目次

1. まとめ....4
2. 分析法....4
2.1 マウス、ラット、ウサギ及びサルにおける ELISA を用いた VWF:Ag の測定....4
2.2 von Willebrand 因子リストセチンコファクター（VWF:RCo）活性の測定....4
2.3 マウス、ラット及びウサギにおける FVIII 活性発色測定法....5
2.4 ラット及びウサギにおける FVIII 抗原の ELISA....5
3. 吸収....5
3.1 単回投与....5
3.1.1 VWF 欠損マウスにおけるヒト rVWF と Haemate P の薬物動態の比較検討：rVWF の非臨床用 1 ロット単独及びアドベイトとの併用投与の評価（PV1960607 試験）....5
3.1.2 ラットにおけるヒト rVWF と Haemate P の薬物動態の比較検討：rVWF の非臨床用 1 ロット単独及びヒト rFVIII との併用投与の評価（PV1910605 試験）....6
3.1.3 VWF 欠損イヌにおけるヒト rVWF と pdVWF との比較試験（RD_VB_110703 試験）....8
3.1.4 ヒト rVWF：カニクイザルへの静脈内（ボーラス）投与による PK 試験（BAX0010 試験）及びカニクイザルにおけるヒト rVWF 単独又はヒト rFVIII と併用単回静脈内投与後の PK 評価のための血漿試料分析（DI07K001 試験）....9
3.2 反復投与....11
4. 分布....11
4.1 VWd マウスにおける陽電子放射断層撮影（PET）法を用いた rVWF の *in vivo* での組織分布（^{124}I-rVWF-microPET 試験）（BAX3/2 / PET5 試験）....11
4.2 rVWF：*Ex vivo* ヒト胎盤通過試験（Plac-Lab-12-12 試験）....12
5. 代謝（動物種間の比較）....14
6. 排泄....14
7. 薬物動態学的相互作用....14
8. その他の薬物動態試験....14
9. 考察及び結論....14
10. 図表....15
参考文献....16

表

表 2.6.4-1 雌雄 VWd マウスにおける VWF の副次的 PK パラメータ....6
表 2.6.4-2 ラットにおける VWF の PK パラメータ....7
表 2.6.4-3 ラットにおける FVIII の PK パラメータ....7
表 2.6.4-4 VWd イヌにおける VWF の PK パラメータ....8
表 2.6.4-5 サルにおける VWF:Ag の PK パラメータ....10

表 2.6.4-6 サルにおける FVIII の PK パラメータ 10
表 2.6.4-7 rVWF の *ex vivo* ヒト胎盤通過性に関する灌流スケジュール 12

図

図 2.6.4-1 VWF 欠損イヌに rVWF 又は Haemate P を持続注入したときの FVIII 濃度推移 9

略語一覧

略語	省略していない表現（英語）	省略していない表現（日本語）
ADVATE	licensed human recombinant FVIII product	アドベイト（既承認薬である遺伝子組換えヒト血液凝固第 VIII 因子製剤）
Ag	antigen	抗原
AUC	area under the curve	濃度–時間曲線下面積
BCS analyser	Behring Coagulation System analyser	全自動血液凝固線溶測定装置
ß HCG	ß human chorionic gonadotropin	ヒト絨毛性ゴナドトロピン
C_{max}	maximum concentration	最高濃度
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay	酵素免疫測定法
FIXa	activated factor IX	活性化血液凝固第 IX 因子
FVIII	factor VIII	血液凝固第 VIII 因子
FX	factor X	血液凝固第 X 因子
FXa	activated factor X	活性化血液凝固第 X 因子
IU	international unit	国際単位
iv	intravenous(ly)	静脈内
IVR	*in vivo* recovery	生体内回収率
MRT	mean residence time	平均滞留時間
pd	plasma-derived	血漿由来
PET	positron Emission Tomography	陽電子放射断層撮影
PK	pharmacokinetic(s)	薬物動態
pNA	para-nitroaniline	パラニトロアニリン
rFVIII	recombinant factor VIII	遺伝子組換え血液凝固第 VIII 因子
rVWF	recombinant human von Willebrand factor	遺伝子組換えヒト von Willebrand 因子（製剤）
$t_{1/2}$	half-life	消失半減期
TAC	time activity curve	時間–放射能曲線
TMB	3,3',5,5'-tetramethylbenzidine	3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン
U	unit	単位
V_{ss}	volume of distribution at steady state	定常状態における分布容積
VWd	von Willebrand factor deficient	von Willebrand 因子欠損
VWF	von Willebrand factor	von Willebrand 因子
VWF:RCo	von Willebrand factor ristocetin cofactor (activity)	von Willebrand 因子リストセチンコファクター（活性）
WHO	World Health Organization	世界保健機関
%ID/g	percent of injected dose per gram tissue	組織 1 g における投与量の百分率

1. まとめ

ラット又はカニクイザルに遺伝子組換えヒト von Willebrand 因子（rVWF）を単独で又は既承認薬である遺伝子組換えヒト血液凝固第 VIII 因子（rFVIII）製剤アドベイトと併用し、単回投与後の薬物動態（PK）を検討した。ラット又はカニクイザルは毒性試験にも用いた。すべての非臨床試験において、被験物質は凍結乾燥品で供給され、1.3（rVWF）：1（rFVIII）の比（Haemate P での比）で調製し、静脈内（iv）投与した。PK 試験で用いた製剤は、毒性試験及び薬理試験で用いた製剤と同等である。なお、Haemate P はヒト血漿由来 von Willebrand 因子（pdVWF）及び FVIII（pdFVIII）を含む製剤である。

ヒトの病態を反映する von Willebrand 因子（VWF）欠損（VWd）マウス及び VWd イヌを用いて、動物における rVWF の PK を検討した。rVWF を単独又はアドベイトと併用投与したときの VWF の血漿中濃度–時間曲線下面積（AUC）は、Haemate P 投与時における VWF の AUC に対して非劣性であるとの仮説を立てた。VWF 抗原（VWF:Ag）濃度と血液凝固第 VIII 因子（FVIII）濃度は別々に測定した。試験の主な注目点は、VWF:Ag 濃度であった。FVIII 濃度については、記述統計を用いて解析した。

陽電子放射断層撮影（PET）を用いて、VWd マウスにおける rVWF の *in vivo* での組織内分布を検討した。rVWF のヒト胎盤通過性を *ex vivo* で検討した。

2. 分析法

VWF 及び FVIII の濃度又は活性を以下の方法で測定した。

2.1 マウス、ラット、ウサギ及びサルにおける ELISA を用いた VWF:Ag の測定

VWF:Ag 濃度は、市販のポリクローナル抗ヒト VWF ウサギ抗体を用いた酵素免疫測定法（ELISA）で測定した。測定法バリデーション報告書は、RD_PPD_070703 試験、RD_PPD_030701 試験、RD_PPD_010702 試験、RD_PPD_010701 試験及び FHSOP-31-0032-TI001-01 試験である。サンドイッチ ELISA を用いた。以下に方法の概略を記載する。96 穴マイクロタイタープレートにポリクローナル抗 VWF 抗体をコートした。本固定化抗体は VWF を捕捉し、続いてペルオキシダーゼ標識抗 VWF ウサギ抗体により検出された。結合ペルオキシダーゼ活性を発色基質を用いて測定した。発色量は、試料中の VWF 濃度に直接関連している。既知濃度の VWF を含む血漿を用いて検量線を作成し、濃度を算出した。測定結果は U/mL で示した。

