2.4　非臨床試験の概括評価の目次

2.4.1　非臨床試験計画概略 2

2.4.2　薬理試験 5
2.4.2.1　効力を裏付ける試験 5
2.4.2.2　副次的薬理試験 5
2.4.2.3　安全性薬理試験 5
2.4.2.4　薬力学的薬物相互作用 5

2.4.3　薬物動態試験 6
2.4.3.1　吸収 6
2.4.3.2　分布 6
2.4.3.3　代謝 6
2.4.3.4　排泄 7

2.4.4　毒性試験 8
2.4.4.1　全身曝露量 9
2.4.4.2　単回投与毒性試験 10
2.4.4.3　反復投与毒性試験 11
2.4.4.4　生殖発生毒性試験 11
2.4.4.5　遺伝毒性試験 11
2.4.4.6　がん原性試験 11
2.4.4.7　局所刺激性試験 11
2.4.4.8　その他の毒性試験 12

2.4.5　総括及び結論 13

2.4.6　参考文献一覧 14

2.4　非臨床試験の概括評価

2.4.1 非臨床試験計画概略

BAY 81-8973 は、血友病 A の治療を目的とした完全長の遺伝子組換えヒト血液凝固第Ⅷ因子（rFⅧ）であり、そのたん白質構造は、既承認の rFⅧ製剤コージネイト FS の有効成分と本質的に同じである。すなわち、BAY 81-8973 のアミノ酸配列、分子式、たん白質分解プロセシング及び翻訳後修飾プロセス（糖鎖付加及び硫酸化）は本質的にコージネイト FS と同一である（2.3.S.1.2、2.3.S.3.1.2　参照）。更に、BAY 81-8973 製剤中の rFⅧたん白質濃度及び添加剤組成もコージネイト FS と同じである。一方、セルバンクについては、コージネイト FS とは異なる新規のセルバンクが用いられており、rFⅧの生産性を向上させるために、ヒト熱ショックたん白質 70（HSP70）の遺伝子が導入されている。また、製造工程にも改良が加えられており、動物及びヒト由来の添加物が細胞培養工程及び精製工程から除去され、非エンベロープウイルスの除去率向上のためのウイルスろ過工程も導入されている（2.3.S.2.6、2.3.A.2.2　参照）。

血友病 A を適応症として承認されている現承認品目のコージネイト FS 及び前承認品目のコージネイトの開発（1.5.1　参照）において、マウス、ラット、ウサギ及びイヌを用いた広範な非臨床試験が実施されており、良好な非臨床安全性プロファイルが確認されている。また、臨床における忍容性も良好であった。BAY 81-8973 の非臨床安全性試験プログラムは、それらの知見を踏まえて計画した。更に、日米 EU 医薬品規制調和国際会議（ICH）S6(R1)「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」、ICH M3(R2)「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス」、並びに ICH S3A「トキシコキネティクス（毒性試験における全身的暴露の評価）に関するガイダンス」に準拠して実施した。安全性薬理試験は、ICH S7A「安全性薬理試験ガイドライン」に準拠して実施した。

BAY 81-8973 の[redacted]については、米国食品医薬品局（FDA）、カナダ保健省（HC）、ドイツ・ポールエールリッヒ研究所（PEI）、スウェーデン医薬品庁（MPA）等の各国規制当局との間で[redacted]。本邦においても、[redacted]年[redacted]月[redacted]日に実施された医薬品医療機器総合機構（PMDA）相談において、[redacted]、確認されている（1.5.3.2　参照）。なお、当該 PMDA 相談後に、[redacted]に基づき遺伝毒性試験としてマウスリンフォーマ TK 試験を追加実施しており、その成績は本申請資料に記載されている（2.6.6.4.1.1　参照）。

