

TABLE OF CONTENTS

略号一覧表.....	3
2.6.6 毒性試験の概要文.....	4
1 まとめ.....	4
2 単回投与毒性試験.....	10
2.1 カニクイザルにおける andexanet 投与後の血漿中 TAT 及び D ダイマー濃度の評価一 [REDACTED] 試験.....	10
2.2 カニクイザルを用いた andexanet の 1 日 2 回静脈内投与 TK 及び臨床病理試験	10
3 反復投与毒性試験.....	12
3.1 ラットにおける andexanet の 1 日 2 回 2 週間静脈内投与毒性及び TK 試験並びに 4 週 間回復性試験.....	12
3.2 カニクイザルにおける andexanet の単独及びリバーロキサバン又はエノキサパリン 併用 2 週間静脈内投与毒性及び TK 試験並びに 4 週間回復性試験	13
3.3 カニクイザルを用いた andexanet の単独及びアピキサバン又は betrixaban との併用 による 2 週間静脈内投与毒性及び TK 試験並びに 4 週間回復性試験	18
3.4 カニクイザルにおける FXa 阻害剤アピキサバン併用及び非併用下での andexanet の GLP 適用 2 週間静脈内投与毒性試験並びに 4 週間回復性試験	20
4 遺伝毒性試験.....	26
5 がん原性試験.....	27
6 生殖発生毒性試験.....	30
7 局所刺激性試験.....	31
8 その他の毒性試験.....	32
9 考察及び結論.....	33
10 参考文献.....	35

LIST OF TABLES

Table 1:	Andexanet の毒性試験プログラム.....	5
Table 2:	NC-13-0545 の試験デザイン.....	10
Table 3:	サルにおける血漿中 andexanet の TK パラメータ (平均値)	11
Table 4:	NC-11-0397 の試験デザイン.....	12
Table 5:	ラットにおける andexanet の C _{max} 及び AUC (NC-11-0397 試験)	13
Table 6:	NC-11-0394 の試験デザイン.....	14
Table 7:	サルにおける andexanet の C _{max} 及び AUC ₀₋₂₄ (NC-11-0394 試験)	15
Table 8:	Group 5～Group 8 のサルにおける抗 FXa 活性 (NC-11-0394 試験)	16
Table 9:	NC-12-0417 の試験デザイン.....	18
Table 10:	NC-12-0417 試験における抗 FXa 活性.....	20
Table 11:	サルにおける andexanet の C _{max} 及び AUC _{0-∞} (NC-12-0417 試験)	20
Table 12:	NC-16-0757 試験デザイン.....	21
Table 13:	Generation 2 andexanet とアピキサバンの併用投与群における抗 FXa 活性 (NC-16-0757 試験) ^a	22
Table 14:	サルにおける andexanet の C _{max} 及び AUC _{0-∞} (NC-16-0757 試験)	23
Table 15:	非臨床動物種及びヒトにおける最高用量投与時の C _{max} 及び AUC の比較.....	33

LIST OF FIGURES

Figure 1:	NC-11-0394 試験の Group 4 (andexanet 単独) 及び Group 8 (andexanet+リバーロキサバン) における Day 13～43 の TAT 値.....	17
Figure 2:	NC-11-0394 試験の Group 4 (andexanet 単独) 及び Group 8 (andexanet+リバーロキサバン) における Day 13～43 の D ダイマー値.....	17
Figure 3:	カニクイザルに andexanet 30 mg/kg を Day 1 に 2 回静脈内投与した場合の Generation 2 andexanet と Generation 1 andexanet の平均血漿中濃度.....	23
Figure 4:	Generation 1 又は Generation 2 andexanet 投与群を溶媒対照群と比較した NC-16-0757 試験における TAT の平均値及び標準誤差.....	24
Figure 5:	アピキサバン併用下又は非併用下における Generation 1 又は Generation 2 andexanet 投与後の D ダイマーの推移.....	25

2.6.6 毒性試験の概要文
 アンデキサネット アルファ (遺伝子組換え)

略号一覧表

略号	英語	日本語
ADA	Anti-Drug Antibody	抗薬物抗体
aPTT	activated Partial Thromboplastin Time	活性化部分トロンボプラスチン時間
ATIII	antithrombin III	アンチトロンビン III
AUC	Area Under the Curve	血漿中濃度時間曲線下面積
BID	Twice daily	1日2回
CHMP	The Committee for Medicinal Products for Human Use	欧州医薬品庁のヒト用医薬品委員会
C _{max}	Maximum observed plasma drug concentration	最高血漿中濃度
ECG	Electrocardiogram	心電図
F1+2	prothrombin fragment 1+2	プロトロンビンフラグメント 1+2
FDA	Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
FXa	Factor Xa	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
HE	Haematoxylin and Eosin	ヘマトキシリン・エオシン
ICH	International Conference on Harmonisation	医薬品規制調和国際会議
IU	international units	国際単位
JET	Jacketed External Telemetry	ジャケット式テレメトリー
MFD	Maximum Feasible Dose	投与可能最大量
NAUC	Dose-normalised AUC	用量補正血漿中濃度時間曲線下面積
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level	無毒性量
PD	Pharmacodynamics	薬力学的作用
PK	Pharmacokinetics	薬物動態
PT	Prothrombin Time	プロトロンビン時間
PTAH	Phosphotungstic Acid Hematoxylin	リンタングステン酸ヘマトキシリン
RLU	Relative Luminescence Units	電気化学発光法による相対発光量
RVVT	Russell's Viper Venom Time	ラッセル蛇毒時間
TAT	Thrombin Anti-Thrombin complex	トロンビン-アンチトロンビン複合体
TFPI	Tissue Factor Pathway Inhibitor	組織因子経路インヒビター
TK	Toxicokinetics	トキシコキネティクス

2.6.6 毒性試験の概要文

1 まとめ

Andexanet alfa (以下、andexanet) の非臨床安全性試験は、ヒトへの単回静脈内投与時の安全性を裏付けるために設計された。安全性試験には、安全性薬理試験 (モジュール 2.6.2) のほか、安全性上懸念される血液凝固バイオマーカーに対する影響の評価を含むラット及びサルにおける単回及び2週間反復投与試験を実施した。反復投与毒性試験には免疫原性評価も含めた。この2週間という期間は、ICH ガイドライン S6 に記載されている「短期使用及び急性の致死性疾患に対する適応が検討されているバイオ医薬品の場合は、承認を得ることのみならず臨床試験を裏付けるために、2週間までの反復投与試験を実施することが適当と一般には考えられてきている」に従うものである。米国食品医薬品局 (FDA) との協議及び欧州医薬品庁ヒト用医薬品委員会 (CHMP) の科学的助言に従い、生殖発生毒性試験は実施しなかった (6項参照)。がん原性試験を実施しなかった妥当性の考察を5項に示す。

Andexanet の原薬はその開発において、主に従来原薬製造工程 (Generation 1) 及び新しい原薬製造工程 (Generation 2) という2つの工程を用いて製造された。Generation 2 は、市販製品用の大規模製造工程である (モジュール 2.3)。Generation 2 では、細胞培養培地及び精製方法を最適化し、収率が改善され、より高純度の製品が得られる。Generation 1 プロセス 3 (FDA 承認工程) で製造した andexanet と Generation 2 で製造した andexanet との詳細な *in vitro* 同等性/同質性解析が完了している。これには原薬及び製剤の出荷試験並びに特性解析試験のほか、Generation 2 andexanet の効力及び作用機序 (直接作用型及び間接作用型活性化血液凝固第 X 因子 (FXa) 阻害剤に対する Generation 2 andexanet の親和性、抗 FXa 活性の無効化、トロンビン (IIa) 生成阻害作用の無効化によって評価) が Generation 1 プロセス 3 andexanet と同等であることを示す追加の特性解析試験が含まれる (モジュール 3.2.S.3.1)。さらに、健康被験者を対象に Generation 2 andexanet と Generation 1 プロセス 3 andexanet の薬物動態 (PK) 及び薬力学 (PD) を比較する同等性/同質性試験を実施した (16-512 試験)。この試験により、2つの製造工程間で PK 及び PD は同等であることが明らかになった。さらに、Generation 2 原薬の毒性プロファイルを確認するため、本項に記載した毒性試験 (NC-16-0757) において、Day 1 に Generation 1 と Generation 2 を投与し、毒性を比較した。NC-16-0757 試験以前の毒性試験はすべて、Generation 1 で製造した andexanet 原薬を用いて実施した。ここに示す情報から、Generation 1 又は Generation 2 のいずれの工程で製造された原薬も、FXa 阻害剤投与中の患者における、生命を脅かす出血又は止血困難な出血に対する治療時の予定最高用量での曝露量を超える曝露量 (2~3 倍) での andexanet の静脈内投与の忍容性は良好であった。カニクイザルにおける Generation 2 andexanet の曝露量、PD 及び忍容性は、概して Generation 1 andexanet と同等であった。

Andexanet の毒性をラット及びサルを用いて評価した (Table 1)。Andexanet を投与する目的は、FXa 阻害剤の抗凝固作用を無効化し、それによって正常な止血を回復させることであるため、サルを用いた試験では andexanet の単回投与及び FXa 阻害剤との併用投与を実施した。Andexanet の忍容性は両動物種においてすべての用量で良好であった。両動物種とも単回投与試験 (サルのみ) 及び2週間反復投与試験の最高用量は 60 mg/kg/day であり、この用量は無毒性量 (NOAEL) であった。サルに 60 mg/kg/day を投与したときの andexanet の曝露量は、臨床試験の予定最高用量で観察された曝露量の2~3倍であった。

ラットを用いた試験は2週間反復投与及び4週間回復性試験 (NC-11-0397) の1試験を実施した。カニクイザルでは単回投与試験及び2週間の反復投与試験を実施した (NC-11-0394¹⁾、NC-12-

2.6.6 毒性試験の概要文
 アンデキサネット アルファ (遺伝子組換え)

0472、NC-12-0417、NC-13-0545 及び NC-16-0757)。両動物種で用いた最高用量 (60 mg/kg/day) は、当初の投与用量に基づく投与可能な最大用量 (MFD) であった [濃度 3 mg/mL の andexanet 溶液を投与可能最大用量 10 mL/kg で投与 (30 mg/kg)]。曝露量を最大とするため、反復投与試験の期間中、andexanet を約 4 時間間隔で 1 日 2 回投与した。ラット及びサル of のいずれにおいても NOAEL は 60 mg/kg/day であった。

ラット及びカニクイザルを用いた反復投与試験では、標準的な毒性評価を行った。一般状態、体重、体温、眼科学的検査値、摂餌量、臨床病理検査値、剖検及び病理組織学的検査所見並びに andexanet に対する抗薬物抗体 (ADA) を評価した。血液凝固に関する検査として、ラットではプロトロンビン時間 (PT) 及び活性化部分トロンボプラスチン時間 (aPTT) を測定した。サルでは、D ダイマー、PT、aPTT、ラッセル蛇毒時間 (RVVT) 及びトロンビン-アンチトロンビン複合体 (TAT) を測定した。1 回目のサル反復投与試験 (NC-11-0394) では心血管系に関する安全性薬理も試験に組込んで評価した。

Table 1: Andexanet の毒性試験プログラム

試験の種類及び 期間	試験番号	FXa 阻害剤の併 用投与	投与経路	GLP 適用	動物種	製造工程
単回投与毒性試験	NC-12-0472	なし	静脈内	非適用	サル	Generation 1
単回投与毒性試験 (1 日 2 回投与)	NC-13-0545	なし	静脈内	適用	サル	Generation 1
反復投与毒性試験						
2 週間	NC-11-0397	なし	静脈内	適用	ラット	Generation 1
2 週間	NC-11-0394	エノキサパリン 又はリバーロキサバン	静脈内	適用	サル	Generation 1
2 週間	NC-12-0417	アピキサバン又は betrixaban	静脈内	適用	サル	Generation 1
2 週間	NC-16-0757	アピキサバン	静脈内	適用	サル	Generation 1 及び Generation 2

カニクイザルを用いた単回投与毒性試験 2 試験で andexanet を評価した。サル 2 例に投与した 10 mg/kg andexanet の単回投与試験 (NC-12-0472) は探索的試験であり、TAT 及び D ダイマーを解析する方法の種特異性を評価した。この試験は主に探索的なトキシコキネティクス (TK) / トキシコダイナミクス試験として設計されたが、一般状態観察では、動物の取扱いが原因と考えられる内出血が認められた。その他は無症状であり、一般状態の異常は認められなかった。GLP 適用単回投与試験 (NC-13-0545) では、液剤 (3 mg/mL) 及び凍結乾燥製剤 (10 mg/mL に調製) の andexanet の毒性及び TK を比較した。この試験では、andexanet の両製剤を 30 mg/kg/dose の用量で約 4 時間間隔で 1 日 2 回投与した。この投与方法は、2 週間反復投与試験 (NC-11-0394) で使

2.6.6 毒性試験の概要文 アンデキサネット アルファ (遺伝子組換え)

用された投与方法を模するために選択したものである。両製剤の TK は類似していたが同一ではなく、濃度の高い凍結乾燥製剤 (10 mg/mL) の最高濃度 (C_{max}) 及び濃度時間曲線下面積 (AUC) の方がわずかに高かった。いずれの andexanet 製剤も血液凝固検査、血液学的検査及び血液生化学的検査の結果への明らかな影響はないことが示された。D ダイマー濃度の増加は両群とも andexanet 投与後に検出され、投与前値と比較して投与 0.5 時間後から徐々に増加し、投与 6 時間後に最高値に達した。D ダイマーは投与後 48 時間~72 時間の間にベースライン値まで回復した。

ラット 2 週間反復投与毒性試験 (NC-11-0397) では、0、6、20 又は 60 mg/kg/day の andexanet を均等に分割して、約 4 時間間隔で 1 日 2 回連日投与した。試験期間中及び組織検査後に毒性所見は認められなかった。ラットで認められた用量関連性の一般状態の変化は PT のわずかな延長 (1 秒未満) のみであり、回復期間中に回復した。この延長は軽微であり、出血リスクの有意な上昇に至るものではないと考えられた。

カニクイザルを用いた最初の 2 週間反復投与毒性試験 (NC-11-0394) では、0、6、20 又は 60 mg/kg/day の andexanet を 3 日ごとに約 4 時間間隔で 1 日 2 回投与した。Andexanet 単独投与群のほか、FXa 阻害剤 (エノキサパリン 2 mg/kg の皮下投与又はリバーロキサバン 60 mg/kg の強制経口投与) をそれぞれ単独投与又は高用量の andexanet と併用投与する群を設定した。FXa 阻害剤は andexanet の各投与日の 1 回目投与の 4 時間前に投与した。毒性は、一般状態、体重、体温、眼科学的検査、摂餌量、臨床病理検査、剖検、病理組織学的検査、ADA 検査、心電図 (ECG) 測定、体外ジャケット式テレメトリー (JETTM) を用いる ECG 評価及び血圧測定に基づき評価した。すべての動物が計画剖検時まで生存した。

平均体重及び体重増加量、平均体温、眼科学的検査所見、臨床病理検査値、器官重量、剖検所見及び病理組織学的検査所見、ECG 所見並びに平均血圧には、andexanet の単独投与及びエノキサパリン又はリバーロキサバンとの併用投与による影響は認められなかった。

60 mg/kg/day 群の雄 1 例で Day 13 (最終投与) の投与直後にアナフィラキシー反応が発現したが、抗ヒスタミン薬及びアドレナリンの投与後に回復し、投与終了時の計画剖検の一環として Day 14 に安楽死させた。このアナフィラキシー反応は、異種タンパクの反復投与後に認められることがあり、60 mg/kg/day の用量は本試験における NOAEL と考えられた。

通常の血液学的検査及び血液生化学検査に加え、投与前、投与期間終了時及び回復期間中の特定の時点に、すべての群で D-ダイマー及び RVVT を定量した。いずれの測定値にも変化はなく、andexanet の存在下で *in vivo* 血栓症が増加する可能性はないことが示唆された。その後、健康被験者に andexanet を単独投与 (FXa 阻害剤の併用投与なし) したヒト単回漸増投与試験 (11-501 試験) では、D-ダイマー、プロトロンビンフラグメント 1+2 (F1+2) 及び TAT の増加が認められたが、RVVT の増加は認められなかった。この臨床試験の所見に基づき、サルを用いた探索的単回投与試験 (NC-12-0472) を実施した。その結果、臨床試験用に開発され、サル反復投与試験 (NC-11-0394) の試料の分析に用いた当初の測定法は、サルの D ダイマー及び TAT と交差反応性がないことが判明した。NC-12-0472 試験では、サルに対し十分な交差反応性のある代替の改良 TAT 及び D ダイマー測定法が開発されたが、サルにおいて F1+2 を検出できる代替の測定法は見つけられなかった。TAT 及び D ダイマーの改良測定法を用い、サル反復投与試験 (NC-11-0394) で得られた利用可能な試料 (溶媒対照群、andexanet 高用量群、高用量 andexanet 及びリバーロキサバン併用投与群) を再測定した。再測定の結果、TAT 及び D ダイマーは andexanet 投与後に増加することが確認された (NC-11-0394-R0004)。Andexanet 投与群における TAT の増加は、andexanet 初回投与の 0.5 時間後までに投与前値よりも高くなり、その日の 2 回目の投与後も増加し、24 時間

2.6.6 毒性試験の概要文 アンデキサネット アルファ (遺伝子組換え)

後までに投与前値に戻った。増加の程度は最大でベースラインの 10 倍であった。D ダイマーは andexanet 投与後 0.5 時間までに投与前値を上回り、投与 24 時間後まで徐々に増加し、最大約 4~5 倍まで増加した。回復期間中、D ダイマーは低下し、回復期間終了の Day 43 までに投与前値を下回った。Day 13 の投与前値は Day 1 の投与前値と同程度であったため (Figure 1 及び Figure 2、NC-11-0394-R0004)、反復投与試験中に TAT 及び D ダイマーは蓄積しないと考えられた。TAT 及び D ダイマーの増加程度は、FXa 阻害剤リバーロキサバンを併用投与したサルの方が低かった。直近の試験で、直接作用型 FXa 阻害剤の存在下では TAT 及び D ダイマーの増加程度が低いことが確認された (NC-16-0757)。

TAT 及び D ダイマーの増加による潜在的なリスクを詳細に評価するため、以前にヘマトキシリン-エオシン (HE) 染色で評価した組織について、フィブリン沈着の染色感度が高いリントングステン酸ヘマトキシリン (PTAH) 染色により再評価した。PTAH 染色の結果、溶媒対照群の雌 1 例及び andexanet 高用量群の雌 1 例に肺血管内小血栓が各 1 病変認められた。通常の HE 染色では、低用量群の雄ザルに小血栓が 1 病変、検出された。被験物質を静脈内投与する非臨床試験では、肺血管内の血栓の発現頻度が高い^{2),3)}。試験実施施設の背景値に基づく、通常の HE 染色のみを用いた場合、対照動物におけるこのような小血栓の発現率は 0%~40%の範囲であった。このことから、本試験において andexanet の投与後に D ダイマー及び TAT が増加したが、血管内血栓形成の頻度上昇とは関連しないと考えられる (NC-11-0394-R0001 及び NC-11-0394-R0004)。

