2.7.2.3.5.8　母集団薬物動態と薬力学

evolocumab とほかの脂質低下療法（スタチン、エゼチミブなど）の併用投与を受けた健康被験者並びに PHMD（日本においては HC［HeFH を含む］）被験者、evolocumab の単独投与又はほかの脂質低下薬の併用投与を受けたスタチン忍容性不良被験者、あるいはスタチンが臨床的に適切ではないと判断された evolocumab の単独投与を受けた被験者など、いくつかの集団を対象に第 I 相試験、第 II 相試験及び第 III 相試験のデータを用いた母集団薬物動態及び母集団薬物動態／薬力学の解析を行った。投与期間は 12 週間及び 52 週間であった。

母集団薬物動態と薬力学の解析の方法及び結果の要約を本項に記載する。詳細な方法及び結果は、116744 試験（evolocumab の第 I 相試験及び第 II 相試験の PK/PD モデリング及びシミュレーション）（5.3.3.5 項）及び 119663 試験（evolocumab の第 I 相試験、第 II 相試験及び第 III 相試験の母集団薬物動態モデリング及びシミュレーションの更新）（5.3.3.5 項）に記載する。

これらの解析の主要な結果は以下のとおりである。

- IV 及び SC 投与したときの線形及び非線形消失及び一次吸収による 1-コンパートメントモデルにより、健康被験者並びに PHMD（日本においては HC［HeFH を含む］）被験者（HeFH 被験者及びスタチン忍容性不良被験者のサブグループを含む）を対象に、単独療法又はスタチンの併用療法として、様々な投与スケジュールで IV 及び SC 投与したときの非結合型 evolocumab の薬物動態が記述された。
- SC 投与したとき、非結合型 evolocumab の絶対バイオアベイラビリティ及び平均吸収時間は、それぞれ 72%及び約 3 日と推定された。
- evolocumab は、標的介在性の経路（非線形）、及び細網内皮系による非特異的な経路（線形）により消失する。この二つの経路が共に寄与することにより、血清中 evolocumab 濃度の上昇に伴って低下する、濃度依存的な見かけのクリアランスとなる。モデル予測値から、140 mg SC Q2W 単回投与では 77%が、420 mg SC Q4W 単回投与では 51%がこの非線形経路によりそれぞれ消失することが示唆された。
- 140 mg Q2W 又は 420 mg Q4W を反復 SC 投与したとき、非結合型 evolocumab の全身曝露量は類似し、AUC の蓄積の投与間の差は 2 倍未満であった。モデリングの結果は、非結合型 evolocumab の最低血清中濃度に 2～3 倍の蓄積が認められた実データ（2.7.2.3.2.3 項）とおおむね一致していた。
- 曝露-反応関係は、第 II 相試験で検討した evolocumab の用量範囲にわたって頑健な LDL-C 低下を示した。モデルより予測した 10 週時点及び 12 週時点の平均 LDL-C の低下はいずれの用量でも最大 99.7 mg/dL であり、ベースラインからの変化率は 66%であった。
- 体重、女性、日本人、スタチン併用、エゼチミブ併用及びベースライン時の PCSK9 に、非結合型 evolocumab の薬物動態パラメータとの統計学的に有意な関連性が認められた。スタチン併用、エゼチミブ併用及び HeFH に、evolocumab の曝露-反応パラメータとの統計学的に有意な関連性が認められた。しかし、evolocumab に対する反応は、これらの共変量の条件が極端な場合に 74%～126%と予測され、内因性要因及び外因性要因の共変量は evolocumab への反応に対して臨床的に重要ではないと考えられた。

- 年齢、人種、軽度～中等度腎機能障害及びHeFHはevolocumabの薬物動態パラメータに有意な影響を及ぼさなかった。糖尿病及びベースライン時のPCSK9濃度はevolocumabの曝露-反応パラメータに有意な影響を及ぼさなかった。
- 全体では、母集団薬物動態及び薬力学の解析結果により、予定される140 mg SC Q2W又は420 mg SC Q4Wの用法・用量の臨床での有用性が裏付けられた。モデル予測値から140 mg SC Q2W及び420 mg SC Q4Wの用法・用量は、10週時点と12週時点の平均値でのLDL-Cを最大80%低下させることが示唆された。

2.7.2.3.5.8.1 母集団薬物動態

目的

evolocumabの母集団薬物動態解析の主な目的は以下のとおりであった。

1. 単回投与及び反復投与したときの非結合型evolocumabの薬物動態の特徴を明らかにする。
2. 非結合型evolocumabの主要な薬物動態パラメータの個体間変動を定量化する。
3. 内因性要因及び外因性要因の共変量の影響を、非結合型evolocumabの薬物動態における変動の原因として評価する。

AUC_{wk8-12}及び12週時点の最低血清中濃度を推定した。重要な共変量が非結合型evolocumabの薬物動態に及ぼす影響をより詳細に評価するため、シミュレーション手法を用いた。116744試験に記載したとおり、6つの第I相試験及び第II相試験を基に予備的なモデルを構築した。119663試験に記載したとおり、このモデルを5つの追加の第III相試験によって更新した。

解析に用いたデータ

evolocumabの投与を受け、最終的な母集団薬物動態解析に用いられた3414例を含む、次の11試験5474例より集積されたデータ（表2.7.2-63）を基に解析を実施した：第I相試験20080397及び20080398、第II相試験20101154、20101155、20090158及び20090159、第III相試験20110109、20110114、20110115、20110116及び20110117。全試験を通じた年齢及び体重の中央値（範囲）は、それぞれ58（18～80）歳及び83（41.0～175）kgであった。PCSK9の中央値（範囲）は375（15.5～1233）ng/mLであった。合計1708例（50%）が男性であった。被験者の87%、7%、4%及び2%がそれぞれ白人、黒人、アジア人及びその他であった。適応症の対象集団を代表するよう、全試験を通じてデータを集積した。

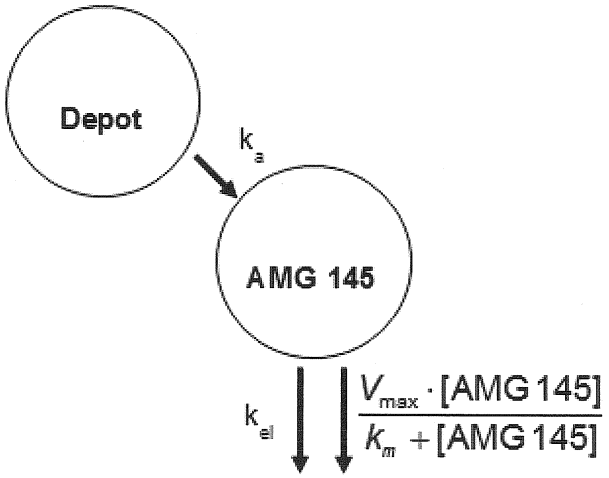
表 2.7.2-63　母集団薬物動態解析に用いた試験及びデータの要約

試験対象集団	試験の相	試験	evolocumab 用法・用量	薬物動態用の検体採取	被験者数
健康被験者					
ヒト初回投与試験	1a	20080397	21 又は 420 mg IV （1 例） 7, 21, 70, 210, 又は 420 mg SC（1 例）	頻回	56
原発性高脂血症及び混合型脂質異常症患者の被験者					
スタチン併用	1b	20080398	14 又は 35 mg SC QW （6 例） 140 又は 280 mg SC Q2W（3 例） 420 mg SC Q4W（3 例）	頻回	57
	2	20101155	70, 105 又は 140 mg SC Q2W （6 例） 280, 350 又は 420 mg SC Q4W （3 例）	トラフ・PK サブスタディ	629
	3	20110115	140 mg SC Q2W （6 例） 又は 420 mg SC Q4W（3 例）	少数回	1896
単独療法	2	20101154	70, 105 又は 140 mg SC Q2W （6 例） 280, 350 又は 420 mg SC Q4W （3 例）	トラフ・PK サブスタディ	361
	3	20110114	140 mg SC Q2W （6 例） 又は 420 mg SC Q4W（3 例）	少数回	614
HeFH 被験者	2	20090158	350 又は 420 mg SC Q4W （3 例）	トラフ・PK サブスタディ	167
	3	20110117	140 mg SC Q2W （6 例） 又は 420 mg SC Q4W（3 例）	少数回	329
スタチン忍容性不良被験者	2	20090159	280, 350, 420 mg SC Q4W （3 例）	トラフ・PK サブスタディ	157
	3	20110116	140 mg SC Q2W （6 例） 又は 420 mg SC Q4W（3 例）	少数回	307
効果の持続性	3	20110109	420 mg SC Q4W （12 例）	少数回	901

HeFH = 家族性高コレステロール血症ヘテロ接合体、IV = 静脈内投与、 PK = 薬物動態、Q2W = 2 週に 1 回、 Q4W = 4 週に 1 回、QW = 週に 1 回、 SC = 皮下

集団薬物動態モデルの開発

初期の母集団薬物動態のモデリングは、第I相試験及び第II相試験の薬物動態データを用いて開発した。中心コンパートメントからの線形及び非線形消失による1-コンパートメントオープンモデルは、中心コンパートメントの分布容積（V）、CL及び非線形クリアランス（V_{max}、k_m）によってパラメータ化した（図2.7.2-51）（Gibiansky et al, 2008）。SC投与したときの吸収は、貯蔵コンパートメントから中心コンパートメントへの一次吸収過程（k_a）によって説明され、バイオアベイラビリティ（F）はIVに対するSCの比を用いた。第Ia相試験のデータから得られたk_a及びFの推定値を以降のモデリングで固定した。



AMG 145 = evolocumab

図 2.7.2-51　薬物動態モデル

モデルのパラメータにおける個体間変動は、対数正規分布に従うと仮定した。個体間変動は、k_a及びk_m以外のすべてのパラメータに対する変量効果のフルブロック分散行列として組み込んだ。薬物動態モデルの残差変動には、相加的成分と比例的成分の両者があると仮定した。

共変量探索は、ベースモデルを用いて対象とした個々の共変量候補をスクリーニングすることにより実施した。第I相試験及び第II相試験の対象集団のデータセットにおいて出現頻度が5%以上のカテゴリカル共変量を検討した。共変量は連続的にモデル化し、高度に相関した共変量の影響を低減するため、前段階と比較して有意と判断された共変量の影響の点推定値を各段階で固定した。

最終の第I相及び第II相試験モデルは交互作用を説明するために、モデル構築過程で検討した有意な共変量をすべて含めた形で構築した。また、第I相及び第II相試験モデルをすべてのシミュレーションに用いた。

調査対象の共変量は、人口統計学的パラメータ（体重、性別、年齢、人種）、併用薬（スタチン、エゼチミブ）、臨床検査値（ベースライン時のPCSK9）及び疾患状態（HeFH、軽度～中等度腎機能障害）であった。人種群（白人86%、黒人8%、アジア人3%、アメリカ先住民／アラスカ先住民0.4%、ハワイ先住民／その他の太平洋諸島系0.4%、その他2%）のうち、対照群（白人被験者）に対する共変量の影響の推定に用いた対象集団の5%超を占めたのは黒人被験者のみであった。薬物

動態モデルでは、併用薬の投与期間はいずれも共変量とした。スタチンの共変量は、スタチンのみの投与を受け、それ以外の併用薬の投与を受けなかった被験者とした。エゼチミブの共変量は、併用薬の有無にかかわらず、エゼチミブの投与を受けたすべての被験者とした。第 I 相試験及び第 II 相試験の薬物動態モデルにおけるプラセボ以外の投与を受けた被験者では、エゼチミブの投与を受けた被験者の 79%（148 例中 117 例）がスタチンを併用していたことから、エゼチミブの共変量は大部分が併用療法であった。軽度～中等度腎機能障害の影響は CrCL と MDRD の両指標を用いて評価した。体重、CrCL 又は MDRD に欠測がある被験者は平均値で補完し、ベースライン時の PCSK9 濃度に欠測がある被験者は、ベースライン時の PCSK9 を共変量として用いた解析から除外した。それぞれの人口統計学的共変量及び腎機能の共変量は、CL、V 及び V_{max} との比較により推定し、併用薬、臨床検査値及び HeFH は、非結合型 PCSK9 濃度に関連するものと考えられることから、V_{max} との比較により推定した。

母集団薬物動態の更新時には、5 つの第 III 相試験のデータを用いてモデルを更新した。第 III 相試験の測定値を第 I 相試験及び第 II 相試験から得られたモデル予測値に重ね合わせ、第 III 相試験の薬物動態データと第 I 相試験及び第 II 相試験の薬物動態データの間に大きな差がないことを確認した。第 III 相試験のデータが少ないこと及び第 III 相試験で用いた用法・用量が 2 種類のみであったことから、V_{max} 及び k_m の推定値は第 I 相試験及び第 II 相試験のモデルのパラメータ推定値に固定した。同様にデータが少ないこと及びシュリンクの可能性があることから、ほかの共変量は探索しなかった。最終的な薬物動態モデルにおける被験者でも、エゼチミブの投与を受けた被験者の 93%（404 例中 377 例）がスタチンを併用していたことから、この共変量は大部分がスタチン＋エゼチミブ併用療法の共変量であった。

主な結果

線形及び非線形消失経路による 1-コンパートメントモデルにより、IV 及び SC 投与したときの非結合型 evolocumab の薬物動態の特徴が明らかとなった。共変量モデル構築は第 I 相試験及び第 II 相試験のみについて実施した。年齢、人種、軽度～中等度腎機能障害及び HeFH は非結合型 evolocumab の薬物動態パラメータに統計学的に有意な影響を及ぼさなかった。第 I 相試験及び第 II 相試験の薬物動態モデルの共変量では、体重、女性、スタチン併用、エゼチミブ併用及びベースライン時の PCSK9 濃度が、非結合型 evolocumab の薬物動態に対して統計学的に有意な共変量であることが明らかとなった。

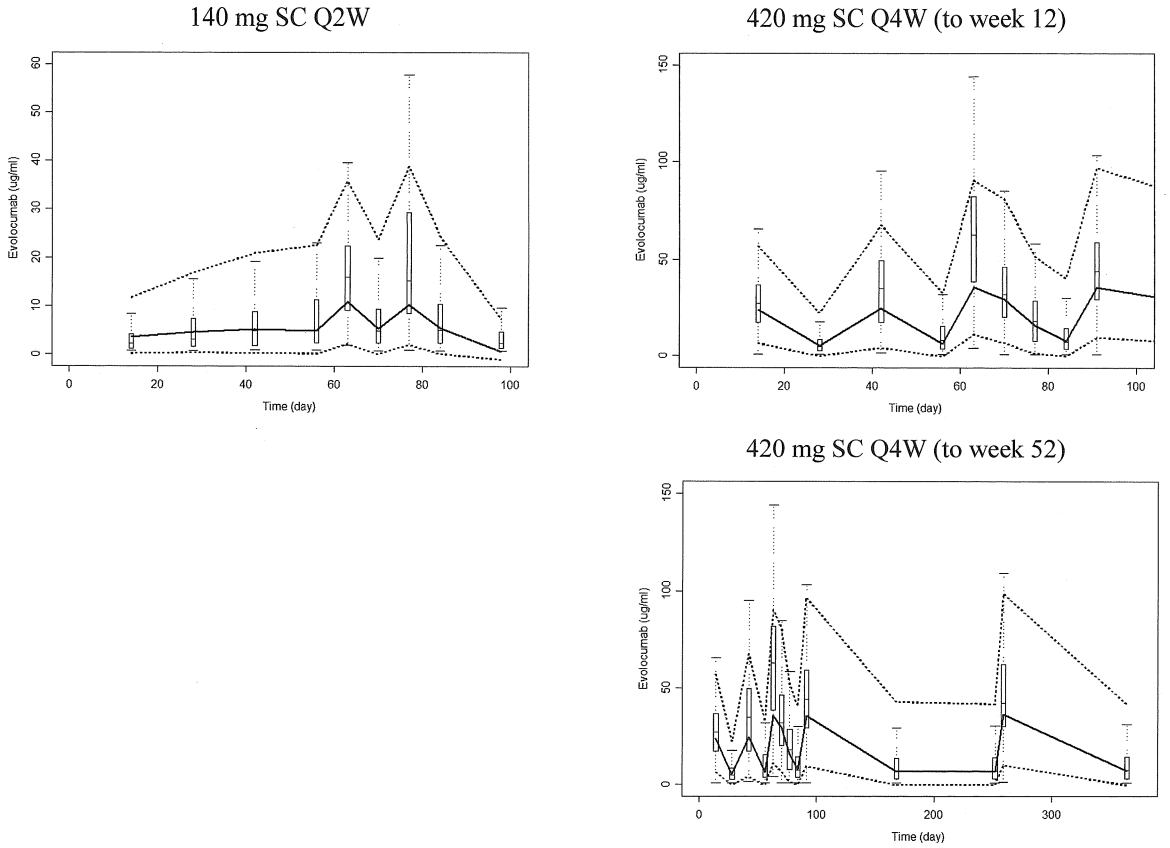
第 I 相試験及び第 II 相試験のモデルの有意な共変量をすべて含めた、更新後の第 III 相試験の母集団薬物動態モデルはデータに良好に適合し、パラメータ推定値は第 I 相試験及び第 II 相試験のモデルに類似していた。更新後の第 III 相試験のモデルの evolocumab の母集団薬物動態パラメータ推定値を 表 2.7.2-64 に示す。

表 2.7.2-64　最終的な薬物動態モデルの共変量のパラメータ推定値

パラメータ	単位	推定値	個体間変動
F	%	0.72	0%
k_a	day^{-1}	0.319	74.6%
CL	L/day	0.105	54.3%
体重		0.276	
V	L	5.18	28.3%
体重		1.04	
女性		1.11	
V_{max}	nM/day	9.85	31.1%
体重		0.145	
スタチン		1.13	
スタチン＋エゼチミブ		1.20	
ベースライン PCSK9		0.194	
k_m	nM	27.3	0%
残差比例誤差	%	0.282	-
残差付加誤差	nM	5.41	-

CL＝クリアランス、F＝バイオアベイラビリティ、k_a＝吸収速度定数、k_m＝非線形クリアランス最大半量濃度、PCSK9＝プロ蛋白転換酵素サブチリシン／ケキシン 9 型、V＝分布容積、V_{max}＝非線形クリアランス能
出典：119663 試験の表 6-4

evolocumab は、標的介在性の経路（非線形）、及び細網内皮系による非特異的な経路（線形）により消失すると考えられ、標的介在性の経路は容量依存性（飽和性）の消失過程としてモデルに組み込んだ（図 2.7.2-52）。モデル予測値から、140 mg SC Q2W 単回投与では約 77%が、420 mg SC Q4W 単回投与では 51%がこの非線形経路によりそれぞれ消失することが示唆された。更に、V は血漿量と類似しており、細胞外分布がないことと一致した。モデルにより予測した 140 mg SC Q2W の有効消失半減期は 11.4 日、同様に 420 mg SC Q4W の有効消失半減期は 16.8 日であった。



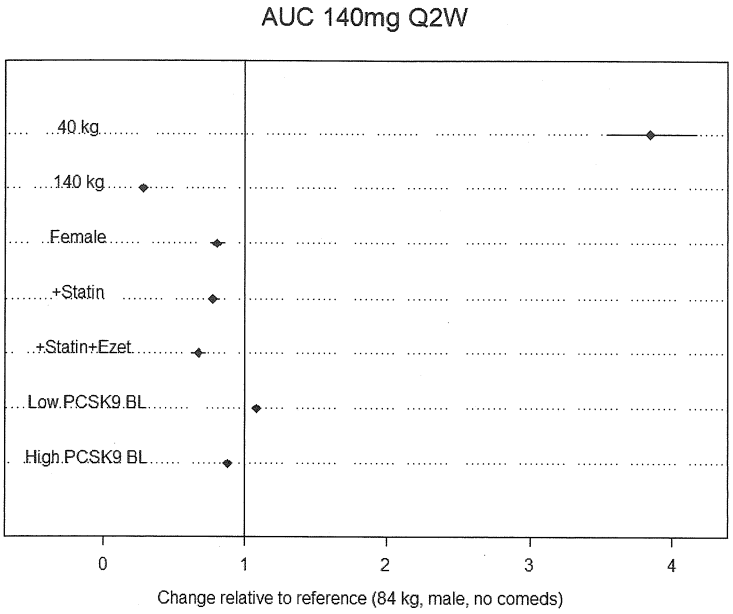
evolocumab 血清中濃度プロファイル 50 パーセンタイル（実線）及び 5、95 パーセンタイル（点線）の予測。シミュレーションは全データセットに対して行った（n=10）。 箱：第 2・第 3 相試験からの evolocumab 血清中濃度測定値の中央値、25 パーセンタイル、75 パーセンタイル、ひげ：最大値、最小値（外れ値は除く）。 時間軸のみが 420 mg SC Q4W 上段と下段のプロット間で異なる。同じデータが各プロットに含まれる。

