目次

略語・略号一覧 2
2.4 非臨床試験の概括評価 3
2.4.1 非臨床試験計画概略 3
2.4.2 薬理試験 5
2.4.3 薬物動態試験 7
2.4.4 毒性試験 8
2.4.5 総括及び結論 11
2.4.6 引用文献 12

表 目次

表 2.4-1：非臨床試験に使用した製剤一覧 4
表 2.4-2：薬理試験一覧 7
表 2.4-3：薬物動態試験一覧 8
表 2.4-4：毒性試験一覧 11

略語・略号一覧

略語・略号	英語	日本語
AUC	Area under the curve	曲線下面積
C1-INH	C1 esterase inhibitor	C1-インアクチベーター
CNS	Central nervous system	中枢神経系
d	Day	日
dL	Deciliter	デシリットル
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
HAE	Hereditary angioedema	遺伝性血管性浮腫
i.a.	Intra-arterial	動脈内
IC_{50}	Half maximal inhibitory concentration	50%阻害濃度
i.m.	Intramuscular	筋肉内
IU	International Unit	国際単位
i.v.	Intravenous	静脈内
kg	Kilogram	キログラム
LPS	Lipopolysaccharide	リポ多糖
mg	Milligram	ミリグラム
mL	Milliliter	ミリリットル
NOAEL	No-Observed-Adverse-Effect Level	無毒性量
PCA	Passive cutaneous anaphylaxis	受動的皮膚アナフィラキシー
s.c.	Subcutaneous	皮下
SERPIN	Serine protease inhibitor	セリンプロテアーゼ阻害剤
U *	Unit	単位

* 一貫性を維持するために、本モジュールに記載している非臨床及び臨床試験で使用している CSL830 及び CE1145（企業コード、表 2.4-1 参照）のすべての投与量は国際単位（IU）で示しているが、一部のデータは原本の単位（U）を使用した。C1-インアクチベーター（C1-INH）の活性は IU で表示し、これは C1-INH 製品の現在の世界保健機関（WHO）標準である。U と IU は同等である。WHO 標準は、2012 年に CSLBehring 社に導入された。

2.4 非臨床試験の概括評価

2.4.1 非臨床試験計画概略

C1-インアクチベーター（C1-INH）は、478 アミノ酸残基を含む分子量 105 kDa の糖タンパク質である。高度に糖付加されたタンパク質であり、総糖タンパク質の 26～35%が糖鎖で構成されている。C1-INH は活性阻害剤として血漿中を循環し、その濃度は約 25 mg/dL 又は 1 IU/mL である。C1-INH は SERPIN（セリンプロテアーゼ阻害剤）ファミリーに属している。活性セリンプロテアーゼは SERPIN と 1：1 の化学量論比で複合体を形成する。C1-INH は、プロテアーゼ C1r 及び C1s を不活化することで補体活性化機能の古典的経路を阻害する。また、C1-INH は第 XIIa 因子（Hageman-Factor）を阻害することで接触因子活性化機序の最重要阻害剤となる。第 XIIa 因子阻害（及び第 XIa 因子阻害）を介して、C1-INH は凝固系も阻害する。さらに、α2-マクログロブリンに次ぐ血漿カリクレインの主要な阻害剤として機能する。

遺伝性血管性浮腫（HAE）は、分子合成低下又は分子構造の変化のいずれかによる C1-INH 欠損によって発症する。本疾患は、両性に関わる常染色体優性遺伝性であり、皮下組織又は腹部器官の痛みを伴う腫脹を引き起こす。HAE の急性発作は、喉頭を含む上気道が関与している場合には生命を脅かす状況につながる可能性がある。CSL ベーリング社から市販されている C1-INH 濃縮製剤である Berinert®（企業コード「CE1145」、表 2.4-1 参照）は、ヒト血漿由来の高度に精製、パスツリゼーション及びウイルス濾過された製品である。本製剤は、1979 年にドイツで HAE 発作の急性期治療における静脈内（i.v.）投与用の非パスツリゼーション製剤として初めて承認され、現在では他のヨーロッパ諸国のみならず米国、日本、及び世界中の国でこの適応症で承認されている。1985 年には、パスツリゼーション製剤が販売された（すなわち、Berinert® P）。2011 年には、ナノ濾過が新たなウイルス除去ステップとして導入された（非臨床モジュールでは Berinert P/N と表記することがある）。

