サノフィ株式会社

efanesoctocog alfa

CTD 第二部 ー 非臨床概要

2.4 非臨床試験の概括評価

Total number of pages: 26

目　　次

2.4 非臨床試験の概括評価 1

目　　次 2

表　目　次 3

図　目　次 4

略号と用語の定義 5

1　　非臨床試験計画概略 7

1.1　　緒言 7

1.2　　本薬の概要 8

1.3　　非臨床試験プログラム 9

2　　薬理試験 12

2.1　　*In vitro*試験 13

2.2　　*In vivo*試験 13

2.3　　安全性薬理試験 14

3　　薬物動態試験 15

4　　毒性試験 17

5　　総括及び結論 20

6　　参考文献一覧 22

7　　付録 25

7.1　　付録 1 - データ欠如の理由 25

表　目　次

表 1 - 試験に用いた本薬ロットの概要 11
表 2 - *In vitro*薬理試験の要約 12
表 3 - *In vivo*薬理試験の要約 13
表 4 - 非臨床薬物動態試験の概要 15
表 5 - 本薬の非臨床毒性試験の概要 17
表 6 - 本薬の動物：ヒト用量比 21

図　目　次

図 1 - 本薬の分子構造 9

略号と用語の定義

[redacted]:	[redacted]
[redacted]:	[redacted]
[redacted]:	
a1、a2 及び a3:	FVIII の酸性領域 1、2 及び 3（FVIII acidic region 1, 2 and 3）
ADA:	抗薬物抗体（Anti-drug antibodies）
アドベイト:	武田薬品工業の完全長遺伝子組換え血液凝固第 VIII 因子製剤（Full length recombinant factor VIII molecule from Takeda Pharmaceutical）
aPTT:	活性化部分トロンボプラスチン時間（Activated partial thromboplastin time）
AUC:	血漿中濃度又は活性－時間曲線下面積（Area under the plasma concentration or activity versus time curve）
BDD:	B ドメイン除去（B domain deleted）
BDD FVIII:	B ドメイン除去遺伝子組換え血液凝固第 VIII 因子（B domain deleted recombinant factor VIII）
C_{max}:	最高血漿中濃度又は活性（Maximum plasma concentration or activity）
C_{max}/Dose:	用量で補正した最高血漿中濃度又は活性（Dose normalized maximum concentration or activity in plasma）
DKO:	ダブルノックアウト（Double knock-out）
DNA:	デオキシリボ核酸（Deoxyribonucleic acid）
DS:	原薬（Drug substance）
ED_{50}:	50%有効用量（Half maximal effective dose）
EHL:	半減期延長型（Extended half-life）
イロクテイト／Elocta:	サノフィのエフラロクトコグ アルファ（BDD 血液凝固第 VIII 因子及び Fc からなる遺伝子組換え融合タンパク質）（Efraloctocog alfa from Sanofi/Sobi, which is a recombinant fusion protein that comprises a BDD factor VIII and an Fc）
EMA:	欧州医薬品庁（European Medicines Agency）
Fc:	IgG1 の結晶化可能領域フラグメント（Fragment crystallizable region of IgG1）
FcRn:	胎児型 Fc 受容体（Neonatal Fc receptor）
FDA:	米国食品医薬品局（U.S. Food and Drug Administration）
FVIII:	血液凝固第 VIII 因子（Factor VIII）
GLP:	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（Good laboratory practice）
GMP:	医薬品の製造管理及び品質管理に関する基準（Good manufacturing practice）
HemA:	血友病 A（Hemophilia A）
hFVIII:	ヒト血液凝固第 VIII 因子（Human factor VIII）

ICH:	医薬品規制調和国際会議（International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use, formerly International Conference on Harmonisation）
IgG1:	免疫グロブリン G1（Immunoglobulin G1）
INN:	国際一般名（International nonproprietary name）
IU:	国際単位（International unit）
IV:	静脈内（Intravenous）
MOA:	作用機序（Mechanism of action）
NOAEL:	無毒性量（No observed adverse effect level）
PD:	薬力学（Pharmacodynamics）
PK:	薬物動態（Pharmacokinetics）
rFVIII:	遺伝子組換え血液凝固第 VIII 因子（Recombinant factor VIII）
rFVIIIFc:	BDD 血液凝固第 VIII 因子及び Fc からなる遺伝子組換え融合タンパク質（Recombinant fusion protein comprising a BDD factor VIII and an Fc）
SDS-PAGE:	ドデシル硫酸ナトリウムーポリアクリルアミドゲル電気泳動（Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis）
TEAE:	治験薬投与下で発現した有害事象（Treatment-emergent adverse events）
TK:	トキシコキネティクス（Toxicokinetics）
TVT:	尾静脈切断（Tail vein transection）
VWF:	フォンヴィレブランド因子（von Willebrand factor）
XTEN ポリペプチド:	6 つの天然アミノ酸（Gly、Ala、Pro、Glu、Ser、Thr、すなわち G、A、P、E、S、T）からなるモチーフの反復配列で構成される非構造化親水性ポリペプチド。XTEN は Amunix Pharmaceuticals Inc.の登録商標である。（Unstructured hydrophilic polypeptide, composed of repeating motifs of 6 natural amino acids (Gly, Ala, Pro, Glu, Ser, Thr or G,A,P,E,S,T); XTEN is a registered trademark of Amunix Pharmaceuticals Inc.）

1　非臨床試験計画概略

Efanesoctocog alfa（開発コード：BIVV001）は、遺伝子組換え血液凝固第 VIII 因子 Fc（rFVIIIFc）、フォンヴィレブランド因子（VWF）及び XTEN の融合タンパク質（rFVIIIFc-VWF-XTEN）である。本文書を通して、efanesoctocog alfa を本薬と記載する。本資料には、血友病 A（HemA）の治療を目的とした本薬の使用をサポートするための薬理、薬物動態（PK）及び非臨床安全性プロファイルの評価についての全体的な非臨床試験計画及び実施した試験プログラムを要約する。薬理、PK 及び毒性試験の詳細な結果及び考察は、それぞれ Module [2.6.2] 薬理試験の概要文、Module [2.6.4] 薬物動態試験の概要文及び Module [2.6.6] 毒性試験の概要文に示す。

本提出資料及び裏付けとなる試験報告書では、本薬を BIIB073 とも称する。

1.1　緒言

HemA は主に男性が罹患する X 染色体関連の出血性疾患であり、その特徴として、機能的な血液凝固第 VIII 因子（FVIII）が欠乏しているため、外傷による致命的な出血や軟部組織及び関節内の再発性出血が生じる(1)。関節内の再発性出血は、時間経過とともに関節症及び重度の身体障害を引き起こす。HemA に利用可能な根治療法はなく、治療は FVIII 含有血液凝固因子製剤を用いた FVIII の補充による止血能の回復に焦点が当てられている。現時点で推奨されている標準治療は、出血エピソード数の低減を目的とした FVIII の定期補充療法（定期的な予防的投与）である。

