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

2.6.4　薬物動態試験の概要文

CSL ベーリング株式会社

目次

略語・略号一覧 4
2.6.4. 薬物動態試験の概要文 6
2.6.4.1. まとめ 6
2.6.4.2. 分析法 6
2.6.4.3. 吸収 7
2.6.4.3.1. CSL627：カニクイザルにおける薬物動態試験及び抗体産生の検討（試験番号 APQ0015） 7
2.6.4.3.2. CSL627：カニクイザルにおける薬物動態試験（試験番号 APQ0020） 10
2.6.4.3.3. rFVIII KO マウスを用いる rFVIII/CSL627、Helixate®、ReFacto AF®及び Advate® の薬物動態評価（試験番号 PSM 06[redacted]） 11
2.6.4.4. 分布 17
2.6.4.5. 代謝 17
2.6.4.6. 排泄 17
2.6.4.7. 薬物動態学的薬物相互作用 17
2.6.4.8. その他の薬物動態試験 18
2.6.4.9. 考察及び結論 18
2.6.4.10. 参考文献 18

表の目次

表 2.6.4-1：　薬物動態試験 6
表 2.6.4-2:　CSL627 を投与量 50 及び 250 IU/kg で雌雄カニクイザルに単回静脈内投与した時の血漿中 FVIII の PK パラメーター 8
表 2.6.4-3：　CSL627 と Helixate®又は ReFacto AF®を投与量 250 IU/kg でカニクイザルに単回静脈内投与した時の血漿中 FVIII 活性に基づく PK パラメーター 9
表 2.6.4-4：　CSL627 又は Advate®を投与量 250 IU/kg でカニクイザルに単回静脈内（ボーラス）投与した時の血漿中 FVIII 活性に基づく PK パラメーター（ベースライン修正値） 11
表 2.6.4-5：　凝固一段階法、発色合成基質法及びラベル表示（各製剤バイアルに表示されている公称値）に基づく投与量の計算 12
表 2.6.4-6：　CSL627 及び比較対照薬の発色合成基質法で測定した FVIII KO マウスの血漿中 FVIII 活性に基づく PK パラメーター 13
表 2.6.4-7：　CSL627 及び比較対照薬の凝固一段階法で測定した FVIII KO マウスの血漿中 FVIII 活性に基づく PK パラメーター 14
表 2.6.4-8：　FVIII KO マウスにおける発色合成基質法で測定した血漿中 FVIII 活性に基づく $AUC_{0.08\text{-}72h}$ の比較 15
表 2.6.4-9：　FVIII KO マウスにおける凝固一段階法で測定した血漿中 FVIII 活性に基づく $AUC_{0.08\text{-}72h}$ の比較 16

図の目次

図 2.6.4-1：　CSL627 又は Advate®を投与量 250 IU/kg で単回静脈内（ボーラス）投与した時の血漿中 FVIII 活性 11
図 2.6.4-2：　種々の FVIII 製剤を表示用量 100 IU/kg で投与した FVIII KO マウスの発色合成基質法で測定した血漿中 FVIII 活性 13
図 2.6.4-3：　種々の FVIII 製剤を表示用量 100 IU/kg で投与した FVIII KO マウスの凝固一段階法で測定した血漿中 FVIII 活性 14

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
AUC	Area under the plasma activity-time curve to infinity	血漿中濃度–時間曲線下面積
$AUC_{0.08\text{-}72\ h}$	Area under the plasma concentration-time curve from 0.08 h to 72 h	0.08 時間から 72 時間までの血漿中濃度–時間曲線下面積
AUC_{24h}	Area under the plasma concentration-time curve from zero up to 24 h	0 時間から 24 時間までの血漿中濃度–時間曲線下面積
BE	Bioequivalence	生物学的同等性
C_0	Baseline concentration	ベースライン（濃度）
CL	Clearance	クリアランス
C_{max}	Maximum concentration	最高血漿中濃度
$C_{max,incr}$	Maximum estimated plasma level minus estimated endogenous background level	内因性のバックグラウンドを差し引いた推定最高血漿中濃度
$C_{max,incr,obs}$	Maximum observed plasma level minus observed endogenous baseline level	内因性のバックグラウンドを差し引いた実測最高血漿中濃度
$C_{max,\ obs}$	Maximum observed plasma level	実測最高血漿中濃度
ChS	Chromogenic substrate (assay)	発色合成基質法
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay	固相酵素免疫測定
$f_{c,ss}$	Fraction in plasma at steady state	定常状態における血漿分画
FVIII	Coagulation factor VIII	血液凝固第 VIII 因子
FIXa	Activated coagulation factor IX	活性化血液凝固第 IX 因子
FX	Coagulation factor X	血液凝固第 X 因子
FXa	Activated coagulation factor X	活性化血液凝固第 X 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
h	Hour(s)	時間
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
k	First-order terminal rate constant	消失速度定数
kg	Kilogram	キログラム
KO	Knock out	ノックアウト
mL	Milliliter	ミリリットル
MRT	Mean residence time	平均滞留時間
n	Number of animals	動物数
n.a.	Not applicable	該当せず
NCA	Non-compartmental analysis	ノンコンパートメント解析
Observ.	Observed data	観察データ
OS	One-stage clotting assay	凝固一段階法

2.6.4　薬物動態試験の概要文
エイフスチラ静注用

略語・略号	定義（英語）	定義（日本語）
Param.	Parametric model	2 コンパートメントモデルパラメトリック解析
PK	Pharmacokinetic	薬物動態
pNA	p-nitroanilin	パラニトロアニリン
$rAUC_{extr}$	Fraction of area under the curve and above background beyond t_{last}	バックグラウンドを超える最終測定時間以降までの AUC 分画
rFVIII	Recombinant human coagulation factor VIII	遺伝子組換えヒト血液凝固第 VIII 因子
SD	Standard Deviation	標準偏差
$t_{1/2\alpha}$	Initial half-life	初期相の半減期
$t_{1/2\beta}$	Terminal half-life	終末相半減期
t_{max}	Time of maximum plasma level	最高血漿中濃度到達時間
V_c	Estimated volume of the central compartment	セントラルコンパートメントの推定容積
V_{ss}	Estimated volume of distribution at steady state	定常状態における推定分布容積
WHO	World health organisation	世界保健機構

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。

2.6.4. 薬物動態試験の概要文

2.6.4.1.　まとめ

rVIII-SingleChain（以下、CSL627 とする）の薬物動態（PK）を評価するため、サル及び FVIII ノックアウト（KO）マウスを用いて単回静脈内投与の 3 試験を実施した（表 2.6.4-1）。本剤の臨床投与経路は静脈内投与のみであるため、非臨床試験ではその他の投与経路については検討しなかった。さらに、単回及び反復投与毒性試験の一部としてトキシコキネティクスを行った。

表 2.6.4-1：　薬物動態試験

試験タイプ	試験番号	バッチ番号	使用製剤	GLP 適用
薬物動態試験、FVIII KO マウス	PSM 06[redacted]	[redacted]	CSL627	非適用
薬物動態試験、サル	APQ0015	[redacted]	CSL627	非適用
薬物動態試験、サル	APQ0020	[redacted]	CSL627	非適用

2.6.4.2.　分析法

血漿中 FVIII 活性を測定するため、2 つの異なる原理に基づいた測定法（発色合成基質法及び凝固一段階法）を使用した。PK 試験において両測定法を用いた。全長 FVIII の場合は、両測定法で類似の測定結果が得られるが、B 領域欠失 VIII の活性は、発色合成基質法と比較して凝固一段階法で測定すると低値を示すことが知られている（試験番号 PSM 06/11、Mikaelsson et al., 1998、Hubbard et al., 2002）。両測定法の原理は以下のとおりである。