2.2 von Willebrand 因子リストセチンコファクター（VWF:RCo）活性の測定

VWF:RCo 活性は、全自動血液凝固線溶測定装置（BCS analyser）（[redacted],ドイツ）を用いて製造業者の使用説明書に従い測定した。固定血小板及びリストセチン A（[redacted]）を含む凍結乾燥 VWF 試薬を用いた。

試料中の VWF はリストセチン存在下、固定血小板の凝集を惹起する。凝集により、反応懸濁液の濁度が低下する。BCS analyser により測定された 570 nm における吸光度の変化は、試料中のリスト

セチンコファクター活性に比例する。試料中のリストセチンコファクター活性を、標準ヒト血漿（[redacted]）を用いて作成した検量線から定量化し、測定結果は IU VWF:RCo/mL で示した。

2.3 マウス、ラット及びウサギにおける FVIII 活性発色測定法

FVIII 活性は発色法を用いて測定した。測定法バリデーション報告書は、RD_VB_020701 試験及び RD_VB_090703 試験である。FVIII を含む試料は、カルシウム含有緩衝液中でトロンビン、活性化血液凝固第 IX 因子（FIXa）、リン脂質及び血液凝固第 X 因子（FX）と混合した。FVIII はトロンビンにより活性化され、リン脂質、FIXa 及びカルシウムイオンと複合体を形成する。この複合体は FX を活性化して活性化血液凝固第 X 因子（FXa）を生成し、次に FXa は発色基質である FXa-1 を切断する。遊離パラニトロアニリン（pNA）の経時的生成をマイクロプレートリーダーを用いて 405 nm で測定した。この経時的生成の傾きは試料中の FVIII 濃度に比例する。試料中の FVIII 濃度は、直近の世界保健機関（WHO）標準血漿（NIBSC code #02/150）により較正した社内標準血漿と比較して算出した。測定結果は IU/mL で示した。

2.4 ラット及びウサギにおける FVIII 抗原の ELISA

FVIII 抗原は市販の測定キット（[redacted], France）を用いて測定した。測定法バリデーション報告書は、RD_VB_010701 試験及び RD_VB_030701 試験である。測定される FVIII は、マイクロプレートのウェル内壁にコートしたモノクローナル抗ヒト FVIII マウス抗体により捕捉される。次に、西洋ワサビペルオキシダーゼを結合したモノクローナル抗ヒト FVIII マウス抗体が、ウェルに結合した FVIII の残りの抗原決定基に結合する。結合したペルオキシダーゼを 3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン（TMB）基質で定量する。硫酸で反応停止後、発色強度は血漿試料中の FVIII 濃度に直接比例する。FVIII 既知濃度の血漿を用いて検量線を作成し、試料中の FVIII 濃度を算出した。測定結果は IU/mL で示した。

3. 吸収

3.1 単回投与

3.1.1 VWF 欠損マウスにおけるヒト rVWF と Haemate P の薬物動態の比較検討：rVWF の非臨床用 1 ロット単独及びアドベイトとの併用投与の評価（PV1960607 試験）

本試験の目的は、VWd マウスに rVWF 1 ロット（120 IU VWF:RCo/kg）を単独又はアドベイト（92 IU FVIII/kg）と併用投与し、PK を検討することであった。pdVWF 及び pdFVIII を含む Haemate P（120 IU VWF:RCo/kg + 112 IU FVIII/kg）を活性対照物質とした。本試験は、逐次屠殺デザインを用いた無作為化、盲検化試験であった。雌雄マウスに被験物質又は対照物質を静脈内投与後 8 時点（5、15 及び 30 分、並びに 1、3、6、12 及び 20 時間）に各 10 匹（雌雄各 5 匹）/時点から採血した。血漿試料中の VWF:Ag 及び FVIII 活性を測定した。rVWF を単独又はアドベイトと併用投与したときの VWF の AUC は、Haemate P 投与時における VWF の AUC に対して非劣性であるとの仮説を立てた。

投与後 0～20 時間までの VWF:Ag の用量補正 AUC は、Haemate P では 0.0116 (U/mL·h)/(IU/kg)、rVWF

単独では 0.0237 (U/mL·h)/(IU/kg)、アドベイトとの併用では 0.0273 (U/mL·h)/(IU/kg)であった。終末相消失速度の算定可能な時点が雌雄で異なっていたため、VWF の副次的 PK パラメータは雌雄別に算出した（表 2.6.4-1）。

表 2.6.4-1 雌雄 VWd マウスにおける VWF の副次的 PK パラメータ

Pharmacokinetic Parameter	Test Article					
	rVWF		rVWF + ADVATE		Haemate P	
	Female	Male	Female	Male	Female	Male
$t_{1/2}$ (hr)	2.00	3.08	1.61	3.67	0.90	1.50
MRT (hr)	2.98	3.83	2.44	4.47	1.25	1.79
Clearance (mL/h/kg)	48	33	45	27	97	73
Volume of Distribution (mL/kg)	142	127	110	122	121	131

Haemate P での AUC は、rVWF 単独又はアドベイトとの併用投与における AUC の 1/2 未満であった。この差異は、有意水準 5%で統計学的に有意であった（雌雄併合し、多重性を補正した比の 95%信頼区間：Haemate P vs rVWF では 1.69～2.44、Haemate P vs rVWF + アドベイトでは 1.97～2.77）。rVWF 単独とアドベイトとの併用投与間の AUC に有意差はみられなかった。Haemate P での終末相消失半減期（$t_{1/2}$）は、rVWF 単独又は rVWF とアドベイトの併用投与での $t_{1/2}$ と比較して有意差があった（雄/雌における差の 95%信頼区間：Haemate P vs rVWF では-0.414～-0.021/-0.629～-0.212、Haemate P vs rVWF + アドベイトでは-0.426～-0.068/-0.522～-0.144）。rVWF 単独と rVWF とアドベイトの併用投与間の終末相 $t_{1/2}$ に有意差はみられなかった。rVWF を単独又はアドベイトと併用投与したときの VWF の AUC は、Haemate P 投与時における VWF の AUC に対して非劣性であるとの仮説は統計学的に確認された。

本試験の主な注目点は VWF:Ag 濃度の検討であったが、FVIII 活性については記述統計を用いて検討した。VWd マウスに rVWF を投与すると、内因性 FVIII 濃度が顕著に増加した。この増加は投与後 5 分（最初の評価時点）からみられ、3～12 時間には一定値を示した。この増加は、投与後 20 時間の試験終了まで観察された。

3.1.2 ラットにおけるヒト rVWF と Haemate P の薬物動態の比較検討：rVWF の非臨床用 1 ロット単独及びヒト rFVIII との併用投与の評価（PV1910605 試験）