定期補充療法は長期の臨床転帰を改善することが示されているが、頻回の静脈内（IV）投与が必要であるため、負担の多い投与レジメンである(2)。イロクテイト／Elocta（サノフィ社の rFVIIIFc 製剤）のような半減期延長型（EHL）FVIII 製剤が導入される前は、消失半減期が成人において 10～12 時間と短かったことから、FVIII 製剤の投与は概して 2～3 日に 1 回行われた(3)(4)(5)(6)。rFVIIIFc 製剤では消失半減期が成人で 19 時間とより長くなったことから、投与頻度が低下し、3～5 日に 1 回となった。そのほかの EHL FVIII 製剤（glyco-PEG 化 rFVIII［イスパロクト］、Cys 置換体-PEG 化 FVIII［ジビイ］及びアミノ基-PEG 化 FVIII［アディノベイト］）でも半減期が同様に延長されており、成人における消失半減期は 14～19 時間である(7)(8)(9)。

投与頻度は少ないままでも高レベルの FVIII 活性が持続することにより出血エピソードを長期にわたって予防及び管理することができる新規クラスの EHL FVIII 製剤が得られれば、出血予防効果が改善され、予防的投与レジメンでの要求に従う際の負担が軽減される可能性がある。これにより、HemA 患者の生活の質が改善されると考えられる。Voice of the Patient report for Bleeding Disorders（出血性疾患に関する患者の声）によると、患者及び介護者は EHL 製剤により投与回数が減少したことを高く評価しているが、依然として「安全、効果的、強力、安価、極めて持続的かつ投与が容易な製剤」を求めている(10)。投与回数が減少するとともに高レベルの FVIII が持続すると、治療の負担が軽減され、利便性が向上するため、血友病患者の生活の質が改善されると考えられる。

1.2 本薬の概要

本薬は、FVIII-VWF 相互作用によって規定される半減期の制限を克服するために、内因性 VWF には結合しないよう特別にデザインされた最初の FVIII 補充療法薬である。トロンビン切断により活性化される前は、天然型 FVIII は、循環血中で VWF と不活性な複合体を形成しており、それによって FVIII 分子が安定化され、FVIII と血液凝固経路成分との早期の結合が抑制され、FVIII のタンパク質分解も抑制される。しかし、内因性 VWF と結合することによって、FVIII は VWF を介して除去されるようにもなる。現在市販されているいずれの EHL 遺伝子組換え血液凝固第 VIII 因子（rFVIII）製剤も、VWF と相互作用するため循環血中の半減期は同程度であり、内因性 VWF の半減期によって規定される上限値（約 15～18 時間）に一致している(11)。

本薬は、1 本鎖の B ドメイン除去ヒト FVIII が VWF の D′D3 ドメインにヒト免疫グロブリン G1（IgG1）の結晶化可能領域フラグメント（Fc）ドメインを介して共有結合したものと、2 つの XTEN ポリペプチドからなる新規の遺伝子組換え融合タンパク質である（XTEN は、6 つの天然アミノ酸［G、A、P、E、S、T、すなわちグリシン、アラニン、プロリン、グルタミン酸、セリン及びトレオニン］からなるモチーフの反復配列で構成される非構造化ポリペプチド。XTEN は Amunix Pharmaceuticals Inc.の登録商標）。

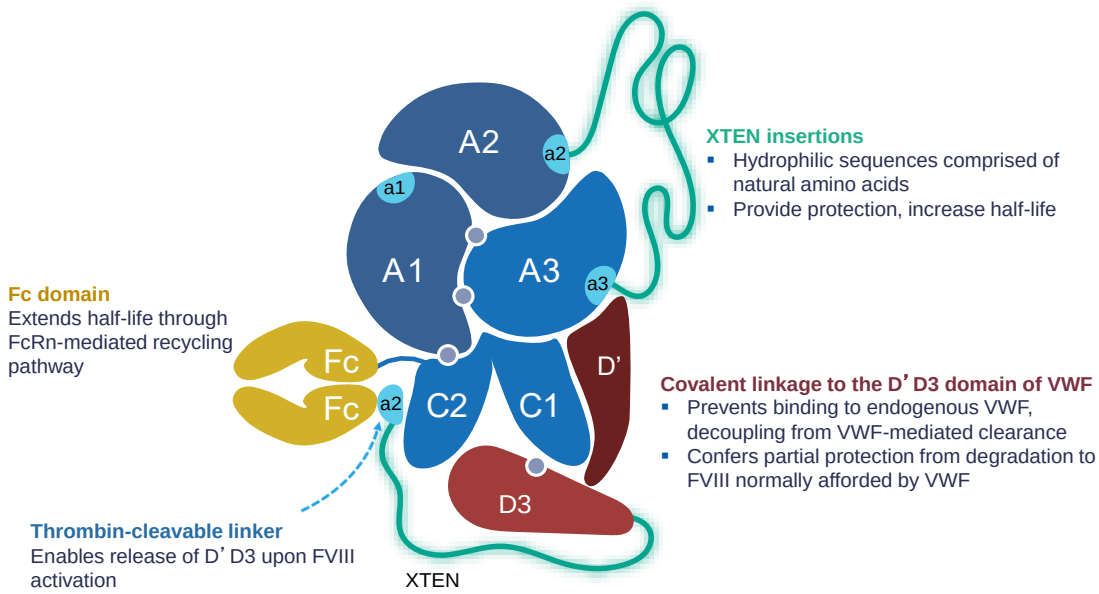
イロクテイト／Elocta と同様に、本薬は Fc ドメインを胎児型 Fc 受容体（FcRn）に結合させ、自然に生じる FcRn 介在性リサイクリング経路を利用して半減期を延長させている。XTEN ポリペプチドは、分子の流体力学的半径を変化させてクリアランスを減少させることによって、融合タンパク質の半減期を延長させる(12)。VWF の D′D3 ドメインは FVIII と相互作用する領域である。VWF の D′D3 ドメインを rFVIII-Fc 融合タンパク質に付加させると、FVIII が保護されて安定化し、投与時の FVIII と内因性 VWF との相互作用が抑制されるため、VWF による FVIII の半減期の制限が克服されると考えられる(13)。

このように、本薬の各成分（Fc、VWF- D′D3 及び XTEN）は、血漿中 FVIII 分子の半減期が最大限に延長されるよう慎重にデザインされている(13)。

本薬において、1 つ目の XTEN ポリペプチドは、FVIII N745～E1649 のアミノ酸残基間に挿入されており、天然型 FVIII B ドメインが置換されている。したがって、両側に天然型 FVIII のトロンビン切断部位（N 末端側は a2 及び C 末端側は a3）があり、トロンビンにより本薬が活性化されると XTEN ポリペプチドが遊離する。2 つ目の XTEN ポリペプチドは、D′D3 と Fc との間に挿入されている。FVIII a2 のトロンビン切断部位がもう 1 つ D′D3-XTEN と Fc との間に挿入されており、トロンビンによる活性化時には rFVIII-Fc 融合タンパク質から D′D3-XTEN が効率的に遊離される（図 1）。

本薬の分子構造が低温電子顕微鏡を用いて 2.9 Å 分解能で解析され(14)、FVIII が D′D3 と複合体を形成していることが示された。主な分子相互作用部位は、D′D3 ドメインと FVIII- A3/C1/C2 ドメインとの間に位置している。

図 1 - 本薬の分子構造



略号：a1、a2 及び a3 = FVIII の酸性領域 1、2 及び 3、Fc = IgG1 の結晶化可能領域フラグメント、FcRn = 胎児型 Fc 受容体、FVIII = 血液凝固第 VIII 因子、VWF = von Willebrand 因子、XTEN ポリペプチド = 6 つの天然アミノ酸（G、A、P、E、S、T）からなるモチーフの反復配列で構成される非構造化ポリペプチド。
注：緑色の線 = XTEN ポリペプチド