- FVIII 発色合成基質（ChS）法
  本法（[redacted]、[redacted]、Italy）は、カルシウムイオン（Ca^{2+}）及びリン脂質の存在下において FX から FXa への活性化に基づいている。FVIII はこの活性化反応の補因子として働き、活性化を強力に刺激し亢進させる。FX の存在下において Ca^{2+}、リン脂質及び FIXa の至適濃度下で、FX の活性化速度は FVIII 量と直線的な相関関係になる。次のステップでは、FXa が発色基質の S-2765 を加水分解する際に、発色基のパラニトロアニリン（pNA）を遊離させる。分光光度計を用いて pNA を波長 405 nm で測定する。生成されるトロンビンによる S-2765 の加水分解は、基質と共に合成トロンビン阻害剤 I-2581 の添加により阻止可能である。その結果、発色強度は試料中の FVIII 活性に比例することになる。本測定は、血液凝固アナライザー（[redacted]、[redacted]）による自動測定又は 96 穴マイクロプレートにより用手法で行った。本測定法は SOP 020100095 に従い、真度、精度（再現性、室内再現精度）、直線性、測定範囲及び頑健性についてバリデーションされ、予め規定されたすべての基準を満たしていた（報告書番号 MEV-83r）。
- FVIII 凝固一段階法

内因性凝固系由来の血液凝固因子 FVIII が欠損すると、活性化部分トロンボプラスチン時間（aPTT）が延長する。FVIII の定量のため、定量すべき血漿サンプルとヒト FVIII 欠損血漿との混合液を、活性化剤として[redacted]（[redacted]の試薬）を使用した aPTT アッセイで測定した。血漿中 FVIII 濃度は aPTT 活性に比例している。測定値の比較を可能にするため、血漿中サンプル濃度を IU/mL の単位に変換した（100%基準値=1 IU/mL）。測定は血液凝固アナライザー（[redacted]）による自動測定で行った。

サル血漿中の PK 測定（試験番号 APQ0015、試験番号 APQ0020）

サル血漿中の FVIII 活性を発色合成基質法で測定した。この測定法では、サルの内因性 FVIII 活性（ベースライン値）及び CSL627 活性（単鎖 rFVIII 相当）を検出する。したがって、血漿中 CSL627 活性に相当する FVIII レベルは、全体の血漿中 FVIII 活性からベースラインの内因性 FVIII 活性を差し引いた値として算出した。測定は、血液凝固アナライザー（[redacted]）による自動測定で行った。

FVIII KO マウス血漿中の PK 測定（試験番号 PSM 06[redacted]）

FVIII KO マウスにおける FVIII 活性は、発色合成基質法及び凝固一段階法の両方で測定した。発色合成基質法はマイクロプレートを用いて用手法で行った。この試験では、CSL627 投与前の血漿中 FVIII 活性は測定しなかった。発色合成基質法では、同様にデザインされた別の試験（試験番号 PSM 03[redacted]）において内因性 FVIII 活性（ベースライン値）は検出限界未満であったため、FVIII 測定値は CSL627 の活性のみを示すと考えた。凝固一段階法では、別の試験（試験番号 PSM 03[redacted]）において内因性 FVIII 活性（ベースライン値）が測定され、その値は 0.1926 IU/mL であった。したがって、薬物動態解析においてのみ、解析前にすべての血漿中 FVIII 活性からこの値を差し引いて解析した。ベースライン値で補正していないデータは、報告書の記述統計表、図及び付録に示した。

2.6.4.3.　吸収

2.6.4.3.1.　CSL627：カニクイザルにおける薬物動態試験及び抗体産生の検討（試験番号 APQ0015）

CSL627 を投与量 50 及び 250 IU/kg で単回静脈内投与し、PK 及び用量相関性について検討した（フェーズ A）。加えて、CSL627 の単回投与後の全身曝露量を市販の rFVIII 製剤（Helixate® 及び ReFacto AF®）と比較した。

フェーズ B では、引き続き GLP 適用下で実施した毒性試験（試験番号 APQ0014、以下参照）において、CSL627 に対する特異抗体産生能を評価するため、初回静脈内投与後にアジュバントと共に反復皮下投与し、体液性免疫応答の誘導（抗体産生）について検討した。さらに、CSL627 に対する免疫応答を、ReFacto AF®及び Helixate®と比較検討した。

薬物動態試験（フェーズ A）

CSL627 を投与量 50 及び 250 IU/kg で 1 群当たり雌雄各 1 例のカニクイザルに単回静脈内ボーラス投与し、薬物動態を検討した。比較対照群には、別途 4 例の動物に FVIII として同一投与量の Helixate®を静脈内投与し、2 例の動物に ReFacto AF®を投与量 250 IU/kg で静脈内投与した。各被験物質の投与前、投与後 15 及び 30 分、並びに投与後 1、2、4、6、12 及び 24 時間に採血した。試験結果を表 2.6.4-2 及び表 2.6.4-3 に示す。

250 IU/kg 投与量群の血漿中濃度データを解析した結果、CSL627 の AUC_{24h}（98 IU•h/mL）は ReFacto AF®（76 IU•h/mL）よりもわずかに高く、Helixate®（62 IU•h/mL）よりも明らかに高いことが示された。すなわち、CSL627 のクリアランス（CL: 2.1 mL/h/kg）は ReFacto AF®（2.7 mL/h/kg）及び Helixate®（3.7 mL/h/kg）よりも低値であった。CSL627 の推定平均滞留時間（MRT: 13.5 時間）は ReFacto AF®（13.0 時間）とほぼ同等であり、Helixate®（8.8 時間）よりも長かった。平均終末相半減期（$t_{1/2\beta}$）にも同様な傾向がみられ、CSL627 が 9.6 時間、ReFacto AF®が 10.2 時間、Helixate®が 7.3 時間であった。したがって、CSL627 は ReFacto AF®とほぼ同等な PK 特徴を示したが、Helixate®よりもわずかに低い CL を示した。また、50 及び 250 IU/kg 投与群の結果を比較すると、CSL627 と Helixate®の外挿を伴わないパラメーター（$C_{max,incr,obs}$、$C_{max,incr}$）及びバックグラウンドを超える濃度における AUC_{24h} はほぼ用量相関的であることが示された。

以上より、CSL627 あるいは FVIII 濃縮製剤（Helixate®又は ReFacto AF®）を投与量 250 IU/kg でカニクイザルに単回静脈内投与した結果、いずれの製剤でも同様な PK の特徴を示し、忍容性は良好であった。

表 2.6.4-2：　CSL627 を投与量 50 及び 250 IU/kg で雌雄カニクイザルに単回静脈内投与した時の血漿中 FVIII の PK パラメーター

PK パラメーター	単位	解析方法	CSL627 50 IU/kg n=2	CSL627 250 IU/kg n=2
$C_{max,incr,obs}$	IU/mL	Obsev.	2.11	10.74
$C_{max,incr}$	IU/mL	NCA Param.	2.40 2.33	11.31 11.80
AUC_{24h}	IU•h/mL	NCA Param.	25.3 25.0	101.7 97.9
AUC	IU•h/mL	NCA Param.	47 73	125 121
$_{r}AUC_{extr}$	%	NCA Param.	39.2 53.9	16.8 15.4
CL	mL/h/kg	NCA Param.	1.07 0.69	2.00 2.06
MRT	h	NCA Param.	29.4 58.7	13.3 13.5
V_c	mL/kg	NCA Param.	20.8 21.4	22.1 21.2

PK パラメーター	単位	解析方法	CSL627 50 IU/kg n=2	CSL627 250 IU/kg n=2
V_{ss}	mL/kg	NCA Param.	31.6 40.3	26.6 27.8
$t_{1/2\alpha}$	h	Param.	1.14	0.55
$t_{1/2\beta}$	h	NCA Param.	20.9 41.9	9.7 9.6

データは各群当たり 2 例の幾何平均値（雌雄各 1 例）とした。
Observ.：観察データ、NCA：ノンコンパートメント解析、Param.：2 コンパートメントモデルパラメトリック解析

表 2.6.4-3：　CSL627 と Helixate®又は ReFacto AF®を投与量 250 IU/kg でカニクイザルに単回静脈内投与した時の血漿中 FVIII 活性に基づく PK パラメーター

