エイフスチラ静注用

2.6　非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.1　緒言

CSL ベーリング株式会社

目　次

略語・略号一覧 3
2.6.　非臨床試験の概要文及び概要表 4
2.6.1.　緒言 4

図の目次

図 2.6.1-1：　rFVIII の活性化 4

略語・略号一覧

略語・略号	定義（英語）	定義（日本語）
CHO	Chinese Hamster Ovary	チャイニーズハムスター卵巣
FVIII	Coagulation factor VIII	血液凝固第 VIII 因子
FVIIIa	Activated coagulation factor VIII	活性化血液凝固第 VIII 因子
IU	International units	国際単位
kg	Kilogram	キログラム
KO	Knockout	ノックアウト
rFVIII	Recombinant human coagulation factor VIII	遺伝子組換えヒト血液凝固第 VIII 因子
rFVIIIa	Recombinant activated human coagulation factor VIII	活性化遺伝子組換えヒト血液凝固第 VIII 因子

本剤の表記について

本文書を通じて以下の表記を使用する。

- 本剤（エイフスチラ静注用）について、「rVIII-SingleChain」又は「CSL627」と表記する。

2.6. 非臨床試験の概要文及び概要表

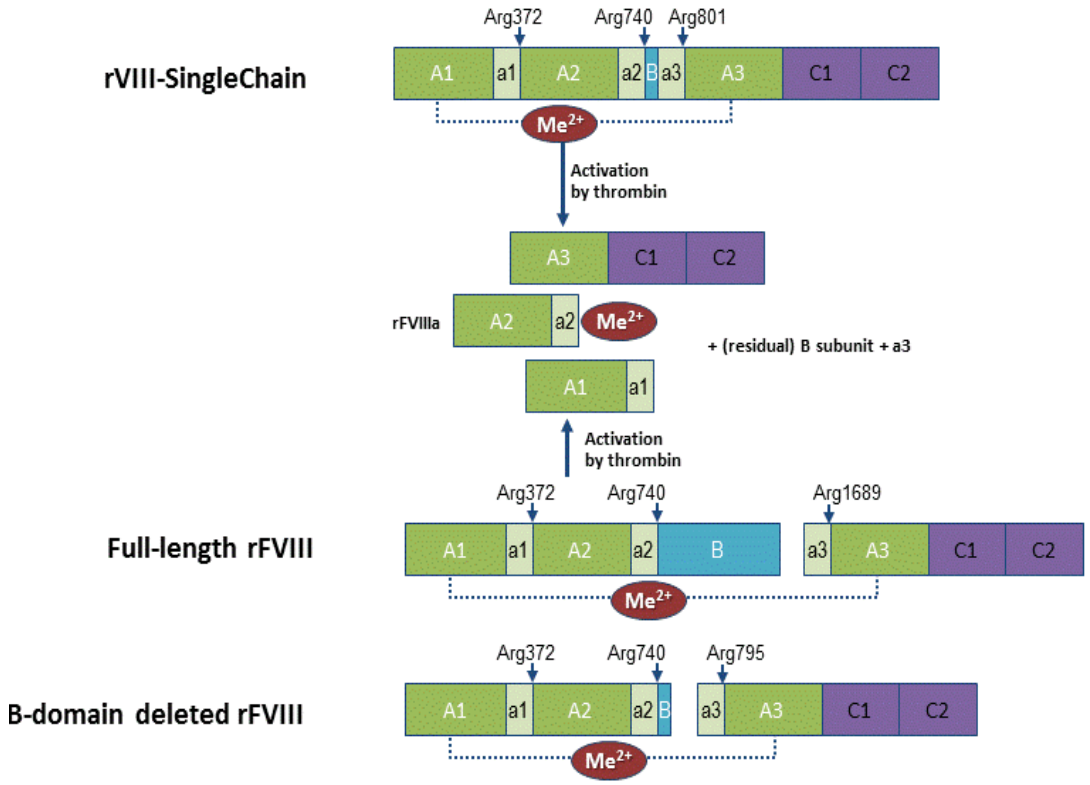
2.6.1. 緒言

遺伝子組換え単鎖血液凝固第 VIII 因子（製品番号 CSL627）は、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞で産生された単鎖の遺伝子組換えヒト血液凝固第 VIII 因子（rFVIII）製剤である。

CSL627 では、野生型の全長第 VIII 因子（FVIII）で発現する B 領域の大部分と、隣接する酸性 a3 ドメインの 4 個のアミノ酸が除去されている（全長 FVIII のアミノ酸 765～1652 が除去）。新たに形成された FVIII の H 鎖と L 鎖の結合には、新規の N-グリコシル化部位が導入されている。野生型 FVIII の B 領域と a3 領域の間に存在するフューリン切断部位が除去されていることから、CSL627 は単鎖の FVIII 分子として発現する。

トロンビンによる活性化及び（剰余の）B 領域・a3 ドメインの除去を経て、活性化 rFVIII（rFVIIIa）分子は、全長複鎖 FVIII から形成される野生型 FVIIIa と同一構造を有する（図 2.6.1-1）。

図 2.6.1-1：　rFVIII の活性化



図は rFVIII の活性化経路を示す。rFVIII の活性化後、トロンビンにより rFVIII が開裂部位（小さい矢印）で分割され、3 つのすべての分子（全長 rFVIII、B 領域欠失 rFVIII 及び単鎖 rFVIII）が同一構造を有する活性化 FVIII 分子に変換される（図中央部の rFVIIIa）。

CSL627 は、血友病 A 患者の治療に使用することを予定している。血友病 A 患者で推奨される治療は凝固因子の補充療法であり、出血事象への対処として又は外科的手術等での出血傾向の抑制を目的として、疾患の重篤度に応じて FVIII 製剤が投与される。このように、FVIII 補充療法は通常生涯継続される治療であり、必要に応じて、毎日、隔日又は週 3 回のような定期的なスケジュールで投与される。

血友病 A マウス［FVIII ノックアウト（KO）マウス］を用いて市販の FVIII 製剤と比較した非臨床薬力学データに基づき、出血傾向の抑制に適用する場合の本剤の 1 日投与量は最大 50 IU/kg を予定している。同様に、生命を脅かす病態での適用には、患者当たり 1 日最大 200 IU/kg を予定している。なお、臨床投与経路は静脈内投与の予定である。

エイフスチラ静注用

2.6　非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.2　薬理試験の概要文

CSL ベーリング株式会社

目　次

略語・略号一覧 7
2.6.2. 薬理試験の概要文 9
2.6.2.1. まとめ 9
2.6.2.2. 効力を裏付ける試験 10
2.6.2.2.1. 非臨床毒性試験に使用した動物種におけるトロンビン生成を指標とした CSL627 の薬力学的効果（試験番号 IVR[redacted]-03） 10
2.6.2.2.2. サル血漿中のトロンビン生成を指標とした CSL627 の薬力学的効果（試験番号 IVX[redacted]-10） 13
2.6.2.2.3. 血友病 A マウスにおける rVIII-SingleChain（CSL627）及び Advate®単回静脈内投与後のトロンボエラストグラフィー及びトロンビン生成パラメーターの薬力学的比較（試験番号 PSM[redacted]-18） 15
2.6.2.2.4. 血友病 A マウスにおける rVIII-SingleChain（CSL627）及び Advate®単回静脈内投与後の aPTT に関する薬力学的比較（試験番号 PSM[redacted]-23） 25
2.6.2.2.5. FVIII KO マウスにおける rVIII-SingleChain（CSL627）、Helixate®、ReFacto AF®及び Humate-P®投与後の止血効果（試験番号 ABM 03[redacted]）並びに FVIII KO マウスにおける rVIII-SingleChain、Helixate®、ReFacto AF®、Advate®及び Humate-P®投与後の止血効果（試験番号 ABM 01[redacted]） 30
2.6.2.3. 副次的薬理試験 39
2.6.2.4. 安全性薬理試験 39
2.6.2.4.1. CSL627：CD ラットにおける 4 週間静脈内（ボーラス）投与毒性試験及び 14 日間回復性試験（試験番号 APQ0013） 41
2.6.2.4.2. CSL627：カニクイザルにおける 4 週間静脈内（ボーラス）投与毒性試験（試験番号 APQ0014） 42
2.6.2.4.3. CSL627：麻酔ビーグル犬における血行動態及び呼吸機能への影響（静脈内点滴投与）（試験番号 APQ0016） 42
2.6.2.4.4. CSL627：覚醒ビーグル犬における心血管系テレメトリー試験（静脈内点滴投与）（試験番号 APQ0018） 43
2.6.2.4.5. CSL627：覚醒カニクイザルにおける心血管系テレメトリー試験（静脈内点滴投与）（試験番号 APQ0019） 45
2.6.2.5. 薬力学的薬物相互作用試験 46
2.6.2.6. 考察及び結論 46
2.6.2.7. 参考文献 47

表の目次

表 2.6.2-1：　CSL627 の薬力学的試験 10
表 2.6.2-2：　CSL627 を添加したラット血漿中のトロンビンピーク値に関する記述統計及び統計検定 13
表 2.6.2-3：　CSL627 を添加したカニクイザル血漿中のトロンビンピーク値に関する記述統計及び統計検定 15
表 2.6.2-4：　CSL627 又は Advate®を投与した FVIII KO マウスの TEG に関する記述統計 ... 16
表 2.6.2-5：　CSL627 又は Advate®を投与した FVIII KO マウスの TEG パラメーターに関する統計検定 21
表 2.6.2-6：　CSL627 又は Advate®を投与した FVIII KO マウスのトロンビン生成に関する記述統計 23
表 2.6.2-7：　CSL627 又は Advate®を投与した FVIII KO マウスのトロンビン生成に関する統計検定 23
表 2.6.2-8：　CSL627 又は Advate®を投与した FVIII KO マウスの aPTT に関する記述統計 26
表 2.6.2-9：　CSL627 又は Advate®を投与した FVIII KO マウスの aPTT に関する統計検定 27
表 2.6.2-10：　CSL627 又は Advate®を投与した FVIII KO マウスの FVIII 活性（凝固一段階法アッセイ）に関する記述統計 27
表 2.6.2-11：　CSL627 又は Advate®を投与した FVIII KO マウスの FVIII 活性（凝固一段階法アッセイ）に関する統計検定 27
表 2.6.2-12：　CSL627 又は Advate®を投与した FVIII KO マウスの FVIII 活性（発色合成基質法アッセイ）に関する記述統計 28
表 2.6.2-13：　CSL627 又は Advate®を投与した FVIII KO マウスの FVIII 活性（発色合成基質法アッセイ）に関する統計検定 29
表 2.6.2-14：　FVIII KO マウスにおけるロジスティック回帰モデルから推定した CSL627、Helixate®、ReFacto AF®又は Advate®投与の相対的止血効果（発色合成基質法で測定した FVIII 活性） 33
表 2.6.2-15：　FVIII KO マウスにおける共分散分析モデルから推定した CSL627、Helixate®、ReFacto AF®又は Advate®投与の総失血量に対する相対効力（発色合成基質法で測定した FVIII 活性） 34
表 2.6.2-16：　FVIII KO マウスにおけるロジスティック回帰モデルから推定した CSL627、Helixate®、ReFacto AF®又は Advate®投与の相対的止血効果（凝固一段階法で測定した FVIII 活性） 35

表 2.6.2-17:　FVIII KO マウスにおける共分散分析モデルから推定した CSL627、Helixate®、ReFacto AF®又は Advate®投与の総失血量に対する相対効力（凝固一段階法で測定した FVIII 活性）..... 36
表 2.6.2-18：　CSL627、Helixate®、ReFacto AF®、Humate-P®又は Advate®を投与した FVIII KO マウスの aPTT に関する記述統計 37
表 2.6.2-19：　CSL627 の安全性薬理試験 40

図の目次

図 2.6.2-1：　ラット血漿中のトロンビンピーク値に及ぼす CSL627 の効果 12
図 2.6.2-2：　カニクイザル血漿中のトロンビンピーク値に及ぼす CSL627 の効果 14
図 2.6.2-3：　FVIII KO マウスにおける CSL627 及び Advate®の凝固時間（CT）に及ぼす効果 17
図 2.6.2-4：　FVIII KO マウスにおける CSL627 及び Advate®の血餅形成時間（CFT）に及ぼす効果 17
図 2.6.2-5：　FVIII KO マウスにおける CSL627 及び Advate®の最大速度（MaxVel）に及ぼす効果 18
図 2.6.2-6:　FVIII KO マウスにおける CSL627 及び Advate®の最大速度到達時間（t-MaxVel）に及ぼす効果 18
図 2.6.2-7：　FVIII KO マウスにおける CSL627 及び Advate®の角度 α に及ぼす効果 19
図 2.6.2-8：　FVIII KO マウスにおける CSL627 及び Advate®の AUC に及ぼす効果 19
図 2.6.2-9：　FVIII KO マウスにおける CSL627 及び Advate®の最大血餅硬度（MCF）に及ぼす効果 20
図 2.6.2-10：　FVIII KO マウスにおける CSL627 及び Advate®の最大血餅硬度到達時間（t-MCF）に及ぼす効果 20
図 2.6.2-11：　FVIII KO マウスにおける CSL627 及び Advate®のラグタイムに及ぼす効果 23
図 2.6.2-12：　FVIII KO マウスにおける CSL627 及び Advate®のトロンビンピーク値に及ぼす効果 24
図 2.6.2-13：　FVIII KO マウスにおける CSL627 及び Advate®の内因性トロンビン活性（ETP）に及ぼす効果 24
図 2.6.2-14：　FVIII KO マウスにおける CSL627 及び Advate®のトロンビンピーク値到達時間に及ぼす効果 25
図 2.6.2-15：　FVIII KO マウスにおける CSL627 及び Advate®の aPTT に及ぼす効果 26
図 2.6.2-16：　FVIII KO マウスにおける CSL627 及び Advate®の FVIII 活性（凝固一段階法アッセイ）に及ぼす効果 28
図 2.6.2-17：　FVIII KO マウスにおける CSL627 及び Advate®の FVIII 活性（発色合成基質法アッセイ）に及ぼす効果 29
図 2.6.2-18：　FVIII KO マウス（テイルクリップ・モデル）における CSL627、Helixate®、ReFacto AF®、Humate-P®又は Advate®の用量依存的な止血効果 32
図 2.6.2-19：　FVIII KO マウス（テイルクリップ・モデル）における CSL627、Helixate®、ReFacto AF®、Humate-P®又は Advate®の総失血量に対する用量依存的効果 33
図 2.6.2-20：　FVIII KO マウスにおける CSL627、Helixate®、ReFacto AF®、Humate-P®又は Advate®の用量依存的な止血効果 35

図 2.6.2-21：　FVIII KO マウスにおける CSL627、Helixate®、ReFacto AF®、Humate-P®又は Advate®の総失血量に対する用量依存的効果 36
図 2.6.2-22：　FVIII KO マウスにおける CSL627、Helixate®、ReFacto AF®、Humate-P®又は Advate®の aPTT に対する用量依存的効果..... 38

略語・略号一覧

略語・略号	定義（英語）	定義（日本語）
AUC	Area under the plasma activity-time curve to infinity	血漿中濃度–時間曲線下面積
aPTT	Activated partial thromboplastin time	活性化部分トロンボプラスチン時間
CAT	Calibrated automated thrombogram	自動較正トロンボグラム
CFT	Clot formation time	血餅形成時間
CT	Clotting time	凝固時間
dP/dt_{max}	Maximum rate of pressure change	左室圧最大上昇率
dP/dt_{min}	Minimum rate of pressure change	左室圧最大降下率
ETP	Endogenous thrombin potential	内因性トロンビン活性
FVIII	Coagulation factor VIII	血液凝固第 VIII 因子
GLP	Good laboratory practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
ICH	International Conference on Harmonisation	日米 EU 医薬品規制調和国際会議
IU	International units	国際単位
kg	Kilogram	キログラム
KO	Knockout	ノックアウト
LVEDP	Left ventricular end diastolic pressure	左室拡張末期圧
LVP	Left ventricular pressure	左室圧
LVSP	Left ventricular systolic pressure	左室収縮期圧
MaxVel	Maximum velocity	最大速度
MCF	Maximum clot firmness	最大血餅硬度
mg	Milligram	ミリグラム
mL	Milliliter	ミリリットル
mm	Millimeter	ミリメートル
mmol	Millimolar	ミリモル
nmol	Nanomolar	ナノモル
n	number	動物数
PPP	Platelet poor plasma	乏血小板血漿
PR	Interval between P wave and onset of QRS	PR 間隔 : P 波から QRS 開始までの間隔
PS80	Polysorbate 80	ポリソルベート 80
PT	Prothrombin time	プロトロンビン時間
QRS	QRS interval	QRS 間隔
QT, QTc	(corrected) QT-interval: time from start of QRS complex to end of T-wave	QT（QTc）間隔 : QRS 開始から T 波終了までの時間
rFVIII	Recombinant human coagulation factor VIII	遺伝子組換えヒト血液凝固第 VIII 因子
ST	ST interval	ST 間隔
TEG	Thromboelastography	トロンボエラストグラフィー
TEM	Thromboelastometry	トロンボエラストメトリー

2.6.2　薬理試験の概要文
エイフスチラ静注用

略語・略号	定義（英語）	定義（日本語）
TGA	Thrombin generation assay	トロンビン生成試験
t-MaxVel	Time to maximum velocity	最大速度到達時間
t-MCF	Time to maximum clot firmness	最大血餅硬度到達時間
v/v	Volume per volume	容量／容量
w/v	Weight per volume	重量／容量

本剤の表記について

本文書を通じて以下の表記を使用する。

- 本剤（エイフスチラ静注用）について、「rVIII-SingleChain」又は「CSL627」と表記する。

2.6.2. 薬理試験の概要文

2.6.2.1.　まとめ

CSL627 の効力を裏付ける試験として *in vitro*、*ex vivo* 及び *in vivo* 試験を実施した。*In vitro* 試験は毒性試験に使用した動物種における薬力学的効果を証明するために、ラット及びサルの血漿を用いて実施した。一方、*ex vivo* 及び *in vivo* 試験は、血友病 A 患者と類似した凝固系の障害を示し、ヒトの患者と同様に出血リスクの増大がみられる（Øvlisen et al., 2008）血液凝固第 VIII 因子（FVIII）欠損マウス［FVIII ノックアウト（KO）マウス］を用いて実施した。

In vitro 試験では、CSL627 は CD ラットの血漿を用いたトロンビン生成試験（TGA）において、トロンビンピーク値の上昇及びピーク値到達時間の短縮を誘発して、濃度依存的な薬力学的効果を示した（試験番号 IVR[redacted]-03）。また、カニクイザルの血漿でもトロンビンピーク値の上昇、内因性トロンビン活性（ETP）の増加及びピーク値到達時間の短縮を特徴とする、濃度依存的な薬力学的効果が認められた（試験番号 IVX[redacted]-10）。これらの結果から、CSL627 の非臨床試験でラット及びカニクイザルが薬理学的に妥当な動物モデルであることが支持される。

FVIII KO マウスを用いて薬力学的効果を比較した *ex vivo* 試験、すなわちトロンボエラストグラフィー／トロンボエラストメトリー（TEG/TEM）及び TGA（試験番号 PSM[redacted]-18）、並びに活性化部分トロンボプラスチン時間（aPTT）測定試験（試験番号 PSM[redacted]-23）において、CSL627 及び市販の遺伝子組換えヒト血液凝固第 VIII 因子（rFVIII）製剤 Advate®を投与量 20 IU/kg で静脈内投与して効果を比較した。発色合成基質法で測定した FVIII 活性に基づいて投与した場合、CSL627 と Advate®は *ex vivo* で同等の薬力学的効果を示した。