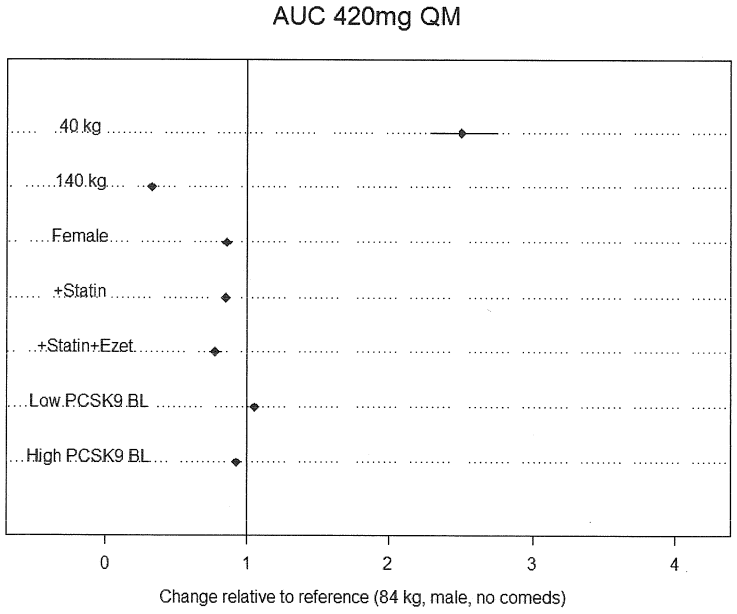
Q2W = 2 週に 1 回、Q4W = 4 週に 1 回、 SC = 皮下

出典: 119663 試験の図 6-5

図 2.7.2-52　140 mg SC Q2W（6 回）及び 420 mg SC Q4W（3 回）を投与したときの血清中 evolocumab 濃度のモデル予測値及び測定値の時間的経過

共変量モデルにおける各共変量の条件について、シミュレートされたパラメータの不確実性を基にフォレストプロットを作成した。個体間変動又は残差変動は用いず、1000 例のパラメータセットを作成した。各例の $AUC_{wk8\text{-}12}$ のシミュレーションは、共変量モデルの有意な共変量の条件下で実施した。有意な共変量について、各共変量の条件を対照被験者（ほかの脂質低下薬を投与されていない、ベースライン時の PCSK9 が 5.9 nmol/L であった、84 kg の高コレステロール血症男性被験者）と比較して、フォレストプロットを作成した。フォレストプロット（図 2.7.2-53）に示すとおり、極端な体重（40 kg 及び 140 kg）の成人のみで $AUC_{wk8\text{-}12}$ の予測値に顕著な影響が認められた。





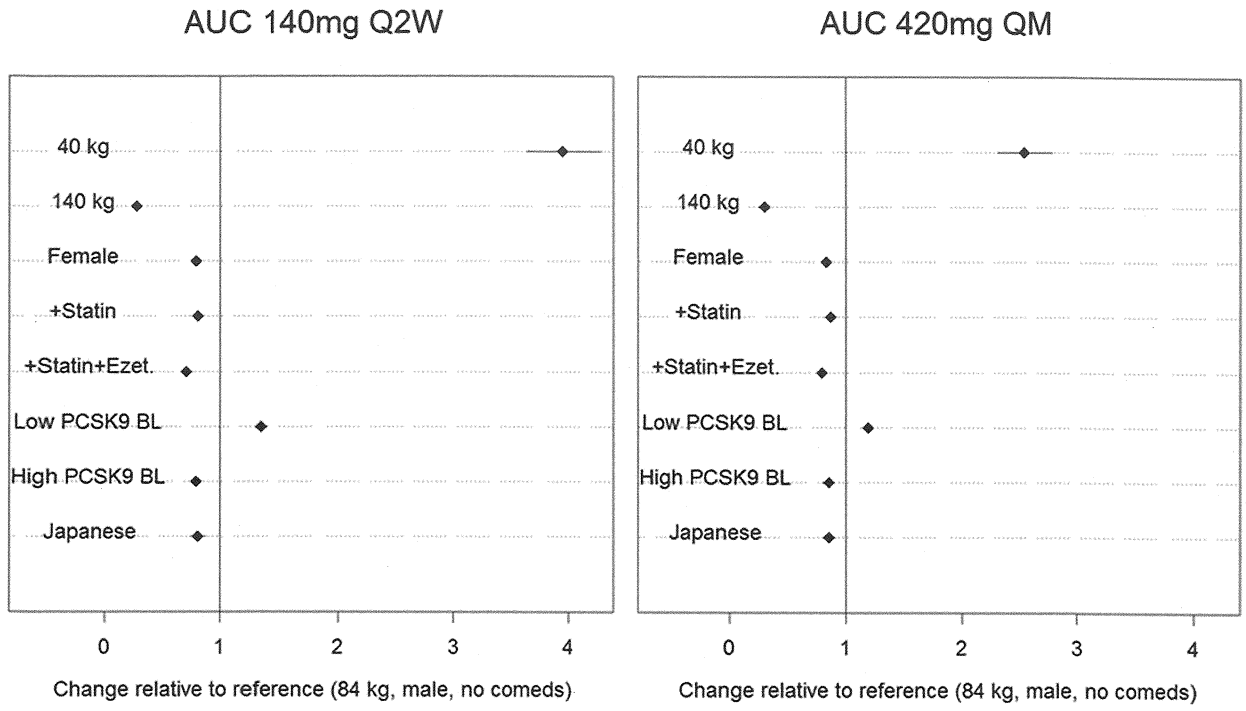
スタチンの共変量は、スタチンのみの投与を受け、それ以外の併用薬の投与を受けなかった被験者とした。 スタチン＋エゼチミブ の共変量には、併用薬の有無にかかわらず、エゼチミブの投与を受けたすべての被験者を含めた。 PK モデルにおける被験者では、エゼチミブの投与を受けた被験者の 93%がスタチンを併用していたことから、エゼチミブの共変量は大部分が併用療法（スタチン＋エゼチミブ）の共変量であった。 PCSK9 BL：ベースライン時の PCSK9 ベースライン値（低値 4.8 nmol/L = 355 ng/mL、高値 8.1 nmol/L = 599 ng/mL）

AUC = 血清中濃度-時間曲線下面積、 PCSK9 = プロ蛋白転換酵素サブチリシン/ケキシン 9 型、Q2W = 2 週に 1 回、QM = Q4W = 4 週に 1 回

出典: 119663 試験の図 6-6

図 2.7.2-53　140 mg SC Q2W 及び 420 mg SC Q4W の 8～12 週時点における evolocumab の AUC に対する共変量の影響のフォレストプロットと 95%信頼区間

日本人被験者を対象とした3試験（20110121試験、20110231試験及び20120122試験）を追加するため、海外試験の母集団薬物動態モデルを更新した。更新後の解析の詳細な方法及び結果は120037試験（薬物動態／薬力学のモデリング及びシミュレーションに関する試験報告書）（5.3.3.5項）に記載する。更新後の解析の対象とした6708例のうち、3844例（日本人被験者424例を含む）がevolocumabの投与を受けた。海外試験から得られた線形／非線形消失による1-コンパートメント構造モデルにより、日本人被験者の薬物動態が説明できることが明らかとなった。日本人被験者を対象とした試験を含む更新後の薬物動態モデルにより、14試験すべての血清中非結合型evolocumab濃度の経時推移を説明できた。線形クリアランス及び分布容積の推定値は、一般的なモノクローナル抗体に類似していた。第I相試験及び第II相試験の薬物動態モデル（図2.7.2-54）の更新後の解析では、日本人を追加の共変量として検討した。過去に検討した海外試験のモデルで統計学的に有意であった共変量（体重、性別、スタチン併用、スタチン＋エゼチミブ併用及びベースライン時のPCSK9）のほかに、人種（日本人）も統計学的に有意であった。



スタチンの共変量は、治験薬とともにスタチンのみの投与を受け、それ以外の併用薬の投与を受けなかった被験者とした。

AUC_{wk8-12} = 8 週時点から 12 週時点までの血清中濃度-時間曲線下面積、Ezet. = エゼチミブ、PCSK9 BL = ベースライン時のプロ蛋白転換酵素サブチリシン／ケキシン 9 型値（低値: 2.45 nmol/L [176 ng/mL]、高値: 8.1 nmol/L [583 ng/mL]）、 Q2W = 2 週に 1 回、QM = Q4W = 4 週に 1 回

図 2.7.2-54　非結合型 evolocumab の AUC_{wk8-12} に対する共変量の影響のフォレストプロットと 95%信頼区間（日本人被験者を対象とした試験を含む）

2.7.2.3.5.8.2　母集団薬力学

目的

evolocumab の母集団曝露-反応解析の主な目的は以下のとおりであった。

1. 非結合型 evolocumab の AUC_{wk8-12} を基に、反復投与したときの投与 10 週時点及び 12 週時点における LDL-C の平均値の予測を可能にする。
2. evolocumab の主要な曝露-反応パラメータの個体間変動の程度を定量化する。
3. 主要な外因性要因の共変量の影響を、evolocumab に対する反応における変動の原因として評価する。

evolocumab 投与に対する反応の指標であり、用法・用量の比較が可能である、投与 10 週時点及び 12 週時点における LDL-C 平均値を、投与 8 週時点から 12 週時点までの時間で平均した LDL-C 測定値の代替とした（117333 試験）。

共変量が evolocumab の曝露-反応関係に及ぼす影響をより詳細に評価するため、シミュレーション手法を用いた。

解析に用いたデータ

解析は、4つの第II相試験（20101154試験、20101155試験、20090158試験及び20090159試験）で集積された1312例のデータを基に実施した。全試験を通じたベースライン時のLDL-Cの中央値（範囲）は130.5（57～423）mg/dLであった。20090158試験及び20090159試験で薬物動態サブスタディに参加しなかった被験者については、投与10週時点でLDL-Cを評価しなかったため、投与12週時点のLDL-Cを用いた。第III相試験のLDL-C値と第I相及び第II相試験のLDL-C値の間で反応に大きな差がみられないことを確認するため、第III相試験の測定値を第I相及び第II相試験から得られたモデル予測値に重ね合わせたところ、反応の測定値は第I相及び第II相試験のモデル予測値と一致した。既存のモデルによってデータが十分に説明されたこと、更新後の薬物動態モデルではシュリンクが大きくなったことから、曝露-反応モデルは第III相試験の被験者のデータを用いて更新しなかった。

母集団薬力学モデルの開発

投与8週時点から12週時点までの曝露-反応モデルを用いて、すべての第II相試験を併合したデータについて、evolocumabへの曝露と投与10週時点及び12週時点におけるLDL-Cの平均値の関連性を明らかにした。第II相試験の各被験者について、第I相及び第II相試験の薬物動態モデルから得られた個々のパラメータ推定値を基にevolocumabの$AUC_{wk8\text{-}12}$を予測した。$AUC_{wk8\text{-}12}$の予測値を用いると、曝露-反応関係の予測変数に関する主要な仮定である、薬物動態における残差をなくすことができる。モデル化されたデータには投与前（-13日目及び0日目）のLDL-Cの測定値及び投与10週時点及び12週時点におけるLDL-Cの平均値が含まれた。

このモデルは以下の式の形をとる。

$$Eff = \frac{E_{max} \cdot AUC_{wk8-12}}{\left(EC_{50} \cdot REG^{i}\right) + AUC_{wk8-12}}$$

また、加法効果モデルでは効果の大きさをLDL-Cのベースラインと関連付けた。

$$Y = BASL + Eff$$

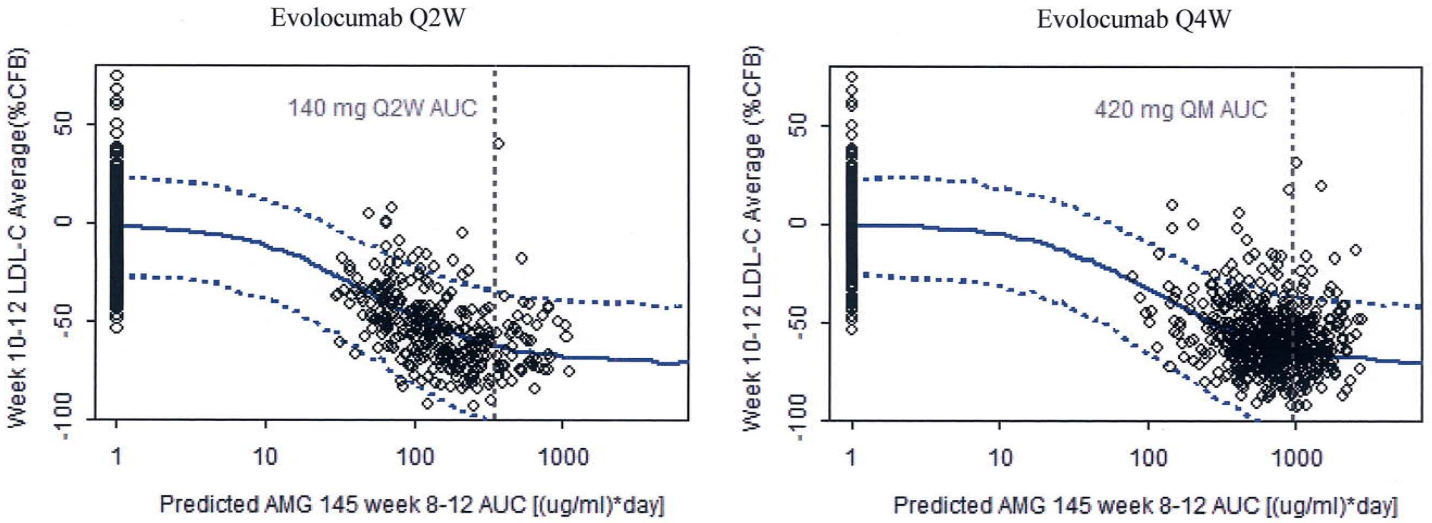
Yは$AUC_{wk8\text{-}12}$の反応の予測値、BASL（mg/dL）は投与前のLDL-Cの測定値から得られたベースライン時のLDL-C濃度、E_{max}（mg/dL）は投与10週時点及び12週時点におけるevolocumabの平均値に対する理論上の最大反応であり、EC_{50}（μg/mL・day）は半最大反応を達成するのに必要な$AUC_{wk8\text{-}12}$（Q2W）と定義される。Q2WとQ4Wの投与法間の投与間隔差を説明するため、投与法の影響（REG）をEC_{50}に対する乗数としてモデル化した。0又は1の値をとる指示変数iを用いて、それぞれQ2W又はQ4Wの投与法を示した。投与法の影響に対する乗数の95% CIに1が含まれていた場合、Q4Wの投与法のEC_{50}にQ2Wの投与法との有意差はないものとした。ベースラインを対数正規分布に従う変量効果としてモデルに含めた。加法誤差モデルにより上記の残差変動が説明された。

共変量として、併用薬（スタチン、エゼチミブ）、疾患（糖尿病、HeFH）及び臨床検査値（ベースライン時のPCSK9）をモデルに含めた。曝露-反応モデルについては、ベースラインの影響を正確に推定できるようにするため、安定して投与された併用薬（Day 1の前に4週間を超えて投与）

のみを共変量とした。スタチンの共変量は、スタチンのみの投与を受け、それ以外の併用薬の投与を受けなかった被験者とした。エゼチミブの共変量は、併用薬の有無にかかわらず、エゼチミブの投与を受けたすべての被験者とした。曝露-反応モデルにおける被験者では、エゼチミブの投与を受けた被験者の99%（160例中158例）がスタチンを併用していたことから、エゼチミブの共変量はほぼ併用療法の共変量であった。ベースライン時のPCSK9濃度に欠測がある被験者は、ベースライン時のPCSK9を共変量として用いた解析から除外した。併用薬及びHeFHは、ベースライン時のLDL-C濃度及び効果の大きさ（*Eff*）との比較により推定し、糖尿病及び臨床検査値は、*Eff*との比較によりモデル化した。

主要な結果

モデル予測から、140 mg SC Q2W及び420 mg SC Q4Wの用法・用量は、投与10週時点及び12週時点におけるLDL-Cの平均値を最大80%低下させることが示唆された。投与10週時点及び12週時点におけるLDL-C平均の最大低値は99.7 mg/dLであり、ベースラインからの変化率は66%であった（図2.7.2-55）。



%CFB = ベースラインからの変化率、 AMG 145 =evolocumab、AUC = 血清中濃度-時間曲線下面積、LDL-C = 低比重リポ蛋白コレステロール、 Q2W = 2 週に 1 回、QM = Q4W = 4 週に 1 回

10 週時点及び 12 週時点のベースラインからの変化率、50 パーセントタイル（実線）及び 5、95 パーセントタイル（点線）の予測。 シミュレーションは n = 2000 の被験者に対して行った。 点： 個々の 10 週時点及び 12 週時点 LDL-C 測定値平均

出典：116744 試験の図 6-8

図 2.7.2-55　第 II 相試験の投与 8 週時点～12 週時点における evolocumab の AUC に対する投与 10 週時点及び 12 週時点の算出 LDL-C 及び 90%予測区間

最終的な曝露-反応共変量モデルにおいて、スタチンあるいはエゼチミブ併用及びHeFHが、evolocumabへの反応に対して統計学的に有意な共変量であることが明らかになった（表 2.7.2-65）。共変量を加えることによって、ベースライン時のLDL-Cにおける個体間変動は22.7%から20.0%に減少した。

表 2.7.2-65　最終的な曝露-反応共変量モデルのパラメータ推定値

パラメータ	単位	推定値（RSE）	個体間変動 %CV（RSE）
ベースライン時のLDL-C	mg/dL	150 (0.92%)	20.0% (2.26%)
スタチン		0.797	
エゼチミブ		0.768	
HeFH		1.28	
E_{max}	mg/dL	-99.7 (2.17%)	-
スタチン		0.937	
EC_{50}	(μg/mL)*day	51.5 (9.79%)	-
REG		2.30 (10.3%)	-
残差比例誤差	%	0 FIXED	-
残差付加誤差	mg/dL	19.3 (1.35%)	-

%CV = 変動係数、EC_{50} = 最大半量効果を達成するために必要なevolocumabの8週から12週までの血中濃度-時間曲線下面積（2週に1回）、E_{max} = evolocumabの理論的最大効果、HeFH = 家族性高コレステロール血症ヘテロ接合体、REG = 4週に1回投与の用法用量効果に対するEC_{50}乗数、RSE =相対標準誤差