本試験では andexanet の薬理作用を裏付けるエビデンスも得られた。リバーロキサバン 60 mg/kg の経口投与及びエノキサパリン 2 mg/kg の皮下投与による抗 FXa 活性は、andexanet 60 mg/kg の投与により完全に無効化された。

また、試験期間中の機能的変化の *ex vivo* 評価として、andexanet を 0、6、20 及び 60 mg/kg/day で投与したカニクイザルの血漿にエノキサパリンを添加した。これらの評価から、試験期間中、エノキサパリンの抗 FXa 活性を無効化する andexanet の作用は変化しなかったことが確認された。

Andexanet を投与したサルの全群で ADA が検出された。抗体は投与期間の Day 13 までに産生され、回復期間の Day 14 及び 28 まで存続した。しかし、これらの抗体は andexanet の TK にも、FXa 阻害剤の抗 FXa 活性に対する andexanet の無効化作用にも影響を及ぼさなかった。

2 回目のサル 2 週間反復投与試験 (NC-12-0417) では、andexanet 60 mg/kg/day とアピキサバン又は betrixaban との併用投与を評価した。対照群にはアピキサバン又は betrixaban のみを投与した。先行試験と同様に、毒性評価項目として、一般状態観察、体重、体温、眼科学的検査、臨床病理検査、剖検及び病理組織学的検査、ADA 測定及び ECG 検査を実施した。投与初日及び投与最終日の投与前並びに回復期間終了時に、D ダイマー及び RVVT を測定した。いずれのバイオマーカーにも蓄積性は認められなかった。TK 評価のため血液試料を採取した。Andexanet をアピキサバン又は betrixaban と併用投与した結果、アピキサバン又は betrixaban のみを投与したサルと比較して、標準的な評価項目である体重、体温、眼科学的検査所見、ECG 所見、臨床病理検査値、器官重量、剖検所見及び病理組織学的検査所見に andexanet の影響は認められなかった。本試験では、HE 染色による検査で肺の血栓・塞栓は認められなかった。

カニクイザルを用いた 3 回目の 2 週間反復投与試験では、Generation 2 で製造した andexanet の毒性を評価した (NC-16-0757)。本試験の用量は、Generation 1 で製造した andexanet で確立された NOAEL (60 mg/kg) とした。Generation 2 で製造した andexanet の反復投与試験で、この用量を溶媒対照と比較した。投与方法は先に実施した Generation 1 の毒性試験で利用した方法と同じであり、andexanet を 3 日ごとに 1 日 2 回 2 週間投与した。試験の一環として、Generation 1 原薬を

2.6.6 毒性試験の概要文 アンデキサネット アルファ (遺伝子組換え)

Day 1 にのみ投与し、その TK を Generation 2 原薬と比較した。その結果、サルにおける Generation 1 andexanet と Generation 2 andexanet の TK は同等であることが明らかとなった。それぞれの曝露量はほぼ等しく (NC-16-0757)、Day 1 における Generation 2/Generation 1 の AUC_{0-τ} 比及び C_{max} 比はそれぞれ 1.02 及び 1.03 であった。Andexanet の投与による TAT 及び D ダイマーの増加は、Day 1 において Generation 1 と Generation 2 との間で同程度であり (Figure 4 及び Figure 5)、Day 13 において 1 回目の 2 週間反復投与試験で認められた値とも同程度であった (NC-11-0394、Figure 1 及び Figure 2)。抗 FXa 活性の評価において、Generation 2 andexanet をアピキサバンの T_{max} 付近に投与することにより、抗 FXa 活性がベースライン値未満に低下することが明らかとなった。Generation 1 投与動物には Day 1 にのみ andexanet を投与し、7 日後に飼育群に戻した。本試験では Generation 1 の投与終了時評価は実施しなかった。先行試験 (NC-11-0394) で散見された血管内の小血栓と同様の肺細動脈内の小血栓 (1 病変) が Generation 2 andexanet 単独投与群 (2/6 例) 及び Generation 2 andexanet とアピキサバンの併用投与群 (2/6 例) に認められた。本試験では、小血栓は HE 染色による通常の検査でアピキサバン併用投与群 (2/6 例) 及び andexanet 単独投与群 (1/6 例) に認められた。血栓の可視化に優れるトリクロム特殊染色による検査で 2 病変の血栓を検出し、このうち 1 病変は HE 染色でも特定された。以上の所見は発現が散発的であったため、動物に認められた個々の血栓は andexanet の投与に起因するものではないと判断した (NC-16-0757)。前述のとおり、このような血栓は被験物質を静脈内投与した動物で認められることが多い²⁾⁴⁾。微小細動脈における血栓・塞栓の発現は、全身からの肺血管床の濾過機能により微小細動脈に滞留した小塞栓・血栓に一致する。標準的な包括的毒性評価に基づき、Generation 2 andexanet の NOAEL も 60 mg/kg/day と考えられ、非臨床試験に用いた動物種とヒトとの間の安全域は Generation 1 andexanet と Generation 2 andexanet で同等であることが示された。

反復投与試験では、異種 (ヒト) タンパクの投与後によくみられるように、ラット及びサルのいずれにも andexanet に対する抗体が検出された。ラット 2 週間投与試験では、投与期間終了時に andexanet 投与群のラット 70 例中 30 例に andexanet に対する抗体が検出され、4 週間の回復期間終了時では andexanet 高用量群のラット 10 例すべてに andexanet に対する抗体が検出された。ADA は andexanet を投与した全用量群で検出されたが、抗体は、*in vitro* で血漿に添加したエノキサパリンの抗凝固作用を無効化する andexanet の作用を阻害せず、また、Day 14 の TK には Day 1 と比較して変化がみられなかった。抗体は回復期間の Day 14 及び Day 28 にも存続した。最初のカニクイザル 2 週間投与試験 (NC-11-0394) では、2 週間の投与期間終了時に andexanet 投与群の 50 例中 36 例に andexanet に対する抗体が検出された。4 週間の回復期間終了時には、低用量群 (6 mg/kg/day) の 1 例を除きすべてのサルに andexanet に対する抗体が検出された。Andexanet をアピキサバン又は betrixaban と併用投与した 2 回目のサル 2 週間投与試験 (NC-12-0417) では、投与期間終了時に、andexanet 投与群のサル 20 例中 12 例に抗体が検出され、回復期間中には 8 例中 7 例に andexanet に対する抗体が検出された。NC-16-0757 試験では、Generation 2 andexanet を投与したサル 20 例中 11 例で投与期間終了時に抗体が確認され、回復期間終了時には 8 例中 6 例に抗体が検出された。これは Generation 1 製剤を投与したサルに認められた免疫原性反応と同様であった。

すべての毒性試験で andexanet の TK を評価した。Andexanet は双指数関数的に消失し、消失半減期は短い (4~5 時間)。MFD (60 mg/kg/day) を 1 日 2 回投与しても、蓄積は認められず、短い半減期と一致する。曝露量はラット及びサルとも雌雄で同程度であり、性差はないと考えられた。試験に用いた全用量範囲で、C_{max} 及び AUC は両動物種とも用量比例性に増加した (Table 5、Table 6

及び [Table 7](#))。

総合して、**andexanet** の忍容性はラット及びサル of のいずれにおいても良好であった。MFD を投与した検査でも、FXa 阻害剤の併用の有無にかかわらず、重篤な毒性所見はみられなかった。したがって、この MFD は NOAEL とも考えられた。反復投与後の抗体産生が両動物種で検出されたが、一般状態の異常はなく、抗凝固作用の無効化が阻害されることはなかった。サルにおいて血液凝固バイオマーカーを厳密に評価した結果、**andexanet** 投与後の D ダイマー及び TAT の増加の程度は、FXa 阻害剤の存在下で軽減された。病理組織学的検査で認められた微小細動脈における血栓形成の頻度は背景値の範囲内であったことから、血液凝固バイオマーカーの増加と血栓形成に関連性はないと判断した。サル 2 週間投与試験のいずれにおいても、心血管系の評価で毒性所見は認められなかった。**andexanet** の忍容性はヒトにおける予定最高臨床用量の 2~3 倍に相当する曝露量でも良好であった。Generation 1 又は Generation 2 の製造工程に由来する **andexanet** を用いた試験では、サルでの曝露量、薬理活性及び忍容性が同程度であったことから、Generation 1 **andexanet** の非臨床安全性試験の成績を Generation 2 **andexanet** の安全性評価に適用できることが確認された。

安全性薬理試験

雄ラットの中樞神経系 (CNS) ([NC-11-0396](#)) 及び呼吸器系 ([NC-11-0395](#)) の安全性薬理試験では MFD 30 mg/kg までの **andexanet** を単回ボラス投与した。高用量の 30 mg/kg まで **andexanet** に起因した所見は認められなかった。カニクイザルの 2 週間静脈内投与毒性試験の一環として、**andexanet** の心血管系安全性薬理パラメーター ([NC-11-0394](#)) を評価した。試験したいずれの用量でも、サルの ECG 及び血圧評価に異常は認められなかった。

詳細な試験の要約については、[モジュール 2.6.2](#) 安全性薬理試験を参照のこと。

2 単回投与毒性試験

2.1 カニクイザルにおける andexanet 投与後の血漿中 TAT 及び D ダイマー濃度の評価—XXXXXXXXXX 試験

本試験は、ヒト単回漸増投与試験（11-501 試験）で認められた TAT、F1+2 及び D ダイマーの増加と、これら同じバイオマーカーに増加が認められなかった GLP 適用非臨床毒性試験（NC-11-0394）との間の不一致を検討するために実施された（NC-12-0472-R0001）。ヒト単回漸増投与試験で使用したロット（XXXXXXXXXX）を用いて、未投与の雌ザル 2 例に 10 mg/kg を 10 分間かけて単回静脈内投与した。血漿中 andexanet 濃度並びに F1+2、TAT 及び D ダイマー濃度を測定した。D ダイマーは 2 種類の測定法を用いて測定した。この試験の結果から、NC-11-0394 試験の試料分析に用いた当初の定量法は、サルの TAT、D ダイマー及び F1+2 に交差反応性がないことが示された。サルの TAT 及び D ダイマーと交差反応する試薬は特定できたが、F1+2 に反応する試薬は確認できなかった。Andexanet を投与したサルから採取した試料において、TAT がヒト単回漸増投与試験の健康被験者でみられた増加と同程度に増加した。さらに、市販されているキットのうち 1 つは D ダイマーの増加を検出したが、別のキットはサルのタンパク質に交差反応性を示さなかったことから、種選択性が結果に影響を及ぼした可能性が示唆された。F1+2 の評価に用いた測定法では、F1+2 の増加は認められず、サルの F1+2 との交差反応性がないことに起因すると考えられた。このように、NC-11-0394 試験で使用した試薬とは異なる試薬を使用したところ、カニクイザルへの andexanet 投与後 TAT 及び D ダイマーはヒト単回漸増投与試験と同様に増加することが示され、andexanet の非臨床評価動物種としてのカニクイザルの妥当性が確認された。本試験の結果に基づき、NC-11-0394 試験の利用可能な一部の試料を用いて D ダイマーを再測定し、こその結果を NC-11-0394 試験に対する修正として報告書（NC-11-0394-R0004）に組み入れた。

2.2 カニクイザルを用いた andexanet の 1 日 2 回静脈内投与 TK 及び臨床病理試験

Andexanet の 2 種の剤形である液剤（3 mg/mL）及び凍結乾燥製剤（投与前に 10 mg/mL に再溶解）を 60 mg/kg/day（1 回 30 mg/kg を 4 時間間隔で 2 回投与）の用量で投与したときの TK、血液凝固バイオマーカー及び臨床病理検査値を比較した（NC-13-0545）。本試験では、1 群雌雄各 5 例のカニクイザルを使用した。投与後、動物を 3 日間観察し、所見の可逆性、持続性又は遅発性を評価した。3 日間、TK 及び血液凝固バイオマーカー測定のための試料を採取した。2 種の製剤について、生死、一般状態、摂餌量、体重変化量、TK、臨床病理検査値、TAT 及び D ダイマーに対する影響を評価した（Table 2 を参照）。

Table 2: NC-13-0545 の試験デザイン

Group	No. of Animals		Dose Level		Volume Administered (mL/kg/day)	Andexanet Dose Concentration (mg/mL)
	Male	Female	mg/kg/dose	mg/kg/day		
1 (Andexanet, liquid)	5	5	30	60	20	3
2 (Andexanet, lyophilised powder)	5	5	30	60	6	10

2.6.6 毒性試験の概要文

アンデキサネット アルファ（遺伝子組換え）

試験期間中、死亡及び特記すべき一般症状はみられず、摂餌量への影響及び体重の2群間の差はなかった。Andexanet の曝露量は液剤及び凍結乾燥製剤で類似したが同一ではなく、再溶解した凍結乾燥製剤を投与したサルにおける曝露量は液剤を投与したサルよりもわずかに高かった（Table 3）。凍結乾燥製剤と液剤との C_{max} 比は、雄で 1.47:1、雌で 1.28:1 であった。AUC₀₋₂₄ 比は雄で 1.32:1、雌で 1.20:1 であった。この差は、凍結乾燥製剤を 10 mg/mL の濃度で投与したことにより、投与用量が少なかったためと考えられた。

Table 3: サルにおける血漿中 andexanet の TK パラメータ（平均値）

NC-13-0545	Formulation	C_{max} (ng/mL)	AUC _{0-∞} (ng*hr/mL)	$t_{1/2}$ (時間)
Males	Liquid	414,000 ± 45,000	755,000 ± 79,400	14.2 ± 2.5
Females		436,000 ± 17,800	743,000 ± 73,800	14.5 ± 1.9
Males	Lyophilised	610,000 ± 48,000	992,000 ± 149,000	8.7 ± 4.7
Females		558,000 ± 62,100	892,000 ± 105,000	10 ± 4.2

Andexanet 投与後の TAT 及び D ダイマーの増加は両群で同程度であった。概して、液剤から凍結乾燥製剤への変更による TK 又は臨床病理検査値への影響はみられず、カニクイザルにおける2種の剤形の同等性が示唆された。

3 反復投与毒性試験

3.1 ラットにおける andexanet の 1 日 2 回 2 週間静脈内投与毒性及び TK 試験並びに 4 週間回復性試験

雌雄 CrI:CD (SD) ラットを 4 つの毒性試験（サブグループ 1）群及び TK 試験（サブグループ 2）群に割り付け（Table 4 参照）、0、6、20 及び 60 mg/kg/day の用量の andexanet を等分し、1 日 2 回静脈内投与した（NC-11-0397 試験）。毒性評価項目として、生死（1 日 2 回）、一般状態観察（1 日 2 回）、体重測定、眼科学的検査（Day 9）、摂餌量測定（週 1 回）並びに臨床病理検査、剖検及び病理組織学的検査を実施した。TK 及び ADA の解析のため血液試料を採取した。

Table 4: NC-11-0397 の試験デザイン

Group	Subgroup	No. of Animals		Andexanet Dose Level		Andexanet 投与濃度 ^b (mg/mL)
		Male	Female	(mg/kg/dose)	(mg/kg/day) ^a	
1	1 (toxicity)	15	15	0	0	0
	2 (TK)	3	3	0	0	0
2	1 (toxicity)	10	10	3	6	0.3
	2 (TK)	9	9	3	6	0.3
3	1 (toxicity)	10	10	10	20	1
	2 (TK)	9	9	10	20	1
4	1 (toxicity)	15	15	30	60	3
	2 (TK)	9	9	30	60	3

^a The two doses of andexanet given each day were approximately 4 hours apart.

^b Dose volume for all groups was 10 mL/kg/dose and 20 mL/kg/day.

計 5 例が投与直後に死亡した。Day 1 に 3 例、Day 12 に 1 例が死亡した。Day 1 に 6 mg/kg/day 群の雌 1 例及び 60 mg/kg/day 群の雌 2 例が死亡し、Day 12 に 60 mg/kg/day 群の雄 1 例が死亡した。4 例の死亡は、投与直後に死亡したこと、投与管のインラインフィルターの接続に緩みが発見され空気が混入した可能性が考えられたことから心臓への空気塞栓によるものと判断された。5 例目（TK 群 6 mg/kg/day の雌）は、投与 24 時間後時点の TK 用採血の直後に死亡した。これら 5 例の死因は andexanet に関連しないと判断され、明確な死因を確立することはできなかった。投与期間中及び回復期間中に andexanet に関連した一般症状はみられず、平均体重、平均摂餌量、眼科学的検査所見、剖検及び病理組織学的検査所見に影響は認められなかった。

Andexanet 投与に関連した臨床病理検査値の変動は、全用量群の雌雄にみられた PT の軽微な延長（溶媒対照と比較して各群で 1 秒以下）のみであった（Day 15 の溶媒対照の PT は雄で 16.5～18.3 秒、雌で 16.8～19.3 秒であった）。この軽微な影響は用量関連性で、回復期間の Day 29 までに消失した。

Day 1 及び Day 14 の andexanet の 0、3、10 及び 30 mg/kg の 2 回目の静脈内投与後に andexanet の TK 測定を実施した。Andexanet の全身曝露量（C_{max} 及び AUC）は検討した各用量に比例し、雌雄で同程度であった（Table 5）。Day 1 及び Day 14 の C_{max} 及び AUC に差はみられず、この投与方法では薬物の蓄積はないことが示された。

Table 5: ラットにおける andexanet の C_{max} 及び AUC (NC-11-0397 試験)

Dose (mg/kg/day)	Study Day	C _{max} (ng/mL)	AUC ^a (ng*hr/mL)
6	1	31,945	26,697
	14	32,499	28,110
20	1	98,411	70,113
	14	135,511	102,534
60	1	407,170	287,762
	14	371,100	321,366

^a AUC on Day 1 is AUC₀₋₂₄ and Day 14 is AUC₀₋₂₄.