静脈内投与に必要な CE1145 の必要注入量を減少させるため、溶解時の濃度が 10 倍となる製剤が開発され、カナダ（2014 年 12 月）及び欧州連合 22 カ国で HAE 発作の急性期静脈内投与用の Berinert® 1500 として承認された。静脈内投与製剤は、発作予防に対しては実用面での制限となる。そこで、HAE 発作予防及び患者の利便性とコンプライアンスの向上を目的として、皮下（s.c.）投与用製剤である「CSL830」（表 2.4-1 参照）を開発した。CSL830 は、2017 年に米国およびカナダで承認された。

CSL830 は血漿由来の C1-INH 濃縮製剤であり、ウイルス不活化／除去工程を経て、無菌ろ過及び発熱性物質を含まない、白色～淡黄色粉末の凍結乾燥製剤として製造される。CSL830 は、1 バイアル中に 2000 IU 又は 3000 IU の力価を有する。

非臨床試験に用いた製剤名及び製品特性を含む製品履歴の概要を表 2.4-1 に示す。

表 2.4-1：非臨床試験に使用した製剤一覧

製剤名	特性	企業コード
C1-Inaktivator Behring (1985)	C1-インアクチベーター濃縮物、パスツリゼーション（ヒト）	CE1145 (CSL C1-INH, 50 IU/mL)
C1-Inaktivator HS Behring (1988)		
Berinert® HS (1990)		
Berinert® P (2001)		
Berinert® (2011)	C1-インアクチベーター濃縮物、パスツリゼーション及びナノ濾過（ヒト）	
Berinert® 1500 (2014)	C1-インアクチベーター濃縮物、パスツリゼーション及びナノ濾過（ヒト）、静脈内投与用 10 倍濃度製剤	CSL830 (CSL C1-INH, 500 IU/mL)
CSL830 (2000 IU, 3000 IU)	C1-インアクチベーターヒト（皮下）、パスツリゼーション及びナノ濾過、10 倍濃度製剤、Berinert®1500 と同一	

注：初期製剤を含め、非臨床試験で使用された製品の概要を表 2.4-1 に示す。CE1145 は、ほとんどの非臨床試験で使用されている初期製剤である。本文書に記載の CE1145 の新規 10 倍濃度の本剤は、CSL830 と称する。

有効成分は CE1145 及び CSL830 の両方で同一であるため、CE1145 に対して実施された非臨床試験は CSL830 にも適用可能かつ適切であると考えられる。したがって、今般の申請においては、CE1145 の試験も提出する。

CSL830 の薬力学的効果は、CE1145 で実施した試験で示されており、これにはヒト又はラット血漿中補体活性に対する CE1145 の阻害効果を評価した 2 つの *in vitro* 試験が含まれる。さらに、HAE 患者における浮腫発作治療の臨床使用に従い、CE1145 の薬理効果がカラギーナン誘発ラット足浮腫（Caspritz、1986）及びラット毛細血管漏出症候群モデル（Dickneite、1996）で検討した。CE1145 は、リポ多糖（LPS）誘発性敗血症モデル（Dickneite、1993；Giebler、1999）、腸炎モデル（Sonntag、1999）、脳卒中モデル（Heimann、1999；Heydenreich、2012）及び再灌流障害モデル（Buerke、1995）でも良好に検討された。有効成分の変更がないため、CSL830 の追加の薬力学試験は必要ないと判断した。

同様に、安全性薬理試験は、CE1145 の静脈内投与後、心血管系及び呼吸器系の生理機能への潜在的な影響の評価に広く用いられている動物種であるイヌで実施した。本試験は 1988 年にベリナート® P の承認申請資料で提出しており本承認申請資料には含まれない。また、最高血漿中濃度は、CE1145 の静脈内投与と比較して CSL830 を皮下投与したときに低くなると予想された。

薬物動態評価には、ラットに CE1145 を静脈内投与したときの薬物動態試験、ウサギに CE1145 を皮下投与したときの薬物動態評価、ナノ濾過（追加のウイルス除去ステップとして）

の導入前後の CE1145 の薬物動態特性を比較するラットにおける生物学的同等性試験、CE1145 と C1-INH の探索的な 10 倍濃度製剤の皮下投与を比較した薬物動態試験、及びウサギに静脈内投与したときの CSL830 と CE1145 を比較した追加の生物学的同等性試験が含まれる。

