乾燥濃縮人プロトロンビン複合体

ケイセントラ静注用 500

ケイセントラ静注用 1000

2.4　非臨床試験の概括評価

CSL ベーリング株式会社

目次

略語・略号一覧 3
非臨床試験で使用した製剤一覧 3
2.4　非臨床試験の概括評価 4
2.4.1　非臨床試験計画概略 4
2.4.2　薬理試験 6
2.4.3　薬物動態試験 9
2.4.4　毒性試験 9
2.4.5　総括及び結論 11
2.4.6　参考文献一覧 13

略語・略号一覧

略語・略号	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
ADME	Absorption, distribution, metabolism, excretion	吸収、分布、代謝、排泄
aPTT	Activated partial thromboplastin time	活性化部分トロンボプラスチン時間
CFT	Clot formation time	血餅形成時間
CT	Coagulation time	凝固時間
IU	International unit	国際単位
kg	Kilogram	キログラム
MCF	Maximal clot firmness	最大血餅硬度
mL	Milliliter	ミリリッター
[redacted]	[redacted]	[redacted]
PCC	Four factor prothrombin complex concentrate	4 つの血液凝固因子を含有するプロトロンビン複合体製剤 本申請製剤「乾燥濃縮人プロトロンビン複合体製剤」の略号
PPSB	Prothrombin complex concentrate (prothrombin, proconvertin, Stuart-Prower Factor, antihemophilic globulin B)	プロトロンビン複合体製剤（プロトロンビン、プロコンバーチン、スチュアート・プロワー因子、抗血友病 B グロブリン） [redacted]で製造された本申請製剤の過去製剤、#旧製剤A の略号
PT	Prothrombin time	プロトロンビン時間
PT-INR	Prothrombin time-international normalized ratio	プロトロンビン時間-国際標準比
ROTEM	Rotational thromboelastometry	ローテーション・トロンボエラストメトリー
TEG	Thromboelastography	トロンボエラストグラフィー

非臨床試験で使用した製剤一覧

使用製剤	製剤説明
# 旧製剤 B	[redacted]
# 旧製剤 A	[redacted]
Beriplex® HS/F Beriplex® P/F Beriplex® P/N 250 Beriplex® P/N	パスツリゼーション処理及びウイルス除去膜処理製剤

新薬承認情報提供時に置き換え

2.4　非臨床試験の概括評価

2.4.1　非臨床試験計画概略

乾燥濃縮人プロトロンビン複合体製剤（以下、本剤とする）は、血液凝固第Ⅱ因子（プロトロンビン）、第Ⅶ因子（プロコンバーチン）、第Ⅸ因子（抗血友病Ｂグロブリン）及び第Ｘ因子（スチュアート・プロワー因子）、並びにプロテインＣ及びプロテインＳの含有量バランスのよくとれた高度に精製されたヒト血漿凍結乾燥製剤である。本剤の予定とする効能・効果は、「ビタミンＫ拮抗薬投与中の患者における、急性重篤出血時、又は重大な出血が予想される緊急を要する手術・処置の施行時の出血傾向の抑制」である。本剤に含まれる各血液凝固因子は、タンパク質分解（血液凝固カスケード）により活性化タンパク質（セリンプロテアーゼ）に変換されるチモーゲンである。チモーゲンの活性化は内因性又は外因性経路により媒介され、その結果、プロトロンビン（第Ⅱ因子）はトロンビン（第Ⅱａ因子）に変換される。各血液凝固因子の濃度は、以下の表 2.4-1 に示すとおりである。非臨床試験（臨床試験も同様）で用いられた投与量は、第Ⅸ因子の量として投与量を示している。

表 2.4-1：本剤に含まれる血液凝固因子の溶解後の濃度範囲（規格値）

血液凝固因子	IU/mL
血液凝固第Ⅱ因子	20～48
血液凝固第Ⅶ因子	10～25
血液凝固第Ⅸ因子	20～31
血液凝固第Ⅹ因子	22～60
プロテインＣ	15～45
プロテインＳ	12～38

