄後、マイクロプレートのウェルにビオチン標識3C4抗体（Amgen社）を添加して、捕捉したPCSK9と結合させた。洗浄後、マイクロプレートのウェルにpoly-HRP標識ストレプトアビジンを添加して、3C4抗体上のビオチンと結合させた。最終洗浄ステップ後、TMB基質溶液をマイクロプレートのウェルに添加した。TMB基質溶液はHRP存在下で過酸化水素と反応し、捕捉試薬に結合したPCSK9の量に比例して発色する。硫酸を用いて発色を停止させ、SoftMax Pro version 5.2を使用して450 nmと650 nmの吸光度の差を測定した。4-パラメータロジスティック回帰モデルを使用し、重み付け係数を$1/Y^2$としてWatson 7.0.0.01を用いてデータを解析した。

2.6.4.2.2.1.2 [redacted]社

ELISAにより、カニクイザル血清中の非結合型PCSK9を測定した。

カニクイザル血清中では内因性PCSK9濃度が高く、ばらつきがあるため、ウシ胎児血清を用いてSTD及びQCsを調製した。evolocumabを捕捉に使用し、抗PCSK9抗体を検出に使用した。この抗体は非結合型PCSK9と結合する。定量範囲は、15～1200 ng/mLであった。ブロッキング後、STD、NSB、QCs、血清対照（SCs）、並びに測定サンプルを、SuperBlock® T20緩衝液で50倍に希釈した後、マイクロプレートのウェルに添加した。サンプル中の非結合型PCSK9は、マイクロプレートに固相化された抗PCSK9（evolocumab）抗体により捕捉した。マイクロプレートのウェルを洗浄した後、ビオチン標識ヒト抗PCSK9抗体3C4.1（Amgen社）を添加して、捕捉したPCSK9と結合させた。再度洗浄した後、マイクロプレートのウェルにpoly-HRP標識ストレプトアビジンを添加して、抗PCSK9 3C4.1抗体上のビオチンと結合させた。最終洗浄後、TMB基質溶液をマイクロプレートのウェルに添加した。TMB基質溶液はHRPの存在下で過酸化水素と反応し、捕捉試薬に結合したPCSK9の量に比例して発色する。硫酸を用いて発色を停止させ、450 nmと650 nmの吸光度の差を測定した。重み付け因子を$1/Y^2$とし、[redacted]のAssist LIMSを用いて4パラメータ回帰モデルに従って検量線を回帰し、STD、QCs、SCs、並びに測定サンプルの濃度をもとめた。

表 2.6.4-6　動物における非結合型 PCSK9 の測定法

Amgen 社試験番号	試験方法及びバージョン	動物種	定量範囲（ng/mL）	分析法バリデーション（施設）	Non-GLP	捕捉抗体	検出抗体	Amgen 社試験番号（In-life）
110599	PK0805PCSK9CySe/HuSe/HuPl	カニクイザル	10～1000	未実施（Amgen）	適合	evolocumab	ビオチン化抗 PCSK9 抗体クローン 3C4	111322 003-09 111256
116170	ICD 377.1	カニクイザル	15～1200	実施（[redacted]）	適合	evolocumab	ビオチン化抗 PCSK9 抗体クローン 3C4	116111 116654

2.6.4.2.3　動物における血漿中のロスバスタチンの測定法

陽イオンモードで選択反応検出法（SRM）によるエレクトロスプレーイオン化 LC-MS/MS を用いて、カニクイザル血漿中のロスバスタチンを測定した。定量範囲は、0.3～50 ng/mL であった。
表 2.6.4-7 に非臨床試験で実施した測定法、定量範囲、関連する分析法バリデーションの一覧を示す。

表 2.6.4-7　動物におけるロスバスタチンの測定法

Amgen 社試験番号	試験方法及びバージョン	動物種	定量範囲（ng/mL）	分析法バリデーション（施設）	Non-GLP	標準物質	内部標準物質	Amgen 社試験番号（In-life）
115693	TSLS11219	カニクイザル	0.300～50	実施（[redacted]）	適合	ロスバスタチンメチルアミン塩	ロスバスタチン-d_3 カルシウム塩	112311

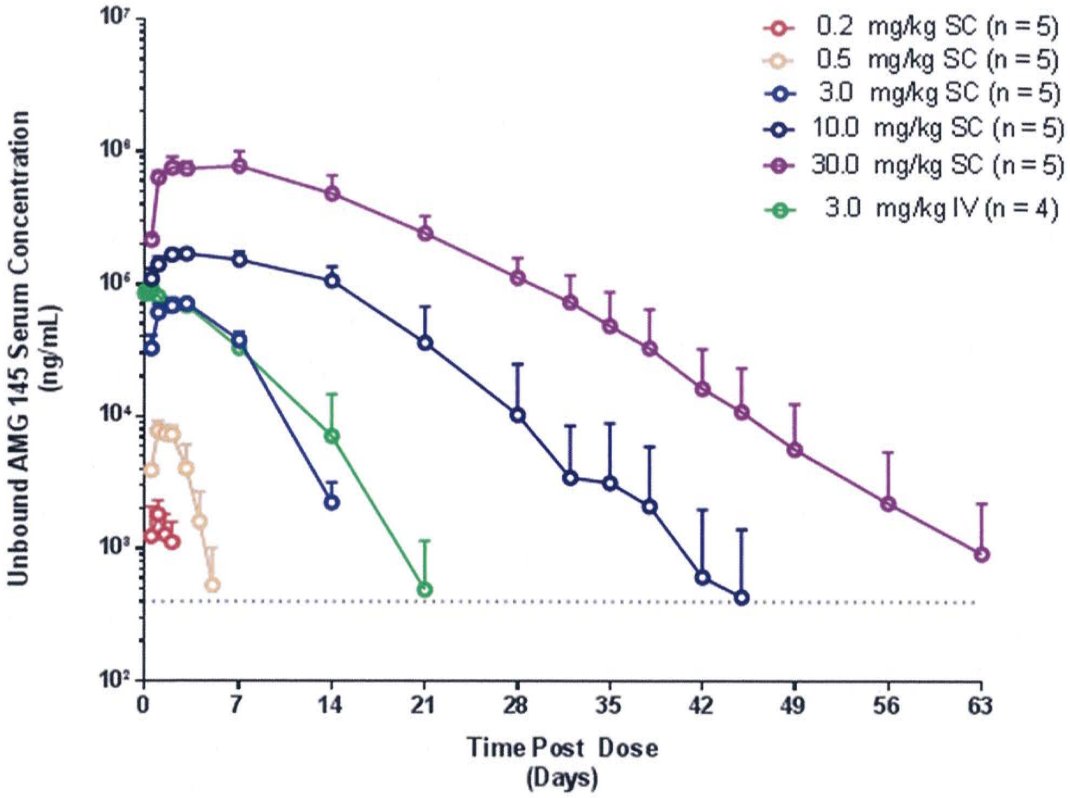
2.6.4.2.4　血清中の抗 evolocumab 抗体の測定法

測定方法の詳細は Integrated immunogenicity report（5.3.5.3 項）に示す。

2.6.4.3　吸収

カニクイザルにおいて、evolocumab の単回 IV 又は SC 投与後の PK を 0.05～30 mg/kg の用量範囲で評価した（報告書 R20090025、111322 試験）。IV では 3 mg/kg の用量のみとした。これらの試験では、カニクイザルの血清中に抗 evolocumab 抗体は検出されなかった。

