目次

略語一覧 3
1. まとめ 4
2. 分析法 8
2.1. ラット、ウサギ及びサル血清中総エビナクマブの測定 8
2.2. ラット、ウサギ及びサル血清中抗ヒト IgG4 抗体の検出 8
3. 吸収／薬物動態 9
3.1. ラット及びサルにおける総エビナクマブの薬物動態評価 17
3.1.1. ラットにおける総エビナクマブの薬物動態 17
3.1.2. サルにおける総エビナクマブの薬物動態 18
3.2. ラット及びサルにおける総エビナクマブのトキシコキネティクス評価 20
3.2.1. ラットにおける総エビナクマブのトキシコキネティクス評価 20
3.2.2. サルにおける総エビナクマブのトキシコキネティクス評価 21
3.3. 幼若ラット及びウサギにおける総エビナクマブのトキシコキネティクス評価 22
3.3.1. 幼若ラットにおける総エビナクマブのトキシコキネティクス評価 22
3.3.2. 幼若ウサギにおける総エビナクマブのトキシコキネティクス評価 22
3.3.2.1. 幼若 New Zealand White ウサギを用いたエビナクマブ静脈内投与及び皮下投与の非ピボタル毒性試験（R1500-TX-18035） 23
3.3.2.2. 幼若 New Zealand White ウサギを用いた静脈内投与本試験（R1500-TX-17093） 23
4. 分布 24
4.1. ラット及びウサギ胚・胎仔発生試験 24
4.1.1. ラットを用いたエビナクマブの胚・胎仔発生試験 24
4.1.2. ウサギを用いたエビナクマブの胚・胎仔発生試験 24
4.1.2.1. 妊娠 New Zealand White ウサギを用いたエビナクマブの非ピボタル、用量設定、胚・胎仔発生試験（REGN1500-TX-14016） 24
4.1.2.2. 妊娠 New Zealand White ウサギを用いたエビナクマブの胚・胎仔発生の本試験（REGN1500-TX-14092） 25
4.2. ラット及びウサギを用いたエビナクマブの受胎能、着床までの初期胚発生、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 25
4.2.1. Sprague Dawley ラットを用いた雌受胎能、着床までの初期胚発生、出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する皮下投与試験（R1500-TX-17096） 26
4.2.2. New Zealand White ウサギを用いた雄受胎能及び着床までの初期胚発生の静脈内投与試験（R1500-TX-17095） 26
5. 代謝（動物種間の比較） 27
6. 排泄 28
7. 免疫原性 29
7.1. ラットにおけるエビナクマブの免疫原性 29
7.2. ウサギにおけるエビナクマブの免疫原性 33
7.3. サルにおけるエビナクマブの免疫原性 36

8. 薬物動態学的薬物相互作用 39
9. その他の薬物動態試験 40
10. 考察及び結論 41
11. 参考文献 44

表一覧

Table 1: Summary of Mean Pharmacokinetic Parameters of Total Evinacumab in Rat or Monkey Serum Following a Single Intravenous or Subcutaneous Injection of Evinacumab to Rats and Monkeys 10
Table 2: Summary of Toxicology Study Designs and Toxicokinetics of Total Evinacumab in Rat Serum Following Repeated Intravenous or Subcutaneous Injections of Evinacumab to Rats 11
Table 3: Summary of Toxicology Study Designs and Toxicokinetics of Total Evinacumab in Rabbit Serum Following Repeated Intravenous Doses or Subcutaneous Injections of Evinacumab to Rabbits 13
Table 4: Summary of Toxicology Study Designs and Toxicokinetics of Total Evinacumab in Monkey Serum Following Repeated Intravenous Doses or Subcutaneous Injections of Evinacumab to Monkeys 16
Table 5: Summary of Evinacumab Immunogenicity in Rats 31
Table 6: Summary of Evinacumab Immunogenicity in Rabbits 35
Table 7: Summary of Evinacumab Immunogenicity in Monkeys 38