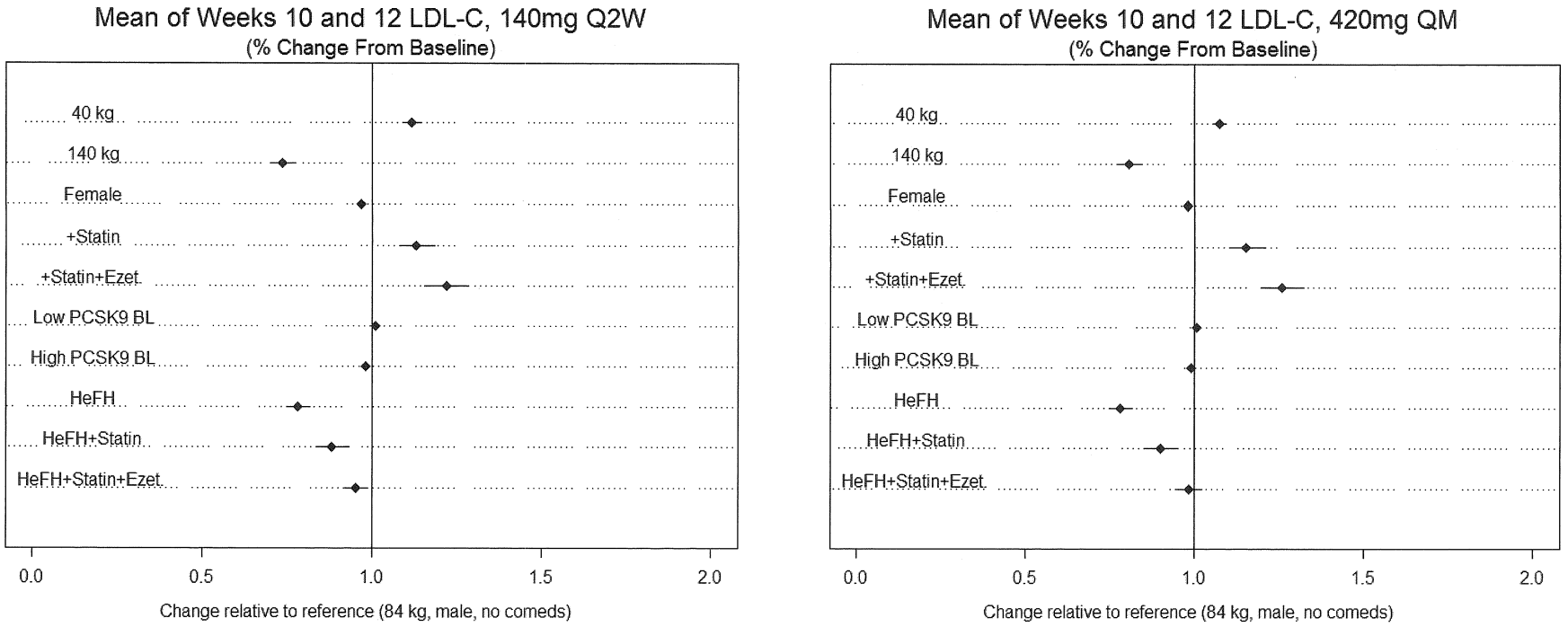
出典: 116744試験の表 6-10 、116744試験の表 6-11

更新後の第III相試験の薬物動態共変量及び曝露-反応モデルから得られた各共変量の条件に対してシミュレートされたパラメータの不確実性を基にフォレストプロットを作成した。個体間変動又は残差変動は用いず、1000例のパラメータセットを作成した。各例の投与10週時点及び12週時点におけるLDL-C平均値でのシミュレーションは、最終的な共変量モデルの有意な共変量の条件下で実施した。有意な共変量について、各共変量の条件を対照被験者（ほかの脂質低下薬の投与を受けておらず、ベースライン時のPCSK9が5.9 nmol/Lであり、84 kgの高コレステロール血症を有する男性被験者）と比較して、フォレストプロットを作成した。

フォレストプロットでは、ベースラインからの変化率によって評価し、点推定値が1.0を超えれば強い反応（ベースラインからの変化率が大きい）、点推定値が 1.0 未満であれば弱い反応とした。フォレストプロットで明らかで、また、以下に述べるとおり、いずれの共変量もevolocumabの反応に対して有意な変動を及ぼさないと考えられた。

留意すべきは、データセット中のすべてのHeFHの被験者がスタチンとエゼチミブの両方又は一方を併用していたことから、完全を期すため、仮定上の脂質低下療法を受けていないHeFH被験者のシミュレーションを取り入れたことである。

これらの共変量の条件が極端な場合に、evolocumabに対するLDL-Cの反応は対照被験者の74%～126%と予測され（図 2.7.2-56）、内因性及び外因性要因の共変量は臨床的に重要ではないと予測された。



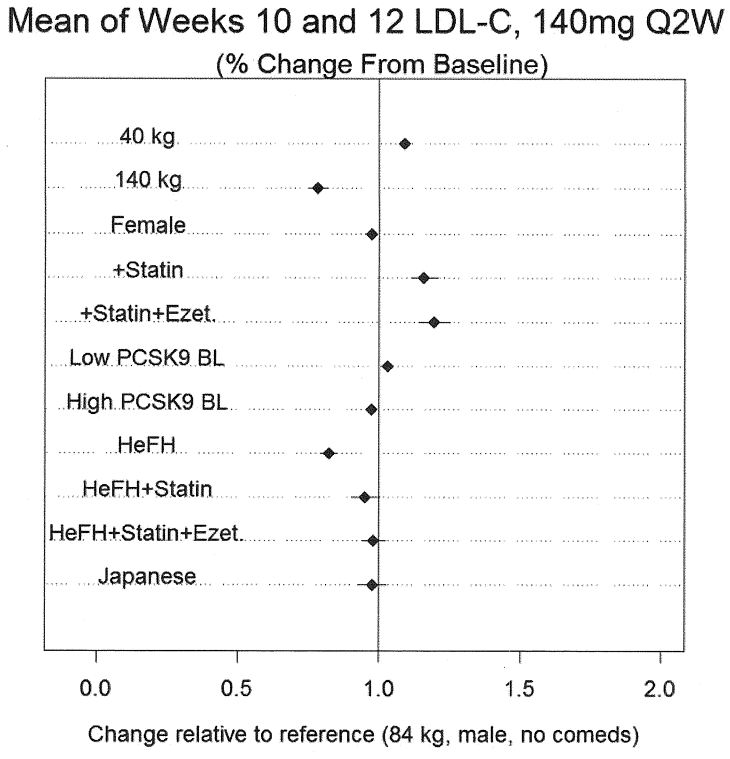
スタチンの共変量は、スタチンのみの投与を受け、それ以外の併用薬の投与を受けなかった被験者とした。 エゼチミブの共変量には、併用薬の有無にかかわらず、エゼチミブの投与を受けたすべての被験者を含めた。 曝露-反応モデルにおける被験者では、エゼチミブの投与を受けた被験者の 99%がスタチンを併用していたことから、エゼチミブの共変量は大部分が併用療法（スタチン＋エゼチミブ）の共変量であった。 PCSK9 BL:ベースライン時の PCSK9 値（低値 4.8 nmol/L = 355 ng/mL、高値 8.1 nmol/L = 599 ng/mL）

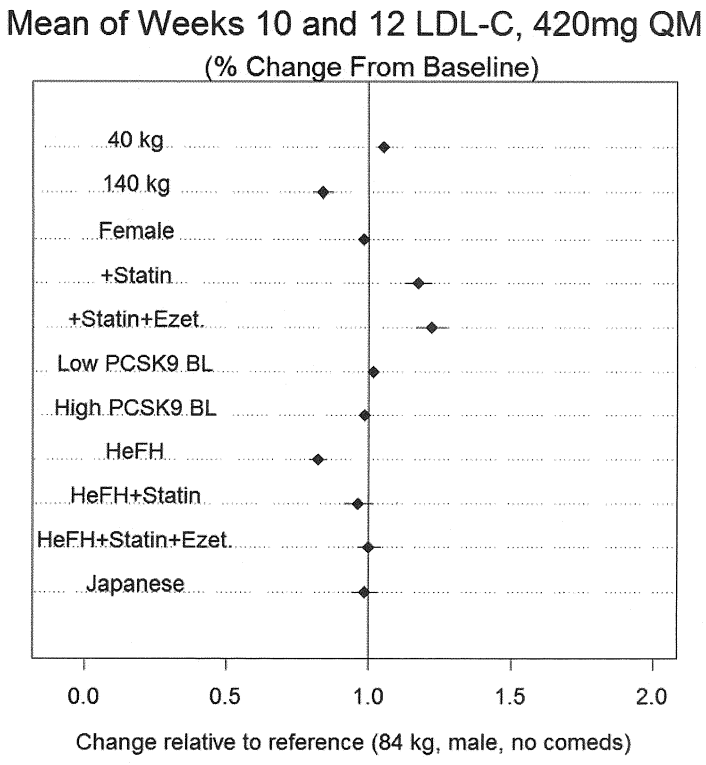
%CFB = ベースラインからの変化率、 BL = ベースライン、 HeFH = 家族性高コレステロール血症ヘテロ接合体、PCSK9 = プロ蛋白転換酵素サブチリシン／ケキシン 9 型、Q2W = 2 週に 1 回、 QM = Q4W =4 週に 1 回

出典: 119663 試験の図 6-9

図 2.7.2-56　投与 10 週時点及び 12 週時点における算出 LDL-C の平均値の低下に対する共変量の影響と 95%信頼区間
（evolocumab 140 mg SC Q2W 及び 420 mg SC Q4W）

日本人被験者を対象とした試験（20110121 試験、20110231 試験及び 20120122 試験）を追加するため、海外試験の曝露-反応モデルを更新した。更新後の解析の詳細な方法及び結果は 120037 試験（PK/PD モデリング及びシミュレーションに関する試験報告書）（5.3.3.5 項）に記載する。更新後の曝露-反応モデルに基づくフォレストプロット（図 2.7.2-57）に示すとおり、日本人を含むいずれの共変量も、LDL-C の反応に臨床的に意味のある変動を及ぼさないと考えられた。これらの共変量の条件が極端な場合に、evolocumab に対する LDL-C の反応は対照被験者（併用薬の投与を受けていない 84 kg 男性）の 78%～122%と予測され、日本人を含む内因性及び外因性要因の共変量は臨床的に重要ではないと考えられた。これらの結論は予定される 140 mg Q2W 及び 420 mg Q4W の用法・用量に当てはまり、いずれの用法・用量も日本人被験者に対して臨床現場で期待される効果をもたらすことを裏付けるものであった。





スタチンの共変量は、スタチンのみの投与を受け、それ以外の併用薬の投与を受けなかった被験者とした。 エゼチミブの共変量には、併用薬の有無にかかわらず、エゼチミブの投与を受けたすべての被験者を含めた。 曝露-反応モデルにおける被験者では、エゼチミブの投与を受けた被験者の 99%がスタチンを併用していたことから、エゼチミブの共変量は大部分が併用療法（スタチン＋エゼチミブ）の共変量であった。 PCSK9 BL: ベースライン時の PCSK9 値 （低値 2.45 nmol/L = 176 ng/mL、高値 8.1 nmol/L = 583 ng/mL）

BL = ベースライン、 HeFH = 家族性高コレステロール血症ヘテロ接合体、PCSK9 = プロ蛋白転換酵素サブチリシン／ケキシン 9 型、Q2W = 2 週に 1 回、 QM = Q4W =4 週に 1 回

出典: 120037 試験の図

図 2.7.2-57　投与 10 週時点及び 12 週時点における算出 LDL-C の平均値の低下に対する共変量の影響と 95%信頼区間（日本人被験者を加えた更新後の解析：evolocumab 140 mg SC Q2W 及び 420 mg SC Q4W）

2.7.2.3.6 薬物動態及び薬力学に及ぼす影響の検討：HoFH

2.7.2.3.6.1 HoFH と PHMD（日本においては HC［HeFH を含む］）の比較

2.7.2.3.6.1.1 要約

PHMD（日本においては HC［HeFH を含む］）に比べ、HoFH は非結合型 evolocumab 及び非結合型 PCSK9 の薬物動態及び薬力学に臨床的に意味のある影響を及ぼさないと考えられた。HoFH の成人及び青年被験者では evolocumab 投与による LDL-C 低下が達成され、維持された。そのため、臨床薬理データは HoFH 成人被験者又は青年被験者に対する 420 mg SC での Q4W 又は Q2W の用法・用量を裏付けている。

2.7.2.3.6.1.2 方法

第 III 相試験では、PHMD 被験者（20110115 試験）及び HoFH 被験者（対照試験；20110233 試験、非盲検継続試験；20110271 試験）における evolocumab の薬物動態及び薬力学を明らかにするために、限定的な検体採取を実施した。各試験の被験者は、evolocumab 投与開始前にスタチンを含む脂質低下薬の安定した治療を受けていた。これらの試験間比較には、12 週時点の非結合型 evolocumab、LDL-C 及び非結合型 PCSK9 の血清中濃度を含めた。第 III 相試験（20110109 試験）に基づいて、12 週時点のトラフ濃度は非結合型 evolocumab、LDL-C 及び非結合型 PCSK9 の定常状態での濃度と考えられた。HeFH 被験者及び PHMD 被験者は、同様の薬物動態及び薬力学を示していたため（2.7.2.3.5.4 項）、HoFH 被験者の薬物動態及び薬力学を HeFH 被験者と比較する必要はない。

2.7.2.3.6.1.3 薬物動態

evolocumab 420 mg SC Q4W 投与の 12 週時点の血清中非結合型 evolocumab のトラフ濃度はアフェレーシスを受けていない HoFH 被験者と PHMD 被験者とで同程度であった（表 2.7.2-66）。

[redacted]年[redacted]月[redacted]日のデータカットオフ時点で 20110271 試験においてアフェレーシスを受けておらず、evolocumab 420 mg SC Q4W の投与を受けていた HoFH の 12 歳以上 18 歳未満の青年被験者 10 例では、12 週時点の血清中非結合型 evolocumab のトラフ濃度は 2.08～47.9 μg/mL の範囲にあった。これらの値は PHMD 成人被験者を対象とした 20110115 試験における非結合型 evolocumab 濃度の範囲内にあった。これらの結果から、PHMD 被験者と HoFH の成人被験者又は青年被験者との間で、evolocumab の薬物動態に臨床的な差はないと考えられた。

表 2.7.2-66　12 週時点の血清中非結合型 evolocumab 濃度
（evolocumab 420 mg SC Q4W とスタチンの併用）

	PHMD（20110115 試験）	HoFH（20110233 試験［第 III 相］）	HoFH（20110271 試験）[a]
N	482	30	66
平均値	9.68	10.9	12.3
SD	9.20	7.02	10.6
Min	0.00	0.00	0.00
中央値	6.84	10.8	9.73
Max	70.2	32.6	47.9
%CV	95.0	64.5	86.3

SC = 皮下、Q4W = 4 週に 1 回、SD = 標準偏差、 min = 最小値、max = 最大値、CV = 変動係数
[a] 中間解析対象集団、データ・カットオフ [redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日、アフェレーシスを受けていない被験者
出典: 20110115 試験の表 11-1 、20110233 試験の表 11-1、20110271 試験の表 11-4

[redacted]年[redacted]月[redacted]日のデータカットオフ時点で 20110271 試験においてアフェレーシスを受け、evolocumab の投与を受けていた HoFH 被験者 34 例では、アフェレーシス後の平均血清中非結合型 evolocumab 濃度はアフェレーシス前に比べ約 20%～30%低かった。しかし、これらの被験者における 12 週時点のアフェレーシス後の平均血清中非結合型 evolocumab 濃度（SD）は 59.0（27.4）μg/mL であった（20110271 試験、Table 11-5）。これは表 2.7.2-66 に示した値より高く、アフェレーシス被験者に用いられた evolocumab の投与頻度（420 mg SC Q2W）が多かったことに原因があると考えられる。

2.7.2.3.6.1.4　薬力学：LDL-C

アフェレーシスを受けていない HoFH 被験者で、evolocumab はプラセボに比べ LDL-C を約 31%低下させ（20110233 試験、Table 10-1）、LDL-C のベースラインからの約 23.4%の低下は長期間維持された（2.7.3.3.7.3 項）。PHMD 被験者及び HoFH 被験者における evolocumab 420 mg SC Q4W 投与の 12 週時点の LDL-C のベースラインからの変化率を表 2.7.2-67 に要約する。[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日のデータカットオフ時点で長期投与試験（20110271 試験）において evolocumab の投与を受けていた日本人 HoFH 被験者は 7 例で、LDL-C のベースラインから投与 12 週時点の低下は 89.1%～2.6%であった。

表 2.7.2-67　12 週時点の UC LDL-C 濃度（ベースラインからの変化率）
（evolocumab 420 mg SC Q4W とスタチンの併用）

	PHMD（20110115 試験）	HoFH（20110233 試験［第 III 相］）	HoFH（20110271 試験）[a]
N	514	29	63
平均値	-57.74	-26.07	-23.10
SE	0.99	4.31	2.78
Min	-96.9	-56.6	-80.4
中央値	-61.14	-26.25	-21.11
Max	146.0	42.9	23.9

LDL-C = 低比重リポ蛋白コレステロール、min = 最小値、max = 最大値、QM =Q4W = 4 週に 1 回、SC = 皮下、SE = 標準誤差

[a] 中間解析対象集団、データ・カットオフ [redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日、アフェレーシスを受けていない被験者

出典: 20110115 試験の表 14-4.41.1、20110233 試験の表 14-4.23.1（パート B）、20110271 試験の表 14-4.21.5.401

2.7.2.3.6.1.5　薬力学：非結合型 PCSK9

12 週時点の血清中非結合型 PCSK9 トラフ濃度の低下の平均は、PHMD 被験者で 33%（20110115 試験）、HoFH 被験者で 27%～32%（20110233 試験及び 20110271 試験）であった（表 2.7.2-68）。これらの結果から、HoFH 被験者において evolocumab の PCSK9 に及ぼす薬理効果に臨床的に意味のある差はないと考えられた。

表 2.7.2-68　12 週時点の血清中非結合型 PCSK9 濃度（ベースラインからの変化率）
（evolocumab 420 mg SC Q4W とスタチンの併用）

	PHMD（20110115 試験）	HoFH（20110233 試験［第 III 相］）	HoFH（20110271 試験）[a]
N	94	29	66
平均値	-33.35	-26.64	-31.68
SE	3.64	5.66	3.93
Min	-91.8	-72.2	-96.9
中央値	-38.14	-32.46	-36.34
Max	59.9	49.7	73.0

min = 最小値、max = 最大値、PCSK9 = プロ蛋白転換酵素サブチリシン／ケキシン 9 型、QM = Q4W = 1 週に 1 回、SC = 皮下、SE = 標準誤差

[a] 中間解析対象集団、データ・カットオフ [redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日、アフェレーシスを受けていない被験者

出典: 20110115 試験の表 14-4.52.9、20110233 試験の表 14-4.36.1（パート B）、20110271 試験の表 14-4.35.5.401

2.7.2.4　特殊な試験

2.7.2.4.1　evolocumabの薬物動態に及ぼす免疫原性の影響

種類を問わず蛋白製剤の投与は免疫反応を誘発する可能性がある。Amgen社は、非臨床及び臨床試験においてevolocumabに対する免疫反応を検討するための高感度で特異的な測定法を開発し、バリデートした。測定法及び結果の詳細を併合免疫原性報告書（5.3.5.3項）に示す。

電気化学発光免疫測定法では、Meso Scale Discovery（MSD）のプラットフォームを利用し、スクリーニング測定と特異性測定から成る2段階の方法を用いた。スクリーニング測定では、evolocumabに結合できる抗体（抗evolocumab抗体）の有無を検出した。シグナル･ノイズ比が測定のカットオフ値を超えている検体では、次に特異性を検討した。特異性測定では、過剰量の薬物添加によりシグナルの減弱が認められた検体は、抗evolocumab抗体陽性と報告された。

中和抗体検出には、（i）中和抗体スクリーニング測定と（ii）確認測定の2段階の測定方法を用いた。スクリーニング測定では、ヒト血清中のevolocumab中和抗体が検出された。中和抗体陰性の検体は、evolocumab添加時に受容体へのPCSK9の結合が著しく低下した。中和抗体陽性の検体は著しいシグナルの減弱を示さず、このような検体は「要確認」と分類された。確認測定では、「要確認」検体をproteinG/L及びセファロース6Bビーズを用いて前処理し、除去率を測定した。この測定では、検体中の抗体が除去されるため、真の陽性検体のシグナルは減弱する。この処理でシグナルが減弱しなかった場合、スクリーニング測定のシグナルはevolocumab中和抗体に由来しない偽陽性シグナルであった可能性が最も高い。スクリーニング測定と確認測定の結果を用いて、検体がevolocumabに対する中和抗体に陽性又は陰性であるかどうかを決定した。