PK パラメーター	単位	解析方法	CSL627 n=2	Helixate® n=2	ReFacto AF® n=2	CSL627／ Helixate®	CSL627／ ReFacto AF®
$C_{max,incr,obs}$	IU/mL	Obsev.	10.74	11.19	9.92	0.96	1.08
$C_{max,incr}$	IU/mL	NCA Param.	11.31 11.80	13.50 13.10	11.34 10.30	0.84 0.90	1.00 1.15
AUC_{24h}	IU•h/mL	NCA Param.	101.7 97.9	67.2 62.3	78.6 76.0	1.51 1.57	1.29 1.29
AUC	IU•h/mL	NCA Param.	125 121	74 68	93 91	1.69 1.78	1.34 1.32
CL	mL/h/kg	NCA Param.	2.00 2.06	3.39 3.68	2.68 2.73	0.59 0.56	0.75 0.75
MRT	h	NCA Param.	13.3 13.5	8.4 8.8	12.2 13.0	1.58 1.53	1.09 1.04
V_c	mL/kg	NCA Param.	22.1 21.2	18.5 19.1	22.1 24.3	1.19 1.11	1.00 0.87
V_{ss}	mL/kg	NCA Param.	26.6 27.8	28.5 32.6	32.7 35.6	0.93 0.86	0.81 0.78
$t_{1/2\alpha}$	h	Param.	0.55	0.96	1.34	0.57	0.41
$t_{1/2\beta}$	h	NCA Param.	9.7 9.6	6.8 7.3	9.6 10.2	1.42 1.32	1.01 0.94

FVIII 活性データは各群当たり 2 例の幾何平均値（雌雄各 1 例）とした。
PK パラメーターの幾何平均値比は CSL627 の Helixate®又は ReFacto AF®に対する比率とした。
Observ.：観察データ、NCA：ノンコンパートメント解析、Param.：2 コンパートメントモデルパラメトリック解析

免疫応答試験（フェーズ B）

PK 試験終了後、毒性試験（試験番号 APQ0014、GLP 適用）で CSL627 に対する特異抗体産生能を評価するために、高投与量群の動物にフロイント不完全アジュバントと共に被験物質を 15 及び 29 日目に皮下投与し、被験物質に対する抗体産生能を検討した。1、15 及び 29 日目に動物から採血し、抗体産生の確認を行った（1 日目の投与前値はベースラインの値として用いた）。凝固一段階法による FVIII 活性測定のため、15 及び 29 日目に採血し、皮下投与後の免疫応答を検討した。

抗体は固相酵素免疫測定（ELISA）法を用いて測定した。CSL627、Helixate®又は ReFacto AF®を投与したいずれの動物にもヒト FVIII に対する特異抗体が検出された。したがって、CSL627、Helixate®又は ReFacto AF®のいずれかを投与量 350 IU/kg で 2 週間に 1 回、アジュバントと共に皮下投与（能動免疫）すると、全動物で抗 FVIII 抗体産生による免疫応答を誘発し、忍容性は認められなかった。能動免疫下で異種のヒト FVIII 製剤を反復投与すると、強力な中和抗 FVIII 抗体の産生が認められ、その抗体は内因性 FVIII と交差反応性が明らかに高く、内因性 FVIII を阻害した結果、CSL627、Helixate®又は ReFacto AF®のいずれかを投与したすべての動物で、程度の差はあるものの血友病 A 様症状が誘起された。

2.6.4.3.2.　CSL627：カニクイザルにおける薬物動態試験（試験番号 APQ0020）

CSL627 を投与量 250 IU/kg で単回静脈内投与し、PK を検討した。また、CSL627 静脈内投与後の全身曝露量を市販の rFVIII 製剤 Advate®と比較した。血漿サンプルの分析のため、すべての動物（n=1/性/群）から被験物質の投与前、投与後 15 及び 30 分、並びに投与後 1、2、4、6、12 及び 24 時間に静脈血を採取した。

CSL627 及び比較対照製剤 Advate®を投与量 250 IU/kg で単回静脈内ボーラス投与したとき、忍容性は良好であった。

個々の FVIII 活性は発色合成基質法により測定した。FVIII 活性に相当する血漿中濃度は、標準ヒト血漿の製造業者が WHO 標準物質を基に検定した標準ヒト血漿を標準物質として算出した。標準値 100%は、FVIII の 1 IU/mL に相当する。CSL627 及び Advate®投与後 24 時間までの濃度は、すべての動物でベースラインを上回っていた（図 2.6.4-1）。概して、両製剤で FVIII の PK に顕著な性差はみられなかった。

CSL627 投与後における FVIII の最大活性は、Advate®投与後と類似していた。

血漿中 FVIII 活性は、最初の試料採取時点の最大値から明らかに双指数関数的に低下し、$t_{1/2\beta}$ は CSL627 で 10～15 時間、Advate®で 4.6～4.7 時間であった。

CSL627 及び Advate®投与後の平均ベースライン（C_0）は同等であった。しかし、CSL627 投与後の平均 AUC_{24h} 値（% of the norm•h/mL）（平均 AUC_{24h}=8750、範囲：7770～9720）は、Advate®投与後の平均 AUC_{24h} 値（平均 AUC_{24h}=5080、範囲：4410～5750）より約 1.7 倍高かった（表 2.6.4-4）。無限大まで推定した曝露量（AUC）を比較すると、CSL627 投与後の FVIII 活性は Advate®投与後よりも約 2.3 倍高かった。しかし、消失速度定数（k）の判定基準がこのプロファイルにあてはまらず、真の値を示していない可能性があることから、CSL627 投与後の雄の AUC 値は例数が少ないので、この評価は正しくない可能性がある。

また、CSL627 投与後の CL（mL/h/kg）は平均値=0.02195（範囲：0.0175～0.0264）、Advate®投与後の CL（mL/h/kg）は平均値=0.0487（範囲：0.0425～0.0549）であり、約 2.2 倍高かった。

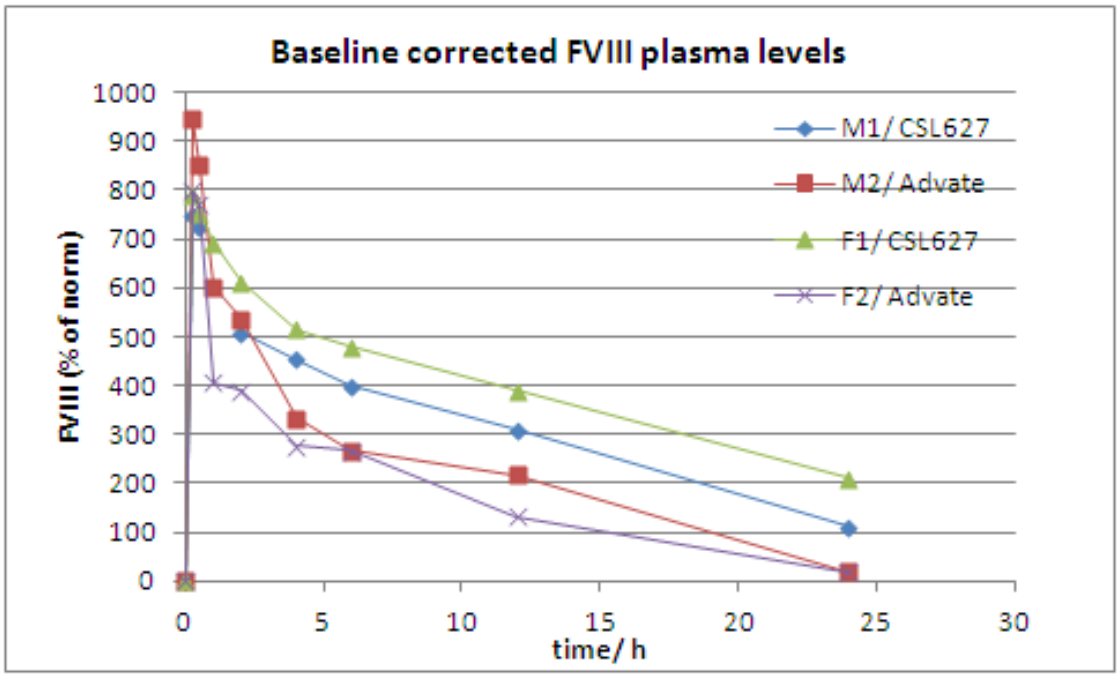
CSL627 投与後の $t_{1/2\beta}$ は、Advate®投与後の $t_{1/2\beta}$ より約 2.7 倍長かった。