カニクイザルに SC 投与したとき絶対バイオアベイラビリティは約 82%であった。平均 C_{max} 及び T_{max} は用量と共に増加し、0.2 及び 30 mg/kg の用量における平均 C_{max} はそれぞれ 1.82 µg/mL 及び 833 µg/mL、平均 T_{max} はおおよそ 1 及び 4 日であった（図 2.6.4-2、表 2.6.4-2）。用量を 0.2 から 30 mg/kg まで 150 倍増加させたとき、C_{max} は 457 倍、AUC_{inf} は約 3000 倍増加し、いずれも用量比以上に増加した。10～30 mg/kg の用量範囲において用量補正後の AUC_{inf} の変化は 2 倍未満であり、平均 AUC_{inf} 値はおおよそ用量と比例していた。これらの薬物動態に関する所見は、標的介在性消失と一致していた。



0.05 mg/kg 投与時の evolocumab 濃度はすべて、定量限界未満であった。
点線は定量下限（400 ng/mL）を表す。

図 2.6.4-2　evolocumab をカニクイザルに単回 SC 投与（N = 4～5/群）したときの非結合型 evolocumab の血清濃度－時間推移（R20090025 及び 111322 試験）（平均値+標準偏差）

2.6.4.4　分布

分布試験は実施しなかった。IgG 抗体は、その分子サイズのために血清から組織への分布が限られる。抗体薬は、中枢（Poduslo et al, 1994、Triguero et al, 1989、Frank et al, 2011）及び眼（Thiel et al, 2003、Gaudana et al, 2010）等への移行が限られ、循環血中の抗体濃度に対する脳内濃度の割合は、定常状態で 0.1%～0.2%と推定されている（Yu and Watts, 2013）。モノクローナル抗体の既知の分布の特徴を考慮すると、ほとんどの抗体は、血漿量の 2～5 倍の定常状態分布容積を持つと予想される（Tabrizi et al, 2009、Lobo et al, 2004）。

カニクイザル（n = 4）に 3 mg/kg の evolocumab を IV 投与したとき、血清中非結合型 evolocumab の定常状態分布容積（V_{ss}）は 25.3 mL/kg で、血漿量（45 mL/kg）と同等であった。しかし、血清と間質腔間の平衡が遅く末梢コンパートメントからの消失が存在するために、ノンコンパートメント法を用いて算出すると V_{ss} はやや過小評価されている可能性がある。SC 投与後、見かけの分布容積（V_Z/F）は、0.2 mg/kg で 64.8 mL/kg、30 mg/kg で 19.9 mL/kg と用量の増加とともに減少し、飽和性の結合を示す抗体の特徴と一致していた。この結果は、evolocumab とその標的である PCSK9 の親和性が高いことと合致する（2.6.2 項）。

2.6.4.5 代謝

evolocumabについて非臨床代謝試験は実施しなかった。しかし、evolocumab投与後のPK及びそのリガンドのPCSK9の用量依存的抑制は、標的介在性消失を示す薬物に典型的なものである（Lobo et al, 2004）。カニクイザルへのSC投与後、非結合型evolocumabの消失は、用量に対して非線形で、全身CL/F値は、0.2 mg/kgの55.2 mL/day/kgから30 mg/kgの2.4 mL/day/kgに変化した。終末相の血清中evolocumab濃度－時間推移は、より低い用量の0.2から3 mg/kgでは並行した減衰を示さず、標的であるPCSK9の飽和が観察期間の大半を通じて持続していた10及び30 mg/kgではほぼ並行していた（表2.6.4-2）。evolocumabのクリアランスには、標的リガンドであるPCSK9との特異的結合及び複合体形成に加え、ほかの免疫グロブリンと同様に、新生児Fc受容体（FcRn）を介した再利用と細網内皮系における除去が関与すると考えられる（Waldmann, Strober, 1969、Junghans, Anderson, 1996）。また、evolocumabは、異化経路を介してペプチド及びアミノ酸に分解されると推測される。

2.6.4.6 排泄

evolocumabはモノクローナル抗体であり、その分子量から腎排泄はないと推定される（Keizer et al, 2010）。そのため、evolocumabの排泄を評価することを目的とした試験は実施しなかった。

2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用

evolocumabは推定される生体内挙動及び作用メカニズムから薬物相互作用を生じないと想定されるため、非臨床薬物相互作用試験は実施しなかった。しかし、カニクイザルにロスバスタチン及びevolocumabを単剤又は併用投与した併用投与毒性試験において非結合型evolocumabの血清中濃度及び総ロバスタチン血漿中濃度を測定した。その結果、ロスバスタチンの薬物動態に対するevolocumabの影響は認められず、ロスバスタチンとの併用投与時にevolocumabが薬物動態学的薬物相互作用を引き起こさないことが示唆された（2.6.6.3.5項）。

2.6.4.8 その他の薬物動態試験

2.6.4.8.1 PK/PD

カニクイザルを用いた単回投与PK試験（111322試験）では、非結合型PCSK9、LDL-C、HDL-C、TG、ApoA-1、並びにApoBの血清中濃度の変化を測定することによりevolocumabのPK/PDを評価した。

非線形混合効果モデリングを用いたセミメカニスティックモデルにより、非結合型evolocumabとLDL-Cの血清濃度の関連性を評価した。線形及び非線形（Michaelis-Menten）消失及び一次吸収による1コンパートメントモデルを個々のPKデータにあてはめた。バイオアベイラビリティ値（F）は0.82、SC吸収速度定数（k_a）は0.72 日$^{-1}$であった。線形の消失過程における推定消失速度定数（k_{el}）及び分布容積（V）は、それぞれ0.0718 日$^{-1}$及び0.0248 L/kgであった。これらの結果より、CL/F（$=k_{el}*V/F$）は2.17 mL/day/kgと算出された。この結果は、10及び30 mg/kgの用量についてノンコ

ンパートメント法でもとめた CL/F（それぞれ 4.1 及び 2.4 mL/day/kg）に近いことから、高用量での薬物消失の大部分が線形の消失経路を介していると考えられる。飽和（非線形）経路については、最大消失速度（V_{max}）は 179 μg/kg/day であり、最大消失速度の 50%に達するのに必要な濃度（すなわちミカエリス定数［K_m］）は 28.9 μg/mL であった。このモデルからの予測値は、実測値とおおむね一致した（図 2.6.4-3）。