すべての andexanet 投与群で Day 14 に ADA が陽性となり、用量関連性がみられた。すなわち、6 mg/kg/day 群の雄 4/10 例及び雌 4/10 例、20 mg/kg/day 群の雄 4/10 例及び雌 4/10 例並びに 60 mg/kg 群の雄 7/14 例及び雌 9/15 例に ADA が検出された。回復期間中 (Day 29 及び Day 42) も雌雄 (雌雄各 5/5 例) の全試料が抗 andexanet 抗体陽性であった。Day 1 及び 14 の C_{max} 及び AUC に差がみられなかったことから、抗体の存在による曝露量への影響はなかった。

以上、andexanet を雌雄ラットに 1 日 2 回 (4 時間間隔) 2 週間静脈内投与した結果、MFD の 60 mg/kg/day の用量まで忍容性は良好であった。全用量群の雌雄で、溶媒対照と比較して PT の軽微な延長 (1 秒以下) が認められたが、andexanet に起因する毒性所見はなかった。全用量群における PT に対する軽微な影響は用量関連性かつ回復性がみられ、出血リスクの増大には至らないと考えられた。これらの所見に基づき、NOAEL は 60 mg/kg/day である。

3.2 カニクイザルにおける andexanet の単独及びリバーロキサバン又はエノキサパリン併用 2 週間静脈内投与毒性及び TK 試験並びに 4 週間回復性試験

雌雄カニクイザルを 8 つの群に割り付け、溶媒対照又は andexanet をそれぞれ単独投与又は FXa 阻害剤のエノキサパリン若しくはリバーロキサバンと併用投与した (NC-11-0394)。試験デザインを Table 6 に示す。

動物 (1 群雌雄各 5 例) には 3 日ごと (Day 1、4、7、10 及び 13) に、andexanet 又は溶媒を約 4 時間間隔で 1 日 2 回、2 分間かけて静脈内投与した。FXa 阻害剤のエノキサパリン及びリバーロキサバンは、andexanet 投与時に C_{max} に達するように andexanet の各投与日の 1 回目投与の 4 時間前に投与した。エノキサパリンは肩甲骨間に皮下投与し (Group 5 及び 6)、リバーロキサバンは強制経口投与した (Group 7 及び 8)。

2.6.6 毒性試験の概要文
 アンデキサネット アルファ (遺伝子組換え)

Table 6: NC-11-0394 の試験デザイン

Group	No. of Animals ^a		Andexanet Dose Level ^b		Enoxaparin or Rivaroxaban Dose Level (mg/kg/day)	Andexanet Dose Concentration (mg/mL)
	Male	Female	(mg/kg/dose)	(mg/kg/day)		
1 (Control)	5	5	0	0	0	0
2 (Low)	5	5	3	6	0	0.3
3 (Mid)	5	5	10	20	0	1.0
4 (High)	5	5	30	60	0	3.0
5 (Enoxaparin + Vehicle) ^c	5	5	0	0	2	0
6 (Enoxaparin + High Dose Andexanet) ^c	5	5	30	60	2	3.0
7 (Rivaroxaban + Vehicle) ^d	5	5	0	0	60	0
8 (Rivaroxaban + High Dose Andexanet) ^d	5	5	30	60	60	3.0

^a Animals designated for recovery necropsy (two animals/sex/group) underwent 4 weeks of recovery following dosing.

^b The two doses of andexanet given each day were approximately 4 hours apart.

^c Animals received 2 mg/kg/day enoxaparin (dose concentration of 100 mg/mL) approximately 4 hours prior to the first bolus administration of andexanet vehicle (Group 5) or andexanet in vehicle (Group 6).

^d Animals received 60 mg/kg/day of the prepared rivaroxaban at a volume of 5 mL/kg (dose concentration of 12 mg/mL) approximately 4 hours prior to the first bolus administration of vehicle for andexanet (Group 7) or andexanet in vehicle (Group 8).

毒性は、一般状態観察 (1日2回)、体重 (週1回)、体温 (投与開始前、Week 2 及び回復期間の最終週)、眼科学的検査 (雄: Day 11 及び雌: Day 9)、臨床病理検査、器官重量、剖検及び病理組織学的検査、ADA 測定 (投与開始前及び Day 13、回復期間の Day 14 及び Day 28 に試料を採取)、ECG 検査 (投与開始前及び Day 10)、JET™システムによる ECG 検査 (投与開始前及び Day 7) 並びに血圧測定 (投与開始前及び Day 10) に基づき評価した。さらに、抗 FXa 活性測定に基づき andexanet の有効性を評価した。血液凝固バイオマーカーとして、RVVT、TAT 及び D ダイマーを測定した。TK 評価のため Day 1 及び Day 13 に血液試料を採取した。

すべての動物が計画剖検まで生存した。一般状態観察において、Day 1 に 60 mg/kg/day andexanet とエノキサパリンの併用投与群の雌 1 例に活動性低下及び努力性呼吸が認められた。これらの影響は一過性であり、頻繁なハンドリングのストレスによるものと考えられ、用量関連性はなく、一貫性はなかったことから毒性所見とは判断しなかった。60 mg/kg/day andexanet 単独投与群の雄 1 例で Day 13 にアナフィラキシー反応が認められた。この動物は、ジフェンヒドラミン 0.25 mL の静脈内投与及びエピネフリン 0.1 mL の筋肉内投与により回復した。

平均体重及び体重増加量、平均体温、眼科学的検査所見、臨床病理検査値、器官重量、剖検及び病理組織学的検査所見、ECG 所見並びに平均血圧には、andexanet の単独投与及びエノキサパリン又はリバーロキサバンとの併用投与による影響は認められなかった。

2.6.6 毒性試験の概要文
アンデキサネット アルファ (遺伝子組換え)

Day 1 及び Day 13 の静脈内投与後に andexanet 及び各 FXa 阻害剤の TK を測定した。Andexanet の曝露量 (C_{max} 及び $AUC_{0-\infty}$) は用量に比例して増加し、いずれの用量 (andexanet 6、20 及び 60 mg/kg/day) でも雌雄で同程度であり、性差はないことが示された (Table 7)。

Table 7: サルにおける andexanet の C_{max} 及び AUC_{0-24} (NC-11-0394 試験)

Dose (mg/kg/day)	Study Day	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{0-\infty}$ (ng*hr/mL)	$NAUC_{0-\infty}$ (ng*hr/mL)/mg	Distribution $t_{1/2}$ (minutes)	Elimination $t_{1/2}$ (hours)
6	1	37,281	69,997	11,666	39.5	3.27
	13	39,685	72,954	12,159	40.5	3.48
20	1	173,279	272,103	13,605	33.3	2.73
	13	162,519	268,663	13,433	36.8	2.98
60	1	484,444	739,611	12,327	30.7	2.46
	13	499,306	832,132	13,869	34.4	2.63
60 (Group 6) + Enoxaparin	1	565,083	788,198	13,137	31.6	2.63
	13	525,579	913,061	15,218	34.0	2.44
60 (Group 8) + Rivaroxaban	1	560,541	797,196	13,287	31.8	2.67
	13	563,017	915,452	15,258	30.9	2.68

曝露量 (C_{max} 及び $AUC_{0-\infty}$) が Day 1 と Day 13 で同程度であったことから、andexanet に蓄積性はないことが示唆された。また、andexanet (60 mg/kg/day) の単独投与群 (Group 4) とエノキサパリン (Group 6) 又はリバーロキサバン (Group 8) 併用投与群との間でも、andexanet の C_{max} 及び $AUC_{0-\infty}$ に明らかな差は認められなかった。用量で補正した曝露量 (NAUC) の差は極めて小さく、曝露量は用量に比例することが示された。分布相半減期は短く、30~40 分であり、消失相半減期は 2.4~3.5 時間であった。

全 andexanet 投与群で ADA が検出され、用量関連性があった。Day 13 までに、6 mg/kg/day 群の 50% (雄 2/5 例、雌 3/5 例) が ADA 陽性となった。回復群の雌 (2 例) はいずれも Day 14 及び Day 28 に ADA 陽性であったが、雄は 1/2 例が Day 14 及び Day 28 に陽性を示した。20 mg/kg/day 群では、Day 13 の時点で雌雄とも 60% (3/5 例) が ADA 陽性となり、回復期間中の Day 14 及び Day 28 には雌雄とも 100% (2/2 例) が ADA 陽性であった。高用量群 (Group 4、andexanet 60 mg/kg/day、雌雄各 5 例) では全例が Day 13 及び回復期間中 (Day 14 及び 28、雌雄各 2 例) に ADA 陽性となった。

エノキサパリンを高用量 andexanet と併用投与した群 (Group 6、雌雄各 5 例) では、Day 13 には全例が ADA 陽性を示し、回復期間の Day 14 及び Day 28 には全例 (4/4) が ADA 陽性を示した (11,304-131、068 RLU)。リバーロキサバンを高用量 andexanet と併用投与した群では、Day 13 には 50% (雄 3/5 例及び雌 2/5 例) が ADA 陽性を示し、回復期間には全例 (4/4) が陽性であった。

要約すると、ADA の発現率は andexanet の用量増加に伴って増加した。エノキサパリンとの併用投与 (Group 5) では ADA の発現率に影響はみられなかったが、andexanet とリバーロキサバンの併用投与では Day 13 の時点で ADA の発現率がわずかに低下した。Day 13 での ADA の存在による andexanet の曝露量 (Table 7) に対する影響はみられず、FXa 阻害剤併用投与群の抗 FXa 活

2.6.6 毒性試験の概要文
 アンデキサネット アルファ (遺伝子組換え)

性に対する andexanet の低減作用にも影響はなかった (Table 8)。

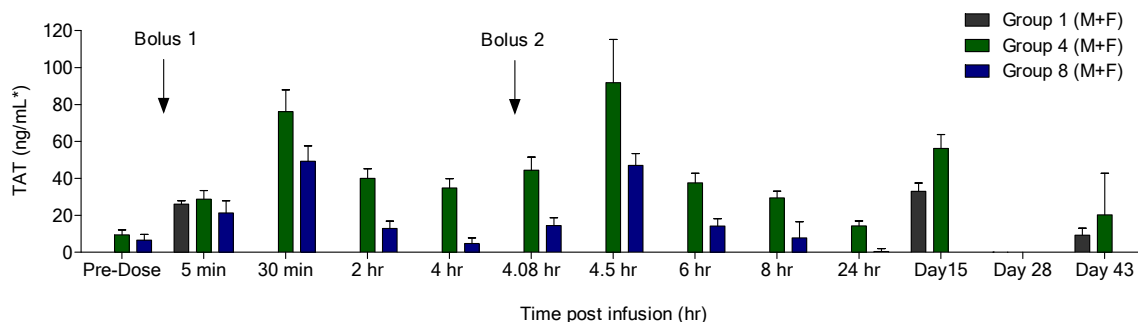
Table 8: Group 5~Group 8 のサルにおける抗 FXa 活性 (NC-11-0394 試験)

Group	Anti-fXa Activity	Day 1		Day 13	
	(Mean ± SD)	Pre-dose	5 minutes	Pre-dose	5 minutes
5 (Enoxaparin)	IU/mL	0.66±0.37	0.49 ± 0.27	0.91 ± 0.16	0.67 ± 0.16
6 (Enoxaparin + Andexanet)	IU/mL	0.56±0.34	0.03 ± 0.00	0.87 ± 0.18	0.03 ± 0.03
7 (Rivaroxaban)	ng/mL	55.9 ± 20.9	43.6 ± 14.7	61.2 ± 25.4	53.0 ± 17.0
8 (Rivaroxaban + Andexanet)	ng/mL	62.5 ± 18.8	0.8 ± 0.4	75.5 ± 28.9	0.7 ± 0.7

最初の測定では TAT 及び D ダイマーに変化は認められなかったが、追加検討の結果、最初の測定に用いたヒト TAT 及び D ダイマー用に開発された測定法はサルのタンパク質フラグメントと交差反応性がないことが判明した。その後、変更された測定法を用いて限定的な試料で TAT 及び D ダイマーを再測定した。すなわち、溶媒対照群 (Day 1 及び Day 13 の投与前並びに Day 15、Day 28 及び Day 43 の回復期間動物からの各 1 試料)、andexanet 高用量群 (Day 1 及び Day 13 の複数時点並びに Day 15 及び Day 43 の回復期間動物からの各 1 試料) 及び andexanet 高用量とリバーロキサバン併用投与群 (Day 13 のみの複数時点) (NC-11-0394-R0004) の試料を再測定した。Andexanet 投与群では投与後 0.5 時間までに TAT が増加し、投与後 24 時間までにほぼ投与前値に戻った (Figure 1)。D ダイマーは andexanet 投与後 0.5 時間までに投与前値より高値を示し、投与後 24 時間まで増加が継続した。D ダイマーはその後の回復期間中に低下し、回復期間終了の Day 43 までに投与前値以下に低下した (Figure 2)。Day 13 の投与前値は Day 1 の投与前値と同程度であったため、反復投与試験中に TAT 及び D ダイマーは蓄積しないと考えられた。TAT 及び D ダイマーの値はいずれも、リバーロキサバンを併用投与したサルの方が低かった。F1+2 濃度を評価するために試料を採取したが、サルの F1+2 を検出できる測定法は確認できなかった (NC-12-0472 試験)。

2.6.6 毒性試験の概要文
 アンデキサネット アルファ（遺伝子組換え）

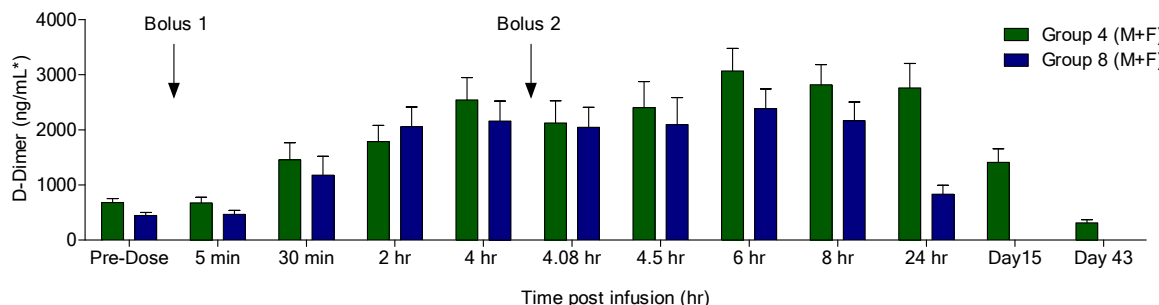
Figure 1: NC-11-0394 試験の Group 4 (andexanet 単独) 及び Group 8 (andexanet+リバーロキサバン) における Day 13~43 の TAT 値



*based on human TAT standard

Note: Data are shown as mean ± SEM.

Figure 2: NC-11-0394 試験の Group 4 (andexanet 単独) 及び Group 8 (andexanet+リバーロキサバン) における Day 13~43 の D ダイマー値



*based on human D-dimer standard

Note: Data are shown as mean ± SEM.

これらの血液凝固バイオマーカーの増加によるリスクを更に評価するため、以前に検討した高用量群及び溶媒対照群の動物から採取した組織について、フィブリン沈着の染色感度が高いPTAH染色により再評価した。PTAH染色検査の結果、2個の小血栓が溶媒対照群の雌1例及びandexanet高用量群の雌1例にそれぞれ認められた。通常のHE染色による当初の評価では、低用量群の雄ザルの肺血管内に1個の血栓が認められたのみであった。これらの血栓はすべて微小細動脈内に認められた。

以上のとおり、雌雄サルへのandexanetを単独（4時間間隔で1日2回静脈内投与）又はエノキサパリン若しくはリバーロキサバンの前投与との併用による2週間投与は、60 mg/kg/day (MFD)までの用量で忍容性良好であった。一般症状として、活動性低下及び口からの透明分泌物がandexanet 60 mg/kg/day 単独投与群の雄1例に認められ、andexanet 60 mg/kg/day とエノキサパリン（2 mg/kg/dose）併用投与群の雌1例に活動性低下及び努力性呼吸が認められたが、一過性であり毒性所見とは判断しなかった。また、60 mg/kg/day 群の雄1例では、最終投与後にアナフィラキシーが認められた。この所見は被験物質関連性であるが、ヒトでは発現しないと予想される。しかし、健康被験者で抗体の発現をモニタリングした。

TAT及びDダイマーの一過性の増加が認められ、この増加の程度はリバーロキサバンとの併用投与で軽減した。TAT及びDダイマーの増加は血栓塞栓形成と関連しないことが病理組織学的検

2.6.6 毒性試験の概要文
 アンデキサネット アルファ (遺伝子組換え)

査によって確認された。肺の小血栓が3例で認められ、溶媒投与群の1例 (PTAH 染色)、低用量群の1例 (通常の HE 染色) 及び高用量群の1例 (PTAH 染色) で認められた。被験物質を静脈内投与した動物では、小血栓が高頻度に認められる^{2),3)}。本試験を実施した委託試験施設では、被験物質を静脈内投与した対照動物で血栓の発現率が0%~40%であった。回復群の動物に血栓が認められなかったことは、血栓が小さく、静脈内投与との関連性があることと一致した²⁾。以上の所見に基づき、本試験の NOAEL は 60 mg/kg/day と考えられ、この用量における Day 13 の C_{max} 及び AUC_{0-∞}の平均値はそれぞれ 499,306 ng/mL 及び 832,132 ng•hr/mL であった。

3.3 カニクイザルを用いた andexanet の単独及びアピキサバン又は betrixaban との併用による2週間静脈内投与毒性及びTK試験並びに4週間回復性試験

Andexanet 投与の2回目の2週間試験 (NC-12-0417) を実施し、さらに FXa 阻害剤2種 (アピキサバン又は betrixaban) の存在下で andexanet を投与したときの毒性の可能性を評価した。先行試験 (NC-11-0394) で andexanet 単独投与を評価したことから、本試験では過去に試験した最高用量の andexanet とアピキサバン又は betrixaban との併用投与のみを評価した。対照群にはアピキサバン又は betrixaban と andexanet の溶媒を投与した。試験デザインを Table 9 に示す。

動物に andexanet (30 mg/kg) 又は andexanet の溶媒を3日ごと (Day 1、4、7、10 及び 13) に1日2回、約4時間間隔 (計 60 mg/kg/day) で、2分間かけて静脈内投与した。アピキサバン又は betrixaban は、andexanet 投与時に C_{max} に達するように、andexanet の各投与日の1回目投与の2時間前に投与した。アピキサバン及び betrixaban はいずれも1日1回強制経口投与した。

Table 9: NC-12-0417 の試験デザイン

Group ^a	No. of Animals ^b		Andexanet Dose Level ^c		Apixaban or Betrixaban Dose Level (mg/kg/day)	Andexanet Dose Concentration (mg/mL)
	Male	Female	mg/kg/dose	mg/kg/day		
1 (Apixaban + Vehicle)	5	5	0	0	0.75	0
2 (Apixaban + High Dose Andexanet)	5	5	30	60	0.75	3.0
3 (Betrixaban + Vehicle)	5	5	0	0	1.5	0
4 (Betrixaban + High Dose Andexanet)	5	5	30	60	1.5	3.0

^a Groups 1 and 3 received apixaban or betrixaban (administered by oral gavage approximately 2 hours prior to the first bolus IV administration of vehicle control).

^b Animals designated for recovery necropsy (two animals/sex/group) underwent 4 weeks of recovery following dosing.

^c The two doses of andexanet were administered approximately 4 hours apart every third day.