トロンビンによる活性化時には、FVIII と VWF の D′D3 ドメインとの間の相互作用が切断され、D′D3-XTEN（FVIII の内因性完全長 VWF からの遊離と同様）及び B ドメインの XTEN ポリペプチドが遊離される。トロンビンによる本薬の活性化で、活性化 rFVIII と Fc の融合タンパク質が生じる。活性化した本薬は、活性化 FVIII のように活性化血液凝固第 IX 因子の補因子として働き、リン脂質表面で血液凝固第 X 因子から活性化血液凝固第 X 因子への変換を促進し、最終的にはプロトロンビンをトロンビンに変換させることによりフィブリン塊を形成させる。

1.3　非臨床試験プログラム

HemA の治療を目的とした本薬の臨床開発及び製造販売承認をサポートするため、マウス、ラット及びサルを用いた本薬の広範な非臨床試験プログラムを実施した。非臨床試験プログラムには、*in vitro* 及び *in vivo* 薬理試験、PK 試験及び毒性試験からなる。いずれの非臨床試験も、HemA 患者の予定投与経路である IV 投与で実施した。*In vivo* 試験で使用したマウス血友病 A モデル（HemA マウス）は、非臨床試験において HemA 治療薬の止血能の評価に最もよく使用される、薬理学的に適したモデルである。HemA マウスは、内因性 FVIII 活性が 1%未満であり、重症 HemA 患者に類似した凝固時間の延長が認められる。また、マウスの FVIII タンパク質はヒト FVIII（hFVIII）と約 74%一致しているため、HemA マウスに hFVIII を投与すると血液凝固能が回復する。

血液凝固カスケードは動物種間でよく保存されているため、マウス、ラット及びサルは非臨床安全性試験において本薬の特性を評価するのに適している(15)。これらの動物種において、一般的な血液凝固経路は内因性又は外因性経路のいずれかを介して活性化され、フィブリン塊が形成される。ラット及びサルでは、ヒトと同様に、本薬の Fc 部分が FcRn に結合し(16)(17)、FVIII 欠損動物モデル（HemA マウス(13)など）で本薬の rFVIII-Fc 部分の血液凝固活性が認められている。このように、これらの動物種では血液凝固カスケードの活性及び Fc 結合が保存されていることがこれまでに示されているため、毒性試験において薬理学的な反応を示すと考えられた。Module 2.6.2 に記載した実験結果は Seth Chhabra ら（2020 年）により論文としても公表されている(13)。非臨床試験概要では、本薬を用いたこの他の公表論文内容は含まれない。

予定されている患者集団は主に男性であるが、FVIII が欠損している女性に本薬を使用する場合もサポートするために、毒性試験プログラムでは雌動物も使用した。

非臨床試験プログラムは以下のように計画した。

- 本薬の半減期が VWF に非依存的であるか否かを評価し、本薬が *in vivo* において安定であり、内因性 VWF に結合しないことを確認する。
- 本薬の改善された PK パラメータをいくつかの動物種で評価する。
- 様々な[redacted]の[redacted]（[redacted]［[redacted]］、[redacted]［[redacted]］及び[redacted]［[redacted]］）を用いて製造した原薬（DS）の PK プロファイルを検討する。
- 活性化部分トロンボプラスチン時間（aPTT）に基づく凝固一段法及び二段階発色合成基質法における本薬の FVIII 活性、本薬の全身止血能並びに *in vitro* アッセイにおける本薬のトロンビン活性化作用を評価する。
- HemA マウスの予防出血モデルにおいて、半減期の延長により効果の持続時間が延長することを確認する。
- HemA マウスの急性出血モデルにおいて、本薬の効果を確認する。
- 薬理学的に適切な 2 つの動物種（Sprague-Dawley ラット及びカニクイザル）を用いた試験及びヒト全血を用いた血液適合性試験において、本薬の非臨床安全性プロファイルを評価する。

アドベイト（武田薬品工業の完全長 rFVIII 製剤）は広く使用されている rFVIII 製剤であり、血友病研究において広範な有効性及び PK データが得られていることから、非臨床薬理及び PK 試験における比較対照薬として選択した。

本薬の非臨床安全性試験プログラムは、医薬品規制調和国際会議（ICH）S6(R1)「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」(18)及び ICH S7A「安全性薬理試験ガイドライン」(19)を考慮して計画した。

医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）適用の独立した安全性薬理試験は実施しなかったが、心血管系、呼吸系及び中枢神経系の評価は、ラット及びカニクイザルを用いた反復投与毒性試験の一環として実施した。この方法は、ICH S6(R1)に合致している(18)。

同様に、本薬の臨床試験及び製造販売承認をサポートするためのその他の安全性試験は実施しなかった。慢性毒性試験、がん原性試験及び生殖発生毒性試験は、4項に記載した理由により実施しなかった。

非臨床試験及び臨床試験で用いた BIVV001 原薬（DS）のロット情報を以下の表 1 にまとめる。

表 1 - 試験に用いた本薬ロットの概要

	GLP-Tox and Non-GLP Pharmacology studies (Lot [redacted] also known as lot [redacted])	**Phase 1/2a Clinical studies lots**	**Phase 3 Clinical studies lots**
GMP status	Non-GMP	GMP	GMP
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
Process A or B for downstream processing of DS[a]	Process A ([redacted])	Process A	Process B
Frozen liquid drug substance (DS) or lyophilized drug product (DP)	DS	DP	DP

略号: GLP: Good laboratory practices; GMP: Good manufacturing practices; DS: Drug substance; DP: Drug product

a Details regarding process A and B can be found in CMC module 3.2.S.2.6 Manufacturing Process Development.

本資料に示す非臨床安全性試験は、経済協力開発機構データ相互受入制度加盟国の GLP モニタリングプログラムに参加している試験施設において、その国の GLP 規制を遵守し、ICH ガイドラインに従って実施した。GLP 適用の非臨床試験又は GLP 適用であるが GLP に完全には準拠していない部分については、試験施設又は試験場所で確立された実施手順や方法に従って実施した。これらの試験の信頼性及び結果の完全性又は解釈に影響を及ぼした可能性のある不測の事態はなかった。GLP 非適用の試験は試験施設の標準操作手順書及び方法に従って実施しており、結果の信頼性又は解釈に影響を及ぼした可能性のある不測の事態はなかった。

2 薬理試験

In vitro における血液凝固活性の評価及び *in vivo* における HemA マウスを用いた単回投与薬力学（PD）試験を実施し、本薬の有効性を評価した。尾切断及び尾静脈切断（TVT）の出血モデルを用いて本薬とアドベイトの有効性を比較した。

本申請資料に記載した非臨床薬理試験の概要を、表 2、表 3及び Module 2.6.3 薬理試験概要表[表 2.6.3.1]に示す。薬理試験は Module [2.6.2] 薬理試験の概要文に要約する。

全ての非臨床薬理試験（Rsch-[redacted]-043 試験を除く）において、10 mmol/L L-ヒスチジン、250 mmol/L L-アルギニン塩酸塩、5%（w/v）精製白糖、5 mmol/L $CaCl_2$、0.05%ポリソルベート 80（pH 7）で調製した DS（ロット[redacted]）を使用した。ロット[redacted]の DS は、臨床試験で使用した物質を代表するものである。