BAY 81-8973 の臨床投与経路は静脈内投与であることから、非臨床試験の投与経路も静脈内投与とした。

BAY 81-8973 の効力を裏付ける試験として、*in vitro* における活性測定、並びに遺伝子改変マウスである血友病 A マウスを用いて BAY 81-8973 とコージネイト FS の有効性を比較する出血モデル試験を実施した。薬物動態と薬力学的作用の相関を示すために、血友病 A マウスを用いて BAY 81-8973 とコージネイト FS の薬物動態プロファイルも評価した。また、後述の毒性試験の一環として実施されている探索的抗原性試験においても、血友病 A マウスが用いられている。血友病 A マウスは、(1) 血友病 A 患者と類似した表現型を有すること、(2) 公表されている抗 FⅧ抗原性に関する試験報告において用いられていること（2.6.6.8.1　参照）、(3) BAY 81-8973 とコージネイト FS の比較検討において、統計学的検出力を得るために必要な動物数を確保しやすいことから、上述の試験に用いた。

安全性薬理試験として、BAY 81-8973 単回静脈内投与による主要な生理機能〔麻酔下のビーグル犬における心電図（ECG）を含む心血管機能、並びに無拘束下の覚醒ラットにおける呼吸機能（両動物種共に凝固系正常）〕に対する影響を評価した。なお、血液及び血液凝固系に対する BAY 81-8973 の影響は、効力を裏付ける試験及び毒性試験において検討されている。

BAY 81-8973 の薬物動態プロファイル及び毒性プロファイルを検討するために、非臨床薬物動態試験及び毒性試験を実施した。BAY 81-8973 とコージネイト FS の薬物動態を直接比較するために、毒性試験の動物種（凝固系正常のラット及びウサギ）を用いて、単回静脈内投与試験を実施した。BAY 81-8973 とコージネイト FS の薬物動態の類似性は統計解析により評価した。また、ラット及びウサギを用いた反復投与毒性試験におけるトキシコキネティクスの成績も得られている。

rFⅧ製剤は、血友病 A 患者が生涯使用する薬剤であるという観点から、BAY 81-8973 の非臨床安全性試験の主要な目標として、（a）起こりうる標的臓器毒性を明らかにし、その可逆性を確認すること、（b）標的臓器毒性に関連して発現する可能性のある有害作用又は薬理作用の過剰な発現に対する無毒性量（NOAEL）を決定すること、（c）臨床での投与量範囲の上限における曝露量に関して安全域を求めることとした。なお、臨床用量との比較及び安全域の算出には、定期補充療法の用量範囲の上限値である 50IU/kg 及び 50IU/kg 投与時の曝露量を用いた。

毒性試験プログラムには、単回投与及び反復投与（1 日 1 回 5 日間投与）毒性試験で全身毒性及び薬理作用の過剰発現の可能性を検討するための試験並びに遺伝毒性及び抗原性に関する特有の問題に的を絞った試験が含まれる。BAY 81-8973 の毒性試験では、反復投与試験において局所刺激性及びトキシコキネティクスの評価も実施した。BAY 81-8973 の変異原性は *in vitro* で評価し、遺伝毒性はないことが確認された。rFⅧはマウス、ラット、ウサギ及びイヌで抗原性を示すことから、長期毒性試験及びがん原性試験は実施しなかった。他の FⅧ製剤を用いた以前の試験において、初回投与の 6～12 日後までに中和抗体が血漿中の活性を低減させるか、又は無効にすることが知られている。更に、BAY 81-8973 は、*in vitro* で変異原性を示さず、毒性試験では増殖誘発作用も免疫調節作用も示さない内因性のヒト FⅧたん白質を含んでいるので、がん原性はないと考えられる。生後発達する器官への毒性がないこと及びコージネイト FS を小児に使用したときの良好な使用経験から、幼若動物を用いる試験は必要ないと考えられた。rFⅧたん白質は、標的が血中に存在する内因性たん白質の遺伝子組換え型であることから、光毒性試験は必要ない。主な規制当局との会議で合意されているように、BAY 81-8973 の対象とする患者集団の大半（99%超）は男性であり、BAY 81-8973 の動物を用いた安全性試験において、発生過程の器官又は内分泌器官に毒性が認められなかったことから、生殖発生毒性試験は必要ではない。