図一覧

Figure 1: Mean (±SD) Concentrations of Total Evinacumab in Serum after a Single IV or SC Dose of Evinacumab to Male Rats (REGN1500-PK-12005) 18
Figure 2: Mean (±SD) Concentrations of Total Evinacumab in Serum after a Single IV or SC Dose of Evinacumab to Male and Female Monkeys (REGN1500-PK-11088) 20

略語一覧

略語一覧は Module 2.6.1 の略語一覧を参照する。

1. まとめ

エビナクマブ（開発コード：REGN1500）は、アンジオポエチン様タンパク質 3（ANGPTL3）に特異的に結合する組換えヒト IgG4P 抗体である。ANGPTL3 は主として肝臓で発現し、リポタンパクリパーゼ（LPL）及び血管内皮リパーゼ（EL）の活性を阻害することにより、脂質代謝の調節において重要な役割を果たす分泌タンパク質である。エビナクマブは、ANGPTL3 による LPL 活性及び EL 活性の阻害を遮断する（Module 2.6.2 Section 1）。

エビナクマブは、ヒト、サル、ウサギ、ラット及びマウスの N 末端ドメインにある ANGPTL3 に高い親和性で結合する（Module 2.6.2 Section 1）。臨床開発プログラムを支持するため、ラット及びサルを用いた単回投与試験、並びにラット、ウサギ及びサルを用いた反復投与毒性試験［トキシコキネティクス（TK）解析］において静脈内（IV）投与により、エビナクマブの薬物動態（PK）特性を明らかにした。臨床試験で予定している投与経路と合わせ、PK 試験及び毒性試験においては皮下（SC）投与を実施した。

非臨床試験では、バリデーション実施済みの酵素結合免疫吸着測定法（ELISA）を用いて、ラット、ウサギ及びサル血清中の総エビナクマブ濃度（遊離薬物濃度及び標的結合薬物濃度）を測定した後、ノンコンパートメント解析（NCA）によって評価し、PK パラメータを得た。

非臨床試験では、エビナクマブの PK、TK 又は免疫原性プロファイルに実質的な性差は概して認められなかった。したがって以下では、雌雄をまとめて結果について考察する。

雄 Sprague Dawley ラット（Section 3.1.1）、及び雌雄カニクイザル（Section 3.1.2）にエビナクマブ 1～15 mg/kg を単回 IV 又は SC 投与して、エビナクマブの PK を評価した。ラット及びサルにおける総エビナクマブの PK は、低濃度では非線形動態（標的介在性）、高濃度（概ね 10～30 µg/mL 超）では線形動態を特徴とする。低濃度では標的を介した経路を飽和させるには不十分なため、投与量の増加に伴い曝露量は用量比例性を上回る増加を示す。濃度が上昇し、標的を介した経路を飽和させるのに十分な濃度になると、エビナクマブの全身曝露量は用量に比例する線形動態に近づく。

ラット及びサルにエビナクマブを単回 IV 又は SC 投与したときの総エビナクマブの濃度-時間プロファイルは、分布相（IV 投与の場合）又は吸収相（SC 投与の場合）に続く線形の β 消失相及び標的介在クリアランス（TMC）相を特徴とし、ごく低濃度では長時間の線形消失相（TMC 後の相）が認められた。低濃度では β 相がそれほど明らかではなかったが、プロファイルは非線形 TMC と一致する。認められた非線形動態と一致して、TMC 経路を飽和させるには不十分な濃度ではクリアランスは濃度依存的になり、用量増加に伴って低下した。線形の β 消失相が最も長時間になる用量として 15 mg/kg を IV 投与したときの消失半減期（$t_{1/2}$）推定値は、ラット及びサルでそれぞれ 4 日及び 10 日であった。15 mg/kg の用量で単回 SC 投与したときのエビナクマブのバイオアベイラビリティ推定値は、ラットで 76%、サルでは 77%であった。