本試験の目的は、ラットに rVWF 1 ロット（120 IU VWF:RCo/kg）を単独又はアドベイト（92 IU FVIII/kg）と併用投与し、PK を検討することであった。Haemate P（pdVWF + pdFVIII：120 IU VWF:RCo/kg + 112 IU FVIII/kg）を活性対照物質とした。本試験は、単一動物デザインによる無作為化、盲検化試験であった。雄ラットに被験物質又は対照物質を静脈内投与し、投与前及び投与後 6 時点（5 分、並びに 3、6、9、12 及び 20 時間）に 12 匹/群から採血した。血漿試料中の VWF:Ag 及び FVIII 抗原を測定した。rVWF を単独又はアドベイトと併用投与したときの VWF の AUC は、Haemate P 投与時における VWF の AUC に対して非劣性であるとの仮説を立てた。

VWF 及び FVIII の PK パラメータをそれぞれ表 2.6.4-2 及び表 2.6.4-3 に示す。

表 2.6.4-2 ラットにおける VWF の PK パラメータ

PK parameter	Test Article		
	rVWF	rVWF + ADVATE	Haemate P
AUC [(U/mL·min)/(IU/kg)]	2.54	2.41	1.40
Initial half-life (hr)	1.35	1.25	0.92
Terminal half-life (hr)	2.01	3.14	3.64
MRT (hr)	1.62	1.78	1.20
Clearance (mL/h/kg)	22.9	24.1	41.4
Volume of Distribution (mL/kg)	37.1	42.8	49.6

表 2.6.4-3 ラットにおける FVIII の PK パラメータ

PK parameter	Test Article		
	rVWF	rVWF + ADVATE	Haemate P
AUC [(IU/mL·min)/(IU/kg)]	-	3.22	2.12
Initial half-life (hr)	-	1.49	1.98
Terminal half-life (hr)	-	17.7	4.48
MRT (hr)	-	2.96	3.34
Clearance (mL/h/kg)	-	17.7	26.9
Volume of Distribution (mL/kg)	-	52.5	90.0

-: not determined

rVWF を単独で又はアドベイトとの併用により投与したときの VWF の AUC は、Haemate P を投与したときの AUC のそれぞれ 1.82 又は 1.72 倍大きく、この差異は有意水準 5%で統計学的に有意であった（多重性を補正した比の 95%信頼区間：Haemate P vs rVWF では 1.55～2.12、Haemate P vs rVWF + アドベイトでは 1.47～2.01）。rVWF 単独投与とアドベイトとの併用投与間では、VWF の AUC に有意差はみられなかった。

以下の仮説が統計学的に確認された。

- rVWF 単独投与時の VWF の AUC は、Haemate P における VWF の AUC に対して非劣性である。
- rVWF とアドベイトとの併用投与時の VWF の AUC は、Haemate P における VWF の AUC に対して非劣性である。

FVIII の PK パラメータを記述統計により比較した。rVWF とアドベイトとを併用投与したとき、FVIII の用量補正 AUC 幾何平均値は、Haemate P の AUC より 1.52 倍大きく、有意水準 5%で有意差がみられた（95%信頼区間：1.32～1.75）。

3.1.3 VWF 欠損イヌにおけるヒト rVWF と pdVWF との比較試験（RD_VB_110703 試験）

VWd イヌを用いて rVWF と Haemate P とを比較検討した。VWd イヌは VWF を欠いているため、血漿中 VWF 濃度は定量下限未満であり、FVIII 濃度はイヌ正常値よりも低い。VWd イヌ 2 匹に rVWF 又は Haemate P をそれぞれ 100 IU RCo:VWF/kg の用量で持続注入した。本試験の薬理学的な結果は 2.6.2.2.2.4 項に示す。

表 2.6.4-4 に示すように、VWF:Ag 及び VWF:RCo 活性に関して、rVWF を持続注入したときの終末相 $t_{1/2}$、用量補正 AUC 及び平均滞留時間（MRT）は、Haemate P を持続注入したときよりも大きく、公表データと良く一致していた[4,5]。

得られた結果に基づき、消失曲線の初期相及び終末相に関して、VWd イヌにおける rVWF の $t_{1/2}$ は Haemate P の VWF の $t_{1/2}$ よりも長いことが示された。

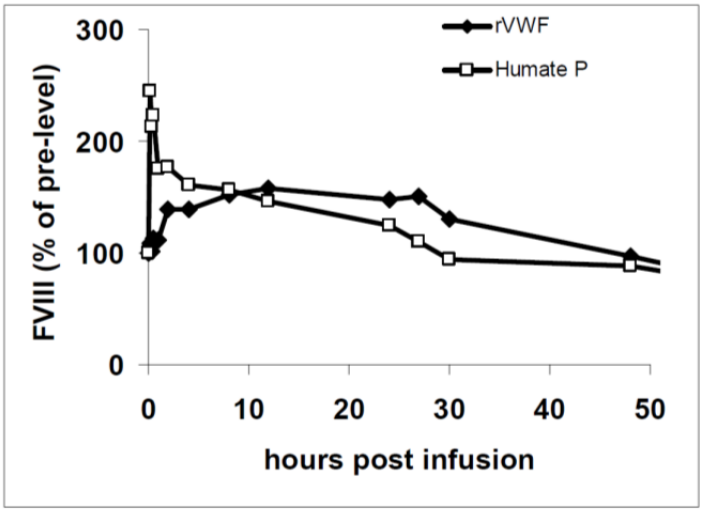
表 2.6.4-4 VWd イヌにおける VWF の PK パラメータ

PK parameter	Antigen		Activity	
	Test Article			
	rVWF	Haemate P	rVWF	Haemate P
Dose-adjusted $AUC_{0\text{-inf}}$				
[(U/mL·h)/(IU/kg)]	0.279	0.102	-	-
[(IU/mL·h)/(IU/kg)]	-	-	0.070	0.027
Initial half-life (hr)	10.2	2.9	1.6	1.3
Terminal half-life (hr)	13.0	8.7	4.1	1.3
MRT (hr)	15.8	9.6	5.7	2.1
Clearance (mL/h/kg)	3.6	9.8	14.3	37.1
In vivo recovery (%)	113	83	87	74

-: not applicable

VWd イヌに rVWF を持続注入したとき、注入後 12 時間に 1.6 倍に達する内因性 FVIII の持続的増加がみられ、その後、緩徐に減少し、注入後 48 時間にはベースライン値に達した。Haemate P の持続注入では、Haemate P 中の FVIII のため FVIII 濃度は速やかに増加し、続いて排泄された。内因性 FVIII 濃度も同時に増加する可能性が高い。以上のように、Haemate P の持続注入後、初期 FVIII 濃度は速やかに増加し、その後、rVWF の持続注入後と同様に推移した（図 2.6.4-1）。

図 2.6.4-1 VWF 欠損イヌに rVWF 又は Haemate P を持続注入したときの FVIII 濃度推移



Plasma FVIII levels following infusion were calculated relative to the pre-treatment FVIII levels (pre-treatment level = 100%)

3.1.4 ヒト rVWF：カニクイザルへの静脈内（ボーラス）投与による PK 試験（BAX0010 試験）及びカニクイザルにおけるヒト rVWF 単独又はヒト rFVIII と併用単回静脈内投与後の PK 評価のための血漿試料分析（DI07K001 試験）