CSL830 の非臨床安全性評価は、2 種のげっ歯類種、すなわちラット及びマウスに CE1145 をそれぞれ 1500、3000、6000 IU/kg（マウス）及び 1000、2000、3000 IU/kg（ラット）の投与量で静脈内投与して実施した単回投与急性毒性試験に基づいた。単回投与試験は 1988 年にベリナート® P の承認申請資料で提出しており本承認申請資料には含まれない。反復投与毒性は、ラットに CE1145 の 20、60 又は 200 IU/kg/day の投与量で最大 14 日間静脈内投与して評価した。これらの試験結果は CSL830 に直接適用可能であると考えられ、それ以上の単回又は反復投与毒性試験は必要ないと判断した。

CSL830 の局所忍容性は、ウサギに皮下投与したときの試験に基づいて評価された。裏付けとなるデータは、CE1145 を静脈内投与したときの局所忍容性の評価からも得られた。静脈内投与の局所刺激性試験は、1988 年にベリナート® P の承認申請資料で提出しており本承認申請資料には含まれない。

CE1145 のパスツリゼーション及びナノ濾過から生じる新生抗原（ネオエピトープ）の潜在的な形成は、それぞれモルモット及びウサギで評価した。両動物種（の使用）は、新生抗原性の評価のために十分に確立されている（Doyle JW、2006）。パスツリゼーション導入後の CE1145 の新生抗原性試験は、1988 年にベリナート® P の承認申請資料で提出しており本承認申請資料には含まれない。CSL830 の開発中に新たな抗原決定基につながる可能性がある、さらなる変化はなかった。また、ウイルス除去ステップとしてナノ濾過を製造工程に追加した際の新生抗原性試験においても、新たな抗原決定部位の形成は認められなかった。

CSL830 の血栓形成の可能性を検討するため、Giles et al.（1980）に従い修正された Wessler の静脈うっ血誘発性血栓症ウサギモデルに基づく血栓形成性試験を適用した（Giles et al、1980; Wessler et al、1955）。それにより、CE1145 及び CSL830 の両製剤の血栓形成促進効果の可能性は、潜在的な血栓形成促進作用に最も関連があると考えられる最高血漿中濃度をもたらす投与経路として、静脈内投与で検討した。

2.4.2 薬理試験

実施した薬理試験の概要は表 2.4-2 に示す。

CE1145 の薬理学的効果は、*in vitro* の酵素阻害試験で検討した。さらに、CE1145 の *in vivo* 薬理学的有効性は様々な動物モデルで実証されており、モジュール 4.3 に添付されている。

In vitro における補体活性への CE1145 の影響は、amboceptor（両受容体）で被覆したヒツジ赤血球の溶解（溶血）をヒト又はラットの血漿で検討した（試験番号 COM 01/04、モジュール 4.2.1.1.1）。CE1145 のヒト及びラットの補体活性に対する IC_{50}（補体活性の 50%阻害薬物濃度）がそれぞれ 1.053 IU/mL 及び 1.011 IU/mL であることが確認された。導入したナノ濾過手順（追

加のウイルス減少ステップ）が CE1145 の補体阻害プロファイルに影響しないことが確認された（試験番号 COM 02/10、モジュール 4.2.1.1.2）。

さらに、以下の動物モデルで、浮腫形成及び毛細血管漏出の予防、並びに血管内皮炎及び再灌流傷害に関係する抗炎症及び保護効果を含む、CE1145 の *in vivo* 薬理学的活性を確認した。

- 浮腫形成及び毛細血管漏出動物モデル
  - 接触活性化システムに対する阻害効果により、CE1145（2.5-100 IU/kg、静脈内又は 160 IU/動物）はアンジオテンシン変換酵素阻害の非存在下又は存在下でカラゲニン誘発ラット足蹠浮腫の形成を阻害した（Caspritz、1986）。
  - ラットにおいて、CE1145（100-500 IU/kg、静脈内）はインターロイキン 2 の全身及び局所投与によって誘発される血管漏出を有意に減少させた（Dickneite、1996）。