エビナクマブの TK は、エビナクマブを 10～100 mg/kg/週の用量範囲で雌雄ラット及びサルに、ラットの場合は最長 13 週間（Section 3.2.1）、サルの場合は 26 週間（Section 3.2.2）、週 1 回 IV 又は SC 投与した毒性試験において評価した。総エビナクマブの継続曝露が、全投与群の動物の大多数で投与期間を通して認められ、総エビナクマブ濃度も 10 週間又は 13 週間の回復期間を通して両動物種で検出されたことから、薬物曝露及び認められた安全性の解釈に関して、これらの試験の妥当性が確認された。ラット及びサルにおける C_{max} 及び曝露量（AUC）の平均値が投与期間を通してほぼ用量に比例して増加したことは、検討した投与レジメンにより、エビナクマブの全身濃度が投与間隔及び投与期間を通して、標的を介した経路を飽和させるのに十分な結果に至ったことを示している。回復期間中は両動物種で曝露量が用量比例性を上回る増加を示し、サルでは低用量（30 mg/kg/週未満）で非線形 TMC が明らかであったことは、対応する単回投与 PK 試験で認められた非線形動態及び非線形 TMC と一致する。10 mg/kg/週以上の用量で最長 13 週間（ラット）又は 26 週間（サル）投与したとき、エビナクマブの蓄積量はラット及びサルでそれぞれ約 1.3～2 倍及び 3～5 倍になった。ラット 13 週間試験では週 1 回、約 7 週間投与後、サル 26 週間試験では週 1 回、約 12 週間投与後に定常状態に達した。

幼若ラットにエビナクマブを 30～100 mg/kg/週の用量範囲で週 1 回 SC 投与、又は 100 mg/kg/週の用量で最長 10 週間、IV 投与した場合（Section 3.3.1）、及び幼若ウサギにエビナクマブを 30～300 mg/kg の用量範囲で 5 日毎に SC 又は IV で最長 10 週間又は 17 週間投与した場合（Section 3.3.2.1 及び Section 3.3.2.2）、総エビナクマブの継続曝露が動物の大多数で投与期間を通して認められた。ラットの回復期間中は、非線形の標的介在動態が認められた。SC 又は IV 投与後の C_{max} 及び曝露量（AUC_{tau}）平均値は、ラットではすべての用量で、ウサギでは 30 mg/kg 超の用量で投与期間を通して用量に比例して増加し、低用量では曝露量に影響を及ぼす抗薬物抗体（ADA）が認められた。反復投与したときのエビナクマブの蓄積量は、ラットではすべての SC 及び IV 用量で約 4 倍、30 mg/kg 超の SC 用量では 2～3 倍であり、ウサギではすべての IV 用量で 3～6 倍であった。幼若ラットでは、週 1 回 7 週間投与後にすべての投与群全体で定常状態に達した。幼若ウサギでは ADA の一過性の影響により、最長 17 週間の IV 投与後では定常状態に達するまでの時間がやや延長したが、25 回目の（最終）投与で概ね定常状態に達した。

生殖発生毒性試験の一環として、妊娠ラットに妊娠 6 日目から 18 日目まで 3 日毎に 5～100 mg/kg を SC 投与し（Section 4.1.1）、妊娠ウサギに妊娠 7 日目から 19 日目まで 3 日毎に 1～30 mg/kg を SC 投与し（Section 4.1.2）、器官形成期を通してエビナクマブの TK を評価した。ラット及びウサギ胎仔血清中のエビナクマブの TK も評価した。全妊娠ラットへの投与期間中、継続曝露が維持された。妊娠ウサギでは総エビナクマブの継続曝露が、30 mg/kg を投与したウサギの大多数で妊娠 22 日目まで維持され、30 mg/kg 投与群の約半数のウサギでは妊娠 29 日目まで維持された。30 mg/kg 未満を投与したウサギで概して断続曝露が認められた理由は、ADA の影響による可能性が高いが、全投与群の曝露量は薬力学的作用が生じるのに十分であり、この試験の解釈を混乱させるものではなかった。C_{max} 及び曝露量平均値は、ラットでは投与期間を通してほぼ用量に比例して増加し、ウサギ