カニクイザルに rVWF を単独で又はアドベイトとの併用により単回静脈内投与したときの VWF の PK 特性を検討した。

雄カニクイザル 2 匹に rVWF を 100 IU VWF:RCo/kg の用量で 1 日目に静脈内投与し、その後 3 日間の休薬期間を設けた。その後 5 日目に、両サルに rVWF 及びアドベイトをそれぞれ 100 IU VWF:RCo/kg 及び 77 IU FVIII/kg の用量で併用投与した。試験期間中、一般状態、体重及び PK を評価した。

投与に関連した投与部位の変化及び体重に影響はみられなかった。

カニクイザルの血漿中 VWF 濃度及び FVIII 濃度の測定に用いた分析方法は、サルの内因性 VWF とヒト rVWF、又はサルの内因性 FVIII とヒト rFVIII とを区別しない。それゆえ、ELISA による VWF:Ag 及び FVIII 活性の結果は、rVWF 又は rFVIII に特異的な測定値ではなく、それぞれサルの内因性 VWF と rVWF 又はサルの内因性 FVIII と rFVIII との合計値で示される。そのため、投与後の測定値から、投与前の値を差し引いた濃度を用いて PK パラメータを算出した。

VWF:Ag の PK パラメータを表 2.6.4-5 に、FVIII の PK パラメータを表 2.6.4-6 に示す。

表 2.6.4-5 サルにおける VWF:Ag の PK パラメータ

PK parameter	rVWF		rVWF + ADVATE	
	Monkey 1	Monkey 2	Monkey 1	Monkey 2
C_{max} (U/mL)	2.38	2.94	2.41	1.91
Time of C_{max} (min)	5	30	5	30
IVR (%)	85.8	105.9	86.8	68.8
Incremental recovery [(U/mL)/(IU/kg)]	0.0214	0.0265	0.0217	0.0172
$AUC_{0\text{-}12h}$ (U/mL·h)	10.32	16.61	6.52	12.04
$AUC0_{-\infty}$ (U/mL·h)	10.73	16.88	6.52	13.64
MRT (hr)	3.12	3.84	1.74	5.53
Clearance (mL/h/kg)	10.34	6.58	17.03	8.14
V_{ss} (mL/kg)	32.29	25.24	29.71	44.98
Half-life (hr)	2.48	4.52	1.68	4.96

C_{max}: maximum concentration
IVR: *in vivo* recovery
AUC: area under the curve
MRT: mean residence time
V_{ss}: volume of distribution at steady state

表 2.6.4-6 サルにおける FVIII の PK パラメータ

PK parameter	rVWF		rVWF + ADVATE	
	Monkey 1	Monkey 2	Monkey 1	Monkey 2
C_{max} (IU/mL)	0.23	0.69	2.05	2.74
Time of C_{max} (min)	5	5	5	5
IVR (%)	2283	6850	134.5	179.7
Incremental recovery [(IU/mL)/(IU/kg)]	0.5709	1.7126	0.0336	0.0449
$AUC_{0\text{-}3h}$ (IU/mL·h)	0.09	0.64	2.27	3.88
$AUC_{0\text{-}\infty}$ (IU/mL·h)	0.11	0.72	2.34	5.45
MRT (hr)	0.51	0.83	0.85	2.32
Clearance (mL/h/kg)	3.78	0.56	26.10	11.20
V_{ss} (mL/kg)	1.92	0.47	22.21	25.95
Initial half-life (hr)	-	-	0.60	0.47
Terminal half-life (hr)	-	-	0.60	1.80

C_{max}: maximum concentration
IVR: *in vivo* recovery
AUC: area under the curve
MRT: mean residence time
V_{ss}: volume of distribution at steady state
-: Not calculated

VWF の PK 特性は、rVWF とアドベイトとの併用により影響を受けなかった。本試験の結果、2 匹のカニクイザルに rVWF を 100 IU VWF:RCo/kg の用量で単回投与したとき、VWF 濃度は投与後 12 時間まで測定可能であった。定常状態における分布容積（V_{ss}）はカニクイザルの血漿量約 40 mL/kg[1]

と類似していたことから、体循環から末梢組織への VWF:Ag の分布は限定的と考えられた。rVWF のように分子量が大きな物質では血管外組織への分布は限定的であると予想された。

3.2 反復投与

2.6.6.3 項に示す。

4. 分布

4.1 VWd マウスにおける陽電子放射断層撮影（PET）法を用いた rVWF の *in vivo* での組織分布（^{124}I-rVWF-microPET 試験）（BAX3/2 / PET5 試験）

本試験の目的は、VWd マウス（N = 12）に ^{124}I-rVWF（1.6 mg/kg）を投与し、組織内分布及び PK を検討することであった。

rVWF のチロシン残基に放射性ヨード（^{124}I）を標識した。標識は、酸化試薬を使用しない緩徐なヨードゲンコーティング法を用いた求電子性放射性ヨード化法により行った。放射性標識 rVWF は [redacted] クロマトグラフィーにより精製し、滅菌メンブランフィルターでろ過して注射用溶液を得た。放射化学的純度及び安定性はセルロースアセテート電気泳動により分析した。

3 群を用いて ^{124}I-rVWF の組織内分布を microPET により測定した。第 1 群（雌雄各 2 匹）では、静脈内投与後 0～1.5 時間に放射能の取り込みを測定した。第 2 群（雄 1、雌 2）では、静脈内投与後 0～1.5 及び 5～6 時間に測定した。第 3 群（雄 3、雌 2）では、静脈内投与後 0～1.5、5～6 及び 23～24 時間に測定した。再構成 PET 画像［フィルター逆投影（FBP）アルゴリズム］上に関心領域を手動で描出した。放射能の取り込みは、組織 1 g における投与量の百分率（%ID/g）として定量化した。少量の血液（2 µL）を異なる時点で尾静脈から採取した。試験終了時、選択した組織を切り出し、組織の放射能をガンマカウンターにより *ex vivo* で測定した。

1.5 時間のダイナミックスキャンにより、心臓及び脾臓に明らかな放射能の取り込みがみられた。心臓の時間–放射能曲線（TAC）は投与後常に減少し、心筋自体への集積は生じていないことが示された。心臓の TAC は明らかに血液コンパートメントからの放射能の消失を反映していた。脾臓では、一定の放射能増加がみられ、投与 75 分後に最大値に達した。

投与 5～6 時間後のスキャンにおいて、心臓、脾臓、甲状腺及び胃に放射能が認められた。甲状腺、唾液腺及び胃における放射能は遊離したヨウ素に関連している可能性が考えられた。1.5 時間のダイナミック画像によりこれらの器官が描出されなかったことから、投与初期では放射能標識 rVWF の脱イオン化が *in vivo* で生じないか、又はごくわずかであったことが示唆された。放射能標識 rVWF の脱イオン化は、明らかに投与後 1.5～5 時間の間に始まったと考えられた。

血中放射能は、以下の 3 方法を用いて測定した。

- 異なる時点における尾静脈からの採血
- 最終時点における採血（心臓穿刺）
- PET イメージから得られる心臓の TAC

血液からの放射能の $t_{1/2}$ は 3.05～5.19 時間と推定された。本試験から、micro PET 法を用いて ^{124}I-rVWF の組織分布及び PK が測定可能であることが示された。脾臓での放射能の増加は、ヒト rVWF に対する免疫反応（例えば貪食反応）に関連する可能性が考えられる。他組織において rVWF の明らかな取り込みはみられなかった。