- 敗血症動物モデル
  - CE1145（100-125 IU/kg•h、静脈内）及びトロンビン阻害剤（アンチトロンビン III 又は遺伝子組換えヒルジン）の併用は、LPS 誘発性敗血症ラットモデルの死亡率を低下させた（Dickneite、1993；Dickneite、1996）。
  - CE1145（300 IU/kg、静脈内）及びアンチトロンビン III の併用療法は、大腸菌由来 LPS に曝露されたウサギの血管内フィブリン沈着を減少させ、心肺機能障害を軽減させた（Giebler、1999）。
  - CE1145（200 IU/kg、静脈内）治療は、LPS 誘発性壊死性腸炎ラットモデルにおけるショック症状を予防しなかったが、軽減及び遅延させた（Sonntag、1999）。

- 脳卒中及び心筋虚血/再灌流障害動物モデル
  - 光血栓形成直後に投与された CE1145（20 IU/kg、動脈内）は、光化学的に誘発された皮質静脈閉塞ラットモデルにおいて梗塞体積を減少させた（Heimann、1999）。
  - CE1145（15 IU/動物、静脈内）を再灌流開始直後に投与すると、60 分間の一過性中大脳動脈閉塞によって誘発された脳虚血マウスモデルの脳梗塞体積を減少させた（Heydenreich、2012）。閉塞後 6 時間の投与で、臨床転帰の改善継続がみられた。さらに、CE1145 は血液脳関門の損傷、浮腫形成、及び炎症を軽減することが示され、強力な抗血栓効果を示した。
  - 心筋虚血及び再灌流ネコモデルにおいて、CE1145（60 IU/kg、静脈内）を再灌流前に投与すると、心筋壊死を軽減し、心臓収縮性の回復を改善し、心臓内皮機能を維持することにより、心臓保護効果を惹起した（Buerke、1995）。

1988 年にベリナート®P の承認申請資料として提出した安全性薬理試験において、イヌ 3 匹に CE1145 を総用量で 3500 IU/kg 静脈内投与した。各投与後に測定した脈拍数、血液循環及び呼吸の値は、生理学的変動を超える明確な反応を示さなかった。イヌ 2 匹は、麻酔からの部分的な回復の影響で検査終了時に過呼吸を示した。これら全ての変化は、心血管系及び呼吸器系に関連する懸念であるとは考えられなかった。

CNS（中枢神経系）に対する潜在的影響は、ラット反復投与毒性試験で評価した（試験番号 856351）。CNS に関連した臨床所見の報告はなく、脳脊髄の（組織）病理学的評価では CNS への悪影響を示す病理学的所見は示されなかった。また、マウス及びラットへの高用量の単回静脈内投与（それぞれ最大 6000 IU/kg 及び 3000 IU/kg）を行ったとき、神経学的臨床所見は観察されなかった。総合的に、マウス及びラット毒性試験では神経毒性を示す結果は示されなかった。

表 2.4-2：薬理試験一覧

種類	試験番号	バッチ番号	使用製剤	GLP 適用
In vitro 補体活性	COM 01/04	[redacted]	Berinert® P	不適
In vitro 補体活性	COM 02/10	[redacted]	Berinert® P Berinert® （ナノ濾過）	不適

2.4.3 薬物動態試験

実施した薬物動態試験の概要を表 2.4-3 に示す。

CE1145 を静脈内投与したときの薬物動態プロファイルは、Wistar 系ラットにそれぞれ 61.5 IU/kg 又は 123 IU/kg を投与して特徴付けられ、血漿中 C1-INH 濃度を 96 時間まで経過観察した。C1-INH の初期ベースライン血漿中濃度の平均は、15～29%（標準ヒト血漿との比較）であった。投与後に血漿中 C1-INH 濃度の投与量依存的増加が観察されたが、C1-INH 濃度の変動がみられた。約 72 時間後、血漿中濃度はベースライン値に回復した（試験番号 V-626（1-3）、モジュール 4.2.2.2.1）。

CE1145 の 200 IU/kg を静脈内又は皮下投与したときの薬物動態を比較するため、ウサギ試験を実施した。静脈内投与したときの CE1145 の初期相半減期及び最終相半減期は、それぞれ 0.16 ±0 .03 日及び 1.41 ± 0.22 日であった。両投与方法で計算したベースライン補正 AUC（曲線下面積）は、それぞれ静脈内投与で 6.18 ± 0.79 IU•d/mL 及び皮下投与で 4.68 ± 0.51 IU•d/mL であった。静脈内投与と比較した CE1145 の皮下投与したときのバイオアベイラビリティは 76%と算出された（試験番号 PSK 02/05、モジュール 4.2.2.2.2）。