FVIII KO マウスに CSL627 を投与量 1、5、15、40、100 及び 150 IU/kg で静脈内投与し、テイルクリップ・モデルを用いた *in vivo* 試験（試験番号 ABM 03/[redacted] 及び ABM 01/[redacted]）を実施した。その結果、対照群と比較して有意かつ用量依存的な総失血量の減少、止血までの時間及び aPTT の短縮が認められた。また、CSL627 の止血効果を市販の rFVIII 製剤のうち、全長型製剤の Helixate®及び Advate®、B 領域欠失型製剤の ReFacto AF®、並びに血漿由来のヒト血液凝固第 VIII 因子／フォン・ヴィレブランド因子複合体濃縮製剤の Humate-P®と比較した。発色合成基質法による FVIII アッセイに基づいて投与量を算出すると、CSL627 の止血効果は ReFacto AF®及び Helixate®と比べて差異はみられなかったが、Advate®よりわずかに優れた効果（aPTT 及び総失血量について効果が上回り、止血までの時間は同等）を示した。対照的に、凝固一段階法による FVIII アッセイに基づいて投与量を算出すると、CSL627 は ReFacto AF®、Helixate®及び Advate®より優れた効果を示した。したがって、これらの試験成績から、血友病 A 患者における本剤の臨床的効果が適切に反映され予測されると考えられる。

安全性薬理評価は、適用可能な場合には毒性試験に組み込んで実施し、必要に応じて独立した安全性薬理試験により補完した。

ラット（試験番号 APQ0013）及びカニクイザル（試験番号 APQ0014）を用いて、それぞれ最高 1250 IU/kg/日及び 500 IU/kg/日までの投与量で 28 日間反復投与毒性試験を実施した。い

ずれの動物種においても、CSL627 の投与に起因する肉眼的又は病理組織学的変化は観察されなかった。ラットでの試験では、Irwin テストにより CSL627 の中枢神経系に及ぼす影響を検討した結果、投与に関連した臨床症状の変化は認められなかった。

カニクイザルの反復投与毒性試験（試験番号 APQ0014）に組み込んで、電気生理学的パラメーター及び血圧について評価した。さらに、CSL627 の血行動態及び電気生理学的パラメーター並びに呼吸系機能に及ぼす影響について、イヌ（試験番号 APQ0016 及び APQ0018）又はサル（試験番号 APQ0019）を用いた麻酔条件下又はテレメトリー試験で検討した結果、累積投与量 1550 IU/kg まで CSL627 の投与に起因する有害所見は認められなかった。これらの試験成績から総合的に判断して、CSL627 の投与は心臓の電気生理学的機能及び血行動態、並びに呼吸系機能に影響を及ぼさないと考えられた。

以上のように、実施した非臨床の毒性・安全性試験から CSL627 の優れた忍容性及び高い安全性プロファイルが示された。これらの試験成績では、CSL627 の安全性に関する懸念は示されなかった。したがって、CSL627 は血友病 A 患者の治療に有効かつ安全な薬剤であることが示唆された。

2.6.2.2.　効力を裏付ける試験

CSL627 で実施した薬力学的試験の概略を表 2.6.2-1 に示す。

表 2.6.2-1：　CSL627 の薬力学的試験

試験の種類／動物種・系統	試験番号	バッチ番号	使用製剤	GLP 適用
効力を裏付ける試験／ラット	IVR[redacted]-03	[redacted]	CSL627	非適用
効力を裏付ける試験／カニクイザル	IVX[redacted]-10	[redacted]	CSL627	非適用
効力を裏付ける試験／FVIII KO マウス	PSM[redacted]-18	CSL627: [redacted]	CSL627、Advate®	非適用
効力を裏付ける試験／FVIII KO マウス	PSM[redacted]-23	CSL627: [redacted]	CSL627、Advate®	非適用
効力を裏付ける試験／FVIII KO マウス	ABM 03[redacted]	CSL627: [redacted]、	CSL627、Helixate®、ReFacto AF®、Humate-P®	非適用
効力を裏付ける試験／FVIII KO マウス	ABM 03[redacted] 及び ABM 01[redacted]	CSL627: [redacted]、	CSL627、Helixate®、ReFacto AF®、Advate®、Humate-P®	非適用

2.6.2.2.1.　非臨床毒性試験に使用した動物種におけるトロンビン生成を指標とした CSL627 の薬力学的効果（試験番号 IVR[redacted]-03）

本試験は CSL627 の薬力学的効果を評価することを目的に、CD ラットの血漿を用いて実施した。TGA は、FVIII の濃度が基準値の 10～320%の範囲で FVIII 製剤の薬理学的効果を判別する高感度のアッセイ（Matsumoto et al., 2009）であることから、本剤の止血効果を評価する

ために TGA を実施した。当該文献では、特にトロンビンピーク値及びピーク値到達時間が、ヒトで高感度のパラメーターであることが明らかとなっている。また、TGA はウサギを用いた止血効果を示す試験においても使用されている（Sugita et al., 2013）。

発色合成基質法で測定した FVIII 活性に基づき、雌 CD ラット血漿に CSL627 を 1～30 IU/mL の濃度で添加した。自動較正トロンボグラム（CAT）を使用した TGA により、薬力学的効果を測定した。PPP 試薬（[redacted]、[redacted]、オランダ）をトリガーとして、凝固を誘発した。TGA の評価項目としてトロンビンピーク値、ピーク値到達時間、ラグタイム及び内因性トロンビン活性について統計解析した。

CSL627 は陰性対照群と比較して、濃度依存的な薬力学的効果を示した（図 2.6.2-1 及び表 2.6.2-2 にトロンビンピーク値のデータを示す）。すなわち、CSL627 の濃度 10 IU/mL まで、濃度依存的かつ統計学的に有意にトロンビンピーク値が上昇しピーク値到達時間が短縮した。ラグタイムには CSL627 の濃度依存的な効果はみられず、ETP には CSL627 の影響は認められなかった。

図 2.6.2-1：　ラット血漿中のトロンビンピーク値に及ぼす CSL627 の効果

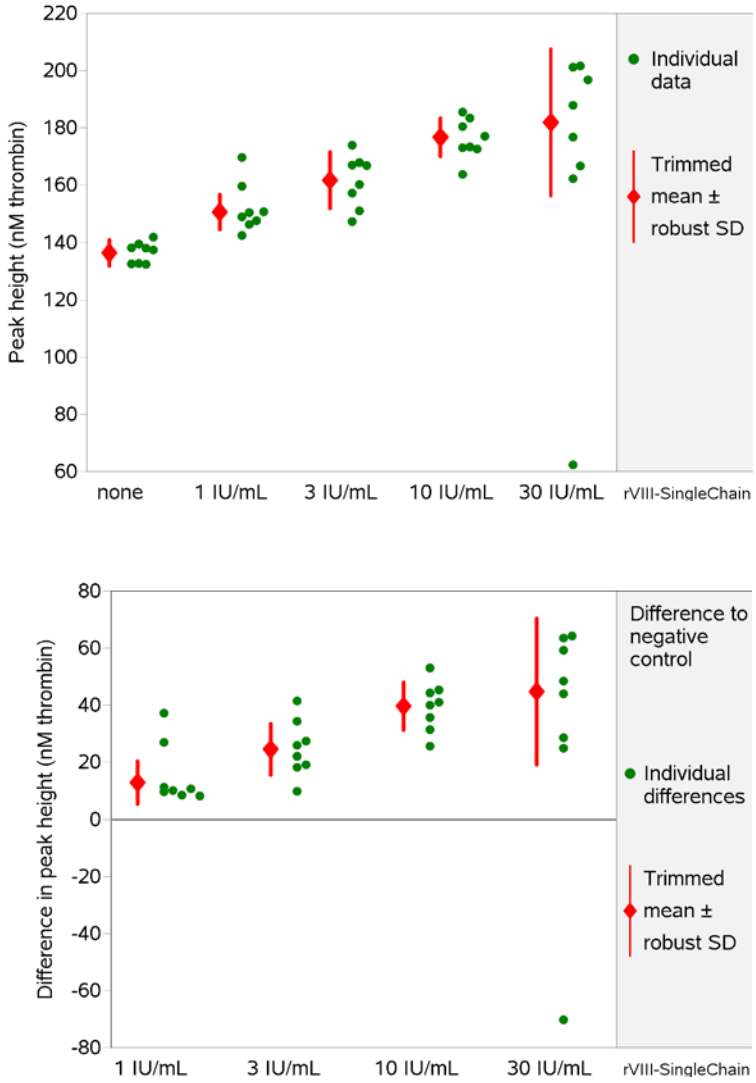


表 2.6.2-2:　CSL627 を添加したラット血漿中のトロンビンピーク値に関する記述統計及び統計検定

群	比較対象群	平均値差の推定値（トロンビン、nmol）	標準誤差（トロンビン、nmol）	両側 p 値*
1 IU/mL	陰性対照群	12.9	3.87	0.0205
3 IU/mL	陰性対照群	24.6	3.24	0.0006
10 IU/mL	陰性対照群	39.7	2.81	＜0.0001
30 IU/mL	陰性対照群	44.8	8.12	0.0027
3 IU/mL	1 IU/mL	9.8	2.23	0.0071
10 IU/mL	1 IU/mL	24.4	3.78	0.0013
30 IU/mL	1 IU/mL	30.7	7.04	0.0072
10 IU/mL	3 IU/mL	14.4	4.32	0.0207
30 IU/mL	3 IU/mL	21.2	4.58	0.0057
30 IU/mL	10 IU/mL	4.8	5.55	0.43

* 5 群のうちそれぞれの 2 群について、群間の差を t 検定で比較した。

以上のように、CSL627 はトロンビンピーク値の上昇及びピーク値到達時間の短縮を誘発し、CD ラットの血漿中でトロンビン生成に濃度依存的な薬力学的効果を示した。したがって、ラットは CSL627 の非臨床試験で薬理学的に妥当な動物モデルであることが支持される。

2.6.2.2.2. サル血漿中のトロンビン生成を指標とした CSL627 の薬力学的効果（試験番号 IVX[redacted]-10）

本試験は試験番号 IVR[redacted]-03 と同様に、CSL627 の薬力学的効果を評価することを目的に、カニクイザルの血漿を用いて実施した。

本試験においても、発色合成基質法により測定した乏血小板血漿に対する FVIII 活性に基づき、カニクイザル（[redacted]、ドイツ）の血漿に CSL627 を 1～30 IU/mL の濃度で添加した。

陰性対照群（緩衝液のみ）と比較した場合、本剤の最高濃度 30 IU/mL まで濃度依存的かつ統計学的に有意にトロンビンピーク値及び ETP が増加し、ピーク値到達時間が短縮した（図 2.6.2-2 及び表 2.6.2-3 にトロンビンピーク値のデータを示す）。トロンビンピーク値は 3 IU/mL から有意な作用がみられ、また、ピーク値到達時間及び ETP は 10 IU/mL から有意な作用が認められた。ラグタイムには、統計学的に有意かつ濃度依存的な CSL627 の影響はみられなかった。

図 2.6.2-2：　カニクイザル血漿中のトロンビンピーク値に及ぼす CSL627 の効果

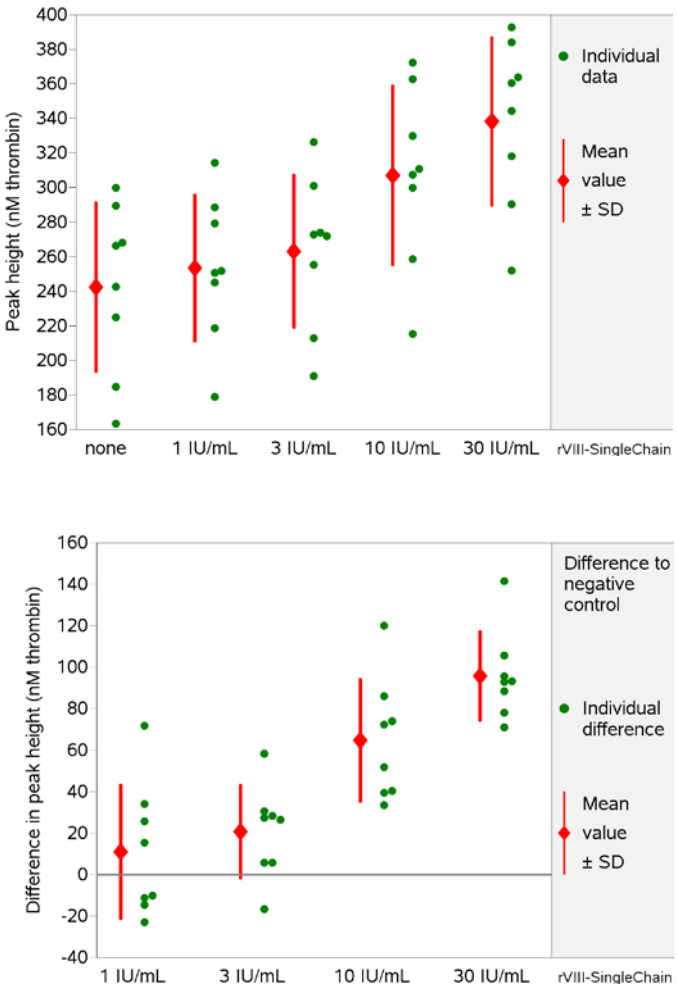


表 2.6.2-3:　CSL627 を添加したカニクイザル血漿中のトロンビンピーク値に関する記述統計及び統計検定

群	比較対象群	平均値差の推定値（トロンビン、nmol）	標準誤差（トロンビン、nmol）	両側 p 値*
1 IU/mL	陰性対照群	11.0	11.34	0.36
3 IU/mL	陰性対照群	20.7	7.90	0.0343
10 IU/mL	陰性対照群	64.7	10.39	0.0004
30 IU/mL	陰性対照群	95.8	7.54	< 0.0001
3 IU/mL	1 IU/mL	9.7	6.45	0.18
10 IU/mL	1 IU/mL	53.7	5.29	< 0.0001
30 IU/mL	1 IU/mL	84.8	6.59	< 0.0001
10 IU/mL	3 IU/mL	44.0	4.96	< 0.0001
30 IU/mL	3 IU/mL	75.1	3.97	< 0.0001
30 IU/mL	10 IU/mL	31.1	5.37	0.0007

* 5 群のうちそれぞれの 2 群について、群間の差を t 検定で比較した。

以上のように、CSL627 はトロンビンピーク値及び ETP の増加並びにピーク値到達時間の短縮を誘発し、カニクイザルの血漿中でトロンビン生成に濃度依存的かつ明瞭な薬力学的効果を示した。これらのデータから、CSL627 の非臨床試験でカニクイザルが薬理学的に妥当な動物モデルであることが支持される。

2.6.2.2.3. 血友病 A マウスにおける rVIII-SingleChain（CSL627）及び Advate®単回静脈内投与後のトロンボエラストグラフィー及びトロンビン生成パラメーターの薬力学的比較（試験番号 PSM[redacted]-18）

本試験は、CSL627 と市販の全長型 rFVIII 製剤 Advate®の薬力学的効果を比較検討することを目的に、FVIII を欠損する FVIII KO マウスの全血及び血漿を使用し、それぞれ TEG/TEM 及びトロンビン生成に関する *ex vivo* 試験を実施した。

rFVIII の両製剤、CSL627 及び Advate®を発色合成基質法で測定した FVIII 活性（CSL627 は社内測定データ、Advate®は表示力価）に基づき、採血の 15 分前に 20 IU/kg の用量で静脈内投与した。

各製剤の薬力学的効果を以下の方法で試験した。

- 全血の粘弾性の評価及び血液凝固の特性と関連する止血管理のモニタリングには、TEG/TEM を適用した（Shore-Lesserson et al., 1999、Despotis et al., 1994、Spalding et al., 2007、Rahe-Meyer et al., 2009）。活性化部分トロンボプラスチン時間（aPTT）やプロトロンビン時間（PT）のような従来の血漿を使用した凝固アッセイが単に凝固開始時間を検出するのに対し、TEM は止血作用に関する全体的な動態情報を提供する。全血を使用した凝固時間（CT、活性化剤／開始剤の添加から血餅形成開始までの時間）、血餅形成時間（CFT、血餅形成開始から 20 mm の振幅に達するまでの時間）、血餅安定性／最大血餅硬度（MCF、最大の振幅）及び血餅溶解（凝固開始後 60 分間に測定した振幅）の計測により、二次止

血の完全な検査が可能となる。本試験で使用したその他の TEG パラメーターは以下のとおりである。

Alpha angle（角度 α）：凝固曲線で血餅形成速度を示す 2 mm ポイントまでの接線とベースラインとの角度として定義する。

MaxVel：凝固曲線の一次微分から算出された血餅形成の最大速度

t-MaxVel：最大速度到達時間

t-MCF：最大血餅硬度到達時間

このように、TEM の種々のパラメーターは、血漿凝固系、血小板機能、線維素溶解及び一部の薬剤等これらの相互作用に影響を及ぼす多数の要因の活性に依拠する（Luddington 2005）。TEG 反応（NATEM アッセイ）は、カルシウム再沈着作用を有する活性化剤（HEPES 緩衝液中に $CaCl_2$ を 0.2 mol/L 含有する star-tem® 20 試薬）の添加なしに開始した。血液凝固障害を検出する感度が高いことから、本検査法を採用した。

- Pathromtin® SL 及びリン脂質（0.5 mmol Phospholipid-TGT）存在下で、CAT によりトロンビン生成を測定した。FVIII 活性に関連する *ex vivo* での指標として、トロンビン生成及び観察可能なトロンビン生成までのラグタイムを算出した。

いずれの製剤とも対照群と比較して、TEG 及びトロンビン生成パラメーターに明瞭な作用を示した。

トロンボエラストグラフィー：

20 IU/kg の CSL627 又は Advate®投与により、すべての TEG パラメーター［表 2.6.2-4：CT（図 2.6.2-3）、CFT（図 2.6.2-4）、MaxVel（図 2.6.2-5）、t-MaxVel（図 2.6.2-6）、角度 α（図 2.6.2-7）、AUC（図 2.6.2-8）、MCF（図 2.6.2-9）及び t-MCF（図 2.6.2-10）］で是正が認められた。いずれの rFVIII 製剤でも、TEG パラメーターに止血作用の回復を示す明瞭な効果が認められた。

表 2.6.2-4：　CSL627 又は Advate®を投与した FVIII KO マウスの TEG に関する記述統計

	溶媒対照群	CSL627 投与群	Advate®投与群
動物数	8/10 *	10	10
CT（秒）	2385 ± 1090	650 ± 64	511 ± 119
CFT（秒）	1141 ± 614	196 ± 38	166 ± 52
角度 α（°）	21 ± 17	54.9 ± 5.4	59.7 ± 8.7
MaxVel（mm/分）	3.1 ± 2.2	7.7 ± 1.7	9.0 ± 4.0
t-MaxVel（秒）	3040 ± 1787	759 ± 69	598 ± 135
t-MCF（秒）	2649 ± 745	3550 ± 448	3529 ± 252
MCF（mm）	43 ± 18	55.6 ± 4.8	56.0 ± 6.3