本剤の非臨床プロファイルは、動物を用いる薬理及び毒性試験で評価された。非臨床試験に使用した製剤は、[redacted]を施した ＃旧製剤Ａ、 又はパスツリゼーション処理及びウイルス除去膜処理を施した後継製剤の Beriplex® P/N であった。ウイルス除去膜処理は、19[redacted] 年にウイルス除去の 2 番目の工程として製造工程に組み込まれ、さらに、20[redacted] 年に最適化された（ウイルス除去膜フィルター[redacted]を[redacted] 又は[redacted] から[redacted] へ[redacted]）。このウイルス除去膜処理により、製剤の薬理学的及び毒性学的プロファイルに変化をきたすことは予期されない。このことはウサギを用いた局所刺激性試験でも確認された（M4.2.3.6　試験番号 174.1-24）。したがって、＃ 旧製剤 Ａ で実施した試験成績は Beriplex® P/N にも適用される。Beriplex® P/N で使用したウイルス除去膜フィルター[redacted]の変更が本剤の毒性プロファイルに影響を及ぼさないことを確認するため、Beriplex® P/N（ウイルス除去膜フィルター[redacted]：[redacted]）を用いて局所刺激性試験を追加実施した（M4.2.3.6　試験番号 APQ0048）。

本邦における申請製剤である「乾燥濃縮人プロトロンビン複合体」製剤は、Beriplex® P/N（ウイルス除去膜フィルター[redacted]：[redacted]）に該当する。

＃新薬承認情報提供時に置き換え

本剤の目的とする臨床適用は、出血のリスク増加を伴う血液凝固因子の欠乏状態に対する補充治療である。臨床試験プログラムをサポートするため、非臨床試験の実施計画として、動物を用いる薬理試験及び毒性試験を実施した。

[redacted]した # 旧製剤 A　で実施した非臨床試験として、効力を裏付ける試験（M4.2.1.1　試験番号139-04 及び P-207）、安全性薬理試験（M4.2.3.1　試験番号139-35）、単回投与毒性試験（M4.2.3.1 試験番号　139-11 及び 139-12）、局所刺激性試験（M4.2.3.6 試験番号 139-24）及びネオ抗原性試験（M4.2.3.7 試験番号 V-369b）を実施した（表2. 4-2及び表2. 4-4参照）。[redacted] Beriplex® P/N では、安全性薬理試験及び局所刺激性試験を実施した（M4.2.1.3　試験番号 P-201、174.1-35、P-274 及び P-297、並びに M4.2.3.6 試験番号174.1-24）。加えて、Beriplex® P/N の効力を裏付ける新規試験（M4.2.1.1試験番号P-207、SBR 04/05 及び PSS 01/06）及び単回投与毒性試験 1 試験（M4.2.3.1　試験番号 B23692）を実施した。製剤で使用されるウイルス除去膜フィルター[redacted]の[redacted]から[redacted]への変更が薬理学的及び毒性学的プロファイルに影響しないことは、薬物動態による生物学的同等性試験（M4.2.2.2　試験番号 PSR 13-13）及び局所刺激性追加試験（M4.2.3.6　試験番号 APQ0048）の成績により支持された。

プロトロンビン複合体の血液凝固因子から成る本剤の特性に基づき、効力を裏付ける試験では凝固促進作用に着目し評価した。 # 旧製剤 A　及び Beriplex® P/N の薬力学的作用はウサギにおける *in vivo* うっ滞モデル、Beriplex® P/N の薬力学的作用についてはラットにおけるクマリン抗凝固リバーサルモデルで検討した。

旧製剤 A 及び Beriplex® P/N の静脈内投与による安全性薬理試験は、心血管系及び呼吸器系の生理機能がよく知られているイヌで実施した。さらに、イヌを用いた試験では血液学的、凝固系及び血液生化学的検査を併行して実施した。イヌを用いた試験で認められた本剤のトロンボエラストグラフィー（TEG）への影響に関する不明瞭な点を明らかにするため、効力を裏付ける試験をブタで実施した。当該試験では、TEG 改良法としてローテーション・トロンボエラストメトリー（ROTEM）検査を行った。加えて、マウス及びラットの単回投与毒性試験で観察された臨床徴候に基づき、中枢神経系への影響を評価した。なお、本剤は作用機序の知られているヒトの内因性タンパク質であり、補足的な *in vitro* 試験が要求されるような副作用又は作用機序、あるいは心室再分極への影響に関する懸念の原因となるような副作用又は作用機序を示さないことから、*in vitro* 安全性薬理試験は実施しなかった。