ナノ濾過工程（追加のウイルス減少工程として）導入前後の CE1145 の生物学的同等性は、ラットに 150 IU/kg を単回静脈内投与して評価した。線形台形公式を使用したヒト C1-INH 抗原の血漿中濃度の最終測定値までの AUC（$AUC_{0\text{-}24}$）を生物学的同等性パラメータとして使用した。さらに、C1-INH 活性は発色活性アッセイを使用して検討した。要約すると、ヒト C1-INH 抗原

濃度測定で得られた結果は、CE1145 がナノ濾過導入前後で同等の薬物動態特性を有することから、ラットに単回静脈内投与したときに同等であるとみなすことができることを示した（試験番号 PSR 08/10、モジュール 4.2.2.2.4）。

C1-INH の探索的な 10 倍濃度製剤の初期薬物動態評価はウサギ（n=6/群、3 雄+3 雌）に皮下投与して実施した。その結果、単回皮下投与したときの投与量補正 AUC の平均値の比較に基づいて、CE1145（200 IU/kg）及び C1-INH の 10 倍濃度製剤（200 IU/kg）との間で同等のバイオアベイラビリティが示唆された（試験番号 PSK 12/05、モジュール 4.2.2.2.3）。

追加の薬物動態試験は、雌性ウサギ（n=10/群）に 200 IU/kg を単回静脈内投与して、CSL830 とする 10 倍濃度 C1-INH 製品の最終製剤と CE1145 とを直接比較した。ELISA 法を使用して測定した血漿中 C1-INH 濃度は、投与後 96 時間まで観察した。薬物動態パラメータは、ノンコンパートメント法で推算した。薬物動態パラメータの幾何平均値は、（自然）対数変換した個々のパラメータ値に用いられる 2 標本 t 検定によって CSL830 及び CE1145 の間で比較した。2 製剤の生物学的同等性を評価するための目的変数は $AUC_{0\text{-}96}$ であり、これは投与後から 96 時間までの観察された血漿中 C1-INH 濃度時間-曲線下面積である。その結果得られた $AUC_{0\text{-}96}$ の幾何平均値は、CSL830 群で 81.7 IU•h /mL 及び CE1145 群で 75.1 IU•h /mL であった。推定された幾何平均比は 109%であり、両側 90%信頼区間は 100～118%の範囲であった。したがって、80～125%の範囲内にある 2 製剤の生物学的同等性が、変数 $AUC_{0\text{-}96}$ において有意水準 5%で実証された（試験番号 PSK 09/11、モジュール 4.2.2.2.5）。結論として、この試験によってウサギに単回静脈内投与したときの CSL830 及び CE1145 の生物学的同等性が示された。

表 2.4-3：薬物動態試験一覧

種類	試験番号	バッチ番号	使用製剤	GLP 適用
ラット薬物動態試験	V-626 (1-3)	[redacted]	C1-Inaktivator Behring	不適
ウサギ薬物動態試験	PSK 02/05	[redacted]	Berinert® P	不適
ウサギ薬物動態試験	PSK 12/05	[redacted]	Berinert® P 10×Berinert P	不適
ラット薬物動態試験	PSR 08/10	[redacted]	Berinert® P Berinert® (ナノ濾過)	不適
ウサギ薬物動態試験	PSK 09/11	[redacted]	Berinert® P CSL830	不適

2.4.4 毒性試験

実施した毒性試験の概要を表 2.4-4 に示す。

CE1145 の単回静脈内投与毒性試験は、マウス（投与量：1500、3000、6000 IU/kg）及びラット（投与量：1000、2000、3000 IU/kg）で実施し、1988 年にベリナート®P の承認申請資料で提出しており本承認申請資料には含まれない。CE1145 を単回静脈内投与したときのマウス及びラットの NOAEL（無毒性量）は、それぞれ 6000 IU/kg 及び 3000 IU/kg であった。