* 溶媒対照群の 2 例では MaxVel 及び t-MaxVel の測定ができなかった。
1 群 8～10 例の平均値 ± 標準偏差を示す。

図 2.6.2-3：　FVIII KO マウスにおける CSL627 及び Advate®の
凝固時間（CT）に及ぼす効果

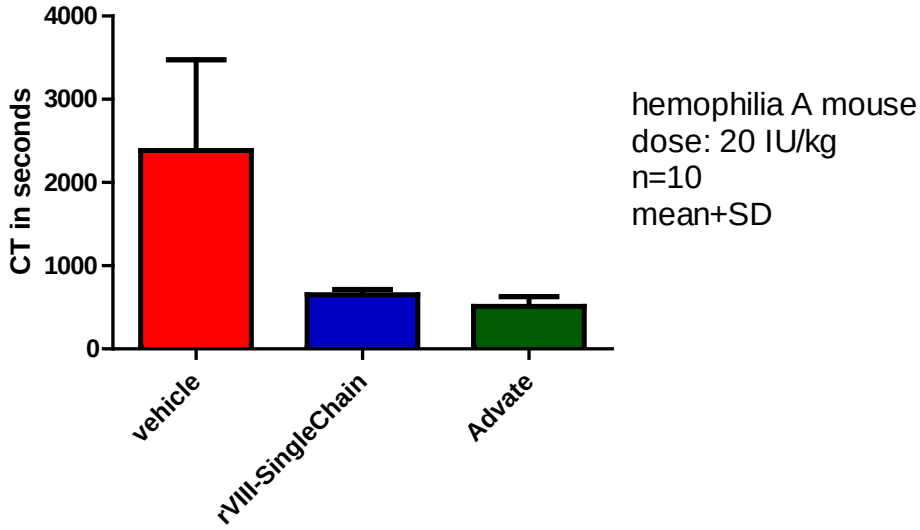


図 2.6.2-4：　FVIII KO マウスにおける CSL627 及び Advate®の
血餅形成時間（CFT）に及ぼす効果

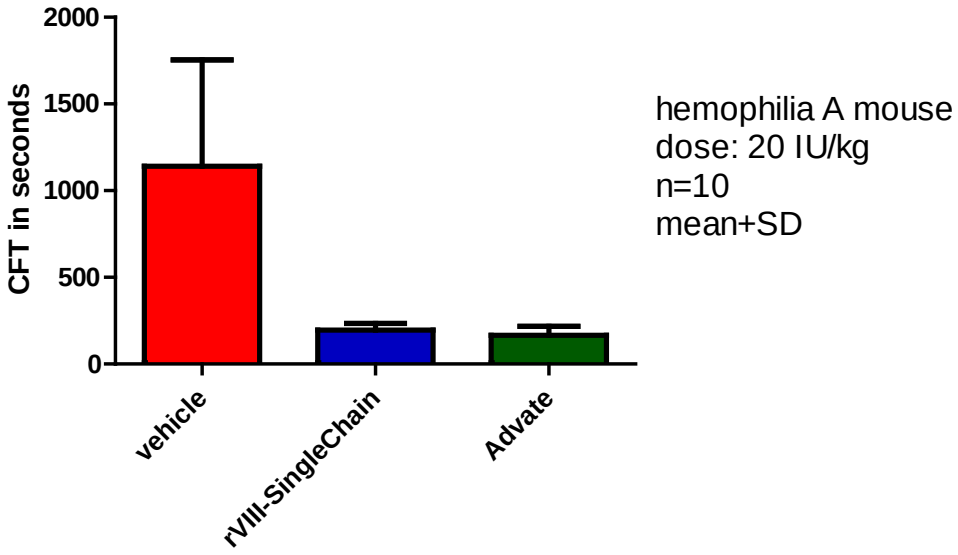


図 2.6.2-5：　FVIII KO マウスにおける CSL627 及び Advate®の
最大速度（MaxVel）に及ぼす効果

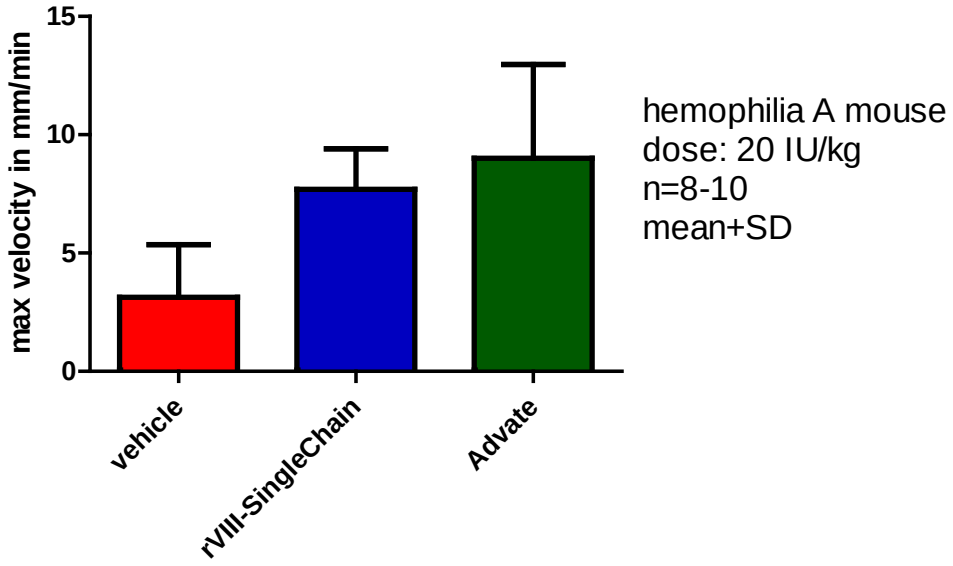


図 2.6.2-6：　FVIII KO マウスにおける CSL627 及び Advate®の
最大速度到達時間（t-MaxVel）に及ぼす効果

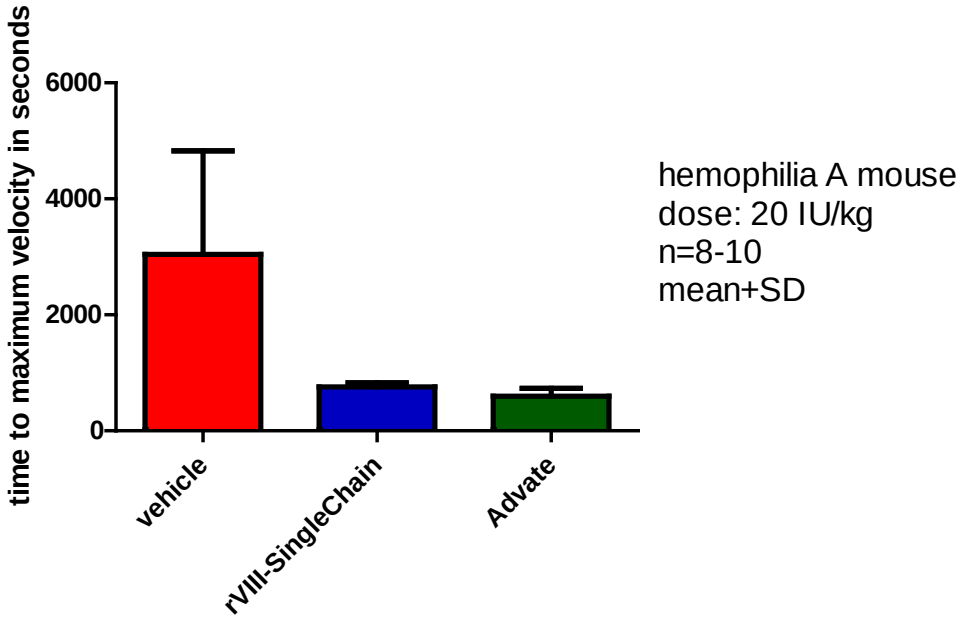


図 2.6.2-7：　FVIII KO マウスにおける CSL627 及び Advate®の角度 α に及ぼす効果

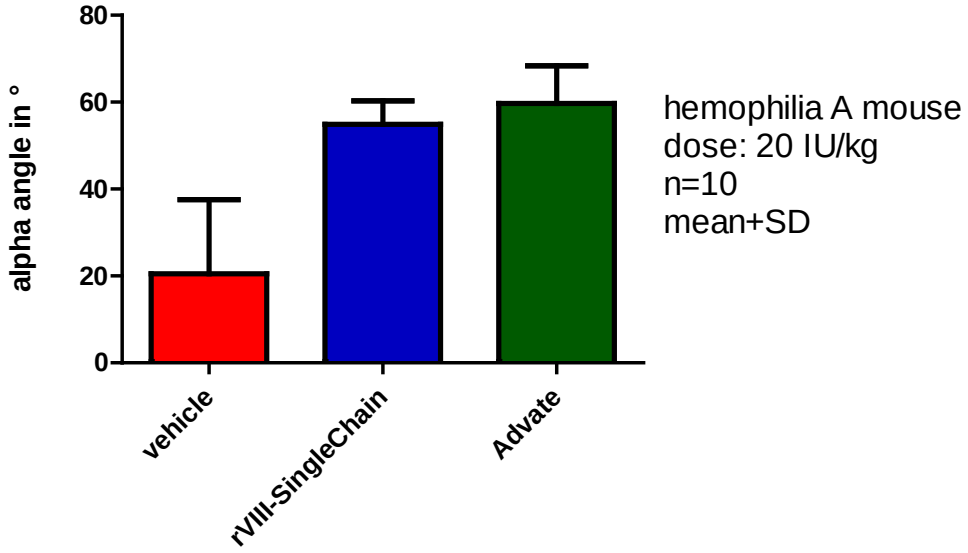


図 2.6.2-8：　FVIII KO マウスにおける CSL627 及び Advate®の AUC に及ぼす効果

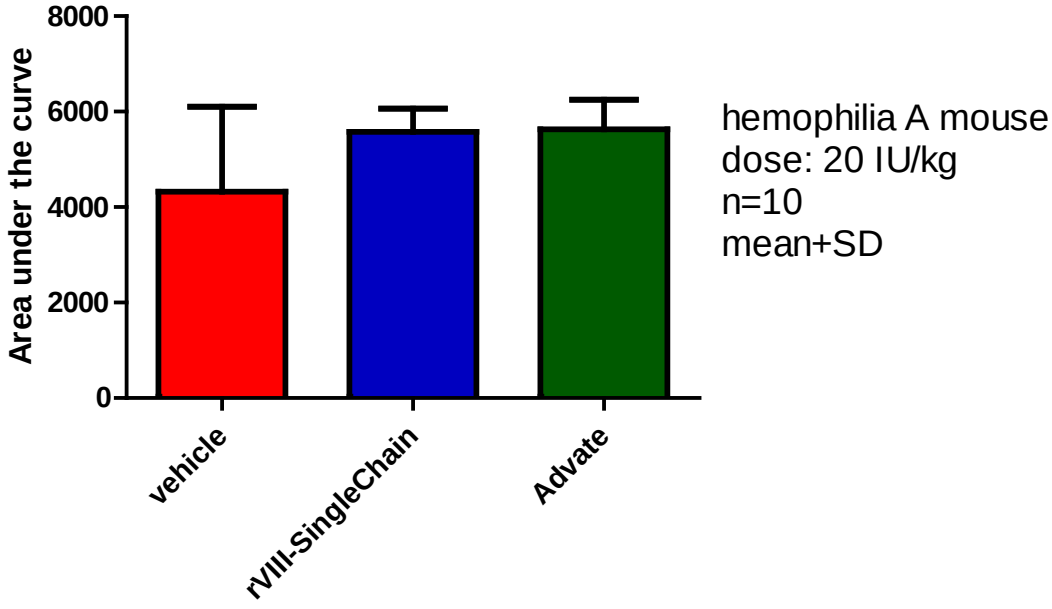


図 2.6.2-9：　FVIII KO マウスにおける CSL627 及び Advate®の
最大血餅硬度（MCF）に及ぼす効果

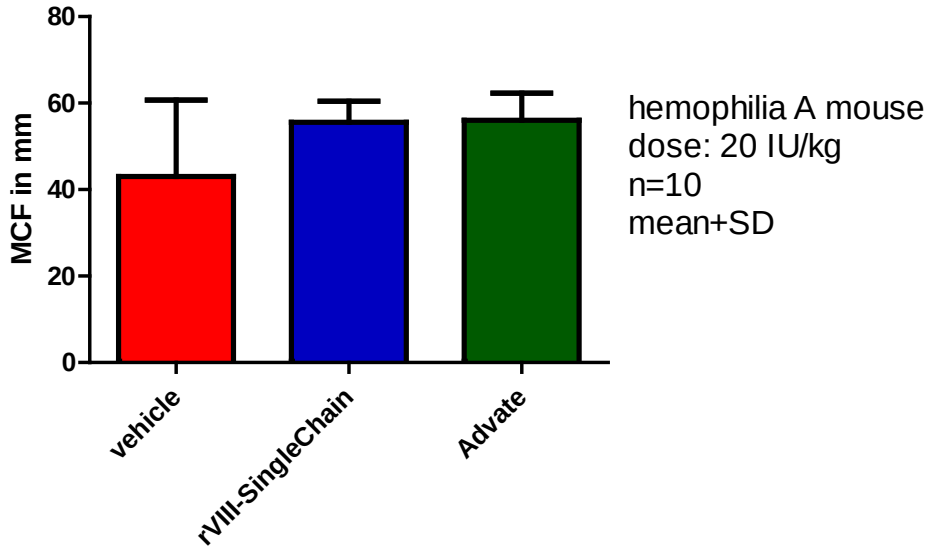
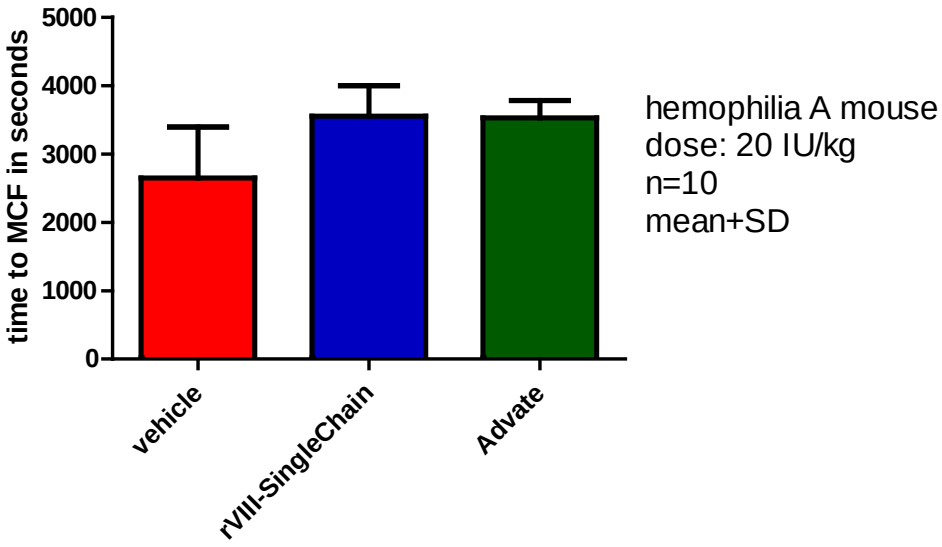


図 2.6.2-10：　FVIII KO マウスにおける CSL627 及び Advate®の
最大血餅硬度到達時間（t-MCF）に及ぼす効果



さらに、rFVIII 製剤 2 剤の効果を統計学的方法で比較した（表 2.6.2-5）。試験したすべてのパラメーターについて、CSL627 及び Advate®に対する反応は類似していた。

CSL627 及び Advate®はいずれも、CT 及び t-MaxVel を溶媒対照群と比べて有意に短縮した。CSL627 の Advate®に対する反応比率は 1.27（95%信頼区間の下限値 1.11）と小さいが統計学的に有意な差異が認められた。

一方、rFVIII 製剤の投与により CFT が短縮し MaxVel は増加したが、これらのパラメーターには CSL627 と Advate®の間で有意差はみられなかった。また、両製剤の角度 α に対する効果については、反応比率の 90%信頼区間が 0.84～1.02 であり同等と考えられた。さらに、MCF 及び t-MCF 等の変数は、両製剤で実質的に等しく（反応比率はそれぞれ 0.99 及び 1.01）、統計学的にも同等であった（p 値はそれぞれ p = 0.0001 及び p = 0.00002）。

表 2.6.2-5：　CSL627 又は Advate®を投与した FVIII KO マウスの TEG パラメーターに関する統計検定

変数	CSL627 の Advate®に対する反応比率の推定値	反応比率の 90%信頼区間	反応比率 = 1 に関する p 値	非同等性に関する p 値*
CT	1.27	1.11 − 1.48	0.0058	0.59
CFT	1.18	0.97 − 1.47	0.16	0.32
角度 α	0.92	0.84 − 1.02	0.16	0.0099
MaxVel	0.86	0.66 − 1.17	0.36	0.33
t-MaxVel	1.27	1.11 − 1.47	0.0050	0.57
t-MCF	1.01	0.93 − 1.09	0.90	0.0002
MCF	0.99	0.92 − 1.07	0.88	0.0001

* TEG のパラメーターは Welch の t 検定（不等分散）で解析した。真の反応比率が［0.8, 1.25］の区間にある場合に同等と定義した。

CT 及び t-MaxVel の短縮にみられる凝固開始までの時間に、CSL627 と Advate®の間でわずかな差異が認められたことから、3 つの異なった結論が考えられる。

- 発色合成基質法で測定した FVIII 活性（CSL627 は社内測定データ、Advate®は表示力価）に従って、CSL627 及び Advate®両製剤を投与した。Advate®を発色合成基質法で測定した場合、一般に表示力価より 20～30%高値を示す。したがって、CSL627 と Advate®の比較では、表示力価に従って投与した場合、Advate®は約 20～30%高用量を投与した可能性が考えられる。
- CSL627 では活性化 rFVIII の生成が Advate®よりわずかに遅く、これが CT 及び t-MaxVel に影響した可能性がある。したがって、凝固パラメーターは全体的には同等であったが、CSL627 では TEG 反応が Advate®と比べてわずかに遅いと考えられる。この説明は、凝固一段階法による FVIII アッセイでは活性化 rFVIII の生成がわずかに遅いことから、Advate®と比較して CSL627 で低い FVIII 活性比率が観察されたことと一致する（凝固一段階法と発色合成基質法の違い）。
- 凝固の開始に関するパラメーター（CFT）やその伝播に関するパラメーター（MaxVel）には有意な差異が認められなかったことから、この結果は偶発的な所見の可能性が考えられる。MaxVel に差異がみられなかったことは、フィブリンの形成及び架橋による

凝固伝播を示すパラメーターの角度 α に対して、両製剤が同等の効果を示すことと一致する。

FVIII KO マウスに CSL627 及び Advate®を用量漸増で投与し、aPTT の測定により止血効果を評価した追加 *ex vivo* 試験（試験番号 PSM[redacted]-23 及び ABM 01/[redacted]、下記参照）により、両製剤の差異が偶発的な所見であるとの結論が一層支持される。試験番号 ABM 01/[redacted] 及び ABM 03/[redacted] において、aPTT 値が CSL627 を投与したマウスは Advate®投与群より有意に低値（15%、$p < 0.0001$）であることが示された。試験番号 PSM[redacted]-23 では、Advate®を投与したマウスと CSL627 を投与したマウスで、aPTT に有意差は認められなかった。これらの所見は、本試験（試験番号 PSM[redacted]-18）で得られた止血パラメーター（CT 及び t-MaxVel）の結果とは対照的であり、CT 及び t-MaxVel の短縮が偶発的な所見であるとの見解を裏付ける。

総合的に判断して、両製剤のいずれも TEG パラメーターのすべてにおいて優位性を示すことはなかった。結論として、本試験のデータから両製剤は全体的な止血効果に同等に作用し、形成される血餅とその安定性は区別できないことが示された。