毒性試験及び薬物動態試験では、げっ歯類として Sprague-Dawley ラットを、また、非げっ歯類としてニュージーランド白色ウサギを選択した。ヒトの標的集団の 99%超が男性であることから、非臨床試験では主に雄性ラットと雄性ウサギを使用した。これらの動物は凝固系が正常な FⅧレベルを維持しているため患者集団とは異なるが、ヒト FⅧはこれらの動物の凝固カスケードで活性を示すことから、BAY 81-8973 の評価にはどちらの種も適切な動物種である。ラットは毒性評価に最もよく用いられるげっ歯類であり、ウサギはいくつかの rFⅧ製剤の毒性評価に使用されたことのある非げっ歯類である。しかし、探索的抗原性試験では、血友病 A マウスを選択した。前述のようにこのマウスは、血友病 A 患者と類似した表現型を有しており、公表されたいくつかの試験で同様の目的で使用されており、また、群当たり多くの動物数を確保することができる（2.6.6.8.1　参照）。

更に、[redacted]、BAY 81-8973 の変異原性／染色体異常誘発能を評価した。

血友病 A マウスを用いて実施した BAY 81-8973 の探索的抗原性試験を除いて、安全性薬理試験及び毒性試験のいずれも最新の試験ガイドライン及び GLP に準拠して実施した。

2.4.2 薬理試験

BAY 81-8973 の *in vitro* での凝固活性を合成基質法及び凝固一段法で測定し、更に *in vivo* での薬理作用を血友病 A マウスを用いて検討した（2.6.2 及び 2.6.3　参照）。

2.4.2.1 効力を裏付ける試験

効力を裏付ける試験では、出血時補充療法及び定期補充療法の二種類の臨床での投与法をそれぞれ反映する血友病 A マウス出血モデルで、BAY 81-8973 の止血効果をコージネイト FS と比較した（2.6.2.2　参照）。いずれのモデルにおいても、BAY 81-8973 はコージネイト FS と同等の止血効果を示した。血友病 A マウスにおける薬物動態を検討した結果、rFⅧ曝露量は BAY 81-8973 とコージネイト FS でほぼ同等であることが確認された。血友病 A マウスにおける血漿中 rFⅧ濃度は出血モデルでの止血効果の程度と相関（薬物動態と薬理作用の相関）していた。

2.4.2.2 副次的薬理試験

BAY 81-8973 は、コージネイト FS 及び内因性ヒト FⅧと類似の薬剤であることから、副次的薬理試験は実施しなかった。

2.4.2.3 安全性薬理試験

BAY 81-8973 の安全性薬理試験として、単回静脈内投与による心血管機能及び呼吸機能への影響を検討した。rFⅧは血液脳関門を通過し難いこと、また、コージネイト FS では中枢神経系所見が報告されていないことから、中枢神経系に関する試験は実施しなかった。心血管機能（ECG を含む）は、麻酔下のビーグル犬を用いて、呼吸機能は無拘束下の覚醒ラットを用いて、それぞれ単回静脈内投与による影響を評価した（2.6.2.4　参照）。イヌの心血管機能試験では、最高用量の 400IU/kg（臨床用量の約 8 倍）でも投与に関連した影響はみられなかった。ラットの呼吸機能試験では、400IU/kg で対照群に比べ呼吸数及び分時換気量が一過性に軽微に増加した。120IU/kg（臨床用量の約 2.4 倍）では、そのような影響は認められなかった。呼吸器への影響は、高用量群でのみ認められ、投与後 1 時間以内に消失した軽微な変化であったことから、生物学的に意味のない所見と考えられた。

2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用

BAY 81-8973 は、コージネイト FS 及び内因性ヒト FⅧと類似の薬剤であることから、薬力学的薬物相互作用試験は実施しなかった。

2.4.3 薬物動態試験

マウス、ラット、ウサギ及びイヌにおける既存の rFⅧ製剤の非臨床薬物動態（トキシコキネティクスを含む）に関する広範な知見に加え、BAY 81-8973 の薬物動態試験を実施した。

BAY 81-8973 は、ヒト FⅧの遺伝子組換え型であり、内因性のヒト FⅧと同様に異化されるたん白質であるため、分布、代謝及び排泄試験は実施しなかった。

Sprague-Dawley ラット及びニュージーランド白色ウサギを用いて、BAY 81-8973 及びコージネイト FS の *in vivo* 薬物動態を検討した（2.6.4.3　参照）。また、雄性血友病 A マウスを用いた薬物動態／薬力学的作用相関（PK／PD）試験において、BAY 81-8973 及びコージネイト FS の薬物動態パラメータを算出した（2.6.2.2　参照）。