Rsch-[redacted]-043 試験では、[redacted]つの[redacted]を有する研究グレードの原薬を使用した。これら[redacted]つの[redacted]は、[redacted]に位置し、本分子の PD 及び PK への影響は認められず、最終的な本薬分子では除去されている。

表 2 - *In vitro* 薬理試験の要約

報告書番号	試験の説明	GLP 適用の有無	試験系
R-BV001-03	aPTT 凝固一段法及び二段階発色合成基質法による本薬の活性の評価	非適用	ヒト FVIII 欠乏血漿
R-BV001-04	TGA、ROTEM 及びフィブリン生成による本薬の血液凝固能の評価	非適用	ヒト HemA 患者の血漿又は全血
R-BV001-07	トロンビンによる本薬及び BDD FVIII の活性化速度（SDS PAGE による評価）	非適用	ヒトαトロンビン
R-BV001-10	トロンビンで消化された本薬の逆相液体クロマトグラフィー分析	非適用	ヒトαトロンビン

略号：aPTT = 活性化部分トロンボプラスチン時間、BDD = B ドメイン除去、GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準、HemA = 血友病 A、FVIII = 血液凝固第 VIII 因子、ROTEM = 全血凝固線溶分析、SDS-PAGE = ドデシル硫酸ナトリウムーポリアクリルアミドゲル電気泳動、TGA = トロンビン生成アッセイ

表 3 - *In vivo* 薬理試験の要約

報告書番号	試験の説明	GLP 適用の有無	動物種	用量（IU/kg）	投与頻度
Rsch-[redacted]-043	尾切断に対する急性効果	非適用	HemA マウス	rFVIIIFc-VWF-XTEN（ 分子A* ）[a]及びアドベイト：37.5、75 又は 150 IU/kg	単回投与
R-BV001-05	TVT 試験における予防効果	非適用	HemA マウス	本薬及びアドベイト：1.5、5、15、50 又は 100 IU/kg	単回投与

略号：アドベイト = 武田薬品工業の完全長遺伝子組換え血液凝固第 VIII 因子製剤、GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準、HemA = 血友病 A、IU = 国際単位、rFVIIIFc = BDD 血液凝固第 VIII 因子及び Fc からなる遺伝子組換え融合タンパク質、TVT = 尾静脈切断、VWF = von Willebrand 因子、XTEN ポリペプチド = 6 つのアミノ酸（G、A、P、E、S、T）からなる非構造化親水性ポリペプチドで、XTEN は Amunix Pharmaceuticals Inc.の登録商標。

a **研究グレードの原薬**

2.1 *In vitro* 試験

本薬は、aPTT 凝固一段法及び二段階合成基質法（以下、発色法）の両方で活性を示した。発色法で得られた本薬のモル比活性は、比較対照薬のアドベイトと同程度であり、ほかの rFVIII 製剤で報告された値の範囲内であった。aPTT 凝固一段法で得られた本薬のモル比活性は、発色法で得られた本薬の活性の 2 分の 1 未満であり、ほかの FVIII 製剤で報告された値の範囲の最低値に近かった（Module 2.6.2 薬理試験の概要文 [2.1 項] 参照）。凝固一段法で得られたモル比活性の方が低かったのは、本薬は 1 本鎖の FVIII を有しており、VWF- D'D3 ドメインに共有結合しているため、活性化して D'D3-XTEN を遊離するのに 2 段階のトロンビン切断が必要であり、また、XTEN ポリペプチド周囲のトロンビン切断や D'D3-XTEN の遊離にわずかな差があることから、凝固一段法の方が凝固時間が長くなったことが原因と考えられる。臨床用量は質量（mg）ではなく、効力（IU）に基づいて設定されるため、モル比活性による *in vivo* 効果への影響はないと考えられる。

トロンビンによる本薬の活性化速度は rFVIII 製剤と同程度であり、本薬の効力を Actin FSL を活性化剤として用いる aPTT 凝固一段法に基づいて決定したとき、本薬の血液凝固能（全血凝固能、トロンビン生成能及びフィブリン生成能）はアドベイトと同程度であった（Module 2.6.2、2.1 項）。したがって、aPTT 凝固一段法は本薬の効力を決定するための適切な方法であった。凝固一段法は、臨床において最もよく使用されている測定法でもある。

2.2 *In vivo* 試験

HemA マウスの 2 つの出血モデル（急性効果を評価する尾切断出血モデル及び予防効果を評価する TVT モデル）を用いて本薬の *in vivo* における血液凝固活性を評価した(17)(20)。

＊新薬承認情報提供時に置換

HemA マウスの尾切断出血モデルで研究グレードの原薬（rFVIIIFc-VWF-XTEN［　　分子A*　　］）の急性効果を評価し、アドベイト（rFVIII 製剤）と比較した。マウスに研究グレード原薬又は rFVIII 製剤のいずれかを、aPTT 凝固一段法の結果に基づき、37.5～150 IU/kg の用量で単回 IV 投与した。投与 5 分後に尾を切断し、その後 30 分間の失血量を測定した。研究グレード原薬及びアドベイトは、検討した用量範囲で用量依存的な同程度の *in vivo* 急性効果を示した。これらのデータから得られた 50%有効濃度（ED_{50}）値に有意差は認められず、尾切断による重度の急性出血に対する ED_{50} は研究グレード原薬で 80 IU/kg、アドベイトで 105 IU/kg と算出された（Module 2.6.2、[2.2 項]）。

HemA マウスの TVT モデルで予防効果を評価した。マウスに TVT を行う前に本薬又はアドベイトを 1.5～100 IU/kg の用量範囲で単回 IV 投与した。本薬は HemA マウスにおける消失半減期がアドベイトよりも 3 倍長いことが示されているため（3項）、本薬は TVT の 72 時間前に、アドベイトは TVT の 24 時間前に投与した。TVT 後 24 時間の生存及び再出血の評価結果に基づくと、本薬は、検討した用量範囲で、アドベイトと比較して予防効果を 3 倍持続させた。これは本薬の消失半減期が 3 倍長いこととよく相関していた。また、本薬（7 IU/kg）の投与 72 時間後とアドベイト（9 IU/kg）の投与 24 時間後の生存保護作用（ED_{50}）は同程度であったことから、効果が 3 倍持続することが更に裏付けられた（Module 2.6.2、2.2 項）。

In vivo 試験で使用した本薬の用量は、aPTT 凝固一段法（Actin FSL を活性化剤として使用）で得られた効力に基づいて決定した。アドベイトと本薬で同程度の効果が認められたことから、本薬の効力は aPTT 凝固一段法で適切に決定されることが示され、したがってこの凝固一段法は生理学的に意義があるアッセイと考えられた。

結論として、本薬は急性効果モデルにおいてアドベイトと同程度の効果を示し、TVT の長期効果モデルにおいてアドベイトよりも効果が 3 倍持続した。

2.3　安全性薬理試験

独立した GLP 適用の安全性薬理試験は実施しなかったが、心血管系、呼吸系及び中枢神経系の評価は、ラット及びカニクイザルを用いた GLP 適用 4 週間反復投与毒性試験の一環として実施した（Module 2.6.6 毒性試験の概要文、[3 項]）。検討した最高用量（750 IU/kg を 3～4 日に 1 回投与）まで、サルの 4 週間試験における心電図検査で心血管系への有害な影響を示す所見は認められず、ラット及びサルの 4 週間 IV 投与試験における一般状態の観察で神経系及び呼吸系への有害な影響を示す所見は認められなかった。