トロンビン生成：

市販の rFVIII 製剤と比較した CSL627 の止血効果をさらに検討するため、トロンビンバーストに対する作用を TGA により FVIII 欠乏血漿の存在下で評価した。このアッセイは速度論的方法（ラグタイム及びピーク値到達時間）であり、また、トロンビンピーク値（遊離トロンビンの最高値と定義）及び内因性トロンビン活性［ETP : 濃度曲線下面積（AUC）と定義、全般的な血漿のトロンビン形成能を示す］をモニターすることにより、全般的なトロンビン生成を評価することができる。

このアッセイにおいても、CSL627 及び Advate®はいずれも、発色合成基質法で測定した FVIII 活性 20 IU/kg の用量で、トロンビン生成パラメーターを改善した（表 2.6.2-6）。

さらに、CSL627 及び Advate®の効果を相互に比較した（図 2.6.2-11～図 2.6.2-14）。トロンビンピーク値及び ETP の増加については、これらのパラメーターの反応比率平均値がいずれも 1.02 であり（表 2.6.2-7）、両 rFVIII 製剤で事実上同等であった。CSL627 のラグタイム及びピーク値到達時間に対する効果は、Advate®と比較してわずかに高値（ラグタイムは 13%、ピーク値到達時間は 12%）であったが、統計学的有意差は認められなかった。

ラグタイム及びピーク値到達時間を測定する速度論的方法、あるいはトロンビンピーク値及び ETP のモニタリングによる全般的なトロンビン生成に関して、CSL627 は Advate®と同等の活性を有した。

表 2.6.2-6：　CSL627 又は Advate®を投与した FVIII KO マウスの
トロンビン生成に関する記述統計

	溶媒対照群	CSL627 投与群	Advate®投与群
動物数	10	10	10
ラグタイム（分）	測定不可 [1]	3.60 ± 0.95	3.17 ± 1.00
トロンビンピーク値（nmol）	3.1 ± 5.7	372 ± 46	363 ± 47
ETP（nmol•分）[2]	測定不可 [1]	563 ± 35	555 ± 48
ピーク値到達時間（分）	測定不可 [1]	4.24 ± 0.95	3.80 ± 0.99

[1] 溶媒対照群の数例では、バックグラウンドのトロンビン活性のみ測定可能であった。
[2] 0～20 分の ETP を算出した。
1 群 10 例の平均値 ± 標準偏差を示す。

表 2.6.2-7：　CSL627 又は Advate®を投与した FVIII KO マウスの
トロンビン生成に関する統計検定

変数	CSL627 の Advate® に対する 反応比率の推定値	反応比率の 90%信頼区間	反応比率 = 1 に関する p 値	非同等性に 関する p 値*
ラグタイム（分）	1.13	0.91 − 1.44	0.34	0.24
トロンビンピーク値（nmol）	1.02	0.93 − 1.13	0.69	0.0014
ETP（nmol•分）	1.02	0.96 − 1.08	0.65	< 0.0001
ピーク値到達時間（分）	1.12	0.93 − 1.35	0.33	0.16

* トロンビン生成のパラメーターは Welch の t 検定（不等分散）で解析した。真の反応比率が［0.8, 1.25］の区間にある場合に同等と定義した。

図 2.6.2-11：　FVIII KO マウスにおける CSL627 及び Advate®のラグタイムに及ぼす効果

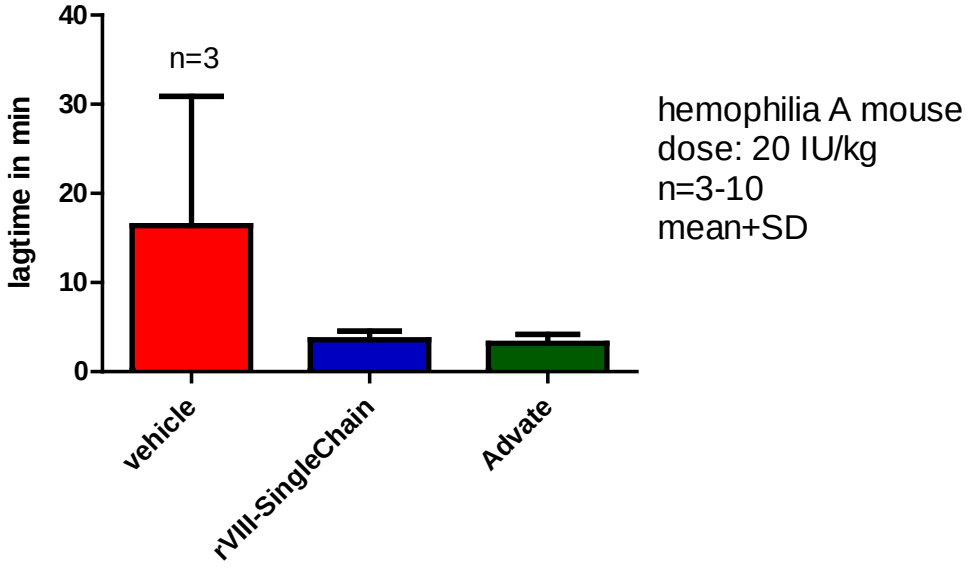


図 2.6.2-12：　FVIII KO マウスにおける CSL627 及び Advate®の
トロンビンピーク値に及ぼす効果

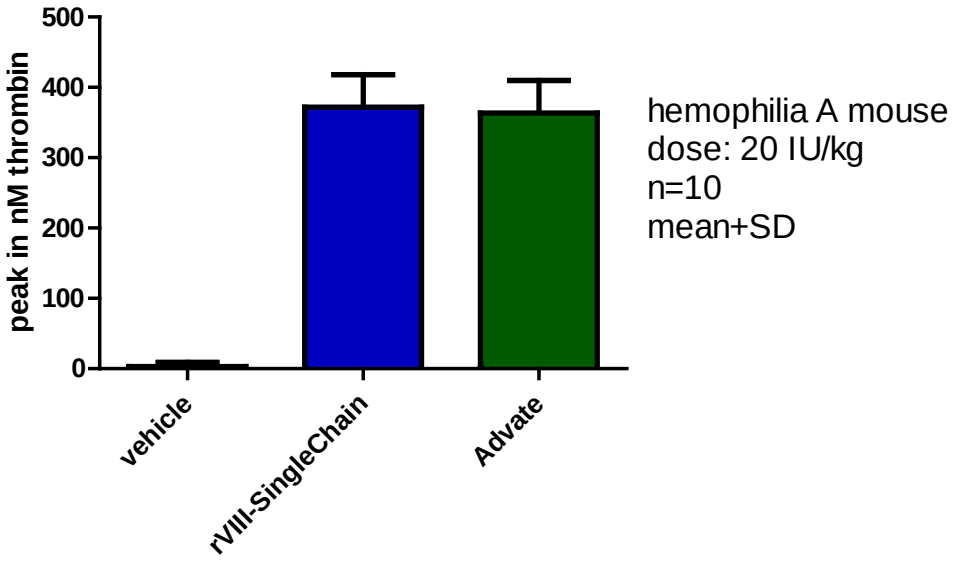


図 2.6.2-13：　FVIII KO マウスにおける CSL627 及び Advate®の
内因性トロンビン活性（ETP）に及ぼす効果

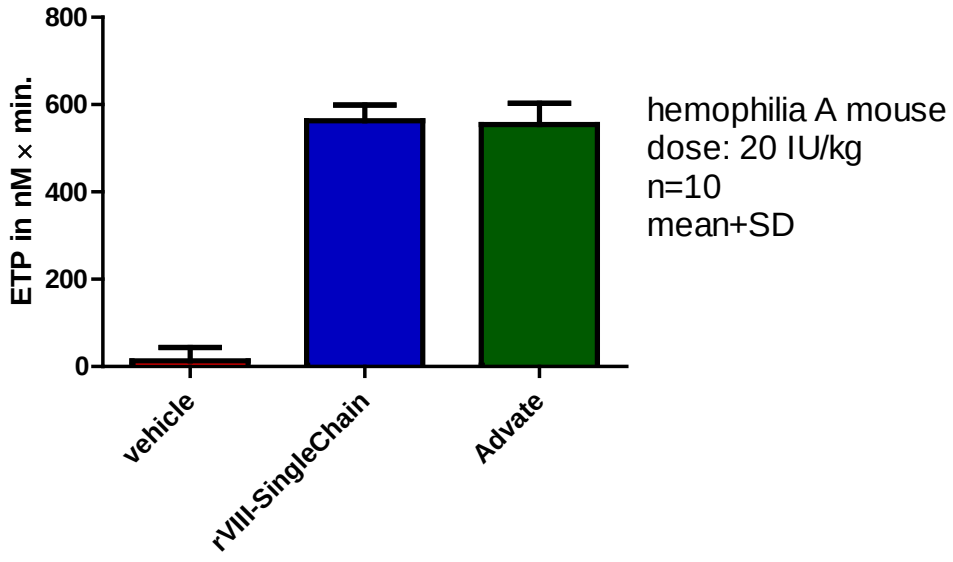
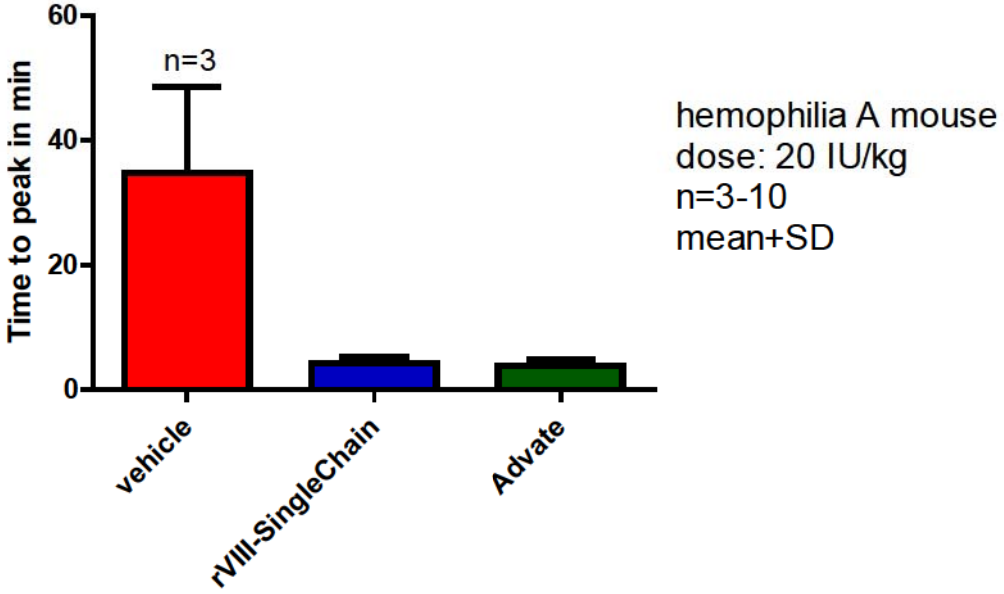


図 2.6.2-14：　FVIII KO マウスにおける CSL627 及び Advate®の
トロンビンピーク値到達時間に及ぼす効果



以上のように、解析したすべての評価項目について両製剤は同等の効果を示した。各エンドポイントに関する成績及びその統計解析からも、この結論が確認された。このように、CSL627 の薬力学的効果は市販の全長型 rFVIII 製剤 Advate®と比べて、有意な差異はみられなかった。

したがって、血液凝固のプロセスを凝固開始、トロンビン生成、血餅形成と血餅硬度及び血餅溶解の 4 段階に分離すると、発色合成基質法で測定した FVIII 活性に従って投与した場合、全般的な CSL627 の止血効果は Advate®と同等と考えられる。

2.6.2.2.4.　血友病 A マウスにおける rVIII-SingleChain（CSL627）及び Advate®単回静脈内投与後の aPTT に関する薬力学的比較（試験番号 PSM[redacted]-23）

本試験は、CSL627 と市販の全長型 rFVIII 製剤 Advate®の薬力学的効果を比較検討することを目的に、FVIII KO マウスの FVIII 欠乏血漿を用いて、aPTT を測定する *ex vivo* 試験を実施した。また、薬剤曝露を確認するため、発色合成基質法及び凝固一段階法により血漿中 FVIII 活性を測定した。

FVIII KO マウスに CSL627 及び Advate®の両製剤を、20 IU/kg の用量で採血の 15 分前に静脈内投与した。CSL627 投与群は発色合成基質法で測定した FVIII 活性に基づく用量、Advate®投与群は表示力価に基づく用量で投与した。薬剤曝露を確認するため、FVIII 活性（凝固一段階法及び発色合成基質法）を測定し、薬力学的効果（止血効果）を評価するため aPTT を解析した。

活性化部分トロンボプラスチン時間（aPTT）：

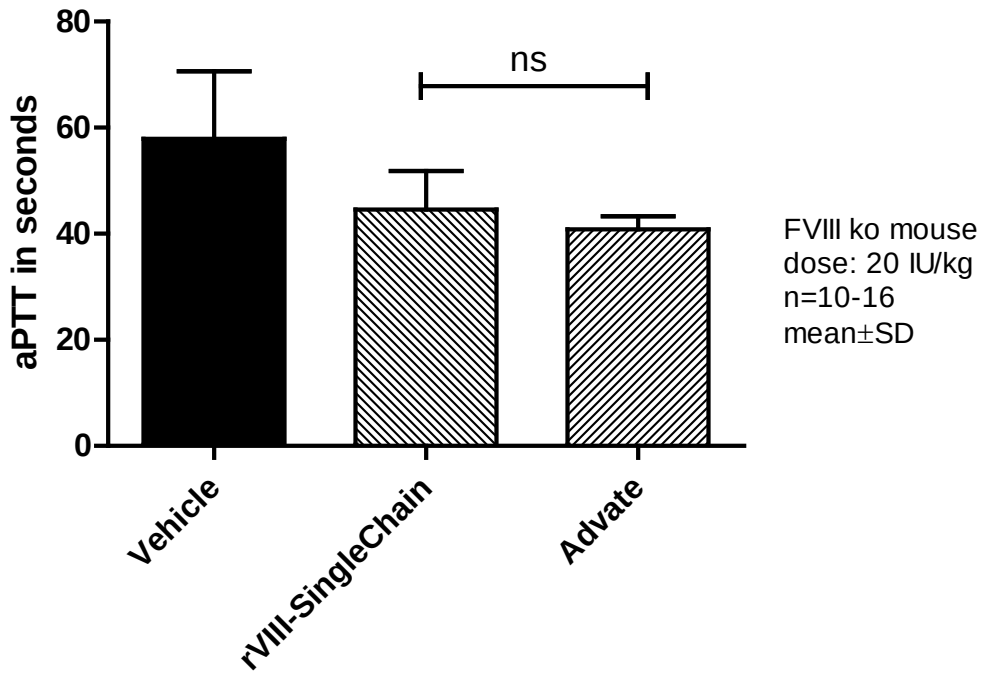
いずれの rFVIII 製剤でも、aPTT に止血作用の回復を示す明瞭な効果が認められた。20 IU/kg の CSL627 又は Advate®投与により、溶媒対照群の動物と比べて aPTT が有意に短縮した（表 2.6.2-8 及び図 2.6.2-15）。

表 2.6.2-8：　CSL627 又は Advate®を投与した FVIII KO マウスの aPTT に関する記述統計

	溶媒対照群	CSL627 投与群	Advate®投与群
動物数	10	16	15[1]
平均値（秒）	57.9	44.6	40.8
標準偏差（秒）	12.7	7.3	2.5
中央値（秒）	54.9	42.2	40.4
第 1 四分位数（秒）	48.6	39.7	39.3
第 3 四分位数（秒）	73.8	45.9	42.9
最小値（秒）	42.3	36.2	37.5
最大値（秒）	76.4	62.0	45.3

[1] Advate®の 1 例を除く。

図 2.6.2-15：　FVIII KO マウスにおける CSL627 及び Advate®の aPTT に及ぼす効果



両 rFVIII 製剤の効果を統計学的手法により比較した（表 2.6.2-9）。CSL627 の aPTT は Advate®と比較して 4%高かったが、両群間に有意差は認められなかった（p = 0.17）。両製剤の反応比率は 0.8～1.25 の区間にあり（p = 0.0009）、同等であった。

表 2.6.2-9：　CSL627 又は Advate®を投与した FVIII KO マウスの aPTT に関する統計検定

変数	CSL627 の Advate®に対する反応比率の幾何平均推定値	反応比率の 90%信頼区間	反応比率 = 1 に関する p 値	非同等性に関する p 値*
aPTT	1.04	0.99 − 1.12	0.17	0.0009

* aPTT は Wilcoxon の順位和検定で解析した。真の反応比率が［0.8, 1.25］の区間にある場合に同等と定義した。

凝固一段階法で測定した第 VIII 因子（FVIII）活性：

aPTT の短縮に伴って、凝固一段階法で測定した FVIII の凝固活性が増加した（表 2.6.2-10 及び図 2.6.2-16）。溶媒投与群の動物はすべて検出限界未満の値（基準値の 15%未満）を示した。これらのデータから、CSL627 又は Advate®投与後に FVIII の凝固活性が確認された。

また、凝固一段階法で測定した FVIII 活性では、Advate®は CSL627 の 2 倍近い値を示し（反応比率 0.65、表 2.6.2-11）、その差は統計学的に有意であった（$p < 0.0001$）。発色合成基質法による FVIII 活性（CSL627 は社内測定データ、Advate®は表示力価を基に投与量を算出）に従って両製剤を投与したことから、この差異は予測された結果である。異なる製剤間での測定法に起因する活性の差異は、これまでにも報告されている（Mikaelsson et al., 1998、Hubbard et al., 2002）。

表 2.6.2-10：　CSL627 又は Advate®を投与した FVIII KO マウスの FVIII 活性（凝固一段階法アッセイ）に関する記述統計

	CSL627 投与群	Advate®投与群
動物数	16	15 [2]
平均値（%）	33.8	52.1
標準偏差（%）	6.0	9.1
中央値（%）	35.8	55.5
第 1 四分位数（%）	32.4	48.3
第 3 四分位数（%）	36.9	57.9
最小値（%）	15.0 [1]	25.2
最大値（%）	39.2	62.7

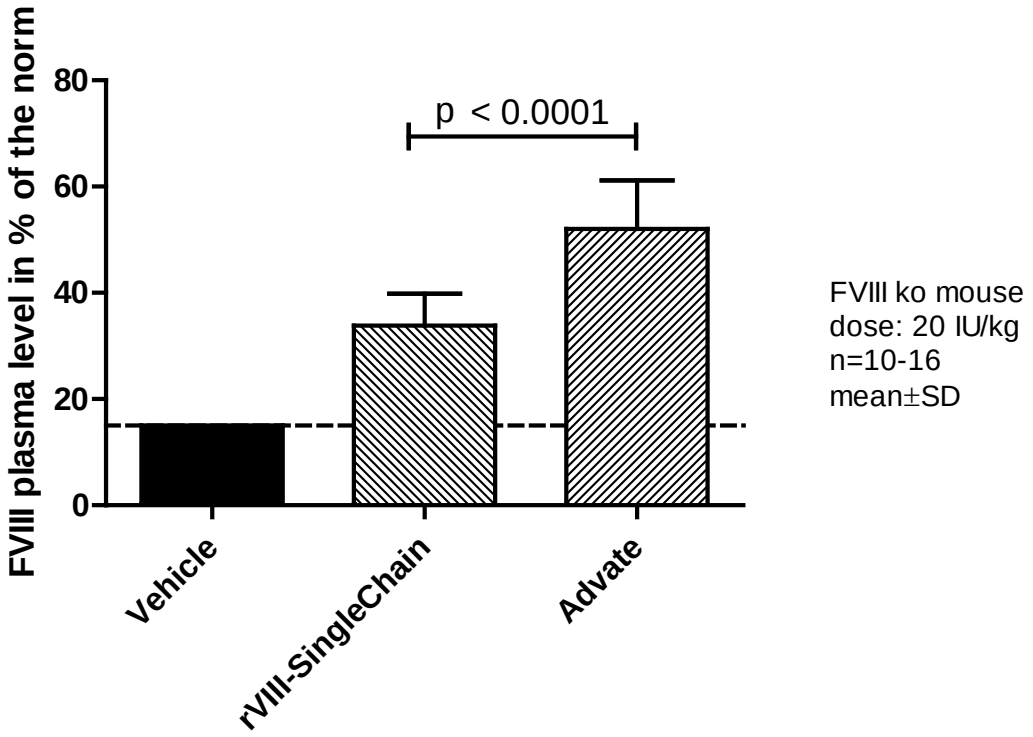
[1] 検出限界未満（基準値の 15%未満）
[2] Advate®投与群の 1 例を除く。