プロトロンビン複合体に含まれるタンパク質のヒトにおける薬物動態はよく知られている。プロトロンビン複合体の濃度は、各タンパクの合成、分布及び代謝を反映したものである。そのため、動物を用いる通常の薬物動態試験の重要性は低いと考えられた。本剤で使用されるウイルス除去膜処理工程の変更に対応するため、薬物動態による生物学的同等性試験として 1 試験をラットで実施した。

#旧製剤A の単回投与毒性試験は 2 種のげっ歯類（マウス及びラット）で実施した（M4. 2. 3. 1 試験番号139-11及び139-12）。マウスにおける投与量は20、60及び200 IU/kg（試験番号139-11）、

ラットにおける投与量は 20、50 及び 100 IU/kg とした（試験番号 139-12）。さらに、Beriplex® P/N のラットにおける単回投与毒性試験を投与量 50、100 及び 500 IU/kg で実施した（M4.2.3.1　試験番号 B23692）。これらの投与量は、臨床推定用量及びその数倍量を含むように設定した。また、非げっ歯類を用いる単回投与毒性試験は実施しなかった。イヌを用いた安全性薬理試験では　#旧製剤A　又は Beriplex® P/N を単回投与で実施しており、それらの試験では毒性徴候は何ら観察されなかった。加えて、本剤は臨床において長年使用されており、ヒトにおける忍容性が良好であることは実証されている（Hanke ら 2009；Hanke ら 2013）。そのため、更に本剤の単回投与毒性試験を実施しても、ヒトの安全性に関する意味のある追加情報は期待できないと考えられた。

本剤に含まれるプロトロンビン複合体のタンパク質は実験動物にとって異種タンパク質であるため、反復投与により抗薬物抗体が産生され、アナフィラキシー反応が誘発される可能性があることから、反復投与試験の実施は不可能であり、そのような毒性試験は実施しなかった。本剤はヒトで反復投与されるような適用がなく、臨床では長年使用されており、ヒトにおける忍容性が良好であることは実証されている（Hanke ら 2009；Hanke ら 2013）。そのため、本剤の反復投与毒性試験を実施しても、ヒトの安全性に関する意味のある追加情報が得られるとは期待できないと考えられた。本剤の同種同効薬でも反復投与毒性試験は実施されていない［インタビューフォーム：乾燥人血液凝固因子抗体迂回活性複合体（ファイバ注射用）、乾燥人血液凝固第IX因子複合体（PPSB®-HT）、乾燥濃縮人血液凝固第IX因子（クリスマシン®M）］。

臨床投与経路の静脈内投与、並びに誤って動脈内投与及び静脈周囲投与した場合の局所刺激性は、このタイプの試験で標準的に使用されているウサギで検討した（M4.2.3.6　試験番号 139-24、174.1-24 及び APQ0048）。

旧製剤 A のパスツリゼーション処理によるネオ抗原（ネオ・エピトープ）の形成はウサギで評価した（M4.2.3.7　試験番号 V-369b）。動物を #旧製剤A で免疫して産生された抗体を非加熱製剤で吸着し、ネオ抗原性をオクタロニー法及びモルモットを用いる受身皮膚アナフィラキシー反応で検討した。ウイルス除去膜処理は混入不純物を除くろ過工程であるため、この追加工程により本剤に含まれるタンパク質が変化することは予期されないことから、Beriplex® P/N のネオ抗原性試験は実施しなかった。

2.4.2　薬理試験

乾燥濃縮人プロトロンビン複合体製剤の予期される薬理活性に基づき、効力を裏付ける試験は凝固促進作用に着目し、50 IU/kg までの臨床用量に相当する投与量及び治療量を超える 50 IU/kg 以上の投与量で実施した。

#旧製剤A　　及びBeriplex® P/N のウサギ*in vivo* うっ滞モデルにおける血栓形成性試験を実施した。概して、投与量 100 IU/kg より血栓形成性の用量依存的な増加が認められたが、投与量 50 IU/kg では血栓形成促進は観察されなかった（M4.2.1.1　試験番号 139-04 及び P-207；Pragst ら 2010）。