4.2 rVWF：*Ex vivo* ヒト胎盤通過試験（Plac-Lab-12-12 試験）

本試験の目的は、rVWF の *ex vivo* ヒト胎盤通過性を評価することであった。

母体側及び胎児側の両回路に対してひとつの胎盤から分離したひとつの胎盤葉をもつ閉鎖系灌流システムを用い、灌流試験を実施した[3]。

胎盤の娩出から灌流開始までの時間の目標は 20 分以内としたが、胎盤関門が機能している場合には最大 30 分までとし、対応するプロトコールにその旨を記載した。母体回路には 95% O_2/5% CO_2 を、胎児回路には 95% N_2/5% CO_2 をガス交換酸素供給器により灌流液に通気した。流速は母体回路では 12 mL/分、胎児回路では 3 mL/分とした。灌流を有効にするため、胎児回路の流速は最大 10%（3.0 ± 0.3 mL/分）まで許容した。

絨毛血管部位及び絨毛間腔からすべての血液を除去するため最初の約 30 分を洗浄期間とし、開放灌流を行った。この処置により、虚血期間後の胎盤組織における代謝を再活性化させた。

洗浄後、rVWF 又は対応する対照緩衝液を 2 時間灌流した。

未希釈の rVWF を 0.9、4.5 又は 9.0 mL の容量で灌流液（母体回路）に添加した。これは rVWF を静脈内投与したときの *in vivo* 状態を模しており、rVWF が母体及び胎児回路に等しく分布すると仮定すると、灌流液中濃度は約 1、5 又は 10 IU VWF:RCo/mL となる。胎盤通過性は、母体回路中の濃度に対する胎児回路中の濃度として相対的に評価したため、rVWF の正確な添加量は、補助的な意味しか持たない。1 IU VWF:RCo/mL は正常血漿中の濃度であり、臨床治療において 50 IU VWF:RCo/kg 投与後の血漿中濃度に近似する。この血漿中濃度と比較して、5 及び 10 IU VWF:RCo/mL は、それぞれ安全係数 5 及び 10 の濃度である。

群分け及び灌流スケジュールを表 2.6.4-7 に示す。

表 2.6.4-7 rVWF の *ex vivo* ヒト胎盤通過性に関する灌流スケジュール

Group	Addition of rVWF to the perfusion medium (maternal circuit) (mL VWF[a])		Number of placenta (treated cotyledons/control cotyledons)
	Treated cotyledon (mL VWF)	Control cotyledon (mL Buffer for rVWF)	
A	0.9	0.9	7 (5/2)
B	4.5	4.5	7 (5/2)
C	9.0	9.0	7 (5/2)

a. rVWF has a concentration of 170 IU VWF:RCo/mL approx. theoretical concentration in the medium (150 mL) is 1, 5, or 10 IU VWF:RCo/mL, if VWF is distributed equally in the maternal and foetal circuit.

膜透過性を確認するため、インタクトな胎盤を完全に時間依存的に通過するアンチピリン（80 µg/mL）を母体回路に添加した。また、インタクトな胎盤をアンチピリンよりも緩徐に通過するクレアチニン（150 µg/mL）も母体回路に試験ごとに添加した。

添加前（0 分）、並びに添加後 5、15、30、45、60、90 及び 120 分に両回路（母体側及び胎児側）から液体試料を採取し、遠心分離（380 × g、10 分）して測定用試料とした。すべての液体試料は、rVWF 測定（添加前、並びに添加後 5、30、60 及び 120 分の試料）まで、又は灌流試験の適切性を示すための灌流パラメータ測定（添加前、並びに添加後 5、15、30、45、60、90 及び 120 分の試料）まで、-75～-85℃ で保管した。

ELISA を用いて母体及び胎児試料の VWF:Ag を測定した。

胎児回路の流速及び圧力、母体回路のヒト絨毛性ゴナドトロピン ß（ß HCG）、並びに母体及び胎児回路のグルコース、乳酸及び酸素を、試験の質及び機能の指標として評価した。灌流試験の間、両回路の灌流液量及び pH を測定した。特に胎児回路の流速又は圧力に異常がみられたときは、灌流を無効と考え新たな胎盤葉を用いて再試験した。

灌流試験の妥当性

計 67 個の胎盤を入手したが、32 個は灌流装置への取り付けに支障がある組織であった。35 個の胎盤を灌流装置に設置したが、14 個は少なくとも片方の回路からの漏出があったため、灌流を中断した。灌流試験の結果に影響を与えない軽微な異常が数個に認められたものの、21 個の灌流を有効と評価した。品質指標スペクトラムの複合評価システムにより灌流試験の成立を判定し、1 つのパラメータが不適の場合でも試験が成立していると評価した。

すべての妊婦に合併症はみられなかったが、数名の患者が妊娠糖尿病又は肝炎等の疾患に罹患していたことが患者カルテの事後調査により示された。しかし、これらの患者の各胎盤の品質パラメータに他との相異は認められなかったため、灌流試験は有効と判断された。更に、試験結果から、これらの疾患は母子間での VWF の移行リスクを増加しなかったことが示された。

VWF 解析結果

母体回路

予想どおり、対照胎盤葉からのすべての試料は非常に低い VWF:Ag 濃度（0.034 U/mL 未満）を示した。いくつかの対照胎盤葉でみられた低濃度 VWF は、洗浄期間中に完全に除去されなかった内因性 VWF である可能性が考えられる。

rVWF 低容量群では、算定濃度（0.86 U/mL）の約 53%が測定された（平均 0.46 U/mL）。灌流終了時（120 分）には、灌流初期の rVWF の 45%（範囲 36～59%）が回路から除去された。

中容量群では、測定された VWF:Ag 濃度は回路に添加した濃度よりも 14%低かった。平均濃度は 3.69 U/mL であり、算定濃度（4.29 U/mL）の 86%が測定された。灌流終了時（120 分）には、灌流初期の rVWF の 15%（範囲 1～25%）が回路から除去された。

高容量群では、測定された VWF:Ag 濃度は回路に添加した濃度よりも 26%低かった。平均濃度は 6.31 U/mL であり、算定濃度（8.58 U/mL）の 74%が測定された。灌流終了時（120 分）には、灌流初期の rVWF の 15%（範囲 1～36%）が回路から除去された。

胎児回路

胎児回路からの全試料には、いずれの時点においても VWF:Ag は検出されなかった。

結論として、以上の試験結果から、rVWF はヒト胎盤を通過しないことが示されている。

5. 代謝（動物種間の比較）

「ICH S6（R1）バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」に従い、rVWF の代謝及び排泄試験は実施しなかった。外因性タンパク質を投与すると、最終的に各構成アミノ酸に代謝され、通常のタンパク質プールに取り込まれると推察される。したがって、タンパク質の代謝経路は一般的に知られているため、従来の生体内変化を調べる試験は必要ないと判断した。

6. 排泄

rVWF の排泄試験は実施しなかった。（5 項参照）

7. 薬物動態学的相互作用

薬物動態学的相互作用に特化した試験は実施しなかった。rVWF は単独で又は rFVIII との併用により投与される。これらの 2 成分の相互作用については、上記の PK 試験において評価した。