全体として、抗evolocumab抗体が陽性となったのは、海外承認申請での安全性及び有効性試験においてevolocumabの投与を受けた被験者の1%に満たなかった。また、中和抗体はいずれの被験者にも検出されなかった。そのため、抗evolocumab抗体の発現率は低いと考えられた。

同様に、日本人被験者でも抗evolocumab抗体の発現率は低く全体の1%未満であり、中和抗体はいずれの日本人被験者にも検出されなかった。

抗evolocumab抗体が陽性を示した時点の非結合型evolocumab及び非結合型PCSK9の血清中濃度を表2.7.2-69に示す。抗evolocumab抗体は、評価可能な限りでは、被験者を問わず、evolocumabの薬物動態又は薬力学に影響を及ぼさないようであった。得られているデータに基づくと、抗evolocumab抗体陽性被験者の血清中非結合型evolocumab及びPCSK9濃度はすべて、同一試験のほかの被験者で観察された濃度範囲内であった。このように、抗evolocumab抗体の発現がevolocumabの薬物動態を変化させることを示す所見はない。

表 2.7.2-69　抗 evolocumab 抗体陽性時点の非結合型 evolocumab 及び非結合型 PCSK9 の血清中濃度

試験	被験者 ID	投与方法	抗体陽性時点	evolocumab の血清中濃度 (μg/mL)	evolocumab の血清中濃度範囲 [a] (μg/mL)	PCSK9 濃度 (ng/mL)	PCSK9 濃度範囲 [a] (ng/mL)
第 I 相試験							
	（なし）						
第 II 相試験							
第 II 相親試験（12 週間）							
20101154	[redacted]	EvoMab 105 mg Q2W	4 週時	14.0	0-18.5	23.8	0- 268
20101154		プラセボ Q4W	試験終了時	-	0-0	343	29-940
							（14 週時）
20110231	[redacted]	プラセボ Q2W	12 週時	-	0-0	973	273-849
第 II 相継続試験（最長 5 年間）							
20110110	[redacted]	SoC のみ	4 週時	-	0-0	491	47.6-1020
20110110		SoC のみ	4 週時	-	0-0	455	47.6-1020
20110110		EvoMab + SoC	4 週時	7.23	0-77.9	142	0-854
			12 週時	29.0	0-91.3	39.8	0-995
			48 週時	7.6	0-87.6	171	15.8-965
20110110	[redacted]	EvoMab + SoC	1 日目	BQL	0-0	564	130-1030

[a] 抗体陰性の被験者

- = 未報告、Ab = 抗体、BQL = 定量限界未満（evolocumab: 800 ng/mL、 PCSK9: 15 ng/mL）、EvoMab = evolocumab（AMG 145）、PCSK9 = プロ蛋白転換酵素サブチリシン／ケキシン 9 型、 Q2W = 2 週に 1 回、Q4W = 4 週に 1 回、 SC = 皮下、SoC = 標準療法

以下の試験で[redacted]年[redacted]月[redacted]日まで収集したデータを含む：20090158、20090159、20101154、20101155、20110231、20110109、20110110、20110114、20110115、20110116、20110117、20120122、20120348、20120356、20110233 及び 20110271 試験.。20120138 試験では、evolocumab 及び PCSK9 の濃度は測定しなかった。

表 2.7.2-69　抗 evolocumab 抗体陽性時点の非結合型 evolocumab 及び非結合型 PCSK9 の血清中濃度（続き）

試験	被験者 ID	投与方法	抗体陽性時点	evolocumab の血清中濃度 (μg/mL)	evolocumab の血清中濃度範囲 [a] (μg/mL)	PCSK9 濃度 (ng/mL)	PCSK9 濃度範囲 [a] (ng/mL)
第 III 相試験							
第 III 相親試験（12 週間）							
20110115	[redacted]	evolocumab 140 mg SC Q2W	1 日目	BQL	0-0	390	0-964
20110115	[redacted]	evolocumab 420 mg SC Q4W	1 日目	BQL	0-0	254	0-964
			12 週時	8.88	0-79.7	138	0-1040
20110115	[redacted]	evolocumab 420 mg SC Q4W	1 日目	BQL	0-0	341	0-964
20110233	[redacted]	evolocumab 420 mg SC Q4W	1 日目	BQL	0-0	565	<15-1190
20120122	[redacted]	evolocumab 140 mg SC Q2W	1 日目	BQL	0-0	346	153-635
20120122	[redacted]	evolocumab 420 mg SC Q4W	12 週時	BQL	0-44.6	171	58.2-358
第 III 相 長期試験（52 週間）							
20110109	[redacted]	evolocumab 420 mg SC Q4W	1 日目	BQL	0-0	386	0-1140
20110109	[redacted]	evolocumab 420 mg SC Q4W	12 週時	9.06	0-73.1	112	0-755
			36 週時	22.7	0-81.9	19.4	0-850
20110109	[redacted]	evolocumab 420 mg SC Q4W	1 日目	BQL	0-0	860	0-1140
第 III 相継続試験: 家族性高コレステロール血症（最長 5 年間）							
20110271	[redacted]	evolocumab 420 mg SC Q4W	OLE 12 週	18.1	0-47.9	244	57.1-981
20110271	[redacted]	evolocumab 420 mg SC Q4W	OLE 1 日目	BQL	0-0	401	91.9-1820
			OLE 12 週	19.8	0-69.0	195	39.3-1160
20110271	[redacted]	evolocumab 420 mg SC Q4W	OLE 12 週	2.48	0-69.0	285	39.3-1160

[a] 抗体陰性の被験者

- = 未報告、Ab = 抗体、BQL = 定量限界未満（evolocumab: 800 ng/mL、 PCSK9: 15 ng/mL）、EvoMab = evolocumab（AMG 145）、PCSK9 = プロ蛋白転換酵素サブチリシン／ケキシン 9 型、 Q2W = 2 週に 1 回、Q4W = 4 週に 1 回、 SC = 皮下、SoC = 標準療法

以下の試験で[redacted]年[redacted]月[redacted]日まで収集したデータを含む：20090158、20090159、20101154、20101155、20110231、20110109、20110110、20110114、20110115、20110116、20110117、20120122、20120348、20120356、20110233 及び 20110271 試験。20120138 試験では、evolocumab 及び PCSK9 の濃度は測定しなかった。

2.7.2.5 付録

補遺 1. References

Abifadel M, Varret M, Rabès J-P, et al. Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia. Nat Genet. 2003; 34: 154-156.

Awan Z, Seidah NG, MacFadyen JG, et al. Rosuvastatin, proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 concentrations, and LDL cholesterol response: the JUPITER trial. Clin Chem. 2012; 58: 183-189.

Brown MS, Goldstein JL. Biomedicine. Lowering LDL—not only how low, but how long? Science. 2006; 311: 1721-1723.

Chen F, Maridakis V, O'Neill EA, et al. The effects of simvastatin treatment on plasma lipid-related biomarkers in men with dyslipidaemia. Biomarkers. 2011; 16: 321-333.

Cohen J, Pertsemlidis A, Kotowski IK, et al. Low LDL cholesterol in individuals of African descent resulting from frequent nonsense mutations in PCSK9. Nat Genet. 2005; 37: 161-165.

Cohen JC, Boerwinkle E, Mosley TH, Jr, Hobbs HH. Sequence variations in PCSK9, low LDL, and protection against coronary heart disease. N Engl J Med. 2006; 354: 1264-1272.

Dirks NL, Meibohm B. Population pharmacokinetics of therapeutic monoclonal antibodies. Clin Pharmacokinet. 2010; 49: 633-659.

Gibiansky L, Gibiansky E, Kakkar T, et al. Approximations of the target-mediated drug disposition model and identifiability of model parameters. J Pharmacokinet Pharmacodyn. 2008; 35: 573-591.

Gibiansky L, Sutjandra L, Doshi S, et al. Population pharmacokinetic analysis of denosumab in patients with bone metastases from solid tumours. Clin Pharmacokinet. 2012; 51: 247-260.

Hayashi N, Tsukamoto Y, Sallas WM, Lowe PJ. A mechanism-based binding model for the population pharmacokinetics and pharmacodynamics of omalizumab. Br J Clin Pharmacol. 2006; 63: 548-561.

Hooper AJ, Marais AD, Tanyanyiwa DM, Burnett JR. The C679X mutation in PCSK9 is present and lowers blood cholesterol in a Southern African population. Atherosclerosis. 2007: 193: 445-448.

Horton JD, Cohen JC, Hobbs HH. Molecular biology of PCSK9: its role in LDL metabolism. Trends Biochem Sci. 2007: 32: 71-77.

Horton JD, Cohen JC, Hobbs HH. PCSK9: a convertase that coordinates LDL catabolism. J Lipid Res. 2009; 50: S172-S177.

Lalonde RL, Wagner JA. Drug development perspective on pharmacokinetic studies of new drugs in patients with renal impairment. Clin Pharmacol Ther. 2009; 86: 557-561.

Lambert G, Sjouke B, Choque B, Kastelein JJP, Hovingh GK. The PCSK9 decade. J Lipid Res. 2012; 53: 2514-2524.

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

Mayne J, Dewpura T, Raymond A, et al. Plasma PCSK9 levels are significantly modified by statins and fibrates in humans. Lipids Health Dis. 2008; 7: 22.

Ng CM, Joshi A, Dedrick RL, et al. Pharmacokinetic-pharmacodynamic-efficacy analysis of efalizumab in patients with moderate to severe psoriasis. Pharm Res. 2005: 22: 1088-1100.

Ng CM, Stefanich E, Anand BS, et al. Pharmacokinetics/pharmacodynamics of nondepleting anti CD4 monoclonal antibody (TRX1) in healthy human volunteers. Pharm Res. 2006: 23: 95-103.

Raal F, Panz V, Immelman A, Pilcher G. Elevated PCSK9 levels in untreated patients with heterozygous or homozygous familial hypercholesterolemia and the response to high-dose statin therapy. J Am Heart Assoc. 2013; 2: e000028.

Sutjandra L, Rodriguez RD, Doshi S, et al. Population pharmacokinetic meta-analysis of denosumab in healthy subjects and postmenopausal women with osteopenia or osteoporosis. Clin Pharmacokinet. 2011; 50: 793-807.

Thürmann PA, Sonnenburg C, Valentová K, Gregora E, Freischläger F, Lissner R. Pharmacokinetics of viral antibodies after administration of intravenous immunoglobulin in patients with chronic lymphocytic leukaemia or multiple myeloma. Eur J Clin Pharmacol. 2001: 57: 235-241.

Waldman, TA, Strober W. Metabolism of immunoglobulins. In: P Kallos P, Waksman BH, eds. Progress in Allergy, vol 13 , Basel, Switzerland: S Karger; 1969: 1-110.

Zaid A, Roubtsova A, Essalmani R, et al. Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9): Hepatocyte-specific low-density lipoprotein receptor degradation and critical role in mouse liver regeneration. Hepatology. 2008; 48: 646-654.

Zhao Z, Tuakli-Wosornu Y, Lagace TA, et al. Molecular characterization of loss-of-function mutations in PCSK9 and identification of a compound heterozygote. Am J Hum Genet. 2006; 79: 514-523.

補遺 2. 血清中非結合型 evolocumab 濃度及び非結合型 PCSK9 濃度測定法

表 2.7.2-70 血清中非結合型 evolocumab 濃度及び非結合型 PCSK9 濃度測定を裏付ける生物学的分析試験の真度及び精度

試験番号	検体の種類	PCSK9		evolocumab	
		真度 (%偏り)	精度 (%CV)	真度 (%偏り)	精度 (%CV)
臨床薬理試験					
健康被験者における薬物動態／薬力学及び初期忍容性					
20080397	標準試料	-2～2	1～3	-1～1	1～3
	QC	-7～-2	4～8	-3～-2	4～6
20110121	標準試料	0	1～5	-1～1	2～4
	QC	-2～5	8～11	7～10	4～7
20120136	標準試料	-3～1	1～4	-3～2	2～4
	QC	5～6	7～13	-3～1	5～13
患者[a]における薬物動態／薬力学及び初期忍容性					
20080398	標準試料	-1～1	0～3	-1～1	1～2
	QC	1～5	6～10	6～9	3～6
内因性要因					
20120341	標準試料	-1～2	1～3	-4～2	1～4
	QC	2～3	6～9	-3～-1	5～6
20140213	標準試料	_-2～2_	_1～5_	_-6～4_	_1～4_
	QC	_-8～-1_	_9～13_	_-3～-1_	_5～7_
生物薬剤学試験					
比較バイオアベイラビリティ及び生物学的同等性					
20110168	標準試料	0～1	1～4	-4～3	2～5
	QC	4～7	5～9	-3～1	6～16
20120133	標準試料	-1～1	1～3	-4～3	2～4
	QC	3～3	5～7	1～6	4～11

ページ 1/3

[a] “患者”とは、PHMD 被験者、又は HoFH 被験者である

CV = 変動係数、PCSK9 = プロ蛋白転換酵素サブチリシン／ケキシン 9 型

20120138 試験では、evolocumab 及び PCSK9 の濃度は測定しなかった。

表 2.7.2-70　血清中非結合型 evolocumab 濃度及び非結合型 PCSK9 濃度測定を裏付ける生物学的分析試験の真度及び精度（続き）

試験番号	検体の種類	PCSK9		evolocumab	
		真度（%偏り）	精度（%CV）	真度（%偏り）	精度（%CV）
有効性・安全性試験 – PHMD					
比較試験					
20101154	標準試料	0～1	1～4	-2～1	1～4
	QC	0～4	9～12	6～11	4～5
20101155	標準試料	0	1～4	-1～1	1～4
	QC	4～7	9～10	5～11	5
20090158	標準試料	-1～1	1～4	-1～1	1～3
	QC	7～9	8～11	6～10	4～6
20090159	標準試料	0～1	1～4	-1～1	1～3
	QC	4～8	8～11	6～10	4～6
20110114	標準試料	-1～1	1～3	-1～2	1～3
	QC	-2～1	6～8	1～5	4～5
20110115	標準試料	0～1	0～3	-1～2	1～4
	QC	-1～2	6～9	1～4	4～9
20110116	標準試料	0～1	0～2	-1～2	1～3
	QC	-3～-1	6～8	3～4	4～5
20110117	標準試料	0	1～3	-1～1	1～3
	QC	-1～1	8～13	1～4	3～4
日本における比較試験					
20110231	標準試料	-1～2	1～5	-3～2	2～4
	QC	1 ～1	9～11	-2～1	4～7
20120122	標準試料	-1～1	1～3	-1～1	1～3
	QC	1～3	7～12	1～5	3～4
長期有効性及び安全性試験					
20110109	標準試料	0～1	1～4	-4～2	2～4
	QC	2～3	10～12	-1～2	6～7
20110110	標準試料	-1～1	1～4	-3～2	2～4
	QC	1～2	10～15	1～3	6～8

[a] “患者”とは、PHMD 被験者、又は HoFH 被験者である

CV = 変動係数、PCSK9 = プロ蛋白転換酵素サブチリシン／ケキシン 9 型

20120138 試験では、evolocumab 及び PCSK9 の濃度は測定しなかった。

表 2.7.2-70　血清中非結合型 evolocumab 濃度及び非結合型 PCSK9 濃度測定を裏付ける生物学的分析試験の真度及び精度（続き）

試験番号	検体の種類	PCSK9		evolocumab	
		真度（%偏り）	精度（%CV）	真度（%偏り）	精度（%CV）
有効性・安全性試験: HoFH					
比較試験					
20110233	標準試料	0～1	1～4	-4～2	2～4
	QC	-1～3	9～13	1～3	6～7
長期有効性及び安全性試験					
20110271	標準試料	-1～1	1～4	-3～1	2～4
	QC	1～2	8～10	0～3	5～10
他の試験：医療機器使用					
20120348	標準試料	-2～0	1～3	-3～3	1～4
	QC	-1～1	5～9	1～5	4～5
20120356	標準試料	-1～1	0～3	-1～1	1～5
	QC	-7～0	6～13	1～6	4～8

[a] “患者”とは、PHMD 被験者、又は HoFH 被験者である

CV = 変動係数、PCSK9 = プロ蛋白転換酵素サブチリシン／ケキシン 9 型

20120138 試験では、evolocumab 及び PCSK9 の濃度は測定しなかった。

表 2.7.2-71　血清中非結合型 evolocumab 及び非結合型 PCSK9 測定の長期安定性データ

バリデーション試験番号	バリデーション対象の定量法（BA 施設）	補捉抗体	検出抗体	定量範囲（ng/mL）	試料中での安定性	
					-20°C	-70°C
血清中 evolocumab						
113216	適合（[redacted]）	Mu anti-AMG 145	HRP 標識 Mu anti-AMG 145	800 – 10,000	729 日	394 日
血清中 PCSK9						
113215	適合（[redacted]）	AMG 145	ビオチン標識 hu anti-PCSK9 3C4.1 mAb	15 - 1200	439 日	N/A
112777	適合（Amgen）	AMG 145	ビオチン標識 hu anti-PCSK9 3C4.1 mAb	15 - 1200	N/A	371 日

AMG 145 = evolocumab、 HRP = セイヨウワサビペルオキシダーゼ、MAb = モノクローナル抗体、N/A = 分析せず、PCSK9 = プロ蛋白転換酵素サブチリシン／ケキシン 9 型

表 2.7.2-72　血清中非結合型 evolocumab 及び非結合型 PCSK9 の生物学的分析法の要約

試験方法	要約
血清中非結合型 evolocumab	
MET-002499 v2.0 MET-002499 v3.0 MET-002499 v4.0	ヒト血清中の AMG145 を定量する分析法は、Amgen 社（Seattle, Washington, USA）で開発された。 AMG145 を 100%ヒトプール血清に添加して標準試料及び QC 検体を作成する。 マイクロプレートのウェル（Nunc Nalge International）を Mu 抗 AMG145（clone 1.18.1）（Amgen 社）でコーティングする。 ブロッキングステップ後、標準試料、マトリクスブランク（NSB）、QC 検体及び測定試料を、Blocker™ BLOTTO in TBS 緩衝液（Thermo Scientific）で 100 倍に希釈した後マイクロプレートのウェルに添加する。 マイクロプレートにコーティングした Mu 抗 AMG145（clone 1.18.1）抗体により、サンプル中の AMG145 を捕捉する。 マイクロプレートのウェルを洗浄して非結合物質を除去する。 洗浄後、マイクロプレートのウェルに HRP 標識 Mu 抗 AMG145（1.46 Mab、Amgen 社）を添加して、捕捉した AMG145 と結合させる。更に洗浄後、3, 3`, 5, 5`TMB 基質溶液をウェルに添加する。 TMB 基質溶液は過酸水素と反応し、HRP 存在下で、捕捉試薬が結合した AMG145 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（OD）の差を測定する。 重み付け係数を 1 としたロジスティック回帰モデル（自動推定）［4 パラメータロジスティック］を使用した Watson 7.0.0.01（又はそれ以降）のデータ加工パッケージを用いてデータを解析する。
ICD 376	ヒト血清中の AMG145 定量分析法は Amgen 社（Seattle, Washington, USA）で開発された（Amgen バリデーション試験 112602）。 AMG145 を 100%ヒトプール血清に添加して検量線用標準試料及び QC 検体を作成する。 マイクロプレートのウェルを Mu 抗 AMG145（clone 1.18.1、Amgen 社）でコーティングする。 ブロッキングステップ後、検量線用標準試料、マトリクスブランク、QC 検体及び測定試料を、Blocker™ BLOTTO in 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する。 マイクロプレートにコーティングした Mu 抗 AMG145（Clone 1.18.1）抗体により、サンプル中の AMG145 を捕捉する。 マイクロプレートのウェルを洗浄して非結合物質を除去する。 洗浄後、マイクロプレートのウェルに HRP 標識 Mu 抗 AMG145（1.46 MAb、Amgen 社）を添加して、捕捉した AMG145 と結合させる。更に洗浄後、3, 3', 5, 5'TMB 基質溶液をウェルに添加する。 TMB 基質溶液は過酸水素と反応し、HRP 存在下で、捕捉試薬が結合した AMG145 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 OD の差を測定する。 検量線用標準試料、QC 検体及び測定試料の濃度は、同じ測定で得られた検量線を用いて算出する。ただし、この検量線は、[redacted] の Assist LIMS データベースを用いた 4 パラメータ回帰モデルに従って回帰する。