ウサギの希釈性凝固障害及び腎臓損傷モデルにおいて、本剤は止血を促進し、血液損失量を減少させた（Pragst ら 2010）。このモデルでは、Beriplex® P/N は投与量 25 IU/kg の静脈内投与により止血時間及び血液損失量ともに有意に減少させた。それに伴い最大トロンビン生成が増大したことにより、観察された止血効果の基となる作用機序が明確になった。

本剤のクマリン抗凝固リバーサル作用は、ラットのフェンプロクモン（Marcumar®）誘発性出血モデルで評価した。Beriplex® P/N を投与量 50 IU/kg でラットに静脈内投与した結果、PT 及び aPTT は正常になり、クマリン過量投与による出血を防ぐことができた（M4.2.1.1　試験番号 SBR 04/05）。

#旧製剤A　及び Beriplex® P/N の安全性薬理試験として、麻酔下及び覚醒下イヌを用いた 5 試験を実施した（M4.2.1.3　試験番号 139-35、P-201、174.1-35、P-274 及び P-297）。イヌの安全性薬理試験の成績をまとめると、Beriplex® P/N は累積投与量 350 IU/kg まで循環器、呼吸器、臨床病理パラメータに対して良好な忍容性を示した。本剤で期待される薬力学的作用に従い、凝固系の活性化が認められた。また、マウス及びラットの単回投与毒性試験では、中枢神経系への影響を示唆する臨床徴候は観察されなかった（M4.2.3.1　試験番号 139-11、139-12 及び B23692）。

Beriplex® P/N の凝固系への影響を TEG により検討するため、ブタを用いて TEG 改良法の ROTEM 試験を実施した（M4.2.1.1　試験番号 PSS 01/06）。Beriplex® P/N を投与量 36.8 IU/kg で静脈内投与した結果、凝固時間（CT）及び血餅形成時間（CFT）が短縮したが最大血餅硬度（MCF）への影響はみられなかった。また、PT は短縮したが、血小板数への影響は認められなかった。血液凝固第Ⅱ、Ⅶ、Ⅸ及びⅩ因子の血漿中活性は上昇した。これらの所見はプロトロンビン複合体の凝固系への影響と一致していた。

表 2.4-2：薬理試験

試験の種類	試験番号	バッチ番号	使用製剤	GLP 適合
血栓形成性、ウサギ	139-04	[redacted]	#旧製剤A	適
血栓形成性、ウサギ	P-207		Beriplex® P/N	不適
クマリン抗凝固リバーサル、ラット	SBR 04/05		Beriplex® P/N	不適
薬力学的作用、ブタ	PSS 01/06		Beriplex® P/N	不適
安全性薬理、イヌ	139-35		#旧製剤A	適
安全性薬理、イヌ	P-201		Beriplex® P/N	不適
安全性薬理、イヌ	174.1-35		Beriplex® P/N	適
安全性薬理、イヌ	P-274		Beriplex® P/N	適
安全性薬理、イヌ	P-297		Beriplex® P/N	適
単回投与毒性、マウス	139-11		#旧製剤A	適
単回投与毒性、ラット	139-12		#旧製剤A	適
単回投与毒性、ラット	B23692		Beriplex® P/N	適

＃新薬承認情報提供時に置き換え

2.4.3　薬物動態試験

ヒト血液製剤の薬物動態を動物で適切に再現できるようなモデルは存在しない。また、同種及び異種タンパク質の代謝は必ずしも類似するとは限らない。そのうえ、乾燥濃縮人プロトロンビン複合体製剤（PCC）のヒトにおける薬物動態はよく知られており、プロトロンビン複合体の濃度はそれぞれのタンパク質の合成、分布及び代謝を反映したものである。そのため、動物試験を実施しても意味のある追加情報は得られないと考えられることから、 #旧製剤A 及び Beriplex® P/N について通常の ADME（吸収、分布、代謝、排泄）試験は実施しなかった。

プロトロンビン複合体をヒトに静脈内投与した場合の半減期に関する文献情報（Fickenscher 1998；Weiss ら 1987；Bertina 1985）及び CSL ベーリング社で実施した最近の薬物動態試験 BE1116_1001（試験成績は M5.3.3.1-1 を参照）のデータに基づく各血液凝固因子の半減期を表 2.4-3 に示した。