毒性は、一般状態観察 (1日2回)、体重 (週1回)、体温 (投与前、投与期間の Day 14 及び回復期間中 Day 27)、眼科学的検査 (投与前及び Day 9)、臨床病理検査 (投与前及び安楽死前)、剖検及び病理組織学的検査、ADA 測定 (投与前、Day 1 及び Day 13、回復期間の Day 14 及び Day 28)

2.6.6 毒性試験の概要文

アンデキサネット アルファ (遺伝子組換え)

並びに ECG 検査 (投与前、Day 10 及び回復期間最終週) に基づき評価した。本試験中、血液凝固バイオマーカーの RVVT 及び D ダイマーも評価した。抗 FXa 活性をモニタリングし、andexanet の活性を評価した (Table 10)。TK 評価のため血液試料を採取した。

Andexanet とアピキサバン又は betrixaban との併用投与群では、andexanet の溶媒とアピキサバン又は betrixaban との併用投与群と比較して、体重、体温、眼科学的検査結果、臨床病理検査値、器官重量、剖検所見、病理組織学的検査所見及び ECG 所見に影響はみられなかった。

Andexanet 投与により、アピキサバン及び betrixaban の平均抗 FXa 活性はいずれも顕著に低下した (Table 10)。andexanet 60 mg/kg の投与により、Day 1 及び Day 13 のいずれにおいても、両 FXa 阻害剤の抗 FXa 活性は投与前値と比較して 90%以上低下した。

2.6.6 毒性試験の概要文
 アンデキサネット アルファ (遺伝子組換え)

Table 10: NC-12-0417 試験における抗 FXa 活性

Group	Anti-fXa Activity	Day 1		Day 13	
	(Mean ± SD)	Pre-dose	5 minutes	Pre-dose	5 minutes
1 (Apixaban)	ng/mL	195 ± 109	228 ± 147	191 ± 54	234 ± 162
2 (Apixaban + Andexanet)	ng/mL	128 ± 66	2.2 ± 0.3	150 ± 74	2.4 ± 1.6
3 (Betrixaban)	ng/mL	65 ± 29	51 ± 21	53 ± 21	47 ± 12
4 (Betrixaban + Andexanet)	ng/mL	65 ± 21	2.5 ± 0.9	54 ± 12	3.4 ± 3.0

Andexanet の曝露量 (C_{max} 及び $AUC_{0-\infty}$) は雌雄で同程度であり、Day 1 及び Day 13 (Table 11) でも同程度であったことから、先行試験でみられたように性差はなく、蓄積性もなかった。60 mg/kg 投与後の C_{max} 及び $AUC_{0-\infty}$ は、同用量で以前に観察された値と同程度であった (NC-11-0394 試験)。 C_{max} 及び $AUC_{0-\infty}$ は Day 1 から Day 13 まで変化しなかったことから、Day 1 から Day 13 まで蓄積も消失促進もないと考えられた。

Table 11: サルにおける andexanet の C_{max} 及び $AUC_{0-\infty}$ (NC-12-0417 試験)

Study Group	Study Day	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{0-\infty}$ (ng*hr/mL)	NAUC _{0-∞} (ng*hr/mL/mg)	Distributio	Eliminatio
					n $t_{1/2}$ (minutes)	n $t_{1/2}$ (hours)
2 (Apixaban + 60 mg/kg Andexanet)	1	594,057	1,141,755	19,029	32.1	2.35
	13	639,003	1,184,200	19,737	33.3	2.42
4 (Betrixaban + 60 mg/kg Andexanet)	1	567,964	989,988	16,500	27.3	2.55
	13	570,588	1,019,360	16,989	28.3	2.58

溶媒対照群では全測定時点で ADA は検出されなかったが、andexanet 投与群の 1 例は Day 1 に偽陽性を示し、閾値をわずかに上回った (179 RLU、閾値 175 RLU)。Day 13 までに、andexanet 投与動物の 60% (Group 2 : 7/10 例、Group 4 : 5/10 例) が ADA 陽性となった。Day 28 及び Day 42 (回復期間中 Day 14 及び Day 28) にも、アピキサバン+andexanet 投与群 (Group 2) の 3/4 例並びに betrixaban+andexanet 投与群 (Group 4) の 4/4 例が ADA 陽性であった。これらの抗体が TK を変化させる徴候はなかった (Table 10)。また、andexanet は Day 1 及び Day 13 にアピキサバン及び betrixaban の投与による血液凝固阻害を同程度に無効化したことから、これらの抗体が andexanet による抗 FXa 活性無効化を阻害することはないと考えられた。

結論として、雌雄のサルに andexanet を単独投与又はアピキサバン若しくは betrixaban と 2 週間併用投与したところ、60 mg/kg/day (MFD) まで忍容性は良好であった。本試験では、一般状態の変化も病理学的所見も認められなかった。これらの結果に基づき、andexanet の NOAEL は先行試験と同様に 60 mg/kg/day であった。

3.4 カニクイザルにおける FXa 阻害剤アピキサバン併用及び非併用下での

andexanet の GLP 適用 2 週間静脈内投与毒性試験並びに 4 週間回復性試験

Andexanet の 3 回目の 2 週間投与試験 (NC-16-0757) を実施し、FXa 阻害剤アピキサバン併用及び非併用下での Generation 2 andexanet (大規模製造工程) の毒性を評価した。本試験では Generation 1 andexanet 原薬の NOAEL である 60 mg/kg/day の 1 用量で評価した。対照群には andexanet の溶媒を投与した。Generation 2 andexanet とアピキサバンの併用投与の目的は、andexanet の抗 FXa 活性の無効化並びに andexanet 投与後の TAT 及び D ダイマーの変化に対する FXa 阻害剤併用投与の影響を評価することであった。Group 4 では、Generation 1 製剤と Generation 2 製剤の TK を比較するため、Day 1 に Generation 1 andexanet を 2 回投与した。試験デザインを Table 12 に示す。

Group 1~3 の動物に andexanet (30 mg/kg) 又は andexanet の溶媒を 3 日ごと (Day 1、4、7、10 及び 13) に約 4 時間間隔で 1 日 2 回、1 回 2~3 分間かけて静脈内投与した (計 60 mg/kg/day)。アピキサバンは、andexanet 投与時にほぼ C_{max} に達するように、andexanet の各投与日の 1 回目投与の 2 時間前に投与した。アピキサバンは andexanet 投与日に強制経口投与した。

Table 12: NC-16-0757 試験デザイン

Group ^a	No. of Animals ^b		Andexanet Dose Level ^c		Apixaban Dose Level (mg/kg/day)	Andexanet Dose Concentration (mg/mL)
	Male	Female	mg/kg/dose	mg/kg/day		
1 Vehicle	5	5	0	0	0	0
2 Andexanet Gen 2	5	5	30	60	0	10.0
3 Andexanet Gen 2 + Apixaban	5	5	30	60	0.75	10.0
4 Andexanet Gen 1 (Day 1 only)	5	5	30	60	0	10.0

^a Group 3 received apixaban administered by oral gavage approximately 2 hours prior to the first bolus IV administration of andexanet Gen 2.

^b Animals designated for recovery necropsy (two animals/sex/group) underwent 4 weeks of recovery following dosing.

^c The two doses of andexanet were administered approximately 4 hours apart every third day.

毒性は、一般状態観察、体重、摂餌量、ECG 検査、眼科学的検査、臨床病理検査値、TK、ADA、TAT 及び D ダイマーの測定、剖検、器官重量並びに病理組織学的検査に基づいて評価した。アピキサバン投与動物では抗 FXa 活性をモニタリングし、andexanet の活性を評価した (Table 13)。TK 評価のため Day 1 及び Day 13 に血液試料を採取した。

アピキサバン併用下又は非併用下で Generation 2 andexanet を投与したところ、andexanet 溶媒対照群と比較して、体重、体温、眼科学的検査所見、臨床病理検査値、器官重量、剖検所見、病理組織学的検査所見及び ECG 所見に対する影響は認められなかった。2 週間投与後の計画剖検動物において、Generation 2 andexanet とアピキサバンの併用投与群及び Generation 2 andexanet 単独投与群のそれぞれ 2/6 例に、肺の微小細動脈に小血栓 (1 病変) が認められた。溶媒対照群に血栓は認められなかった (0/6 例)。血栓のうち 3 病変は HE 染色による通常の検査で観察され、別の 1 病変は血栓の検出感度が高いトリクロム特殊染色による検査で認められた (HE 染色で認められた血栓 1 病変も確認された)。HE 染色による血栓検出率 (3/18 例) は、試験を実施した委託試験施設で被験物質の反復静脈内投与を受けた対照群の背景値 (6/66 例) よりもわずかに高かった。

2.6.6 毒性試験の概要文
 アンデキサネット アルファ (遺伝子組換え)

しかし、この発現率は 1 回目の試験実施施設の溶媒対照群で認められた血栓発現率 (0%~40%) の範囲内であった。2 週間投与後の計画剖検動物の微小細動脈に認められた小血栓は、回復期間終了時に剖検したいずれの群の動物にも認められなかったことから、小血栓は andexanet 投与後数時間で消失する可能性が高いことが示唆された。被験物質を静脈内投与した動物では肺血栓の発現率が上昇することが知られているため²⁾⁻⁴⁾、観察された血栓が andexanet の投与に起因するとは断定できず (NC-16-0757)、肺血栓の存在と大きさは全身から血液を受け取る肺血管床の濾過機能を反映したものと考えられた。観察された所見は、サルにおいて静脈内投与後に肺毛塞栓症の発生頻度の増加が認められるが、一般に回復期間中に消失するとの報告²⁾とも一致する。1 回目のサル 2 週間投与試験 (NC-11-0394) を評価した認定病理専門家による病理組織学的検査所見のピアレビューの結果、本試験で認められた血栓の大きさ及び発現箇所 (微小細動脈) は、1 回目の試験で溶媒対照群に認められた血栓と同様であることが確認された (NC-16-0757)。

Group 3 では、andexanet 投与によりアピキサバンの抗 FXa 活性平均値が顕著に低下した (Table 13)。この表から、Day 1 及び Day 13 のいずれにおいても、andexanet 60 mg/kg の投与により、アピキサバン併用投与群の抗 FXa 活性は投与前値と比較して 95%以上低下したことが示される。

Table 13: Generation 2 andexanet とアピキサバンの併用投与群における抗 FXa 活性 (NC-16-0757 試験)^a

Animals	Day 1		Day 13	
	Pre-dose	Post-dose (5 minutes)	Pre-dose	Post-dose (5 minutes)
Male	107.9 ± 22.4	2.7 ± 1.6	161.5 ± 50.9	6.5 ± 5.7
Female	121.6 ± 43.5	2.3 ± 1.8	88.0 ± 15.6	2.3 ± 1.2
All	114.7 ± 33.4	2.5 ± 1.6	124.7 ± 52.5	4.4 ± 4.5
% Reversal ^b	97.8		96.5	

^a Anti-fXa was expressed as ng/mL (Mean ± SD).

^b %Reversal = (1 - Post-dose/Pre-dose) * 100.

Day1 における Generation 2 andexanet の C_{max} 及び AUC_{0-∞} は、Generation 1 andexanet で認められた値と類似し、2 つの製造工程間の同等性が示された。Generation 1 andexanet/Generation 2 andexanet の AUC_{0-τ} 比は 1.02 であり、C_{max} 比は 1.03 であった。同用量を投与した場合の経時的な濃度推移の類似性を Figure 3 に示す。過去の毒性試験で認められたように、Day 1 及び Day 13 における andexanet の曝露量 (C_{max} 及び AUC_{0-∞}) は雌雄で同程度であったため (NC-16-0757)、合算した数値を示す (Table 14)。60 mg/kg/day 投与後の C_{max} 及び AUC_{0-∞} は、先行試験 (NC-11-0394 試験及び NC-12-0417 試験) で認められた値と同程度であった。アピキサバン併用下の Generation 2 andexanet の Day 1 の C_{max} 及び AUC_{0-∞} は、Generation 2 andexanet の単独投与時より高値を示した。しかし、Day 13 の値は類似しており、FXa 阻害剤が andexanet の曝露量に及ぼす影響はほとんどないことが示された。Group 2 (Generation 2 andexanet 単独投与群) の Day 1 と Day 13 の C_{max} 及び AUC_{0-∞} はほぼ同等であり、Day 1 から Day 13 までの蓄積及び消失促進はほとんどないと考えられた。

Figure 3: カニクイザルに andexanet 30 mg/kg を Day 1 に 2 回静脈内投与した場合の Generation 2 andexanet と Generation 1 andexanet の平均血漿中濃度

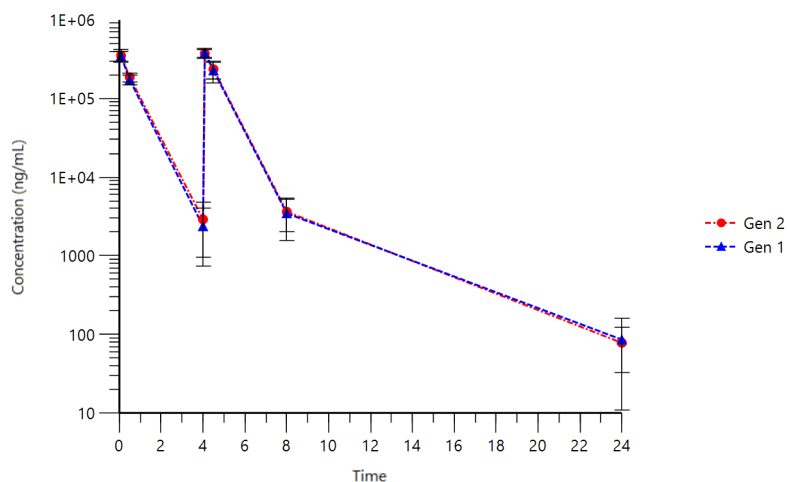


Table 14: サルにおける andexanet の C_{max} 及び $AUC_{0-\infty}$ (NC-16-0757 試験)

Study Group	Study Day	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-t} (ng*hr/mL)	$NAUC_{0-t}$ (ng*hr/mL/mg)
2 (Andexanet Generation 2)	1	399,000	1,070,000	17,900
	13	544,000	1,270,000	21,100
3 (Andexanet Generation 2 + Apixaban)	1	679,000	2,090,000	34,900
	13	463,000	1,240,000	20,700
4 (Andexanet Generation 1)	1	398,000	1,020,000	17,000

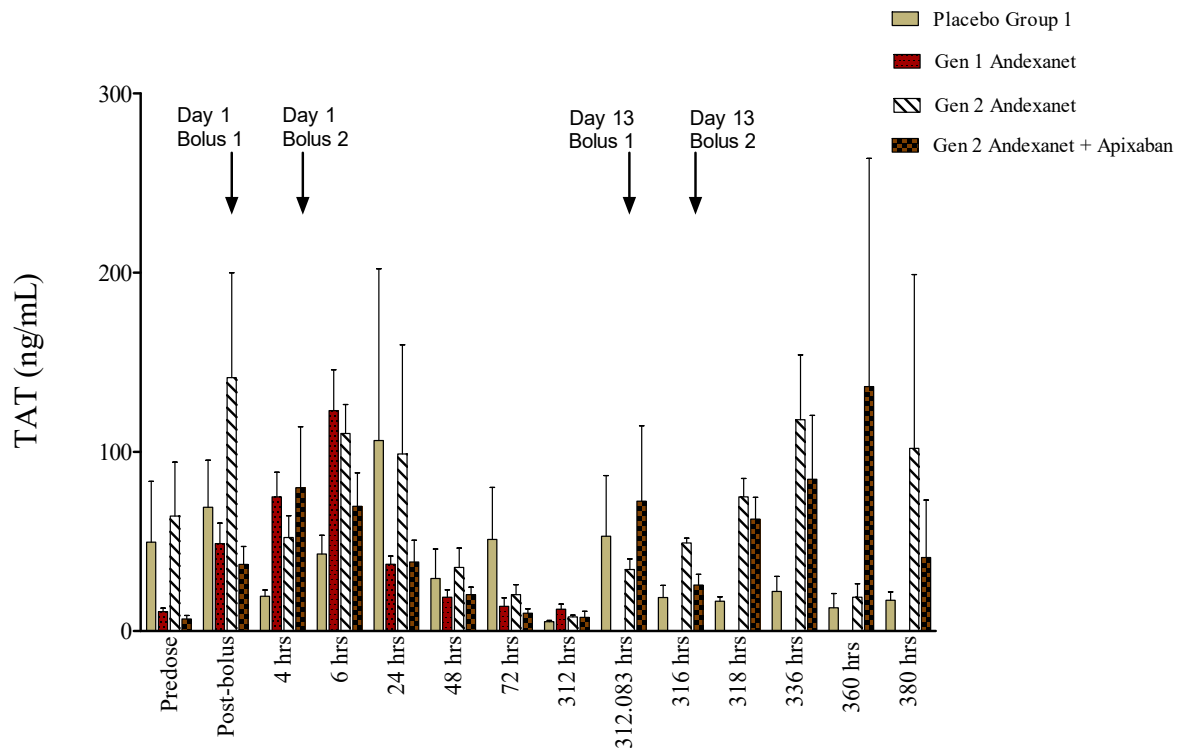
溶媒対照群では、評価したすべての時点で ADA 陽性を示した個体はなかった。Day 13 までに、andexanet 投与動物の 55% (Group 2 : 6/10 例、Group 3 : 5/10 例) が ADA 陽性となった。Day 42 では、Generation 2 andexanet 単独投与群 (Group 2) の 3/4 例及びアピキサバン+ Generation 2 andexanet 投与群 (Group 3) の 3/4 例が ADA 陽性であった。これらの結果は、サルに Generation 1 andexanet を投与した先行試験の所見と一致した。これらの抗体が TK を変化させる徴候はなかった (Table 14)。また、andexanet はアピキサバンに起因する凝固阻害を Day 1 と Day 13 で同程度に無効化し、ADA による andexanet の抗 FXa 活性無効化作用への影響はみられなかった。

Generation 2 andexanet 投与後の TAT 濃度の変化は、Generation 1 andexanet 投与後の変化と同程度であった (Figure 4)。Generation 1 andexanet 並びに Generation 2 andexanet の両コホート (アピキサバン併用下及び非併用下) では、andexanet の初回静脈内投与直後に TAT が増加した。TAT の増加は 2 回目の投与後も持続したが、初回投与の 48 時間後までに投与前値に復した。先行試験で認められたように、アピキサバンの併用投与により TAT への影響は低減した。Generation 2 andexanet と Generation 1 andexanet の TAT への影響は類似した。Day 13 の TAT 値は Day 1 と同程度であり (Figure 4)、andexanet の速やかなクリアランスと TAT 値の変化が持続しないことを反映するものであった。TAT は標準誤差が大きいことからわかるように、ばらつきが大きい、以上の結果から、Generation 1 と Generation 2 の andexanet の反応が同等であり、カニクイザルにお

2.6.6 毒性試験の概要文
 アンデキサネット アルファ (遺伝子組換え)