脚注は表の最後に示す

表 2.7.2-72　血清中非結合型 evolocumab 及び非結合型 PCSK9 の生物学的分析法の要約（続き）

試験方法	要約
血清中非結合型 evolocumab（続き）	
ICD 376 v1.01 ICD 376 v1.02	この方法は、Amgen 社（Seattle, Washington, USA）にて開発され、最初にバリデーションが行われた（試験 112602）。 この方法は ICD 376 と表示され、[redacted]プロジェクトコード[redacted]に基づきトランスファーバリデーションが行われた（Amgen 試験 112602）。 この方法は、[redacted]プロジェクトコード[redacted]に基づき TECAN EVO ワークステーションの使用が認められた。 AMG145 を 100%ヒト血清に添加して標準試料及び QC 検体を作成した。 標準試料、QC 検体、ブランク及び測定試料をマウス抗 AMG145 モノクローナル抗体（clone no. 1.18.1、Amgen 社、California USA）をコーティングしたプレートに添加した。 AMG145 を固定化抗体に補捉した後、洗浄ステップにより非結合物質を除去した。 HRP 標識マウス抗 AMG145 モノクローナル抗体（mAb no. 1.46、Amgen 社、California USA）を加え、補捉した AMG145 を検出した。 更なる洗浄ステップ後、過酸化水素含有 TMB 基質溶液（KPL 社、Maryland USA）を加えることにより、捕捉試薬が結合した AMG145 の量に比例して発色した。 硫酸を用いて発色を停止させ、650 nm をリファレンスとして 450 nm で OD を測定した。 4 パラメータロジスティック最小二乗回帰アルゴリズムにより、OD シグナルと濃度との関係を回帰した。[redacted]の Assist LIMS の回帰分析モジュールを用いて、QC 検体及び測定試料の濃度を算出した。サンプルの定量には AMG145 の濃度範囲である 800～10000 ng/mL を選択した。この分析には、250-µL 以上のヒト血清量が必要である。サンプルは分析に使用するまで-70℃以下で冷凍保管する。この分析の最小希釈倍率は、100 倍である（希釈液として Blocker™ BLOTTO in TBS 緩衝液を用いる）。手作業にて作製する場合、検量線用標準試料、QC 検体、ブランク、及び測定試料各 10 µL に Blocker™ BLOTTO in TBS 緩衝液 990 µL を加える。
BAL-II/STP/003/02 BAL-II/STP/003/03	ヒト血清中の AMG145 の定量のための標準試験手順は Amgen 社（Seattle, Washington, USA）で最初に開発された。この分析法では、AMG145 を 100%ヒトプール血清に添加して標準試料及び QC 検体を作成する。マイクロプレートのウェルを Mu 抗 AMG145（clone 1.18.1 Mab）でコーティングする。ブロッキングステップ後、標準試料、ブランク、QC 検体及び測定試料を、Blocker™ BLOTTO in 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する。マイクロプレートにコーティングした Mu 抗 AMG145 抗体により、サンプル中の AMG145 を捕捉する。マイクロプレートのウェルを洗浄して非結合物質を除去する。洗浄後、マイクロプレートのウェルに HRP 標識 Mu 抗 AMG145（1.46.1 Mab）を添加して、捕捉した AMG145 と結合させる。更なる洗浄ステップ後、3, 3', 5, 5'TMB 基質溶液をウェルに添加する。TMB 基質溶液は過酸化水素と反応し、HRP 存在下で、捕捉試薬が結合した AMG145 の量に比例して発色する。1N 硫酸（H_2SO4）を用いて反応を停止させ、450 nm と 650 nm の OD の差を測定する。OD シグナルと濃度との関係をロジスティック回帰モデル（自動推定）［4 パラメータロジスティック］により回帰する。試料中濃度は、研究室情報管理システム（Watson 7.3.0.01 Bioanalytical LIMS、Thermo Scientific）のデータ加工ソフトウェアを用いて算出する。

脚注は表の最後に示す

表 2.7.2-72　血清中非結合型 evolocumab 及び非結合型 PCSK9 の生物学的分析法の要約（続き）

試験方法	要約
血清中非結合型 PCSK9	
MET-002510 v2.0 MET-002510 v3.0	ヒト血清中の PCSK9 を定量する分析法は、Amgen 社（Seattle, Washington, USA）で開発された。標準試料及び QC 検体は、遺伝子組換え PCSK9（Amgen 社）を 100%ウシ胎児プール血清に添加して作成する（注意：ヒト血清中 PCSK9 は内在レベルが高く、様々であることから、ウシ胎児血清が代用マトリクスとして用いられる）。マイクロプレートのウェルを AMG145（PCSK9 の抗体、Amgen 社）でコーティングする。ブロッキングステップ後、標準試料、マトリクスブランク、QC 検体及び測定試料を、Superblock® T20 緩衝液（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する。サンプル中の非結合 PCSK9 を、マイクロプレートにコーティングした抗 PCSK9 抗体（AMG145）により捕捉する。 マイクロプレートのウェルを洗浄して非結合物質を除去する。洗浄後、マイクロプレートのウェルにビオチン標識ヒト抗 PCSK9　3C4.1 mAb（Amgen 社）を添加して、捕捉した PCSK9 と結合させる。非結合物質を除去するためにもう 1 度洗浄ステップを実施した後、マイクロプレートのウェルに poly-HRP ストレプトアビジンコンジュゲート（Thermo Scientific）を添加して、抗 huPCSK9　3C4.1 mAb 上のビオチンと結合させる。最終洗浄ステップ後、3, 3', 5, 5'TMB 基質溶液（BioFx）をウェルに添加する。TMB 基質溶液は過酸化水素と反応し、HRP 存在下で、捕捉試薬が結合した 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 OD の差を測定する。重み付け係数を $1/Y^2$ としたロジスティック回帰モデル（自動推定）［4 パラメータロジスティック］を使用した Watson 7.0.0.01（またはそれ以降）のデータ加工パッケージを用いてデータを解析する。
ICD 377	ヒト血清中 PCSK9 の 定量分析法は Amgen 社（Seattle, WA）で開発された（Amgen バリデーション試験番号 112777）。 検量線用標準試料及び QC 検体は、遺伝子組換え PCSK9 を 100%ウシ胎児プール血清に添加して作成する（注意：ヒト血清中 PCSK9 は内在レベルが高く、様々であることから、ウシ胎児血清が代用マトリクスとして用いられる）。マイクロプレートのウェルを AMG145（PCSK9 の抗体、Amgen 社）でコーティングする。ブロッキングステップ後、標準試料、マトリクスブランク、QC 検体、血清対照、及び測定試料を、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する。サンプル中の非結合 PCSK9 を、マイクロプレートにコーティングした抗 PCSK9 抗体（AMG145）により捕捉する。マイクロプレートのウェルを洗浄して非結合物質を除去する。洗浄後、マイクロプレートのウェルにビオチン標識 hu 抗 PCSK9　3C4.1 mAb（Amgen 社）を添加して、捕捉した PCSK9 と結合させる。非結合物質を除去するためにもう 1 度洗浄ステップを実施した後、マイクロプレートのウェルに poly-HRP ストレプトアビジンコンジュゲートを添加して、抗 huPCSK9　3C4.1 mAb 上のビオチンと結合させる。最終洗浄ステップ後、3, 3', 5, 5' TMB 基質溶液をウェルに添加する。TMB 基質溶液は過酸化水素と反応し、HRP 存在下で、捕捉試薬が結合した 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 OD の差を測定する。検量線用標準試料、QC 検体、血清対照、及び測定試料の濃度は、同じ測定で得られた検量線を用いて算出する。ただし、この検量線は、重み付け係数を 1/比率 ^{2} とし、[redacted] の Assist LIMS データベースを用いた 4 パラメータ回帰モデルに従って回帰する。

脚注は表の最後に示す

表 2.7.2-72　血清中非結合型 evolocumab 及び非結合型 PCSK9 の生物学的分析法の要約（続き）

試験方法	要約
血清中非結合型 PCSK9（続き）	
ICD 377 v1.01 ICD 377 v1.02	ヒト血清中 PCSK9 の定量分析法は Amgen 社（Seattle, Washington USA）で開発された（Amgen バリデーション試験番号 112777）。検量線用標準試料及び QC 検体は、遺伝子組換え PCSK9 を 100%ウシ胎児プール血清に添加して作成する（注意：ヒト血清中 PCSK9 は内在レベルが高く、様々であることから、ウシ胎児血清が代用マトリクスとして用いられる）。マイクロプレートのウェルを AMG145（PCSK9 の抗体、Amgen 社）でコーティングする。ブロッキングステップ後、標準試料、マトリクスブランク、QC 検体、血清対照、及び測定試料を、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する。サンプル中の非結合 PCSK9 を、マイクロプレートにコーティングした抗 PCSK9 抗体（AMG145）により捕捉する。マイクロプレートのウェルを洗浄して非結合物質を除去する。洗浄後、マイクロプレートのウェルにビオチン標識 hu 抗 PCSK9　3C4.1 mAb（Amgen 社）を添加して、捕捉した PCSK9 と結合させる。非結合物質を除去するためにもう 1 度洗浄ステップを実施した後、マイクロプレートのウェルに poly-HRP ストレプトアビジンコンジュゲートを添加して、抗 huPCSK9　3C4.1 mAb 上のビオチンと結合させる。最終洗浄ステップ後、3, 3', 5, 5'TMB 基質溶液をウェルに添加する。TMB 基質溶液は過酸化水素と反応し、HRP 存在下で、捕捉試薬が結合した 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 OD の差を測定する。検量線用標準試料、QC 検体、血清対照、及び測定試料の濃度は、同じ測定で得られた検量線を用いて算出する。ただし、この検量線は、重み付け係数を 1/反応 ^{2} とし、[redacted] の Assist LIMS データベースを用いた 4 パラメータ回帰モデルに従って回帰する。

脚注は表の最後に示す

表 2.7.2-72　血清中非結合型 evolocumab 及び非結合型 PCSK9 の生物学的分析法の要約（続き）

試験方法	要約
血清中非結合型 PCSK9（続き）	
BAL-II/STP/004/02 BAL-II/STP/004/03	この分析法では、標準試料及び QC 検体は、遺伝子組換え PCSK9（Hu PCSK9:His8、Amgen 社、California USA）を 100%ウシ胎児プール血清に添加して作成する（注意：ウシ胎児血清は内在 PCSK9 がほとんどなく、ヒト血清中 PCSK9 は内在レベルが高く、様々であることから、ウシ胎児血清が代用マトリクスとして用いられる）。マイクロプレートのウェルを AMG145（抗 PCSK9 抗体、Amgen 社、California USA）でコーティングする。ブロッキングステップ後、標準試料、マトリクスブランク、QC 検体、血清対照、及び測定試料を、Superblock® T20（PBS）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する。サンプル中の非結合 PCSK9 を、マイクロプレートにコーティングした AMG145（抗 PCSK9 抗体、Amgen 社、California USA）により捕捉する。洗浄後、マイクロプレートのウェルにビオチン標識ヒト抗 PCSK9 Mab（Clone 3C4.1、Amgen 社、CA）を添加して、捕捉した PCSK9 と結合させる。非結合物質を除去するためにもう 1 度洗浄ステップを実施した後、マイクロプレートのウェルに poly-HRP ストレプトアビジンコンジュゲートを添加して、ヒト抗 PCSK9 mAb 上のビオチンと結合させる。最終洗浄ステップ後、3, 3', 5, 5'TMB 基質溶液をウェルに添加する。TMB 基質溶液は過酸化水素と反応し、HRP 存在下で、捕捉試薬が結合した PCSK9 の量に比例して発色する。1N 硫酸を用いて反応を停止させ、650 nm と 450 nm の OD の差を測定する。 OD シグナルと濃度との関係を、重み付け係数を $1/y^2$ としたロジスティック回帰モデル（自動推定）［4 パラメータロジスティック］により回帰する。試料中濃度は、研究室情報管理システム（Watson 7.3.0.01 Bioanalytical LIMS, Thermo Scientific）のデータ加工ソフトウェアを用いて算出する。

AMG145 = evolocumab、HRP = セイヨウワサビペルオキシダーゼ、OD = 光学濃度、PCSK9 = プロ蛋白転換酵素サブチリシン／ケキシン 9 型、TMB = テトラメチルベンジジン、QC = 品質管理

表 2.7.2-73　血清中非結合型 evolocumab 及び非結合型 PCSK9 の定量のための生物学的分析法及びバリデーション

分析試験番号	試験方法	バリデートされた分析法（施設）	定量範囲 (ng/mL)	Amgen 社試験番号
血清中 evolocumab				
112602	MET-002499 v2.0 MET-002499 v3.0 MET-002499 v4.0	適合 （Amgen）	800 – 10,000	20080397
113216	ICD 376	適合 （[redacted]）	800 – 10,000	20080398 20090158 20090159 20101154 20101155 20110121
113216	ICD 376 v1.01	適合 （[redacted]）	800 – 10,000	20110231 20120136
113216	ICD 376 v1.01 ICD 376 v1.02	適合 （[redacted]）	800 – 10,000	20120341 20140213
113216	ICD 376 ICD 376 v1.01 ICD 376 v1.02	適合 （[redacted]）	800 – 10,000	20110109 20110110 20110233 20110271
113216	ICD 376 v1.02	適合 （[redacted]）	800 – 10,000	20110168 20120133
117093	BAL-II/STP/003/02	適合 （[redacted]）	800 – 10,000	20120348
117093	BAL-II/STP/003/02 BAL-II/STP/003/03	適合 （[redacted]）	800 – 10,000	20110114 20110115 20110116 20110117 20120122
117093	BAL-II/STP/003/03	適合 （[redacted]）	800 – 10,000	20120356

ページ 1/2

PCSK9 = プロ蛋白転換酵素サブチリシン／ケキシン 9 型

20120138 試験では、evolocumab 及び PCSK9 の濃度を測定しなかった。

表 2.7.2-73　血清中結合型 evolocumab 及び非結合型 PCSK9 の定量のための生物学的分析法及びバリデーション（続き）

分析試験番号	試験方法	バリデートされた分析法（施設）	定量範囲 (ng/mL)	Amgen 社試験番号
血清中 PCSK9				
112777	MET-002510 v2.0 MET-002510 v3.0	適合 (Amgen)	15 – 1200	20080397
113215	ICD 377	適合 ([redacted])	15 – 1200	20080398 20090158 20090159 20101154 20101155 20110121
113215	ICD 377 v1.01	適合 ([redacted])	15 – 1200	20110231 20120136
113215	ICD 377 v1.01 ICD 377 v1.02	適合 ([redacted])	15 – 1200	20120341 20140213
113215	ICD 377 ICD 377 v1.01 ICD 377 v1.02	適合 ([redacted])	15 – 1200	20110109 20110110 20110233 20110271
113215	ICD 377 v1.02	適合 ([redacted])	15 – 1200	20110168 20120133
117094	BAL-II/STP/004/02	適合 ([redacted])	15 – 1200	20120348
117094	BAL-II/STP/004/02 BAL-II/STP/004/03	適合 ([redacted])	15 – 1200	20110114 20110115 20110116 20110117 20120122
117094	BAL-II/STP/004/03	適合 ([redacted])	15 – 1200	20120356

PCSK9 = プロ蛋白転換酵素サブチリシン／ケキシン 9 型

20120138 試験では、evolocumab 及び PCSK9 の濃度は測定しなかった。

補遺 3. 全試験の一覧表

臨床薬理試験の試験デザイン、被験者集団及び薬物動態の結果を表 2.7.2-74 に示す。

薬物動態及び薬力学のデータを裏付けるその他の臨床試験の試験デザイン及び主要な結果は、試験別に表 2.7.2-75（生物薬剤学試験）及び表 2.7.2-76（安全性及び有効性の試験）に示す。

海外の製造販売承認申請に含まれる全臨床試験の組織図を図 2.7.2-58 に、国内の製造販売承認申請に含まれる全臨床試験の組織図を図 2.7.2-59 に示す。5.2 項にこれらの臨床試験それぞれのデザイン及び報告書情報を示す。

表 2.7.2-74　臨床薬理試験の結果の要約

試験番号	試験デザイン	組入れ（投与）被験者数 男性／女性 年齢：平均（SD）歳	薬物動態パラメータ　平均（SD） Evolocumab 投与群	AUC (μg*day/mL)	C_{max} (μg/mL)	T_{max}[a] (day)	$t_{1/2}$ (day)	CL/F (mL/day)
健康被験者における薬物動態及び初期忍容性試験								
20080397	第 I 相、二重盲検、無作為化、プラセボ対照（用量漸増単回投与）	56 例（EvoMab 42 例／pbo 14 例） 男性 41 例／女性 1 例 31.2（7.8）歳	単回投与 SC（各 6 例） （AUC_{0-t}）					
			7 mg	-	-	-	-	-
			21 mg	0.771 (1.06)	0.526 (0.590)	2.0 (1.0-3.0)	-	-
			70 mg	48.1 (29.9)	7.19 (3.54)	4.0 (3.0-5.0)	-	2420 (3100)
			210 mg	343 (94.1)	24.7 (4.27)	5.5 (4.0-10)	-	636 (165)
			420 mg	842 (333)	46.0 (17.2)	7.0 (4.0-7.0)	-	581 (300)
			単回投与 IV（各 6 例）					
			21 mg	10.7 (3.28)	6.11 (0.864)	-	-	-
			420 mg	1550 (348)	139 (16.0)	-	-	-
20110121	第 I 相、二重盲検、無作為化、プラセボ対照（用量漸増単回投与）	日本人 24 例（EvoMab 18 例／pbo 6 例） 白人 8 例（EvoMab 6 例／pbo 2 例） 男性 28 例／女性 4 例 日本人：36.0（13.3）歳 白人：33.3（10.8）歳	単回投与 SC（各 6 例） （AUC_{last}）					
			70 mg（日本人）	76.3 (58.0)	9.53 (6.37)	3.0 (2-4)	-	-
			210 mg（日本人）	501 (218)	31.9 (11.1)	6.5 (4-9)	-	-
			210 mg（白人）	504 (139)	33.0 (7.06)	6.0 (3-7)	-	-
			420 mg（日本人）	1970 (749)	104 (31.4)	6.5 (3-10)	-	-

脚注は表の最後に示す

表 2.7.2-74　臨床薬理試験の結果の要約（続き）

試験番号	試験デザイン	組入れ（投与）被験者数 男性／女性 年齢：平均（SD）歳	薬物動態パラメータ　平均（SD）					
			Evolocumab 投与群	AUC (μg*day/mL)	C_{max} (μg/mL)	T_{max}[a] (day)	$t_{1/2}$ (day)	CL/F (mL/day)
健康被験者における薬物動態及び初期忍容性試験（続き）								
20120136	第 I 相、非盲検、クロスオーバー （個体内変動）	20 例（EvoMab 20 例） 男性 13 例／女性 7 例 33.2（5.5）歳	140 mg SC	(AUC_{last})				
			投与期 1 (n = 20)	96.5 (78.7)	13.0 (10.4)	4.0 (2.0-5.0)	-	-
			投与期 2 (n = 18)	97.7 (58.5)	11.7 (5.9)	4.0 (1.0-5.0)	-	-
20110234	第 0 相、無作為化、非盲検、クロスオーバー （様々な注入速度におけるプラセボ SC 投与における忍容性試験）	48 例（pbo 48 例） 男性 28 例／女性 20 例 38.4（11.6）歳	（該当なし－プラセボ試験）					
20120101	第 0 相、無作為化、非盲検、クロスオーバー （異なる粘性のプラセボ急速 SC 投与における忍容性試験）	36 例（pbo 36 例） 男性 14 例／女性 22 例 28.8（9.6）歳	（該当なし－プラセボ試験）					
20120135	第 0 相、非盲検、単群 （プラセボ緩衝液を用いた AMD の薬物送達性試験）	100 例（pbo 100 例） 男性 54 例／女性 46 例 34.6（11.0）歳	（該当なし－プラセボ試験）					