表 2.6.2-11：　CSL627 又は Advate®を投与した FVIII KO マウスの FVIII 活性（凝固一段階法アッセイ）に関する統計検定

変数	CSL627 の Advate®に対する反応比率の推定平均値	反応比率の 90%信頼区間	反応比率 = 1 に関する p 値	非同等性に関する p 値*
FVIII 活性（凝固一段階法）	0.65	0.61 − 0.70	< 0.0001	> 0.99

* 凝固一段階法による FVIII 活性は Wilcoxon の順位和検定で解析した。真の反応比率が［0.8, 1.25］の区間にある場合に同等と定義した。

図 2.6.2-16：　FVIII KO マウスにおける CSL627 及び Advate®の FVIII 活性（凝固一段階法アッセイ）に及ぼす効果



発色合成基質法で測定した第 VIII 因子（FVIII）活性：

発色合成基質法による FVIII 活性測定においても、CSL627 又は Advate®の 20 IU/kg（発色合成基質法で測定した FVIII 活性に基づく用量）投与後に測定可能な血漿中 FVIII 活性が認められたが、溶媒対照群の動物では検出限界未満（< 0.015 IU/mL）であった（表 2.6.2-12 及び図 2.6.2-17）。

表 2.6.2-12：　CSL627 又は Advate®を投与した FVIII KO マウスの FVIII 活性（発色合成基質法アッセイ）に関する記述統計

	CSL627 投与群	Advate®投与群
動物数	16	15[1]
平均値（IU/mL）	0.248	0.223
標準偏差（IU/mL）	0.052	0.057
中央値（IU/mL）	0.259	0.234
第 1 四分位数（IU/mL）	0.244	0.216
第 3 四分位数（IU/mL）	0.278	0.255
最小値（IU/mL）	0.076	0.036
最大値（IU/mL）	0.291	0.276

[1] Advate®投与群の 1 例を除く。

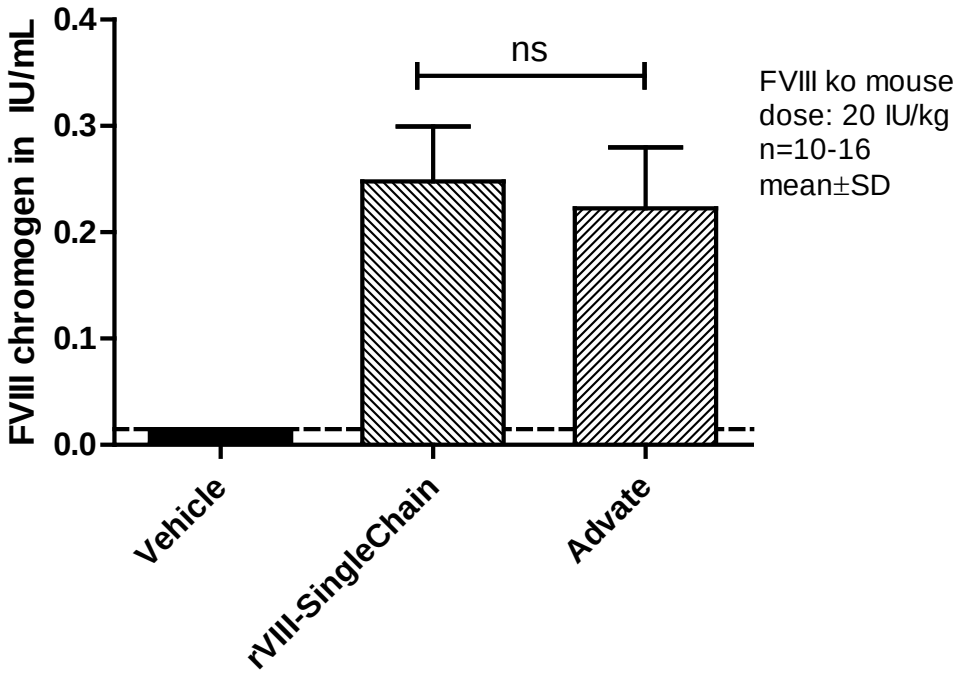
表 2.6.2-13：　CSL627 又は Advate®を投与した FVIII KO マウスの FVIII 活性（発色合成基質法アッセイ）に関する統計検定

変数	CSL627 の Advate®に対する反応比率の推定平均値	反応比率の 90%信頼区間	反応比率 = 1 に関する p 値	非同等性に関する p 値*
FVIII 活性（発色合成基質法）	1.11	1.03 − 1.18	0.0230	0.0054

* 発色合成基質法による FVIII 活性は Wilcoxon の順位和検定で解析した。真の反応比率が［0.8, 1.25］の区間にある場合に同等と定義した。

凝固一段階法による FVIII 活性とは対照的に、発色合成基質法で測定した FVIII 活性は CSL627 投与群がわずかに（11%）高値であった（p = 0.0230、表 2.6.2-13）。また、発色合成基質法で測定した両製剤の FVIII 活性は反応比率が 0.8～1.25 の区間にあり（p = 0.054）、同等であった。反応比率の平均値の 90%信頼区間は 1.03～1.18 であった。この結果は発色合成基質法で測定した FVIII 活性に基づく投与量と合致しており、社内測定データの代わりに表示力価を基に投与した Advate®と比べて明らかな差異はみられなかった。

図 2.6.2-17：　FVIII KO マウスにおける CSL627 及び Advate®の FVIII 活性（発色合成基質法アッセイ）に及ぼす効果



以上のように、両 rFVIII 製剤は対照群と比較すると、測定したエンドポイントについて明瞭な効果を示した。両製剤は FVIII の凝固パラメーターである aPTT を、同程度に回復することができた。また、血漿中の FVIII 活性が有意に増加したことから、薬剤の曝露が確認され

た。発色合成基質法による FVIII アッセイでは CSL627 の FVIII 活性の増加が Advate®と比べて同程度（ないしは、わずかに大きい）、凝固一段階法による FVIII アッセイでは FVIII 活性の増加が小さかった。これは予測された結果であり、異なる製剤間での測定法に起因する活性の差異は、これまでにも報告されている（Mikaelsson et al., 1998、Hubbard et al., 2002）。この結果は、aPTT の変化は発色合成基質法で測定した FVIII 活性と一致するが、凝固一段階法で測定した FVIII 活性とはそれほど厳密に関連しないことを示している。

結論として、aPTT に対する明瞭な効果は両製剤で同等であった。したがって、発色合成基質法で測定した FVIII 活性に基づいて投与した場合、CSL627 と市販の rFVIII 製剤 Advate®で薬力学的効果に有意な差異は認められなかった。

2.6.2.2.5. FVIII KO マウスにおける rVIII-SingleChain（CSL627）、Helixate®、ReFacto AF®及び Humate-P®投与後の止血効果（試験番号 ABM 03[redacted]）並びに FVIII KO マウスにおける rVIII-SingleChain、Helixate®、ReFacto AF®、Advate®及び Humate-P®投与後の止血効果（試験番号 ABM 01[redacted]）

本試験は、CSL627 の血友病 A マウス（FVIII KO マウス）における、止血効果の用量反応関係を明らかにすることを主目的として実施した。CSL627 の止血効果を市販の臨床用 rFVIII 製剤である全長型製剤の Helixate®及び Advate®、B 領域欠失型製剤の ReFacto AF®、並びに血漿由来のヒト血液凝固第 VIII 因子／フォン・ヴィレブランド因子複合体濃縮製剤の Humate-P®と比較した。各製剤を FVIII 活性として 1～150 IU/kg の用量で投与し、Humate-P®は 41 IU/kg を投与した。また、副次的評価指標として、観察終了時にすべての試験群で aPTT を測定した。

試験番号 ABM 03[redacted] では溶媒投与群、CSL627、Helixate®、ReFacto AF®及び Humate-P®投与群について試験し、試験番号 ABM 01[redacted] では別の溶媒投与群及び Advate®投与群について試験したことを付記する。全データについての統計解析結果は、試験報告書 ABM 01[redacted] and ABM 03[redacted] に記載する。

FVIII KO マウスに rFVIII 製剤である CSL627、Helixate®、Advate®及び ReFacto AF®を発色合成基質法で測定した FVIII 活性に基づき 1 IU/kg、5 IU/kg、15 IU/kg、40 IU/kg、100 IU/kg 及び 150 IU/kg の用量で静脈内投与した。Humate-P®投与群は凝固一段階法で測定した FVIII 活性に基づき、40 IU/kg（発色合成基質法で測定した FVIII 活性として 41 IU/kg）の用量で投与した。テイルクリップ・モデルにより止血効果を測定した。

CSL627 以外の FVIII 製剤 4 剤は、長年にわたり臨床で使用されている。そのため、発色合成基質法による FVIII アッセイを使用して、CSL627 と市販の臨床用製剤の FVIII 活性を直接比較することにより、CSL627 の臨床用量の予測が容易となる。

FVIII 製剤によっては、発色合成基質法と凝固一段階法で FVIII 活性の測定結果の異なることがよく知られている。市販の rFVIII 製剤では、凝固一段階法で測定した FVIII 活性の発色合成基質法に対する比は、一般に 1 以下であるとの知見が報告されている。凝固一段階法による FVIII 活性の発色合成基質法に対する比は、全長型 rFVIII 製剤で約 0.8、B 領域欠失型

rFVIII 製剤で約 0.5～0.7 と報告されている（Mikaelsson et al., 1998、Hubbard et al., 2002）。この知見から、本試験で観察されたそれぞれでの比、CSL627 での 0.4、Helixate®での 1.2、ReFacto AF®での 0.7 及び Advate®での 0.97 も支持される。発色合成基質法又は凝固一段階法を使用して *in vitro* で止血効果を測定した場合、Humate-P®のみ発色合成基質法と凝固一段階法の FVIII 活性の比が約 1 を示した。

したがって、CSL627 は発色合成基質法で測定した FVIII 活性に基づいて同用量を投与すると、凝固一段階法による FVIII アッセイに従って投与した場合より相対的に低い用量となることに言及する必要がある。すなわち、CSL627 の投与量は Helixate®より約 2.8 倍、ReFacto AF®より約 1.6 倍、Advate®及び Humate-P®より約 2.3 倍低いと言える。その結果、凝固一段階法による FVIII 活性に基づいて投与すると、発色合成基質法による FVIII 活性で投与した場合と比較して効力の増加がみられる。

すべての製剤をテイルクリップの 15 分前に投与した。止血までの時間測定及びテイルクリップ後 30 分間の総失血量の測定により、止血効果を評価した。aPTT 測定のため、観察終了時（投与後 45 分）に大静脈穿刺により採血した。

CSL627 の止血効果：

試験に供した rFVIII 製剤はすべて、明瞭に用量依存的な止血効果を示した。図 2.6.2-18 及び図 2.6.2-19 に示すように、投与量の関数として、性別を調整した止血までの時間の短縮及び総失血量の有意な減少が認められた。

図 2.6.2-18：　FVIII KO マウス（テイルクリップ・モデル）における CSL627、Helixate®、ReFacto AF®、Humate-P®又は Advate®の用量依存的な止血効果

［性別を調整した止血が認められた動物の割合（n = 10～40/群）、
発色合成基質法で測定した FVIII 活性に基づく投与量を表示］

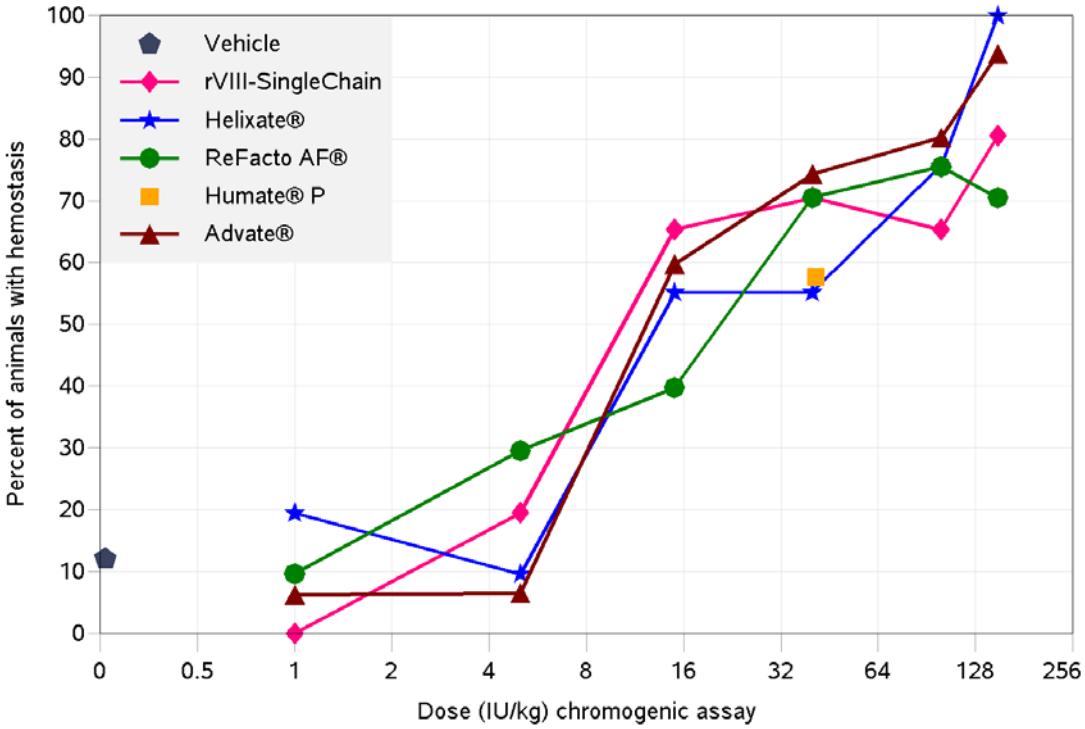
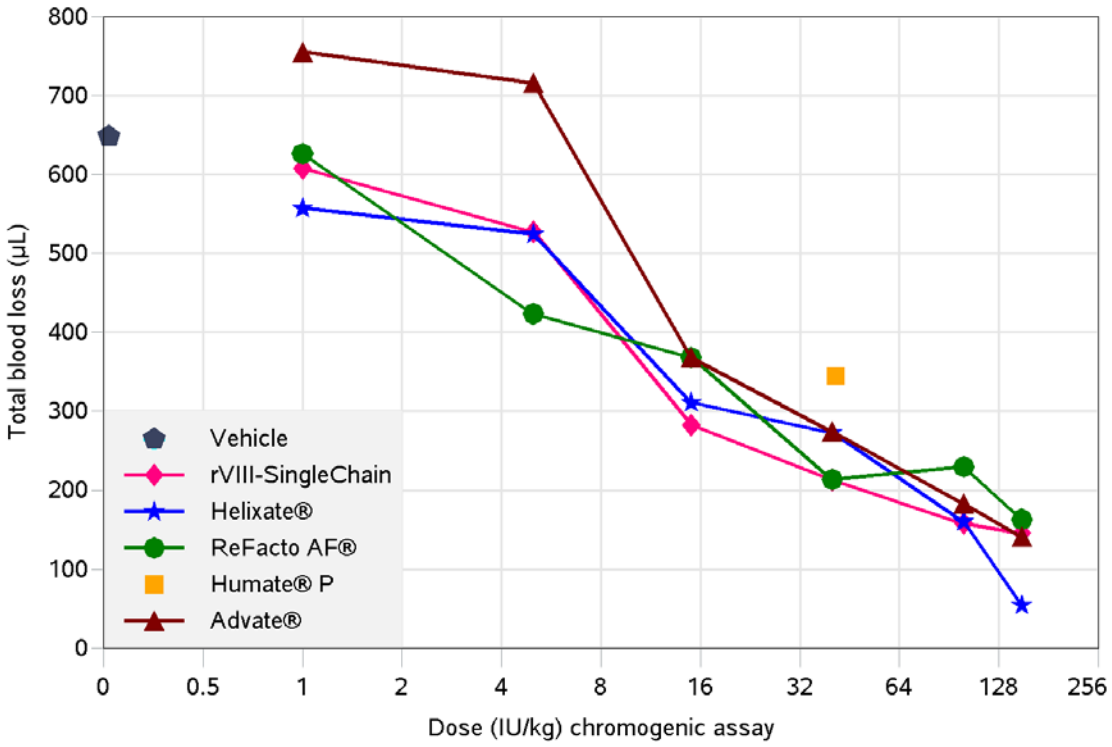


図 2.6.2-19：　FVIII KO マウス（テイルクリップ・モデル）における CSL627、Helixate®、ReFacto AF®、Humate-P®又は Advate®の総失血量に対する用量依存的効果

［性別を調整した平均総失血量（n = 10～40/群）、
発色合成基質法で測定した FVIII 活性に基づく投与量を表示］



CSL627、Helixate®、ReFacto AF®及び Advate®の間で、止血効果（無し／有り）を従属変数、性別、対数用量及び処理（CSL627 に対して Helixate®、ReFacto AF®又は Advate®のいずれか）を共変量として、対比較の線形ロジスティック回帰モデルにより相対効力を推定した。すべての対比較において、（発色合成基質法で測定した FVIII 活性に基づく投与量で）止血効果の用量反応性が有意であった（$p < 0.0001$）。相対効力の推定値を表 2.6.2-14 に示す。

止血が認められた動物の割合に関して、CSL627 の推定相対効力は Helixate®と同等（相対効力 1.00）、ReFacto AF®よりわずかに高く（相対効力 1.17）、Advate®よりわずかに低かった（相対効力 0.87）（表 2.6.2-14）。しかし、CSL627 と Helixate®、ReFacto AF®又は Advate®との間に統計学的有意差は認められなかった（3 組の対比較について、すべて $p > 0.7$）。

表 2.6.2-14：　FVIII KO マウスにおけるロジスティック回帰モデルから推定した CSL627、Helixate®、ReFacto AF®又は Advate®投与の相対的止血効果

（発色合成基質法で測定した FVIII 活性）

投与群	比較対照群	相対効力	90%信頼区間
CSL627	Helixate®	1.00	0.46 − 2.17
CSL627	ReFacto AF®	1.17	0.53 − 2.65
CSL627	Advate®	0.87	0.45 − 1.70

CSL627、Helixate®、ReFacto AF®及び Advate®の間で総失血量を従属変数、性別、対数用量及び処理（CSL627 に対して Helixate®、ReFacto AF®又は Advate®のいずれか）を共変量として、対比較の共分散分析モデルにより相対効力を推定した。(発色合成基質法で測定した FVIII 活性に基づく投与量で）総失血量の用量反応性が有意であった（$p < 0.0001$）。相対効力の推定値を表 2.6.2-15 に示す。