表 2.6.4-4：　CSL627 又は Advate®を投与量 250 IU/kg でカニクイザルに単回静脈内（ボーラス）投与した時の血漿中 FVIII 活性に基づく PK パラメーター（ベースライン修正値）

薬剤	動物数／性別	C_0（% of norm）	C_{max}（% of norm）	T_{max}（h）	k（1/h）	$t_{1/2\beta}$ (h)	AUC_{24h} (% of norm•h/mL)	AUC (% of norm•h/mL)
CSL627	969M	773	749	0.25	0.0698	10.1	7770	9470
CSL627	970F	826	788	0.25	0.0465*	14.9*	9720	14300*
Advate®	963M	1050	945	0.25	0.1511	4.6	5750	5890
Advate®	972F	827	798	0.25	0.1456	4.7	4410	4550

* 回帰分析で選択したデータのタイムポイントを含む期間は $t_{1/2\beta}$ の 2 倍以上であったため、結果の数値は推定値とみなす。

図 2.6.4-1：　CSL627 又は Advate®を投与量 250 IU/kg で単回静脈内（ボーラス）投与した時の血漿中 FVIII 活性



2.6.4.3.3.　rFVIII KO マウスを用いる rFVIII/CSL627、Helixate®、ReFacto AF®及び Advate®の薬物動態評価（試験番号 PSM 06/[redacted]）

血友病 A マウス（FVIII KO マウス）で CSL627 の PK を評価し、CSL627 のプロファイルと臨床使用されている他の rFVIII 製剤のプロファイルの比較、すなわち全長型製剤 Helixate®及び Advate®、並びに B 領域欠失型製剤 ReFacto AF®について、臨床用量 100 IU/kg における FVIII 活性を直接比較し検討した。Helixate®、Advate®及び ReFacto AF®の 3 製剤は既に長期間臨床適用されているため、発色合成基質法及び凝固一段階法で測定した FVIII 活性により得たこれらの市販製剤との直接比較による PK 解析結果から、CSL627 の臨床用量予測が容易になると考える。

ヒト凝固因子欠損患者と同様な凝固系機能不全を示し、血友病 A 患者と同様の出血リスクの上昇も認められる FVIII 欠損マウスを用いて（Øvlisen et al., 2008）、PK 試験を実施した。

凝固一段階法で測定した FVIII 活性で投与量を調整した 4 種類の被験物質を臨床用量である 100 IU/kg で静脈内投与した（表 2.6.4-5）。投与 5 及び 30 分後、並びに投与 2、5、8、16、24、32、48 及び 72 時間後に発色合成基質法及び凝固一段階法で血漿中 FVIII 活性を測定した。

表 2.6.4-5：　凝固一段階法、発色合成基質法及びラベル表示（各製剤バイアルに表示されている力価）に基づく投与量の計算

投与製剤	投与量算出の根拠となる活性	投与量（凝固法）（IU/kg）	投与量（発色法）（IU/kg）	投与量（ラベル表示）(IU/kg)	凝固法と発色法の比	凝固法とラベル表示の比
CSL627	OS: 176 ChS: 365	100	218.6	NA	**0.46***	NA
Helixate®	Label: 100	100	99.4	62.9	1.01	**1.59***
ReFacto AF®	Label: 500	100	110.5	105.3	0.90	**0.95***
Advate®	Label: 200	100	84.5	97.1	1.18	**1.03***

太字の数値は、表 2.6.4-6 及び表 2.6.4-7 の結果の投与量調整係数*として使用した。
各製剤に雌雄マウス各 15 例（30 例× 4 製剤）を投与した。
凝固法：凝固一段階法、発色法：発色合成基質法

投与量及び血漿中 FVIII 活性を考慮し、4 種類の FVIII 濃縮製剤の種々の組合せについて PK パラメーターを相対的に解析可能とするため、製剤分析及び血漿中 FVIII 濃度分析を凝固一段階法及び発色合成基質法で実施した。

薬物動態解析並びに Helixate®、ReFacto AF®又は Advate®との比較

PK の特徴を図 2.6.4-2 及び図 2.6.4-3、並びに表 2.6.4-6 及び表 2.6.4-7 に示した。CSL627 の全体的な PK の特徴は、市販されている他の rFVIII 濃縮製剤 Helixate®、ReFacto AF®又は Advate®よりもやや優れていたが、大きな差は認められなかった。なお、直接比較を可能とするために発色合成基質法又は凝固一段階法のいずれかの同じ測定法で得られた投与量及び CSL627 の血漿中 FVIII 濃度を用いて有意差検定を行った。比較する製剤の PK 特徴はそれぞれの製剤にラベル表示された投与量（力価）に基づき解析した。

使用した 2 つの定量法（発色合成基質法及び凝固一段階法）で、CSL627 は他の市販 rFVIII 濃縮製剤と比較して CL が最も低く、投与後に活性がトラフ値の 5%になるまでの時間が長かったが、$t_{1/2\beta}$ は Helixate®と同様で、ReFacto AF®及び Advate®より軽度から中等度に長かった（表 2.6.4-6、表 2.6.4-7）。

図 2.6.4-2：　種々の FVIII 製剤を表示用量 100 IU/kg で投与した FVIII KO マウスの発色合成基質法で測定した血漿中 FVIII 活性

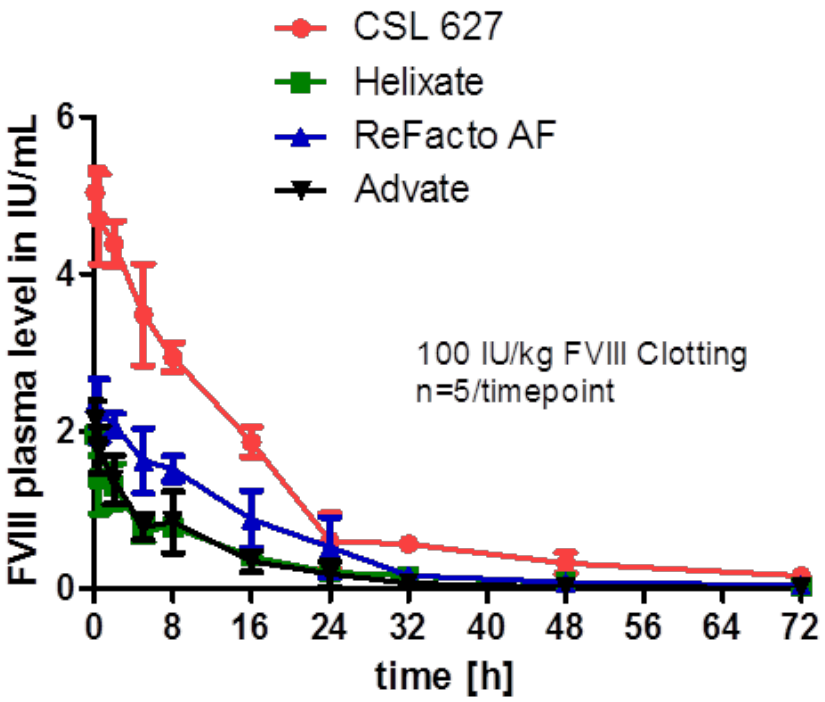


表 2.6.4-6：　CSL627 及び比較対照薬の発色合成基質法で測定した FVIII KO マウスの血漿中 FVIII 活性に基づく PK パラメーター

変数	単位	CSL627	比較対照薬のラベル表示の力価に基づく投与量		
		発色法による投与量	Helixate®	ReFacto AF®	Advate®
$C_{max, obs}$	IU/mL	2.31	3.12	2.22	2.21
$AUC_{0.08-72h}$	IU•h/mL	35	31	34	18
AUC	IU•h/mL	37	32	34	18
CL	mL/h/kg	2.74	3.11	2.91	5.53
MRT	h	18	17	14	10
$t_{1/2\beta}$	h	15	15	12	8
0.05 IU/mL に至るまでの時間	h	73	68	61	39
$f_{c,ss}$	1	0.85	0.57	1.07	0.76

