ヘムライブラ皮下注30 mg
ヘムライブラ皮下注60 mg
ヘムライブラ皮下注90 mg
ヘムライブラ皮下注105 mg
ヘムライブラ皮下注150 mg
（エミシズマブ（遺伝子組換え））

[インヒビターを保有する先天性血友病A]

第2部　（モジュール2）：CTDの概要（サマリー）

2.4 非臨床試験の概括評価

中外製薬株式会社

略語一覧

略語	英名	和名
ADA	anti-drug antibody	抗薬物抗体
aPCC	activated prothrombin complex concentrate	活性型プロトロンビン複合体製剤
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 concentration-time curve	血漿中濃度-時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}7d}$	area under the plasma concentration-time curve from zero to 7 days	投与後7日までの AUC
AUC_{inf}	area under the plasma concentration-time curve from time zero to extrapolated infinity	投与後無限大時間までの AUC
C_0	the initial concentration at time 0 calculated by extrapolation	初期血漿中濃度
CH5534262	emicizumab	エミシズマブ
CL	total clearance	クリアランス
C_{max}	maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
cyFcRn	cynomolgus monkey neonatal Fc receptor	カニクイザル胎児性 Fc レセプター
ECLIA	electro-chemiluminescence immunoassay	電気化学発光免疫測定法
ELISA	enzyme linked immunosorbent assay	酵素免疫測定法
ETP	endogenous thrombin potential	内因性トロンビン産生能，内因性トロンビンポテンシャル，総トロンビン生成量
F	bioavailability	生物学的利用率
FII	factor II or prothrombin	血液凝固第 II 因子又はプロトロンビン
FIX	factor IX	血液凝固第 IX 因子
FIXa	activated factor IX	活性型血液凝固第 IX 因子
FVa	activated factor V	活性型血液凝固第 V 因子
FVIIa	activated factor VII	活性型血液凝固第 VII 因子
FVIII	factor VIII	血液凝固第 VIII 因子
FVIIIa	activated factor VIII	活性型血液凝固第 VIII 因子
FX	factor X	血液凝固第 X 因子
FXa	activated factor X	活性型血液凝固第 X 因子
FXIa	activated factor XI	活性型血液凝固第 XI 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
hFcRn	human neonatal Fc receptor	ヒト胎児性 Fc レセプター
ICH	International Council for Harmonization of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use	医薬品規制調和国際会議
IgG	immunoglobulin G	免疫グロブリン G
IV	intravenous	静脈内投与
K_D	disassociation constant	解離定数
NOAEL	no observed adverse effect level	無毒性量
SC	subcutaneous	皮下投与
$t_{1/2}$	elimination half-life	消失半減期

略語	英名	和名
TF	tissue factor	組織因子
T_{max}	time to reach maximum plasma concentration	最高血漿中濃度到達時間
TK	toxicokinetics	トキシコキネティクス
V_{ss}	volume of distribution at steady-state	定常状態分布容積

目次

頁
2.4 非臨床試験の概括評価 6
2.4.1 緒言 6
2.4.2 非臨床試験計画概略 7
2.4.2.1 薬理試験 7
2.4.2.2 薬物動態試験 7
2.4.2.3 毒性試験 8
2.4.3 薬理試験 8
2.4.3.1 効力を裏付ける試験 8
2.4.3.1.1 薬効薬理試験（*in vitro*） 8
2.4.3.1.1.1 抗原への結合性 8
2.4.3.1.1.2 FVIII 機能代替活性 8
2.4.3.1.1.3 FVIII 又はバイパス製剤共存下での作用 9
2.4.3.1.1.4 FIX 及び FX 関連反応への影響 9
2.4.3.1.2 薬効薬理試験（*in vivo*） 9
2.4.3.1.2.1 皮下投与による人為的出血に対する出血傾向抑制効果 9
2.4.3.1.2.2 静脈内投与による人為的出血に対する止血効果 9
2.4.3.1.2.3 反復皮下投与による自然出血に対する出血傾向抑制効果 9
2.4.3.1.2.4 出血に対する高用量及び高濃度の影響 10
2.4.3.1.2.5 血栓形成への影響 10
2.4.3.1.2.6 薬効薬理試験（*in vivo*）のまとめ 10
2.4.3.2 副次的薬理試験 11
2.4.3.2.1.1 Fcγ レセプターへの結合性 11
2.4.3.2.1.2 胎児性 Fc レセプターへの結合性 11
2.4.3.2.1.3 補体 C1q への結合性 11
2.4.3.3 安全性薬理試験 11
2.4.4 薬物動態試験 12
2.4.4.1 分析法 12
2.4.4.2 吸収 12
2.4.4.3 分布，代謝及び排泄 13
2.4.5 毒性試験 13
2.4.5.1 単回投与毒性試験 13
2.4.5.2 反復投与毒性試験 13
2.4.5.3 遺伝毒性試験 13
2.4.5.4 がん原性試験 13
2.4.5.5 生殖発生毒性試験 14

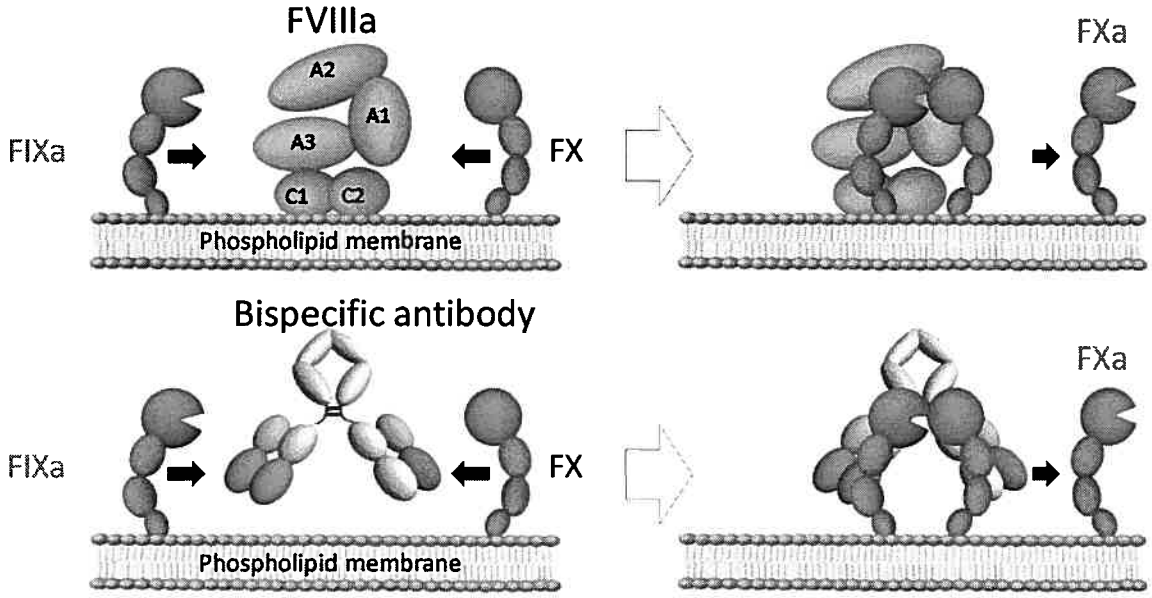
2.4.5.6 局所刺激性試験 14
2.4.5.7 その他の毒性試験 14
2.4.5.8 幼若動物試験 15
2.4.5.9 添加物 L-アスパラギン酸の安全性評価 15
2.4.5.10 動物からヒトへの外挿（曝露量のまとめ，臨床との関連性） 15
2.4.6 総括及び結論 16
2.4.7 参考文献一覧 18