2.4.3.1 吸収

凝固系正常のラット及びウサギを用いた薬物動態試験において、片側信頼区間の下限値を基準としてコージネイト FS に対する BAY 81-8973 の非劣性を判定した。ラット及びウサギに BAY 81-8973 又はコージネイト FS を単回静脈内投与したとき、血漿中 rFⅧ濃度はほぼ類似の経時推移を示し（AUC は BAY 81-8973 の方がやや大きい）、終末相における半減期はほぼ同等であった。ラット及びウサギにおける AUC の比（BAY 81-8973／コージネイト FS）は、それぞれ 1.39 及び 1.63 であった。ラット及びウサギを用いた薬物動態試験において、非劣性の判定基準を満たしたことから、コージネイト FS に対する BAY 81-8973 の非劣性が確認された。

凝固系正常のラット及びウサギにおいて BAY 81-8973 とコージネイト FS の薬物動態パラメータに差がみられたのに対し、血友病 A マウスでは、両薬剤の薬物動態パラメータに差はみられなかった。凝固系正常の動物と血友病 A マウスにおいて、両薬剤の薬物動態の比較結果に違いがみられた理由に関する考察を 2.6.4.9 に記載した。違いがみられた理由には、モデル及び測定法の差（凝固系正常のラット及びウサギの血漿試料に用いた測定法では、動物の内因性 FⅧを分離除去する必要があるが、血友病 A マウスの血漿試料においては分離の必要がない）だけでなく、rFⅧ活性の測定に特有のばらつきが含まれている可能性がある。

2.4.3.2 分布

BAY 81-8973 は、ヒト FⅧの遺伝子組換え型で、静脈内投与される高分子たん白質であるため、分布試験は実施しなかった。FⅧは、主として血液コンパートメントに分布することが知られている。

2.4.3.3 代謝

BAY 81-8973 はヒト FⅧの遺伝子組換え型であり、内因性のヒト FⅧと同様に異化されるたん白質であるため、ICH S6(R1)「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」を踏まえ、代謝試験は実施しなかった。

2.4.3.4 排泄

BAY 81-8973 はヒト FVⅢの遺伝子組換え型であり、内因性のヒト FVⅢと同様に異化されるたん白質であるため、排泄試験は実施しなかった。

2.4.4 毒性試験

BAY 81-8973 の毒性プロファイル及びトキシコキネティクスプロファイルを明らかにするために最新の試験ガイドライン ICH S6(R1)、ICH M3(R2)及び ICH S3A に準拠して非臨床試験を実施した。BAY 81-8973 の毒性試験プログラムの概要を表 2.4.4-1に示す。毒性試験の要約を 2.6.6 及び 2.6.7 に示す。重要な毒性試験は GLP の原則に従って実施した。

単回静脈内投与毒性試験はラット及びウサギを用いて実施した。重要な反復静脈内投与毒性試験はラット及びウサギを用いて最長 1 日 1 回 5 日間の投与で実施した。これらの動物種は、BAY 81-8973 の薬理学的作用機序に反応するため試験動物として適切である。

更に、BAY 81-8973 の遺伝毒性試験を実施した。

長期毒性試験及び生殖発生毒性試験は実施しなかった。また、BAY 81-8973 とコージネイト FS が類似していること及び小児患者でのコージネイト FS の臨床的安全性が知られていることを考慮し、新生児及び幼若動物を用いた試験の実施の予定はない。

免疫原性は血友病 A マウス及び正常ウサギを用いて評価した。

非臨床動物試験で使用した製剤はロット番号 27N1R50、27N1TR0 又は 27N2KJ0 のいずれか（すべて GMP 下で製造され、最終容器に保管された製剤）であり、これらは BAY 81-8973 の臨床試験でも使用した。対照薬として用いたコージネイト FS は非臨床試験用ロット（ロット番号：27N1190）を使用した。コージネイト FS 及び BAY 81-8973 製剤はいずれも滅菌済みガラスバイアルで凍結乾燥した状態で供給され、滅菌注射用水 2.5mL で再溶解し、澄明な溶液を調製した。