ラット反復投与毒性試験において、CE1145 を 20、60、200 IU/kg/day の投与量で 14 日間に渡って静脈内投与した。14 日間の試験期間中に、死亡及び毒性に関連する臨床症状は観察されなかった。また、体重又は摂餌量の変化、眼科学的検査での毒性に関連する変化、血液学的、血液生化学的又は尿検査パラメータへの影響、臓器重量における毒性に関連する影響、及び毒性に関連する肉眼的又は組織学的所見はみられなかった。観察された注射部位反応は、本質的に投与手技によるものとみなされた。トキシコキネティクス評価では、60 IU/kg/day 又は 200 IU/kg/day 投与群で明確な用量依存性が確認された。抗 CE1145 抗体の測定では、明確な結果は得られなかった。結論として、ラットへの CE1145 投与は 200 IU/kg の最高用量まで忍容性が良好であり、この試験条件下における NOAEL は 200 IU/kg/day であった（試験番号 856351、モジュール 4.2.3.2.1）。

ウサギの局所刺激性評価は、CE1145 が単回静脈内又は皮下投与したときに十分な忍容性があることを示唆した。1500 IU/動物を静脈内投与したとき、投与後 24 時間までの間に刺激性変化はみられなかった。剖検において静脈壁の炎症又は血栓形成の徴候はみられなかった。同様に、25 又は 75 IU/kg を皮下投与したとき、単独所見とみなされた 25 IU/kg 投与後 72 時間以内にみられたわずかな一過性の紅斑を除いて、両投与量で薬物に関連した肉眼的又は組織学的所見はみられなかった（試験番号 265.143.905、モジュール 4.2.3.6.1）。ウサギにおける CE1145 の注射部位局所刺激性試験は、1988 年にベリナート®P の承認申請資料で提出しており本承認申請資料には含まれない。

追加の局所刺激性評価は、ウサギ（n=3/群）に CSL830 を予定投与経路の皮下投与で実施したが、偶発的に起こりうる投与経路である静脈内、動脈内（i.a.）及び筋肉内（i.m.）投与でも実施した。生理食塩液を陰性対照として使用した。CSL830 は皮下、静脈内、動脈内及び筋肉内投与で良好な忍容性を示したという結論であった。途中死亡はなく、記録された全身性の臨床所見もなかった。体重は、投与経路に関係なく被験物質投与による影響を受けなかった。紅斑及び浮腫が 1617 IU/動物（約 670 IU/kg）を皮下投与した投与部位で観察され、対照部位と比較して発生率及び/又は重症度はわずかに高かった。CSL830 を皮下投与した部位に血腫も認められた。CSL830 の静脈内（1617 IU/動物）、動脈内（1617 IU/動物）及び筋肉内（269.5 IU/動物）投与後には紅斑又は浮腫は観察されなかった。その他すべての臨床所見は投与手順に関連すると考えられた。剖検時には、投与経路によらず CSL830 に関連した肉眼的病変はみられなかった。組織学的検査では、皮下（雌）、静脈内（雄）、筋肉内（雌雄）投与後の注射部位で CSL830 に関連する所見は軽微ないし軽度であったが、動脈内投与との差はみられなかった。皮下投与した雌 1 匹において、注射部位にわずかなコラーゲンの分解がみられた。この所見は、おそらく CSL830 投与に関連していると考えられた。しかしながら、重症度は低いと考えられ、対照群及び雄性群の皮下投与部位との間に差異はなかった（試験番号 37872 TAL、モジュール 4.2.3.6.2）。

さらに、CSL830（1617 IU/動物、650 IU/kg）の局所刺激性はウサギ（n=3/群、2 雄+1 雌）において検討され、CE1145 及びその調製液の皮下投与時の刺激性を直接比較することで評価した。生理食塩液（0.9%NaCl）を各動物のそれぞれの反対側の部位で対照薬として使用した。途中死

亡はみられず、全身毒性を示す臨床徴候は観察されなかった。体重は被験物質投与による影響を受けなかった。生理食塩液を投与した部位では反応はみられなかった。CSL830、CE1145 又は製剤調製液を投与した部位では有意差はなかった。剖検時、被験物質に関連した肉眼的病変は、いずれの注射部位でもみられなかった。投与した被験物質に関係なく、同様な出現率及び重症度で大部分の動物で観察されたわずかな変化は、投与手技に関連していると考えられた。結論として、CSL830、CE1145 及び CE1145 調製液の皮下注射の忍容性は良好であることが確認された（試験番号 38060 TAL、モジュール 4.2.3.6.3）。