8. その他の薬物動態試験

rVWF のその他の PK 試験は実施しなかった。

9. 考察及び結論

VWd マウス、正常ラット、VWd イヌ及び正常カニクイザルを用いて、rVWF を単独又はアドベイトと併用投与したときの rVWF の PK を検討した。VWd マウス及び正常ラットにおいて、rVWF を単独又はアドベイトと併用投与したときの VWF の AUC は、Haemate P 投与時における VWF の AUC に対して非劣性であるという仮説を検討し、統計学的に確認された。

VWF は FVIII を運搬し安定化させるタンパク質としても機能し、正常な内因系血液凝固に必須の因子である。VWF はタンパク質分解による不活化から FVIII を保護し、FVIII のヘテロ二量体構造を安定化させ、循環血中からの FVIII の早期排泄を制御する。

VWF 欠乏患者は、VWF シャペロンを欠いているため、健康人よりも FVIII 濃度が低い。VWF 投与により血漿中の内因性 FVIII 濃度が上昇するが、これは FVIII に対する VWF の安定化効果の結果と考えられる。重度 von Willebrand 病患者に rVWF 及び rFVIII を併用投与し、安全性、忍容性及び PK を評価した第 I 相試験（070701 試験）において rVWF による FVIII の安定化の延長が認められた。更に、重度血友病 A 患者において事前持続投与した VWF 濃度と FVIII の $t_{1/2}$ との相関が認められて

いる。FVIII の $t_{1/2}$ の平均値 12.5 時間に対して、VWF 濃度の平均値が 200～300%である患者では FVIII の $t_{1/2}$ は 15～29 時間を示す[2]。

上記の非臨床試験において、カニクイザルでは rVWF と併用したとき、rFVIII の PK 特性に対する rVWF の影響は明確ではなかったが、VWd マウス及び VWd イヌでは、内因性 FVIII に対する rVWF の安定化特性が示された。

VWd イヌにおける VWF の PK から、VWF:Ag 及び VWF:RCo 活性に関して、生体内回収率は rVWF と Haemate P とで同様であった。VWF:Ag 及び VWF:RCo 活性共に、用量補正 AUC は rVWF 持続注入後の方が Haemate P 持続注入後よりも大きかった。更に、rVWF の初期相及び終末相 $t_{1/2}$ は、pdVWF（Haemate P）の $t_{1/2}$ よりも長かった。その結果、平均滞留時間も rVWF の方が長かった。

カニクイザルに rVWF とアドベイトとを併用投与しても、VWF:Ag の PK 特性は影響を受けなかった。rVWF を 100 IU VWF:RCo/kg の用量で単回投与したとき VWF 濃度は投与後 12 時間まで検出された。V_{ss} で示されるように、体循環から末梢組織への VWF:Ag の分布は限定的と考えられた。rVWF のように分子量が大きな物質では血管外組織への分布は限定的であると予想された。

組織分布試験により、VWd マウスにおいて ^{124}I-rVWF の組織内分布及び PK が microPET 法を用いて測定可能であることが示された。脾臓での放射能の増加は、ヒト rVWF に対する免疫反応（例えば貪食反応）に関連する可能性が考えられる。他組織において rVWF の明らかな取り込みはみられなかった。

Ex vivo ヒト胎盤通過性試験の結果、rVWF は胎盤を通過しないことが示された。

10. 図表

図表は適切な項に示す。

参考文献

1. Derelanko MJ, Hollinger MA (eds). Handbook of Toxicology, 2nd ed. CRC Press; 2001.Table 33.14:1276.
2. Fijnvandraat K, Peters M, Ten Cate JW. Inter-individual variation in half-life of infused recombinant factor VIII is related to pre-infusion von Willebrand factor antigen levels. Br J Haematol 1995; 91:474-6.
3. Schneider H, Panigel M, Dancis J. Transfer across the perfused human placenta of antipyrine, sodium and leucine. Am J Obstet Gynecol 1972; 114:822-8.
4. Schwarz HP, Dorner F, Mitterer A, Mundt W, Schlokat U, Pichler L, et al. Evaluation of recombinant von Willebrand factor in a canine model of von Willebrand disease. Haemophilia 1998; 4 Suppl 3:53-62.
5. Turecek PL, Gritsch H, Pichler L, Auer W, Fischer B, Mitterer A, et al. In vivo characterization of recombinant von Willebrand factor in dogs with von Willebrand disease. Blood 1997; 90:3555-67.

目次

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表 2
2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験 3
2.6.5.3 薬物動態試験：吸収：単回投与 5
2.6.5.4 薬物動態試験：吸収：反復投与 9
2.6.5.5 薬物動態試験：分布 10
2.6.5.6 薬物動態試験：たん白結合 11
2.6.5.7 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験 11
2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験 12
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 13
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 15
2.6.5.16 薬物動態試験：その他 15

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表

表 2.6.5-1. Pharmacokinetics: Overview

Test Articles: rVWF, rVWF+ADVATE

Type of Study/Description	GLP[a]	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location of Final Report
Absorption						
Single Dose PK	Yes	Mouse / VWd	intravenous	Baxter 20[b]	PV1960607	4.2.2.2-1
Single Dose PK	Yes	Rat	intravenous	Baxter 20[b]	PV1910605	4.2.2.2-2
Single Dose PK	No	Dog / VWd	intravenous	Baxter 72, Baxter BG, [redacted][c]	RD_VB_110703	4.2.1.1-5
Single Dose PK	Yes	Cynomolgus monkey	intravenous	[redacted][d]/ Baxter BG[e]	BAX0010+ DI07K001	4.2.2.2-3
Distribution						
Organ distribution - Positron Emission Tomography	No	Mouse / VWd	intravenous	[redacted]	BAX3/2 / PET5	4.2.2.3-1
Placental Transfer	No	Human placentae	*ex vivo* single injection - maternal circuit	[redacted][g]	Plac-Lab-12-12	4.2.2.3-2
Metabolism						
Not applicable						
Excretion						
Not applicable						

[a] An entry of "Yes" indicates that the study includes a GLP compliance statement except study DI07K001 (non-GLP).
[b] Baxter AG, Industriestrasse 20, 1220 Vienna, Austria
[c] Baxter AG, Industriestrasse 72, 1220 Vienna, Austria, Baxter AG, Benatzkygasse 2-6, 1220 Vienna, Austria, [redacted]
[d] [redacted], England
[e] Baxter, Benatzkygasse 2-6 1220 Vienna, Austria
[f] [redacted] Austria
[g] [redacted], Germany
PK = pharmacokinetics
VWd = von Willebrand deficient