総失血量に関して、CSL627 の推定相対効力は Helixate®よりわずかに高く（相対効力 1.04）、ReFacto AF®よりも高かった（相対効力 1.34）。CSL627 と Helixate®及び ReFacto AF®との間に統計学的有意差は認められなかった（$p > 0.4$）。Advate®と比較した CSL627 の相対効力は 2.10 であり、有意に高かった（$p = 0.027$）。

表 2.6.2-15:　FVIII KO マウスにおける共分散分析モデルから推定した CSL627、Helixate®、ReFacto AF®又は Advate®投与の総失血量に対する相対効力
（発色合成基質法で測定した FVIII 活性）

投与群	比較対照群	相対効力	90%信頼区間
CSL627	Helixate®	1.04	0.52 − 2.08
CSL627	ReFacto AF®	1.34	0.67 − 2.77
CSL627	Advate®	2.10	1.21 − 3.86

凝固一段階法による FVIII アッセイで CSL627 は最も低い値を示すので、凝固一段階法に基づく FVIII 活性で投与量を表すと、他の製剤と比較した CSL627 の効力は更に増加する。凝固一段階法による FVIII アッセイを基に算出した本剤の効力を以下のとおり示す。

図 2.6.2-20 は（図 2.6.2-18 と同様に）、凝固一段階法による FVIII アッセイに基づく投与量の関数として表した、性別を調整した止血効果が認められた動物の割合を示す。凝固一段階法で測定した FVIII 活性に基づく投与量での、止血効果に関する相対効力の推定値を表 2.6.2-16 に示す。

止血が認められた動物の割合に関して、凝固一段階法で測定した FVIII 活性に基づく投与量では、CSL627 の推定相対効力は Helixate®（相対効力 2.80、$p = 0.032$）、ReFacto AF®（相対効力 1.87、$p = 0.032$）及び Advate®（相対効力 2.02、$p = 0.18$）より高かった。

図 2.6.2-20：　FVIII KO マウスにおける CSL627、Helixate®、ReFacto AF®、Humate-P®又は Advate®の用量依存的な止血効果

［性別を調整した止血が認められた動物の割合（n = 10～40/群）、
凝固一段階法で測定した FVIII 活性に基づく投与量を表示］

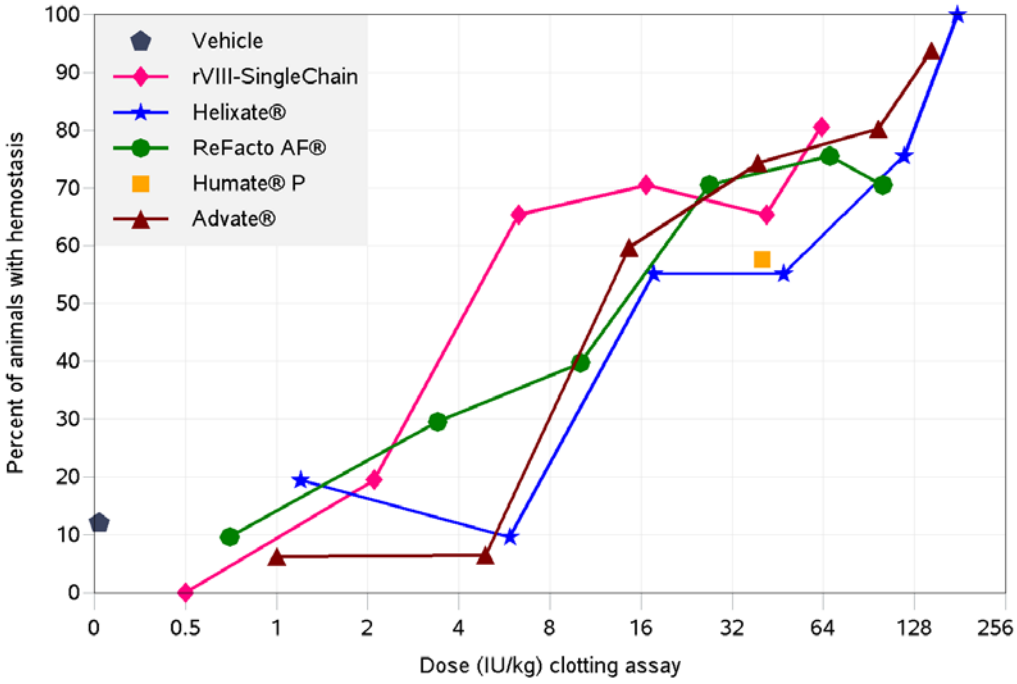


表 2.6.2-16：　FVIII KO マウスにおけるロジスティック回帰モデルから推定した CSL627、Helixate®、ReFacto AF®又は Advate®投与の相対的止血効果
（凝固一段階法で測定した FVIII 活性）

投与群	比較対照群	相対効力	90%信頼区間
CSL627	Helixate®	2.80	1.30 − 6.03
CSL627	ReFacto AF®	1.87	0.85 − 4.18
CSL627	Advate®	2.02	1.05 − 3.92

図 2.6.2-21 も（図 2.6.2-19 と同様に）、凝固一段階法による FVIII アッセイに基づく投与量の関数として表した、性別を調整した平均総失血量を示す。凝固一段階法で測定した FVIII 活性に基づく投与量での、総失血量に関する相対効力の推定値を表 2.6.2-17 に示す。

また、CSL627、Helixate®、ReFacto AF®及び Advate®の間で総失血量を従属変数、性別、対数用量及び処理（CSL627 に対して Helixate®、ReFacto AF®又は Advate®のいずれか）を共変量として、対比較の共分散分析モデルにより相対効力を推定した。（凝固一段階法で測定した FVIII 活性に基づく投与量で）総失血量の用量反応性が有意であった（$p < 0.0001$）。

総失血量に関して、凝固一段階法で測定した FVIII 活性に基づく投与量では、CSL627 の推定相対効力は Helixate®（相対効力 2.89、$p = 0.0134$）、ReFacto AF®（相対効力 2.11、$p = 0.074$）及び Advate®（相対効力 4.74、$p < 0.0001$）より高かった。

図 2.6.2-21：　FVIII KO マウスにおける CSL627、Helixate®、ReFacto AF®、Humate-P®又は Advate®の総失血量に対する用量依存的効果

［性別を調整した平均総失血量（n = 10～40/群）、
凝固一段階法で測定した FVIII 活性に基づく投与量を表示］

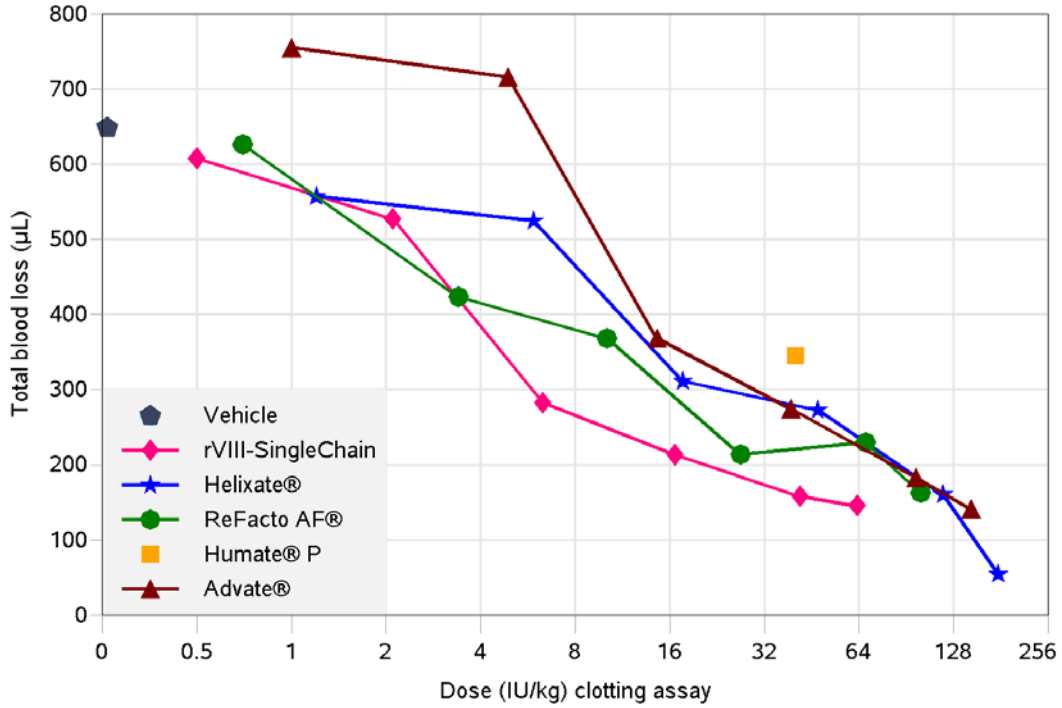


表 2.6.2-17：　FVIII KO マウスにおける共分散分析モデルから推定した CSL627、Helixate®、ReFacto AF®又は Advate®投与の総失血量に対する相対効力

（凝固一段階法で測定した FVIII 活性）

投与群	比較対照群	相対効力	90%信頼区間
CSL627	Helixate®	2.89	1.46 − 5.72
CSL627	ReFacto AF®	2.11	1.06 − 4.33
CSL627	Advate®	4.74	2.76 − 8.63

以上のように、FVIII KO マウスのテイルクリップ・モデルにおいて、発色合成基質法による FVIII 活性に従って投与すると、CSL627 は比較した FVIII 製剤と少なくとも同等の効果を示し、凝固一段階法で測定した FVIII 活性ではより強い効果を示すと結論される。

CSL627 の aPTT に対する効果：

aPTT に関する記述統計を表 2.6.2-18 に示す。採血のみで実施される試験で通常観察される aPTT よりも、テイルクリップ・モデルでの aPTT はばらつきが大きいことに言及する必要がある。特に、20 秒未満又は 120 秒を上回る aPTT の外れ値がみられた。したがって、外れ値の重みを減じたロバストな手法により平均値を推定した。性別を調整したロバストな推定平均値を図 2.6.2-22 に示す（発色合成基質法で測定した FVIII 活性に基づく投与）。

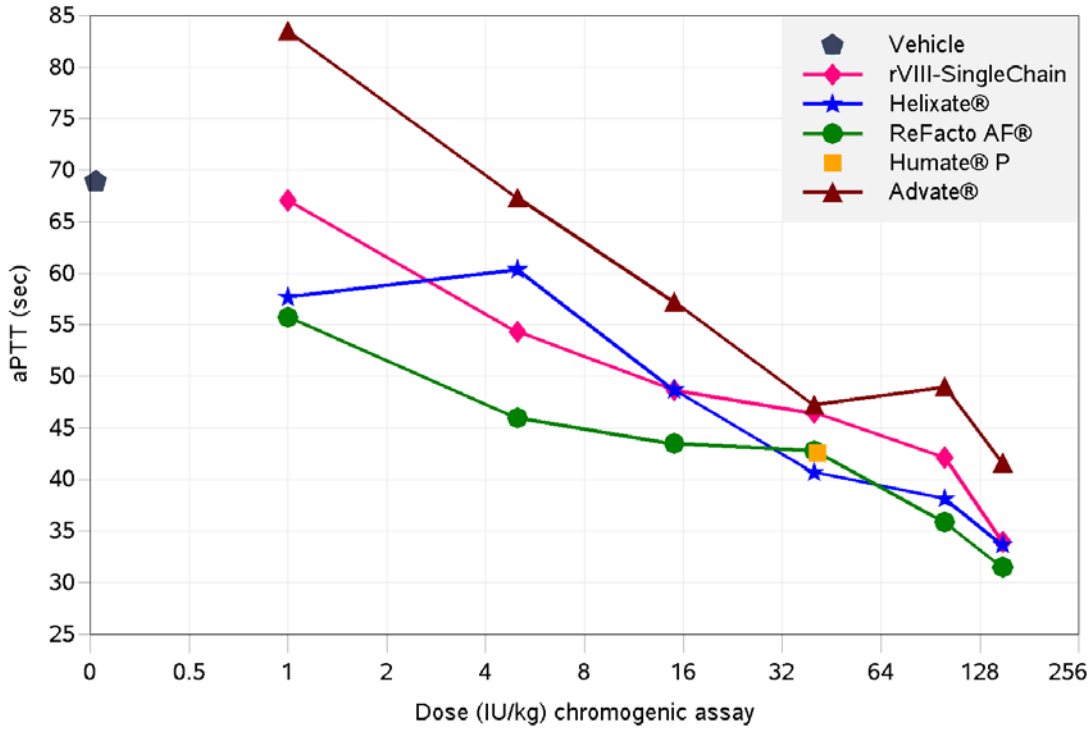
表 2.6.2-18：　CSL627、Helixate®、ReFacto AF®、Humate-P®又は Advate®を投与した FVIII KO マウスの aPTT に関する記述統計

投与	投与量*	動物数	平均値（秒）	標準偏差（秒）	幾何平均値（秒）	変動係数（%）	最小値（秒）	中央値（秒）	最大値（秒）
溶媒	−	22	68	28.7	62	42	17	70	155
CSL627	1 IU/kg	7	68	11.8	67	17	50	68	87
	5 IU/kg	6	54	8.6	54	16	48	50	70
	15 IU/kg	16	48	8.1	47	17	26	49	61
	40 IU/kg	19	46	7.1	46	15	33	46	59
	100 IU/kg	20	43	7.4	42	17	33	41	62
	150 IU/kg	8	34	4.2	34	12	25	35	39
Helixate®	1 IU/kg	9	53	15.8	50	30	20	55	71
	5 IU/kg	7	65	19.6	62	30	37	61	96
	15 IU/kg	19	49	8.8	48	18	35	49	70
	40 IU/kg	18	40	7.5	39	19	20	40	53
	100 IU/kg	18	38	5.2	38	14	30	37	50
	150 IU/kg	8	33	4.7	33	14	28	34	40
ReFacto AF®	1 IU/kg	10	52	19.3	48	37	17	56	85
	5 IU/kg	8	44	11.4	42	26	21	46	60
	15 IU/kg	17	49	25.0	46	51	29	45	142
	40 IU/kg	17	46	22.4	43	48	20	44	126
	100 IU/kg	18	41	23.8	38	57	29	36	134
	150 IU/kg	9	32	4.1	31	13	25	31	37
Humate-P®	41 IU/kg	14	43	7.8	42	18	31	41	61
Advate®	1 IU/kg	12	82	18.6	80	23	46	85	115
	5 IU/kg	11	83	32.6	78	40	55	68	152
	15 IU/kg	12	66	19.5	63	30	46	58	109
	40 IU/kg	13	54	23.5	51	44	37	48	127
	100 IU/kg	13	51	9.9	50	19	38	48	74
	150 IU/kg	15	42	6.1	41	15	29	43	54

* 発色合成基質法で測定した FVIII 活性に基づく投与量

図 2.6.2-22：　FVIII KO マウスにおける CSL627、Helixate®、ReFacto AF®、Humate-P®又は Advate®の aPTT に対する用量依存的効果

［性別を調整した aPTT のロバストな推定平均値（n = 6～22/群）、
発色合成基質法で測定した FVIII 活性に基づく投与量を表示］



対照群と比較して、すべての rFVIII 製剤で用量依存的な aPTT の短縮が認められた。各 rFVIII 製剤の比較は、対数変換した aPTT 値を処理（CSL627、Helixate®、ReFacto AF®及び Advate®）、性別及び用量段階（発色合成基質法で測定した FVIII 活性に基づく投与量を順序尺度の共変量として）を共変量として、頑強な回帰分析を行った。aPTT の用量反応性は有意であった（$p < 0.0001$）。

採血のみで実施される試験で観察される aPTT よりも、テイルクリップ・モデルでの aPTT はばらつきが大きいことに言及する必要がある。本試験においては、各製剤の全投与量にわたり平均した aPTT 値で、CSL627 群は Helixate®群より 6%高く（$p = 0.031$）、ReFacto AF®群より 13%高い値（$p < 0.0001$）が観察された。この結果は、Helixate®及び ReFacto AF®と比較して CSL627 で観察された類似した効果、並びに効果が Advate®よりやや強い傾向と一致しない。また、（前述の）試験番号 PSM[redacted]-23 で示されたように、CSL627 及び Advate®で aPTT に対する効果は同等であった。すべての情報を考慮すると、これらの止血効果試験で観察された aPTT 補正効果の差異は、a）採血までの動物の出血量の差及びその結果として aPTT のばらつき、あるいは b）各製剤の aPTT 測定法に対する反応性の違いが関連する薬物動態の差によると考えられ、直接的な各製剤の aPTT に対する効果の差異の可能性は低いと結論される。

以上より、rFVIII 濃縮製剤の CSL627 は、FVIII KO マウスで止血効果を示した。当該試験では aPTT に CSL627 と他の rFVIII 製剤との間で軽微な有意差がみられたが、特に採血した血漿を用いた試験（試験番号 PSM[redacted]-23）においてのみ異なる結果が得られたため、これらの aPTT の差異は生物学的意義があるとみなされなかった。発色合成基質法による FVIII アッセイに基づく投与量で調整すると、おおむね同等の止血効果が認められた。特に、発色合成基質法による FVIII アッセイで投与量を調整すると、CSL627 は市販の rFVIII 製剤の Helixate® 及び ReFacto AF®とは止血効果に差異がみられなかったが、Advate®よりわずかに優れた効果（総失血量について効果が上回る、止血までの時間は同等）を示した。対照的に、凝固一段階法による FVIII アッセイに基づき算出した FVIII 活性で試験データを評価すると、CSL627 は市販 3 製剤のすべてと比較して高い効果を示した。2 種類の FVIII アッセイ法に関して、発色合成基質法で測定した FVIII 活性に基づき投与した場合、概して全体的な止血効果の同等性が高く、一方、凝固一段階法で測定した FVIII 活性に基づき投与した場合は同等性が低かった。したがって、CSL627 で実施した薬力学的試験は、血友病 A 患者における臨床的効果を適切に反映し予測するのみならず、発色合成基質法で測定した FVIII 活性に基づく投与レジメンの比較も可能とする。

2.6.2.3.　副次的薬理試験

ヒト血液凝固因子である CSL627 は、作用機序から血液凝固作用以外の薬力学的作用は予想されない。効力を裏付ける試験、安全性薬理試験及び毒性試験で観察される副次的薬理作用に相当する所見は何も認められなかったので、副次的薬理試験は実施しなかった。

2.6.2.4.　安全性薬理試験

ICH S6 ガイドラインに従い、サルの 28 日間反復投与毒性試験（試験番号 APQ0014）の一部として、心血管系パラメーターを計測する安全性薬理試験を実施した。また、ラットの反復投与毒性試験（試験番号 APQ0013）の一部として、CSL627 の神経行動学的影響について評価した。さらに、イヌ（試験番号 APQ0016 及び APQ0018）及びサル（試験番号 APQ0019）を用いて CSL627 の血行動態及び電気生理学的パラメーターに対する影響を詳細に検討し、呼吸系機能に対する作用はイヌ（試験番号 APQ0016）についてのみ評価した。これらの試験では、麻酔条件下又はテレメトリー動物の覚醒条件下で、CSL627 を累積投与量 1550 IU/kg まで静脈内投与した。

表 2.6.2-19：　CSL627 の安全性薬理試験

試験の種類	試験番号	バッチ番号	使用製剤	GLP 適用
ラットの反復投与毒性試験／中枢神経系機能	APQ0013	[redacted]	CSL627	適用
サルの反復投与毒性試験／心血管系機能	APQ0014	[redacted]	CSL627	適用
麻酔イヌの安全性薬理試験／心血管系及び呼吸系機能	APQ0016	[redacted]	CSL627	適用
イヌのテレメトリー試験／心血管系機能	APQ0018	[redacted]	CSL627	適用
サルのテレメトリー試験／心血管系機能	APQ0019	[redacted]	CSL627	適用