表 2.4-3：プロトロンビン複合体に含有される血液凝固因子の半減期

血液凝固因子	文献値	試験番号 BE1116_1001・中央値（範囲）
血液凝固第Ⅱ因子	2 日 [a]	59.7（25.0～135.3）時間
血液凝固第Ⅶ因子	2～5 時間 [a]	4.2（2.1～9.2）時間
血液凝固第Ⅸ因子	12～30 時間 [a]	16.7（9.5～127.1）時間
血液凝固第Ⅹ因子	32 時間 [a]	30.7（16.9～43.8）時間
プロテイン C	15 時間 [b]	47.2（9.3～121.7）時間
プロテイン S	60 時間 [c]	該当なし

a）Fickenscher 1998
b）Weiss ら 1987
c）Bertina 1985

本剤（Beriplex® P/N 製剤）で使用するウイルス除去膜フィルター[redacted]を[redacted]から[redacted]に変更することの妥当性を担保するため、薬物動態学的同等性の検討を行った（M4.2.2.2　試験番号 PSR 13-13）。

ウイルス除去膜のフィルター[redacted]と[redacted]を使用した 2 種類の Beriplex® P/N を投与量 50 IU/kg で 1 群当たり 12 例の雌ラットに静脈内投与した。ラット血漿中におけるヒト血液凝固第Ⅸ因子の薬物動態学的評価より、フィルター[redacted]と[redacted]を使用した Beriplex® P/N の両製剤は同等の薬物動態学的特性を示し、本試験条件下で生物学的同等性が確認された。また、これらの試験成績は、ウイルス除去膜フィルターの異なる Beriplex® P/N を静脈内投与した際にヒト血液凝固第Ⅱ、Ⅶ及びⅩ因子も両製剤で同等の薬物動態を示したことにより裏付けられた。

2.4.4　毒性試験

#旧製剤A　（M4.2.3.1　試験番号 139-11 及び 139-12）及び Beriplex® P/N（M4.2.3.1　試験番号 B23692）の静脈内単回投与毒性は、マウス（139-11）及びラット（139-12 及び B23692）で評価した。動物はスケジュールどおり、試験終了時の 6 日目（B23692）又は 14 日目（139-11 及び 139-12）に剖検した。

マウスでは、#旧製剤A の投与量200 IU/kg で1 例が死亡し、数例の動物で粗毛が観察され、体重増加に影響が認められたが、投与量 60 IU/kg まで忍容性は良好であった。ラットでは、#旧製剤A　は投与量 100 IU/kg まで良好な忍容性を示し、臨床的な悪影響は認められなかった（試験番号 139-12）。

ラットにおける単回投与毒性試験では、Beriplex® P/N を投与量 50、100 及び 500 IU/kg で静脈内投与し、毒性を評価した（試験番号 B23692）。評価項目は動物の生死、一般状態観察、病理学的検査（剖検所見を含む）、凝固系検査、血液学的検査、血液生化学的検査及びトキシコキネティクス（TK）とした。投与量 500 IU/kg では、26 例中 4 例の動物は予定剖検前に死亡又は瀕死状態のために安楽死に供した。相対摂餌量（体重当たりの摂餌量 g/kg）は投与後 3 日目まで減少し、剖検時には脾臓重量の増加が認められた。病理組織学的検査では、肝臓及び脾臓でごく軽微な髄外造血の増加が全体的に観察された。無毒性量（NOAEL）は 100 IU/kg と推定された。

#旧製剤A　及び Beriplex® P/N の静脈内、動脈内及び静脈周囲投与による局所刺激性についてウサギで評価した（M4.2.3.6　試験番号 139-24、174.1-24 及び APQ0048）。 #旧製剤A を 100 IU/animal（約 43.5 IU/kg）で静脈内及び動脈内投与した場合、並びに 2 IU/animal（約 0.9 IU/kg）で静脈周囲投与した場合、#旧製剤A　は中等度の忍容性を示すと判断された（139-24）。後続の試験において、Beriplex® P/N を 125 IU/animal で静脈内投与した結果、良好な忍容性が認められた（174.1-24）。追加試験では、Beriplex® P/N のウイルス除去膜フィルター[redacted]を[redacted]から[redacted]に変更しても、両製剤は、投与量 50 IU/kg を臨床推奨最高注入速度 3 IU/kg/min に相当する注入速度 0.12 mL/kg/min で静脈内投与された際に同等の忍容性を示したため、ウイルス除去膜フィルター[redacted]の変更は Beriplex® P/N の局所忍容性に影響を及ぼさなかった（APQ0048）。局所刺激性試験全体として、Beriplex®製剤を静脈内、動脈内及び静脈周囲投与しても、投与による全身徴候は観察されず、良好な忍容性が認められた。