＊新薬承認情報提供時に置換

3 薬物動態試験

HemA マウス、野生型 Sprague-Dawley ラット及び野生型カニクイザルに本薬を投与したときの PK を評価した。

実施した試験の概要を表 4及び Module [2.6.5] 薬物動態試験概要表及び Module [2.6.7] 毒性試験概要表に示す。試験の詳細については、Module [2.6.4] 薬物動態試験の概要文に概説する。

表 4 - 非臨床薬物動態試験の概要

報告書番号	試験の詳細	GLP 適用	動物種	投与量(IU/kg)	投与頻度
R-BV001-01	本薬及びアドベイトの PK 比較評価試験	非適用	HemA マウス	本薬: 25,50, 100 IU/Kg アドベイト: 100 IU/kg	単回投与
R-BV001-02	aPTT ベース凝固一段法及び二段階発色法による本薬の PK 解析比較試験	非適用	HemA マウス	200 IU/kg	単回投与
R-BV001-11	rFVIIIFc-VWF-XTEN*の内因性 VWF 非依存性試験	非適用	HemA、VWF ヘテロ接合及び FVIII/VWF DKO マウス	125～ 258 IU/kg	単回投与
R-BV001-14	3 バッチの本薬の PK 同等性試験	非適用	HemA マウス	50 IU/kg	単回投与
Rsch-[redacted]-044	IgG1 Fc の役割を評価する PK 同等性試験	非適用	HemA マウス	100 IU/kg	単回投与
PD15-118	正常ラットを用いた rFVIIIFc-VWF-XTEN**及びアドベイト PK 比較評価試験	非適用	Sprague-Dawley ラット	150 IU/kg	単回投与
P073-16-03	ヒト以外の正常霊長類を用いた本薬の PK 評価試験	非適用	カニクイザル	100, 300 IU/kg	単回投与
	毒性（トキシコキネティクスを含む）				
P073-16-02	4 週間反復投与毒性及び TK 試験	適用	Sprague-Dawley ラット	75, 250, 750 IU/Kg	3 日ごと合計 10 回投与
P073-16-01	4 週間反復投与毒性及び TK 試験	適用	カニクイザル	25, 75, 250, 750 IU/kg	4 日ごと合計 8 回投与

略号：アドベイト = 完全長遺伝子組換え血液凝固第 VIII 因子製剤、aPTT = 活性化部分トロンボプラスチン時間、DKO = ダブルノックアウト、FVIII = 血液凝固第 VIII 因子、GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準、HemA = 血友病 A、IU = 国際単位、PK = 薬物動態、TK = トキシコキネティクス、VWF = von Willebrand 因子
*,**：本薬の先行開発分子（ 分子C* *）及び研究用グレード（ 分子A* **）を使用した。使用した先行開発分子及び研究用グレードに関する詳細は Module 2.6.4 [表 1]参照のこと。

＊新薬承認情報提供時に置換

本薬は、*in vivo* において、内因性 VWF とは分離した状態で相互作用することなく、安定に維持されるように設計された初めての rFVIII 製剤である(13)。

複数の動物種を用いた非臨床試験において、本薬の最終相半減期は、アドベイトの半減期に比べて約 3 倍長く、内因性 VWF 濃度に左右されないことから、VWF 結合による半減期の制限を受けないことが立証された。マウス及びラットでは、本薬とアドベイトの PK を直接比較する一方、サルでは、本薬の PK を過去に公表されているアドベイトの結果と比較した(21)(22)。本薬の半減期は、マウス及びサルで約 30 時間、ラットで約 20 時間であり、アドベイトの半減期に比べて約 3 倍長かった。PK パラメータは雌雄でおおむね類似していた（Module 2.6.5 薬物動態試験概要表[表 2.6.5.3]、P073-16-01 参照）。さらに、FcRn と結合しない突然変異を有する本薬に基づく評価から、FcRn を介したリサイクル経路は本薬の半減期延長に寄与する因子の 1 つであると考えられた。

マウス、ラット及びサルにおける本薬の全身曝露から、これらの動物種で最高血漿中濃度（C_{max}）及び濃度－時間曲線下面積（AUC）は用量に比例して増加すること、また、消失半減期は検討した用量範囲を通して類似していることが明らかになった（マウス：25～200 IU/kg、ラット：75～750 IU/kg 及びサル：25～750 IU/kg）。

さらに、開発段階で導入された本薬の製造工程変更（すなわち、[redacted]の医薬品の製造管理及び品質管理に関する基準［GMP］適合[redacted]から[redacted]の GMP 適合[redacted]への製造工程[redacted]；第 I/IIa 相臨床試験では[redacted]、第 III 相臨床試験及び市販用には[redacted]の原薬を使用）を裏付けるための分析学的及び生化学的同等性評価を補完するための非臨床 PK 同等性試験も実施した。様々な[redacted]の工程で製造した DS の PK プロファイルは、半減期、AUC、C_{max} 及び C_{max}/Dose の観点で同等であることが立証された。

全体として、これらの試験から、検討した全ての動物種において、標準的な半減期の rFVIII に比べて、本薬の半減期は長く、内因性 VWF の影響を受けないことが立証された。

4　毒性試験

本薬の非臨床安全性プログラムは、第 I/IIa 相漸増投与臨床試験から製造販売承認までの臨床試験プログラムを支持するよう設計された。表 5のとおり、GLP 適用毒性試験として、Sprague-Dawley ラット及びカニクイザルの 2 動物種を用いた 4 週間反復 IV 投与毒性試験並びに *in vitro* の血液適合性評価を実施した。試験の詳細を Module [2.6.6]毒性試験の概要文及び Module [2.6.7]毒性試験概要表に示す。

表 5 - 本薬の非臨床毒性試験の概要

報告書番号	試験の記述	GLP 適用の有無	動物種	投与量又は投与濃度	投与頻度
P073-16-02	4 週間反復 IV 投与毒性及び TK	GLP 適用	Sprague-Dawley ラット	0、75、250、及び 750 IU/Kg/回	3 日ごと、計 10 回
P073-16-01	4 週間反復 IV 投与毒性及び TK	GLP 適用	カニクイザル	0、25、75、250、及び 750 IU/kg/回	4 日ごと、計 8 回
P073-16-04	ヒト全血及び血漿との *in vitro* 血液適合性	GLP 適用	ヒト（*in vitro*）	0、0.41、1.2、及び 4.1 µg/mL	NA

略号：GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準、IU = 国際単位、IV = 静脈内、NA = 該当なし、TK = トキシコキネティクス

毒性試験の投与経路は、臨床患者集団で予定されている経路である IV 投与を選択した。これらの試験では、溶媒の 10 mmol/L L-ヒスチジン、250 mmol/L L-アルギニン塩酸塩、5%（w/v）精製白糖、5 mmol/L $CaCl_2$、0.05%（w/v）ポリソルベート 80（pH 7）で調製した本薬を使用した。

ラット及びサルを用いた単回投与 PK 試験で得られた半減期（それぞれ約 22 時間及び 33 時間）に基づき、ラットには 3 日ごと、サルには 4 日ごとに本薬を投与した。本用法で、投与間隔にわたり十分な曝露量が維持された。4 週間の投与期間の後、ラットでは 2 週間、サルでは 3 週間の非投与回復期間を設けた。両動物種において毒性及び病理組織学の標準的な項目を評価し、カニクイザルを用いた試験では安全性薬理評価として心電図記録も実施した。