In vivo における回収率の計算による推定：血漿量=40 mL/kg；幾何平均計算値
$f_{c,ss}$：定常状態における血漿分画（2-コンパートメントモデルによる推定）
比較対照薬はラベル表示の力価（製剤バイアルに表示された値）に基づき投与した。
発色法：発色合成基質法

図 2.6.4-3：　種々の FVIII 製剤を表示用量 100 IU/kg で投与した FVIII KO マウスの凝固一段階法で測定した血漿中 FVIII 活性

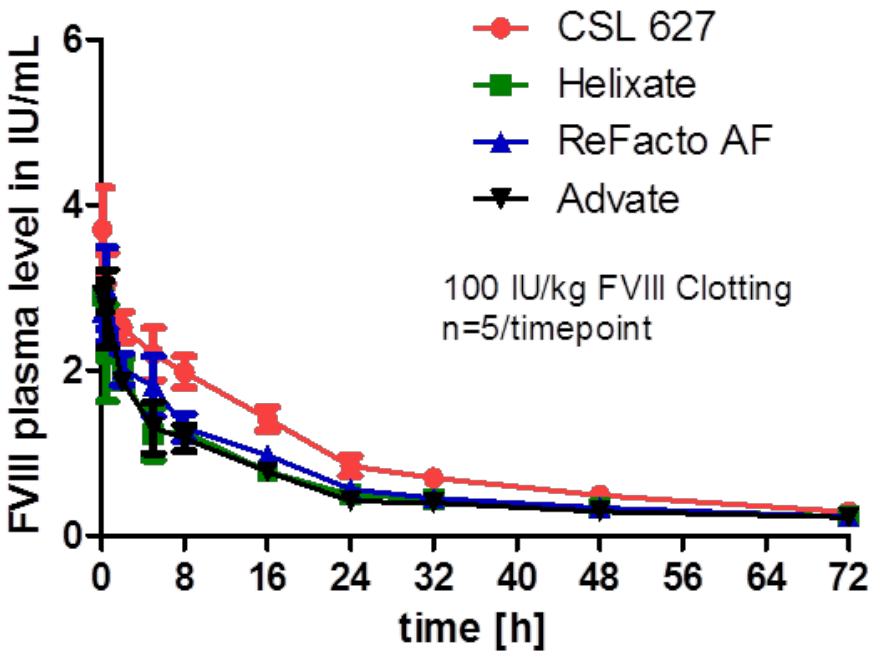


表 2.6.4-7：　CSL627 及び比較対照薬の凝固一段階法で測定した FVIII KO マウスの血漿中 FVIII 活性に基づく PK パラメーター

変数	単位	CSL627	比較対照薬のラベル表示の力価に基づく投与量		
		凝固法による投与量	Helixate®	ReFacto AF®	Advate®
$C_{max, obs}$	IU/mL	3.51	4.30	2.66	2.78
$AUC_{0.08-72h}$	IU•h/mL	53	46	32	28
AUC	IU•h/mL	55	47	33	28
CL	mL/h/kg	1.82	2.11	3.03	3.53
MRT	h	21	18	17	16
$t_{1/2\beta}$	h	16	14	13	13
0.05 IU/mL に至るまでの時間	h	86	77	65	61
$f_{c,ss}$	1	0.71	0.57	0.82	0.64

In vivo における回収率の計算による推定：血漿量＝40 mL/kg；幾何平均計算値
$f_{c,ss}$：定常状態における血漿分画（2-コンパートメントモデルによる推定）、凝固法：凝固一段階法
比較対照薬はラベル表示の力価（製剤バイアルに表示された値）に基づき投与した。

血漿中 FVIII 活性の測定に用いた定量法により、CSL627 の AUC は凝固一段階法を用いた場合は Helixate®とほぼ同等であり、発色合成基質法を用いた場合は ReFacto AF®と類似していた。ここでみられた活性の差は、CSL627 を発色合成基質法あるいは凝固一段階法で測定した時の見かけ上の力価の差を反映していると考えられる。

Advate®の PK の特徴は、発色合成基質法で測定した場合には凝固一段階法で測定した場合よりも劣っているようにみえるが、これは 2 つの定量法を用いたことによるアーチファクトである可能性が高い。すなわち、マウスでの試験において、血漿サンプルの測定に 2 つの定量法を用いた結果、発色合成基質法による測定値は 24 時間後の採血ポイントでは既にバックグラウンドレベルにまで低下しているが、凝固一段階法では最長 72 時間の長時間にわたり高い血漿中濃度が測定されている。

表 2.6.4-8 及び表 2.6.4-9 に示すとおり、CSL627 を Helixate®、Advate®又は ReFacto AF®のいずれと対比較しても、正規の生物学的同等性（BE）の基準に達しなかったことは注目される。使用した測定法を限定すれば、CSL627 と Helixate®とで以下の 2 つの場合に計算上 BE となった。すなわち、Helixate®をラベル表示による力価で投与した場合、また投与量調整のための定量法と CSL627 の血漿中濃度測定の定量法が同一であった場合に限り BE となった。したがって、発色合成基質法及び凝固一段階法でそれぞれ 2 つの条件下で BE となった（表 2.6.4-8、表 2.6.4-9）。一方、CSL627 と ReFacto AF®又は Advate®の BE は、それぞれ 1 条件でのみ得られた。Advate®に関しては、CSL627 と Advate®の血漿中 FVIII 活性を凝固一段階法で測定した場合に BE 基準を満たした（データ非掲載）。ReFacto AF®に関しては、CSL627 の投与量を調整するための定量法と血漿中 FVIII 活性の定量法が同一であり、両製剤の血漿中 FVIII 活性を発色合成基質法で測定した場合にのみ CSL627 と ReFacto AF®で BE となった（表 2.6.4-8）。

表 2.6.4-8：　FVIII KO マウスにおける発色合成基質法で測定した血漿中 FVIII 活性に基づく $AUC_{0.08\text{-}72h}$ の比較

CSL627 の投与量算出に用いた測定法	パラメーター	比較対照薬		
		Helixate®	ReFacto AF®	Advate®
発色合成基質法	$AUC_{0.08\text{-}72h}$ 比：CSL627／比較対照薬	**1.13**	**1.04**	1.97
	$AUC_{0.08\text{-}72h}$ の同等性に対する *p* 値	0.0192	0.5589	< 0.0001
	BE[a)]の *p* 値	**0.0384**	**0.0131**	> 0.9999
	両側 90%信頼区間	1.04−1.24	0.93−1.18	1.70−2.32

[a)] BE とは $AUC_{0.08\text{-}72h}$ の比が 0.80～1.25 の範囲内である場合と定義した。太字の数値は正規の BE 基準に適合していることを示す。

表 2.6.4-9：　FVIII KO マウスにおける凝固一段階法で測定した血漿中 FVIII 活性に基づく $AUC_{0.08\text{-}72h}$ の比較

CSL627 の投与量算出に用いた測定法	パラメーター	比較対照薬		
		Helixate®	ReFacto AF®	Advate®
凝固一段階法	$AUC_{0.08\text{-}72h}$ 比：CSL627／比較対照薬	**1.15**	1.64	1.91
	$AUC_{0.08\text{-}72h}$ の同等性に対する *p* 値	0.0030	< 0.0001	< 0.0001
	BE[a)]の *p* 値	**0.0309**	> 0.9999	> 0.9999
	両側 90%信頼区間	1.07−1.24	1.53−1.75	1.77−2.06

[a)] BE とは $AUC_{0.08\text{-}72h}$ の比が 0.80～1.25 の範囲内である場合と定義した。太字の数値は正規の BE 基準に適合していることを示す。