表 2.4.4-1 毒性試験プログラム

Type of Study/Duration	Species and Strain	Method of Admin.	Compound administered	GLP	Bayer Ref.
Single-Dose Toxicity					
Single dose toxicity (+ 2-week recovery)	Rat, Sprague-Dawley	Intravenous	BAY 81-8973 (Lot 27N1R50, Lot 27N1TR0)	Yes	4.2.3.1.1, PH-35700
Single dose toxicity (+ 2-week recovery)	Rabbit, New Zealand White	Intravenous	BAY 81-8973 (Lot 27N1R50, Lot 27N1TR0)	Yes	4.2.3.1.2, PH-35701
Repeat-Dose Toxicity					
5-day toxicity (+ 4-week recovery, TK)	Rat, Sprague-Dawley	Intravenous	BAY 81-8973 (Lot 27N1R50)	Yes	4.2.3.2.1, PH-35733
5-day toxicity (+ 4-week recovery, TK)	Rabbit, New Zealand White	Intravenous	BAY 81-8973 (Lot 27N1R50)	Yes	4.2.3.2.2, PH-35732
Genotoxicity					
Mouse lymphoma assay	L5178Y cell line	*In vitro*	BAY 81-8973 (Lot 27N2KJ0)	Yes	4.2.3.3.1.1, PH-37378
Other toxicity studies					
Antigenicity	Mice, Hemophilia A	Intravenous	BAY 81-8973 (Lot 27N1R50) Kogenate FS (Lot 27N1190)	No	4.2.3.7.1.1, CB-[redacted]-06

GLP = good laboratory practice (regulations); TK =including toxicokinetics

2.4.4.1 全身曝露量

血漿中濃度を測定し、毒性学的に意味のある用量を投与したときの BAY 81-8973 の PK プロファイルの特性を明らかにするために、反復投与毒性試験ではトキシコキネティクスの検討を行った（表 2.4.4-1）。

トキシコキネティクス試験では、最高血漿中濃度（C_{max}）で比較したとき、いずれの動物でも全身曝露量はヒトに上限の治療量を投与したときに比べておおむね大きいことが確認された。

雄性ラットを用いた反復投与毒性試験では、BAY 81-8973 投与後の曝露量は、C_{max} で比較して、ヒトの曝露量（50IU/kg 投与時）よりも最大で約 6 倍大きかった（表 2.4.4-2）。この時の最高用量 400IU/kg は、臨床用量 50IU/kg よりも 8 倍高かった。雄性ウサギを用いた反復投与毒性試験では、BAY 81-8973 投与後の曝露量は、C_{max} で比較して、ヒトの曝露量（50IU/kg 投与時）よりも最大で 9～12 倍大きかった（表 2.4.4-3）。正常な動物の血漿を用いた rFⅧ測定のばらつき（2.6.4 参照）を考えると、これらの値は、ウサギの最高用量 400IU/kg が臨床用量 50IU/kg の 8 倍であったこととほぼ一致する。

表 2.4.4-2 ラットにおける全身曝露量の概要及びヒトにおける 50IU/kg 投与時の曝露量との比較（合成基質法）

Daily dose [IU/kg]	Date	Exposure C_{max} [IU/L]	MoE
5-day daily dose iv toxicity study in rats (4.2.3.2.1, PH-35733)			
40	Day 1	1104	0.8
120	Day 1	2739	2.1
400	Day 1	7724	5.9
40	Day 5	1329	1.0
120	Day 5	2099	1.6
400	Day 5	7082	5.4
Human exposure (2.7.2) 1301			

C_{max} = maximal concentration; IU = international units; iv = intravenous; MoE = margins of exposure (when compared to the human plasma levels at 50 IU/kg/day)

表 2.4.4-3 ウサギにおける全身曝露量の概要及びヒトにおける 50IU/kg 投与時の曝露量との比較（合成基質法）

Daily dose [IU/kg]	Date	Exposure C_{max} [IU/L]	MoE
5-day daily dose iv toxicity study in rabbits (4.2.3.2.2, PH-35732)			
40	Day 1	1106	0.9
120	Day 1	4233	3.3
400	Day 1	11536	8.9
40	Day 5	1453	1.1
120	Day 5	4724	3.6
400	Day 5	14962	11.5
Human exposure (2.7.2) 1301			