ネオ抗原性試験において、 #旧製剤A　のパスツリゼーション処理により形成される可能性のある新たな抗原決定基（ネオ・エピトープ）の出現について検討した（M4.2.3.7.7　試験番号 V-369b）。ウサギを　#旧製剤A で免疫すると、PCC タンパク質に対する沈降抗体が産生された。これらの抗体をパスツリゼーション非処理の PCC タンパク質に 3 回吸着した結果、3 回目の吸着後には沈降抗体は検出されなかった。オクタロニー法及びモルモットを用いる受身皮膚アナフィラキシー反応の両試験において、いずれのネオ・エピトープも形成されないことが示された。したがって、パスツリゼーション処理により、いずれの PCC タンパク質にもネオ・エピトープは形成されないと考えられた。

ウイルス除去膜処理は、通常の pH 、浸透圧及び温度条件下で行われる緩和な製造工程であるため、Beriplex® P/N に含まれるタンパク質の品質及び特性に変化を与えることは想定されない。Beriplex® P/N の *in vitro* 試験、検討試験及び臨床適用経験において、ウイルス除去膜処理によるネオ抗原の出現は示されていない。したがって、Beriplex® P/N のネオ抗原性試験は実施しなかった。

表 2.4-4：毒性試験

試験の種類	試験番号	バッチ番号	使用製剤	GLP 適合
急性毒性、マウス	139-11	[redacted]	# 旧製剤 A	適
急性毒性、ラット	139-12	[redacted]	# 旧製剤 A	適
急性毒性、ラット	B23692	[redacted]	Beriplex® P/N	適
静脈内、動脈内及び静脈周囲投与局所刺激性、ウサギ	139-24	[redacted]	# 旧製剤 A	適
静脈内投与局所刺激性、ウサギ	174.1-24	[redacted]	Beriplex® P/N	適
静脈内、動脈内及び静脈周囲投与局所刺激性、ウサギ	APQ0048	[redacted]	Beriplex® P/N（ウイルス除去膜フィルター[redacted]：[redacted]）	適
		[redacted]	Beriplex® P/N（ウイルス除去膜フィルター[redacted]：[redacted]）	
ネオ抗原性、ウサギ及びモルモット	V-369b	[redacted]	# 旧製剤 A	不適

2.4.5　総括及び結論

ビタミン K 拮抗薬の治療を受けている患者は出血のリスクが増大する。外科手術及び外傷時の大量出血は生命を脅かすことがしばしばみられる。出血を迅速かつ確実にコントロールするために、本剤を使用する価値がある。本剤の予定とする効能・効果は、「ビタミン K 拮抗薬（ワルファリン等）療法中の患者における急性重篤出血時あるいは外科手術又は侵襲的処置が求められる場面での血液凝固因子欠乏症の速やかな是正」である。

本剤の薬力学的効果はげっ歯類及び非げっ歯類のモデルで証明された。

ビタミン K 拮抗薬を用いるラット出血モデルにおいて、Beriplex® P/N は投与量 50 IU/kg で PT 及び aPTT を正常化させ、クマリンの過量投与による出血を防いだ（M4.2.1.1　試験番号 SBR 04/05）。

ブタを用いた試験では、Beriplex® P/N は投与量 36.8 IU/kg で CT 及び CFT を短縮させたが、MCF への影響がなく、血餅形成は加速したが血餅強度は影響を受けないとの結論に至った。本試験において、PT は短縮したが、血小板数への影響は観察されなかった。プロトロンビン複合体の 4 血液凝固因子である第Ⅱ、第Ⅶ、第Ⅸ及び第Ⅹ因子の血漿中活性はすべて上昇した（M4.2.1.1　試験番号 PSS 01/06）。