今回の試験では、凝固一段階法及び発色合成基質法で FVIII の投与量を測定すると明らかな差が認められ、発色合成基質法で測定した CSL627 の投与量は、凝固一段階法で測定した投与量の約 2.2 倍であった。その結果、発色合成基質法で測定した CSL627 の投与量は、Helixate®の約 2.2 倍、ReFacto AF®の約 2.0 倍、Advate®の約 2.6 倍であった。一方、B 領域欠失 FVIII である CSL627 に対し、全長型 FVIII 製剤 Helixate®及び Advate®では、発色合成基質法又は凝固一段階法の測定値の比は約 1 であり、いずれの定量法を用いても投与量は類似していた。2 種類の B 領域欠失 FVIIICSL627 及び ReFacto AF®では両者の比が 1 から逸脱しており、発色合成基質法での測定値と凝固一段階法での測定値の差が 25%を超えることが示された（表 2.6.4-8、表 2.6.4-9）。したがって、Helixate®及び CSL627 の投与量を発色合成基質法と凝固一段階法のいずれかで算出した場合、Helixate®の投与量と CSL627 の投与量が見かけ上で異なっていたが、これは定量法の相違により全長 rFVIII と、特に B 領域が欠失した rFVIII の凝固活性が異なって測定されたことによるものと考えられる。凝固一段階法での活性と発色合成基質法での活性の比が通常 1 未満であることは、市販の rFVIII 製剤において公知情報である。凝固一段階法と発色合成基質法での活性の比は、全長 rFVIII では約 0.8、B 領域欠失 rFVIII では約 0.5～0.7 と報告されている（Mikaelsson et al., 1998、Hubbard et al., 2002）。凝固一段階法と発色合成基質法は試薬組成及び方法が異なる。凝固一段階法では、活性化トロンボプラスチンを含む系の中で被験物質が FVIII 欠乏血漿の凝固時間を短縮する作用が測定される。そのため、凝固一段階法は FVIII 欠乏血漿の凝固異常を補正する物質としての FVIII の標準的な定義と基本的に一致している。したがって、臨床的観点から、凝固一段階法は血友病 A 患者の状態を発色合成基質法よりも正確に反映していると考えられている。さらに、製剤を投与する目的で、並びに臨床的有効性及び回復性をモニタリングする目的で、FVIII 濃縮製剤中の FVIII の力価を測定する方法として凝固一段階法が最も広く利用されている。一方、凝固一段階法では、リン脂質の非生理的性質によりアーチファクトが生じることから、発色合成基質法は、凝固一段階法と比較するとより「生理的」であると考えられている。また、発色合成基質法の測定値は FVIII 活性を測定する ELISA 法の結果と概ねよく一致してい

ることから、発色合成基質法は凝固一段階法より正確であると報告されている（Lollar et al., 2003）。

以上より、FVIII を欠損した動物において、CSL627 は良好な PK プロファイルを示した。全体的な PK の特徴として、CSL627 は市販されている他の rFVIII 製剤の Helixate®、ReFacto AF®及び Advate®よりも優れていたが、投与量調整及び血漿中 FVIII 濃度測定において発色合成基質法又は凝固一段階法のいずれか同一の定量法を用いた場合、他の rFVIII との間で大きな差は認められなかった。したがって、本試験条件は、ヒトでの PK 及び血友病 A 患者での止血効果を最も適切に反映し、予測できる可能性がある。血友病 A マウスで他の rFVIII 濃縮製剤と比較して得られた CSL627 の良好な PK プロファイルは、CSL627 を投与量 50 及び 250 IU/kg でカニクイザルに投与した試験から得られた結果と一致している（試験番号 APQ0015、試験番号 APQ0020）。

2.6.4.4.　分布

FVIII の異化作用はよく知られているため、生体内分布及び排泄に関する試験は実施していない。FVIII は限定的な組織内分布を示し、大部分は血漿中に分布している（Kosloski et al., 2013）。同様なことが、CSL627（rVIII-SingleChain）でも考えられる。すなわち、CSL627 をカニクイザルに単回投与したとき（試験番号 APQ0015）の分布容積は小さく（V_{SS}：26.6−40.3 mL/kg）、同種同効薬である Helixate®（V_{SS}：23.4−32.6 mL/kg）及び ReFacto® AF（V_{SS}：32.7−35.6 mL/kg）と同等であった。このような PK プロファイルであることから、分布についての更なる評価が必要になるとは考えられない。ICH S6(R1)ガイドラインによると、放射性標識物質が非標識物質と同等な活性及び生物学的特性を保持している場合にのみ生体内分布試験は有用と考えられている。しかし、CSL627 はこれに該当せず、その理由は、放射性同位元素標識法を被験物質（蛋白質）の品質に全く影響を与えない条件で実施することは難しいと考えられているためである。

2.6.4.5.　代謝

FVIII は作用発現組織である血漿から消失する間に不活性になることから（Oldenburg et. al., 2004; Ananyeva et.al., 2001; Lenting et.al., 2010）、代謝試験は実施していない。加えて、ICH S6(R1)ガイドラインによると、血漿蛋白質の代謝経路について一般的な理解が定着しているため、このような薬剤については、従来から実施されている代謝試験は必要とされない。

2.6.4.6.　排泄

FVIII は作用発現組織である血漿から消失する間に不活性になることから、排泄に関する試験は実施しなかった。

2.6.4.7.　薬物動態学的薬物相互作用

CSL627 の薬物動態学的薬物相互作用はないと考えられるため、試験は実施していない。

2.6.4.8.　その他の薬物動態試験

その他の薬物動態試験は実施していない。

2.6.4.9.　考察及び結論

FVIII KO マウスにおける CSL627 の全体的な PK プロファイルは優れていたが、投与量調整及び血漿中 FVIII 濃度測定の双方の測定において発色合成基質法又は凝固一段階法のいずれか一つの定量法を用いた場合、他の市販製剤 Helixate®、ReFacto AF®及び Advate®との間で大差は認められなかった。

FVIII KO マウスにおける PK データは、CSL627 をカニクイザルに投与した PK 試験の結果と一致していた。カニクイザルの曝露量データは、実施された試験の用量範囲では線形性であり（用量非依存的）、性差がみられなかった。CSL627 の推定 MRT は 13.5 時間、また平均 $t_{1/2\beta}$ は 9.6 時間であり、ReFacto AF®と同程度で、Helixate®よりも延長していた。CSL627 の AUC_{24h}（98 IU•h/mL）は ReFacto AF®（76 IU•h/mL）及び Helixate®（62 IU•h/mL）よりも大きく、CL（2.1 mL/h/kg）は ReFacto AF®（2.7 mL/h/kg）及び Helixate®（3.7 mL/h/kg）よりも低値であった。また、CSL627 投与後の FVIII 活性上昇に基づく曝露量［AUC（% of the norm•h/mL）］は、Advate®投与後の場合と比較して約 2 倍高かった。CSL627 投与後の平均 $t_{1/2\beta}$ は、Advate®投与後の場合と比較して約 2.7 倍長かった。

以上より、CSL627 は FVIII KO マウス及びカニクイザルにおいて良好な PK プロファイルを示し、これらの試験はヒトでの PK 及び血友病 A 患者での止血効果を最も適切に反映し、予測できる可能性があると考えられた。

2.6.4.10.　参考文献

Ananyeva NM, Kouiavskaia DV, Shima M and Saenko EL: Catabolism of the Coagulation Factor VIII. Trends Cardiovasc. Med., 11, 251-257, 2001.

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

Huntingdon Life Sciences. CSL 627: Toxicity Study by Intravenous Bolus Administration to Cynomolgus Monkeys for 4 Weeks. Huntingdon Life Sciences, Study Report APQ0014, 2011.

ICH harmonised tripartite guideline: Preclinical safety evaluation of biotechnology-derived pharmaceuticals, S6(R1), Addendum dated 12 June 2011 incorporated at the end of June 2011.

Lenting PJ, Pegon JN, Christophe OD and Denis CV: Factor VIII and von Willebrand factor – too sweet for their own good. Haemophilia, 16 (Suppl. 5), 194-199, 2010.

Lollar P: The factor VIII assay problem: neither rhyme nor reason. Thromb. Haemost., 1, 2275-2279, 2003.

Matthew PK, Dipak SP, Donald EM and Balu-Iyer SV: Allometry of factor VIII and informed scaling of next-generation therapeutic proteins. J. Pharm. Sci., 102(7), 2380-2394, July 2013.

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

Oldenburg J, Ananyeva NM and Saenko EL: Molecular basis of haemophilia A. Haemophilia, 10 (Suppl. 4), 133-139, 2004.

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.