2.4 非臨床試験の概括評価

2.4.1 緒言

血液凝固第 VIII 因子（FVIII）の補因子としての作用機序のひとつとして，活性型 FVIII（FVIIIa）は活性型血液凝固第 IX 因子（FIXa）が血液凝固第 X 因子（FX）を活性化するリン脂質膜上の酵素反応において両因子を適切な位置関係に保持することが挙げられる。この科学的前提に基づき，FVIII の補因子機能を「一方の腕で FIXa に結合し，他方の腕で FX に結合する二重特異性抗体（bispecific antibody）」により代替する「FVIII 補因子機能代替抗体」のコンセプトを考案した（図 2.4.1-1）[1]。二重特異性抗体は，非対称の構造を有する人工的な抗体分子であり，通常の抗体分子の2個の抗原結合部位が同じ抗原に結合するのに対し，二重特異性抗体は2個の抗原結合部位が異なる抗原に結合する特性を有する[2)-4)]。

図 2.4.1-1 FVIII 補因子機能代替抗体の作用概念図



FIXa 及び FX に結合する FVIII 機能代替抗体は，IgG 分子としての特性から，①血中半減期が長いため投与頻度が少ない，②皮下投与が可能である，③FVIII インヒビター保有患者にも有効である，④FVIII インヒビターを誘導しない，など，現状の血友病 A 標準治療[5)]における課題を克服できると考えられた。我々は，検討を進めた結果，血友病 A 患者における定期投与療法に有効と考えられる FVIII 機能代替活性を有する二重特異性抗体エミシズマブ（遺伝子組換え）（以下，本薬）を創製した[3)]。本薬は，FIXa 及び FX を標的とするヒト化二重特異性モノクローナル改変 IgG4抗体である。以上の特性を考慮すると，本薬を「FVIII インヒビターを保有する先天性血友病 A 患者における出血傾向抑制を目的とした定期投与療法」に適用することにより，投与頻度が少なく，皮下投与が可能となり，利便性が向上するとともに，血漿中濃度が安定して推移することなどから安定した出血傾向抑制効果が期待でき，インヒビター保有血友病 A 患者の医療課題を克服することが期待される[4),6)]。

本薬の薬効薬理特性，薬物動態及び毒性を明らかにするため， 2.4.3～2.4.5に示す非臨床試験を実施した。

2.4.2 非臨床試験計画概略

2.4.2.1 薬理試験

薬効薬理試験として，本薬の効果及び作用機序を各種 *in vitro* 及び *in vivo* の試験により検討した。薬効薬理試験（*in vitro*）では，本薬の FVIII 機能代替の補因子活性及び特性を調べるために，FIX，FX，FIXa 及び FXa に対する結合能，及び合成発色基質を用いた酵素アッセイにおける FIXa による FX 活性化を促進する活性を検討した。また，合成発色基質を用いた酵素アッセイにおいて，カニクイザル，ラット又はマウスの凝固因子を用いて交差反応性を検討した。更に，血友病 A ヒト血漿（FVIII 欠乏ヒト血漿）を用いて，APTT に対する効果，及び FXIa により惹起されたトロンビン生成に対する効果を検討した。加えて，FVIII 欠乏ヒト血漿を用いたトロンビン生成試験において，FVIII 及びバイパス製剤（FVIIa 及び aPCC）の作用に対する本薬の影響を検討した。また，合成発色基質を用いた酵素アッセイを用いて，FIX 及び FX が関連する各種凝固反応に対する本薬の影響を検討した。

薬効薬理試験（*in vivo*）では，FVIII に対する中和抗体を投与後に筋肉内穿刺等の施術により出血を惹起するカニクイザル FVIII 中和血友病 A/穿刺出血モデルにおいて，本薬の出血傾向抑制効果及び止血効果を検討した。また，抗 FVIII 中和抗体を反復投与して，日常行動・操作により生じる出血（自然出血）を8週間観察するカニクイザル FVIII 中和血友病 A/自然出血モデルにおいて，本薬の出血傾向抑制効果を検討した。更に，*in vitro* 酵素アッセイでみられた本薬の FIX 及び FX 関連反応阻害作用が出血に影響するかを評価するため，カニクイザル FVIII 中和血友病 A/穿刺出血モデルにおいて，本薬高用量投与（200 mg/kg）の影響を検討した。カニクイザル FVIII 中和血友病 A モデルにおいて，本薬の皮下投与部位出血への影響及び皮下剥離傷害部位への本薬皮下投与の影響についても検討した。加えて，本薬の凝固反応促進活性が血栓形成リスクを増大させるかを評価するため，カニクイザル静脈うっ血モデル及びカニクイザル FVIII 中和血友病 A/静脈うっ血モデルにおいて，本薬の血栓形成への影響を検討した。

副次的薬理試験として，抗体が定常領域を介したエフェクター作用を発揮する上で重要な分子である Fcγ レセプターに対する本薬の結合性を検討した。また，抗体の血漿中半減期及び組織移行性へ影響する胎児性 Fc レセプターに対する本薬の結合性を検討した。加えて，補体活性化カスケードの最初に作動する補体 C1のサブユニット C1q に対する本薬の結合性を評価した。

安全性薬理に関する評価として，本薬又は L-アスパラギン酸の中枢神経系，呼吸器系及び心血管系に及ぼす影響を，カニクイザルを用いた反復投与毒性試験の結果から評価した。

2.4.2.2 薬物動態試験

本薬の薬物動態を評価するため，単回及び反復投与試験を実施した。

単回投与試験では，交差反応性を示し，毒性試験で選択した動物種であるカニクイザルを用いて評価した。投与経路は，静脈内及び臨床投与経路である皮下投与とした。

反復投与の薬物動態は，カニクイザルを用いた4週間反復静脈内投与毒性試験並びに13及び26週間反復皮下投与毒性試験のトキシコキネティクス（TK）パラメータから評価した。

分布に関しては，本薬が遺伝子組換えヒト化 IgG4モノクーロナル抗体であることを考慮し，放射性標識体を用いた一般的な分布試験は実施していない。代謝及び排泄試験は本薬が他のヒト化 IgG モノクローナル抗体医薬と同じ IgG フレームを有し，代謝及び排泄の経路は内因性 IgG と同様であると判断したことから実施していない。本薬の乳汁中排泄試験は実施していないが，IgG は乳汁中に移行することが知られている。なお，分布，代謝及び排泄試験の実施・評価に関する方針決定には，医薬品規制調和国際会議（ICH）S6（R1） ガイドライン「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」に準拠した。

2.4.2.3 毒性試験

本薬の主要な毒性試験は，医薬品 GLP 省令「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令」（厚生省令第21号 平成9年3月26日）を遵守し，また， ICH ガイドラインに準拠し，実施された。

本薬は，マウス及びラットに交差反応性を示さず，カニクイザルに交差反応性を示すことから，局所刺激性試験及び安全性薬理試験の評価項目も含めた反復投与毒性試験については，カニクイザルを評価動物種として選択した。反復投与毒性試験の投与経路及び投与頻度は，臨床適用時の投与経路及び投与頻度を考慮し，皮下投与（週1回）とした。なお，静脈内投与による臨床試験を想定した静脈内投与（週1回）による反復投与毒性試験も実施した。