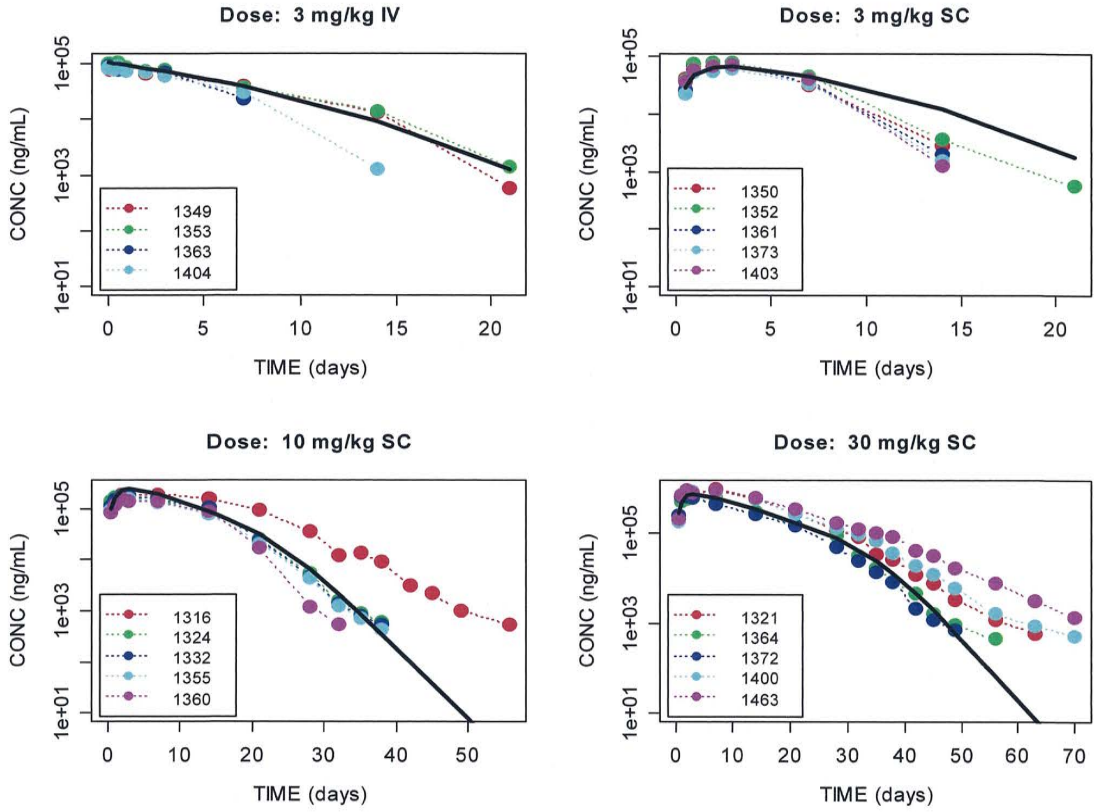


図 2.6.4-3　evolocumab のカニクイザルへの静脈内（IV）及び皮下（SC）投与時の血清中 evolocumab 濃度－時間推移（N = 4～5/群、111721 試験）
（モデルによる予測値：実線、実測値：●、個体別の予測値：点線）

平均 LDL-C データについては、間接反応モデルにあてはめて解析した。このモデルは、evolocumab の作用機序及び PCSK9 の生理作用を反映したものであり、evolocumab の血清中濃度の関数として LDL-C の分解速度が促進されることを表したものである。ベースラインの LDL-C 濃度の母集団パラメータ推定値は 40.4 mg/dL、LDL-C 合成速度は 7.24 mg/dL/day であった。LDL-C の消失速度に対する evolocumab の影響を表すパラメータは S_{max} であり、これは、evolocumab の刺激による LDL-C の分解速度の最大増加（ベースラインからの上昇比）を表すと定義した。LDL-C 消失に関する薬物依存性パラメータである SC_{50} は、LDL-C の最大低下率の 50%の低下を生じる非結合型 evolocumab 濃度とした。モデル解析により得られた S_{max} が 4.67 であったことから分解速度がほぼ 6 倍（1+4.67）に増加したと考えられ、SC_{50} は 11.4 μg/mL（11400 ng/mL）と推定された。このモデルにより、カニクイザルにおける非結合型 evolocumab と LDL-C の関係を十分に説明することができた（図 2.6.4-4）。

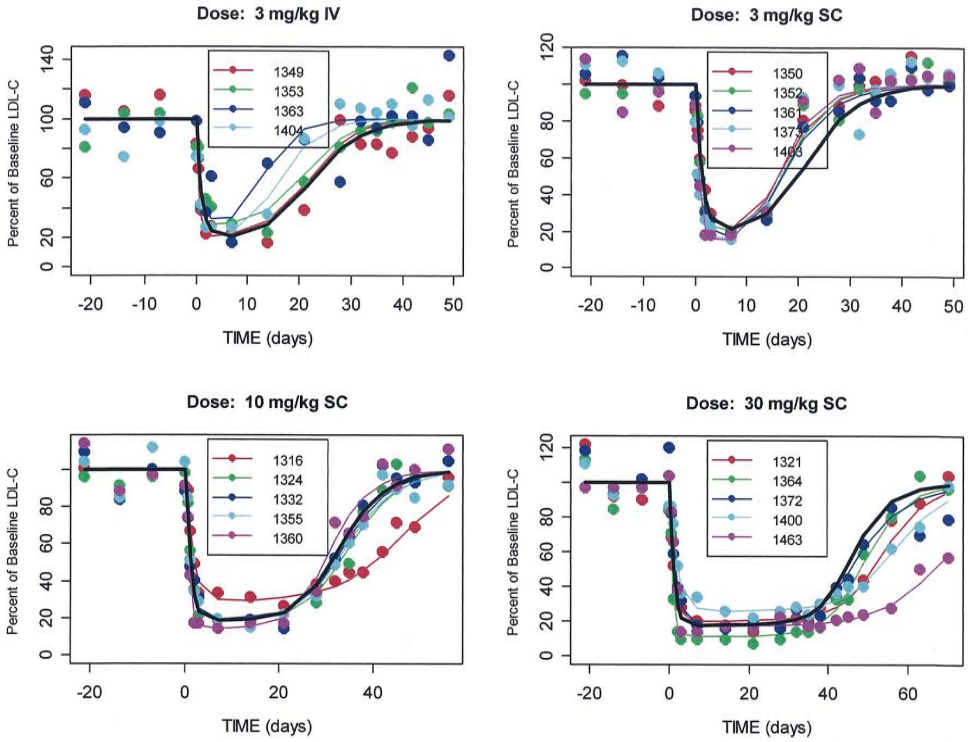


図 2.6.4-4　血清中 LDL-C 及び個々の被験動物データ並びに evolocumab 投与群（N=4～5/群、111721 試験）別の LDL-C 予測
（母集団平均予測値：実線、実測値：●、個体別予測値：色つき線）

カニクイザルにおける evolocumab の PK 及び PD データをモデル化し、スケーリング法によりヒトにおける PK を予測した結果、evolocumab の FIH 試験は IV 及び SC で 7～420 mg と広い用量範囲を評価するデザインとした（2.7.2 項）。

2.6.4.8.2　生物薬剤評価

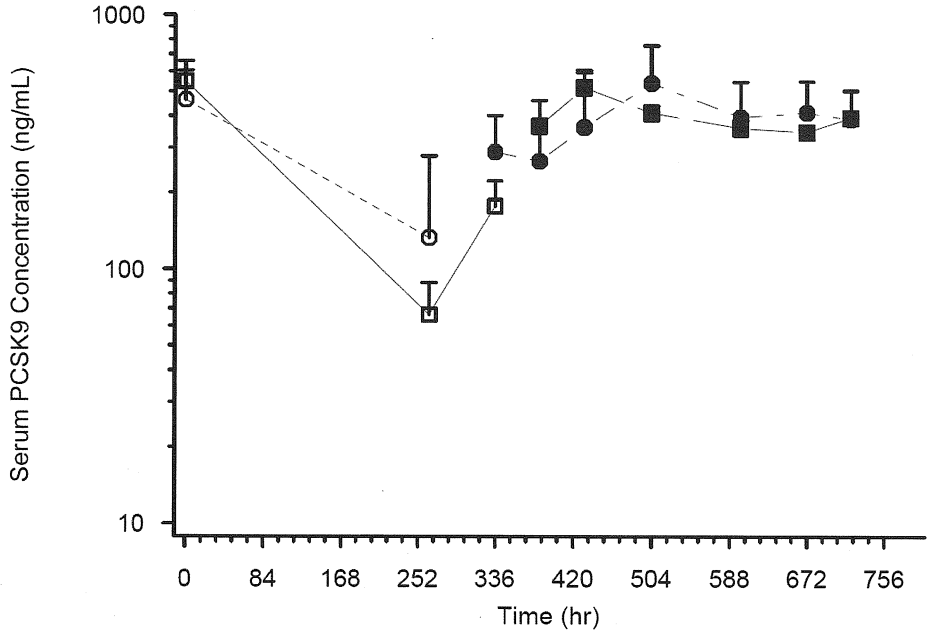
116111 試験（参考資料）及び 116654 試験は、カニクイザルにおいて複数の evolocumab 濃度（70、120、140 mg/mL）の製剤について PK 及び PD の差異を評価することを目的に実施した。これらの探索的試験から、臨床試験における製剤の開発及び使用について初期の裏付けが得られた。