では用量比例性を上回る増加を示したことは、ウサギにおける低用量での TMC を反映している。C_{max} 及び曝露量の用量比例性を上回る増加は、妊娠ウサギにエビナクマブを 10～100 mg/kg の用量範囲で SC 投与、又はエビナクマブ 100 mg/kg を IV 投与した非ピボタル毒性試験でも認められた（Section 4.1.2.1）。

総エビナクマブ濃度は、本剤を投与した全ラットの胎仔血清試料では剖検時（妊娠 21 日目）に（Section 4.1.1）、10 mg/kg 及び 30 mg/kg 投与群の 38%の母ウサギの胎仔では妊娠 29 日目に（Section 4.1.2）測定可能であった。胎仔において濃度が測定可能であったことは、エビナクマブの胎盤通過性を示している（Kane, 2009; Pentsuk, 2009; Stengel, 2008; Vasiliauskas, 2006）。

雌ラットの受胎能試験、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の一環として、エビナクマブを 30 mg/kg 又は 100 mg/kg の用量で授乳 21 日目又は妊娠 21 日目まで 3 日毎に SC 投与して、エビナクマブの TK を評価した（Section 4.2.1）。総エビナクマブの継続曝露は、エビナクマブを投与した TK F_0 雌（母動物）の大多数で投与期間を通して維持された。全母ラット及び胚・胎仔 TK F_0 動物の胎仔において、総エビナクマブの検出可能な濃度が認められた。検出可能な濃度は、すべてのプール試料及び個々の F_1 動物（TK F_0 動物の仔）22 匹中 12 匹においても認められた。複数回投与後のエビナクマブの蓄積は全投与群で概ね認められた。エビナクマブを投与した動物では、用量に比例した曝露量増加が投与期間を通して概ね認められた。

さらに、雄ウサギの受胎能試験の一環として、エビナクマブ 100 mg/kg 又は 300 mg/kg を 5 日毎に IV 投与して血清中エビナクマブの TK を評価した（Section 4.2.2）。総エビナクマブの継続曝露は、エビナクマブを投与した動物の大多数において、投与期間を通して維持された。雄ウサギへの IV 投与後の C_{max} 及び曝露量（AUC_{tau}）平均値は、全用量で投与期間を通して用量に比例して増加した。複数回投与後の蓄積は、100 mg/kg 及び 300 mg/kg 投与群の双方で認められた。

ラット、ウサギ及びサル血清中のヒト IgG4 抗体の保存領域に特異的な抗ヒト IgG4 抗体（ADA；Section 7）を検出するため、非定量的な電気化学発光ブリッジング免疫測定法を用いた。ADA 陽性反応はサル及びラットでは概して低く（一般的に 1 回の試験で動物の 25%未満）、ウサギでは高かった（一般的に 50%超）。サルにおける抗ヒト IgG4 抗体反応では逆用量依存性がみられ、低用量では反応率が高かったが、ラット及びウサギのいずれにおいても用量非依存性が示された。この測定法では、評価した全動物種において全般的に 30 mg/kg 以上の用量で薬物耐性限界（DTL）を超えたことから、この用量では ADA 反応が過小評価されている可能性が示唆される。ADA 陽性であった動物の大多数では、ADA 陰性動物で認められたものより低いエビナクマブ濃度と ADA の存在が相関したことから、ADA によるエビナクマブ消失の加速が示唆される。ラット、ウサギ及びサルで認められた免疫原性は、概してヒトにおける免疫原性を予測するものではない。ADA の存在は、エビナクマブの薬物動態又は安全性プロファイルの特徴付けに影響を及ぼさなかった。

すべての非臨床 PK 試験及びその GLP 準拠の有無は、Module 2.6.5 Table 2.6.5.1 に示されている。非 GLP の PK 試験は、GLP の一般原則に従って実施した。非 GLP の PK 試験の信頼性に影響を及ぼす可能性のある予期せぬ状況は発生しなかった。

早期非臨床試験で使用されたエビナクマブ製剤の組成、及びヒト初回投与試験（R1500-HV-1214）のための臨床製剤の組成は類似しており、10 mM ヒスチジン、5%（w/v）スクロース及び 0.1%（w/v）ポリソルベート 80 を含有するエビナクマブの緩衝水溶液（pH 6.0 に調整）で構成される。