脚注は表の最後に示す

表 2.7.2-74　臨床薬理試験の結果の要約（続き）

試験番号	試験デザイン	組入れ（投与）被験者数 男性／女性 年齢：平均（SD）歳	薬物動態パラメータ　平均（SD）					
			Evolocumab 投与群	AUC (μg*day/mL)	C_{max} (μg/mL)	T_{max}[a] (day)	$t_{1/2}$ (day)	CL/F (mL/day)
患者[b]における薬物動態及び初期忍容性試験								
20080398	第 I 相、二重盲検、無作為化、プラセボ対照 （用量漸増反復投与）	60 例（EvoMab 43 例／pbo 14 例） 男性 31 例／女性 26 例 EvoMab：57.0（8.8）歳 Pbo：56.5（7.3）歳	+スタチン（中用量）： 14 mg SC QW （6 例）	（AUC_{last}） -	-	-	-	-
			35 mg SC QW （6 例）	-	-	-	-	-
			140 mg SC Q2W （6 例）	226 (249)	20.3 (13.2)	24 (17)	-	-
			280 mg SC Q2W （6 例）	1200 (634)	62.8 (22.7)	31 (7.0)	-	-
			420 mg SC Q4W （6 例）	903 (280)	63.6 (11.2)	21 (15)	-	-
			+スタチン（高用量）： 140 mg SC Q2W （9 例）	181 (157)	16.3 (10.8)	16 (16)	-	-
			HeFH： 140 mg SC Q2W （4 例）	165 (69.1)	14.7 (2.88)	27 (16)	-	-

脚注は表の最後に示す

表 2.7.2-74　臨床薬理試験の結果の要約（続き）

試験番号	試験デザイン	組入れ（投与）被験者数 男性／女性 年齢：平均（SD）歳	薬物動態パラメータ　平均（SD） Evolocumab 投与群	AUC (μg*day/mL)	C_{max} (μg/mL)	T_{max}[a] (day)	$t_{1/2}$ (day)	CL/F (mL/day)
内因性要因による薬物動態								
20120341	第 I 相、非盲検 （肝機能障害）	EvoMab 24 例 男性 20 例／女性 4 例 48.7（5.0）歳	140 mg SC （単回投与） （各 8 例）	(AUC_{last})				
			軽度肝機能障害	81.5 (62.3)	10.6 (6.48)	5.0 (1.0-5.0)	-	-
			中等度肝機能障害	59.1 (32.5)	7.72 (2.80)	4.5 (3.0-10)	-	-
			健康	116 (71.3)	12.5 (6.34)	5.0 (3.0-7.0)	-	-
20140213	第 I 相、非盲検 （腎機能障害）	EvoMab 18 例 男性 11 例／女性 7 例 57.2（9.6）歳	140 mg SC （単回投与） （各 6 例）	(AUC_{last})				
			重度腎機能障害	141 (109)	15.1 (8.86)	4.0 (3.0-7.0)	-	-
			ESRD	102 (80.1)	11.7 (7.20)	4.9 (3.0-5.0)	-	-
			腎機能正常	185 (92.5)	21.3 (9.00)	3.1 (3.0-7.0)	-	-

[a] T_{max} は、中央値（範囲）を示す

[b] “患者”とは、PHMD の被験者、又は HoFH の被験者である

AUC = 血清中濃度-時間曲線下面積、AUC_{0-t} =投与後 0 時間から投与後 t 時間までの血清中濃度-時間曲線下面積、AUC_{last} = 投与後 0 時間から定量可能な最終時点までの血清中濃度-時間曲線下面積、CL/F = 見かけのクリアランス推定平均値、C_{max} =最高血中濃度、ESRD = 末期腎不全、EvoMab = evolocumab（AMG145）、HeFH = 家族性高コレステロール血症ヘテロ接合体、IV = 静脈内投与、pbo = プラセボ、Q2W = 2 週に 1 回、Q4W = 4 週に 1 回、QW = 週に 1 回、 SC = 皮下、SD = 標準偏差、 SoC = 標準療法、$t_{1/2}$ = 半減期、 T_{max} = 最高血中濃度到達時間

出典：20080397 試験の表 8-1、20080397 試験の表 14-2.1、20080397 試験の表 10-5、20080397 試験の表 14-2.1 、20110121 試験の表 8-2、20110121 試験の表 10-3、20110136 試験の表 14-2.1、 20110136 試験の表 11-1、20110234 試験の表 14-2.1、20120101 試験の表 11-2.1、20120135 試験の表 14-2.1 、20080398 試験の表 8-1、20080398 試験の表 10-1、20120341 試験の表 8-1、20140213 試験の表 11-1、20140213 試験の表 14-2.1、20120341 試験の表 11-1

表 2.7.2-75　evolocumab の生物薬剤学試験から得られた臨床薬理に関する主な結果

試験番号	試験デザイン； 目的	被験機器、用法･用量 及び投与経路	主な組入れ基準	無作為割り付けされた被験者（曝露した被験者）	主な臨床薬理の結果
20110168	AMD 及びプレフィルド AI/pen の PK 同等性を示すための第 I 相、無作為化、非盲検、単回投与試験	AMD 1 本又は AI/pen 3 本を用いた evolocumab 420 mg SC 単回投与	LDL-C が 70 mg/dL 以上 190 mg/dL 以下の健康被験者 年齢：18～55 歳	計 289 例 （AI/pen 145 例、AMD 144 例）	AMD と AI/pen 3 本投与は薬物動態学的に同等であった。 AI/pen 3 本投与に対する AMD 1 本投与の LS 平均比（90% CI）は以下のとおりであった： ・ C_{max}：1.10（1.03～1.18） ・ AUC_{last}：1.06（0.97～1.14） ・ UC LDL-C AUEC：1.00（0.96～1.04）
20120133	PFS 及び AI/pen の PK 同等性を示すための第 I 相、無作為化、非盲検、クロスオーバー試験	PFS 1 本及び AI/pen 1 本を用いた evolocumab 140 mg SC 投与	LDL-C が 70 mg/dL 以上 190 mg/dL 以下の健康被験者 年齢：18～55 歳	計 96 例 （AI/pen:PFS 48 例、PFS:AI/pen 48 例）	PFS と AI/pen は薬物動態学的に同等であった。 AI/pen 1 本投与に対する PFS 1 本投与の LS 平均比（90% CI）は以下のとおりであった： ・ C_{max}：1.02（0.98～1.07） ・ AUC_{last}：1.01（0.95～1.08） ・ UC LDL-C AUEC：1.00（0.97～1.03）

AI/pen = ペン型プレフィルドオートインジェクター；AMD = パーソナルインジェクター；AUC_{last} = 投与後 0 時間から定量可能な最終時点までの血清中濃度-時間曲線下面積；AUEC = ベースラインから Day 85（20110168 試験）又は Day 56（20120133 試験）までの効果曲線下面積；CI = 信頼区間；C_{max} = 最高血中濃度；LDL-C = 低比重リポ蛋白コレステロール；LS = 最小二乗；PFS = プレフィルドシリンジ；PK = 薬物動態；SC = 皮下；UC = 超遠心法

出典：20110168 試験の Table 14-2.1、20110168 試験の Table 14-9.1.1、20110168 試験の Table 14-11.9、20120133 試験の Table 14-2.1、20120133 試験の Table 14-9.4.1、20120133 試験の Table 14-11.1

表 2.7.2-76　evolocumab の安全性及び有効性試験から得られた臨床薬理に関する主要な結果

試験番号	試験デザイン； 目的	被験機器、用法･用量 及び投与経路	主な組入れ基準	無作為割り付けされた 被験者 （曝露した被験者）	主な臨床薬理の結果
PHMD の第 II 相試験					
20110231	心血管系リスクの高い日本人高コレステロール血症被験者を対象に安定した用量のスタチン併用下での EvoMab の忍容性及び LDL-C に対する有効性を評価する二重盲検、無作為化、プラセボ対照、多施設共同試験	12 週間： EvoMab SC Q2W （70、140 mg） EvoMab SC Q4W （280、420 mg） プラセボ SC Q2W プラセボ SC Q4W	心血管系リスクの高い日本人被験者； 安定した用量のスタチン； 空腹時 LDL - C 115 mg/dL 以上； 空腹時トリグリセリド 400 mg/dL 以下 年齢：20～80 歳	計 310 例 （EvoMab Q2W 101 例、 EvoMab Q4W 104 例、 プラセボ Q2W 52 例、 プラセボ Q4W 50 例）	・ EvoMab の曝露量は用量とともに増加し、140 mg 以上の SC 投与でほぼ線形性を示した。 ・ PCSK9 濃度は低下し、投与間隔の間にベースライン値への戻ることはなかった。 ・ 140 mg Q2W 及び 420 mg Q4W では、PCSK9 及び LDL-C 濃度の時間平均の低下が同様であり、平均 LDL-C の低下が最大であることが示された。

脚注は表の最後に示す

表 2.7.2-76　evolocumab の安全性及び有効性試験から得られた臨床薬理に関する主要な結果（続き）

試験番号	試験デザイン； 目的	被験機器、用法・用量及び 投与経路	主な組入れ基準	無作為割り付けされた 被験者 （曝露した被験者）	主な臨床薬理の結果
PHMD の第 II 相試験（続き）					
20101154	高コレステロール血症リスクの低い被験者を対象に単独療法として 2 週に 1 回（Q2W）又は 4 週に 1 回（Q4W）で 12 週間 SC 投与したときの EvoMab の有効性、安全性、忍容性及び PK を評価する第 II 相、無作為化、プラセボ及びエゼチミブ対照、用量設定試験	12 週間： EvoMab SC Q2W （70、105、140 mg） EvoMab SC Q4W （280、350、420 mg） プラセボ SC Q2W； プラセボ SC Q4W；又は エゼチミブ 10 mg PO QD	空腹時 LDL-C が 100 mg/dL 以上 190 mg/dL 未満かつ、空腹時トリグリセリドが 400 mg/dL 以下、10-year Framingham Risk Score が 10%以下の男女 年齢：18～75 歳	計 406 例 （EvoMab Q2W 全体 136 例、 EvoMab Q4W 全体 135 例、 プラセボ全体 90 例 エゼチミブ 45 例）	・ PK は 140 mg 以上でほぼ線形性を示した。 ・ EvoMab の血清中濃度は定常状態に達した。 ・ t_{max} は SC 投与後約 1 週間であった。 ・ PK サブスタディでは、Q2W で投与したところ、Q4W 投与と比較して PCSK9 の最大低下が小さいだけでなく、投与間隔の最後にベースライン値に向けての上昇も小さかった。 ・ PK サブスタディの結果から、Q2W 投与及び Q4W 投与いずれでも算出 LDL-C の AUEC 平均値に用量依存的な増加が認められた。 ・ 140 mg SC Q2W 及び 420 mg SC Q4W では、LDL-C 低下は同程度かつ最も大きかった。

脚注は表の最後に示す

表 2.7.2-76　evolocumab の安全性及び有効性試験から得られた臨床薬理に関する主要な結果（続き）

試験番号	試験デザイン； 目的	被験機器、用法･用量 及び投与経路	主な組入れ基準	無作為割り付けされた 被験者 （曝露した被験者）	主な臨床薬理の結果
PHMD の第 II 相試験（続き）					
20101155	高コレステロール血症被験者を対象にスタチン併用下で Q2W 又は Q4W で 12 週間 SC 投与したときの EvoMab の安全性、忍容性及び有効性を評価する第 II 相、二重盲検、無作為化、プラセボ対照、用量設定試験	12 週間： EvoMab SC Q2W （70、105、140 mg） EvoMab SC Q4W （280、350、420 mg） プラセボ SC Q2W プラセボ SC Q4W	スクリーニング時の空腹時 LDL-C が 85 mg/dL（2.2 mmol/L）以上、LDL-C スクリーニング前の 4 週間以上にわたってエゼチミブ併用下又は非併用下で安定した用量でスタチン投与を受け、用量漸増が不要であった男女 年齢：18～80 歳	計 629 例 （EvoMab Q2W 全体 236 例、 EvoMab Q4W 全体 238 例、 プラセボ全体 155 例）	・ 曝露量は用量とともに増加し、140 mg 以上の SC 投与でほぼ線形性を示した。 ・ PCSK9 変化の時間推移は LDL-C の時間推移と一致した。 ・ 推定 LDL-C 平均値のベースラインから 8～12 週までの低下率は、140 mg SC Q2W 投与及び 420 mg SC Q4W 投与でそれぞれ-73.5%及び-62.5%であった。

脚注は表の最後に示す

表 2.7.2-76　evolocumab の安全性及び有効性試験から得られた臨床薬理に関する主要な結果（続き）

試験番号	試験デザイン； 目的	被験機器、用法・用量 及び投与経路	主な組入れ基準	無作為割り付けされた 被験者 （曝露した被験者）	主な臨床薬理の結果
PHMD の第 II 相試験（続き）					
20090158	家族性高コレステロール血症ヘテロ接合体（HeFH）被験者を対象に EvoMab を 12 週間 SC 投与したときの安全性及び有効性を LDL-C のベースラインからの変化率に基づきプラセボとの比較により評価するようデザインされた第 II 相、二重盲検、無作為化、プラセボ対照試験	12 週間： EvoMab SC Q4W （350、420 mg） プラセボ SC Q4W	Simon Broome 診断基準による HeFH； 空腹時 LDL-C 100 mg/dL 以上；空腹時トリグリセリド 400 mg/dL 以下 年齢：18～75 歳	計 167 例 （EvoMab Q4W 111 例、 プラセボ 56 例）	・ PK サブスタディにおいて 350 mg 又は 420 mg SC Q4W で EvoMab の投与を受けた HeFH 被験者では、用量に依存した EvoMab 曝露量及び PCSK9 と LDL-C の低下作用は頑健であることが示された。 ・ EvoMab を投与した結果、いずれの投与群でも、ほぼ完全な抑制に至るまで PCSK9 の平均値が低下し、ベースライン未満の PCSK9 抑制が投与 12 週時点まで維持された。 ・ PK サブスタディにおけるベースラインからの算出 LDL-C の平均値の低下は、350 mg SC Q4W 投与及び 420 mg SC Q4W 投与でそれぞれ 60%及び 79%であった。

脚注は表の最後に示す

表 2.7.2-76　evolocumab の安全性及び有効性試験から得られた臨床薬理に関する主要な結果（続き）

試験番号	試験デザイン； 目的	被験機器、用法･用量 及び投与経路	主な組入れ基準	無作為割り付けされた 被験者 （曝露した被験者）	主な臨床薬理の結果
PHMD の第 II 相試験（続き）					
20090159	スタチンの有効用量を忍容できない高コレステロール血症被験者を対象に EvoMab を 12 週間 SC 投与したときの有効性、安全性及び忍容性をエゼチミブとの比較により評価する第 II 相、無作為化試験	12 週間： EvoMab SC Q4W (280、350、 420 mg) EvoMab SC Q4W 420 mg + エゼチミブ 10 mg PO QD プラセボ SC Q4W +エゼチミブ 10 mg PO QD	治療目標に達していない；スタチンなし又は低用量スタチン；スタチン忍容性不良歴 年齢：18～75 歳	計 157 例 （EvoMab Q4W 95 例、EvoMab + エゼチミブ 30 例、 エゼチミブ 32 例）	・ 280 mg、350 mg 及び 420 mg の用量範囲で、EvoMab の PK に線形増加が認められた。 ・ C_{max} は EvoMab 投与の約 1 週間後であった。 ・ EvoMab の投与により、すべての投与群で、ほぼ完全な抑制に至るまで PCSK9 の平均値が低下した。 ・ 投与 8～12 週時点の算出 LDL-C の平均値の低下は用量依存的であった。
20110110	EvoMab 長期投与の安全性及び有効性を評価する多施設共同、比較対照、非盲検継続試験（中間解析）	Year 1： EvoMab 420 mg SC Q4W + 標準療法（SoC） SoC 単独 Year 2～5： EvoMab 420 mg SC Q4W + SoC	要件を満たす親試験（20090158 試験、20090159 試験、20101154 試験、20101155 試験又は 20110231 試験）を完了した被験者	計 1324 例 （EvoMab + SoC 882 例、SoC 単独 442 例）	・ EvoMab Q4W 投与における血清中非結合型 EvoMab C_{min} の平均値及び非結合型 PCSK9 トラフ濃度は、52 週間にわたって安定していた。

脚注は表の最後に示す

表 2.7.2-76　evolocumab の安全性及び有効性試験から得られた臨床薬理に関する主要な結果（続き）

試験番号	試験デザイン； 目的	被験機器、用法･用量 及び投与経路	主な組入れ基準	無作為割り付けされた 被験者 （曝露した被験者）	主な臨床薬理の結果
PHMD の第 III 相試験					
20120122	心血管系リスクが高い高脂血症又は混合型脂質異常症の日本人被験者を対象に、スタチン療法と併用したときの EvoMab の安全性、忍容性及び LDL-C に対する有効性を評価する二重盲検、無作為化、プラセボ対照、多施設共同試験	12 週間（スタチン併用）： EvoMab 140 mg SC Q2W EvoMab 420 mg SC Q4W プラセボ SC Q2W プラセボ SC Q4W	空腹時 LDL-C 100 mg/dL 以上； 空腹時トリグリセリド 400 mg/dL 以下； 心血管系リスクが高い 年齢：20～85 歳	計 404 例 （EvoMab Q2W 101 例、 EvoMab Q4W 101 例、 プラセボ Q2W 101 例、 プラセボ Q4W 101 例）	・ 血清中非結合型 EvoMab 濃度は Q4W 投与がより高く、蓄積は Q2W 投与がより大きかった。 ・ EvoMab 投与により、プラセボと比較して、血清中非結合型 PCSK9 濃度が著しく低下し、濃度は適切な目標範囲と一致した。
20110114	10-year Framingham Risk Score10%以下の PHMD 被験者を対象に EvoMab 単独療法として Q2W 又は Q4W で 12 週間 SC 投与したときの有効性、安全性、忍容性及び PK を評価する第 III 相、二重盲検、無作為化、ダブルダミー、プラセボ及びエゼチミブ対照、並行群間試験	12 週間： EvoMab 140 mg SC Q2W （+プラセボ PO QD） EvoMab 420 mg SC Q4W （+プラセボ PO QD） プラセボ SC Q2W （+プラセボ PO QD） プラセボ SC Q4W （+プラセボ PO QD） エゼチミブ 10 mg PO QD （+ プラセボ SC Q2W） エゼチミブ 10 mg PO QD （+ プラセボ SC Q4W）	空腹時 LDL-C 100 mg/dL 以上かつ 190 mg/dL 未満； 空腹時トリグリセリド 400 mg/dL 以下； 10-year Framingham Risk Score10%以下 年齢：18～80 歳	計 614 例 （EvoMab Q2W 153 例、 EvoMab Q4W 153 例、 プラセボ Q2W 76 例、 プラセボ Q4W 78 例、 エゼチミブ［Q2W］ 77 例、 エゼチミブ［Q4W］ 77 例）	・ 血清中非結合型 EvoMab 濃度は Q4W 投与がより高く、蓄積は Q2W 投与がより大きかった。 ・ EvoMab 投与により、プラセボ及びエゼチミブと比較して、血清中非結合型 PCSK9 濃度が著しく低下し、濃度は適切な目標範囲と一致した。