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

2.6.5　薬物動態試験概要表

CSL ベーリング株式会社

目　次

略語・略号一覧 3
2.6.5.　薬物動態試験概要表 5
2.6.5.1.　薬物動態試験：一覧表 5
2.6.5.2.　分析方法及びバリデーション試験 6
2.6.5.3.　薬物動態試験：吸収：単回投与 7
2.6.5.4.　薬物動態試験：吸収：反復投与 13
2.6.5.5.　薬物動態試験：分布 13
2.6.5.6.　薬物動態試験：たん白結合 13
2.6.5.7.　薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験 13
2.6.5.8.　薬物動態試験：その他の分布試験 13
2.6.5.9.　薬物動態試験：代謝：*In Vivo* 13
2.6.5.10.　薬物動態試験：代謝：*In Vitro* 13
2.6.5.11.　薬物動態試験：推定代謝経路 14
2.6.5.12.　薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害 14
2.6.5.13.　薬物動態試験：排泄 14
2.6.5.14.　薬物動態試験：排泄：胆汁中 14
2.6.5.15.　薬物動態試験：薬物相互作用 14
2.6.5.16.　薬物動態試験：その他 14

表の目次

表 2.6.5-1：　薬物動態試験一覧表 5
表 2.6.5-2：　FVIII KO マウスを用いた rFVIII 製剤 CSL627、Helixate®、ReFacto AF®及び Advate®の薬物動態評価 7
表 2.6.5-3：　カニクイザルにおける薬物動態試験及び抗体産生の検討 9
表 2.6.5-4：　カニクイザルにおける薬物動態試験 12

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
$AUC_{0.08\text{-}72h}$	Area under the plasma concentration-time curve from 0.08 h to 72 h	0.08 時間から 72 時間までの血漿中濃度–時間曲線下面積
AUC_{24h}	Area under the plasma concentration-time curve from zero up to 24 h	0 時間から 24 時間までの血漿中濃度–時間曲線下面積
BW	Bodyweight	体重
C_0	Baseline concentration	ベースライン（濃度）
CL	Clearance	クリアランス
C_{max}	Maximum concentration	最高血漿中濃度
$C_{max,incr}$	Maximum estimated plasma level minus estimated endogenous background level	内因性のバックグラウンドを差し引いた推定最高血漿中濃度
$C_{max,incr,obs}$	Maximum observed plasma level minus observed endogenous baseline level	内因性のバックグラウンドを差し引いた実測最高血漿中濃度
$C_{max,\ obs}$	Maximum observed plasma level	実測最高血漿中濃度
ChS	Chromogenic substrate (assay)	発色合成基質法
F	Female	雌
$f_{c,ss}$	Fraction in plasma at steady state	定常状態における血漿分画
FVIII	Coagulation factor VIII	血液凝固第 VIII 因子
h	Hour(s)	時間
i.v.	Intravenous	静脈内
IU	International units	国際単位
k	First-order terminal rate constant	消失速度定数
kg	Kilogram	キログラム
KO	Knock out	ノックアウト
M	Male	雄
mL	Milliliter	ミリリットル
MRT	Mean residence time	平均滞留時間
n	Number of animals	動物数
NA, n.a.	Not applicable	該当せず
NCA	Non-compartmental analysis	ノンコンパートメント解析
Observ.	Observed data	観察データ
OS	One-stage clotting assay	凝固一段階法
Param.	Parametric model	2 コンパートメントモデルパラメトリック解析
PK	Pharmacokinetic	薬物動態
$rAUC_{extr}$	Fraction of area under the curve and above background beyond t_{last}	バックグラウンドを超える最終測定時間以降までの AUC 分画
rFVIII	Recombinant human coagulation	遺伝子組換えヒト血液凝固第 VIII

2.6.5　薬物動態試験概要表
エイフスチラ静注用

略語・略号	定義（英語）	定義（日本語）
	factor VIII	因子
$t_{1/2\alpha}$	Initial half-life	初期相の半減期
$t_{1/2\beta}$	Terminal half-life	終末相半減期
t_{max}	Time of maximum plasma level	最高血漿中濃度到達時間
V_c	Estimated volume of the central compartment	セントラルコンパートメントの推定容積
V_{ss}	Estimated volume of distribution at steady state	定常状態における推定分布容積

2.6.5. 薬物動態試験概要表

2.6.5.1.　薬物動態試験：一覧表

表 2.6.5-1：　薬物動態試験一覧表

被験物質：CSL627

Type of Study	Animal	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location
Absorption					
Plasma pharmacokinetics	Mouse / FVIII KO	i.v.	CSL Behring GmbH	PSM 06[redacted]	4.2.2.2.1
Plasma pharmacokinetics	Monkey / Cynomolgus/ *Macaca fascicularis*	i.v.	[redacted]	APQ0015	4.2.2.2.2
Plasma pharmacokinetics	Monkey / Cynomolgus/ *Macaca fascicularis*	i.v.	[redacted]	APQ0020	4.2.2.2.3
Distribution	NA	NA	NA	NA	NA
Metabolism	NA	NA	NA	NA	NA
Excretion	NA	NA	NA	NA	NA
Pharmacokinetic drug interaction	NA	NA	NA	NA	NA
Other pharmacokinetic studies	NA	NA	NA	NA	NA

2.6.5.2.　分析方法及びバリデーション試験

2 種の異なる FVIII 活性測定法、発色合成基質法又は凝固一段階法を用いて血漿中の薬物動態パラメーターを測定した。詳細は薬物動態試験の概要文（CTD 2.6.4 項）の各項に記載した。

2.6.5.3.　薬物動態試験：吸収：単回投与

表 2.6.5-2：　FVIII KO マウスを用いた rFVIII 製剤 CSL627、Helixate®、ReFacto AF®及び Advate®の薬物動態評価

試験番号：PSM 06[redacted]　　CTD における記載箇所：4.2.2.2.1

被験物質：CSL627

Study		PSM 06[redacted]			
Species		FVIII KO mouse			
Gender (M/F)/Number of animals per group		30 (15F / 15M)			
Feeding condition		Standard diet and tap water, ad libitum			
Vehicle/Formulation		Dilution buffer			
Method of Administration		i.v.			
Dose (IU/kg BW)		100 (FVIII activity determined by OS)			
Sample (e.g., whole blood, plasma, serum)		Citrate-Plasma			
Analyte		FVIII activity			
Assay		OS FVIII activity assay, ChS FVIII activity assay			
PK parameters of FVIII activity in plasma for CSL627 and comparators in FVIII KO mice using the chromogenic system					
		CSL 627	**Comparator dose by labeled potency**		
Variable	**Unit**	**dose by ChS**	**Helixate®**	**ReFacto AF®**	**Advate®**
$C_{max,obs}$	IU/mL	2.31	3.12	2.22	2.21
$AUC_{0.08-72h}$	IU•h/mL	35	31	34	18
AUC	IU•h/mL	37	32	34	18
CL	mL/h/kg	2.74	3.11	2.91	5.53
MRT	h	18	17	14	10
$t_{1/2\beta}$	h	15	15	12	8
Time until 0.05 IU/mL	h	73	68	61	39
$f_{c,ss}$	1	0.85	0.57	1.07	0.76

Assumption for calculation of *in vivo* recovery: plasma volume = 40 mL/kg; calculation of geometric means

$f_{c,ss}$: Fraction in plasma at steady state (under the assumption of a two-compartment model)

Comparators dosed by labeled potency (nominal value as depicted on the drug product vial)

表 2.6.5-2：　FVIII KO マウスを用いた rFVIII 製剤 CSL627、Helixate®、ReFacto AF®及び Advate®の薬物動態評価（続き）

被験物質：CSL627

PK parameters of FVIII activity in plasma for CSL627 and comparators using the one-stage clotting system					
		CSL627	**Comparator dose by labeled potency**		
Variable	**Unit**	**dose by OS**	**Helixate®**	**ReFacto AF®**	**Advate®**
$C_{max,obs}$	IU/mL	3.51	4.30	2.66	2.78
$AUC_{0.08-72h}$	IU•h/mL	53	46	32	28
AUC	IU•h/mL	55	47	33	28
CL	mL/h/kg	1.82	2.11	3.03	3.53
MRT	h	21	18	17	16
$t_{1/2\beta}$	h	16	14	13	13
Time until 0.05 IU/mL	h	86	77	65	61
$f_{c,ss}$	1	0.71	0.57	0.82	0.64