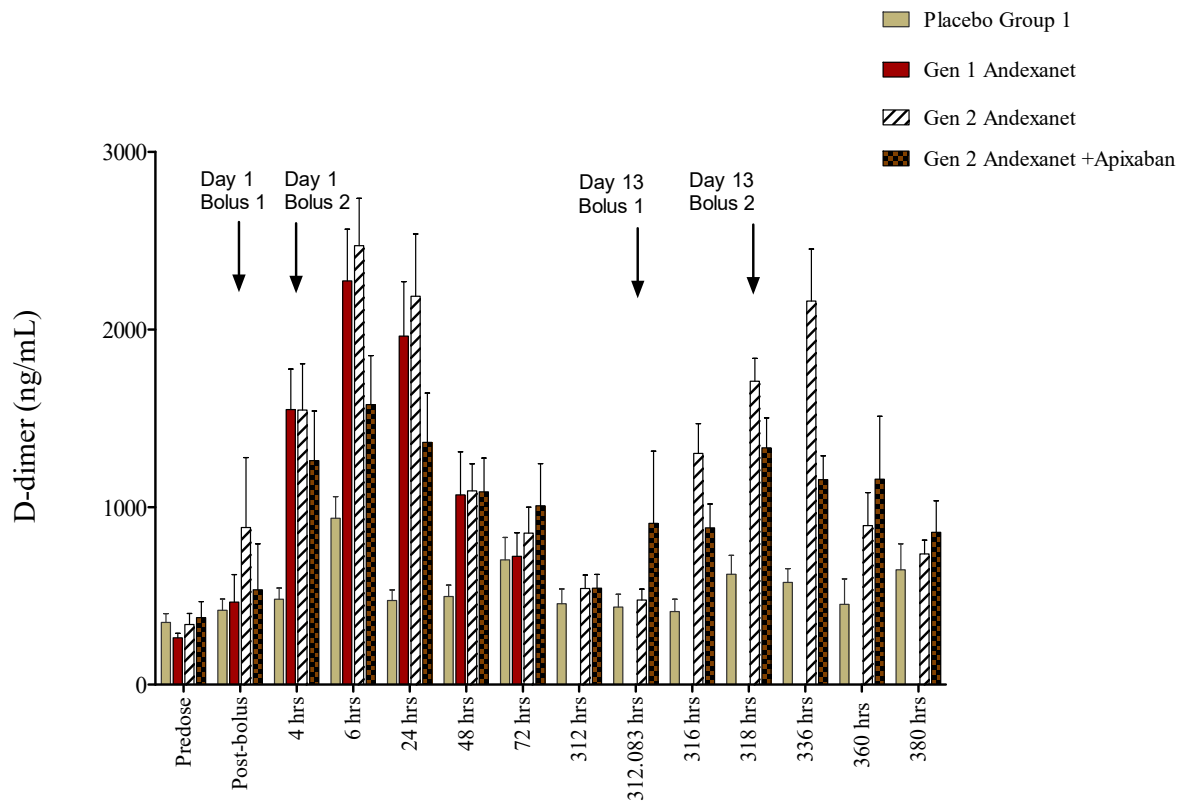
いて2つの製造工程により製造された andexanet は同じプロファイルを示すことが確認された。

Figure 4: Generation 1 又は Generation 2 andexanet 投与群を溶媒対照群と比較した NC-16-0757 試験における TAT の平均値及び標準誤差



D ダイマーは TAT と同じ時点で測定した。D ダイマーの変化はすべての時点で Generation 1 と Generation 2 の andexanet で同程度であり、Day 1 の 1 回目の静脈内投与後にわずかな初期増加が認められ、2 回目の静脈内投与後にはさらに大幅に増加した。D ダイマーの最高値は 1 回目投与の 24 時間後に認められ、48 時間後までに低下した。先行試験で認められたように、アピキサバンとの併用投与により、Generation 2 andexanet 投与後の D ダイマーの最高値はわずかに低下した。Generation 2 andexanet 投与の Day 13 の結果は、Day 1 の結果と類似し (Figure 5)、D ダイマーは 2 回目の投与直後に最高値に達した。Generation 2 andexanet をアピキサバンと併用投与したサルでは、Generation 2 andexanet を単独投与したサルと比較して D ダイマーの増加の程度がわずかに少なかった。Day 13 の D ダイマーの増加程度は、1 回目の反復投与毒性試験 (NC-11-0394) で認められた変化と同程度であり、Generation 1 と Generation 2 の andexanet に対する反応が同等であることが他の試験の結果からも確認された。

Figure 5: アピキサバン併用下又は非併用下における Generation 1 又は Generation 2 andexanet 投与後の D ダイマーの推移



以上より、雌雄サルへの Generation 2 andexanet 単独又はアピキサバンとの併用による 2 週間投与における毒性所見、血液凝固バイオマーカー (TAT 及び D ダイマー) の変動、TK 及び PD (抗 FXa 活性) は Generation 1 andexanet 投与の結果と類似しており、Generation 1 andexanet の NOAEL である 60 mg/kg/day の用量で優れた忍容性がみられた。これらの所見に基づき、Generation 2 andexanet の NOAEL は Generation 1 andexanet を投与した先行試験と同様に 60 mg/kg/day と考えられた。本試験の成績とカニクイザルを用いて Generation 1 andexanet の安全性を評価した先行試験 (NC-11-0394 及び NC-12-0417) の成績との比較に基づき、Generation 1 andexanet と Generation 2 andexanet は同等である。

4 遺伝毒性試験

ICH ガイドライン S6 に従い、andexanet を用いた遺伝毒性試験は不要と考えられた。Andexanet は、標準的な医薬品に対する懸念の原因となる有機結合分子を有さない標準的なバイオテクノロジー応用タンパク質である。

5 がん原性試験

FDA は、■■■■の会議（20■■年■■月■■日）において、andexanet のがん原性試験は不要であるが、andexanet のがん原性に関するリスクアセスメントを提出すべきであることに同意した。同様に、CHMP との対面助言（Scientific Advice meeting、20■■年■■月■■日）において、ICH ガイドライン M3（R2）に従い、予定される適応症において andexanet の投与期間が短いこと及び医薬品の種類 [バイオテクノロジー応用医薬品、ICH ガイドライン S6（R2）] を考慮すると、がん原性試験は不要であることについて合意を得た。

Andexanet は、直接作用型又は間接作用型 FXa 阻害剤の中和剤として設計されたバイオテクノロジー応用医薬品であり、単回投与される。内在性タンパク質である FXa は、血液凝固カスケードでプロトロンビンを IIa に変換する重要な役割を果たす。次に、IIa はフィブリノーゲンからフィブリンへの変換を触媒し、血液凝固促進因子 V、VIII、XI 及び XIII を活性化する。プロトロンビンが IIa に変換されないと、凝固が阻害され、制御不能な出血が生じる可能性がある。直接作用型及び間接作用型 FXa 阻害剤は抗凝固薬であり、血管内血栓形成などの血栓イベントのリスクが高い患者に適応される。望ましくない抗凝固療法の転帰は、制御不能な出血リスクの上昇である。また、andexanet の半減期は短い（消失半減期 4～5 時間）。

Andexanet は遺伝子組換えヒト FXa であり、ヒト FXa の酵素活性を欠如するように改変されている。Andexanet は FXa 阻害剤と高い親和性を持って結合する能力を保持しているため、FXa 阻害剤と内在性 FXa との結合を阻害し、抗凝固作用を無効化する。Andexanet を不活性化するため、内在性ヒト FXa に対して 2 つの主要な改変を行った。第 1 に、活性部位のセリン残基をアラニンに置換しているため、タンパク質の触媒活性がない。第 2 に、Gla ドメインがなく、プロトロンビナーゼ複合体への取り込みが起こらないため、抗凝固作用がない。

FXa の作用機序に関与する血液凝固カスケードに関する利用可能なデータ及び文献情報を慎重に検討した結果、andexanet の発がんリスクは低いと考えられる。

したがって、がん原性に関する非臨床評価は不要と考えられる [ICH ガイドライン S1A、S1C 及び S6（R1）]。この結論の根拠を以下に列挙する。

- 1) Andexanet の予定される用法用量は、FXa 阻害剤を使用している患者の制御不能な出血を止めることを目的とした単回投与である。したがって、andexanet の曝露量は andexanet の由来分子である FXa の内因性濃度よりはるかに高い濃度であるが、投与は 1 回である。Andexanet の消失半減期は短く（4～5 時間）、蓄積性の懸念がない。また、この分子はヒト FXa と類似するが同一ではないタンパク質製剤である。
- 2) FXa 由来のタンパク質製剤は DNA 反応性分子ではなく、細胞増殖を変化させるエピジェネティックな影響は示さないと考えられる⁵⁾。
- 3) その構造は FXa と類似し、薬理作用は FXa と同様であると予測されることから、andexanet が、免疫調節作用や免疫抑制作用を有する可能性は低く、免疫調節作用のある生物由来製剤で認められるような発がんリスクの上昇をもたらす可能性は低いと考えられる^{5),6)}。
- 4) andexanet の安全性評価には、タンパク質製剤で通常実施される評価のほか、潜在的な毒性を明らかにする血液凝固バイオマーカーの追加測定を含めた。通常の毒性評価項目及び血液凝固バイオマーカーのいずれにおいても、andexanet が患者の発がんリスクを増加させることを示す所見はみられなかった。

用量及び曝露期間

Andexanet は単回投与であり、投与中止後、andexanet は速やかに消失する。Andexanet の消失半減期は 4～5 時間である（12-502 試験）。Andexanet の見かけの分布容積は極めて小さく、血管内（中央）コンパートメントにほぼ等しいことから、andexanet は中央コンパートメント外には分布しないことが示唆される。2 種類の予定臨床用量、すなわち 400 mg のボラス投与後に 480 mg を 4 mg/分で 2 時間静脈内投与する（総用量 880 mg）、又は 800 mg のボラス投与後に 960 mg を 8 mg/分で 2 時間静脈内投与する（総用量 1,760 mg）の場合、平均最高血中濃度はそれぞれ約 2 $\mu\text{mol/L}$ 及び約 4 $\mu\text{mol/L}$ である。これらの andexanet 濃度は内因性 FXa の通常の生理学的濃度よりも顕著に高いが、曝露期間は極めて短い。確立されている FXa の薬理学的特性から、高濃度の FXa 類似体への短時間の曝露が血管系の細胞の増殖に影響を及ぼす可能性は低いと考えられる。

薬理学的作用によるリスク

Andexanet は直接作用型 FXa 阻害剤に選択的に結合する。Andexanet は、低分子量ヘパリンと相互作用しているアンチトロンビン III（ATIII）とも結合するが、ATIII 単独には結合しない。Andexanet と相互作用するその他の凝固タンパク質は、血液中及び内皮細胞表面に存在する組織因子経路インヒビター（TFPI）のみである。Andexanet の TFPI に対する結合親和性は、FXa より 2.7～5.0 倍低い（NC-12-0461）。Andexanet の主な薬理学的標的は、内因性分子ではなく直接作用型 FXa 阻害剤であり、andexanet による阻害作用は、各種細胞の増殖能又は増殖調節を変える薬理学的機能に干渉しない。これらの望ましい薬理学的結合による相互作用は血液凝固に影響を及ぼす可能性があるが、発がんリスクを上昇させることはないと考えられる。

分子構造によるリスク

Andexanet はアミノ酸で構成されるバイオテクノロジー応用医薬品であり、遺伝子組換えヒト FXa である。本剤はボラス投与後持続静脈内投与される。PK 試験の結果から、andexanet は血管コンパートメントのみに分布して速やかに排泄され、消失半減期は約 4～5 時間である。Andexanet の分解物はアミノ酸の小さな断片であり、腎臓から排泄されることが考えられ（NC-12-0443）、FXa の分解物と同様各種細胞の増殖に影響を及ぼさないと考えられる。

毒性によるリスク

ラット及びカニクイザルを用いた反復投与試験で andexanet の毒性を評価した。Andexanet の忍容性は良好であり、両動物種とも NOAEL は MFD の 60 mg/kg/day であった。両動物種で ADA が検出された。これらの抗体は andexanet の活性を中和しなかった。臨床試験で FX 及び FXa に対する抗体が存在しないことに基づくと、内因性類似タンパク質と交差反応しない ADA の一過性の存在は、重大な毒性リスクや特異的な発がんリスクを有さない。また、andexanet はアミノ酸で構成されるバイオテクノロジー応用医薬品であり、発がんリスクと関連する DNA や染色体との直接相互作用を有さない。

要約

以上のとおり、andexanet は FXa 由来のバイオテクノロジー応用遺伝子組換えタンパク質である。Andexanet は、望ましい治療効果を得るために必要な最小限の生物学的相互作用を目的として特別に設計された。Andexanet は単回投与製剤として予定されているため、曝露期間は限定的

2.6.6 毒性試験の概要文 アンデキサネット アルファ (遺伝子組換え)

である。静脈内投与後、andexanet の分布は血管内コンパートメントに留まり、大部分の器官系との相互作用はほとんどないと考えられる。Andexanet は 2 つの内因性分子のみと結合する。すなわち、ATIII が低分子量ヘパリンと相互作用している場合のみ結合する ATIII 及び FXa よりも低い結合親和性で結合する TFPI である (NC-12-0461)。

ラット及びサル の反復投与試験で、FXa 阻害剤の存在下及び非存在下で MFD の andexanet を投与したところ、中和作用のない抗体が産生された。試験期間中にこれらの抗体による andexanet の TK の変化や薬理作用への干渉はみられなかった。Andexanet は投与後速やかに消失し、低分子量ペプチド断片に分解されて腎臓から排泄されるか (NC-12-0443) 又は生理的プロセスを経て体内で分解されると推察される。

Andexanet は単回使用される生物学的製剤であり、細胞増殖を促進・変化させる作用はない。非臨床試験又は臨床試験において、andexanet を単回又は反復投与した結果、この救命治療を受ける患者に andexanet の曝露による発がんリスクの上昇を示唆する所見は認められていない。科学的な重要度に基づく検討により、通常非臨床がん原性試験による評価を行っても andexanet の有用な情報は得られないという考えが裏付けられる。

6 生殖発生毒性試験

Andexanet の生殖発生毒性試験は FDA（20■■年■■月■■日）及び CHMP（20■■年■■月■■日）により不要と判断されていることから実施していない。

以下に示す根拠により andexanet が生殖発生毒性を有する可能性は低いと考えられる。1) Andexanet は、血液凝固カスケード内の内在性タンパク質（FXa）を改変したバイオテクノロジー応用医薬品である。2) Andexanet の半減期は短い（消失半減期は 4～5 時間）及び 3) Andexanet は FXa 阻害剤の一般的な中和剤として設計されており、主に生殖能力のない高齢患者集団に処方される。

7 局所刺激性試験

各毒性試験で局所刺激性を評価したところ、静脈内投与部位に有害作用は認められなかった。

8 その他の毒性試験

追加の毒性試験は実施しなかった。内在性 FXa には免疫作用がないため、独立した免疫毒性試験は実施しなかった。また、標準的な毒性試験では、刺激反応を示唆するような投与部位の炎症反応は認められなかった。

9 考察及び結論

Andexanet の非臨床安全性は、ラットを用いた反復投与試験 1 試験並びにサルを用いた単回投与試験 2 試験及び反復投与試験 3 試験で評価した。サルは血液凝固バイオマーカーの遺伝的類似性より、より適切な動物種であった。これらの試験には、Generation 1 及び Generation 2 の異なる 2 つの製造工程で製造された andexanet 原薬の毒性及び PK/PD の比較試験が含まれる。試験の結果から、Generation 1 及び Generation 2 の製造工程で製造された andexanet は、曝露量、抗 FXa 活性の無効化を指標とした薬理作用及び毒性評価項目の所見は同程度であることが示された。したがって、Generation 2 を用いて製造した andexanet は、非臨床安全性試験において Generation 1 を用いて製造した andexanet と同等である。

Andexanet は、直接作用型又は間接作用型 FXa 阻害剤に起因する制御不能な出血を治療するために単回投与するよう意図されている。両動物種を用いた 2 週間投与試験により、FXa 阻害剤の存在下及び非存在下で単回投与後に予想される andexanet の潜在的な毒性評価が可能となった。Andexanet は 6、20 及び 60 mg/kg/day の 3 用量について、それぞれ 2 等分し、4 時間間隔で 1 日 2 回、静脈内投与した。初めに、直接作用型及び間接作用型 FXa 阻害剤の併用下又は非併用下で、MFD (60 mg/kg/day) を最高用量として毒性評価を実施した。Andexanet はこれら FXa 阻害剤の中和剤として (すなわち、これらの阻害剤の存在下で) 投与することが予定されているため、これらの FXa 阻害剤存在下での毒性評価は重要であった。FXa 阻害剤存在下で andexanet を投与しても、andexanet 単独投与後に認められた毒性の亢進はみられなかった。すべての試験 (NC-11-0394、NC-11-0397、NC-12-0417、NC-13-0545 及び NC-16-0757) において、MFD である 60 mg/kg/day が NOAEL であった。60 mg/kg/day 投与時のサルにおける C_{max} 及び AUC を Table 15 に示す。サルで観察された C_{max} (484,444 ng/mL) は、出血治療に選択された最高用量の 800 mg 静脈内ボラス投与後に 8 mg/min で 2 時間持続静脈内投与した臨床試験 (12-502 試験モジュール 2 の CSR) で認められた C_{max} の約 3.0 倍であった。60 mg/kg/day 投与時のサルにおける AUC は 739,611 ng*hr/mL であり、同じく 800 mg 静脈内ボラス投与後に 8 mg/min で 2 時間持続静脈内投与した臨床試験で観察された AUC の 1.7 倍であった。

Table 15: 非臨床動物種及びヒトにおける最高用量投与時の C_{max} 及び AUC の比較

Species	Dose	C_{max} (ng/mL)	AUC _{0-∞} (ng*hr/mL)
Rat*	60 mg/kg/day	407,170	287,762
Monkey **	60 mg/kg/day	484,444	739,611
Human ***	800 mg ボラス /8 mg/min、2 時間	161,000	429,000

* Values on Day 1 on average from NC-11-0397

** Values on Day 1 on average from NC-11-0394

*** From CSR 12-502, Module 2.

いずれの非臨床試験においても、制御不能な出血の治療を目的とする andexanet の使用が懸念されるような安全性の問題は認められなかった。Generation 2 andexanet を単独投与又はアピキサバンと併用投与した結果、毒性所見、血液凝固マーカー (TAT 及び D ダイマー)、TK (曝露量) 及び PD (抗 FXa 活性) への影響に基づき、Generation 2 andexanet は Generation 1 andexanet と同等であることが示された。

2.6.6 毒性試験の概要文 アンデキサネット アルファ (遺伝子組換え)

ラットで認められた所見は、用量依存性のある統計学的に有意な PT 延長 (1 秒未満) のみであった。この軽度な PT 延長は、ヒトにおいて 1 秒の PT 延長が生じた場合でも出血リスクを上昇させるものではないと考えられる。

サルでは、血栓形成に関連するいくつかの血液凝固バイオマーカー (TAT 及び D ダイマー) の一過性の増加が認められた。この増加の程度は、FXa 阻害剤の存在下で andexanet を投与した場合に軽減し (NC-11-0394-R0004)、これは臨床試験で認められた所見と一致する。これらの TAT 及び D ダイマーの一過性の増加は、一般状態の変化の増加に至ることはなく、病理組織学的検査でも血管内血栓 (NC-11-0394、病理報告書) の増加を認めなかった。追加で実施した PTAH 染色による検査で認められた血栓も溶媒投与群 1 例と高用量投与群 1 例の 2 病変のみであった。初期の評価では、低用量群の雄 1 例の肺に血栓 1 病変が認められた。すなわち、血栓形成の発現率は、一般的な被験物質を静脈内投与したときに観察される微小細動脈における肺血栓・塞栓の発現率上昇と一致した²⁾。NC-11-0394 試験と同様に、NC-16-0757 試験でも、投与期間終了時に Generation 2 andexanet 単独投与群及び Generation 2 andexanet とアピキサバンとの併用投与群において、それぞれ 2/6 例で肺に小血栓 (1 病変) が認められた。観察された血栓のうち 3 病変は、通常の HE 染色で検出されたが、血栓の検出感度が高い染色法であるトリクロム染色によりさらに 1 病変が検出された。これらの発現率は、委託試験施設における HE 染色による検査の背景値よりわずかに高かったが、NC-11-0394 試験の背景値の範囲内であった。Generation 1 andexanet の試験 (NC-11-0394) を評価した認定病理検査専門家によれば (NC-16-0757)、Generation 2 andexanet の投与で観察された肺血栓の大きさ及び発現個所 (微小細動脈) は、Generation 1 andexanet を投与した試験 (NC-11-0394) で認められたものと同様であった。