116111 試験では、合計 6 匹のカニクイザルを 2 群に割り付けた（3 匹／群）。クロスオーバーデザインで 70 mg/mL 製剤（対照群）及び 120 mg/mL 製剤（試験群）を単回 SC 投与した。evolocumab の投与量は 3.5 mg/kg、投与液量は、70 mg/mL 製剤で 0.05 mL/kg、120 mg/mL 製剤で 0.29 mL/kg であった。非結合型 evolocumab 及び PCSK9 の血清中濃度を投与後 30 日間評価した。対照群に対する試験群の C_{max} 及び AUC_{0-t} の比はそれぞれ 0.79（90% CI 0.71～0.89）及び 0.73（90% CI 0.63～0.85）であり、試験群における C_{max} 及び AUC_{0-t} は対照群に比べてわずかに低かった（表 2.6.4-8）。PCSK9 の抑制率及び経時変化は投与群間で同様であった。evolocumab の PK にわずかな差が認められたが、非結合血清中 PCSK9 の経時変化に差は見られなかったことから、LDL-C の低下に両製剤間で差が認められる可能性は低いと考えられた（図 2.6.4-5）。

表 2.6.4-8　evolocumab を 3.5 mg/kg の用量でカニクイザルに単回 SC 投与したときの
ノンコンパートメント PK パラメータ（116111 試験）（平均値、括弧内は標準偏差）

Study Period	Group	Vehicle	N	t_{max}[1] (hr)	C_{max} (µg /mL)	AUC_{0-t} (µg *hr/mL)	AUC_{0-t} (µg.day/mL)
1	1	A	3	48.00 (48.00-72.00)	43.2 (5.56)	5840 (1220)	243 (51)
	2	B	3	48.00 (48.00-48.00)	35.2 (10.9)	4100 (855)	171 (36)
2	1	B	3	48.00 (48.00-48.00)	33.6 (7.60)	4700 (1310)	196 (55)
	2	A	3	48.00 (48.00-96.00)	43.0 (8.17)	6030 (478)	251 (20)

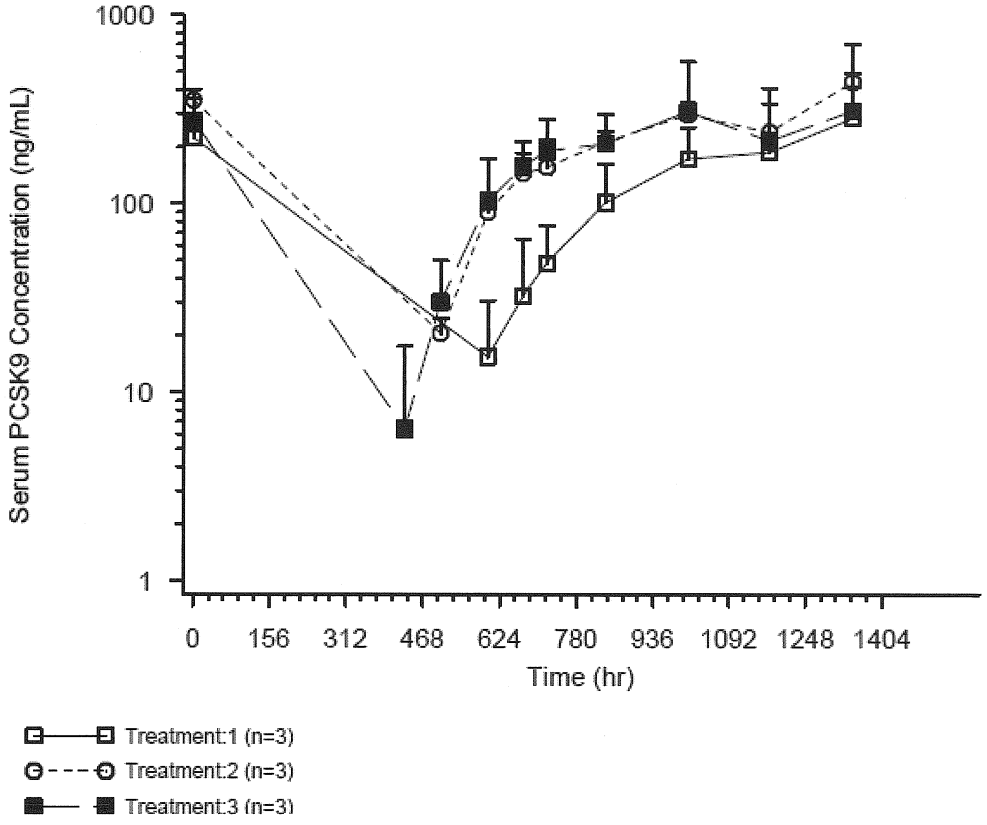
[1] t_{max} (hr) is Median (min - max)
Source Data: QC - 116111_Excel Description-
Scenario Source Data: Period 1 NCA Version- 2 Description- added column (Period) to combined Perio
and Period 2 analysis for S-Plus Reporter
Date Generated by PK Reporter S-PLUS: Wed Aug 01 14:07:36 PDT 2012 User: lwasberg
Vehicle A: AMG 145 70 mg/mL (reference)
Vehicle B: AMG 145 120 mg/mL (test)



Source Data: QC - 116111_PCSK9_EXCEL Description-
Date Generated by PK Reporter S-PLUS: Fri Aug 10 14:18:44 PDT 2012 User: lwasberg
Study Period 1,Treatment 1: AMG 145 70 mg/mL (reference)
Study Period 1,Treatment 2: AMG 145 120 mg/mL (test)
Study Period 2,Treatment 1: AMG 145 120 mg/mL (test)
Study Period 2,Treatment 2: AMG 145 70 mg/mL (reference)

図 2.6.4-5　evolocumab を 3.5 mg/kg の用量でカニクイザルに SC 投与したときの
PCSK9 濃度－時間推移（116111 試験）（平均値+標準偏差）

116654 試験の目的は、雄カニクイザルに並行群間比較デザインで 3 種類の evolocumab 製剤を単回 SC 投与し、PK 及び PD を評価することであった。合計 9 匹の雄カニクイザルを 3 群に割り付け（3 匹／群）、対照群に evolocumab 70 mg/mL 製剤、試験群に 120 mg/mL 又は 140 mg/mL 製剤を単回 SC 投与（17.5 mg/kg）した。evolocumab 70 mg/mL 製剤の投与群（対照群）の平均 C_{max} 及び AUC_{0-t} は、それぞれ 219 μg/mL 及び 2670 μg・day/mL であった。evolocumab 120 mg/mL 製剤の投与群における平均 C_{max} 及び AUC_{0-t} は、それぞれ 207 μg/mL 及び 1990 μg・day/mL であった。evolocumab 140 mg/mL 製剤の投与群における平均 C_{max} 及び AUC_{0-t} は、それぞれ 209 μg/mL 及び 2130 μg・day/mL であった。evolocumab の PK にわずかな差が認められたにもかかわらず、非結合型 PCSK9 は同様の推移を示したことから、LDL-C の低下にも顕著な差は認められないことが示唆された（図 2.6.4-6）。試験したすべての動物は、抗 evolocumab 抗体陰性であった。