以下に，実施した毒性試験項目を示す。
- カニクイザルを用いた4週間反復皮下投与毒性試験（用量設定試験；週1回投与，計5回）
- カニクイザルを用いた13週間反復皮下投与毒性試験（週1回投与，計14回）
- 成熟カニクイザル用いた26週間反復皮下投与毒性試験（週1回投与，計27回）
- カニクイザルを用いた4週間反復静脈内投与毒性試験（週1回投与，計5回）
- ヒト及びカニクイザル組織を用いた組織交差反応性試験（予備試験）
- ヒト組織を用いた組織交差反応性試験
- ヒト全血を用いたサイトカイン放出に関する *in vitro* 試験

以下に実施していない毒性試験項目を示す。
- 遺伝毒性試験
- がん原性試験
- 生殖発生毒性試験
  （胚•胎児発生に関する試験及び出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験）
- 幼若動物試験

エミシズマブ製剤（以下，本剤）に含まれる L-アスパラギン酸濃度[redacted] mg/mL から算出された1日最大使用量である25.9 mg は，医薬品添加物としての皮下投与による使用前例はなく，当局相談において， L-アスパラギン酸は新添加物に該当することが確認された。そこで，L-アスパラギン酸の皮下投与による安全性を，L-アスパラギン酸に関する文献情報及び本薬の反復皮下投与試験の対照群（臨床用製剤に含まれる添加剤と同一組成であり L-アスパラギン酸を含む溶媒を投与した群）の結果を用いて評価した。

2.4.3 薬理試験

2.4.3.1 効力を裏付ける試験

2.4.3.1.1 薬効薬理試験（*in vitro*）

2.4.3.1.1.1 抗原への結合性

本薬は，表面プラズモン共鳴を用いた結合測定において数 μmol/L 程度の親和性で，ヒト FIX，ヒト FX，ヒト活性型 FIX，ヒト活性型 FX，カニクイザル FIX 及びカニクイザル FX に対して濃度依存的に結合した。

2.4.3.1.1.2 FVIII 機能代替活性

本薬は，合成発色基質を用いた酵素アッセイにおいて濃度依存的に FIXa による FX の活性化を促進した。また，合成発色基質を用いた酵素アッセイにおいて本薬はカニクイザルに交差し，ラット及びマウスには交差しなかった。更に，本薬は，FVIII 欠乏ヒト血漿において，APTT の濃度依存的短縮，すなわち血漿凝固促進活性を示し，かつ FXIa により惹起したトロ

ンビン生成量の経時的変化から算出したパラメータを濃度依存的に改善し，トロンビン生成を促進した。以上より，本薬は FIXa による FX 活性化を促進する活性，すなわち FVIII 機能代替活性を有し，FVIII 欠乏ヒト血漿において凝固促進活性を有することが明らかとなった。

2.4.3.1.1.3 FVIII 又はバイパス製剤共存下での作用

本薬は，FVIII 欠乏ヒト血漿を用いたトロンビン生成試験において，FVIII 又は aPCC との併用でトロンビン生成を更に促進させた。また，本薬は，低濃度の FVIIa 添加時の Lag time を延長させたことから，FVIIa との併用でトロンビン生成開始時間を延長させる場合があることが示されたが，FVIIa 添加時の Peak height 及び内因性トロンビン産生能（ETP）を増加させたことから，FVIIa と本薬の併用により，トロンビン生成量は更に増加することが示された。

2.4.3.1.1.4 FIX 及び FX 関連反応への影響

合成発色基質を用いた酵素アッセイにより，FIX 及び FX が関連する各種反応，すなわち（1）FXIa による FIX 活性化：N1反応，（2）FVIIa/組織因子（TF）による FIX 活性化：N2反応，（3）FIXa/FVIIIa による FX 活性化：N3反応，（4）FVIIa/TF による FX 活性化：N5反応及び（5）FXa/FVa によるプロトロンビン（FII）活性化：N6反応，の5つの反応に対する本薬の影響を検討した。本試験において，3つの反応（N3，N5及び N6）において本薬による阻害作用がみられ，1つの反応（N1）において弱い阻害作用がみられた。

2.4.3.1.2 薬効薬理試験（*in vivo*）

2.4.3.1.2.1 皮下投与による人為的出血に対する出血傾向抑制効果

カニクイザル FVIII 中和血友病 A/穿刺出血モデルにおいては，出血に伴う血液ヘモグロビン濃度低下が生じ，体表に出血痕が観察された。本薬の皮下投与（0.3，1又は3 mg/kg）により，対照群と比べて，この血液ヘモグロビン濃度低下は用量依存的に抑制される傾向を示し，体表にみられる出血痕面積は1及び3 mg/kg の用量で有意に抑制された。同様のカニクイザル FVIII 中和血友病 A/穿刺出血モデルにおいて，本薬の皮下投与（50 mg/kg）により，溶媒投与群と比べて，血液ヘモグロビン濃度低下及び体表にみられる出血痕面積は有意に抑制された。本薬の皮下投与（10 mg/kg）においても，これらの出血症状が抑制される傾向がみられた。これらのことから，カニクイザル FVIII 中和血友病 A/穿刺出血モデルにおける本薬の皮下投与による出血傾向抑制効果が確認された。

2.4.3.1.2.2 静脈内投与による人為的出血に対する止血効果

カニクイザル FVIII 中和血友病 A/穿刺出血モデルにおいて，出血刺激後の本薬静脈内投与（0.3，1又は3 mg/kg）により，対照群と比べて，血液ヘモグロビン濃度低下は用量依存的に抑制される傾向を示し，体表にみられる出血痕面積は1及び3 mg/kg の用量で有意に抑制された。これらのことから，カニクイザル FVIII 中和血友病 A/穿刺出血モデルにおける本薬の静脈内投与による止血効果が確認された。

2.4.3.1.2.3 反復皮下投与による自然出血に対する出血傾向抑制効果

カニクイザル FVIII 中和血友病 A/自然出血モデルにおいて，本薬は，初回（Day 0）の3.97 mg/kg 単回皮下投与及び2回目（Day 7）以降の1 mg/kg 週1回計7回反復皮下投与の用量用法により，血液ヘモグロビン濃度の観察期間中の最小値，及び出血症状（体表の出血痕，血尿，関節内出血による関節障害に伴う跛行）がみられない日数を，溶媒投与群と比較して有意に増加させた。また，本薬は，跛行が観察された日数，及び Day 56剖検時に関節内出血が認められた関節数を，溶媒投与群と比較して有意に減少させた。以上より，カニクイザル FVIII 中和血友病 A/自然出血モデルにおいて，本薬は，関節内出血を含め血友病 A に特徴的な出血

症状に対して抑制効果を示すことが確認された。

2.4.3.1.2.4 出血に対する高用量及び高濃度の影響

In vitro 酵素アッセイ（2.4.3.1.1.4）でみられた本薬による FIX 及び FX 関連反応阻害の出血への影響を評価するため，カニクイザル FVIII 中和血友病 A/穿刺出血モデルにおいて，本薬高用量皮下投与（200 mg/kg）の影響を検討した。その結果，200 mg/kg の本薬を皮下投与しても出血は増加せず，逆に出血傾向が有意に抑制されたことから，本モデルにおいて，*in vitro* 酵素アッセイでみられた本薬による FIX 及び FX 関連反応阻害は，*in vivo* での出血増加をもたらさないことが明らかとなった。