2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験

表 2.6.5-2. Analytical Methods and Validation Reports

Test Articles: rVWF, rVWF+ADVATE

Animal	Study Number [Location in CTD]	Analyte	Matrix	Method	Assay Range	Precision (Intra- %)	Precision (Inter- %)	Accuracy (%)	Stability[1]	Study number which was used the method
Mouse	RD_PPD_010701 [4.2.2.1-1]	VWF Antigen	Plasma	ELISA	0.36 – 5.7 (mU/mL)	2.1 – 6.5	3.0 – 16.7	95.7-109.7	F/T 3 cycles	PV1960607
Rat	RD_PPD_010702 [4.2.2.1-2]				0.36 – 5.7 (mU/mL)	3.8 and 3.9 (at 0.025 and 4.0 IU/mL)	4.3 – 8.6	87.9 – 109.8	F/T 2 cycles	PV1910605 33981
Rabbit	RD_PPD_030701 [4.2.2.1-3]				0.36 – 5.7 (mU/mL)	3.8 and 4.9 (at 0.05 and 4.0 IU/mL)	4.1 – 12.5	76.6 – 118.4	F/T 4 cycles	PV2140708 PV2010701
Monkey	RD_PPD_070703 [4.2.2.1-4]				0.36 – 5.7 (mU/mL)	not reported	1.79 – 5.40	61.7 – 110.3	not reported	DI07K001 EWA0015 DI08K001
	FHSOP-31-0032-TI001-01 [4.2.2.1-5]				0.15625 – 10 (mU/mL)	2-4	3-14	Between-run: 3 – 12% Within-run: 15 – 20% (deviation from the nominal value)	F/T 3 cycles	506794

表 2.6.5-2. Analytical Methods and Validation Reports (Continued)

Test Articles: rVWF, rVWF+ADVATE

Animal	Study Number [Location in CTD]	Analyte	Matrix	Method	Assay Range	Precision (Intra- %)	Precision (Inter- %)	Accuracy (%)	Stability[1]	Study number which was used the method
Rat	RD_VB_010701 [4.2.2.1-6]	FVIII Antigen	Plasma	ELISA	0.10 – 4.0 (IU/mL)	not reported	1.83 – 12.87	77 - 92	F/T 3 cycles	PV1910605 33981
Rabbit	RD_VB_030701 [4.2.2.1-7]				0.2 – 4.0 (IU/mL)	not reported	15.7 – 17.1	58 - 71	F/T 2 cycles RT[2] 24h	PV2140708
Mouse	RD_VB_020701 [4.2.2.1-8]	FVIII Activity	Plasma (VWF deficient)	Chromogenic assay	0.1 – 4.0 (IU/mL)	not reported	9.2 -14.6	78 - 82	F/T 3 cycles	PV1960607
Rat			Plasma			not reported	10.1 – 19.6	19 – 67[a]	F/T 2 cycles	33981
Rabbit	RD_VB_090703 [4.2.2.1-9]		Plasma		1.00 – 10.00 (IU/mL)	not reported	7.72 – 10.90	94 - 105	F/T 2 cycles	PV2010701

[1] F/T: freezing-thawing
[2] RT: room temperature
a: Because calculation of recovery is very much dependent on the baseline level of FVIII in rat plasma, small variations in the relative high endogenous FVIII level might cause some of the nonlinearity in recovery.

2.6.5.3 薬物動態試験：吸収：単回投与

表 2.6.5-3-1. Pharmacokinetics: Absorption after a Single Dose

Test Article: rVWF

Species	Mouse/VWd	Rat	Dog /VWd	Cynomolgus monkey
Sex (M/F) / N of Animals	5M, 5F	12M	1M	2M
Feeding Condition	Ad libitum	Ad libitum	Ad libitum	Ad libitum
Vehicle/Formulation	Freeze dried, reconstituted with WFI	Freeze dried, reconstituted with WFI	Freeze dried, reconstituted with WFI	Freeze dried, reconstituted with WFI
Method of Administration	intravenous	intravenous	intravenous	intravenous
Dose (IU VWF:RCo/kg)	120	120	100	100
Analyte	VWF:Ag	VWF:Ag	VWF:Ag	VWF:Ag
Assay	ELISA	ELISA	ELISA	ELISA
PK Parameters for VWF				
AUC [U/mLxhr/(IU/kg)]	0.0237 ($AUC_{0\text{-}20h}$)	0.0423 ($AUC_{0\text{-}tlast}$)	0.279 ($AUC_{0\text{-}inf}$)	0.0967/0.1521 ($AUC_{0\text{-}inf}$)
Initial $t_{1/2}$ (hr)	-	1.35	10.2	-
Terminal $t_{1/2}$ (hr)	2.00F/3.08M	2.01	13.0	2.48/4.52
MRT (hr)	2.98F/3.83M	1.62	15.8	3.12/3.84
CLs (mL/hr/kg)	48F/33M	22.9	3.6	10.34/6.58
Vss (mL/kg)	142F/127M	37.1	-	32.29/25.24
In vivo recovery (%)	-	-	113	85.8/105.9
Study	PV1960607	PV1910605	RD_VB_110703	BAX0010+DI07K001
Location in CTD	4.2.2.2-1	4.2.2.2-2	4.2.1.1-5	4.2.2.2-3

-: no data
Ag = antigen
AUC = area under the curve
CLs = clearance
CTD = Common Technical Document
F = female
IU = international unit
M= male
MRT = mean residence time
N = number
PK = pharmacokinetics
$t_{1/2}$ = half–life
U = unit

V_{SS} = volume of distribution at steady state
VWd = von Willebrand deficient
WFI = sterile water for injection

表 2.6.5-3-2 Pharmacokinetics: Absorption after a Single Dose

Test Articles: rVWF+ADVATE

Species	Mouse/VWd	Rat	Cynomolgus monkey
Sex (M/F) / N of Animals	5M, 5F	12M	2M
Feeding Condition	Ad libitum	Ad libitum	Ad libitum
Vehicle/Formulation	Freeze dried, reconstituted with WFI	Freeze dried, reconstituted with WFI	Freeze dried, reconstituted with WFI
Method of Administration	intravenous	intravenous	intravenous
Dose (IU VWF:RCo/kg + IU FVIII/kg)	120 + 92	120 + 92	100 + 77
Analyte	VWF:Ag, FVIII activity	VWF:Ag, FVIII:Ag	VWF:Ag, FVIII activity
Assay	VWF:Ag ELISA, FVIII chromogenic activity	VWF:Ag ELISA, FVIII:Ag ELISA	VWF:Ag ELISA, FVIII chromogenic activity
PK Parameters for VWF			
AUC [U/mLxhr/(IU/kg)]	0.0273 ($AUC_{0\text{-}20h}$)	0.0402 ($AUC_{0\text{-}tlast}$)	0.0587/0.1229 ($AUC_{0\text{-}inf}$)
Initial $t_{1/2}$ (hr)	-	1.25	-
Terminal $t_{1/2}$ (hr)	1.61F/3.67M	3.14	1.68/4.96
MRT (hr)	2.44F/4.47M	1.78	1.74/5.53
CLs (mL/hr/kg)	45F/27M	24.1	17.03/8.14
Vss (mL/kg)	110F/122M	42.8	29.71/44.98
In vivo recovery (%)	-	-	86.8/68.8
PK Parameters for FVIII			
AUC [IU/mLxhr/(IU/kg)]	-	0.0537 ($AUC_{0\text{-}tlast}$)	0.0384/0.0894 ($AUC_{0\text{-}inf}$)
Initial $t_{1/2}$ (hr)	-	1.49	0.60/0.47
Terminal $t_{1/2}$ (hr)	-	17.7	0.60/1.80
MRT (hr)	-	2.96	0.85/2.32
CLs (mL/hr/kg)	-	17.7	26.10/11.20
Vss (mL/kg)	-	52.5	22.21/25.95
In vivo recovery (%)	-	-	134.5/179.7
Study	PV1960607	PV1910605	BAX0010+DI07K001
Location in CTD	4.2.2.2-1	4.2.2.2-2	4.2.2.2-3