本薬の製造販売承認申請を支持するためのその他の一般毒性試験は実施しなかった。ラット及びサルにおいて、本薬に対する抗薬物抗体（ADA）の産生は予想される免疫応答であり、両動物種ともに曝露期間が制限される。4 週間の投与期間終了時、ラットでは 75、250、及び 750 IU/kg/回群のそれぞれ 42.1%、65.8%、及び 89.6%で本薬に対する ADA が産生された。サルでも同様に、4 週間の投与期間終了時までに 25、75、250、及び 750 IU/kg/回群のそれぞれ 25%、66.7%、100%、及び

91.7%で本薬に対する ADA が産生された。本薬に対する ADA が産生されたことに起因してラット及びサルでそれぞれ Day 28 又は Day 29 までに曝露量が低下したため、4 週間を超えて投与する意義のある毒性試験を実施することはできなかった。

遺伝毒性試験及びがん原性試験は実施しなかった（7.1項 - 付録 1 参照）。本薬に対する抗体産生に関連する技術上の問題に加え、本薬の分子量は 100 kDa 超であり、分子が分解されずに細胞膜及び核膜を通過してデオキシリボ核酸（DNA）と直接相互作用を起こす可能性は低いことから、既知の遺伝毒性のリスクはない。また、本薬の構造及び作用機序に基づくと、本物質が DNA と相互作用して損傷を起こす可能性は低い。本薬は患者の循環血中で FVIII 活性を示すため、がんの潜在的リスクを示すような方法では作用しない。FVIII 補充療法は 40 年間にわたって利用されており、まずヒト血漿から精製した濃縮 FVIII が、その後細胞培養上清から精製した組換え FVIII が開発された。これらの製剤で、患者におけるがん原性及び変異原性の懸念は生じておらず、また公表文献の精査から、発がん促進又は腫瘍形成への関与を示唆するエビデンス及び報告事例は確認されていない。このアプローチについては、20[redacted]年[redacted]月[redacted]日に実施した米国食品医薬品局（FDA）との[redacted]相談の際に保健当局の同意が得られた(23)。

本薬の生殖発生毒性試験は実施していない。ただし、ラット及びサルを用いた最長 4 週間の反復投与毒性試験の病理組織学的検査において、本薬に関連する雌雄生殖組織への影響は認められなかった。本薬などの凝固因子製剤の投与は妊娠時の正常な血液凝固亢進状態を強めると考えられ、その結果、実験動物で吸収又は流産の増加に至る可能性がある。このアプローチについての保健当局の同意は、20[redacted]年[redacted]月[redacted]日に実施した FDA との[redacted]相談(23) 及び[redacted]連絡(24)、20[redacted]年[redacted]月に発行された欧州医薬品庁（EMA）の Scientific Advice (25)、並びに 20[redacted]年[redacted]月[redacted]日に実施した医薬品医療機器総合機構との[redacted]相談(26)で得られた。またこのアプローチはその他の凝固因子化合物の開発で用いられたものと同じである。

反復投与毒性試験において、本薬を、ラットに 75、250、及び 750 IU/kg/回、サルに 25、75、250、及び 750 IU/kg/回の用量で IV 投与した。全体として、4 週間反復投与毒性試験では本薬の薬理活性／意図する機序に直接起因する毒性所見は認められなかった。両非臨床動物種ともに、反復 IV 投与後の本薬の忍容性は良好であった。

サルを用いた GLP 適用 4 週間反復投与毒性試験において、高用量（750 IU/kg/回）群の回復性試験用動物の雄 1 匹が死亡した。本個体は、Day 29 にトキシコキネティクス用採血を受けた後の Day 30 に死亡発見された。Day 29 の採血後に、一般状態観察で右鼠径部の腫脹及び軟化が認められた。剖検において、両側後肢の腫脹及び暗色化がみられた。また、左後肢の骨格筋及び陰嚢に凝固物（凝固した血液）が蓄積していた。本個体では Day 13 及び Day 29 に aPTT の延長がみられた。死因は、静脈穿刺及び止血障害に続発する失血であった。死亡例におけるこれらの所見は、aPTT 延長及び内因

性 FVIII 活性の低下に示されるように、内因性 FVIII と交差反応する本薬への中和抗体の産生（後天性血友病）に一致する。被験物質は異種（ヒト）タンパク質であるため、サルにおける本薬に対する抗体の産生は予想される所見である。非臨床動物種において、異種であるが類似した組換えヒト FVIII タンパク質に対する抗体応答は、ヒトでの反応を予測するものではない(27)。この点に一致して、本薬を投与されたサルで aPTT が延長し、この変化は時間及び投与量に依存していた。この所見には本薬に対する抗体産生も起因しており、この抗体が内因性のサル FVIII と交差反応した可能性がある。したがって、1 匹で発現した ADA に関連する死亡及び用量依存的な aPTT 延長は、無毒性量（NOAEL）の決定から除外した。

本薬がヒト全血に及ぼす影響を評価するため実施した GLP 適用血液適合性試験の結果によると、*in vitro* でヒト全血を本薬で処理しても溶血及び血漿の凝集は認められなかった。

本薬に依存性及び乱用性のシグナルはみられず、構造、薬理、作用機序及び毒性データ（安全性薬理評価項目を含む）によると既知の乱用薬物との類似性も認められなかった。さらに、本薬はサイズが大きいため血液脳関門を通過する可能性が低い。したがって、乱用傾向がみられないことを示すデータから、乱用の結果としての公衆衛生へのリスクはないと予想される。20[redacted]年[redacted]月[redacted]日に[redacted]会議の一環としての質問状への回答にて FDA はこれらの論点を承諾したことから、FDA は相談者のアプローチに同意した(28)。

毒性試験で使用した本製剤の品質は、臨床試験用あるいは市販用バッチの品質と同等であった。本製剤に存在する又は存在する可能性のある不純物を、目的物質由来不純物、製造工程由来不純物、及び混入物質の 3 つのカテゴリーに分けて記載する。存在する可能性のある不純物の評価は、Module 3.2.S.3.2 Impurities の項及び Module 3.2.P.5.5 Characterization of Impurities の項に記載及び考察する。

本薬市販品に使用される予定の容器施栓系の構成物（全ての供給業者の針付きガラスシリンジ外筒、ピストン、及び針保護体）について抽出物及び溶出物の試験を実施した。容器施栓系の構成物に関する補足情報は、Module 3.2.P.2.4 及び Module 3.2.P.7 Container Closure System の項に示す。容器施栓系の構成物に関連する安全上の懸念は認められなかった。

総合すると、GLP 適用 *in vivo* 毒性試験及び *in vitro* 血液適合性試験のデータは、FVIII 製剤である本薬で予測される安全性プロファイル及び長い半減期に一致する。全体として、非臨床安全性プロファイルは本薬の製造販売承認を支持するものである。

5　総括及び結論

本薬は、FVIII と VWF との相互作用を回避するために、内因性 VWF には結合しないようデザインされたファースト・イン・クラスの FVIII 補充療法薬である。