脚注は表の最後に示す

表 2.7.2-76　evolocumab の安全性及び有効性試験から得られた臨床薬理に関する主要な結果（続き）

試験番号	試験デザイン； 目的	被験機器、用法･用量 及び投与経路	主な組入れ基準	無作為割り付けされた 被験者 （曝露した被験者）	主な臨床薬理の結果
PHMD の第 III 相試験（続き）					
20110115	PHMD 被験者を対象にスタチン療法との併用下の EvoMab の安全性、忍容性及び LDL-C に対する有効性を評価する二重盲検、無作為化、プラセボ及びエゼチミブ対照、多施設共同試験	12 週間（スタチン併用[a]）： EvoMab 140 mg SC Q2W （+プラセボ PO QD） EvoMab 420 mg SC Q4W （+プラセボ PO QD） プラセボ SC Q2W （+プラセボ PO QD） プラセボ SC Q4W （+プラセボ PO QD） エゼチミブ 10 mg PO QD （+ プラセボ SC Q2W） エゼチミブ 10 mg PO QD （+ プラセボ SC Q4W）	空腹時 LDL-C； 高用量スタチン療法を受けている場合 80 mg/dL 以上、非高用量スタチン療法を受けている場 100 mg/dL 以上、スタチンを投与していない場合 150 mg/dL 以上；空腹時トリグリセリド 400 mg/dL 以下 年齢：18～80 歳	計 1899 例 （EvoMab Q2W 557 例、EvoMab Q4W 562 例、プラセボ Q2W 281 例、プラセボ Q4W 278 例、エゼチミブ［Q2W］112 例、エゼチミブ［Q4W］109 例）	・ 血清中非結合型 EvoMab 濃度は Q4W 投与がより高く、蓄積は Q2W 投与がより大きかった。 ・ EvoMab 投与により、プラセボ及びエゼチミブと比較して、血清中非結合型 PCSK9 濃度が著しく低下し、濃度は適切な目標範囲と一致した。 ・ EvoMab のトラフ濃度は、アトルバスタチン 80 mg と併用したときに 10 mg の併用と比べて約 30%低く、ロスバスタチン 40 mg の併用は、5 mg 併用より低かった。

脚注は表の最後に示す

表 2.7.2-76　evolocumab の安全性及び有効性試験から得られた臨床薬理に関する主要な結果（続き）

試験番号	試験デザイン； 目的	被験機器、用法･用量 及び投与経路	主な組入れ基準	無作為割り付けされた 被験者 （曝露した被験者）	主な臨床薬理の結果
PHMD の第 III 相試験（続き）					
20110116	HMG-CoA 還元酵素阻害薬（スタチン）の有効用量を忍容できない高コレステロール血症被験者を対象に EvoMab の安全性及び有効性をエゼチミブとの比較により評価する二重盲検、無作為化、多施設共同試験	12 週間： EvoMab 140 mg SC Q2W （+プラセボ PO QD） EvoMab 420 mg SC Q4W （+プラセボ PO QD） エゼチミブ 10 mg PO QD （+ プラセボ SC Q2W） エゼチミブ 10 mg PO QD （+ プラセボ SC Q4W）	スタチンの有効用量を忍容できない； 空腹時 LDL-C が、CAD の場合は 100 mg/dL 以上；リスク因子が 2 つ以上の場合は 130 mg/dL 以上、リスク因子が 1 つの場合は 160 mg/dL 以上、リスク因子はない場合は 190 mg/dL 以上； 空腹時トリグリセリド 400 mg/dL 以下； 年齢：18～80 歳	計 307 例 （EvoMab Q2W 103 例、EvoMab Q4W 102 例、エゼチミブ［Q2W］51 例、エゼチミブ［Q4W］51 例）	・ 血清中非結合型 EvoMab 濃度は Q4W 投与がより高く、蓄積は Q2W 投与がより大きかった。 ・ EvoMab 投与により、エゼチミブと比較して、血清中非結合型 PCSK9 濃度が著しく低下し、濃度は適切な目標範囲と一致した。
20110117	HeFH 被験者を対象に EvoMab の安全性、忍容性及び LDL-C に対する有効性を評価する二重盲検、無作為化、プラセボ対照、多施設共同試験	12 週間： EvoMab 140 mg SC Q2W EvoMab 420 mg SC Q4W プラセボ SC Q2W プラセボ SC Q4W	Simon Broome 基準により診断された HeFH； 空腹時 LDL-C 100 mg/dL 以上； 空腹時トリグリセリド 400 mg/dL 以下； 年齢：18～80 歳	計 331 例 （EvoMab Q2W 111 例、EvoMab Q4W 110 例、プラセボ Q2W 55 例、プラセボ Q4W 55 例）	・ 血清中非結合型 EvoMab 濃度は Q4W 投与がより高く、蓄積は Q2W 投与がより大きかった。 ・ EvoMab 投与により、プラセボと比較して、血清中非結合型 PCSK9 濃度が著しく低下し、濃度は適切な目標範囲と一致した。

脚注は表の最後に示す

表 2.7.2-76　evolocumab の安全性及び有効性試験から得られた臨床薬理に関する主要な結果（続き）

試験番号	試験デザイン； 目的	被験機器、用法･用量 及び投与経路	主な組入れ基準	無作為割り付けされた 被験者 （曝露した被験者）	主な臨床薬理の結果
PHMD の第 III 相試験（続き）					
20110109	PHMD 被験者を対象に EvoMab の長期忍容性及び LDL-C に対する持続的有効性を評価する二重盲検、無作為化、プラセボ対照、多施設共同試験	12 週間： EvoMab 420 mg SC Q4W プラセボ SC Q4W	空腹時 LDL-C 75 mg/dL 以上；空腹時トリグリセリド 400 mg/dL 以下 年齢：18～75 歳	計 905 例 （EvoMab Q4W 602 例、プラセボ Q4W 303 例）	・ EvoMab Q4W 投与したときの血清中 EvoMab C_{min} の平均値は、52 週間にわたって安定していた。 ・ EvoMab 群の PCSK9 濃度の平均値は、EvoMab トラフ濃度時点においてベースラインから低下し、52 週間にわたって安定していた。
20120138	EvoMab 長期投与の安全性及び有効性を評価する多施設共同、比較対照、非盲検継続試験（中間解析）	Year 1： EvoMab 140 mg SC Q2W + SoC EvoMab 420 mg SC Q4W + SoC SoC 単独 Year 2～5： EvoMab 420 mg SC Q4W + SoC	要件を満たす親試験（20110109 試験、20110114 試験、20110115 試験、20110116 試験、20110117 試験、20120122 試験、20120348 試験又は 20120356 試験）を完了した被験者	計 645 例[c] （EvoMab + SoC 432 例、SoC 単独 213 例）	・ （本安全性及び有効性試験では、PK 及び PD を評価しなかった）

脚注は表の最後に示す

表 2.7.2-76　evolocumab の安全性及び有効性試験から得られた臨床薬理に関する主要な結果（続き）

試験番号	試験デザイン； 目的	被験機器、用法･用量 及び投与経路	主な組入れ基準	無作為割り付けされた 被験者 （曝露した被験者）	主な臨床薬理の結果
HoFH の第 II/III 相試験					
20110233	HoFH 被験者を対象に EvoMab の安全性、忍容性及び有効性を評価する 2 部形式の第 II/III 相試験：Part A - 非盲検単群、多施設共同パイロット試験；Part B - 二重盲検、無作為化、プラセボ対照、多施設共同試験	12 週間： パート A（非盲検）： EvoMab 420 mg SC Q4W パート B（無作為化）： EvoMab 420 mg SC Q4W プラセボ SC Q4W	HoFH 診断；低脂肪食及び脂質低下療法を受けて 4 週間以上安定している；アフェレーシスを受けていない；空腹時 LDL-C 130 mg/dL 以上；空腹時トリグリセリド 400 mg/dL 以下 年齢：12～65 歳	パート A：8 例 パート B：50 例 （EvoMab 33 例、プラセボ 16 例）	・ 平均血清中非結合型 EvoMab 濃度は約 2 倍の蓄積を示した。 ・ EvoMab の投与により、プラセボと比較して血清中非結合型 PCSK9 濃度が著しく低下し、濃度は適切な目標範囲と一致した。

脚注は表の最後に示す

表 2.7.2-76　evolocumab の安全性及び有効性試験から得られた臨床薬理に関する主要な結果（続き）

試験番号	試験デザイン； 目的	被験機器、用法･用量 及び投与経路	主な組入れ基準	無作為割り付けされた 被験者 （曝露した被験者）	主な臨床薬理の結果
20110271	重症の家族性高コレステロール血症被験者を対象に EvoMab の長期投与の安全性、忍容性及び LDL-C に対する有効性を評価する多施設共同、非盲検試験	最長 5 年間： EvoMab 420 mg SC Q4W（臨床的に適応となる場合は Q2W）	HoFH であり、20110233 試験に参加した（又は 20110233 試験が終了した後に適格となった）；又は HoFH であり、アフェレーシスを受けている；又は重症 HeFH であり、LDL-C が 100 mg/dL 以上（CAD リスクがある）もしくは 130 mg/dL 以上（CAD リスクがない）のいずれか	計 198 例 （EvoMab 198 例）	・ 血清中非結合型 EvoMab 濃度は、投与頻度と一致する蓄積を示した。 ・ アフェレーシスにより、平均血清中非結合型 EvoMab 濃度はおおよそ 20%～30%低下した。 ・ EvoMab の投与により、血清中非結合型 PCSK9 濃度が著しく低下した。

脚注は表の最後に示す

表 2.7.2-76　evolocumab の安全性及び有効性試験から得られた臨床薬理に関する主要な結果（続き）

試験番号	試験デザイン； 目的	被験機器、用法･用量 及び投与経路	主な組入れ基準	無作為割り付けされた 被験者 （曝露した被験者）	主な臨床薬理の結果
20120348	PHMD 被験者を対象とした PFS 又は AI/pen を用いた被験者による自宅での EvoMab 全量投与能力を評価する多施設共同、無作為化試験	6 週間： EvoMab 140 mg SC Q2W（PFS 使用） EvoMab 140 mg SC Q2W（AI/pen 使用）	安定した用量のスタチン；空腹時 LDL-C 85 mg/dL 以上；空腹時トリグリセリド 400 mg/dL 以下 年齢：18～80 歳	計 149 例 （PFS 75 例、AI/pen 74 例）	・ PK 及び PD データから、EvoMab はいずれの方法（PFS 又は AI/pen）を用いても治療効果の点で臨床的に同様であった。
20120356	PHMD 被験者を対象とした 3.5 mL AMD 又は AI/pen を用いた被験者による自宅での EvoMab 全量投与能力を評価する多施設共同、無作為化試験	12 週間： EvoMab 420 mg SC Q4W（AI/pen 使用） EvoMab 420 mg SC Q4W（AMD 使用）	安定した用量のスタチン；空腹時 LDL-C 85 mg/dL 以上；空腹時トリグリセリド 400 mg/dL 以下 年齢：18～80 歳	計 164 例 （AI/pen 82 例、AMD 82 例）	・ PK 及び PD データから、EvoMab はいずれの方法（AI/pen 又は AMD）を用いても治療効果の点で臨床的に同様であることが示された。

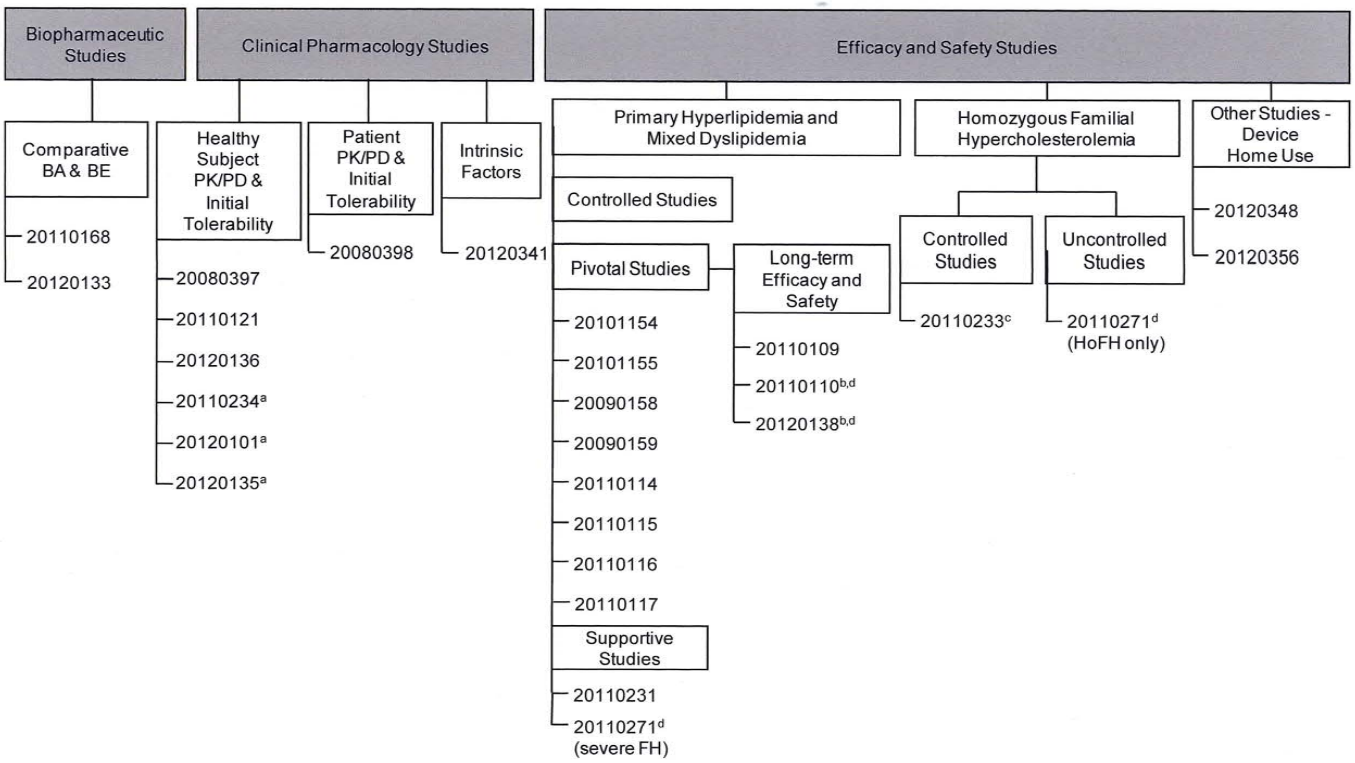
AI/pen = ペン型プレフィルドオートインジェクター；AMD = パーソナルインジェクター；AUEC = 効果曲線下面積；CAD = 冠動脈疾患；C_{min} = 最低血中濃度；EvoMab = evolocumab（AMG 145）；HeFH = 家族性高コレステロール血症ヘテロ接合体；HoFH =家族性高コレステロール血症ホモ接合体 ；LDL-C = 低比重リポ蛋白コレステロール；PCSK9 = プロ蛋白転換酵素サブチリシン／ケキシン 9 型；PD = 薬力学；PFS = プレフィルドシリンジ；PK = 薬物動態；PO = 経口投与；Q2W = 2 週に 1 回；Q4W = 4 週に 1 回；SC = 皮下；SoC = 標準療法

[a] アトルバスタチン 10 mg 又は 80 mg 1 日 1 回、ロスバスタチン 5 mg 又は 40 mg 1 日 1 回又はシンバスタチン 40 mg

[b] アトルバスタチンコホートのみ

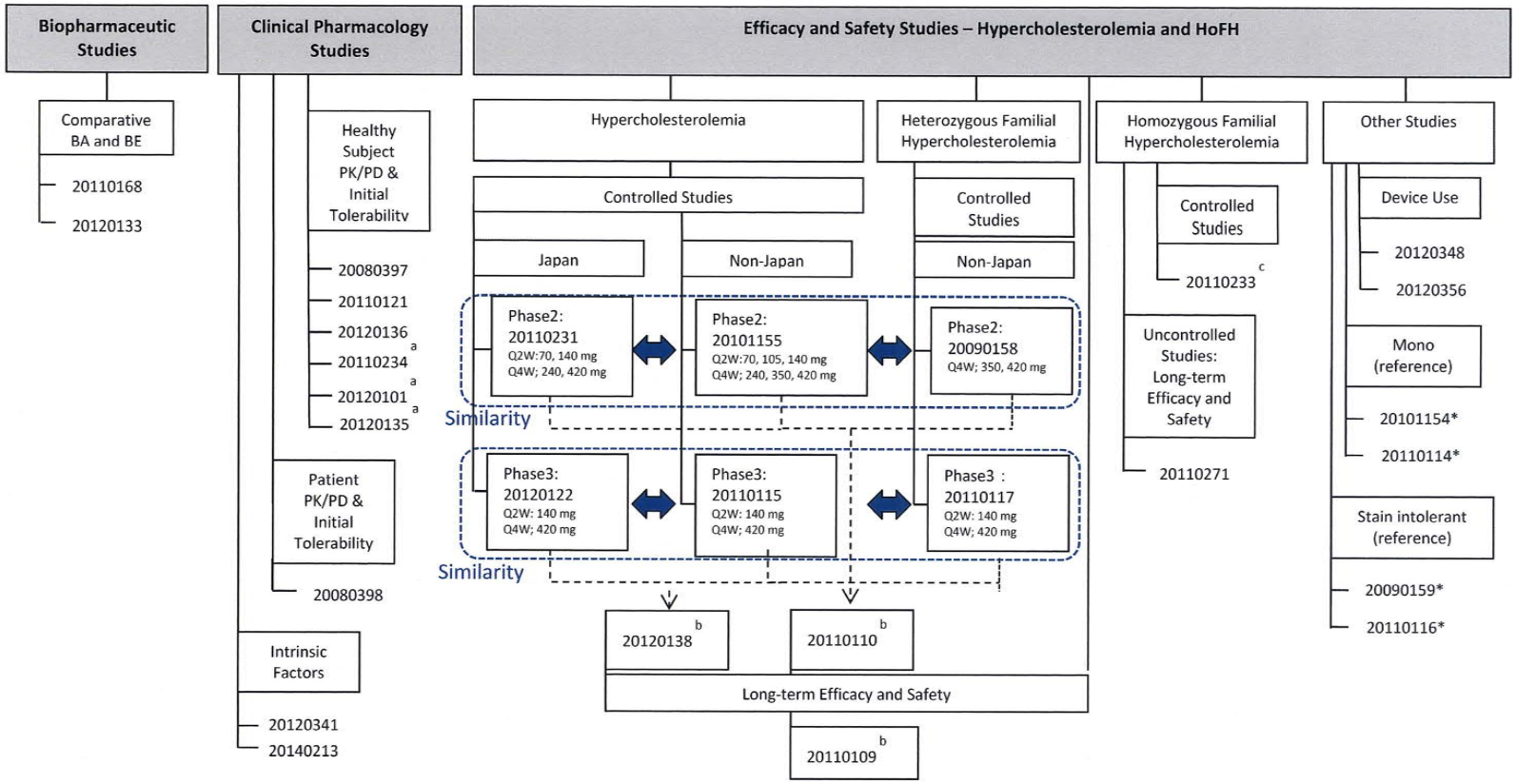
[c] 20120138 試験において無作為に割り付けられた患者 2171 例のうち、645 例がデータカットオフ日（[redacted]年[redacted]月[redacted]日）時点で少なくとも 12 週間の評価を完了していた。

出典：20101154 試験の要約；20101155 試験の要約；20090158 試験の要約；20090159 試験の要約；20110231 試験の要約；20110114 試験の要約；20110115 試験の要約；20110116 試験の要約；20110117 試験の要約；20110109 試験の要約；20110110 試験の要約；20120138 試験の要約；20110233 試験の要約；20110271 試験の要約；20120348 試験の要約；20120356 試験の要約



BA = bioanalytical; BE = bioequivalence; FH = familial hypercholesterolemia; HoFH = homozygous familial hypercholesterolemia;
PK/PD = pharmacokinetics/pharmacodynamics; SC = subcutaneous.
[a] Placebo-only, phase 0 studies in healthy subjects to assess tolerability of SC administration of formulations of various viscosities and tolerability of various SC infusion rates.
[b] Year 1 of the study is controlled. Remainder of the study is open-label.
[c] Two part study: part A is a phase 2, open-label, pilot study, and part B is a phase 3, double-blind, placebo-controlled study.
[d] Interim data for this study are included in the submission. Study 20110271 enrolled subjects with homozygous familial hypercholesterolemia and severe familial hypercholesterolemia. Subsets of this study support each indication.