エビナクマブの非臨床薬物動態データは、すべての試験及び動物種全体で一貫していた。ラット及びサルへの複数回投与後に予期される蓄積で裏付けられるように、エビナクマブの複数回投与後の動態が単回投与後の動態と一致したことは、クリアランスが経時的に変化しないことを示している。結論として、ラット、ウサギ及びサルを用いた非臨床 PK 及び TK 試験は、エビナクマブの臨床開発プログラムを支持するものであった。

2. 分析法

2.1. ラット、ウサギ及びサル血清中総エビナクマブの測定

ラット、ウサギ及びサル血清中総エビナクマブ（遊離薬物及び標的結合薬物）濃度は、バリデーション実施済みの ELISA（ラット、ウサギ及びサルについてのバリデーション報告書はそれぞれ REGN1500-AV-12018-SA-01V1、REGN1500-AV-14091-VA-01V1 及び REGN1500-AV-12017-SA-01V1）を用いて測定する。ELISA では捕捉試薬として、マウス抗ヒト IgG4 モノクローナル抗体（mAb）を使用する。標準溶液、対照溶液及び検体は弱酸溶液で希釈して、血清試料中に存在する可溶性標的エビナクマブ複合体を解離させ、血清中の可溶性標的の存在下でのエビナクマブ検出の改善を可能にする。エビナクマブはプレート上に捕捉し、ビオチン化マウス抗ヒト免疫グロブリン（Ig）κ軽鎖特異的 mAb を使用して検出する。この測定法の定量限界（LLOQ）は血清中では低く、0.078 µg/mL（78 ng/mL）である。

2.2. ラット、ウサギ及びサル血清中抗ヒト IgG4 抗体の検出

ラット、ウサギ及びサル血清中抗ヒト IgG4 抗体（ADA）は、非定量的な抗体価に基づくブリッジング免疫測定法を用いて検出した。この測定法では、ヒト IgG4 抗体（エビナクマブを含む）の定常領域に対して発現した ADA を検出する。抗エビナクマブ抗体を検出するための特異的測定法は、内在性の薬物標的による干渉があるために開発されていない。ADA 検出法は、サル及びラット血清中 REGN846（関連のない治療標的に特異的なヒト IgG4 mAb）に対する ADA の検出についてはバリデーション済みであるが（バリデーション報告書はそれぞれ REGN846-AV-10006-SA-01V1 及び REGN846-AV-10009-SA-01V1）、ウサギ血清中 ADA の検出法はバリデーションされていない。これらの生体試料分析法ではフローティングカットポイントを用いて検体の陽性反応を確認し、酸解離段階を取り入れて薬物耐性を改善する。これらの生体試料分析法では、マウス抗ヒト Ig κ軽鎖特異的 mAb を陽性対照として用い、ビオチン化ヒト IgG4 及びルテニウム標識ヒト IgG4 をブリッジ成分として用いる。

プレートカットポイントに等しいシグナルを送る陽性対照の濃度と定義される各測定法の感度は、ラット、ウサギ及びサルの血清中でそれぞれ約 9.2 ng/mL、24.3 ng/mL 及び 7.0 ng/mL である。プレートカットポイントに対する陽性対照を 500 ng/mL 含有する検体のシグナル強度を低下させるエビナクマブ濃度を表す DTL は、ラット、ウサギ及びサル血清中エビナクマブ濃度としてそれぞれ約 206 µg/mL、153 µg/mL 及び 257 µg/mL である。

3. 吸収／薬物動態

ラット及びサル PK 試験で測定したエビナクマブのノンコンパートメント PK パラメータの概要を Table 1（REGN1500-PK-12005 試験［Module 2.6.5 Table 2.6.5.3］及び REGN1500-PK-11088 試験［Module 2.6.5 Table 2.6.5.4］）に提示する。ラット、ウサギ及びサルを用いた毒性試験及び主要な TK 試験の結果の概要をそれぞれ Table 2、Table 3 及び Table 4 に提示する。毒性試験の完全な詳細を、Modules 2.6.6 及び 2.6.7 に提示する。