カニクイザル FVIII 中和血友病 A モデルにおいて，本薬の皮下投与部位の出血について検討した結果，外貌からの観察では全投与部位で変化が認められなかった。一部の投与部位の皮下織において，肉眼的に暗赤色部がみられ，病理組織学的には軽微あるいは軽度な出血性変化がみられた。各投与部位皮下織におけるこれらの暗赤色部は，溶媒と本薬の比較において，その大きさに明らかな差はみられず，発現頻度にも大差はなかった。以上より，投与部位皮下織における暗赤色部は，投与手技（注射針の刺入による物理的影響等）に起因する変化の可能性が考えられた。

本薬を皮下投与（10 mg/kg）して4日目のカニクイザルにサル FVIII に対する中和抗体を投与して血友病 A 病態にしたのち，皮下剥離により出血を惹起した。この皮下剥離傷害部に本薬（80 mg/mL）を皮下投与して，皮下剥離部出血に対する本薬高濃度の影響を評価した。剥離部ごとの体表出血痕面積は，溶媒投与群と比較して本薬投与群で有意に抑制されたことから，本モデルにおいて血友病 A の定期投与療法として本薬を反復皮下投与しているときに，投与部位に出血刺激が加わっても，投与した高濃度の本薬が出血を増悪させる可能性は低いことが示された。

2.4.3.1.2.5 血栓形成への影響

本薬の凝固反応促進活性が血栓形成リスクを増大させるかを評価するため，カニクイザル静脈うっ血モデルにおいて，本薬の血栓形成への影響を検討した結果，投与なし（対照）では，うっ血部位に血栓がほとんど観察されないのに対して，陽性対照である FVIIa の静脈内投与では，うっ血部位の血栓重量が有意に増加した。本薬及び FVIII の静脈内投与でもうっ血部位に血栓が生じ，その血栓重量は FVIIa 投与で生じる血栓重量を著しく上回るものではなかった。以上より，本薬が血栓を生じるリスクは，FVIIa 及び FVIII でみられる血栓形成リスクを著しく上回るものではないと考えられた。

カニクイザル FVIII 中和血友病 A/静脈うっ血モデルにおいて，本薬とバイパス製剤を併用した場合の血栓形成への影響を検討した。対照（投与なし）群及び本薬単独投与群では，いずれのうっ血部位においても血栓がみられなかったのに対して，FVIIa 又は aPCC の単独投与群では，うっ血部位に血栓がみられた。この血栓重量は，FVIIa 投与群よりも aPCC 投与群において増加する傾向がみられた。本薬と FVIIa 又は aPCC の併用投与群では，うっ血部位に血栓がみられ，この併用時の血栓重量は，aPCC 単独投与群の最大値よりも増加した例もあったが，それぞれ FVIIa 又は aPCC の単独投与群と比較して，有意な差はみられなかった。以上より，本薬と FVIIa 又は aPCC を併用した場合の血栓形成リスクは，aPCC 単独でみられる血栓形成リスクを著しく上回る可能性は低いと考えられた。

2.4.3.1.2.6 薬効薬理試験（*in vivo*）のまとめ

本薬は，カニクイザル FVIII 中和血友病 A/穿刺出血モデルにおいて出血傾向抑制効果及び止血効果を示したこと，カニクイザル FVIII 中和血友病 A/自然出血モデルにおいて出血傾向抑制効果を示したことから，本薬による FVIII 機能代替は，血友病 A の有効な治療方法のひとつとなると考えられた。また，カニクイザル FVIII 中和血友病 A/穿刺出血モデルにおける

本薬高用量皮下投与（200 mg/kg）及びカニクイザル FVIII 中和血友病 A モデルにおける皮下剥離傷害部への本薬高濃度皮下投与（80 mg/mL）は，出血を増悪させず，逆に出血傾向を有意に抑制したことから，これらのモデルにおいて，*in vitro* 酵素アッセイでみられた本薬による FIX 及び FX 関連反応阻害作用は，*in vivo* での出血増加をもたらさないことが明らかになった。更に，カニクイザル静脈うっ血モデルにおいて本薬が血栓を生じるリスクは，FVIIa 及び FVIII でみられる血栓形成リスクを著しく上回るものではないと考えられ，カニクイザル FVIII 中和血友病 A/静脈うっ血モデルにおいて本薬と FVIIa 又は aPCC を併用した場合の血栓形成リスクは，aPCC 単独でみられる血栓形成リスクを著しく上回る可能性は低いと考えられた。

2.4.3.2 副次的薬理試験

2.4.3.2.1.1 Fcγ レセプターへの結合性

抗体が定常領域を介したエフェクター作用を発揮する上で重要な分子である Fcγ レセプターに対する本薬の結合性を表面プラズモン共鳴にて検討した。ヒト及びカニクイザルの Fcγ レセプターに対して，定常領域が改変 IgG4である本薬は，同領域が IgG1であるリツキシマブ及び IgG4であるナタリズマブと比べて，結合量が極端に増加することはなかった。このため，ヒト Fcγ レセプターとの結合の観点において，定常領域を介したエフェクター作用を発現するリスクは低いと考えられた。

2.4.3.2.1.2 胎児性 Fc レセプターへの結合性

ヒト胎児性 Fc レセプター（hFcRn）及びカニクイザル胎児性 Fc レセプター（cyFcRn）に対する本薬の結合性を表面プラズモン共鳴にて検討した。pH 7.4では，hFcRn 及び cyFcRn のいずれも，6 μmol/L までの濃度範囲において，本薬又はナタリズマブにほとんど結合しなかった。pH 6.0では，本薬及びナタリズマブの hFcRn に対する結合の K_D 値は，それぞれ3.1～3.6 μmol/L 及び2.4～2.5 μmol/L であった。また，本薬及びナタリズマブの cyFcRn に対する結合の K_D 値は，それぞれ2.8～3.1 μmol/L 及び2.1～2.3 μmol/L であった。本薬は hFcRn 及び cyFcRn に対して，ナタリズマブすなわち通常の IgG4抗体と同等の親和性及び pH 依存性の結合を示すことが確認された。

2.4.3.2.1.3 補体 C1q への結合性

ヒト補体 C1のサブユニット C1q に対する本薬の結合性を ELISA 法により評価した。ヒト補体 C1q に対して，定常領域が改変 IgG4である本薬は，IgG4であるナタリズマブとほぼ同程度の結合性を示し，また，IgG1であるリツキシマブと比べると，その結合性は顕著に弱かった。したがって，ヒト C1q との結合の観点において，本薬が定常領域を介したエフェクター作用を発現するリスクは低いと考えられた。

2.4.3.3 安全性薬理試験

本薬はバイオテクノロジー応用医薬品であることから，ICH S6(R1)ガイドライン「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」及び ICH M3(R2)ガイドライン「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス」を参考に，また，動物実験の3R（代替法の利用／使用動物数の削減／苦痛の軽減）の原則に従って，カニクイザルを用いた13週間皮下投与試験及び26週間皮下投与試験の中で，中枢神経系，呼吸器系及び心血管系に及ぼす影響を評価した。その結果，皮下投与による30 mg/kg までの用量で，本薬に関連した毒性は認められなかった。また，カニクイザルを用いた4週間静脈内投与試験における一般状態観察，心電図検査及び病理学的検査により，中枢神経系，呼吸器系及び心血管系に及ぼす影響を評価した結果，静脈内投与による100 mg/kg までの用量で，本薬