本薬の非臨床試験プログラムとして、PK、薬理及び毒性試験を実施した。主要な所見を以下に示す。

- 本薬の半減期は、検討した全ての動物種（マウス、ラット、サル）においてアドベイトの約 3 倍であった。
- 本薬の半減期は VWF 濃度に非依存的であり、本薬は *in vivo* において安定で、内因性 VWF に結合しなかった。
- HemA マウスの予防的出血モデル（TVT モデル）における本薬の効果は、アドベイトよりも持続し、本薬の半減期が長いことに一致していた。
- HemA マウスの *in vivo* 出血モデル（尾切断モデル）における本薬とアドベイトの急性効果は同程度であり、全血中の本薬とアドベイトの急性血液凝固活性が同程度であることに一致していた。
- 本薬の *in vivo* 効果は、aPTT 凝固一段法で得られた活性と相関した。
- ラット及びサルを用いた GLP 適用反復投与毒性試験並びに *in vitro* 血液適合性試験で得られたデータは、本薬の予測された安全性プロファイル及び長い半減期に一致するものであった。

毒性試験で評価した 25、75、250 及び 750 IU/kg/回の用量は、第 III 相臨床試験の用量 50 IU/kg の約 0.5、1.5、5 及び 15 倍である(27)(29)。ラット及びサルのいずれにおいても、4 週間 IV 投与したときの NOAEL は、評価した最高用量の 750 IU/kg/回と判断された（表 6）。いずれの動物種においても本薬の全身曝露が Day 1 に確認され、本薬の濃度又は活性に基づく半減期は、概してアドベイトの 3 倍(30)又はイロクテイト／Elocta(27)の 2 倍であった（Module 2.6.4 薬物動態試験の概要文、[3.2 項]参照）。

表 6 - 本薬の動物：ヒト用量比

毒性試験	動物種	性	NOAEL（IU/kg/回）	動物：ヒト用量比[a]
4 週間反復 IV 投与	ラット	雄	750	RHD：15 倍
		雌	750	
4 週間反復 IV 投与	サル	雄	750	
		雌	750	

略号：IU = 国際単位、IV = 静脈内、NOAEL = 無毒性量、RHD = 推奨ヒト用量

a 最大推奨ヒト用量は 65 IU/kg の週 1 回投与、RHD は 50 IU/kg の週 1 回投与である。

全体として、本薬の非臨床データを総合すると、HemA の治療に用いる EHL FVIII 補充療法薬として本薬の製造販売承認申請を行うことが支持される。

6 参考文献一覧

1. Mannucci PM, Tuddenham EG. The hemophilias-from royal genes to gene therapy. N Engl J Med. 2001 Jun 7;344(23):1773–9.
2. Manco-Johnson MJ, Abshire TC, Shapiro AD, Riske B, Hacker MR, Kilcoyne R, et al. Prophylaxis versus episodic treatment to prevent joint disease in boys with severe hemophilia. N Engl J Med. 2007 Aug 9;357(6):535–44.
3. Blanchette VS, Shapiro AD, Liesner RJ, Hernández Navarro F, Warrier I, Schroth PC, et al. Plasma and albumin-free recombinant factor VIII: pharmacokinetics, efficacy and safety in previously treated pediatric patients. J Thromb Haemost. 2008 Aug;6(8):1319–26.
4. Fijnvandraat K, Berntorp E, ten Cate JW, et al. Recombinant, B-domain deleted factor VIII (r VIII SQ): pharmacokinetics and initial safety aspects in hemophilia A patients. Thromb Haemost. 1997;77(2):298-302.
5. Tarantino MD, Collins PW, Hay CRM, Shapiro AD, Gruppo RA, Berntorp E, et al. Clinical evaluation of an advanced category antihaemophilic factor prepared using a plasma/albumin-free method: pharmacokinetics, efficacy, and safety in previously treated patients with haemophilia A. Haemophilia. 2004 Sep;10(5):428–37.
6. White GC, Courter S, Bray GL, Lee M, Gomperts ED. A multicenter study of recombinant factor VIII (Recombinate) in previously treated patients with hemophilia A. The Recombinate Previously Treated Patient Study Group. Thromb Haemost. 1997 Apr;77(4):660–7.
7. Tiede A, Brand B, Fischer R, Kavakli K, Lentz SR, Matsushita T, et al. Enhancing the pharmacokinetic properties of recombinant factor VIII: first-in-human trial of glycoPEGylated recombinant factor VIII in patients with hemophilia A. J Thromb Haemost. 2013 Apr;11(4):670–8.
8. Coyle TE, Reding MT, Lin JC, Michaels LA, Shah A, Powell J. Phase I study of BAY 94-9027, a PEGylated B-domain-deleted recombinant factor VIII with an extended half-life, in subjects with hemophilia A. J Thromb Haemost. 2014 Apr;12(4):488–96.
9. Konkle BA, Stasyshyn O, Chowdary P, Bevan DH, Mant T, Shima M, et al. Pegylated, full-length, recombinant factor VIII for prophylactic and on-demand treatment of severe hemophilia A. Blood. 2015 Aug 27;126(9):1078–85.
10. Center for Biologics Evaluation and Research (CBER). The Voice of the Patient: Hemophilia A, Hemophilia B, von Willebrand Disease and Other Heritable Bleeding Disorders. FDA. 2016.
11. Pipe SW, Montgomery RR, Pratt KP, Lenting PJ, Lillicrap D. Life in the shadow of a dominant partner: the FVIII-VWF association and its clinical implications for hemophilia A. Blood. 2016 20;128(16):2007-16.

12. Schellenberger V, Wang C-W, Geething NC, Spink BJ, Campbell A, To W, et al. A recombinant polypeptide extends the in vivo half-life of peptides and proteins in a tunable manner. Nat Biotechnol. 2009 Dec;27(12):1186–90.
13. Seth Chhabra E, Liu T, Kulman J, Patarroyo-White S, Yang B, Lu Q, et al. BIVV001, a new class of factor VIII replacement for hemophilia A that is independent of von Willebrand factor in primates and mice. Blood. 2020 Apr 23;135(17):1484–96.
14. Fuller JR, Knockenhauer KE, Leksa NC, Peters RT, Batchelor JD. Molecular determinants of the factor VIII/von Willebrand factor complex revealed by BIVV001 cryo-electron microscopy. Blood. 2021 May 27;137(21):2970–80.
15. Gentry PA. Comparative aspects of blood coagulation. Veterinary Journal (London, England: 1997). 2004 Nov;168(3):238-51.
16. Roopenian DC, Akilesh S. FcRn: the neonatal Fc receptor comes of age. Nat Rev Immunol. 2007 Sep;7(9):715–25.
17. Dumont JA, Liu T, Low SC, Zhang X, Kamphaus G, Sakorafas P, et al. Prolonged activity of a recombinant factor VIII-Fc fusion protein in hemophilia A mice and dogs. Blood. 2012 Mar 29;119(13):3024–30.
18. ICH S6(R1)ガイドライン「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」（2012年）
19. ICH S7Aガイドライン「安全性薬理試験ガイドライン」（2001年）
20. Pan J, Liu T, Kim J-Y, Zhu D, Patel C, Cui Z-H, et al. Enhanced efficacy of recombinant FVIII in noncovalent complex with PEGylated liposome in hemophilia A mice. Blood. 2009 Sep 24;114(13):2802–11.
21. Glantschnig H, Bauer A, Benamara K, Dockal M, Ehrlich V, Gritsch H, et al. Evaluation of Factor VIII Polysialylation: Identification of a Longer-Acting Experimental Therapy in Mice and Monkeys. J Pharmacol Exp Ther. 2019;371(1):95–105.
22. Schiviz A, Hoebarth G, Wolfsegger M, Rossato P, Weber A, Gritsch H, et al. Pharmacokinetics of BAX 826, a polysialylated full-length rFVIII, in hemophilia a mice, rats, and cynomolgus monkeys. Blood. 2015;126(23):1073.
23. [redacted]FDA meeting summary: IND[redacted]. 20[redacted].
24. IND[redacted] FDA [redacted]. Email communication from [redacted] (US FDA) to [redacted] (Sanofi). 20[redacted].
25. BIVV001 Scientific advice. Procedure EMA/CHMP/SAWP/[redacted]/20[redacted]. European Medicines Agency (EMA). 20[redacted]:1-75.
26. [redacted]PMDA meeting summary: Application [redacted] 20[redacted]. Number [redacted]. 20[redacted].
27. Dumont JA, Loveday KS, Light DR, Pierce GF, Jiang H. Evaluation of the toxicology and pharmacokinetics of recombinant factor VIII Fc fusion protein in animals. Thromb Res. 2015 Dec;136(6):1266–72.