反復投与後、ラット及びサルのいずれにおいても ADA が認められた。抗体は、動物への異種タンパクの反復投与後に産生されることが多い。ADA 産生の発現率は用量関連性で、andexanet の用量増加と共に発現率は上昇した。ラット及びサルにおいてこれらの抗体が andexanet の TK に影響を及ぼすことはなかった。この結果は予測されたものであり、有害ではなく、ヒト免疫原性を予測するものではない。

以上の試験で、ラット及びサルにおける andexanet の忍容性はいずれでも良好であった。MFD を投与した検査でも、FXa 阻害剤の併用の有無にかかわらず、重篤な有害作用はみられなかった。血液凝固パラメータを注意深く評価したところ、サルにおいて D ダイマー及び TAT の増加が認められたが、いずれも FXa 阻害剤の併用によりその程度は低下した。これら血液凝固バイオマーカーの増加は、溶媒投与群と比較して andexanet 投与後に病理組織学的検査で認められた血管内血栓の増加とは相関しなかった。サル 2 週間投与試験のいずれにおいても、心血管系の評価では毒性所見は認められなかった。以上より、andexanet は、ヒトの臨床最高用量で観察される曝露量の 2~3 倍高い曝露量でも良好な忍容性を示した。Generation 1 及び Generation 2 の andexanet を用いて実施した試験では、曝露量、薬理活性及び毒性評価項目の観点で量的に同様の結果が示された。非臨床試験の結果、2 つの製造工程による製剤は非臨床安全性評価の点において同等であることが明らかにされた。

10 参考文献

- 1) Lu, G., Hollenbach, S. J., Baker, D.C., Tan, S., Hutchaleelaha, A., Curnutte, J.T., Conley, P. B., *Preclinical safety and efficacy of andexanet alfa in animal models*. Journal of Thrombosis and Haemostasis, 2017. **15**: p. 1-10.
- 2) Kast, A., *Pulmonary hair embolism in monkeys*. Exp Toxicol Pathol, 1994. **46**(3): p. 183-8.
- 3) Sato, J., et al., *Histopathology of incidental findings in cynomolgus monkeys (macaca fascicularis) used in toxicity studies*. J Toxicol Pathol, 2012. **25**(1): p. 63-101.
- 4) Chamanza, R., et al., *Incidences and range of spontaneous findings in control cynomolgus monkeys (Macaca fascicularis) used in toxicity studies*. Toxicol Pathol, 2010. **38**(4): p. 642-57.
- 5) Hayes, A.W., *Principals and Methods of Toxicology*. 5th Edition, 2007, CRC Press., p. 1,270.
- 6) Kingham, R., G. Klasa, and K.H. Carver, *Chapter 4: Key Regulatory Guidelines for the Development of Biologics in the United States and Europe in Biological Drug Products: Development and Strategies.*, W. Wang, Singh, M., Editor. 2014. p. 75-109.

TABLE OF CONTENTS

略号一覧表.....	2
2.6.7 毒性試験概要表.....	3
1 毒性試験：一覧表.....	3
2 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表.....	3
3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧.....	3
4 毒性試験：使用ロット.....	4
5 単回投与毒性試験.....	5
6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験.....	7
7 反復投与毒性試験：重要な試験.....	7
8 In Vitro 遺伝毒性試験.....	28
9 In Vivo 遺伝毒性試験.....	28
10 がん原性試験.....	28
11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験.....	28
12 生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験.....	28
13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験.....	28
14 生殖発生毒性試験：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.....	28
15 新生児を用いた試験.....	28
16 局所刺激性試験.....	28
17 その他の毒性試験.....	28

LIST OF TABLES

Table 1: Toxicology Overview.....	3
Table 2: Andexanet Lots Used in Toxicity Studies.....	4
Table 3: Single Dose Toxicity Studies.....	5
Table 4: Repeat-dose Toxicity: Pivotal Study NC-11-0397.....	7
Table 5: Repeat-Dose Toxicity: Pivotal Study NC-11-0394 (Groups 1-4).....	10
Table 6: Repeat-Dose Toxicity: Pivotal Study NC-11-0394 (Groups 5-8).....	15
Table 7: Repeat-Dose Toxicity: Pivotal Study NC-12-0417.....	19
Table 8: Repeat-Dose Toxicity: Pivotal Study NC-16-0757.....	23

2.6.7 毒性試験概要表
アンデキサネット アルファ (遺伝子組換え)

略号一覧表

略号	英語	日本語
AUC	Area Under the Curve	血漿中濃度曲線下面積
BLQ	Below the Limit of Quantification	定量下限
C _{max}	maximum observed plasma drug concentration	最高血漿中濃度
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に関する省令
IV	Intravenous	静脈内
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level	無毒性量
PT	Prothrombin Time	プロトロンビン時間
TK	Toxicokinetics	トキシコキネティクス

2.6.7 毒性試験概要表

アンデキサネット アルファ (遺伝子組換え)

2.6.7 毒性試験概要表

1 毒性試験：一覧表

Table 1: Toxicology Overview

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Overview			Test Article: Andexanet	
			Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number
Single-Dose Toxicity							
10 mg/kg single IV bolus dose to investigate biomarker assay species selectivity	Monkey, Cynomolgus	IV Bolus	1 Day	10	non GLP	██████	NC-12-0472
Comparability study of lyophilized versus frozen liquid formulation	Monkey, Cynomolgus	IV Bolus	1 Day	60	GLP	██████	NC-13-0545
Repeat-Dose Toxicity							
2-week Repeat Dose Study with 28-Day Recovery	Rat, Sprague-Dawley	IV Bolus	14 Days	6, 20, <u>60</u> ^a	GLP	██████	NC-11-0397
2-week Repeat Dose Study with Dosing Every 3 rd Day with 28-Day Recovery Period	Monkey, Cynomolgus	IV Bolus	14 Days	6, 20, <u>60</u> ^a	GLP	██████	NC-11-0394
2-week Repeat Dose Study with Dosing Every 3 rd Day with 28-Day Recovery Period	Monkey, Cynomolgus	IV Bolus	14 Days	<u>60</u> ^a	GLP	██████	NC-12-0417
2-week Repeat Dose Study with Dosing Every 3 rd Day with 28-Day Recovery Period	Monkey, Cynomolgus	IV Bolus	14 Days	<u>60</u> ^a	GLP	██████	NC-16-0757

^a No Observed Adverse Effect Level (NOAEL).

2 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表

独立したトキシコキネティクス (TK) 試験は実施しなかった。

3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧

独立した TK 試験は実施していないため、TK 試料は毒性試験のみから採取した。TK データをモジュール 2.6.6 に示す。

2.6.7 毒性試験概要表

アンデキサネット アルファ (遺伝子組換え)

4 毒性試験：使用ロット

Table 2: Andexanet Lots Used in Toxicity Studies

Test Article: Andexanet		
Batch No.	Study Number	Type of Study
██████	NC-11-0394	GLP 2-week Repeat Dose Toxicology Study
██████	NC-11-0397	GLP 2-week Repeat Dose Toxicology Study
██████	NC-11-0395	GLP Safety Pharmacology Study: Respiratory
██████	NC-11-0396	GLP Safety Pharmacology Study: CNS
██████	NC-12-0417	GLP 2-week Repeat Dose Toxicology Study
██████	NC-12-0472-R0001	Non GLP Single Dose Study
████	NC-12-0472-R0001	Non GLP Single Dose Study
████	NC-13-0545	GLP Single Dose Study
██████	NC-16-0757	GLP 2-week Repeat Dose Toxicology Study
██████	NC-16-0757	GLP 2-week Repeat Dose Toxicology Study
██████	NC-16-0757	GLP 2-week Repeat Dose Toxicology Study

2.6.7 毒性試験概要表

アンデキサネット アルファ (遺伝子組換え)

5 単回投与毒性試験

Table 3: Single Dose Toxicity Studies

Test Article: PRT064445 (Andexanet)							
Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Doses (mg/kg)	Gender and No. per Group	Observed Maximum Nonlethal Dose (mg/kg)	Approximate Lethal Dose (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study Number
Monkey/ Cynomolgus	Intravenous (Lots █████ and █████; 10 mM Tris, 95 mM arginine hydrochloride, 4% sucrose, and 0.01% Polysorbate 80, at pH 7.8)	10 mg/kg/ day; 1 Day	2 F	10	NA	The objective of this non GLP study was to compare the biomarker responses resulting from andexanet administration for the lot used in nonclinical studies with that used in the first clinical study (11-501). In addition, alternate reagents for assays were evaluated to identify reagents that would recognize both the human and monkey TAT and D-dimer protein fragments. A reagent that was able to detect changes in F1+2 in monkeys was not identified among the commercially available kits for testing in humans.	NC-12-0472
Monkey/ Cynomolgus	Intravenous (Formulation for liquid andexanet (Lot █████) 10 mM Tris, 95 mM arginine hydrochloride, 4% sucrose, and	60	5M/ 5F	60	NA	This was a comparability study comparing the toxicokinetics of two different presentations of andexanet, a 3 mg/mL liquid formulation, and a lyophilized formulation that was resuspended at 10 mg/mL prior to dose administration. The two formulations were assessed for effect on death, clinical observations, food consumption, body weight change, toxicokinetics, clinical pathology, TAT and	NC-13-0545

2.6.7 毒性試験概要表

アンデキサネット アルファ (遺伝子組換え)

Table 3: Single Dose Toxicity Studies

Test Article: PRT064445 (Andexanet)							
Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Doses (mg/kg)	Gender and No. per Group	Observed Maximum Nonlethal Dose (mg/kg)	Approximate Lethal Dose (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study Number
	0.01% Polysorbate 80, at pH 7.8; formulation for lyophilized andexanet Lot [REDACTED]: 10 mM Tris, 45 mM arginine hydrochloride, 2% sucrose, 5% mannitol, and 0.01% Polysorbate 80 at pH 7.8)					<p>D-dimer levels.</p> <p>There were no deaths over the course of the study and there were no remarkable clinical observations, no effect on food consumption and no differences in body weight between the two dose groups.</p> <p>Exposure to andexanet was similar between the liquid and lyophilized dose presentations, although slightly higher for the lyophilized dose group than the frozen dose group, which could have been due to the lower dose volume used for administration of the lyophilized formulation, which was administered at a concentration of 10 mg/mL.</p> <p>TAT and D-dimer levels increased after andexanet administration similarly with both formulations.</p> <p>Overall the change in the dose formulation from a liquid formulation to a reconstituted lyophilized formulation did not alter the toxicokinetic or clinical pathology, indicating equivalence between the two formulations in cynomolgus monkeys.</p>	

2.6.7 毒性試験概要表

アンデキサネット アルファ (遺伝子組換え)

6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

本項は該当しない。

7 反復投与毒性試験：重要な試験

Table 4: Repeat-dose Toxicity: Pivotal Study NC-11-0397

Report Title: 2-Week Intravenous Twice-Daily Bolus Injection Toxicity and Toxicokinetic Study with PRT064445 in Rats with a 4-Week Recovery Phase				Test Article: PRT064445 (Andexanet)				
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley		Duration of Dosing: 2 Weeks			Study No. NC-11-0397			
Initial Age: 6-7 weeks		Duration of Postdose: 4 Weeks						
Date of First Dose: [REDACTED] 20 [REDACTED]		Method of Administration: Intravenous						
		Vehicle/Formulation: 10 mM Tris, 95 mM arginine, 4% (w/v) sucrose, and 0.01% (v/v) Polysorbate 80 at pH 7.8			GLP Compliance: GLP			
Special Features: Andexanet was administered twice daily, 4 hours apart, in order to administer the maximum-feasible dose.								
No Observed Adverse Effect Level: 60 mg/kg/day								
Daily Dose (mg/kg):	0 (Control)		6		20		60	
Number of Animals (TK):	M: 15 (3)	F: 15 (3)	M: 10 (9)	F: 10 (9)	M: 10 (9)	F: 10 (9)	M: 15 (9)	F: 15 (9)
Toxicokinetics: Day 1 C _{max} (ng/mL)			37,160	26,730	97,973	98,849	439,202	375,137
Toxicokinetics: Day 14 C _{max} (ng/mL)			35,562	29,436	149,672	121,350	393,432	348,767
Toxicokinetics: AUC _{0-∞} Day 1 (hr*ng/mL)			31,397	21,996	72,619	67,607	317,839	257,685
Toxicokinetics: AUC ₀₋₂₄ Day 14 (hr*ng/mL)	(5)		30,334	25,886	113,733	91,335	350,151	292,581
Noteworthy Findings: (6)(7)								
Died or Euthanized Moribund	0	0	0	1 (Day 1) ^a	0	1 (Day 2) ^b	1 (Day 12) ^a	2 (Day 1) ^a
Body Weight (%)	55 g	28 g	-20	+3.6	+3.6	+10.7	-7.3	+3.6
Food Consumption (%)	176 g(5)	130 g	-8	+3.1	-1.1	+3.1	-5.1	-3.1

2.6.7 毒性試験概要表

アンデキサネット アルファ (遺伝子組換え)

Table 4: Repeat-dose Toxicity: Pivotal Study NC-11-0397

Report Title: 2-Week Intravenous Twice-Daily Bolus Injection Toxicity and Toxicokinetic Study with PRT064445 in Rats with a 4-Week Recovery Phase				Test Article: PRT064445 (Andexanet)				
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley		Duration of Dosing: 2 Weeks			Study No. NC-11-0397			
Initial Age: 6-7 weeks		Duration of Postdose: 4 Weeks						
Date of First Dose: ■■■■ 20■■■		Method of Administration: Intravenous						
		Vehicle/Formulation: 10 mM Tris, 95 mM arginine, 4% (w/v) sucrose, and 0.01% (v/v) Polysorbate 80 at pH 7.8			GLP Compliance: GLP			
Special Features: Andexanet was administered twice daily, 4 hours apart, in order to administer the maximum-feasible dose.								
No Observed Adverse Effect Level: 60 mg/kg/day								
Daily Dose (mg/kg):	0 (Control)		6		20		60	
Number of Animals (TK):	M: 15 (3)	F: 15 (3)	M: 10 (9)	F: 10 (9)	M: 10 (9)	F: 10 (9)	M: 15 (9)	F: 15 (9)
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	1 lesion, left eye	-	-	-	-	-
Hematology (PT)	17.3	17.8	+3.5	+2.8	+5.2	+3.9 *	+5.8 *	+5.6 *
Serum Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights (%)	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Additional Examinations (Antibody Assessment at End of Dosing Phase-Number of rats with responses above cutpoint)	0	0	4	4	4	4	7	9

2.6.7 毒性試験概要表

アンデキサネット アルファ (遺伝子組換え)

Table 4: Repeat-dose Toxicity: Pivotal Study NC-11-0397

Report Title: 2-Week Intravenous Twice-Daily Bolus Injection Toxicity and Toxicokinetic Study with PRT064445 in Rats with a 4-Week Recovery Phase				Test Article: PRT064445 (Andexanet)				
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley		Duration of Dosing: 2 Weeks			Study No. NC-11-0397			
Initial Age: 6-7 weeks		Duration of Postdose: 4 Weeks						
Date of First Dose: [REDACTED] 20 [REDACTED]		Method of Administration: Intravenous						
		Vehicle/Formulation: 10 mM Tris, 95 mM arginine, 4% (w/v) sucrose, and 0.01% (v/v) Polysorbate 80 at pH 7.8			GLP Compliance: GLP			
Special Features: Andexanet was administered twice daily, 4 hours apart, in order to administer the maximum-feasible dose.								
No Observed Adverse Effect Level: 60 mg/kg/day								
Daily Dose (mg/kg):	0 (Control)		6		20		60	
Number of Animals (TK):	M: 15 (3)	F: 15 (3)	M: 10 (9)	F: 10 (9)	M: 10 (9)	F: 10 (9)	M: 15 (9)	F: 15 (9)
Postdose Evaluation: Number Evaluated	M: 5	F: 5	0	0	0	0	M: 5	F: 5
Hematology (Day 42) PT (seconds)	17.4	18.2					+0.6	-1.6
Additional Examinations (Antibody Assessment at End of Recovery-Number of rats with responses above cutpoint)	0/5	0/5					5/5	5/5

* p ≤ 0.05 ANOVA and Dunnett's.

^a 1 Group 2F, 2 Group 4M died immediately post dose on Day 1 and 1 Group 4F died immediately post dose on Day 12 due to what was deemed to be air in IV line; no histopathological cause of death was determined from these animals.^b One TK animal died and death was attributed to faulty bleeding technique due to timing of blood sample and death; no histopathological cause of death was determined.