に関連した毒性は認められなかった。

本剤に含まれる新添加物 L-アスパラギン酸の中枢神経系，呼吸器系及び心血管系への影響について，本薬のカニクイザルを用いた13週間皮下投与試験及び26週間皮下投与試験の対照群における一般状態観察，神経行動学的機能観察（13週間皮下投与試験でのみ実施），心電図検査及び病理学的検査により評価した結果，溶媒（臨床用製剤に含まれる添加剤と同一組成であり L-アスパラギン酸を含む）の皮下投与に関連した毒性は認められなかった。また，カニクイザルを用いた4週間静脈内投与試験の対照群における一般状態観察，心電図検査及び病理学的検査により評価した結果，溶媒（臨床用製剤に含まれる添加剤と同一組成であり L-アスパラギン酸を含む）の静脈内投与に関連した毒性は認められなかった。

2.4.4 薬物動態試験

2.4.4.1 分析法

カニクイザル血漿中の本薬濃度測定用に酵素免疫測定法（ELISA）を開発し，バリデーション試験を実施した。カニクイザル血漿中の抗薬物抗体（ADA）測定用に電気化学発光免疫測定法（ECLIA）及び ELISA を開発し，バリデーション試験を実施した。

2.4.4.2 吸収

カニクイザルを用いて，本薬を静脈内，又は臨床で使用を予定している皮下投与で単回及び反復投与した場合の薬物動態を評価した。

雄カニクイザルに本薬を6.0 mg/kg の用量で単回静脈内投与した場合，本薬のクリアランス（CL）は3.69 mL/d/kg，消失半減期（$t_{1/2}$）は19.4日，定常状態分布容積（V_{ss}）は98.1 mL/kg であった。雄カニクイザルに単回皮下投与した場合（用量：0.060，0.60及び6.0 mg/kg），最高血漿中濃度到達時間（T_{max}）は3.00～5.33日と本薬の吸収は緩やかであり，生物学的利用率（F）は102.3%（6.0 mg/kg 投与時）であった。投与後無限大時間までの血漿中濃度-時間曲線下面積（AUC_{inf}）及び最高血漿中濃度（C_{max}）は，概ね用量に比例して増加し，$t_{1/2}$は用量間で差はなく23.6～26.5日であった。

表 2.4.4.2-1 カニクイザルにおける単回投与後の薬物動態パラメータ

投与経路	用量 (mg/kg)	n	AUC_{inf} (μg•d/mL)	C_{max} (μg/mL)	T_{max} (d)	CL (mL/d/kg)	V_{ss} (mL/kg)	$t_{1/2}$ (d)	F (%)
IV	6.0	2*	1630	NA	NA	3.69	98.1	19.4	NA
SC	0.060	2*	24.6	0.602	3.00	NA	NA	26.5	NA
	0.60	3	189	5.10	5.00	NA	NA	24.7	NA
	6.0	3	1670	45.7	5.33	NA	NA	23.6	102.3

NA: 該当なし

IV: 静脈内投与

SC: 皮下投与

*：ADA 陽性個体を除外

なお，本薬を投与することによる血漿中 FIX 及び FX への影響を評価するため，雄カニクイザルに本薬を6.0 mg/kg の用量で単回静脈内投与並びに0.060，0.60及び6.0 mg/kg の用量で単回皮下投与した場合の血漿中 FIX 及び FX 濃度測定を行ったが，ほとんど濃度変動はみられなかった。

雌雄カニクイザルの4週間静脈内（用量：10，30及び100 mg/kg/週）並びに13週間及び26週間皮下反復投与試験（用量： 1，6及び30 mg/kg/週）における本薬の初期血漿中濃度（C_0）又はC_{max} 及び投与後7日までの AUC（$AUC_{0\text{-}7d}$）は，用量の増加に概ね比例して増加した。いずれの TK パラメータにも性差は認められなかった。

投与回数の増加に伴い，$AUC_{0\text{-}7d}$ は増加しており，最終投与時と初回投与時を比較した蓄積係数は，週1回4週間反復静脈内投与時に1.9～2.6，週1回13週間反復皮下投与時に3.0～4.3，及び週1回26週間反復皮下投与時に2.8～6.7であった。なお，26週間反復皮下投与試験時の回復群から算出した $t_{1/2}$は15.7～30.8日であり，単回皮下投与時 $t_{1/2}$（23.6～26.5日）と同程度の値であった。

カニクイザルにおいて ADA の発現率は概ね低かった（14/93例）ものの，ADA 陽性個体においては陰性個体よりも速やかに血漿中濃度が低下したため，本薬の薬物動態パラメータの算出は，ADA 陽性個体を除き算出した。

2.4.4.3 分布，代謝及び排泄

2.4.2.2に記載した理由により定型的な分布，代謝及び排泄試験は実施していない。

2.4.5 毒性試験

2.4.5.1 単回投与毒性試験

単回投与毒性試験は実施していないが，反復投与試験における初回投与後7日までの結果から単回投与毒性を評価した。カニクイザルを用いた4週間皮下投与試験及び13週間皮下投与試験において，皮下投与による30 mg/kg/週までの用量で，本薬投与に関連した毒性は認められなかった。また，カニクイザルを用いた4週間静脈内投与試験において，静脈内投与による100 mg/kg/週までの用量で，本薬投与に関連した毒性は認められなかった。

2.4.5.2 反復投与毒性試験

カニクイザルを用いた13週間皮下投与試験及び26週間皮下投与試験を実施した。13週間皮下投与試験では，活性化部分トロンボプラスチン時間（APTT）の短縮（1，6及び30 mg/kg/週群）及び投与部位皮下織の脈管周囲における単核細胞浸潤（6及び30 mg/kg/週群）が認められた。26週間皮下投与試験では，投与部位に，皮下織の出血及び脈管周囲における単核細胞浸潤（1，6及び30 mg/kg/週群）が認められた。APTT の短縮は本薬の薬理作用によるものと考えられ，また，投与部位の変化は，13週間皮下投与試験の投与期間終了時に対照群を含む全群で投与部位反応（剖検での皮下の暗赤色部と，これに伴った組織学的な変化である皮下織の出血）が認められていること，タンパク質製剤の皮下投与による投与部位反応が一般に報告されていることから[7-12]，本薬特異的な毒性ではないと判断した。いずれの試験においても，皮下投与による無毒性量（NOAEL）は30 mg/kg/週と判断された。

カニクイザルを用いた4週間静脈内投与試験を実施した。4週間静脈内投与試験では，APTT の短縮（10，30及び100 mg/kg/週群）が認められた。この変化には回復性が認められた。APTT の短縮は本薬の薬理作用と考えられたため，本薬の毒性ではないと判断した。この試験において，静脈内投与による NOAEL は100 mg/kg/週と判断された。

2.4.5.3 遺伝毒性試験

本薬はバイオテクノロジー応用医薬品であることから，ICH S6(R1)ガイドライン「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」で示されている考え方に従い，遺伝毒性試験は実施していない。一般に IgG クラスの分子量の大きいヒト化抗体である本薬が，DNA や他の染色体成分に直接相互作用するとは考えにくいことから，本薬の遺伝毒性に関する懸念は低いと考えられた。

2.4.5.4 がん原性試験

本薬はバイオテクノロジー応用医薬品であることから，ICH S6(R1)ガイドライン「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」で示されている考え方に従い，がん原性

を評価した。本薬は，マウス，ラットに交差反応性を示さず，カニクイザルに交差反応性を示すことから，標準的なげっ歯類を用いたがん原性試験は適切ではないと判断したため実施していない。