Source Data:108252-116654_PCSK9_NonGLP Description-Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Analysis of Three AMG 145 Formulations in Naïve Male Cynomolgus Monkeys Following a Single Subcutaneous Dose
Date Generated by PK Reporter S-PLUS: Wed Nov 07 14:07:43 PST 2012 User: lwasberg
Treatment 1=AMG 145 70 mg/mL (reference)
Treatment 2=AMG 145 120 mg/mL (test)
Treatment 3=AMG 145 140 mg/mL (test)

図 2.6.4-6　evolocumab を 17.5 mg/kg の用量でカニクイザルに SC 投与したときの PCSK9 濃度－時間推移（116654 試験）（平均値+標準偏差）

2.6.4.9　考察及び結論

ゴールデンシリアンハムスター及びカニクイザルにおけるevolocumabの体内動態を明らかにするために、一連のPK及びTK試験を実施した。得られた結果からヒトにおけるevolocumabの体内動態特性を決定していると思われる要因が推察された。カニクイザルを用いたPK試験で観察されたevolocumabの分布容積から、血管外へ分布しにくいことが示された。evolocumabがPCSK9に対して高い結合活性を示す種であるカニクイザルでは、用量依存性の非線形PKが認められ、それに伴って非結合型PCSK9の血清中濃度が検出未満の水準にまで低下したことから、PCSK9との結合によるevolocumabの消失が、非線形性の原因となっていることが示唆された。さらに、ハムスター及びカニクイザルのTK試験で観察された用量と比例した曝露量の増加から、高用量ではevolocumabの非線形の消失過程が飽和に達することが示唆された。このことから、ヒトで観察された用量依存性及び飽和性の非線形PKを同じ機序で説明しうると考えられた（2.7.2項）。飽和のある抗原依存的消失過程に起因する非線形薬物動態は、オマリズマブ（Xolair® US処方情報、2010年7月改訂）及びデノスマブ（Prolia® US処方情報、2013年7月改訂）等のほかのモノクローナル抗体でも報告されている。選択した製剤を臨床試験で使用することの妥当性は、非臨床試験でも裏づけられた。反復投与毒性試験、生殖発生毒性試験、並びに生涯投与試験では動物の曝露量と臨床曝露量との間に充分な安全域が認められた。ハムスター及びカニクイザルにおいて抗evolocumab抗体の発現率が低かったことから、evolocumabのPK/TKが抗薬物抗体の影響を受けていないことが確認された。

2.6.4.9.1　計画及び実施中の薬物動態試験

計画中あるいは実施中の非臨床薬物動態試験はない。

2.6.4.10 参考文献

Frank RT, Abody KS, Najbauer J. Biochil11ica et Biop/lysica Acta 181G (2011) : 191-198

Gaudana R, Ananthula HK, Parenky A, Mitra AK. Ocular Drug Delivery. AAPS Journal (2010) 12:348-360.

Junghans RP, Anderson CL. The protection receptor for IgG catabolism is the beta2-microglobulin-containing neonatal intestinal transport receptor. Proc Natl Acad Sci USA (1996) 93:5512-5516.

Keizer, RJ, Huitema ADR, Schellens JHM, Beijnen JH. Clinical pharmacokinetics of therapeutic monoclonal antibodies. Clin Pharmacokinet 2010;49:493-507

Lobo ED, Hansen RJ, Balthasar JP. Antibody pharmacokinetics and pharmacodynamics. J Pharm Sci (2004) 93:2645-2668.

Podulso JF, Curran GL, Berg CT. Macromolecular permeability across the blood nerve and blood-brain barriers. Proc Natl Acad Sci USA. 1994;91:5705-5709

Tabrizi M, Bornstein GG, Suria H. Biodistribution mechanisms of therapeutic monoclonal antibodies in health and disease. AAPS Journal 43 (2010) 12:33-43.

Thiel MA, Coster DJ, Williams KA. The potential of antibody-based immunosuppressive agents for corneal transplantation. Immunol Cell Biol (2003) 81:93-105.

Trigueuro D, Buciak JB, Yang J, Pardridge WM. Blood-brain barrier transport of cationized immunoglobulin G: enhanced delivery compared to native protein. Proc Natl Acad Sci USA (1989) 86:4761-5.

Yu YJ and Watts RJ. Developing therapeutic antibodies for neurodegenerative disease. Neurotherapeutics (2013)10:459-72.

Waldmann TA and Strober W. Metabolism of immunoglobulins. Prog Allergy (1969) 13:1-110

目次

2.6.5　薬物動態概要表 2

表一覧

表 2.6.5-1　薬物動態試験：一覧表 2
表 2.6.5-2　薬物動態試験：分析法及びバリデーション試験 3
表 2.6.5-3　薬物動態試験：吸収：単回投与被験物質：evolocumab 6
表 2.6.5-4　薬物動態試験：吸収：反復投与被検物質：evolocumab 8
表 2.6.5-5　薬物動態試験：その他 13
表 2.6.5-6　薬物動態試験：その他 被験物質：evolocumab 14

2.6.5　薬物動態概要表

表 2.6.5-1　薬物動態試験：一覧表

試験の種別	試験系	投与方法	試験施設	試験番号	CTD の場所
分析法及びバリデーション報告書					
evolocumab 定量法バリデーション（ELISA）	サル血清	NA	Amgen 社	111318	4.2.2.1-5
evolocumab 定量法バリデーション（ECL）	ハムスター血清	NA	Amgen 社	112922	4.2.2.1-1
evolocumab 定量法バリデーション（ELISA）	サル血清	NA	[redacted]社	113479	4.2.2.1-7
evolocumab 定量法バリデーション（ECL）	サル血清	NA	[redacted]社	115226	4.2.2.1-6
evolocumab 定量法バリデーション（ECL）	ハムスター血清	NA	[redacted]社	115227	4.2.2.1-2
PCSK9 定量法の適格性評価（ELISA）	サル血清	NA	Amgen 社	110599	4.2.2.1-3
PCSK9 定量法バリデーション（ELISA）	サル血清	NA	[redacted]社	116170	4.2.2.1-4
ロスバスタチン定量法バリデーション（LC-MS/MS）	サル血漿	NA	[redacted]社	115693	4.2.2.1-8
吸収					
evolocumab 単回投与時の薬物動態	サル	IV、SC	Amgen 社	111322	4.2.2.2-1
その他の薬物動態試験					
ヒト PK/PD の予測	ヒト	IV、SC	Amgen 社	111721	4.2.2.7-1
製剤比較試験	サル	SC	Amgen 社	116111（参考資料）	4.2.2.7-2
製剤比較試験	サル	SC	Amgen 社	116654	4.2.2.7-3