2.6.7 毒性試験概要表
 アンデキサネット アルファ (遺伝子組換え)

Table 5: Repeat-Dose Toxicity: Pivotal Study NC-11-0394 (Groups 1-4)

Report Title: 2-Week Intravenous Injection Toxicity and Toxicokinetic Study with PRT064445 Alone and after Dosing Rivaroxaban or Enoxaparin in Cynomolgus Monkeys with a 4-Week Recovery Phase				Test Article: PRT064445 (Andexanet)				
Species/Strain: Monkeys/Cynomolgus		Duration of Dosing: 2-Weeks			Study No. NC-11-0394 (Groups 1-4)			
Initial Age: 2-3 years of age		Duration of Postdose: 4-Weeks						
Date of First Dose: [REDACTED] 20 [REDACTED]		Method of Administration: Intravenous						
		Vehicle/Formulation: 10 mM Tris, 95 mM arginine, 4%(w/v) sucrose, 0.01% (v/v) Polysorbate 80 at pH 7.8			GLP Compliance: GLP			
Special Features: Dosing was administered twice a day every 3 rd day, 5 days over 2 weeks; Additional high-dose cohorts were co-administered FXa inhibitors enoxaparin and rivaroxaban; control groups for those cohorts were FXa inhibitors enoxaparin and rivaroxaban alone and are summarized in table below (Groups 5-8).								
No Observed Adverse Effect Level: 60								
Daily Dose (mg/kg):	0 (Control)		6		20		60	
Number of Animals:	M: 3+2	F: 3+2	M: 3+2	F: 3+2	M: 3+2	F: 3+2	M: 3+2	F: 3+2
Toxicokinetics: C _{max} Day 1 (ng/mL)			36,658	37,904	203,475	143,083	489,919	478,969
Toxicokinetics: C _{max} Day 13 (ng/mL)			40,159	39,211	158,344	166,694	442,850	555,762
Toxicokinetics: AUC _{0-∞} Day 1 (hr*ng/mL)			76,991	63,003	290,611	253,595	786,339	692,883
Toxicokinetics: AUC _{0-∞} Day 13 (hr*ng/mL)			76,040	69,868	285,901	251,425	812,286	848,009
Noteworthy Findings:								
Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight (%)	2.8 kg	2.4 kg	-3.6	0	-3.6	0	-7.1	0

2.6.7 毒性試験概要表

アンデキサネット アルファ (遺伝子組換え)

Table 5: Repeat-Dose Toxicity: Pivotal Study NC-11-0394 (Groups 1-4)

Report Title: 2-Week Intravenous Injection Toxicity and Toxicokinetic Study with PRT064445 Alone and after Dosing Rivaroxaban or Enoxaparin in Cynomolgus Monkeys with a 4-Week Recovery Phase				Test Article: PRT064445 (Andexanet)				
Species/Strain: Monkeys/Cynomolgus		Duration of Dosing: 2-Weeks			Study No. NC-11-0394 (Groups 1-4)			
Initial Age: 2-3 years of age		Duration of Postdose: 4-Weeks						
Date of First Dose: [REDACTED] 20 [REDACTED]		Method of Administration: Intravenous						
		Vehicle/Formulation: 10 mM Tris, 95 mM arginine, 4%(w/v) sucrose, 0.01% (v/v) Polysorbate 80 at pH 7.8			GLP Compliance: GLP			
Special Features: Dosing was administered twice a day every 3 rd day, 5 days over 2 weeks; Additional high-dose cohorts were co-administered FXa inhibitors enoxaparin and rivaroxaban; control groups for those cohorts were FXa inhibitors enoxaparin and rivaroxaban alone and are summarized in table below (Groups 5-8).								
No Observed Adverse Effect Level: 60								
Daily Dose (mg/kg):	0 (Control)		6		20		60	
Number of Animals:	M: 3+2	F: 3+2	M: 3+2	F: 3+2	M: 3+2	F: 3+2	M: 3+2	F: 3+2
Clinical Observations	-	-	-	-	-	Day 9: 2/5 females had vomitus containing food	Day 13: 1 male had anaphylactic reaction; recovered after treatment with diphenhydramine and epinephrine	Day 9: 3/5 females had vomitus containing food

2.6.7 毒性試験概要表

アンデキサネット アルファ (遺伝子組換え)

Table 5: Repeat-Dose Toxicity: Pivotal Study NC-11-0394 (Groups 1-4)

Report Title: 2-Week Intravenous Injection Toxicity and Toxicokinetic Study with PRT064445 Alone and after Dosing Rivaroxaban or Enoxaparin in Cynomolgus Monkeys with a 4-Week Recovery Phase			Test Article: PRT064445 (Andexanet)					
Species/Strain: Monkeys/Cynomolgus		Duration of Dosing: 2-Weeks			Study No. NC-11-0394 (Groups 1-4)			
Initial Age: 2-3 years of age		Duration of Postdose: 4-Weeks						
Date of First Dose: [REDACTED] 20 [REDACTED]		Method of Administration: Intravenous						
		Vehicle/Formulation: 10 mM Tris, 95 mM arginine, 4%(w/v) sucrose, 0.01% (v/v) Polysorbate 80 at pH 7.8			GLP Compliance: GLP			
Special Features: Dosing was administered twice a day every 3 rd day, 5 days over 2 weeks; Additional high-dose cohorts were co-administered FXa inhibitors enoxaparin and rivaroxaban; control groups for those cohorts were FXa inhibitors enoxaparin and rivaroxaban alone and are summarized in table below (Groups 5-8).								
No Observed Adverse Effect Level: 60								
Daily Dose (mg/kg):	0 (Control)		6		20		60	
Number of Animals:	M: 3+2	F: 3+2	M: 3+2	F: 3+2	M: 3+2	F: 3+2	M: 3+2	F: 3+2
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights (%)	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Additional Examinations								

2.6.7 毒性試験概要表

アンデキサネット アルファ (遺伝子組換え)

Table 5: Repeat-Dose Toxicity: Pivotal Study NC-11-0394 (Groups 1-4)

Report Title: 2-Week Intravenous Injection Toxicity and Toxicokinetic Study with PRT064445 Alone and after Dosing Rivaroxaban or Enoxaparin in Cynomolgus Monkeys with a 4-Week Recovery Phase				Test Article: PRT064445 (Andexanet)				
Species/Strain: Monkeys/Cynomolgus		Duration of Dosing: 2-Weeks			Study No. NC-11-0394 (Groups 1-4)			
Initial Age: 2-3 years of age		Duration of Postdose: 4-Weeks						
Date of First Dose: [REDACTED] 20 [REDACTED]		Method of Administration: Intravenous						
		Vehicle/Formulation: 10 mM Tris, 95 mM arginine, 4%(w/v) sucrose, 0.01% (v/v) Polysorbate 80 at pH 7.8			GLP Compliance: GLP			
Special Features: Dosing was administered twice a day every 3 rd day, 5 days over 2 weeks; Additional high-dose cohorts were co-administered FXa inhibitors enoxaparin and rivaroxaban; control groups for those cohorts were FXa inhibitors enoxaparin and rivaroxaban alone and are summarized in table below (Groups 5-8).								
No Observed Adverse Effect Level: 60								
Daily Dose (mg/kg):	0 (Control)		6		20		60	
Number of Animals:	M: 3+2	F: 3+2	M: 3+2	F: 3+2	M: 3+2	F: 3+2	M: 3+2	F: 3+2
Additional Examinations (Antibody Assessment at End of Dosing -Number above cutpoint)	0	0	1	3	3	3	4	5
TAT @ 4.5 Hours Day 13 (ng/mL)	NS	NS	NA	NA	NA	NA	51.5	132.2
D-Dimer 6 Hours Day 13 (ng/mL)	NS	NS	NA	NA	NA	NA	2,857	3,188
Postdose Evaluation: Number Evaluated	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2
Body Weights (%)	2.8 kg	2.7 kg	-3.6	-3.7	0	0	+3.6	-7.4
Additional Examinations								
Anti-drug Antibody at end of Recovery	0	0	1	0	1	2	2	2
TAT @ Day 43 (ng/mL)	8.7	9.9	NA	NA	NA	NA	7.8	47.5

2.6.7 毒性試験概要表

アンデキサネット アルファ (遺伝子組換え)

Table 5: Repeat-Dose Toxicity: Pivotal Study NC-11-0394 (Groups 1-4)

Report Title: 2-Week Intravenous Injection Toxicity and Toxicokinetic Study with PRT064445 Alone and after Dosing Rivaroxaban or Enoxaparin in Cynomolgus Monkeys with a 4-Week Recovery Phase				Test Article: PRT064445 (Andexanet)				
Species/Strain: Monkeys/Cynomolgus		Duration of Dosing: 2-Weeks			Study No. NC-11-0394 (Groups 1-4)			
Initial Age: 2-3 years of age		Duration of Postdose: 4-Weeks						
Date of First Dose: █████ 20██		Method of Administration: Intravenous						
		Vehicle/Formulation: 10 mM Tris, 95 mM arginine, 4%(w/v) sucrose, 0.01% (v/v) Polysorbate 80 at pH 7.8			GLP Compliance: GLP			
Special Features: Dosing was administered twice a day every 3 rd day, 5 days over 2 weeks; Additional high-dose cohorts were co-administered FXa inhibitors enoxaparin and rivaroxaban; control groups for those cohorts were FXa inhibitors enoxaparin and rivaroxaban alone and are summarized in table below (Groups 5-8).								
No Observed Adverse Effect Level: 60								
Daily Dose (mg/kg):	0 (Control)		6		20		60	
Number of Animals:	M: 3+2	F: 3+2	M: 3+2	F: 3+2	M: 3+2	F: 3+2	M: 3+2	F: 3+2
D-Dimer Day 43 (ng/mL)	317	137	NA	NA	NA	NA	360	263

NA = Not analyzed; NS = No sample

2.6.7 毒性試験概要表

アンデキサネット アルファ (遺伝子組換え)

Table 6: Repeat-Dose Toxicity: Pivotal Study NC-11-0394 (Groups 5-8)

Report Title: 2-Week Intravenous Injection Toxicity and Toxicokinetic Study with PRT064445 Alone and after Dosing Rivaroxaban or Enoxaparin in Cynomolgus Monkeys with a 4-Week Recovery Phase				Test Article: PRT064445 (Andexanet)				
Species/Strain: Monkeys/Cynomolgus		Duration of Dosing: 2-Weeks			Study No. NC-11-0394 (Groups 5-8)			
Initial Age: 2-3 years of age		Duration of Postdose: 4-Weeks						
Date of First Dose: [REDACTED] 20 [REDACTED]		Method of Administration: Intravenous						
		Vehicle/Formulation: 10 mM Tris, 95 mM arginine, 4%(w/v) sucrose, 0.01% (v/v) Polysorbate 80 at pH 7.8			GLP Compliance: GLP			
Special Features: Dosing was administered twice a day every 3 rd day, 5 days over 2 weeks; Additional high-dose cohorts were co-administered FXa inhibitors enoxaparin and rivaroxaban; control groups for those cohorts were FXa inhibitors enoxaparin (2 mg/kg/day SC) and rivaroxaban (60 mg/kg/day PO) alone.								
No Observed Adverse Effect Level: 60								
Daily Dose (mg/kg):	0 +Enoxaparin		60 + Enoxaparin		0 + Rivaroxaban		60 + Rivaroxaban	
Number of Animals:	M: 3+2	F: 3+2	M: 3+2	F: 3+2	M: 3+2	F: 3+2	M: 3+2	F: 3+2
Toxicokinetics: C _{max} Day 1 (ng/mL)			586,267	543,900			615,345	505,736
Toxicokinetics: C _{max} Day 13 (ng/mL)			548,372	502,786			599,542	526,492
Toxicokinetics: AUC _{0-∞} Day 1 (hr*ng/mL)			820,221	756,174			901,832	692,560
Toxicokinetics: AUC _{0-∞} Day 13 (hr*ng/mL)			910,873	915,249			845,366	985,537
Noteworthy Findings:								
Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight (%)	3.0 kg	2.9 kg	0	0	2.9 kg	2.9 kg	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7 毒性試験概要表

アンデキサネット アルファ (遺伝子組換え)

Table 6: Repeat-Dose Toxicity: Pivotal Study NC-11-0394 (Groups 5-8)

Report Title: 2-Week Intravenous Injection Toxicity and Toxicokinetic Study with PRT064445 Alone and after Dosing Rivaroxaban or Enoxaparin in Cynomolgus Monkeys with a 4-Week Recovery Phase				Test Article: PRT064445 (Andexanet)				
Species/Strain: Monkeys/Cynomolgus		Duration of Dosing: 2-Weeks			Study No. NC-11-0394 (Groups 5-8)			
Initial Age: 2-3 years of age		Duration of Postdose: 4-Weeks						
Date of First Dose: [REDACTED] 20 [REDACTED]		Method of Administration: Intravenous						
		Vehicle/Formulation: 10 mM Tris, 95 mM arginine, 4%(w/v) sucrose, 0.01% (v/v) Polysorbate 80 at pH 7.8			GLP Compliance: GLP			
Special Features: Dosing was administered twice a day every 3 rd day, 5 days over 2 weeks; Additional high-dose cohorts were co-administered FXa inhibitors enoxaparin and rivaroxaban; control groups for those cohorts were FXa inhibitors enoxaparin (2 mg/kg/day SC) and rivaroxaban (60 mg/kg/day PO) alone.								
No Observed Adverse Effect Level: 60								
Daily Dose (mg/kg):	0 +Enoxaparin		60 + Enoxaparin		0 + Rivaroxaban		60 + Rivaroxaban	
Number of Animals:	M: 3+2	F: 3+2	M: 3+2	F: 3+2	M: 3+2	F: 3+2	M: 3+2	F: 3+2
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights (%)	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Additional Examinations								
Anti-drug Antibody Detected Predose	-	-	-	3	-	-	-	-
Anti-drug Antibody Detected at End of Dosing	-	-	5	5	-	-	3	2

2.6.7 毒性試験概要表

アンデキサネット アルファ (遺伝子組換え)

Table 6: Repeat-Dose Toxicity: Pivotal Study NC-11-0394 (Groups 5-8)

Report Title: 2-Week Intravenous Injection Toxicity and Toxicokinetic Study with PRT064445 Alone and after Dosing Rivaroxaban or Enoxaparin in Cynomolgus Monkeys with a 4-Week Recovery Phase				Test Article: PRT064445 (Andexanet)				
Species/Strain: Monkeys/Cynomolgus		Duration of Dosing: 2-Weeks			Study No. NC-11-0394 (Groups 5-8)			
Initial Age: 2-3 years of age		Duration of Postdose: 4-Weeks						
Date of First Dose: [REDACTED] 20 [REDACTED]		Method of Administration: Intravenous						
		Vehicle/Formulation: 10 mM Tris, 95 mM arginine, 4%(w/v) sucrose, 0.01% (v/v) Polysorbate 80 at pH 7.8			GLP Compliance: GLP			
Special Features: Dosing was administered twice a day every 3 rd day, 5 days over 2 weeks; Additional high-dose cohorts were co-administered FXa inhibitors enoxaparin and rivaroxaban; control groups for those cohorts were FXa inhibitors enoxaparin (2 mg/kg/day SC) and rivaroxaban (60 mg/kg/day PO) alone.								
No Observed Adverse Effect Level: 60								
Daily Dose (mg/kg):	0 +Enoxaparin		60 + Enoxaparin		0 + Rivaroxaban		60 + Rivaroxaban	
Number of Animals:	M: 3+2	F: 3+2	M: 3+2	F: 3+2	M: 3+2	F: 3+2	M: 3+2	F: 3+2
FXa Inhibitor Day 1 C _{max} (x/mL)	1.55 IU	1.44 IU	0.664 IU	1.32 IU	45.4 ng	75.5 ng	92.5 ng	61.7 ng
FXa Inhibitor Day 13 C _{max} (x/mL)	7.36 IU	6.34 IU	-	-	79.2 ng	103 ng	-	-
FXa Inhibitor Day 1 AUC _{0-∞} (x/mL)	1.45 IU	1.70 IU	1.54 IU	1.83 IU	1,779 ng	1,793 ng	82.5 ng	139 ng
FXa Inhibitor Day 13 AUC _{0-∞} (x/mL)	7.80 IU	7.31 IU	-	-	2,618 ng	2,763 ng	-	-
Anti-fXa Activity: Day 1 Predose (ng/mL)	0.62 ± 0.4	0.71 ± 0.38	0.53 ± 0.28	0.71 ± 0.32	48.5 ± 24.1	63.3 ± 16.3	71.4 ± 22.4	53.6 ± 9.8
Anti-fXa Activity: Day 1 5' Postdose (ng/mL)	0.42 ± 0.33	0.45 ± 0.28	0.3 ± 0.0	0.03 ± 0.0	34.4 ± 10.7	52.7 ± 12.7	1.0±0.5	0.5 ± 0.0
Anti-fXa Activity: Day 13 Predose (ng/mL)	0.82 ± 0.10	1.0 ± 0.17	0.71 ± 0.15	0.99 ± 0.06	54.6 ± 31.3	67.8 ± 19.1	58.0 ± 29.7	89.5 ± 21.4

2.6.7 毒性試験概要表

アンデキサネット アルファ (遺伝子組換え)

Table 6: Repeat-Dose Toxicity: Pivotal Study NC-11-0394 (Groups 5-8)

Report Title: 2-Week Intravenous Injection Toxicity and Toxicokinetic Study with PRT064445 Alone and after Dosing Rivaroxaban or Enoxaparin in Cynomolgus Monkeys with a 4-Week Recovery Phase				Test Article: PRT064445 (Andexanet)				
Species/Strain: Monkeys/Cynomolgus		Duration of Dosing: 2-Weeks			Study No. NC-11-0394 (Groups 5-8)			
Initial Age: 2-3 years of age		Duration of Postdose: 4-Weeks						
Date of First Dose: [REDACTED] 20 [REDACTED]		Method of Administration: Intravenous						
		Vehicle/Formulation: 10 mM Tris, 95 mM arginine, 4%(w/v) sucrose, 0.01% (v/v) Polysorbate 80 at pH 7.8			GLP Compliance: GLP			
Special Features: Dosing was administered twice a day every 3 rd day, 5 days over 2 weeks; Additional high-dose cohorts were co-administered FXa inhibitors enoxaparin and rivaroxaban; control groups for those cohorts were FXa inhibitors enoxaparin (2 mg/kg/day SC) and rivaroxaban (60 mg/kg/day PO) alone.								
No Observed Adverse Effect Level: 60								
Daily Dose (mg/kg):	0 +Enoxaparin		60 + Enoxaparin		0 + Rivaroxaban		60 + Rivaroxaban	
Number of Animals:	M: 3+2	F: 3+2	M: 3+2	F: 3+2	M: 3+2	F: 3+2	M: 3+2	F: 3+2
Anti-fXa Activity: Day 13 5' Postdose (ng/mL)	0.68 ± 0.07	0.66 ± 0.25	0.03 ± 0.0	0.03 ± 0.0	48.5 ± 16.6	57.5 ± 18.1	0.5 ± 0.0	0.9 ± 1.0
TAT @ 4.5 Hours Day 13 (ng/mL)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	44.3	41.7
D-Dimer 6 Hours Day 13 (ng/mL)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2,950	1,803
Postdose Evaluation: Number Evaluated	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2
TAT Day 43 (ng/mL)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	BLQ	BLQ
D-dimer Day 43 (ng/mL)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	BLQ	BLQ
Anti-drug Antibody Detected	0	0	2	2	0	0	1	2

BLQ = Below the limit of quantitation; NA = Not analyzed

2.6.7 毒性試験概要表
 アンデキサネット アルファ (遺伝子組換え)

Table 7: Repeat-Dose Toxicity: Pivotal Study NC-12-0417

Report Title: 2-Week Intravenous Injection Toxicity and Toxicokinetic Study with PRT064445 in Cynomolgus Monkeys after Administration of Apixaban or Betrixaban with a 4-Week Recovery				Test Article: PRT064445 (Andexanet)				
Species/Strain: Monkey/Cynomolgus		Duration of Dosing: 2-weeks		Study No. NC-12-0417				
Initial Age: 3-4 years		Duration of Postdose: 4-weeks						
Date of First Dose: [REDACTED] 20[REDACTED]		Method of Administration: IV Bolus						
		Vehicle/Formulation: 10 mM Tris, 95 mM arginine, 4% (w/v) sucrose, 0.01% (v/v) Polysorbate 80 at pH 7.8		GLP Compliance: GLP				
Special Features: Dosing was administered twice a day every 3 rd day, 5 days over 2 weeks; control groups were FXa inhibitors apixaban (0.75 mg/kg/day) and betrixaban (1.5 mg/kg/day) alone; andexanet treatment was at the maximum feasible dose of 60 mg/kg								
No Observed Adverse Effect Level: 60 mg/kg/day								
Daily Dose (mg/kg):	Group 1: 0 + Apixaban		Group 2: 60 + Apixaban		Group 3: 0 + Betrixaban		Group 4: 60 + Betrixaban	
Number of Animals:	M: 3+2	F: 3+2	M: 3+2	F: 3+2	M: 3+2	F: 3+2	M: 3+2	F: 3+2
Toxicokinetics: C _{max} Day 1 (ng/mL)	-	-	628,792	559,322	-	-	549,164	586,763
Toxicokinetics: C _{max} Day 13 (ng/mL)	-	-	669,708	608,297	-	-	559,177	58,199
Toxicokinetics: AUC _{0-∞} Day 1 (hr*ng/mL)	-	-	1,093,960	1,189,550	-	-	938,905	1,041,070
Toxicokinetics: AUC _{0-∞} Day 13 (hr*ng/mL)	-	-	1,210,290	1,158,110	-	-	1,021,800	1,016,920
Noteworthy Findings:	-	-	-	-	-	-	-	-
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight (%)	3.9 kg	3.5 kg	5.1%	2.9%	4.0 kg	3.5 kg	0%	-2.9%
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7 毒性試験概要表