麻酔下のビーグル犬を用いて実施した試験番号 APQ0016 で、予期されなかった統計学的に有意で薬理学的に関連のある心血管系パラメーター、すなわち、動脈圧、左室収縮期圧（LVSP）、左室拡張末期圧（LVEDP）、心拍出量及び 1 回拍出量の低下が、CSL627 の最高投与量 1250 IU/kg で 3 回目の静脈内投与後に認められた。この変化は、0.9% w/v 食塩液投与後にはみられなかった（試験番号 APQ0016）。これらの変化が rFVIII 蛋白質である CSL627 の活性成分の直接的な作用とは考え難いことから、覚醒イヌ及びサルを用いてテレメトリー法により、心血管系に対する影響にのみ焦点を当てたフォローアップの安全性薬理試験を実施した。

麻酔の影響を排除するため、試験番号 APQ0018 では覚醒イヌを使用したテレメトリー試験を実施した。試験番号 APQ0018 の結果では、CSL627 又は溶媒（CSL627 の希釈緩衝液）を投与したビーグル犬のいずれにおいても、類似した心血管系に対する作用が認められ、顔面周囲の腫脹や皮膚の発赤などの変化が観察された。両被験物質を試験番号 APQ0016 と同じ投与法・用量で、別の日に投与した場合にこれらの観察結果が得られた。溶媒は活性成分 rFVIII を含まないが、試験番号 APQ0016 で溶媒として使用した生理食塩液と異なり、CSL627 と同じ緩衝液成分を含有する。

溶媒は、製剤成分として広く使用されるポリソルベート 80（PS80、0.02% v/v）を含有する。PS80 は、約 5 mg/kg（Varma et al., 1985）あるいは 10 mg/kg（Masini et al., 1985）程度の高用量でイヌに静脈内投与すると、急速かつ劇症的なヒスタミン遊離のため、アレルギー様反応及び降圧作用を誘発することが報告されている。その後、同様の作用が PS80 の約 1.4 mg/kg 程度の低用量でも発現することが報告されている（Picaut et al., 1994）。Picaut らの試験では、ラジオイムノアッセイにより PS80 の 1.4 mg/kg 以上の投与量で対照群と比べて 25 倍のヒスタミン遊離が確認され、低用量の 0.265 mg/kg では臨床症状やヒスタミン遊離はみられなかった。Picaut らは、ビーグル犬では 0.265 mg/kg を上回る投与量でヒスタミンが遊離され興奮、傾眠、皮膚の発赤、全身浮腫、血圧低下及び頻脈などの重篤な症状がみられるため、PS80 を静脈内投与で使用することは制限されるかもしれないと結論している。Picaut らにより実施された試験で激しい臨床症状がみられた PS80 の濃度は、CSL627 製剤中に PS80 が 0.02%の濃度で存在し、投与容量を 3.67～4.32 mL/kg とすると 0.7～0.9 mg/kg の PS80 に相当することから、現行の CSL627 製剤の PS80 濃度と同等である。したがって、試験番号 APQ0016 及び

APQ0018 で使用したイヌにみられた影響は、既知の所見であり（Varma et al., 1985、Masini et al., 1985、Evaluation Report of Food Additives: Polysorbates, June 2007）、イヌの PS80 に対する過度の感受性（Picaut et al., 1994）に起因すると考えられる。Picaut らは、カニクイザルで PS80 の高用量（38.7 及び 77.4 mg/kg）においてのみ、有害作用を観察していることから、この仮説が支持される。しかし、カニクイザルでみられた有害作用は中等度の持続的な溶血作用のみであった。また、投与量 77.4 mg/kg まで、血漿中ヒスタミン濃度の増加はみられなかった。したがって、カニクイザルにおける PS80 の無毒性量は 15.5 mg/kg であった。このような観察結果から、ビーグル犬と対照的にサルは PS80 の静脈内投与に適した動物種と結論される。このため、CSL627 のフォローアップの安全性薬理試験は、覚醒サルを使用して実施した。

実際に、特に感受性の高い動物種であるイヌで観察された PS80 の影響が、サルを用いたテレメトリー安全性薬理試験（試験番号 APQ0019）の結果により裏付けられた。試験番号 APQ0019 の投与レジメンは、先に実施したビーグル犬の 2 試験（試験番号 APQ0016 及び APQ0018）と同様とした。試験番号 APQ0019 では、テレメーターを装着したサルに生理食塩液（プラセボ対照）又は CSL627 の希釈緩衝液（溶媒対照）を投与して、CSL627 と比較した。CSL627 の累積投与量 1550 IU/kg まで、行動又は心血管系のいずれのパラメーターにも、投与に関連した臨床症状は観察されなかった。

全てのデータを考慮すると、試験番号 APQ0016 で観察された心血管系及び呼吸系への影響、並びにその後実施した試験番号 APQ0018 でみられた臨床症状は、おそらく溶媒に含まれる添加剤 PS80 に起因し、被験物質 CSL627 の活性成分 rFVIII 蛋白質自体の投与に直接関連するものではないと考えられる。この結論はサルのテレメトリー試験（試験番号 APQ0019）の良好な結果、及びサルの 28 日間反復投与毒性試験（試験番号 APQ0014）で得られた結果により支持される。覚醒サルで投与に関連した臨床症状や心血管系作用が認められなかったことからも、PS80 誘発性の有害作用に対して、サルと比べてイヌは感受性が高い動物種である（Picaut et al., 1994）ことが確認された。

2.6.2.4.1.　CSL627：CD ラットにおける 4 週間静脈内（ボーラス）投与毒性試験及び 14 日間回復性試験（試験番号 APQ0013）

[redacted]（Sprague Dawley）ラットの 4 週間静脈内（ボーラス）投与毒性試験の一部として、CSL627 の中枢神経系に及ぼす影響を評価した。実効投与量を低下させる免疫反応が発現する前に初期の毒性を検討するため、1 群当たり雌雄各 5 例を 6 日目に中間屠殺した。1 群当たり雌雄各 10 例（及び中間屠殺各 5 例）のラット 3 群に、CSL627 を投与量 50、250 又は 1250 IU/kg/日で投与した。対照群の雌雄各 10 例（及び中間屠殺各 5 例）には、高用量群と同一液量の生理食塩液（0.9%）を投与した。

主試験の 1 群当たり最初の雌雄各 6 例について投与開始前に 1 回、並びに 1 日目の投与 10 分後及び 3 時間後に、Irwin, 1968 の変法を用いて神経行動学的評価を実施した。

測定パラメーターのベースラインを設定するために、試験開始前に標準的手順に従って動物を詳細に観察した（投与前観察）。

総合的に判断して、Irwin の変法による観察パラメーターに投与に関連した変化は認められなかった。さらに、中枢神経系に対する影響を示すと考えられる肉眼的及び病理組織学的変化も観察されなかった。

2.6.2.4.2. CSL627：カニクイザルにおける 4 週間静脈内（ボーラス）投与毒性試験（試験番号 APQ0014）

カニクイザルの 4 週間静脈内（ボーラス）投与毒性試験（6 日目中間屠殺を含む）の一部として、CSL627 の電気生理学的パラメーター及び血圧に及ぼす影響を評価した。1 群当たり雌雄各 4 例のサル 3 群に、CSL627 を投与量 50、150 又は 500 IU/kg/日で最長 4 週間投与した。中間屠殺した動物には 5 日間投与し、他の動物には 28 日間投与した。対照群の雌雄各 4 例には、投与薬群と同頻度で高用量群と同一液量の生理食塩液（0.9%）を投与した。

投与前、5 日目の投与 2 及び 24 時間後に、心電図トレースとして 3 種の標準肢誘導及び 3 種の増幅肢誘導をすべての動物について記録した。さらに、主試験の動物で 4 週目の投与の約 2 及び 24 時間後に、心電図トレースを記録した。心電図トレースで波形の異常の有無を視覚的に確認するとともに、心拍数を記録した。また、P 波から QRS 開始までの間隔（PR）、QRS 間隔（QRS）、ST 間隔（ST）及び QT 間隔（QT）を計測し、Matsunaga の式で補正 QT 間隔（QTc）を算出した。

心電図検査と同頻度で（可能ならば同時に）、生理学的圧トランスデューサー及びチャート式記録計に接続し尾根部に固定した圧力カフを用いて、非観血的に各動物の血圧を測定した。各測定で定期的に 5 回、収縮期血圧を測定した。心電図トレースから心拍数も算出した。

総合的に判断して、心臓の電気生理学的パラメーターは CSL627 投与により影響を受けないと考えられた。試験期間中に記録された観察所見又は心電図の数値データからは、投与に関連した明らかな影響は認められなかった。5 日目の投与 2 時間後に 500 IU/kg/日群の雄で、投与前値と比較して軽微な心拍数の減少が認められた。これ以外の所見及び軽微な数値データの変動は、カニクイザルでのデータ採取に伴う自然発生的な変化と考えられた。

血圧及び脈拍数の測定値も、CSL627 の投与により影響を受けないと考えられた。血圧データには変動がみられたが、投与の影響を示唆する一貫性のある変化やパターンは認められなかった。5 日目の投与 2 時間後に、500 IU/kg/日群の雄で平均脈拍数の軽微な減少が認められた。これ以外の観察所見及び軽微な数値データの変動は、カニクイザルでのデータ取得に伴う自然発生的な変化と考えられた。

2.6.2.4.3. CSL627：麻酔ビーグル犬における血行動態及び呼吸機能への影響（静脈内点滴投与）（試験番号 APQ0016）

麻酔ビーグル犬に CSL627 を漸増投与して、CSL627 の電気生理学及び血行動態エンドポイント並びに呼吸系パラメーターに及ぼす影響を評価した。1 群当たり雄 4 例のイヌ 2 群に、CSL627 を投与量 50、250 及び 1250 IU/kg、累積投与量 1550 IU/kg、又は溶媒（生理食塩液）

を同容量で投与した。被験物質を 30 分間点滴投与後、次回投与まで 15 分間空けて、45 分間隔で 3 回連続して投与した。

手術終了の少なくとも 30 分後及び各点滴投与の開始前に、平均動脈血圧、心拍数、第 II 誘導心電図間隔（PR、QRS、QT 並びに心拍数の変動を Bazett、Fridericia 及び Van der Water の式で補正した QTc 間隔）、心電図波形の形態的解析、左室圧（LVP）パラメーター（LVSP、LVEDP）及びその派生パラメーター［左室圧最大上昇率及び降下率（dP/dt_{max} 及び dP/dt_{min}）］、心拍出量、1 回拍出量並びに末梢抵抗をモニターした。さらに、呼吸数、1 回換気量及び分時換気量を同一スケジュールで測定した。

このように、各点滴投与開始後 15、30 及び 44 分に心血管系及び呼吸系パラメーターを測定した。血液ガス分析のため、初回点滴投与の開始前 14 及び 5 分、各点滴投与の開始後約 16 及び 40 分に血液サンプルを採取した。

初回及び 2 回目の点滴投与（50 及び 250 IU/kg）後に、CSL627 を投与した動物で溶媒対照群と比較して統計学的に有意な心血管系パラメーター、特に第 II 誘導心電図間隔及び 1 回拍出量の低下がみられた。しかし、これらのパラメーターの低下は統計学的に有意であるものの、わずかな低下であり薬理学的な影響とは判断しなかった。意外にも、3 回目の点滴投与（1250 IU/kg）後には、CSL627 を投与した動物で生理食塩液（3.48 mL/kg）を投与した動物と比べて統計学的に有意な心血管系パラメーターの低下が認められた。これらの動脈血圧（収縮期、弛緩期及び平均血圧）、LVSP、LVEDP、心拍出量並びに 1 回拍出量の低下は薬理学的影響と考えられた。対照的に、CSL627（1250 IU/kg）を投与した動物でみられた QTc 間隔の有意な変化は、わずかな低下であり薬理学的な影響とは判断されなかった。第 II 誘導心電図波形には、試験期間を通して生理食塩液又は CSL627 投与のいずれにおいても影響は認められなかった。

CSL627 の投与量 50、250 及び 1250 IU/kg では、呼吸系パラメーター（呼吸数、1 回換気量及び分時換気量）の有意な変化はみられなかった。

総合的に判断して、CSL627（1250 IU/kg）投与後にみられた薬理学的意義のある心血管系パラメーターの低下は、rFVIII 蛋白質である CSL627 の活性成分の直接的作用とは考え難い。この仮説を確認するため、覚醒イヌ（試験番号 APQ0018）及びサル（試験番号 APQ0019）を使用してフォローアップのテレメトリー試験を実施した（下記参照）。

2.6.2.4.4.　CSL627：覚醒ビーグル犬における心血管系テレメトリー試験（静脈内点滴投与）（試験番号 APQ0018）

イヌを用いたテレメトリー試験において、CSL627 を漸増投与して電気生理学及び血行動態パラメーターに及ぼす影響を評価した。テレメーターを装着した雄イヌ 1 例を用い、CSL627 を投与量 50、250 及び 1250 IU/kg で漸増投与し、累積投与量を 1550 IU/kg とした。対照群として、溶媒（CSL627 の希釈緩衝液）を CSL627 と同一容量で漸増投与した。CSL627 及び溶媒は、別の日時に試験番号 APQ0016 と同じ投与スケジュール、45 分間隔で 3 回連続投与し、同様のエンドポイントについて検討した。第 1 及び第 2 の各セッションで、少なく

とも初回点滴投与の 90 分前から投与開始後 20 時間まで、電気生理学及び血行動態パラメーターを継続してモニターした。

溶媒又は活性成分 rFVIII を含有する被験物質 CSL627 の 1、2 回目の点滴投与（投与量 50 及び 250 IU/kg）後に、心血管系パラメーター、特に血圧及び LVP パラメーターに差異が認められた。CSL627 の溶媒及び活性成分 rFVIII のいずれの場合も投与後の記録値が概して低かったことから、この結果は CSL627 の活性成分 rFVIII の投与に起因するものではないと考えられた。

試験番号 APQ0016 での観察と同様、3 回目の溶媒又は CSL627 1250 IU/kg のそれぞれの投与後に動脈血圧（収縮期、弛緩期及び平均血圧）、PR 及び QT 間隔、心拍数、LVSP、LVEDP 並びに dP/dt_{max} 及び dP/dt_{min} に変化が認められた。これらの変化は、溶媒又は CSL627 1250 IU/kg の投与後に同程度であったことから、CSL627 の活性成分である rFVIII に起因する変化ではないと考えられた。

第 II 誘導心電図波形には、試験期間を通して溶媒又は CSL627 投与のいずれにおいても影響はみられなかった。

1、2 回目の溶媒又は CSL627 50 及び 250 IU/kg の点滴投与では、イヌに有害な臨床症状は認められなかった。

しかし、3 回目の溶媒投与では、仮性アレルギー反応に似た四肢・顔面の腫脹及び発赤並びに歯肉の蒼白化などの行動・臨床症状が観察され、動物愛護の観点から 23 分後に 3 回目の（最終）投与を停止する必要があった。

同様に、CSL627 の 3 回目の点滴投与（1250 IU/kg）でも溶媒投与と同じような時間（投与開始後約 20 分）に、眼の周囲・顔面・頸部・耳介及び前肢の腫脹並びに皮膚の発赤などの仮性アレルギー反応に似た臨床症状が観察されたが、獣医師の助言により、投与は予定通り終了まで継続した。前セッションで CSL627 の溶媒を投与した場合に観察されたように、これらの症状は回復がみられた。

CSL627 と溶媒の投与後に観察された臨床症状の発現・持続時間が両者で一致することから、これらの症状は被験物質 CSL627 の投与に直接関連する変化ではなく、両セッションで共通に使用された希釈溶媒の成分に起因することが強く示唆される。

麻酔イヌを使用した先の試験番号 APQ0016 の結果、並びに覚醒イヌのテレメトリーで実施した本試験（試験番号 APQ0018）でみられた臨床症状を考え合わせると、観察された影響は、イヌが特に感受性が高い動物種とされ（Varma et al., 1985、Masini et al., 1985、Picaut et al., 1994、Evaluation Report of Food Additives: Polysorbates, June 2007）、CSL627 の希釈溶媒の成分 PS80 に起因する可能性が極めて高いと考えられた。したがって、観察された影響は被験物質 CSL627 の活性成分、rFVIII 蛋白質の投与に直接関連する影響ではないと考えられた。PS80 により、特に感受性の高い動物種であるイヌで心血管系及び行動・臨床症状に対する影響が誘発されたとの仮説は、次いでサルを用いてテレメトリーで実施した安全性薬理試験（試験番号 APQ0019）で得られた結果により裏付けられた。この試験では、投与レジメンを先行する 2 試験（試験番号 APQ0016 及び APQ0018）、並びに反復投与毒性試験（試験番号 APQ0014）

と同様とした。試験番号 APQ0019 及び APQ0014 では、投与に関連した臨床症状及び心血管系・行動に対する影響が認められなかったことから、文献（Picaut et al., 1994）に報告されるように、イヌはサルと比べて PS80 に対する感受性が高い動物種であることが示された。したがって、本試験で観察された影響は、CSL627 投与に直接起因する影響ではないと考えられた。

2.6.2.4.5. CSL627：覚醒カニクイザルにおける心血管系テレメトリー試験（静脈内点滴投与）（試験番号 APQ0019）

サルを用いたテレメトリー試験において、CSL627 を漸増投与して電気生理学及び血行動態パラメーターに及ぼす影響を評価した。テレメーターを装着した雌雄各 2 例のサルを用い、CSL627 を投与量 50、250 及び 1250 IU/kg で漸増投与し、累積投与量を 1550 IU/kg とした。対照群として、プラセボ（生理食塩液）及び溶媒（CSL627 の希釈緩衝液）を CSL627 と同一容量で漸増投与した。CSL627、プラセボ及び溶媒は、先に実施した試験番号 APQ0016 及び APQ0018 と同一のレジメンで投与した。したがって、被験物質又は対照物質を各 30 分間の 3 回連続投与とし、各セッションを少なくとも 2 日間隔で実施した。

イヌを用いた両試験（試験番号 APQ0016 及び APQ0018）で記録したエンドポイントと同様のエンドポイントについて評価した。全てのセッションについて、点滴投与中、3 回目の投与終了の約 1 時間後、並びに投与に関連した行動的又は自律神経系変化及び偶発的臨床症状の観察のため、適切な時間に動物の観察を行った。

生体試料分析のため、第 2 及び第 3 セッションの最終投与開始後 45 分に静脈血を採取した。

CSL627 の 50、250 及び 1250 IU/kg 又は溶媒の投与後に、プラセボ対照群と比較して PR 間隔（第 II 誘導心電図）、心拍数及び血圧に差異が認められた。プラセボ対照群と比較した差異は軽度かつ一過性であったが、5%水準で統計学的に有意であった。統計学的に有意かつ軽度ながら最大 10%の PR 間隔の変化は一過性であったが、初回投与終了後に初めて発現し、2 回目の投与終了後まで継続した。その後、3 回目の CSL627 の最高用量 1250 IU/kg 投与中には消失した。

心拍数及び平均血圧は、それぞれ一時的に最大 6%及び 10%低下した。1 時間目の測定ポイントである CSL627 の 250 IU/kg 又は溶媒 0.59 mL/kg の 2 回目の投与中に軽度の血行動態の変化がほぼ同時に発現したが、次の測定ポイントである 15 分後の 2 回目の投与終了時には消失した。