28. [redacted]FDA meeting summary: IND[redacted]/[redacted]. 20[redacted] [redacted] [redacted].
29. Zollner SB, Raquet E, Müller-Cohrs J, Metzner HJ, Weimer T, Pragst I, et al. Preclinical efficacy and safety of rVIII-SingleChain (CSL627), a novel recombinant single-chain factor VIII. Thromb Res. 2013 Aug;132(2):280–7.
30. ADVATE® [Antihemophilic factor (recombinant)] - Highlights of Prescribing Information (USPI). Baxter International Inc. 2014 April.
31. Thornton P, Douglas J. Coagulation in pregnancy. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. 2010 Jun;24(3):339–52.
32. Liu L. Pharmacokinetics of monoclonal antibodies and Fc-fusion proteins. Protein Cell. 2018;9(1):15-32.

7 付録

7.1 付録 1 - データ欠如の理由

CTD の項	理由
4.2.1 薬理試験	
4.2.1.2 副次的薬理試験	本薬は、HemA で欠損又は機能障害がみられる FVIII の補充療法薬であるため、本薬の副次的薬理試験は実施しなかった。
4.2.1.3 安全性薬理試験	独立した安全性薬理試験は実施せず、循環器系、呼吸系及び中枢神経系の評価はサル及びラット反復投与毒性試験の中で行った。
4.2.1.4 薬力学的薬物相互作用試験	MOA が FVIII の補充であるため、有用なデータは得られないと考えられることから、非臨床薬力学的薬物相互作用試験は実施しなかった。
4.2.2 薬物動態試験	
4.2.2.5 排泄	生体高分子である本薬が排泄により消失することはないと予想される。したがって、排泄試験は実施しなかった[a]。
4.2.2.6 薬物動態学的薬物相互作用	FVIII 代替製剤の作用機序に基づくと、必要ではないと考えられることから、薬物動態学的薬物相互作用試験は実施しなかった。
4.2.3 毒性試験	
4.2.3.1 単回投与毒性試験	凝固因子製剤では急性毒性の所見はまれであるため、最初の毒性試験は反復投与毒性試験とした。急性毒性については反復投与毒性試験の初回投与後に評価することができる。
4.2.3.3 遺伝毒性試験 4.2.3.3.1 *In vitro* 試験 4.2.3.4.2 *In vivo* 試験	凝固因子製剤が核に侵入したり DNA に結合したりすることはないと予想される。したがって、遺伝毒性試験は実施しなかった[a]。
4.2.3.4 がん原性試験 4.2.3.4.1 長期がん原性試験 4.2.3.4.2 短期又は中期がん原性試験 4.2.3.4.3 その他の試験	がん原性試験は実施しなかった。その理由は、動物を用いた本薬の毒性試験及び本薬阻害に関する文献データに基づく科学的根拠の重要度（weight of evidence）から、本薬を長期投与してもがんのリスクは増加しないとの結論が裏付けられたためである。さらに、Fc 融合タンパク質は遺伝毒性のリスクを引き起こさない。EMA 及び FDA から、動物を用いたがん原性試験は要求されなかった。
4.2.3.5. 生殖発生毒性試験 4.2.3.5.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 4.2.3.5.2 胚及び胎児発生に関する試験 4.2.3.5.3 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	一般に、FVIII 製剤は生殖発生のリスクが低いと考えられる。十分に把握されている作用機序に基づくと、FVIII 製剤は胚及び胎児発生に影響を及ぼさないと予想される。 FVIII 製剤の生殖発生に及ぼすリスクが低い点を反映して、本クラスの製剤で生殖発生毒性試験は不要である。さらに、止血系が正常な妊娠動物に凝固因子を投与すると、凝固因子の産生が亢進し、プロテイン S の活性が低下し、線維素溶解が阻害されるため、妊娠時の凝固亢進状態が悪化する (31)(32)。したがって、一般に FVIII 製剤については、非臨床試験で生殖発生毒性の検討を行っていない。

7.1 付録 1 - データ欠如の理由（続き）

CTD の項	理由
4.2.3.6 局所刺激性試験	通常の局所刺激性試験は実施しなかった。局所刺激性評価として、反復投与毒性試験で投与動物の IV 注入部位を評価（目視、剖検、及び病理組織学的検査）した。IV 注入部位において、本薬に関連する毒性所見はみられなかった。
4.2.3.7 その他の毒性試験 4.2.3.7.1 抗原性試験 4.2.3.7.2 免疫毒性試験 4.2.3.7.3 毒性発現の機序に関する試験	一般毒性試験において、試験結果の解釈を補助するためこれらの試験（抗原性、免疫毒性）が必要となるような所見はみられず、また本薬は生物学的製剤でありこれらの評価は必要ないと考えられることから、これらの試験は実施しなかった。
4.2.3.7.4 依存性試験	本薬に依存性及び乱用性のシグナルはみられず、化学構造、薬理、作用機序、及び毒性データ（安全性薬理評価項目を含む）によると既知の乱用薬物との類似性も認められなかった。さらに、本薬はサイズが大きいため血液脳関門を通過することができない。したがって、乱用性がみられないことを示すデータから、乱用による公衆衛生へのリスクはないと予想される。申請者は、本薬には乱用傾向がないと考えるため、更なる非臨床試験（自己投与試験、薬物弁別試験など）及び臨床試験（ヒトにおける乱用傾向）の必要性及び妥当性はないと考える。第 III 相試験では、乱用に関連する可能性のある TEAE の解析を定期的に実施する。現在利用可能な成績から、治療用量の本薬でヒトにおける乱用傾向の評価を実施する計画がないことは支持される。したがって、申請者は本薬の乱用性を評価する試験を更に実施する予定はない。
4.2.3.7.5 代謝物の毒性試験	本薬は生物学的製剤であり、タンパク質及びポリペプチド成分に代謝されることから、代謝物の試験は実施しなかった。
4.2.3.7.6 不純物の毒性試験	一般毒性試験において、試験結果の解釈を補助するためこれらの試験が必要となる所見はみられないこと、また本薬は生物学的製剤でありこれらの評価は必要ないと考えられることから、これらの試験は実施しなかった。

略号： DNA = デオキシリボ核酸、EMA = 欧州医薬品庁、FDA = 米国食品医薬品局、FVIII = 血液凝固第 VIII 因子、IV = 静脈内、MOA = 作用機序、TEAE = 治験薬投与下で発現した有害事象

a 医薬品規制調和国際会議ガイドライン S6 (R1)「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」(18)に基づく根拠