カニクイザルを用いた反復投与試験の組織学的検査において，休薬期間を含め最長39週間にわたる本薬の曝露が確認されたが，検査したすべての器官・組織において，本薬投与に関連した増殖性変化は認められず，本薬に関連した免疫抑制作用や内分泌系への影響も認められなかった。また，本剤の臨床試験の結果及び同効の製品（遺伝子組換え型血液凝固第 VIII 因子製剤）に関する安全性プロファイルにおいて，がん原性に関する懸念は，これまで報告されていない。したがって，本薬のがん原性に関する懸念は低いと考えられた。

2.4.5.5 生殖発生毒性試験

受胎能に及ぼす影響について，カニクイザル（投与開始時3歳齢）を用いた13週間皮下投与試験及び成熟カニクイザル（投与開始時4～6歳齢）を用いた26週間皮下投与試験では，30 mg/kg/週 まで，雌雄生殖器の病理学的検査に，本薬の毒性は認められなかった。26週間皮下投与試験においては，精子検査及び月経周期の確認によっても受胎能に及ぼす影響を評価した。その結果，皮下投与による本薬の毒性は認められなかった。また，カニクイザル（投与開始時3～4歳齢）を用いた4週間静脈内投与試験において，100 mg/kg/週までの用量で，雌雄生殖器の病理学的検査に，本薬の毒性は認められなかった。

同効の製品における安全性プロファイル及び文献情報（IgG の胎盤通過性[13]，血液凝固亢進状態と不育症の関連性[14]等）から，正常動物への本薬過量投与時に，凝固亢進による個体発生に関連した毒性発現の懸念があると評価したため，胚•胎児発生に関する試験及び出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験は実施していない。

2.4.5.6 局所刺激性試験

カニクイザルを用いた13週間皮下投与試験及び26週間皮下投与試験において評価した。これらの試験では，臨床第 I 相試験使用製剤と同一処方の溶媒及び本薬溶液（13週間皮下投与試験では2.7，16.2及び80.3 mg/mL；26週間皮下投与試験では2.7，16.3及び81.7 mg/mL；高用量群用の投与液濃度は臨床第 I 相試験使用製剤とほぼ同じ濃度）を投与し，最終投与後3日に剖検を実施した。なお，背部の皮膚を，13週間皮下投与試験では14分割し投与1回につき1箇所を使用，26週間皮下投与試験では14分割し投与2回につき1箇所を使用した。

投与期間終了時の病理学的検査において，13週間皮下投与試験では，本薬の6及び30 mg/kg/週群（投与液濃度：16.2及び80.3 mg/mL）の投与部位に，組織学的には皮下織の脈管周囲における単核細胞浸潤が認められた。26週間皮下投与試験では，本薬投与群の投与部位に，剖検では皮下の赤色斑（1 mg/kg/週群；投与液濃度：2.7 mg/mL）が，組織学的には皮下織の出血及び脈管周囲における単核細胞浸潤（1，6及び30 mg/kg/週群；投与液濃度：2.7，16.3及び81.7 mg/mL）が認められた。これらの変化には回復性が認められた。

また，カニクイザルを用いた4週間静脈内投与試験においても評価した。この試験では，本薬溶液（8.2，24.6及び81.7 mg/mL）を投与（投与部位は伏在静脈を使用，投与速度は約4 mL/分）し，最終投与日の翌日に剖検を実施した。投与期間終了時の病理学的検査において，本薬投与全群の投与部位に異常は認められなかった。

2.4.5.7 その他の毒性試験

ヒト正常組織を用いた組織交差反応性試験を実施した結果，肝臓，副腎，甲状腺及び骨髄の細胞質内に特異的な染色が認められた。これらの特異的な染色は細胞質内に認められたこと，本薬の薬理学的特性（ヒト化抗体である本薬が細胞膜を通過して特異的な染色を示した組織の細胞質内に直接相互作用する可能性は低いと考えられること，本薬は抗原に対する中和作用は

ないこと，本薬は細胞傷害性作用を有していないこと）から，これらの器官に関連する本薬の副作用が発現する可能性は低いと考えられた。

健康成人の全血を用いたサイトカイン放出に関する *in vitro* 試験を実施した結果，本薬のサイトカイン誘導は，低リスク対照薬であるパニツムマブと同程度であった。

2.4.5.8 幼若動物試験

ICH M3(R2)ガイドライン「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス」で示されている考え方に従い，反復投与試験及び臨床試験の結果並びに同効の製品における小児集団での安全性プロファイルから，本薬の安全性に関する小児特異的な懸念はないと評価したため，幼若動物試験は実施していない。

2.4.5.9 添加物 L-アスパラギン酸の安全性評価

本剤に含まれる L-アスパラギン酸濃度[redacted] mg/mL から算出された1日最大使用量である25.9 mg（本薬の臨床推奨用量 最大3 mg/kg/週，投与液濃度 150 mg/mL，投与液量0.02 mL/kg から，体重60 kg あたりの1日最大使用量は1.2 mL/箇所として算出）は，医薬品添加物としての皮下投与による使用前例がなく，簡易相談において， L-アスパラギン酸は新添加物に該当することが確認された[15]。そこで，L-アスパラギン酸の皮下投与による安全性を，L-アスパラギン酸に関する文献情報及び本薬の反復皮下投与試験の対照群（臨床使用製剤に含まれる添加剤と同一組成であり L-アスパラギン酸を含む溶媒を投与した群）の結果を用いて評価した。その結果，L-アスパラギン酸の特異的な影響は認められなかったことから，本剤に含まれるL-アスパラギン酸の皮下投与による1日最大使用量25.9 mg について，安全性に関する懸念はないと判断した。

2.4.5.10 動物からヒトへの外挿（曝露量のまとめ，臨床との関連性）

本薬の単回及び反復投与毒性を，カニクイザルを用いた反復皮下投与試験（4週間，13週間及び26週間；週1回，30 mg/kg までの用量）及び反復静脈内投与試験（4週間；週1回，100 mg/kg までの用量）により評価した。反復投与試験では，本薬の薬理作用である APTT の短縮及びタンパク質製剤の皮下投与による影響[7)-12)]と考えられる投与部位反応が認められたのみであり，皮下投与による NOAEL は，いずれの試験においても30 mg/kg/週，静脈内投与による NOAEL は100 mg/kg/週と判断された。反復皮下投与試験で認められた投与部位反応について，臨床試験において本剤投与に伴う投与部位反応（軽度かつ回復性あり）が認められていることから，添付文書の副作用の項において注意喚起を行う。

精子検査及び月経周期の確認並びに雌雄生殖器の病理学的検査を含むカニクイザルを用いた皮下及び静脈内投与による反復投与試験において，本薬投与に関連した毒性は，皮下投与の30 mg/kg/週及び静脈内投与の100 mg/kg/週までの用量で認められていないことから，本薬投与が受胎能に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。胚•胎児発生に関する試験及び出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験は実施していないが，同効の製品における安全性プロファイル及び文献情報（IgG の胎盤通過性[13)]，血液凝固亢進状態と不育症の関連性[14)]等）から，正常動物への本薬過量投与時に，凝固亢進による個体発生に関連した毒性発現の懸念があると評価した。妊婦，産婦，授乳婦等への投与に関する安全性は確認されていないため，添付文書の妊婦，産婦，授乳婦等への投与の項において注意喚起を行う。