アンデキサネット アルファ (遺伝子組換え)

Table 7: Repeat-Dose Toxicity: Pivotal Study NC-12-0417

Report Title: 2-Week Intravenous Injection Toxicity and Toxicokinetic Study with PRT064445 in Cynomolgus Monkeys after Administration of Apixaban or Betrixaban with a 4-Week Recovery				Test Article: PRT064445 (Andexanet)				
Species/Strain: Monkey/Cynomolgus		Duration of Dosing: 2-weeks		Study No. NC-12-0417				
Initial Age: 3-4 years		Duration of Postdose: 4-weeks						
Date of First Dose: [REDACTED] 20[REDACTED]		Method of Administration: IV Bolus						
		Vehicle/Formulation: 10 mM Tris, 95 mM arginine, 4% (w/v) sucrose, 0.01% (v/v) Polysorbate 80 at pH 7.8		GLP Compliance: GLP				
Special Features: Dosing was administered twice a day every 3 rd day, 5 days over 2 weeks; control groups were FXa inhibitors apixaban (0.75 mg/kg/day) and betrixaban (1.5 mg/kg/day) alone; andexanet treatment was at the maximum feasible dose of 60 mg/kg								
No Observed Adverse Effect Level: 60 mg/kg/day								
Daily Dose (mg/kg):	Group 1: 0 + Apixaban		Group 2: 60 + Apixaban		Group 3: 0 + Betrixaban		Group 4: 60 + Betrixaban	
Number of Animals:	M: 3+2	F: 3+2	M: 3+2	F: 3+2	M: 3+2	F: 3+2	M: 3+2	F: 3+2
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights (%)	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Additional Examinations	-	-	-	-	-	-	-	-
Antibody Assessment at End of Dosing: Number above cutpoint	0	0	3	5	0	0	2	3
FXa Inhibitor C _{max} Day 1 (ng/mL)	154	173	86.2	108	67.7	60.5	74.8	54.3
FXa Inhibitor C _{max} Day 13 (ng/mL)	175	153	106	118	60.0	48.2	59.4	52.8

2.6.7 毒性試験概要表

アンデキサネット アルファ (遺伝子組換え)

Table 7: Repeat-Dose Toxicity: Pivotal Study NC-12-0417

Report Title: 2-Week Intravenous Injection Toxicity and Toxicokinetic Study with PRT064445 in Cynomolgus Monkeys after Administration of Apixaban or Betrixaban with a 4-Week Recovery				Test Article: PRT064445 (Andexanet)				
Species/Strain: Monkey/Cynomolgus		Duration of Dosing: 2-weeks		Study No. NC-12-0417				
Initial Age: 3-4 years		Duration of Postdose: 4-weeks						
Date of First Dose: ████████ 20██		Method of Administration: IV Bolus						
		Vehicle/Formulation: 10 mM Tris, 95 mM arginine, 4% (w/v) sucrose, 0.01% (v/v) Polysorbate 80 at pH 7.8		GLP Compliance: GLP				
Special Features: Dosing was administered twice a day every 3 rd day, 5 days over 2 weeks; control groups were FXa inhibitors apixaban (0.75 mg/kg/day) and betrixaban (1.5 mg/kg/day) alone; andexanet treatment was at the maximum feasible dose of 60 mg/kg								
No Observed Adverse Effect Level: 60 mg/kg/day								
Daily Dose (mg/kg):	Group 1: 0 + Apixaban		Group 2: 60 + Apixaban		Group 3: 0 + Betrixaban		Group 4: 60 + Betrixaban	
Number of Animals:	M: 3+2	F: 3+2	M: 3+2	F: 3+2	M: 3+2	F: 3+2	M: 3+2	F: 3+2
FXa Inhibitor AUC _{0-∞} Day 1 (ng/mL)	1,390	1,152	-	-	431	385	-	-
FXa Inhibitor AUC _{0-∞} Day 13 (ng/mL)	1,389	1,377	-	-	386	297	-	-
Anti-fXa Activity Day 1 Predose (ng/mL)	154	236	108	148	73	57	71	58
Anti-fXa Activity Day 1 5 min (ng/mL)	184	272	0.5	1.8	58	44	1.6	1.9
Anti-fXa Activity Day 13 Predose (ng/mL)	189	193	136	165	57	49	58	49
Anti-fXa Activity Day 13 5 min (ng/mL)	189	279	1.7	2.0	46	38	4.1	2.2
D-dimer (ng/mL) Predose 1	68	79	29	77	223	75	35	32
D-dimer (ng/mL) Predose 2	30	31	16	54	85	51	31	32
D-dimer (ng/mL) Day 15	104	28	40	56	65	68	37	48

2.6.7 毒性試験概要表

アンデキサネット アルファ (遺伝子組換え)

Table 7: Repeat-Dose Toxicity: Pivotal Study NC-12-0417

Report Title: 2-Week Intravenous Injection Toxicity and Toxicokinetic Study with PRT064445 in Cynomolgus Monkeys after Administration of Apixaban or Betrixaban with a 4-Week Recovery				Test Article: PRT064445 (Andexanet)				
Species/Strain: Monkey/Cynomolgus		Duration of Dosing: 2-weeks		Study No. NC-12-0417				
Initial Age: 3-4 years		Duration of Postdose: 4-weeks						
Date of First Dose: [REDACTED] 20[REDACTED]		Method of Administration: IV Bolus						
		Vehicle/Formulation: 10 mM Tris, 95 mM arginine, 4% (w/v) sucrose, 0.01% (v/v) Polysorbate 80 at pH 7.8		GLP Compliance: GLP				
Special Features: Dosing was administered twice a day every 3 rd day, 5 days over 2 weeks; control groups were FXa inhibitors apixaban (0.75 mg/kg/day) and betrixaban (1.5 mg/kg/day) alone; andexanet treatment was at the maximum feasible dose of 60 mg/kg								
No Observed Adverse Effect Level: 60 mg/kg/day								
Daily Dose (mg/kg):	Group 1: 0 + Apixaban		Group 2: 60 + Apixaban		Group 3: 0 + Betrixaban		Group 4: 60 + Betrixaban	
Number of Animals:	M: 3+2	F: 3+2	M: 3+2	F: 3+2	M: 3+2	F: 3+2	M: 3+2	F: 3+2
Postdose Evaluation: Number Evaluated	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2
Antibody Assessment at End of Recovery: Number above cutpoint	0	0	1	2	0	0	2	2
D-dimer (ng/mL) Day 43	37	25	37	26	0	39	74	27

2.6.7 毒性試験概要表

アンデキサネット アルファ (遺伝子組換え)

Table 8: Repeat-Dose Toxicity: Pivotal Study NC-16-0757

Report Title: A GLP 2-Week Toxicity Study of Andexanet Alfa by Intravenous Injection in Cynomolgus Monkeys with a 4-Week Recovery Period Evaluated in the Presence and Absence of a FXa Inhibitor, Apixaban				Test Article: PRT064445 (Andexanet)					
Species/Strain: Monkey/Cynomolgus		Duration of Dosing: 2-weeks		Study No. NC-16-0757					
Initial Age: 2-6 years		Duration of Postdose: 4-weeks							
Date of First Dose: [REDACTED] 20 [REDACTED]		Method of Administration: IV Bolus							
		Vehicle/Formulation: 5 mM Tris, 22.5 mM arginine hydrochloride, 1%(w/v) sucrose, 2.5% mannitol and 0.01% (v/v) Polysorbate 80 at pH 7.8		GLP Compliance: GLP					
Special Features: Dosing was administered twice a day every 3 rd day, 5 days over 2 weeks; control group was vehicle-treated. Additional groups evaluated Gen 2 manufacturing process with and without FXa inhibitors apixaban (0.75 mg/kg/day); Gen 2 andexanet treatment was at the maximum feasible dose of 60 mg/kg. Gen 1 process was administered at maximum feasible dose of 60 mg/kg on Day 1 only for TK comparison.									
No Observed Adverse Effect Level: 60 mg/kg/day									
	Daily Dose (mg/kg)	Group 1: Vehicle		Group 2: 60 Gen2		Group 3: 60 Gen2 + Apixaban		Group 4: 60 Gen1	
	Number of Animals	M: 3+2	F: 3+2	M: 3+2	F: 3+2	M: 3+2	F: 3+2	M: 5	F: 5
	Toxicokinetics: C _{max} Day 1 (ng/mL)	-	-	401,000	397,000	681,000	676,000	414,000	383,000
	Toxicokinetics: C _{max} Day 13 (ng/mL)	-	-	544,000	544,000	458,000	468,000	NA	NA
	Toxicokinetics: AUC _{0-τ} Day 1 (hr*ng/mL)	-	-	1,320,000	1,020,000	2,220,000	1,960,000	1,090,000	947,000
	Toxicokinetics AUC _{0-τ} Day 13 (hr*ng/mL)	-	-	1,230,000	1,300,000	1,180,000	1,300,000	NA	NA
	Noteworthy Findings:	-	-	-	-	-	-	-	-
	Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
	Body Weight (%)	3.7 kg	3.1 kg	-6.8%	0%	-1.4%	-6.5%	NA	NA

2.6.7 毒性試験概要表

アンデキサネット アルファ (遺伝子組換え)

Table 8: Repeat-Dose Toxicity: Pivotal Study NC-16-0757

Report Title: A GLP 2-Week Toxicity Study of Andexanet Alfa by Intravenous Injection in Cynomolgus Monkeys with a 4-Week Recovery Period Evaluated in the Presence and Absence of a FXa Inhibitor, Apixaban				Test Article: PRT064445 (Andexanet)					
Species/Strain: Monkey/Cynomolgus		Duration of Dosing: 2-weeks		Study No. NC-16-0757					
Initial Age: 2-6 years		Duration of Postdose: 4-weeks							
Date of First Dose: [REDACTED] 20 [REDACTED]		Method of Administration: IV Bolus							
		Vehicle/Formulation: 5 mM Tris, 22.5 mM arginine hydrochloride, 1%(w/v) sucrose, 2.5% mannitol and 0.01% (v/v) Polysorbate 80 at pH 7.8		GLP Compliance: GLP					
Special Features: Dosing was administered twice a day every 3 rd day, 5 days over 2 weeks; control group was vehicle-treated. Additional groups evaluated Gen 2 manufacturing process with and without FXa inhibitors apixaban (0.75 mg/kg/day); Gen 2 andexanet treatment was at the maximum feasible dose of 60 mg/kg. Gen 1 process was administered at maximum feasible dose of 60 mg/kg on Day 1 only for TK comparison.									
No Observed Adverse Effect Level: 60 mg/kg/day									
	Daily Dose (mg/kg)	Group 1: Vehicle		Group 2: 60 Gen2		Group 3: 60 Gen2 + Apixaban		Group 4: 60 Gen1	
	Number of Animals	M: 3+2	F: 3+2	M: 3+2	F: 3+2	M: 3+2	F: 3+2	M: 5	F: 5
	Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
	Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
	Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
	Serum Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
	Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
	Organ Weights (%)	-	-	-	-	-	-	-	-
	Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
	Histopathology	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7 毒性試験概要表

アンデキサネット アルファ (遺伝子組換え)

Table 8: Repeat-Dose Toxicity: Pivotal Study NC-16-0757

Report Title: A GLP 2-Week Toxicity Study of Andexanet Alfa by Intravenous Injection in Cynomolgus Monkeys with a 4-Week Recovery Period Evaluated in the Presence and Absence of a FXa Inhibitor, Apixaban				Test Article: PRT064445 (Andexanet)					
Species/Strain: Monkey/Cynomolgus		Duration of Dosing: 2-weeks		Study No. NC-16-0757					
Initial Age: 2-6 years		Duration of Postdose: 4-weeks							
Date of First Dose: [REDACTED] 20 [REDACTED]		Method of Administration: IV Bolus							
		Vehicle/Formulation: 5 mM Tris, 22.5 mM arginine hydrochloride, 1%(w/v) sucrose, 2.5% mannitol and 0.01% (v/v) Polysorbate 80 at pH 7.8		GLP Compliance: GLP					
Special Features: Dosing was administered twice a day every 3 rd day, 5 days over 2 weeks; control group was vehicle-treated. Additional groups evaluated Gen 2 manufacturing process with and without FXa inhibitors apixaban (0.75 mg/kg/day); Gen 2 andexanet treatment was at the maximum feasible dose of 60 mg/kg. Gen 1 process was administered at maximum feasible dose of 60 mg/kg on Day 1 only for TK comparison.									
No Observed Adverse Effect Level: 60 mg/kg/day									
	Daily Dose (mg/kg)	Group 1: Vehicle		Group 2: 60 Gen2		Group 3: 60 Gen2 + Apixaban		Group 4: 60 Gen1	
	Number of Animals	M: 3+2	F: 3+2	M: 3+2	F: 3+2	M: 3+2	F: 3+2	M: 5	F: 5
	Additional Examinations	-	-	-	-	-	-	-	-
	Antibody Assessment at End of Dosing: Number above cutpoint	0	0	3	3	2	3	NA	NA
	Apixaban C _{max} Day 1 (ng/mL)	-	-	-	-	115	137	-	-
	Apixaban C _{max} Day 13 (ng/mL)	-	-	-	-	305	220	-	-
	Anti-fXa Activity Day 1 Predose (ng/mL)	-	-	-	-	107.9	121.6	-	-
	Anti-fXa Activity Day 1 5 minutes (ng/mL)	-	-	-	-	2.7	2.3	-	-

2.6.7 毒性試験概要表

アンデキサネット アルファ (遺伝子組換え)

Table 8: Repeat-Dose Toxicity: Pivotal Study NC-16-0757

Report Title: A GLP 2-Week Toxicity Study of Andexanet Alfa by Intravenous Injection in Cynomolgus Monkeys with a 4-Week Recovery Period Evaluated in the Presence and Absence of a FXa Inhibitor, Apixaban				Test Article: PRT064445 (Andexanet)					
Species/Strain: Monkey/Cynomolgus		Duration of Dosing: 2-weeks		Study No. NC-16-0757					
Initial Age: 2-6 years		Duration of Postdose: 4-weeks							
Date of First Dose: [REDACTED] 20 [REDACTED]		Method of Administration: IV Bolus							
		Vehicle/Formulation: 5 mM Tris, 22.5 mM arginine hydrochloride, 1%(w/v) sucrose, 2.5% mannitol and 0.01% (v/v) Polysorbate 80 at pH 7.8		GLP Compliance: GLP					
Special Features: Dosing was administered twice a day every 3 rd day, 5 days over 2 weeks; control group was vehicle-treated. Additional groups evaluated Gen 2 manufacturing process with and without FXa inhibitors apixaban (0.75 mg/kg/day); Gen 2 andexanet treatment was at the maximum feasible dose of 60 mg/kg. Gen 1 process was administered at maximum feasible dose of 60 mg/kg on Day 1 only for TK comparison.									
No Observed Adverse Effect Level: 60 mg/kg/day									
	Daily Dose (mg/kg)	Group 1: Vehicle		Group 2: 60 Gen2		Group 3: 60 Gen2 + Apixaban		Group 4: 60 Gen1	
	Number of Animals	M: 3+2	F: 3+2	M: 3+2	F: 3+2	M: 3+2	F: 3+2	M: 5	F: 5
	Anti-fXa Activity Day 13 Predose (ng/mL)	-	-	-	-	161.5	88.0	-	-
	Anti-fXa Activity Day 13 5 minutes (ng/mL)	-	-	-	-	6.5	2.3	-	-
	D-dimer (ng/mL) Predose 1	437	282	275	378	417	337	308	210
	D-dimer (ng/mL) Predose 2	567	395	1791	1300	1395	1128	1716	1415
	D-dimer (ng/mL) Day 15	634	271	1194	596	802	1864	-	-

2.6.7 毒性試験概要表

アンデキサネット アルファ (遺伝子組換え)

Table 8: Repeat-Dose Toxicity: Pivotal Study NC-16-0757

Report Title: A GLP 2-Week Toxicity Study of Andexanet Alfa by Intravenous Injection in Cynomolgus Monkeys with a 4-Week Recovery Period Evaluated in the Presence and Absence of a FXa Inhibitor, Apixaban				Test Article: PRT064445 (Andexanet)				
Species/Strain: Monkey/Cynomolgus		Duration of Dosing: 2-weeks		Study No. NC-16-0757				
Initial Age: 2-6 years		Duration of Postdose: 4-weeks						
Date of First Dose: [REDACTED] 20 [REDACTED]		Method of Administration: IV Bolus						
		Vehicle/Formulation: 5 mM Tris, 22.5 mM arginine hydrochloride, 1%(w/v) sucrose, 2.5% mannitol and 0.01% (v/v) Polysorbate 80 at pH 7.8		GLP Compliance: GLP				
Special Features: Dosing was administered twice a day every 3 rd day, 5 days over 2 weeks; control group was vehicle-treated. Additional groups evaluated Gen 2 manufacturing process with and without FXa inhibitors apixaban (0.75 mg/kg/day); Gen 2 andexanet treatment was at the maximum feasible dose of 60 mg/kg. Gen 1 process was administered at maximum feasible dose of 60 mg/kg on Day 1 only for TK comparison.								
No Observed Adverse Effect Level: 60 mg/kg/day								
	Group 1: Vehicle		Group 2: 60 Gen2		Group 3: 60 Gen2 + Apixaban		Group 4: 60 Gen1	
Daily Dose (mg/kg)								
Number of Animals	M: 3+2	F: 3+2	M: 3+2	F: 3+2	M: 3+2	F: 3+2	M: 5	F: 5
Antibody Assessment at End of Recovery: Number above cutpoint	0	0	1	2	2	1	NA	NA

8 In Vitro 遺伝毒性試験

本項は該当しない。

9 In Vivo 遺伝毒性試験

本項は該当しない。

10 がん原性試験

本項は該当しない。

11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

本項は該当しない。

12 生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

本項は該当しない。

13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

本項は該当しない。

14 生殖発生毒性試験：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

本項は該当しない。

15 新生児を用いた試験

本項は該当しない。

16 局所刺激性試験

本項は該当しない。

17 その他の毒性試験

その他の毒性試験は実施していない。