ウサギの希釈性凝固障害及び腎臓損傷モデルにおいて、Beriplex® P/N は止血時間及び血液損失量ともに有意に減少させた。それに伴い最大トロンビン生成が増大したことにより、観察された止血効果の基となる作用機序が明確になった（Pragst ら 2010）。

他の凝固促進薬と同様に、Beriplex® P/N の薬理活性は血栓形成作用に基づき評価が可能である。ウサギの静脈うっ滞モデルにより、投与量 100 IU/kg より血栓形成性が観察された（M4.2.1.1

試験番号 139-04 及び P-207)。血栓形成性及び止血作用ともに明確な用量相関性が認められ、十分な治療域があることが示唆された（Pragst ら 2010)。

本剤の副作用を検討するため、げっ歯類及び非げっ歯類を用いて安全性薬理試験及び毒性試験を実施した。

麻酔下及び覚醒下イヌを用いた 5 試験、並びにマウス及びラットを用いた 3 試験により、#旧製剤A　及び Beriplex® P/N の安全性薬理プロファイルが明らかにされた（M4.2.1.3　試験番号 139-35、P-201、174.1-35、P-274 及び P-297;M4.2.3.1　試験番号 139-11、139-12 及び B23692)。循環器、呼吸器、中枢神経系及び臨床病理パラメータに対する影響は認められなかった。初期に実施された 1 試験において、 #旧製剤A　の累積投与量 90 IU/kg で白血球数及び血小板数の軽度かつ可逆的な減少が観察された。この変化は免疫応答による可能性が考えられたが、それ以降の後続製剤では観察されなかった。安全性薬理に関する 5 試験では、本剤投与群のいずれのイヌにも死亡及び重大な臨床徴候は認められなかった。血液凝固パラメータの解析結果から、プロトロンビン複合体に含まれる血液凝固因子の薬力学的作用により、血液凝固亢進状態であることが示された。そこで、過度の薬理作用を防ぐために注意深く用量設定を行う必要性があることが示唆された。

ヒトのタンパク質である本剤は動物にとって異種タンパク質であり、ヒトタンパク質に対する直接の免疫反応により消失動態が影響を受けるため、通常の ADME 試験は実施しなかった。本剤の製造工程で使用されるウイルス除去膜フィルター[redacted]の変更については、ラットを用いた薬物動態による生物学的同等性試験において、変更前後の製剤間で同等の薬物動態学的プロファイルを示したことにより、影響のないことが確認された（M4.2.2.2　試験番号 PSR 13-13）

#旧製剤A　をマウス及びラットに静脈内単回投与した場合の急性毒性について検討した（M4.2.3.1　試験番号 139-11 及び 139-12）。 #旧製剤A を 200 IU/kg で投与したマウスでは、1 例が死亡し、体重増加に影響がみられたが、投与量 60 IU/kg まで忍容性は良好であった（139-11）。ラットでは、#旧製剤A の忍容性が良好であり、投与量 100 IU/kg まで臨床的に悪影響は認められなかった（139-12)。Beriplex® P/N の投与量 500 IU/kg で 26 例中 4 例は死亡又は瀕死状態のために安楽死に供した。本試験における NOAEL は 100 IU/kg と推定された（M4.2.3.1　B23692)。

本剤は実験動物にとって異種タンパク質であるため、反復投与試験を実施してもアナフィラキシー反応の誘発により、臨床的に意味のある情報は得られないと考えられたことから、反復投与毒性試験は実施しなかった。

本剤はヒト血漿中の生理学的成分であり、遺伝毒性、発がん性及び催奇形性を示すことは予想されない。したがって、遺伝毒性試験、がん原性試験及び生殖発生毒性試験は実施しなかった。

#旧製剤A　及び Beriplex® P/N の静脈内、動脈内及び静脈周囲投与による局所刺激性をウサギで検討した（M4.2.3.6　試験番号 139-24、174.1-24 及び APQ0048）。#旧製剤Aについては、投与部位に中等度かつ可逆的な変化が認められたために中等度の忍容性を示し、一方、Beriplex® P/N は局所的に良好な忍容性を示すと判断された。Beriplex® P/N は、推奨される注入