図 2.7.2-58　海外申請のための PHMD の適応症及び HoFH の適応症に対する evolocumab の製造販売承認を裏付ける臨床試験



BA =生物学的利用能; BE =生物学的同等性; HeFH = 家族性高コレステロール血症ヘテロ接合体; HoFH = 家族性高コレステロール血症ホモ接合体; NDA = 新医薬品製造販売承認申請; PK/PD = 薬物動態/薬力学 Q2W = 2 週に 1 回; Q4W = 4 週に 1 回 .

[a] プラセボのみで健康被験者を対象に行った第 0 相試験であり、各種の粘性を持った成分の皮下注射での忍容性と各種の注射速度に対する忍容性を評価した。

[b] Year 1 は比較対照試験であり、その後は非盲検試験である。これらの試験の中間データは申請に含めた。[c] Part A は非盲検 Part B は比較対照試験

＊ これらの 4 つの試験は安全性の評価においては、評価資料として取り扱った。

図 2.7.2-59　国内承認申請のための HC（HoFH 含む）及び HoFH の適応症に対する evolocumab の製造販売承認を裏付ける臨床試験

補遺 4. 第Ⅱ相長期継続試験（20110110 試験）の日本人被験者における evolocumab 薬物動態及び薬力学

1. SYNOPSIS

Among Japanese subjects who rolled over from Study 20110231 into the open-label extension Study 20110110 and received evolocumab 420 mg subcutaneous (SC) every 4 weeks (QM; once monthly), mean (SD) serum unbound evolocumab trough (C_{min}) concentrations at weeks 12 through 64 were stable and ranged from 14.9 (11.9) to 21.5 (18.1) μg/mL.

Serum unbound proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) concentrations in Japanese subjects prior to dosing on Day 1 were comparable between the evolocumab plus SoC and SoC alone treatment groups, with mean (SD) concentrations of 366 (134) and 381 (151) ng/mL, respectively. Following treatment with evolocumab, mean serum unbound PCSK9 levels in Japanese subjects decreased relative to Day 1 predose, and were stable throughout the study, ranging from 174 (99.2) to 205 (125) ng/mL between weeks 4 and 64. Mean unbound PCSK9 levels for the SoC alone group were stable and ranged from 354 (156) to 481 (175) ng/mL between weeks 4 and 52. Upon switching to open label evolocumab on week 52, the mean unbound PCSK9 concentration value in the SoC alone group on week 64 was 219 (174) ng/mL, comparable to the levels observed in the evolocumab plus SoC group.

2. LIST OF ABBREVIATIONS AND DEFINITIONS OF TERMS

Symbol	Definition
C_{min}	minimum observed drug concentration during a dosing interval
CV%	coefficient of variation
LLOQ	lower limit of quantification
PCSK9	protein convertase subtilisin/kexin type 9
PK	pharmacokinetic(s)
PKS	Pharsight Knowledgebase Server
QM	every 4 weeks (once monthly)
SC	Subcutaneous
SD	standard deviation
SoC	standard of care

3. INVESTIGATIONAL PLAN

3.1 Efficacy and Safety Assessments

3.1.1 Pharmacokinetic Sample Assessments

For all subjects in Study 20110110, serum samples for determination of unbound evolocumab and unbound PCSK9 concentrations were obtained as shown in the Schedule of Assessments in the protocol. Method details and assay performance are reported in Section 16.1.13.2 of Study 20110110.

3.1.2 Other Analyses

3.1.2.1 Pharmacokinetic Analyses

Pharmacokinetic (PK) data analyses were performed by Amgen Inc., Thousand Oaks, CA. All data for PK analyses were extracted from a secure folder and were mapped into the [redacted] ([redacted]) system version [redacted] ([redacted], [redacted], [redacted], USA).
Actual doses administered and nominal sampling times were used for presenting data in graphs and tables. Unbound evolocumab serum concentrations below the lower limit of quantification (LLOQ, 0.800 μg/mL) and unbound PCSK9 serum concentrations below the LLOQ (15.0 ng/mL) were set to zero before data analysis. Descriptive statistics are presented to 3 significant figures, except for coefficient of variation (CV%), which is reported to 1 decimal place.
For all analyses, the concentration data in the source datasets were reported in ng/mL; however, since these values are large, evolocumab results are presented in μg/mL to improve the clarity of the data presented. Mean graphs were prepared using [redacted] ([redacted], [redacted] USA). Mean (+SD) concentration-time profiles were summarized by analyte and treatment and plotted by time (week) for the PK assessments.
Electronic records and data are stored at Amgen Inc., Thousand Oaks, California. All hard copies and supporting documentation are archived at Amgen Inc., Thousand Oaks, California, USA.

4. OTHER EVALUATIONS

4.1 Pharmacokinetics

4.1.1 Study Conduct Affecting Pharmacokinetics

The PK analysis set comprised a total of 2672 evolocumab and PCSK9 samples from 219 Japanese subjects. Of these, there were 179 individual concentration values excluded from the serum concentration-time summary statistics due to sample collection deviations (actual time deviated more than 15% from the nominal time or predose samples were collected post dose administration), dose deviations, missed doses prior to PK sample collection, or unscheduled sample collections.

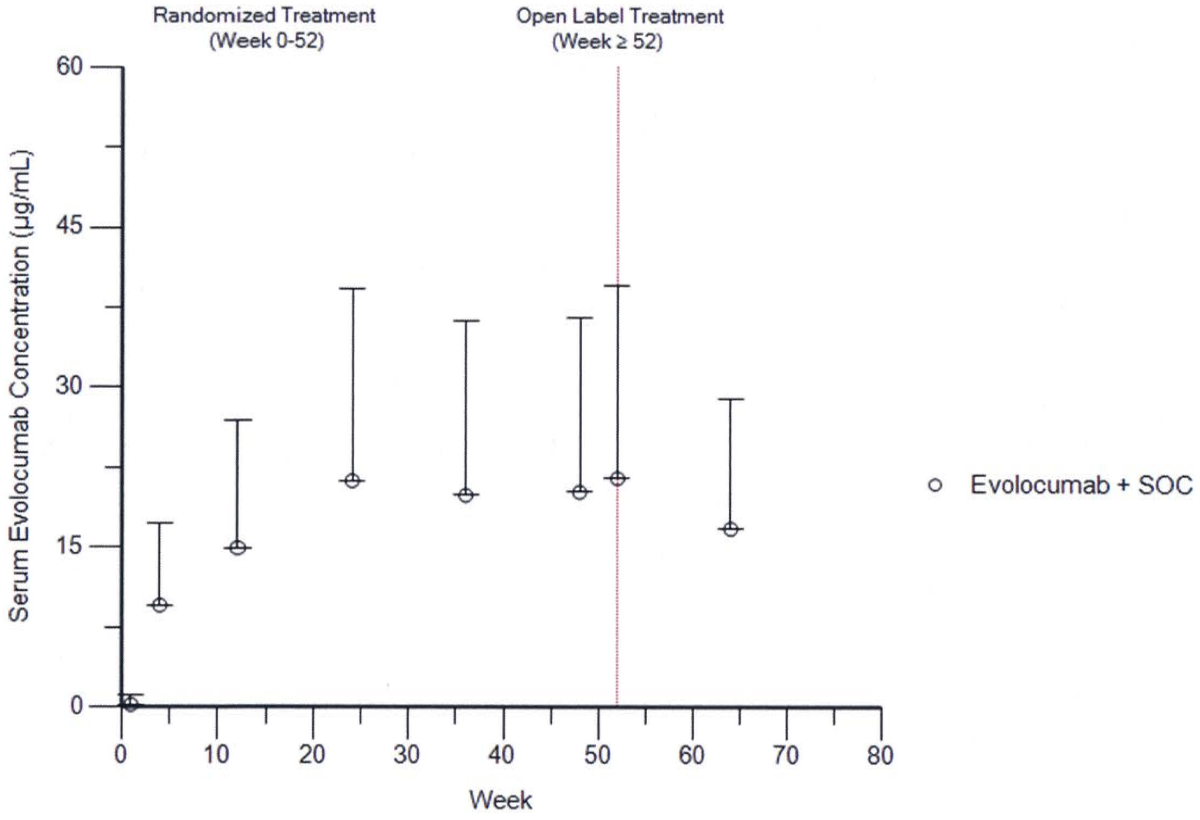
4.1.2 Pharmacokinetics Results of Evolocumab

Mean (+SD) unbound evolocumab and unbound PCSK9 serum concentration-time profiles in Japanese subjects by treatment after SC administration are presented in Appendix Figure 4 1 and Appendix Figure 4 2, respectively. Day 1 samples were plotted as week 1 for clarity. Descriptive statistics of serum unbound evolocumab and unbound PCSK9 concentration-time data in Japanese subjects by treatment are presented in Appendix Table 4 1 and Appendix Table 4 2, respectively.

During the first year (52 weeks) of the study, PK samples were collected prior to dosing on Day 1, week 4, week 12, week 24, week 36, week 48, and week 52. After the first year (all investigational product period), PK samples were collected every 12 weeks, and results in Japanese subjects were available for week 64 at the time of this report. PK results included both unbound evolocumab concentrations and unbound PCSK9 levels for all time points in evolocumab-treated subjects; for the SoC alone group, PK results included Day 1 unbound evolocumab concentrations and unbound PCSK9 levels for all time points.

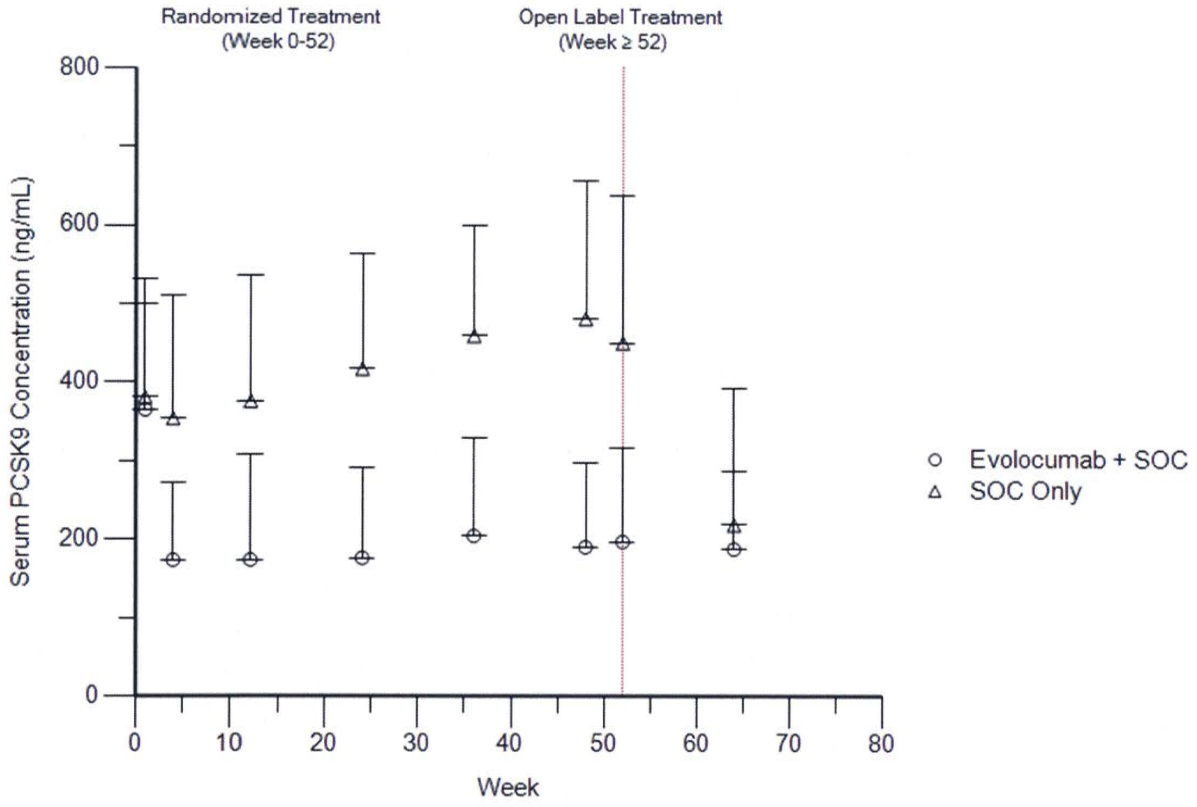
Following evolocumab 420 mg SC QM in Japanese subjects, mean (SD) serum unbound evolocumab trough (C_{min}) concentrations at weeks 12 through 64 were stable and ranged from 14.9 (11.9) to 21.5 (18.1) µg/mL. Serum unbound PCSK9 concentrations in Japanese subjects prior to dosing on Day 1 were comparable between the evolocumab plus SoC and SoC alone treatment groups, with mean (SD) concentrations of 366 (134) and 381 (151) ng/mL, respectively. Following treatment with evolocumab, mean serum unbound PCSK9 levels in Japanese subjects decreased relative to Day 1 predose, and were stable throughout the study, ranging from 174 (99.2) to 205 (125) ng/mL between weeks 4 and 64. Mean unbound PCSK9 levels for the SoC alone group were stable and ranged from 354 (156) to 481 (175) ng/mL between weeks 4 and 52. Upon switching to open label evolocumab on week 52, the mean unbound PCSK9 concentration value in the SoC alone group on week 64 was 219 (174) ng/mL, comparable to the levels observed in the evolocumab plus SoC group.

Appendix Figure 4 1. Mean (+SD) Serum Unbound Evolocumab Concentration-Time Profiles After Evolocumab 420 mg SC QM to Japanese Subjects With Hypercholesterolemia



Source: [redacted]

Appendix Figure 4 2. Mean (+SD) Serum Unbound PCSK9 Concentration-Time Profiles After Evolocumab 420 mg SC QM and/or SoC to Japanese Subjects With Hypercholesterolemia



* Standard of care (SoC) alone subjects switched over to open label evolocumab at a dose of 420 mg QM starting on week 52.

Source: [redacted]

Appendix Table 4 1. Descriptive Statistics of Serum Unbound Evolocumab Concentration-time Data With Evolocumab 420 mg SC QM Plus SoC in Japanese Subjects with Hypercholesterolemia

	Randomized Treatment (Weeks 0-52)							Open Label Treatment (Week ≥ 52)						
Desc. Statistic	Day 1	Week 4	Week 12	Week 24	Week 36	Week 48	Week 52	Week 64	Week 76	Week 88	Week 100	Week 112	Week 124	Week 136
N	124	122	144	132	130	134	133	42	-	-	-	-	-	-
Mean	0.258	9.56	14.9	21.3	19.9	20.2	21.5	16.8	-	-	-	-	-	-
SD	0.956	7.76	11.9	18.0	16.3	16.3	18.1	12.3	-	-	-	-	-	-
Min	0.00	0.00	1.05	0.00	0.00	0.00	0.00	0.831	-	-	-	-	-	-
Median	0.00	7.74	11.7	18.1	16.5	16.2	15.8	15.4	-	-	-	-	-	-
Max	6.59	47.6	60.0	89.2	99.9	82.9	89.6	48.1	-	-	-	-	-	-
CV%	370.4	81.2	79.7	84.7	81.7	80.7	84.0	73.1	-	-	-	-	-	-

Concentration in µg/mL; LLOQ = 0.800 µg/mL (Values below the LLOQ were set to zero).
- = no data; CV% = coefficient of variation; QM = every 4 weeks (once monthly); SC = subcutaneous; SD = standard deviation.

Source: [redacted]

Appendix Table 4 2. Descriptive Statistics of Serum Unbound PCSK9 Concentration-time Data With Evolocumab 420 mg SC QM Plus SoC or SoC Alone in Japanese Subjects with Hypercholesterolemia

Desc. Statistic	Randomized Treatment (Weeks 0-52)							Open Label Treatment (Week ≥ 52)						
	Day 1	Week 4	Week 12	Week 24	Week 36	Week 48	Week 52	Week 64	Week 76	Week 88	Week 100	Week 112	Week 124	Week 136
	Evomab 420 mg SC QM + SoC							Evomab 420 mg SC QM + SoC						
N	124	122	144	132	130	134	133	42	-	-	-	-	-	-
Mean	366	174	174	176	205	191	197	188	-	-	-	-	-	-
SD	134	99.2	133	116	125	107	120	100	-	-	-	-	-	-
Min	130	0.00	0.00	23.1	21.0	26.0	21.1	22.9	-	-	-	-	-	-
Median	338	163	142	147	191	173	181	158	-	-	-	-	-	-
Max	857	601	739	667	715	526	653	369	-	-	-	-	-	-
CV%	36.7	57.0	76.7	65.6	61.3	56.4	60.8	53.2	-	-	-	-	-	-
	SoC Alone (Randomized Treatment)							SoC Alone (Open Label Evomab 420 mg QM)						
N	65	61	71	72	72	71	71	23	-	-	-	-	-	-
Mean	381	354	376	417	459	481	450	219	-	-	-	-	-	-
SD	151	156	159	146	140	175	187	174	-	-	-	-	-	-
Min	158	47.6	0.00	114	225	253	223	25.5	-	-	-	-	-	-
Median	365	337	354	397	435	442	403	183	-	-	-	-	-	-
Max	902	1020	1040	989	939	1140	1500	830	-	-	-	-	-	-
CV%	39.6	44.1	42.4	34.9	30.6	36.3	41.6	79.6	-	-	-	-	-	-

Concentration in ng/mL; LLOQ = 15.0 ng/mL (Values below the LLOQ were set to zero).

- = no data; CV% = coefficient of variation; QM = every 4 weeks (once monthly); SD = standard deviation; SoC = standard of care.

Source: [redacted]

5. ANTI-EVOLOCUMAB ANTIBODY ASSAYS

5.1 Effect of Anti-Evolucumab Antibodies on Evolocumab Pharmacokinetics

A total of 2 evolocumab-treated Japanese subjects tested positive for anti-evolocumab binding antibodies (Subject [redacted], weeks 4, 12, and 48; Subject [redacted], day 1). These subjects both tested negative for anti-evolocumab neutralizing antibodies (Section 4.1 of Module 2.7.2).
The presence of anti-evolocumab binding antibodies in 2 evolocumab-treated Japanese subjects had no effect on serum unbound evolocumab concentrations. Concentration values at later time points for these subjects were within the range of individual concentrations observed in subjects that did not test positive for anti-evolocumab binding antibodies.

6. SAFETY EVALUATIONS

6.1 Relationship Between Pharmacokinetic and Safety Data

No analyses of the relationship between PK and safety data were planned or conducted.

7. CONCLUSIONS

Following evolocumab 420 mg SC QM over 64 weeks in Japanese subjects, mean serum unbound C_{min} concentrations were stable and ranged from 14.9 (11.9) to 21.5 (18.1) µg/mL. Mean serum unbound PCSK9 levels for evolocumab-treated Japanese subjects at trough evolocumab concentration time points decreased relative to Day 1 predose, and were stable over 64 weeks, ranging from 174 (99.2) to 205 (125) ng/mL. In Japanese subjects randomized to receive SoC alone for the first year, mean serum unbound PCSK9 levels ranged from 354 (156) to 481 (175) ng/mL and were stable over 52 weeks. However, upon switching to open label evolocumab, unbound PCSK9 levels in the SoC alone group were comparable to levels observed in evolocumab-treated Japanese subjects.