新生抗原性試験では、ウイルス除去ステップであるパスツリゼーション又はナノ濾過によって誘発される潜在的な新生抗原決定基の存在を検討した。パスツリゼーション時に新生抗原決定部位が存在しないことは、オクタロニー試験及びモルモットの受動的皮膚アナフィラキシー試験（PCA）の両方で証明された［新生抗原性試験（試験番号 V-211d）は 1988 年にベリナート®P の承認申請資料で提出しており本承認申請資料には含まれない］。さらに、CE1145（ナノ濾過処理製剤）を抗原として免疫したウサギで抗体産生を評価した。対照抗原 CE1145（ナノ濾過処理非実施）の存在によってブロックされた精製抗 CE1145（ナノ濾過処理製剤）抗血清を用いた経時的ウェスタンブロット法において、製造工程にナノ濾過ステップを導入後の抗原決定部位の形成を除外できることが示された（試験番号 ZNA35361.001、モジュール 4.2.3.7.7.1）。

CE1145 投与に関係する可能性のある血栓形成促進リスクは、Wessler（1955）による最初の研究に基づいた Giles et al.（1980）の方法に従いウサギで評価され、適切な静脈を結紮させることで一過性に静脈うっ血を引き起こし、評価及び比較パラメータとして血栓症発生率及び血栓湿重量を検討した。ウサギに CE1145 の 200、400 又は 800 IU/kg を単回静脈内投与したとき（n=4/群）、血栓形成は観察されなかった（試験番号 VTK 03/09、モジュール 4.2.3.7.7.2）。追加試験において、CSL830 でも同様なことが確認され、すなわち、ウサギに生理食塩液、200 及び 800 IU/kg を単回静脈内投与（n=4/群）したときに、血栓形成はみられなかった。対照的に、陽性対照として使用した FEIBA（50 IU/kg）の静脈内投与では測定可能な重量の非閉塞性血栓が生じた（試験番号 VTK 12/11、モジュール 4.2.3.7.7.3）。

表 2.4-4：毒性試験一覧

試験の種類	試験番号	バッチ番号	使用製剤	GLP 適用
ラット反復静脈内投与毒性試験	856351	[redacted]	Berinert® P	適
ウサギ皮下投与局所刺激性試験	265.143.905	[redacted]	Berinert® P	適
ウサギ皮下、静脈内、動脈内、筋肉内投与局所刺激性試験	37872 TAL	[redacted]	CSL830	適
ウサギ皮下投与局所刺激性試験	38060 TAL	[redacted]	CSL830	適
ウサギ皮下投与新生抗原性試験	ZNA 35361.001	[redacted]	Berinert® P Berinert®（ナノ濾過）	適
ウサギ静脈内投与血栓形成試験	VTK 03/09	[redacted]	Berinert® P	不適
ウサギ静脈内投与血栓形成試験	VTK 12/11	[redacted]	CSL830	不適

2.4.5 総括及び結論

1979 年から市販されているヒト血漿由来 C1-INH 濃縮 CE1145 製剤の臨床使用は豊富な経験があり、2014 年以降、静脈内投与用の 10 倍濃度製剤（Berinert® 1500）がカナダ及び欧州連合で承認されている。また、2017 年に皮下注射用の CSL830 が米国及びカナダで承認されている。

非臨床プログラムには、CSL830 に対して実施された試験に加え CE1145 から得られた薬理、薬物動態及び毒性試験が含まれる。

有効成分は CE1145 及び CSL830 とで同一であるため、CE1145 で実施した薬力学試験は CSL830 に直接適用が可能であるとみなすことができる。CE1145 の薬理活性は、ヒト及びラットにおいて、補体阻害の *in vitro* 評価に基づいて確認した。さらに、CE1145 は浮腫形成及び毛細血管漏出の予防又は軽減が可能であり、血管内皮炎及び再灌流障害に関する抗炎症作用及び保護作用を惹起した。

ウサギにおける薬物動態試験は、CE1145 を皮下投与したときの適切なバイオアベイラビリティを示唆した。さらに、CE1145 及び CSL830 と同等である CE1145 の探索的 10 倍濃度製剤の皮下投与についての薬物動態学的生物学的同等性が示された。AUC に基づき CE1145 及び CSL830 の静脈内投与に対する生物学的同等性を確認することができた。

全身曝露濃度は類似しているが、CSL830 を皮下投与したときの最高血漿中濃度は CE1145 の静脈内投与と比較して低いため、CE1145 で実施された安全性薬理試験、単回及び反復投与毒性試験並びに血栓形成性試験は、追加評価なしで CSL830 に適用可能であり適切であると考えられた。