表 2.6.5-2　薬物動態試験：分析法及びバリデーション試験

試験の種別／標題	目的	結果の要約
ELISA によるカニクイザル血清中 AMG145 の濃度測定法のバリデーション (111318)	カニクイザル血清中の非結合型 evolocumab 濃度を測定するため、分析法のバリデーションを行う	ELISA によるカニクイザル血清中 evolocumab 濃度定量法のバリデーションを Amgen 社で実施した。これは定量範囲の検討、測定間及び測定内の真度及び精度、選択性、特異性、安定性、フック効果、実サンプル分析の検討を含む。この測定法は以下のようにすべての判定基準を満たした。1）検量線のロジスティック回帰の当てはめ [4-PL]、重み付け係数＝1、2）定量範囲が 400～5000 ng/mL、3）STD、QC サンプルのバイアスが-20～20%、4）STD、QC サンプル、測定サンプルの CV が≤ 20%、5）長期冷凍保管安定性が -70°C、175 日間、6）ISR において 100%の再分析サンプルが目標判定基準を満たした。
ECL 免疫測定法によるハムスター血清中 AMG145 の定量法のバリデーション (112922)	ハムスター血清中の非結合型 evolocumab を測定するため、分析法のバリデーションを行う	検量線の評価、測定間及び測定内の精度及び真度、選択性、特異性、安定性、頑健性／堅牢性、希釈直線性とフック効果、実サンプルの再分析について、ECL 法のフルバリデーションを Amgen 社で実施した。バリデーションの結果、1）重み付け係数＝1/Y の 5-PL ロジスティック回帰を用いて検量線の当てはめ、2）定量範囲 500 ng/mL～28000 ng/mL（LLOQ～ULOQ）、3）標準試料のバイアス± 15%、QC サンプルのバイアス± 20%、標準試料、QC サンプル、試験サンプルの CV が≤ 15%であることが示された。
ELISA によるカニクイザル血清中 AMG145 の定量法のトランスファーバリデーション （113479/[redacted] 8225-516）	カニクイザル血清中の非結合型 evolocumab を測定するため、バリデーション済の分析法を移管する	[redacted] は、検量線の評価、測定間及び測定内の精度及び真度、定量範囲、堅牢性／頑健性、希釈直線性、試験対象ロットの比較、測定バッチサイズの検討、ベンチトップ及び前処理時の安定性について ELISA 法のパーシャルバリデーションを実施した。バリデーションの結果、1）重み付け係数＝1 でロジスティック回帰（4PL）を用いて検量線の当てはめ、2）定量範囲 400 ng/mL～5000 ng/mL（LLOQ～ULOQ）、3）標準試料のバイアス± 15%、QC サンプルのバイアス± 15%、希釈 QC サンプルのバイアス± 25%、標準試料、QC サンプル、希釈 QC サンプル、試験サンプルの機器応答の CV ≤ 15%であることが示された。
電気化学発光（ECL）免疫測定法による正常、母体、出生児のカニクイザル血清中及びカニクイザルの母乳中 AMG145 の定量法 (115226/[redacted] QMX2)	カニクイザルの母体、出生児の血清中、及び母乳中の非結合型 evolocumab を測定するため、分析法のバリデーションを行う	[redacted] により ECL 法の移管及びバリデーションが実施された。正常なカニクイザル血清中の evolocumab のバリデーションで、検量線の評価、測定間及び測定内の真度及び精度、定量範囲、頑健性／堅牢性、測定時のバッチサイズ、希釈直線性とフック効果、選択性、凍結／融解、ベンチトップと 2～8°C 及び前処理時における安定性が評価された。バリデーションの結果により、1）検量線のロジスティック回帰（5PL）への当てはめ、重み付け係数＝1/Y、2）定量範囲 400 ng/mL～28000 ng/mL、3）CAL の真度 -20～20%、QC サンプル（HQC、MQC、LQC）の真度 -20～20%、4）CAL、QC サンプル、試験サンプルの CV（機器応答）≤ 15%、5）最大 5 サイクルの凍結・融解時の安定性が示された。

表 2.6.5-2　薬物動態試験：分析法及びバリデーション試験（続き）

試験の種別／標題	目的	結果の要約
電気化学発光（ECL）免疫測定法によるハムスター血清中のAMG145の定量 (115227/[redacted] PMX2)	ハムスター血清中の非結合型evolocumabを測定するため、バリデーション済の分析法を移管する	[redacted]によりECL法の移管及びバリデーションが実施された。正常なハムスターの血清中evolocumabのバリデーションで、検量線の評価、測定間及び測定内の真度及び精度、定量範囲、頑健性／堅牢性、測定時のバッチサイズ、希釈直線性、フック効果、ベンチトップと2～8°C及び前処理時における安定性が評価された。バリデーションの結果により、1）検量線のロジスティック（5PL）回帰へのあてはめ、重み付け係数1/Y、2）定量範囲500 ng/mL～28000 ng/mL、3）CALの真度-15～15%、QCの真度-20～20%、4）STD、QCサンプル、DOC及び試験サンプルのCV（機器応答）＜15%、5）凍結・融解5サイクルの間の安定性が示された。
カニクイザル又はヒトの血清中及び血漿中の非結合型PCSK9濃度を測定するELISA法の適格性評価 (110599)	カニクイザル血清中の非結合（遊離）型PCSK9の濃度測定法の適格性を評価する	Amgen社にて非結合型PCSK9を測定するためのELISAの適格性を評価した。この試験では、1）検量線のロジスティック回帰のあてはめ［4パラメータ］、重み付け係数$1/Y^2$、2）定量範囲10～1000 ng/mL、3）STD、QCサンプルのバイアス-20～20%、4）STD、QCサンプル、試験サンプルのCV≤20%、4）凍結・融解の3サイクルでの安定性を含むすべての判定基準を満たした。
カニクイザル血清中のPCSK9定量法（ELISA） (116170/[redacted]POY2)	カニクイザル血清中の非結合（遊離）型PCSK9の濃度測定法を移管する	[redacted]によりELISA法の移管及びバリデーションが実施された。バリデーションでは、血清中定量範囲の確立、方法の頑健性／堅牢性、試験のバッチサイズ、平行性、安定性（ベンチトップ、前処理時、凍結・融解時、短期保存）の評価を行った。バリデーションの結果により、1）検量線のロジスティック回帰（4PL）へのあてはめ、重み付け係数$1/Y^2$、2）定量範囲15.0 ng/mL～1200 ng/mL、3）STDのバイアス-15～15%、QCサンプルのバイアス-25～25%、4）STD、QCサンプル、血清対照のCV（機器応答）≤20%であることが示された。
LC/MC/MSによるカニクイザル血漿中ロスバスタチンの定量法 (115693)	カニクイザル血漿中の総ロスバスタチン濃度を測定するために測定法のバリデーションを行う	バリデーションの結果を以下に示す。 1）定量範囲：0.3～50 ng/mL 2）測定内真度：-11.7～9.0%（LLOQ）、-5.5～5.3%（その他のQCサンプル） 3）測定内精度：2.0～6.0%（LLOQ）、1.5～5.6%（その他のQCサンプル）

分析対象物質	試験番号	CTD の場所	動物種	マトリクス	分析法	定量範囲 (ng/mL)	適用した試験 試験番号
Evolocumab	111318	4.2.2.1-5	カニクイザル	血清	ELISA	400～5000	110149 110150 111322
	113479	4.2.2.1-7	カニクイザル	血清	ELISA	400～5000	110359
	115226	4.2.2.1-6	カニクイザル	血清	ECL	400～28000	110370 112311 116111 116654
	112922	4.2.2.1-1	ハムスター	血清	ECL	500～28000	112699 114375
	115227	4.2.2.1-2	ハムスター	血清	ECL	500～28000	114975 114976
PCSK9	110599	4.2.2.1-3	カニクイザル	血清	ELISA	10～1000	111322 003-09 111256
	116170	4.2.2.1-4	カニクイザル	血清	ELISA	15～1200	116111 116654
ロスバスタチン	115693	4.2.2.1-8	カニクイザル	血漿	LC-MS/MS	0.3～50	112311