C_{max} = maximal concentration; IU = international units; iv = intravenous; MoE = margins of exposure (when compared to the human plasma levels at 50 IU/kg/day)

2.4.4.2 単回投与毒性試験

BAY 81-8973 を雄性ラット及び雄性ウサギに臨床用量 50IU/kg の約 80 倍の高用量（4000IU/kg）で単回静脈内投与したときの忍容性は良好であった。いずれの試験においても本剤投与に関連した有害作用は認められなかった。

2.4.4.3 反復投与毒性試験

BAY 81-8973 を雄性ラット及び雄性ウサギに臨床用量 50IU/kg の約 8 倍の用量（400IU/kg）で 5 日間 1 日 1 回静脈内投与したときの忍容性は良好であった。他の rFⅧ製剤を用いた以前の試験で、初回投与の 6～10 日後までに中和抗体が血漿中の活性を低減させるか、又は無効にすることが知られているため、5 日間を超える試験は実施しなかった。いずれの試験においても本剤投与に関連した有害作用は認められなかった。反復投与毒性試験において、初回投与から最終投与日まで、トキシコキネティクスパラメータに変化はみられなかったことから、トキシコキネティクスは抗 FⅧ抗体が産生されても変化しないことが示唆された。

2.4.4.4 生殖発生毒性試験

BAY 81-8973 の生殖発生毒性試験は実施しなかった。その根拠は、男性が血友病 A 患者集団の大半（99%超）を占め、BAY 81-8973 の臨床試験は男性患者だけが組入れの対象であったこと、また、BAY 81-8973 の単回投与及び反復投与毒性試験で、病理組織学的検査において、内分泌器官や生殖器官への毒性がみられなかったことである。このことは、コージネイト及びコージネイト FS を用いた以前の動物試験で雄性生殖器官に対して投与に関連した影響がみられなかったことと合致している。

更に、生後発達する器官系に有害作用がみられなかったこと、BAY 81-8973 を投与した 12 歳以上の患者の安全性データが得られていること、また、標的臓器感受性は成人患者と小児患者では差がないと考えられることから、幼若動物を用いた試験は実施しなかった。

2.4.4.5 遺伝毒性試験

点突然変異又は染色体変異を誘導するかどうか検討するために、L5178Y 細胞を用いて BAY 81-8973 のマウスリンフォーマ TK 試験を実施した。この試験は、[redacted]実施した。このモデルでは、BAY 81-8973 の添加濃度を上げることができ、BAY 81-8973 製剤中のヒスチジンの影響を受けにくい。BAY 81-8973 は変異原性も染色体異常誘発能も示さなかった。この所見は、コージネイトを用いた復帰突然変異試験、染色体異常試験及び雄性優性致死試験で rFⅧに遺伝毒性がみられなかったことと合致する。また、高感度分析法では、BAY 81-8973 の最終製品に HSP70 は検出されなかった。

2.4.4.6 がん原性試験

rFⅧにも BAY 81-8973 最終溶解液にも変異原性やがん原性があるとは考えられないため、BAY 81-8973 のがん原性試験は実施しなかった。FⅧは内因性のヒトたん白質であり、がん原性はないと考えられる。BAY 81-8973 は *in vitro* で変異原性を示さず、反復投与毒性試験では増殖誘発作用も免疫調節作用も示さなかった。また、動物では抗 FⅧ中和抗体が産生されるため、曝露量は短期間で完全に低下し、BAY 81-8973 の意味のある長期間の試験は実施できなくなる。

2.4.4.7 局所刺激性試験

局所刺激性は、単回投与及び反復投与毒性試験の一部として評価した。最高試験用量 4000IU/kg を含む用量で局所刺激性を評価したところ、忍容性は良好であった。BAY 81-8973 の