Assumption for calculation of *in vivo* recovery: plasma volume = 40 mL/kg; calculation of geometric means

$f_{c,ss}$: Fraction in plasma at steady state (under the assumption of a two-compartment model)

Comparators dosed by labeled potency (nominal value as depicted on the drug product vial)

表 2.6.5-3：　カニクイザルにおける薬物動態試験及び抗体産生の検討

試験番号：APQ0015　　CTD における記載箇所：4.2.2.2.2

被験物質：CSL627

Study	APQ0015			
Species	Cynomolgus Monkey			
Gender (M/F)/Number of animals per group	2 (1M / 1F)			
Feeding condition	Drinking water *ad libitum* and 200 g of standard dry diet/animal and day			
Vehicle/Formulation	n.a.			
Method of Administration	i.v.			
Dose (IU/kg BW)	50, 250			
Sample (e.g., whole blood, plasma, serum)	Citrate-Plasma			
Analyte	FVIII activity			
Assay	ChS FVIII activity assay			
PK parameters of FVIII in plasma following a single i.v. administration of CSL627 to male and female cynomolgus monkeys at a nominal dose of 50 IU/kg and 250 IU/kg				
Parameter	**Unit**	**Method**	**50 IU/kg CSL627** n = 2	**250 IU/kg CSL627** n = 2
$C_{max,incr,obs}$	IU/mL	Observ.	2.11	10.74
$C_{max,incr}$	IU/mL	NCA	2.40	11.31
		Param.	2.33	11.80
AUC_{24h}	IU•h/mL	NCA	25.3	101.7
		Param.	25.0	97.9
AUC	IU•h/mL	NCA	47	125
		Param.	73	121
$rAUC_{extr}$	%	NCA	39.2	16.8
		Param.	53.9	15.4
CL	mL/h/kg	NCA	1.07	2.00
		Param.	0.69	2.06

表 2.6.5-3：　カニクイザルにおける薬物動態試験及び抗体産生の検討（続き）

被験物質：CSL627

PK parameters of FVIII in plasma following a single i.v. administration of CSL627 to male and female cynomolgus monkeys at a nominal dose of 50 IU/kg and 250 IU/kg				
Parameter	**Unit**	**Method**	**50 IU/kg CSL627** n = 2	**250 IU/kg CSL627** n = 2
MRT	h	NCA	29.4	13.3
		Param.	58.7	13.5
V_c	mL/kg	NCA	20.8	22.1
		Param.	21.4	21.2
V_{ss}	mL/kg	NCA	31.6	26.6
		Param.	40.3	27.8
$t_{1/2\alpha}$	h	Param.	1.14	0.55
$t_{1/2\beta}$	h	NCA	20.9	9.7
		Param.	41.9	9.6

PK parameters of FVIII activity in plasma comparing CSL627 with Helixate® and ReFacto AF® in cynomolgus monkeys at a single i.v. dose of 250 IU/kg							
Parameter	**Unit**	**Method**	**CSL627** n = 2	**Helixate®** n = 2	**ReFacto AF®** n = 2	**CSL627** versus **Helixate®**	**CSL627** versus **ReFacto AF®**
$C_{max,incr,obs}$	IU/mL	Observ.	10.74	11.19	9.92	0.96	1.08
$C_{max,incr}$	IU/mL	NCA	11.31	13.50	11.34	0.84	1.00
		Param.	11.80	13.10	10.30	0.90	1.15
AUC_{24h}	IU•h/mL	NCA	101.7	67.2	78.6	1.51	1.29
		Param.	97.9	62.3	76.0	1.57	1.29
AUC	IU•h/mL	NCA	125	74	93	1.69	1.34
		Param.	121	68	91	1.78	1.32
CL	mL/h/kg	NCA	2.00	3.39	2.68	0.59	0.75
		Param.	2.06	3.68	2.73	0.56	0.75

表 2.6.5-3：　カニクイザルにおける薬物動態試験及び抗体産生の検討（続き）

被験物質：CSL627

PK parameters of FVIII activity in plasma comparing CSL627 with Helixate® and ReFacto AF® in cynomolgus monkeys at a single i.v. dose of 250 IU/kg							
Parameter	**Unit**	**Method**	**CSL627** n = 2	**Helixate®** n = 2	**ReFacto AF®** n = 2	**CSL627** versus **Helixate®**	**CSL627** versus **ReFacto AF®**
MRT	h	NCA	13.3	8.4	12.2	1.58	1.09
		Param.	13.5	8.8	13.0	1.53	1.04
V_c	mL/kg	NCA	22.1	18.5	22.1	1.19	1.00
		Param.	21.2	19.1	24.3	1.11	0.87
V_{ss}	mL/kg	NCA	26.6	28.5	32.7	0.93	0.81
		Param.	27.8	32.6	35.6	0.86	0.78
$t_{1/2\alpha}$	h	Param.	0.55	0.96	1.34	0.57	0.41
$t_{1/2\beta}$	h	NCA	9.7	6.8	9.6	1.42	1.01
		Param.	9.6	7.3	10.2	1.32	0.94

FVIII activity data are given as geometric mean for n = 2 animals per group (1 male, 1 female). Ratios of geometric mean values were calculated for CSL627 versus Helixate® or ReFacto AF®. Abbreviations: Observ. = observed data, NCA = non-compartmental analysis, Param. = parametric analysis (two-compartment model)

表 2.6.5-4：　カニクイザルにおける薬物動態試験

試験番号：APQ0020　　CTD における記載箇所：4.2.2.2.3

被験物質：CSL627

Study		APQ0020						
Species		Cynomolgus Monkey						
Gender (M/F)/Number of animals per group		2 (1M / 1F)						
Feeding condition		Drinking water ad libitum and 200 g of standard dry diet/animal and day						
Vehicle/Formulation		n.a.						
Method of Administration		i.v.						
Dose (IU/kg BW)		250						
Sample (e.g., whole blood, plasma, serum)		Citrate-Plasma						
Analyte		FVIII activity						
Assay		ChS FVIII activity assay						
Treatment	**Animal number/sex**	**C_0 (% of norm)**	**C_{max} (% of norm)**	**t_{max} (h)**	**k (1/h)**	**$t_{1/2\beta}$ (h)**	**AUC_{24h} (% of norm•h/mL)**	**AUC (% of norm•h/mL)**
CSL627	969M	773	749	0.25	0.0698	10.1	7770	9470
CSL627	970F	826	788	0.25	0.0465*	14.9*	9720	14300*
Advate®	963M	1050	945	0.25	0.1511	4.6	5750	5890
Advate®	972F	827	798	0.25	0.1456	4.7	4410	4550

*, Did not meet the following acceptance criterion, as such values should be considered as an estimate only. The acceptance criterion is that the interval including the data points chosen for the regression was at least 2 fold greater than the half-life itself

2.6.5.4.　薬物動態試験：吸収：反復投与

ラット及びカニクイザルの反復投与毒性試験において、トキシコキネティクス解析として CSL627 の血漿中薬物動態パラメーターを測定し、詳細を CTD 2.6.6.3.1 及び 2.6.6.3.2 に記載した。

2.6.5.5.　薬物動態試験：分布

試験は実施していない。

2.6.5.6.　薬物動態試験：たん白結合

試験は実施していない。

2.6.5.7.　薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

試験は実施していない。

2.6.5.8.　薬物動態試験：その他の分布試験

試験は実施していない。

2.6.5.9.　薬物動態試験：代謝：*In Vivo*

試験は実施していない。

2.6.5.10.　薬物動態試験：代謝：*In Vitro*

試験は実施していない。

2.6.5.11. 薬物動態試験：推定代謝経路

試験は実施していない。

2.6.5.12. 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害

試験は実施していない。

2.6.5.13. 薬物動態試験：排泄

試験は実施していない。

2.6.5.14. 薬物動態試験：排泄：胆汁中

試験は実施していない。

2.6.5.15. 薬物動態試験：薬物相互作用

試験は実施していない。

2.6.5.16. 薬物動態試験：その他

試験は実施していない。