表 2.6.5-3　薬物動態試験：吸収：単回投与
被験物質：evolocumab

試験の種別／標題	動物種	目的	方法	結果の要約
雄カニクイザルを用いたAMG145の薬物動態／薬力学試験 (111322)	雄カニクイザル	雄カニクイザルに単回IV又はSC投与した場合のevolocumabのPK、PD、PK-PDの関連性を評価する	evolocumab 3 mg/kgを単回IV投与（n=4）、0（対照）、3、10、又は30 mg/kg（n = 5／群）を単回SC投与した。evolocumab PK及びPDバイオマーカー（血清中脂質、PCSK9、アポリポ蛋白A-1及びB）用サンプルを、LDL-Cがベースライン値に回復するまで採取した。血清中evolocumabのPK及びPDバイオマーカーを測定するため投与後最長70日目まで、様々な評価時点で採血を行った。非結合型evolocumabのPKとLDL-C PDの関連性を評価した。	SC投与後の平均CL/Fは、3 mg/kgの用量で6.5 mL/d/kgから30 mg/kgで2.4 ml/d/kgに減少した。すべての用量においてT_{max}の中央値は3日であった。3 mg/kgの用量におけるF_{app}は82%であった。線形及び非線形消失経路をもつ1コンパートメントモデルにより、PKデータの特徴を明らかにすることができた。evolocumabを単回投与すると、投与後7～14日間に全投与群で平均LDL-Cの80%の低下が生じた（P<0.001）。LDL-Cがベースライン値に回復するまでの時間は、用量に依存していた。間接反応PK-PDモデルは、血清中非結合型evolocumabとLDL-C濃度を十分に関連づけることができた。ベースラインのLDL-C濃度の推定値は40.4 mg/dL、LDL-C合成速度は7.24 mg/dL/dayであった。LDL-C消失を表すS_{max}は4.67、SC_{50}は11400 ng/mLと推定された。

平均（SD）薬物動態パラメータ

試験番号	動物種	投与経路	投与量 (mg/kg)	性及び動物数	T_{max} (day)	C_0 又は C_{max} (μg/mL)	$AUC_{0\text{-}inf}$ (day*μg/mL)	CL 又は CL/F (mL/day/kg)	V_{ss} 又は V_z/F (mL/kg)	$T_{1/2,z}$ (day)	F_{app} (%)
111322	サル	IV	3	雄、4	-	109	573	5.4	25.3	2.53	-
		SC	3	雄、5	3.0	71.1	469	6.5	19.3	2.07	82
		SC	10	雄、5	3.0	172	2570	4.1	23.2	4.13	-
		SC	30	雄、5	3.0	833	13500	2.4	19.9	5.92	-

T_{max}：中央値

表 2.6.5-4　薬物動態試験：吸収：反復投与
被検物質：evolocumab

反復投与毒性 動物種／系統：ハムスター／ゴールデンシリアン 初期日齢：72 日 初回投与日：[redacted]年[redacted]月[redacted]日	報告書標題：ハムスターにおける evolocumab の皮下投与による 3 カ月間反復投与薬理試験 投与期間：QW、3 カ月間 投与後期間：なし 投与方法：皮下投与 溶媒／製剤：A52SuT プラセボ：10 mmol/L 酢酸ナトリウム、9.0%ショ糖、0.004%ポリソルベート 20、pH 5.2	試験物質：evolocumab Amgen 社試験番号 114375 [redacted]社試験番号 8239377 GLP 適用：適
がん原性 動物種／系統：ハムスター／ゴールデンシリアン 初期週齢：5～7 週 初回投与日：雄：[redacted]年[redacted]月[redacted]日 雌：[redacted]年[redacted]月[redacted]日	報告書標題：ハムスターにおける evolocumab の皮下投与による生涯投与試験 投与期間：Q2W－雄：105 週間；雌：86 週間 投与方法：皮下投与 溶媒／製剤：A52SuT プラセボ：10 mmol/L 酢酸ナトリウム、9.0%(w/v)ショ糖、0.004%(w/v)ポリソルベート 20、pH 5.2 対照の治療：A52SuT プラセボのみ	試験物質：evolocumab Amgen 社試験番号：114976 [redacted]社試験番号：8247944 GLP 適用：適
反復投与毒性 動物種／系統：サル／カニクイザル 初期年齢：4～6 歳 初回投与日：[redacted]年[redacted]月[redacted]日	報告書標題：カニクイザルにおける evolocumab の皮下投与による 25 週間休薬期間を含む 6 カ月間反復投与毒性試験 投与期間：週 1 回、6 カ月 投与後期間：25 週間 投与方法：皮下投与 溶媒／製剤：A52SuT プラセボ：10 mmol/L 酢酸ナトリウム、9%ショ糖、0.004%ポリソルベート 20、pH 5.2	試験物質：evolocumab Amgen 社試験番号 110359 [redacted]社試験番号 8211681 GLP 適用：適
反復投与毒性 動物種／系統：サル／カニクイザル 初期年齢：4.6～6.2 歳 初回投与日：[redacted]年[redacted]月[redacted]日	報告書標題：カニクイザルにおける evolocumab 及びロスバスタチンの 4 カ月間休薬期間を含む 3 カ月間併用反復投与毒性試験 投与期間：evolocumab－Q2W で 3 カ月間 ロスバスタチン－1 日 1 回で 3 カ月間 投与後期間：4 カ月間 投与方法：evolocumab：皮下投与 ロスバスタチン：カプセルにて強制経口投与 溶媒／製剤：evolocumab－A52SuT プラセボ：10 mmol/L 酢酸ナトリウム、9.0%ショ糖、0.004%ポリソルベート 20、pH 5.2。ロスバスタチン：ゼラチンカプセル	試験物質：evolocumab 及びロスバスタチン Amgen 社試験番号 112311 CRO 試験番号 8239272 GLP 適用：適

薬物動態パラメータ

試験番号	動物種	性	時点	経路	投与量 (mg/kg)	N	tmax (day)	Cmax (μg/mL)	AUC0-t (day•μg/mL)
114375	ハムスター	雄	初回	SC	100	3	3.0 (1.0-3.0)	590 (45.5)	3280 (333)
					300	3	1.0 (1.0-3.0)	1830 (210)	10000 (996)
			最終	SC	100	3	1.0 (1.0-3.0)	1160 (41.6)	6710 (368)
					300	3	1.0 (1.0-3.0)	2140 (337)	11700 (2570)
		雌	初回	SC	100	2	1.0 (1.0-1.0)	279 (234)	2040 (NA)
					300	3	3.0 (1.0-3.0)	1390 (140)	7380 (1360)
			最終	SC	100	2-3	1.0 (1.0-3.0)	823 (118)	4830 (717)
					300	3	1.0 (1.0-1.0)	2010 (576)	10500 (3400)
		雌雄	初回	SC	100	5	1.0 (1.0-3.0)	434 (228)	2780 (767)
					300	6	2.0 (1.0-3.0)	1610 (289)	8670 (1780)
			最終	SC	100	5-6	1.0 (1.0-3.0)	993 (203)	5750 (1130)
					300	6	1.0 (1.0-3.0)	2080 (429)	11100 (2770)

t_{max}；中央値（最大値－最小値）、C_{max}およびAUC_{0-t}；平均値（標準偏差）、SC；皮下投与

薬物動態パラメータ

試験番号	動物種	性	時点	経路	投与量 (mg/kg)	N	t_{max} (day)	C_{max} (μg/mL)	AUC_{0-t} (day•μg/mL)
114976	ハムスター	雄	初回	SC	10	NA	1.0	82.4	538
					30	NA	1.0	317	2360
					100	NA	1.0	1110	9170
			最終	SC	10	NA	3.0	69.5	517
					30	NA	3.0	285	2390
					100	NA	1.0	1040	7790
		雌	初回	SC	10	NA	1.0	69.0	360
					30	NA	1.0	244	1680
					100	NA	1.0	851	7040
			最終	SC	10	NA	1.0	50.2	297
					30	NA	1.0	221	1350
					100	NA	1.0	927	6500
		雌雄	初回	SC	10	NA	1.0	75.7	446
					30	NA	1.0	280	2020
					100	NA	1.0	982	8130
			最終	SC	10	NA	1.0	59.5	407
					30	NA	1.0	247	1870
					100	NA	1.0	984	7170