製剤組成は市販のコージネイト FS と同じであり、コージネイト FS は臨床で良好な局所忍容性を示してきたことから、単独の局所刺激性試験は必要ないと判断した。

2.4.4.8 その他の毒性試験

血友病 A マウスを用いた 5 週間静脈内投与試験（週 1 回投与）において抗 FⅧ抗体産生について評価した。BAY 81-8973 をコージネイト FS（非臨床試験用ロット）と直接比較した。総抗体価及び中和抗体価には BAY 81-8973 とコージネイト FS との間で統計学的有意差はみられなかった。

また、細胞培養工程用培地のバッファー成分である[redacted]の変異原性試験（Ames 試験）を実施し、陰性の結果が得られた。

2.4.5 総括及び結論

効力を裏付ける試験では、BAY 81-8973 の止血効果をコージネイト FS と直接比較した。コージネイト FS との構造的及び薬理作用的類似性より、BAY 81-8973 の臨床用量はコージネイト FS と同等と考えられたことから、BAY 81-8973 の用量はコージネイト FS を用いて先行実施された薬理試験成績に基づき設定した。効力を裏付ける試験として、血友病 A 治療の臨床投与法である出血時補充療法及び定期補充療法をそれぞれ模倣する血友病 A マウスを用いた二種類の出血モデル試験を実施した。いずれのモデルにおいても、BAY 81-8973 はコージネイト FS と同等の止血効果を示した。血友病 A マウスにおける血漿中 rFⅧ濃度と出血モデルでの止血効果には相関関係が認められた。

安全性薬理試験において、ラットへの高用量投与（400IU/kg、臨床用量の約 8 倍）で呼吸機能への影響が認められ、呼吸数及び分時換気量が対照に比べて一過性に増加した。120IU/kg（臨床用量の約 2.4 倍）ではそのような影響はみられなかった。高用量でのみ認められ、一回換気量には影響せず、投与 1 時間後には消失したことから、生物学的に意味のある所見ではないと考えられた。イヌの心血管機能試験では、血行動態及び ECG に投与と関連した影響はみられなかった。

雄性ラット及び雄性ウサギを用いた 2 つの薬物動態試験、並びに血友病 A マウスを用いた PK/PD 試験において、BAY 81-8973 とコージネイト FS の薬物動態を比較した。ラット及びウサギに BAY 81-8973 又はコージネイト FS を投与したとき、血漿中 rFⅧ濃度はほぼ類似の経時推移を示したが、BAY 81-8973 の AUC はコージネイト FS と比較して、ラットで約 40%、ウサギで約 60%大きかった。分布容積及び全身クリアランスは、BAY 81-8973 の方が 30～40%小さかったが、半減期に差はみられなかった。ラット及びウサギを用いた薬物動態試験において、非劣性の判定基準を満たしたことから、コージネイト FS に対する BAY 81-8973 の非劣性が確認された。分布、代謝及び排泄試験の実施は、BAY 81-8973 のような静脈内投与される代替たん白質製剤においては必要でない。

BAY 81-8973 を毒性試験において雄性ラット及び雄性ウサギに臨床用量の最大約 80 倍までの用量で単回投与したとき、また、臨床用量の最大約 10 倍の用量で連続 5 日間反復投与したときの忍容性は良好であった。BAY 81-8973 を投与しても生存期間への影響はなく、一般症状にも変化はみられず、局所の忍容性は良好であった。これらの試験では被験物質に関連した所見はみられなかった。血友病 A マウスを用いた探索的抗原性試験では、BAY 81-8973 投与群の抗 FⅧ抗体産生にはコージネイト FS 投与群との間に統計学的有意差はみられなかった。

BAY 81-8973 は *in vitro* 試験では遺伝毒性を示さなかった。

生殖発生毒性試験及び幼若動物を用いた試験の実施は臨床試験における安全性確保のために必要であるとは考えられなかった。

要約すると、非臨床安全性評価に適切と考えられた動物を用いた単回投与及び反復投与毒性試験では、BAY 81-8973 の臓器特異的毒性はみられなかった。NOAEL は、単回投与毒性試験では 4000IU/kg（最高試験用量）、反復投与毒性試験では 400IU/kg（最高試験用量）であった。抗原性試験及び変異原性試験においても、BAY 81-8973 の臨床使用にあたり危険性を示唆する所見は確認されなかった。

2.4.6 参考文献一覧

該当なし