2 回目の投与から 3 回目の CSL627 の高用量 1250 IU/kg 又は溶媒 2.96 mL/kg の投与中は、PR 間隔、心拍数及び血圧の測定値が拘束時のベースライン値に近づく傾向にあった。その後の非拘束での測定値は、静脈内投与開始後 12 時間の最終測定時点まで安定していた。第 3 セッションのプラセボ対照群の測定値は、CSL627 の最高投与量 1250 IU/kg 又は溶媒 2.96 mL/kg と比べて低値、高値又は同等であり、PR 間隔、心拍数及び血圧に関して統計学的有意差は認められなかった。また、これらのパラメーターでは投与終了後の測定ポイントで有意差が少数みられたが、いずれも測定時点での偶発的・散発的な発現であった。このよう

に、観察された差異は統計学的に有意（$p < 0.05$）であるが、軽微かつ散発的で用量依存的ではないことから、CSL627 の投与とは関連がないと考えられる。

試験期間を通して、CSL627 又は溶媒投与後の第 II 誘導心電図波形に影響はみられなかった。

溶媒を投与したサルの 1 例で、軽度の臨床症状（皮膚の変色及び前肢・頸部の赤色斑）が発現し、他日の CSL627 の投与まで持続した。しかし、この変化は投与終了後に回復し、CSL627 の投与と直接の関連はないと考えられた。他の 3 例のサルでは、いずれのセッションにおいても行動又は臨床的症状は観察されなかった。

予想されたとおり、CSL627 を投与したサルでは、1250 IU/kg の投与開始後 45 分の時点で血漿中 FVIII 濃度が顕著に上昇し、活性を有する被験物質が適切に動物に曝露されたことが確認された。動物番号 975M は投与過誤のため累積投与量が減少し、最終投与開始後 45 分の血漿中 FVIII 濃度が予想より低かった。対照的に、溶媒を投与したサルでは、投与前と 3 回目投与開始後 45 分の血漿中 FVIII 濃度が類似しており、動物が活性を有する FVIII に曝露されなかったことを示している。

以上のように、PR 間隔、心拍数及び対応する血圧にみられた差異は、軽度、低頻度かつ一過性であった。実際に変化は小さかったが、統計学的に有意であり、多くは 2 回目の点滴投与と同時に発現した。しかしながら、その後、累積投与量で 3 倍の CSL627 又は溶媒を投与したにもかかわらず、すべての値がベースラインに近づく傾向にあった。また、プラセボ対照と CSL627 又は溶媒との間で観察された変化は軽微かつ散発的で用量依存的ではないことから、CSL627 の投与とは直接関連はないと考えられた。本試験では、直接 CSL627 の投与に起因すると考えられる有害な臨床症状又は行動の変化は観察されなかった。

2.6.2.5.　薬力学的薬物相互作用試験

CSL627 の薬理作用に基づき、薬力学的相互作用は予想されないので、該当試験は実施しなかった。

2.6.2.6.　考察及び結論

本剤の非臨床試験では、ヒトの凝固因子欠損患者と類似した凝固系の障害がみられ、血友病 A 患者にみられるように出血リスクが増加する FVIII 欠損マウス（Øvlisen et al., 2008）で CSL627 の薬力学的効果が示された。TEG/TEM、トロンビン生成及び aPTT の各種 *ex vivo* 試験で測定した場合、CSL627 と Advate®の薬力学的効果は、発色合成基質法で測定した FVIII 活性に基づく用量 20 IU/kg で同等であった。また、*in vivo* 試験では CSL627 の 1～150 IU/kg の投与により、対照群と比べて有意かつ用量依存的な総失血量の減少及び止血までの時間の短縮が認められた。投与量を発色合成基質法で測定した FVIII 活性で補正すると、CSL627 の効力は市販の rFVIII 製剤（Helixate®、ReFacto AF®及び Advate®）と実質的な差はなかった。

さらに、CSL627 は CD ラットの血漿を用いた *in vitro* 試験で、トロンビン生成に対して濃度依存的な薬力学的効果（トロンビンピーク値の上昇及びピーク値到達時間の短縮）を示し、カニクイザルの血漿を用いた試験でも同様に効果（トロンビンピーク値の上昇、内因性トロンビン活性の増加及びピーク値到達時間の短縮）がみられた。これらの試験結果から、CSL627 の非臨床試験でラット及びカニクイザルが薬理学的に妥当な動物モデルであることが支持される。

ラット及びカニクイザルの 28 日間反復投与試験において、それぞれ最高 1250 IU/kg 及び 500 IU/kg までの投与量で安全性薬理評価を行った。いずれの動物種においても、CSL627 の投与に起因する肉眼的又は病理組織学的変化は観察されなかった。ラットの Irwin テストにより CSL627 の神経行動学的影響を検討した結果、投与に関連した臨床症状の変化は認められなかった。また、中枢神経系に対する影響を示すと考えられる肉眼的又は病理組織学的変化もみられなかった。カニクイザルの反復投与毒性試験に組み込んで、電気生理学的パラメーター及び血圧について評価した。さらに、CSL627 の血行動態及び電気生理学的パラメーターに及ぼす影響について、イヌ及びサルの麻酔条件下又はテレメトリー試験で検討し、イヌで呼吸系パラメーターを評価した。これらの安全性薬理試験では、累積投与量 1550 IU/kg まで CSL627 の投与に起因する有害所見は認められなかった。これらの試験成績から総合的に判断して、薬理活性成分として rFVIII 蛋白を含有する CSL627 の投与は、心臓の電気生理学的機能及び血行動態並びに呼吸系機能に影響を及ぼさないと考えられた。

以上のように、実施した非臨床の毒性・安全性試験から CSL627 の優れた忍容性及び高い安全性プロファイルが示された。これらの試験成績から、CSL627 の安全性上の問題はないと考えられた。したがって、CSL627 は血友病 A 患者の治療に有効かつ安全な薬剤であることが示唆された。

2.6.2.7.　参考文献

Despotis GJ, Santoro SA, Spitznagel E, Kater KM, Cox JL, Barnes P, et al: Prospective evaluation and clinical utility of on-site monitoring of coagulation in patients undergoing cardiac operation. J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 107, 271-9, 1994.

Food Safety Commission: Evaluation Report of Food Additives Polysorbates (Polysorbates 20, 60, 65 and 80), June 2007.

Hubbard A, Weller L and Bevan S: Activation profiles of factor VIII in concentrates reflect one-stage/chromogenic potency discrepancies. British Journal of Haematology, 117, 957-960, 2002.

Irwin S: Comprehensive observational assessment: Ia. A systematic, quantitative procedure for assessing the behavioural and physiologic state of the mouse. Psychopharmacologia, 13(3), 222-57, 1968.

Luddington RJ: Thrombelastography/thromboelastometry. Clin. Lab. Haem., 27, 81-90, 2005.

Masini E, Planchenault J, Pezziardi F, Gautier P and Gagnol JP: Histamine-releasing properties of Polysorbate 80 in vitro and in vivo: correlation with its hypotensive action in the dog. Agents Actions, 16(6), 470-7, 1985.

Matsumoto T, Nogami K, Ogiwara K and Shima M: A modified thrombin generation test for investigating very low levels of factor VIII activity in hemophilia A. Int. J. Hematol., 90, 576-582, 2009.

Mikaelsson M, Oswaldsson U and Sandberg H: Influence of phospholipids on the assessment of factor VIII activity. Haemophilia, 4, 646-650, 1998.

Øvlisen K, Kristensen AT and Tranholm M: In vivo models of haemophilia – status on current knowledge of clinical phenotypes and therapeutic interventions. Haemophilia, 14, 248-259, 2008.

Picaut P, Vayron De la Moureyre C, Belin V and Nohynek GJ: Polysorbate 80 – toxicological evaluation after single intravenous administration in rats, mice, dogs and monkeys. Toxicology Letters, 74, 65, 1994.

Rahe-Meyer N, Pichlmaier M, Haverich A, Solomon C, Winterhalter M, Piepenbrock S, et al: Bleeding management with fibrinogen concentrate targeting a high-normal plasma fibrinogen level: a pilot study. Br. J. Anaesth., 102(6), 785-92, 2009.

Shore-Lesserson L, Manspeizer HE, DePerio M, Francis S, Vela-Cantos F and Ergin MA: Thromboelastography-guided transfusion algorithm reduces transfusions in complex cardiac surgery. Anesth. Analg., 88, 312-9, 1999.

Spalding GJ, Hartrumpf M, Sierig T, Oesberg N, Kirschke CG and Albes JM: Cost reduction of perioperative coagulation management in cardiac surgery: value of ‘bedside’ thrombelastography (ROTEM). Eur. J. Cardiothorac. Surg., 31, 1052-7, 2007.

Sugita C, Yamashita A, Matsuura Y, Iwakiri T, Okuyama N, Matsuda S, et al: Elevated plasma factor VIII enhances venous thrombus formation in rabbits: Contribution of factor XI, von Willebrand factor and tissue factor. Thromb. Haemost., 110, 62-75, 2013.

Varma RK, Kaushal R,. Junnarkar AY, Themas GP, Naidu MUR, Singh PP, et al: Polysorbate 80: A pharmacological Study. Arzneim.-Forsch/Drug Res. 35(1), 805-8, 1985.

エイフスチラ静注用

2.6　非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.3　薬理試験概要表

CSL ベーリング株式会社

目　次

略語・略号一覧 3
2.6.3.　薬理試験概要表 4
2.6.3.1.　薬理試験：一覧表 4
2.6.3.2.　効力を裏付ける試験 5
2.6.3.3.　副次的薬理試験 8
2.6.3.4.　安全性薬理試験 9
2.6.3.5.　薬力学的薬物相互作用試験 12

表の目次

表 2.6.3-1：　薬理試験一覧表 4
表 2.6.3-2：　効力を裏付ける試験 5
表 2.6.3-3：　安全性薬理試験 9

略語・略号一覧

略語・略号	定義（英語）	定義（日本語）
aPTT	Activated partial thromboplastin time	活性化部分トロンボプラスチン時間
BP	Blood pressure	血圧
BW	Bodyweight	体重
dP/dt	Rate of pressure change	左室圧変化率
ECG	Electrocardiogram	心電図
e.g.	Exempli gratia	例えば
F	Female	雌
FVIII	Coagulation Factor VIII	血液凝固第 VIII 因子
GLP	Good laboratory practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
HR	Heart rate	心拍数
i.e.	Id est	すなわち
IU	International Unit	国際単位
i.v.	Intravenous	静脈内
kg	Kilogram	キログラム
KO	Knock out	ノックアウト
LVEDP	Left ventricular end diastolic pressure	左室拡張末期圧
LVP	Left ventricular pressure	左室圧
LVSP	Left ventricular systolic pressure	左室収縮期圧
M	Male	雄
mL	Milliliter	ミリリットル
NOAEL	No observed adverse effect level	無毒性量
PR	Interval between P wave and onset of QRS	PR 間隔 : P 波から QRS 開始までの間隔
QT	QT-interval: time from start of QRS complex to end of T-wave	QT 間隔 : QRS 開始から T 波終了までの時間
rFVIII	Recombinant human coagulation factor VIII	遺伝子組換えヒト血液凝固第 VIII 因子

2.6.3. 薬理試験概要表

2.6.3.1.　薬理試験：一覧表

表 2.6.3-1：　薬理試験一覧表

被験物質：CSL627

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location
Primary pharmacodynamics	Rat/[redacted](SD)	*In vitro*	CSL Behring GmbH	IVR[redacted]-03	4.2.1.1-1
Primary pharmacodynamics	Cynomolgus Monkey/ *Macaca fascicularis*	*In vitro*	CSL Behring GmbH	IVX[redacted]-10	4.2.1.1-2
Primary pharmacodynamics	Mouse/ FVIII KO	i.v.	CSL Behring GmbH	PSM[redacted]-18	4.2.1.1-3
Primary pharmacodynamics	Mouse/ FVIII KO	i.v.	CSL Behring GmbH	PSM[redacted]-23	4.2.1.1-4
Primary pharmacodynamics	Mouse/ FVIII KO	i.v.	CSL Behring GmbH	ABM 03[redacted]	4.2.1.1-5
Primary pharmacodynamics	Mouse/ FVIII KO	i.v.	CSL Behring GmbH	ABM 01[redacted] and ABM 03[redacted]	4.2.1.1-6
Subchronic toxicity in rats / Neurobehavioral	Rat/[redacted](SD)	i.v.	[redacted]	APQ0013	4.2.1.3-1
Subchronic toxicity in monkeys / Cardiovascular	Cynomolgus Monkey/ *Macaca fascicularis*	i.v.	[redacted]	APQ0014	4.2.1.3-2
Safety Pharmacology in anaesthetized dogs / Cardiovascular and Respiratory	Dog/ Beagle	i.v.	[redacted]	APQ0016	4.2.1.3-3
Safety Pharmacology in a telemetered dog / Cardiovascular	Dog/ Beagle	i.v.	[redacted]	APQ0018	4.2.1.3-4
Safety Pharmacology in telemetered monkeys / Cardiovascular	Cynomolgus Monkey/ *Macaca fascicularis*	i.v.	[redacted]	APQ0019	4.2.1.3-5

2.6.3.2.　効力を裏付ける試験

表 2.6.3-2：　効力を裏付ける試験

被験物質：CSL627

Organ Systems Evaluated	Species/Strain	Method of Administration	Doses (IU/kg BW)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Study Number	Location
Thrombin generation	Rat/ [redacted] (SD)	*In vitro*	1 to 30 IU/mL	8 F	Concentration-dependent increase in thrombin peak and reduction in time to peak	No	IVR [redacted]-03	4.2.1.1-1
Thrombin generation	Cynomolgus Monkey/ *Macaca fascicularis*	*In vitro*	1 to 30 IU/mL	8 F	Concentration-dependent increase in thrombin peak and endogenous thrombin potential and reduction in time to peak	No	IVX [redacted]-10	4.2.1.1-2
Thromboelastography / thromboelastometry; Thrombin generation	Mouse/ FVIII KO	i.v.	20	5 M + 5 to 6 F	Pharmacodynamic activity of CSL627 appears equivalent to that of Advate® when dosed according to chromogenic FVIII activity	No	PSM [redacted]-18	4.2.1.1-3
aPTT	Mouse/ FVIII KO	i.v.	20	5 to 8 M + 5 to 10 F	CSL627: significant restoring of aPTT comparable to Advate® when dosed according to FVIII chromogenic activity	No	PSM [redacted]-23	4.2.1.1-4

表 2.6.3-2：　効力を裏付ける試験（続き）

被験物質：CSL627

Organ Systems Evaluated	Species/Strain	Method of Administration	Doses (IU/kg BW)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Study Number	Location
Tail tip bleeding model, aPTT	Mouse/ FVIII KO	i.v.	CSL627, Helixate®, ReFacto AF® 1 5 15 40 100 150 Humate-P® 40 [a]	5 to 15 M + 5 to 15 F	CSL627: significant, dose-dependent reduction of total blood loss, time to hemostasis and aPTT Efficacy of CSL627 not worse than efficacy of marketed rFVIII products (i.e. Helixate®, ReFacto AF®) when dosed according to chromogenic FVIII activity CSL627 more potent when dosed according to FVIII one-stage clotting activity	No	ABM 03[redacted]	4.2.1.1-5

a) A dose based on FVIII activity determined with a one-stage clotting assay (relating to 41 IU/kg based on FVIII activity determined with a chromogenic assay).

表 2.6.3-2：　効力を裏付ける試験（続き）

被験物質：CSL627

Organ Systems Evaluated	Species/Strain	Method of Administration	Doses (IU/kg BW)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Study Number	Location
Tail tip bleeding model, aPTT	Mouse/ FVIII KO	i.v.	CSL627, Advate®, Helixate®, ReFacto AF® 1 5 15 40 100 150 Humate-P® 40 [a]	ABM 03[redacted] 5 to 15 M + 5 to 15 F ABM 01[redacted] 5 to 8 M + 5 to 8 F	CSL627: significant, dose-dependent reduction of total blood loss, time to hemostasis and aPTT Efficacy of CSL627 not worse than efficacy of marketed rFVIII products (i.e. Advate®, Helixate®, ReFacto AF®) when dosed according to chromogenic FVIII activity CSL627 more potent when dosed according to FVIII one-stage clotting activity	No	ABM 03[redacted] and ABM 01[redacted]	4.2.1.1-6

a) A dose based on FVIII activity determined with a one-stage clotting assay (relating to 41 IU/kg based on FVIII activity determined with a chromogenic assay).

2.6.3.3.　副次的薬理試験

試験は実施していない。

2.6.3.4.　安全性薬理試験

表 2.6.3-3：　安全性薬理試験

被験物質：CSL627

Organ Systems Evaluated	Species/ Strain	Method of Administration	Doses (IU/kg BW)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Study Number	Location
Subchronic toxicity in rats / Neurobehavioral	Rat/ [redacted] (SD)	i.v.	50, 250, 1250	10 M (+ 5 interim kill) 10 F (+ 5 interim kill)	NOAEL 1250 IU/kg/day (clinical signs, modified Irwin observational battery, macroscopic or histopathological changes)	Yes	APQ0013	4.2.1.3-1
Subchronic toxicity in monkeys / Cardiovascular	Cynomolgus Monkey/ *Macaca fascicularis*	i.v.	50, 150, 500	4 M 4 F	NOAEL 500 IU/kg/day (macroscopic or histopathological changes, cardiovascular parameters (BP, HR, ECG), clinical signs, ophthalmoscopy, hematology, blood chemistry, urine analysis)	Yes	APQ0014	4.2.1.3-2

表 2.6.3-3：　安全性薬理試験（続き）

被験物質：CSL627

Organ Systems Evaluated	Species/ Strain	Method of Administration	Doses (IU/kg BW)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Study Number	Location
Safety Pharmacology in anaesthetized dogs / Cardiovascular and Respiratory	Dog/ Beagle	i.v.	50 250 1250 (total cumulative dose 1550 IU/kg) compared to saline	4 M	50 (first infusion) and 250 (second infusion) IU/kg CSL627: minor differences especially in Lead II ECG intervals and stroke volume, not considered to be pharmacologically relevant CSL627 (third infusion): cardiovascular effects (arterial BP, LVSP, LVEDP, cardiac output and stroke volume), no effect on Lead II ECG	Yes	APQ0016	4.2.1.3-3
Safety Pharmacology in a telemetered dog / Cardiovascular	Dog/ Beagle	i.v.	50 250 1250 (total cumulative dose 1550 IU/kg) compared to dilution buffer for CSL627	1 M	50 (first infusion) and 250 (second infusion) IU/kg CSL627: minor differences in BP and LVP parameters, no clinical signs dilution buffer and 1250 IU/kg CSL627 (third infusion, each): cardiovascular effects (arterial BP, HR, PR and QT intervals, LVSP, LVEDP, dP/dt) and clinical signs of a pseudoallergic reaction (e.g. swelling and reddening of the extremities and the face), no effect on Lead II ECG	Yes	APQ0018	4.2.1.3-4

表 2.6.3-3：　安全性薬理試験（続き）

被験物質：CSL627

Organ Systems Evaluated	Species/ Strain	Method of Administration	Doses (IU/kg BW)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Study Number	Location
Safety Pharmacology in telemetered monkeys / Cardiovascular	Cynomolgus Monkey/ *Macaca fascicularis*	i.v.	50 250 1250 (total cumulative dose 1550 IU/kg)	2 M 2 F	CSL627: no adverse clinical signs or behavioral effects	Yes	APQ0019	4.2.1.3-5

2.6.3.5.　薬力学的薬物相互作用試験

CSL627 と他の薬剤との相互作用は予想されないため、相互作用に関する試験は実施しなかった。