-: no data
Ag = antigen
AUC = area under the curve
CLs = clearance
CTD = Common Technical Document
F = female
IU = international unit
M= male

MRT = mean residence time
N = number
PK = pharmacokinetics
$t_{1/2}$ = half–life
U = unit
V_{SS} = volume of distribution at steady state
VWd = von Willebrand deficient
WFI = sterile water for injection

2.6.5.4 薬物動態試験：吸収：反復投与

表 2.6.5-4. Pharmacokinetics: Absorption after Repeated Doses

Test Articles: rVWF, rVWF+ADVATE

See 2.6.7.2 and 2.6.7.3

2.6.5.5 藥物動態試驗：分布

表 2.6.5-5. Pharmacokinetics: Organ Distribution

Test Article: rVWF

Study No. BAX3/2 / PET5		**Location in CTD: 4.2.2.3-1**	
Species:	Mouse/VWd		
Sex (M/F) / N of Animals:	Group 1 (2M, 2F)	Group 2 (1M, 2F)	Group 3 (3M, 2F)
Feeding Condition:	Ad libitum		
Vehicle/Formulation:	Formulation Buffer		
Method of Administration:	Intravenous		
Dose (mg/kg):	1.6		
Radionuclide:	^{124}I		
Specific Activity:	2mCi/mL		
Sampling time (blood):	5 min, 1.5 hr	5 min, 1.5 hr, 3.5 hr, 5 hr, 6 hr	5 min, 1.5 hr, 3.5 hr, 5 hr, 6 hr, 23 hr, 24 hr
	A clearance half-life of radioactivity from blood ranging from 3.05 to 5.19 h was estimated.		
Sampling time (organs):	1.5 hr	6 hr	24 hr
Results organ distribution:	In the 1.5-hr dynamic scans, pronounced radioactivity uptake was observed in the heart and spleen of the animals. In the heart, time-activity-curves (TAC) decreased steadily after the injection, indicating that no uptake in the heart muscle itself took place. The heart TAC apparently reflected the elimination of radioactivity from the blood compartment. In the spleen, a steady increase of radioactivity was observed with a peak value reached about 75 min after injection . In the 5-6 hr scans radioactivity in the heart, spleen, thyroid and stomach was observed. Uptake in thyroid, salivary glands and stomach was in all likelihood related to distribution of free radioiodide. The absence of these organs in the 1.5-hr dynamic images indicated that no or only very low in vivo deiodination of radiolabeled rVWF occurred during this initial time period. Deiodination of radiolabeled rVWF apparently started between 1.5 and 5 hr after radiotracer injection.		

CTD = Common Technical Document
F = female
M = male
N = number
VWd = von Willebrand factor deficient

2.6.5.6 薬物動態試験：たん白結合

表 2.6.5-6. Pharmacokinetics: Plasma Protein Binding

Test Articles: rVWF, rVWF+ADVATE

Not applicable

2.6.5.7 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

表 2.6.5-7. Pharmacokinetics: Study in Pregnant or Nursing Animals

Test Articles: rVWF, rVWF+ADVATE

Not applicable

2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験

表 2.6.5-8. Pharmacokinetics: Placental Transfer Study

Test Article: rVWF

Study No. Plac-Lab-12-12							**Location in CTD: 4.2.2.3-2**
Species:		Human placentae					
N of Placentae:		Group A treated 5	Group A control 2	Group B treated 5	Group B control 2	Group C treated 5	Group C control 2
Vehicle/Formulation:		Formulation buffer					
Method of Administration:		*Ex vivo* - single injection in the maternal circuit					
Dose (mL):		0.9, 4.5, 9.0					
Perfusion:		Closed system, each with one isolated cotyledon from one placenta for both maternal and foetal circuits. Ischemia time between delivery and installation in the perfusion equipment was limited to 30 min and followed by 30 min reoxygenation. The perfusion solutions were gassed by gas exchange oxygenators with 95% O_2 / 5% CO_2 in the maternal circuit and 95% N_2 / 5% CO_2 in the fetal circuit.					
Flow rate:		12 mL/min for the maternal and 3 mL/min for the foetal circuit.					
Sampling time (maternal and foetal circuits):		0, 5, 30, 60, 120 min					
Results:		VWF:Ag was detected in all maternal samples of the three groups perfused with rVWF over the whole perfusion time (2 hr). In contrast, samples from the fetal site did not contain detectable VWF:Ag concentrations independent of the concentration in the maternal perfusate and the time of sampling. These results demonstrate that rVWF does not pass the human placenta.					
		Pre (U/mL)	5 min (U/mL)	30 min (U/mL)	1 hr (U/mL)	2 hr (U/mL)	2 hr / pre (%)
Control (n = 6)	mean	0.016	0.022	0.020	0.020	0.020	-
	range	<0.0016–0.018	<0.0016-0.034	0.014-0.030	<0.0016-0.034	0.014-0.026	-
Group A (n = 5)	mean	0.46	0.27	0.26	0.25	0.23	50
	range	0.38-0.58	0.18-0.32	0.19-0.35	0.15-0.37	0.10-0.37	23-63
Group B (n = 4[a])	mean	3.69	3.15	2.95	3.13	3.01	85
	range	3.08-4.56	2.88-3.60	2.68-3.39	2.56-3.40	2.32-3.54	75-99
Group C (n = 5)	mean	6.31	6.14	5.70	5.24	5.30	85
	range	5.12-8.21	4.96-8.24	4.20-6.96	3.88-6.94	3.32-6.80	64-99

- : not calculated
a: n = 1 was excluded (outliers).

2.6.5.9 薬物動態試験：代謝：*In vivo*

表 2.6.5-9. Pharmacokinetics: Metabolism *in Vivo*

Test Articles: rVWF, rVWF+ADVATE

Not applicable

2.6.5.10 薬物動態試験：代謝：*In vitro*

表 2.6.5-10. Pharmacokinetics: Metabolism *in Vitro*

Test Articles: rVWF, rVWF+ADVATE

Not applicable

2.6.5.11 薬物動態試験：推定代謝経路

表 2.6.5-11. Pharmacokinetics: Possible Metabolic Pathways

Test Articles: rVWF, rVWF+ADVATE

Not applicable

2.6.5.12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害

表 2.6.5-12. Pharmacokinetics: Induction/Inhibition of Drug-Metabolizing Enzymes

Test Articles: rVWF, rVWF+ADVATE

Not applicable

2.6.5.13 薬物動態試験：排泄

表 2.6.5-13. Pharmacokinetics: Excretion

Test Articles: rVWF, rVWF+ADVATE

Not applicable

2.6.5.14 薬物動態試験：排泄：胆汁中

表 2.6.5-14. Pharmacokinetics: Excretion into Bile

Test Articles: rVWF, rVWF+ADVATE

Not applicable

2.6.5.15 薬物動態試験：薬物相互作用

表 2.6.5-15. Pharmacokinetics: Drug-Drug Interactions

Test Articles: rVWF, rVWF+ADVATE

Not applicable

2.6.5.16 薬物動態試験：その他

表 2.6.5-16. Pharmacokinetics: Other

Test Articles: rVWF, rVWF+ADVATE

Not applicable