カニクイザルを用いた反復投与試験の NOAEL における曝露量と臨床試験の用法•用量における曝露量を比較した（表 2.4.5-1）。皮下投与による反復投与試験について，各試験の NOAEL（30 mg/kg/週）における曝露量（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}7d}$）は，臨床試験の用法•用量（最大3 mg/kg/週）における曝露量と比較して，約10倍の安全域が確保されている。また，静脈内投与による反復投与試験の NOAEL（100 mg/kg/週）における曝露量（C_0 及び $AUC_{0\text{-}7d}$）は，臨床試

験の用法•用量（最大3 mg/kg/週）における曝露量と比較して，10倍以上の安全域が確保されている。

表 2.4.5-1 カニクイザル反復投与試験の無毒性量（NOAEL）における曝露量と臨床試験の用法•用量における曝露量との比較

動物種		カニクイザル	カニクイザル	カニクイザル	血友病 A 患者 [a]
試験の種類		13週間皮下投与試験の NOAEL	26週間皮下投与試験の NOAEL	4週間静脈内投与試験の NOAEL	第 III 相試験の用法•用量
投与期間，投与経路		13週間，皮下	26週間，皮下	4週間，静脈内	定常状態，皮下
投与頻度		週1回	週1回	週1回	週1回
投与量（mg/kg/週）		30	30	100	3（負荷投与，4週間），その後1.5（維持投与）
資料番号（試験番号）		4.2.3.2-2 (TOX[redacted]-0057)	4.2.3.2-3 (TOX[redacted]-0007)	4.2.3.2-4 (TOX[redacted]-0021)	5.3.3.5-1 (ACE001JP Part C, ACE002JP, BH29884, BH29992)
平均 C_{max} (μg/mL)	雌雄平均（雄平均/雌平均）	1135 (1200/1070) [b]	1355 (1340/1370) [c]	3555 (3550/3560) [d]	56.5 [e]
	曝露量比 [f]	20	23	62	
平均 $AUC_{0\text{-}7d}$ (μg• d/mL)	雌雄平均（雄平均/雌平均）	6965 (7360/6570) [b]	8755 (8680/8830) [c]	15400 (14400/16400) [d]	386 [g]
	曝露量比 [f]	18	22	39	

[a] インヒビター保有•非保有及び成人•青年•小児の血友病 A 患者含む
[b] カッコ内の平均値（5例）は最終投与（第13回投与）時のデータを用いた
[c] カッコ内の平均値（5例）は最終投与（第26回投与）時のデータを用いた（ただし，雄の1例に ADA 産生が認められたため4例となる）
[d] カッコ内の平均値（5例）は最終投与（第4回投与）時のデータを用いた（ただし，静脈内投与のため C_{max} ではなく C_0で示した）
[e] 平均 $C_{max,ss}$ (μg/mL)
[f] 曝露量比はカニクイザルでの曝露量（雌雄平均）をヒトでの曝露量で除した
[g] 平均 $AUC_{1week,ss}$ (μg•d/mL)

2.4.6 総括及び結論

本薬は，FIXa 及び FX に対する遺伝子組換えヒト化二重特異性モノクローナル改変 IgG4抗体である[3]。本薬は，数 μmol/L 程度の親和性で FIXa 及び FX と結合し，FIXa による FX の活性化を促進する作用，すなわち FVIII の機能を代替する補因子活性を示した。本薬は，FVIII インヒビター存在下の血漿においても FIXa による FX の活性化を促進し，血友病 A 動物モデルにおいて止血作用を示した[4]。また，本薬は，現行の血友病 A インヒビターの標準療法[5]に比べて，血友病 A 動物モデルにおいて低頻度の皮下投与で出血傾向抑制作用を示した[6]ことから，血友病 A インヒビター患者の現行療法では達成されていない有効な定期投与療法を提供し得ると考えられた。これらの動物モデルで有意な作用がみられた本薬の血漿中濃度（2.6.2.2.12及び 2.6.2.2.13）は，血友病 A 患者を対象とした臨床試験（BH29884試験及び BH29992試験）においてエミシズマブ皮下注製剤を3 mg/kg の用量で週1回4週間反復皮下投与（負荷投与）し，その後1.5 mg/kg の用量で週1回反復皮下投与（維持投与）した際の定常状態における本薬の血漿中濃度（2.7.2.3.1.4）とほぼ一致していた。

本薬は，FVIII 欠乏ヒト血漿を用いたトロンビン生成試験において，FVIII，FVIIa 又は aPCC との併用でトロンビン生成を更に促進させることが示された。カニクイザル FVIII 中和血友病

A/静脈うっ血モデルにおいて，本薬と FVIIa 又は aPCC の併用投与群では，うっ血部位に血栓がみられたが，本薬と FVIIa 又は aPCC を併用した場合の血栓形成リスクは，aPCC 単独でみられる血栓形成リスクを著しく上回る可能性は低いと考えられた。本薬とバイパス製剤の併用に関して，特に aPCC を集中的に使用した臨床試験症例の中で血栓性の副作用が出現した例があったことから（2.5.5.3.6.3），添付文書の使用上の注意の項において注意喚起を行う。

安全性薬理試験について，本薬投与が中枢神経系，呼吸器系及び心血管系へ影響を及ぼす可能性は，カニクイザルを用いた皮下及び静脈内投与による反復投与試験の結果から，低いと考えられた。本剤に含まれる新添加物 L-アスパラギン酸が，中枢神経系，呼吸器系及び心血管系へ影響を及ぼす可能性は，カニクイザルを用いた皮下及び静脈内投与による反復投与試験において溶媒（臨床用製剤に含まれる添加剤と同一組成であり L-アスパラギン酸を含む）を投与した対照群の結果から，低いと考えられた。

カニクイザルに本薬を6.0 mg/kg の用量で単回静脈内投与したとき，本薬の CL は3.69 mL/d/kg，$t_{1/2}$は19.4日であった。V_{ss}は98.1 mL/kg であり，カニクイザルの血漿容量[16]の約2倍であったことから，本薬の組織移行性は低いと考えられた。カニクイザルを用いた単回皮下投与試験（用量：0.060，0.60及び6.0 mg/kg）では，T_{max} は3.00～5.33日と本薬の吸収は緩やかであり，F は102.3%（6.0 mg/kg 投与時）であった。

カニクイザルの4週間静脈内（用量：10，30及び100 mg/kg/週）並びに13週間及び26週間皮下反復投与試験（用量： 1，6及び30 mg/kg/週）における C_0又は C_{max} 及び AUC は，用量の増加に概ね比例して増加した。いずれの TK パラメータにも性差は認められなかった。投与回数の増加に伴い，$AUC_{0\text{-}7d}$ は増加しており，最終投与時と初回投与時を比較した蓄積係数は，週1回4週間反復静脈内投与時に1.9～2.6，週1回13週間反復皮下投与時に3.0～4.3，及び週1回26週間毒性試験時に2.8～6.7であった。なお，26週間反復皮下投与試験時の回復群から算出した $t_{1/2}$は15.7～30.8日であり，単回皮下投与時 $t_{1/2}$（23.6～26.5日）と同程度の値であった。

本薬の単回及び反復投与毒性を，カニクイザルを用いた反復皮下投与試験（4週間，13週間及び26週間；週1回，30 mg/kg までの用量）及び反復静脈内投与試験（4週間；週1回，100 mg/kg までの用量）により評価した。反復投与試験では，本薬の薬理作用である APTT の短縮及びタンパク質製剤の皮下投与による影響[7)-12)]と考えられる投与部位反応が認められたのみであり，皮下投与による NOAEL は，いずれの試験においても30 mg/kg/週，静脈内投与による NOAEL は100 mg/kg/週と判断された。反復皮下投与試験で認められた投与部位反応について，臨床試験において本薬投与に伴う投与部位反応（軽度かつ回復性あり）が認められていることから，添付文書の副作用の項において注意喚起を行う。