速度 0.12 mL/kg/min（= 3 IU/kg/min）で静脈内又は動脈内投与すると良好な忍容性を示した。同一試験において、Beriplex® P/N のウイルス除去膜処理で使用されるフィルター[redacted]を[redacted]から[redacted]への変更は、フィルター[redacted]の異なるウイルス除去膜処理で製造された両製剤の局所刺激性に影響を及ぼさないことも確認された。

パスツリゼーション処理により形成される可能性のあるネオ・エピトープについて検討するため、ウサギを　#旧製剤A　で免疫した。免疫した動物から血清を採取し、オクタロニー試験で検討した。オクタロニー試験では、パスツリゼーション処理で形成される可能性のあるネオ抗原は検出されなかった。この *in vitro* モデルは比較的感度が低いと考えられていることから、モルモットを用いる異種受身皮膚アナフィラキシー反応を実施した。吸着抗血清投与後の動物の反応については、同一条件下で正常ウサギ血清を投与した対照動物と差異がみられなかった（M4.2.3.7.7　試験番号 V-369b）。

実施された非臨床試験の結果、本剤を臨床用量に相当する用量で投与した場合には毒性所見は認められず、推奨される投与速度では局所の忍容性は良好であり、また、製造工程でネオ・エピトープは形成されないことが示された。本剤は強い効力を示す製剤であるため、薬力学的作用が過度に発現した場合、血栓形成作用が現れうることを考慮する必要がある。

2.4.6　参考文献一覧

Baglin T. Management of warfarin (coumarin) overdose. Blood reviews. 1998; 12: 91-98.

Bertina RM. Hereditary protein S deficiency. Haemostasis. 1985; 15: 241-246.

Fickenscher K. Analysis of individual coagulation factors. In: Clinical Laboratory Diagnostics/Lothar Thomas (ed.), TH-Books-Verl.-Ges., Frankfurt. 1998; 607-609.

Furie B, Furie BC. Molecular and cellular biology of blood coagulation (Review). N Engl J Med 1992; 326: 800-806.

Hanke AA, Rodewald L, Joch C, Görlinger K. Efficacy and long-term safety of a pasteurized nanofiltrated prothrombin complex concentrate (Briplex® P/N): J. Thromb. Haemost. 2009, Vol. 7 (Suppl. 2): pp. 697.

Hanke AA, Joch C, Görlinger K. Long-term safety and efficacy of a pasteurized nanofiltrated prothrombin complex concentrate (Beriplex P/N): a pharmacovigilance study. Br. J. Anaesth. 2013, 110(5): 764-772.

Ichinose A, Davie EW. The blood coagulation factors: their cDNAs, genes, and expression. In: Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, Salzman EW (eds): Hemostasis and Thrombosis (3rd), JB Lippincott Co., Philadelphia, Pa.1994; 19-54.

Jackson CM, Brenckle GM. Biochemistry of the vitamin K-dependent clotting factors. In: Ménaché D, MacN Surgenor D, Anderson HD (eds): Hemophilia and Hemostasis, Allan R. Liss, Inc., New York. 1981; 27-56.

Lorenz R, Kienast J, Otto IU, Egger K, Kiehl M, Schreiter D, Kwasny H, Haertel S, Barthels M. Efficacy and safety of a prothrombin complex concentrate with two virus-inactivation steps in patients with severe liver damage. European J. Gastroenterology & Hepatology. 2003; 15: 15-20.

Pragst I, Kaspereit F, Dörr B, Dickneite G. Prothrombin complex concentrate (Beriplex P/N) for control of bleeding after kidney trauma in a rabbit dilutional coagulopathy model. Thromb Res. 2010; 125(3): 272-277.

Preston FE, Laidlaw ST, Sampson B, Kitchen S: Rapid reversal of oral anticoagulation with warfarin by a prothrombin complex concentrate (Beriplex): efficacy and safety in 42 patients. Br. J. Haematol. 2002; 116, 3: 619-624.

Roberts HR, Griffith MJ, Braunstein KM, Lundblad RL. Structural abnormalities of the vitamin K-dependent clotting factors. In: Ménaché D, MacN Surgenor D, Anderson HD (eds): Hemophilia and Hemostasis, Allan R. Liss, Inc., New York. 1981; 85-102.

Weiss P, Soff GA, Halkin H, Seligsohn U, Decline of proteins C and S and factors II, VII, IX and X during the initiation of warfarin therapy. Thromb Res. 1987; 45: 783-790.