t_{max}；中央値（最大値－最小値），C_{max}およびAUC_{0-t}；平均値（標準偏差）

SC；皮下投与、NA；該当せず（同じ個体について経時的に採血しないため）

薬物動態パラメータ

試験番号	動物種	性	時点	経路	投与量 (mg/kg)	N	t_{max} (day)	C_{max} (μg/mL)	AUC_{0-t} (day•μg/mL)
110359	サル	雄	初回	SC	3	6	3.0 (3.0-7.0)	39.1 (8.19)	210 (50.4)
					30	6	5.0 (3.0-5.0)	466 (44.6)	2550 (215)
					300	6	3.0 (3.0-5.0)	5380 (1340)	28000 (3120)
			最終	SC	3	5	3.0 (1.0-3.0)	122 (35.4)	779 (218)
					30	6	2.0 (1.0-3.0)	1990 (656)	12000 (3020)
					300	6	3.0 (1.0-3.0)	12700 (1740)	80000 (11000)
		雌	初回	SC	3	6	3.0 (3.0-3.0)	35.8 (5.08)	168 (31.0)
					30	6	3.0 (3.0-5.0)	496 (51.2)	2830 (368)
					300	6	3.0 (1.0-5.0)	4530 (296)	25900 (1560)
			最終	SC	3	6	2.0 (1.0-3.0)	61.4 (20.5)	353 (118)
					30	6	3.0 (1.0-5.0)	1670 (183)	10500 (938)
					300	6	2.0 (1.0-3.0)	10700 (1720)	64200 (10900)
		雌雄	初回	SC	3	12	3.0 (3.0-7.0)	37.4 (6.71)	189 (45.4)
					30	12	5.0 (3.0-5.0)	481 (48.3)	2690 (321)
					300	12	3.0 (1.0-5.0)	4950 (1030)	26900 (2600)
			最終	SC	3	11	3.0 (1.0-3.0)	88.7 (41.2)	546 (275)
					30	12	3.0 (1.0-5.0)	1830 (489)	11300 (2290)
					300	12	3.0 (1.0-3.0)	11700 (1960)	72100 (13200)

t_{max}；中央値（最大値－最小値）、C_{max}およびAUC_{0-t}；平均値（標準偏差）、SC；皮下投与

薬物動態パラメータ

試験番号	動物種	性	時点	経路	投与量 (mg/kg)	N	t_{max} (day)	C_{max} (μg/mL)	AUC_{0-t} (day•μg/mL)
112311	サル	雄	初回	SC	10	3	3.3 (3.3)	119 (16.9)	629 (92.9)
					100	5	3.3 (3.3)	994 (160)	5500 (813)
			最終	SC	10	3	1.0 (1.0-3.3)	168 (25.5)	992 (193)
					100	5	3.3 (3.3)	1820 (427)	10900 (2300)
		雌	初回	SC	10	3	3.3 (3.3)	113 (14.0)	613 (58.8)
					100	5	3.3 (3.3)	1130 (174)	5960 (750)
			最終	SC	10	3	3.3 (3.3)	127 (17.1)	717 (118)
					100	4	3.3 (1.0-3.3)	1640 (405)	9630 (2050)
		雌雄	初回	SC	10	6	3.3 (3.3)	116 (14.2)	621 (70.0)
					100	10	3.3 (3.3)	1060 (173)	5710 (771)
			最終	SC	10	6	3.3 (1.0-3.3)	148 (29.8)	854 (208)
					100	9	3.3 (1.0-3.3)	1740 (402)	10300 (2170)

t_{max}；中央値（最大値－最小値）、C_{max}およびAUC_{0-t}；平均値（標準偏差）、SC；皮下投与

表 2.6.5-5　薬物動態試験：その他

試験の種別/標題	目的	結果の要約
ヒトにおける AMG145 の薬物動態／薬力学の予測 (111721)	ヒトにおける evolocumab の PK 及び PD の予測	ヒトにおける evolocumab の PK モデルパラメータは、線形及び非線形消失経路を持つ 1 コンパートメント薬物動態モデルを用い、アロメトリックスケーリングにより、カニクイザルの推定パラメータから予測した。ヒトにおける evolocumab の PK-PD モデルパラメータは、アロメトリックスケーリングによりカニクイザルで推定したパラメータ、あるいは LDL-C 合成の文献値に基づき算出した。推奨される最高用量 420 mg IV を投与した場合、LDL-C がベースラインから 75%を超える低下を 29 日間、60%を超える低下を 46 日間示すと予測された。

表 2.6.5-6　薬物動態試験：その他
被験物質：evolocumab

試験の種別／標題	動物種	目的	方法	結果の要約
クロスオーバーデザインで2種類の濃度の AMG145 製剤を雄カニクイザルに単回皮下投与した後の薬物動態及び薬力学の解析 (116111)（参考資料）	雄カニクイザル	2種類の濃度の evolocumab 製剤をカニクイザルに単回 SC 投与した後 PK 及び PD を評価する	本試験では、合計 6 匹のカニクイザルを 2 群に割り付けた（3 匹／群）。いずれの群でも、evolocumab 70 mg/mL（対照）又は evolocumab 120 mg/mL（試験）を単回 SC 投与した。ウォッシュアウト期間の後、サルの投与群を入れ替え、もう一方の製剤を投与した。血清サンプルを採取し、evolocumab 及び PCSK9 の血清中濃度を測定した。	試験群における平均 C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t}$ は、対照群と比較してわずかに低く、C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t}$ 比（試験：対照）は、それぞれ 0.79 及び 0.73 であった。PK にわずかな差が認められたが、PCSK9 の経時変化に大きな差は見られなかったことから、製剤間で LDL-C 低下に差は認められないと予想された。
3種類の濃度の AMG145 製剤を雄カニクイザルに単回 SC 投与した後の薬物動態及び薬力学の解析 (116654)	雄カニクイザル	3種類の濃度の evolocumab 製剤をカニクイザルに単回 SC 投与した後 PK 及び PD を評価する	合計 9 匹の雄カニクイザルを 3 群に割り付け（3 匹／群）、対照物質（evolocumab 70 mg/mL）又は試験物質（evolocumab 120 mg/mL 又は evolocumab 140 mg/mL）を単回 SC 投与した。evolocumab 及び PCSK9 の濃度を測定するため採血を行った。	evolocumab 70 mg/mL の投与（対照）の平均 C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t}$ は、それぞれ 219 ug/mL 及び 2670 ug* day/mL であった。evolocumab 120 mg/mL の投与（試験）の平均 C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t}$ は、それぞれ 207 ug/mL 及び 1990 ug* day/mL であった。evolocumab 140 mg/mL の投与（試験）の平均 C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t}$ は、それぞれ 209 ug/mL 及び 2130 ug* day/mL であった。PK に差が認められたが、PCSK9 の低下に大きな差は見られなかった。カニクイザルを用いてこれまでに実施された試験において PCSK9 と LDL-C の低下に関連性が認められていることから、製剤間で LDL-C の低下に差は認められないと予想された。

平均（SD）薬物動態パラメータ

試験番号	動物種	原薬	投与経路	投与量 (mg/kg)	性及び動物数	T_{max} (day)	C_{max} (μg/mL)	AUC_{0-t} (day*μg/mL)
116111	サル	70 mg/mL	SC	3.5	雄、3	2	43.0	251
		120 mg/mL	SC	3.5	雄、3	2	33.6	196
116654	サル	70 mg/mL	SC	17.5	雄、3	3.00	219	2670
		120 mg/mL	SC	17.5	雄、3	2.00	207	1990
		140 mg/mL	SC	17.5	雄、3	3.00	209	2130

T_{max}：中央値