本薬はバイオテクノロジー応用医薬品であることから，ICH S6(R1)ガイドラインで示されている考え方に従い，遺伝毒性試験及びがん原性試験は実施していない。本薬のがん原性に関する懸念は，本薬の反復投与試験及び臨床試験の結果，並びに同効の製品での安全性プロファイルから低いと判断した。

精子検査及び月経周期の確認並びに雌雄生殖器の病理学的検査を含むカニクイザルを用いた皮下及び静脈内投与による反復投与試験において，本薬投与に関連した毒性が皮下投与の30 mg/kg/週及び静脈内投与の100 mg/kg/週までの用量で認められていないことから，本薬投与が受胎能に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。胚•胎児発生に関する試験及び出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験は実施していないが，同効の製品における安全性プロファイル及び文献情報（IgG の胎盤通過性[13)]，血液凝固亢進状態と不育症の関連性[14)]等）から，正常動物への本薬過量投与時に，凝固亢進による個体発生に関連した毒性発現の懸念があると評価した。妊婦，産婦，授乳婦等への投与に関する安全性は確認されていないため，添付文書の妊婦，産婦，授乳婦等への投与の項において注意喚起を行う。

ヒト正常組織を用いた組織交差反応性試験において，本薬に対する特異的な染色が肝臓，副腎，甲状腺及び骨髄の細胞質内に認められたが，ヒト化抗体である本薬が細胞膜を通過する可能性は低いことから，これらの器官に関連する本薬の副作用が発現する可能性は低いと考えら

れた。健康成人の全血を用いたサイトカイン放出に関する *in vitro* 試験において，本薬によるサイトカイン誘導は，低リスク対照薬であるパニツムマブと同程度であったため，本薬の皮下投与によるサイトカイン放出症候群の発症リスクは低いと考えられた。

ICH M3(R2)ガイドラインで示されている考え方に従い，反復投与試験及び臨床試験の結果，並びに同効の製品における小児集団での安全性プロファイルから，本薬の安全性に関する小児特異的な懸念はないと評価したため，幼若動物を用いた試験は実施していない。

皮下投与による反復投与毒性試験について，各試験の NOAEL（30 mg/kg/週）における曝露量（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}7d}$）は，臨床試験の用法•用量（最大3 mg/kg/週）における曝露量と比較して，約10倍の安全域が確保されている。また，静脈内投与による反復投与試験の NOAEL（100 mg/kg/週）における曝露量（C_0及び $AUC_{0\text{-}7d}$）は，臨床試験の用法•用量（最大3 mg/kg/週）における曝露量と比較して，10倍以上の安全域が確保されている。

本剤に含まれる L-アスパラギン酸濃度[redacted] mg/mL から算出された1日最大使用量である25.9 mg は，医薬品添加物としての皮下投与による使用前例がなく，L-アスパラギン酸は，当局相談において，新添加物に該当することが確認された[15]。そこで，L-アスパラギン酸の皮下投与による安全性を，L-アスパラギン酸に関する文献情報及び本薬の反復皮下投与試験の対照群（臨床使用製剤に含まれる添加剤と同一組成であり L-アスパラギン酸を含む溶媒を投与した群）の結果を用いて評価した。その結果，L-アスパラギン酸の特異的な影響は認められなかったことから，本剤に含まれる L-アスパラギン酸の皮下投与による1日最大使用量25.9 mg について，安全性に関する懸念はないと判断した。

以上，これまでに得られている非臨床試験の結果から，本薬は血友病 A 患者における新たな治療薬となることが期待される。

2.4.7 参考文献一覧

1) Kitazawa T, Igawa T, Sampei Z, Muto A, Kojima T, Soeda T, et al. A bispecific antibody to factors IXa and X restores factor VIII hemostatic activity in a hemophilia A model. Nat Med 2012;18(10):1570-4.
2) Songsivilai S, Lachmann PJ. Bispecific antibody: a tool for diagnosis and treatment of disease. Clin Exp Immunol 1990;79(3):315-21.
3) Sampei Z, Igawa T, Soeda T, Okuyama-Nishida Y, Moriyama C, Wakabayashi T, et al. Identification and multidimensional optimization of an asymmetric bispecific IgG antibody mimicking the function of factor VIII cofactor activity. PLoS One 2013;8(2):e57479.
4) Muto A, Yoshihashi K, Takeda M, Kitazawa T, Soeda T, Igawa T, et al. Anti-factor IXa/X bispecific antibody (ACE910): hemostatic potency against ongoing bleeds in a hemophilia A model and the possibility of routine supplementation. J Thromb Haemost 2014;12(2):206-13.
5) 「インヒビター保有先天性血友病患者に対する止血治療ガイドライン：2013 年改訂版」の 2015 年補遺版. 日本血栓止血学会 2015
6) Muto A, Yoshihashi K, Takeda M, Kitazawa T, Soeda T, Igawa T, et al. Anti-factor IXa/X bispecific antibody ACE910 prevents joint bleeds in a long-term primate model of acquired hemophilia A. Blood 2014;124(20):3165-71.
7) Tabrizi MA, Roskos LK. Preclinical and clinical safety of monoclonal antibodies. Drug Discov Today 2007;12(13-14):540-7.
8) Catapano AL, Papadopoulos N. The safety of therapeutic monoclonal antibodies: implications for cardiovascular disease and targeting the PCSK9 pathway. Atherosclerosis 2013;228(1):18-28.
9) Jolles S, Borte M, Nelson RP Jr, Rojavin M, Bexon M, Lawo JP, et al.. Long-term efficacy, safety, and tolerability of Hizentra® for treatment of primary immunodeficiency disease. Clin Immunol 2014 Feb;150(2):161-9.

10) Kanegane H, Imai K, Yamada M, Takada H, Ariga T, Bexon M, et al. Efficacy and safety of IgPro20, a subcutaneous immunoglobulin, in Japanese patients with primary immunodeficiency diseases. J Clin Immunol 2014 Feb;34(2):204-11.

11) Maeder W, Lieby P, Sebald A, Spycher M, Pedrussio R, Bolli R. Local tolerance and stability up to 24 months of a new 20% proline-stabilized polyclonal immunoglobulin for subcutaneous administration. Biologicals 2011 Jan;39(1):43-9.

12) Mocci G, Marzo M, Papa A, Armuzzi A, Guidi L. Dermatological adverse reactions during anti-TNF treatments: Focus on inflammatory bowel disease. J Crohn's Colitis 2013 Nov;7(10):769-79.

13) Pentsuk N, van der Laan JW. An interspecies comparison of placental antibody transfer: new insights into developmental toxicity testing of monoclonal antibodies. Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol 2009;86:328-44.

14) Sotiriadis A, Makrigiannakis A, Stefos T, Paraskevaidis E, Kalantaridou SN. Fibrinolytic defects and recurrent miscarriage: a systematic review and meta-analysis. Obstet Gynecol 2007;109(5):1146-55.

15) 簡易相談（平成[redacted]年[redacted]月[redacted]日実施）結果要旨.

16) Davies B, Morris T. Physiological parameters in laboratory animals and humans. Pharm Res 1993;10:1093-5.