イヌの安全性薬理試験では、CE1145 が心血管系及び呼吸系に対して 3500 IU/kg の累積静脈内投与したとき良好な忍容性を示した。凝固に関係するいくつかのマイナーな所見は、本質的に軽度であった。14 日間の反復投与毒性試験では CNS に関係する臨床所見はみられず、脳及び脊髄の病理（組織）学的評価では CNS に悪影響を及ぼす病理学的所見は示されなかった。

マウス及びラットにおける単回投与毒性試験では、静脈内投与したときの NOAEL がマウス及びラットでそれぞれ 6000 IU/kg 及び 3000 IU/kg であることを示した。ラットに CE1145 を 14 日間反復静脈内投与したときの NOAEL は 200 IU/kg/day であった。

CE1145 と比較した CSL830 のタンパク質濃度の増加及び投与経路の変更は、ウサギにおける 2 つの局所刺激性試験の一部として評価した。これらの試験の生存期間中に有害作用はみられず、剖検時に有害な病理組織学的所見はなかったことから、意図した皮下投与したときだけでなく、誤投与経路すなわち静脈内、動脈内又は筋肉内投与でも CSL830 の忍容性が良好であることが示唆された。

また、血栓形成性評価を CE1145 及び CSL830 の両方で実施し、800 IU/kg の静脈内投与まで血栓形成促進リスクがないことを確認した。最高薬物濃度は潜在的な血栓形成性に最も関係すると考えられたので、CSL830 の静脈内投与のみを本試験の一部として評価した。

結論として、CE1145 の非臨床試験及び CSL830 で実施された追加の薬物動態学的及び毒性学的評価は、皮下投与で適用される予定臨床用量 60 IU/kg での CSL830 の臨床使用を支持する。

2.4.6 引用文献

Buerke M, Murohara T, Lefer AM. Cardioprotective effects of a C1 esterase inhibitor in myocardial ischemia and reperfusion. Circulation 1995, 91(2):393-402.

Caspritz G. The blocking by human C1-inactivator of both carrageenin paw edema and its potentiation by the angiotensin converting enzyme-inhibitor ramipril. IRCS Medical Science 1986, 14:568-9.

Dickneite G. Influence of C1-inhibitor on inflammation, edema and shock. Behring Institute Mitteilungen 1993, 93:299-305.

Dickneite G & Seiffge D. Efficacy of C1-inhibitor on capillary leakage and septic shock in the rat. In: The Immune Consequences of Trauma, Shock and Sepsis - Mechanisms and Therapeutic Approaches. Faist E, Baue AE, Schildberg FW (eds). Pabst Science Publishers, Lengerich, 1996, pp.44-50.

Doyle JW, Johnson GL, Eshhar N, Hammond D. The use of rabbit polyclonal antibodies to assess neoantigenicity following viral reduction of an alpha-1-proteinase inhibitor preparation. Biologicals 2006, 34(3):199-207.

Giebler R, Schmidt U, Koch S et al. Combined antithrombin III and C1-esterase inhibitor treatment decreases intravascular fibrin deposition and attenuates cardiorespiratory impairment in rabbits exposed to *Escherichia coli* endotoxin. Critical Care Medicine 1999, 27:597-604.

Giles AR, Johnston M, Hoogendoorn H, Blajchman M, Hirsh J. The thrombogenicity of prothrombin complex concentrates: I. The relationship between *in vitro* characteristics and in vivo thrombogenicity in rabbits. Thrombosis Research 1980, 17(3-4):353-66.

Heimann A, Takeshima T, Horstick G, Kempski O. C1-esterase inhibitor reduces infarct volume after cortical vein occlusion. Brain Research 1999, 838:210-3.

Heydenreich N, Nolte MW, Göb E, et al. C1-inhibitor protects from brain ischemia-reperfusion injury by combined antiinflammatory and antithrombotic mechanisms. Stroke 2012, 43(9):2457-67.

Sonntag J, Wagner MH, Liu G et al. Effect of C1-inhibitor in a rat model of necrotizing enterocolitis. Biology of the Neonate 1999, 76:235-41.

Wessler S, Ward K, Ho C. Studies in intravascular coagulation. III. The pathogenesis of serum-induced venous thrombosis. Journal of Clinical Investigations 1955, 34:647-51.