Table 1: Summary of Mean Pharmacokinetic Parameters of Total Evinacumab in Rat or Monkey Serum Following a Single Intravenous or Subcutaneous Injection of Evinacumab to Rats and Monkeys

Study No. (Compliance)	Species/Route	Dose (mg/kg)	N/ group	t_{max} (day)	C_{max} (µg/mL)	C_{max}/Dose ((µg/mL)/ (mg/kg))	$t_{½}$ (day)	AUC[a] ((day•(µg/mL))	AUC/Dose[a] (day•(µg/mL)/ (mg/kg))	V_{ss} (mL/kg)	CL (mL/day/kg)	F[b] (%)
REGN1500-PK-12005 (non-GLP)	Rat/ IV	1	7M	0.00346	24.4	24.4	6.08	33.6	33.6	98.4	30.5	NA
		5		0.00346	161	32.2	4.42	450	90.0	54.3	11.1	
		15		0.00875	447	29.8	3.51	1950	130	60.2	7.78	
	Rat/ SC	1	7M	1.50	3.63	3.63	1.48	12.6	12.6	NA	NA	37.4
		5		3.00	33.6	6.72	4.25	380	76.0			84.4
		15		2.33	103	6.88	5.04	1490	99.3			76.3
REGN1500-PK-11088 (non-GLP)	Monkey/ IV	1	3M/ 3F	0.00125	34.0	34.0	6.08	33.3	33.3	75.6	31.7	NA
		5		0.00125	130	25.9	5.58	871	174	53.2	5.81	
		15		0.00354	445	29.7	10.1	4330	289	60.6	3.48	
	Monkey/ SC	1	3M/ 3F	0.833	4.65	4.65	2.46	12.9	12.9	NA	NA	38.7
		5		2.33	53.1	10.6	5.71	717	143			82.3
		15		4.42	170	11.3	4.83	3350	223			77.2

[a] AUC_{inf} (area under the concentration-time curve from time zero extrapolated to infinity) is reported for REGN1500-PK-12005 and REGN1500-PK-11088.
[b] Bioavailability (F) was calculated as (SC mean AUC_{inf}/mean AUC_{inf} at the respective IV dose level) x 100%.
ADA, Anti-drug antibody; AUC, Area under the concentration-time curve; CL, Total body clearance; C_{max}, Peak concentration; F, Female; GLP, Good Laboratory Practice; IV, Intravenous; M, Males; N, Number of animals; NA, Not applicable; SC, Subcutaneous; $t_{1/2}$, Half-life; t_{max}, Time to C_{max}; V_{ss}, Volume of distribution at steady state
Note: Concentrations considered to be impacted by ADA were excluded.

Table 2: Summary of Toxicology Study Designs and Toxicokinetics of Total Evinacumab in Rat Serum Following Repeated Intravenous or Subcutaneous Injections of Evinacumab to Rats

Study No.	Module 2.6.7 Cross-Reference	Description (Compliance)	Dosing Route	Animals/TK Dose Group	Dose Level/Frequency (Total Number of Doses)	Accumulation Ratio	Approximate Number of Doses to Reach Steady State	Sex-Related Effect
Repeat-Dose Toxicology								
REGN1500-TX-11073	2.6.7.7.A	5-week study with 10-week recovery (GLP)	IV	9M/9F	10 mg/kg/week (5 doses)	1.46[a]	5	None
					30 mg/kg/week (5 doses)	1.94[a]	5	
					100 mg/kg/week (5 doses)	2.13[a]	5	
			SC	9M/9F	100 mg/kg/week (5 doses)	1.29[a]	5	
REGN1500-TX-12062	2.6.7.7.B	13-week study with 13-week recovery (GLP)	IV	9M/9F	100 mg/kg/week (13 doses)	1.73[b]	7	None
			SC	9M/9F	10 mg/kg/week (13 doses)	1.25[b]	9	
					30 mg/kg/week (13 doses)	2.15[b]	9	
					100 mg/kg/week (13 doses)	1.38[b]	9	
Reproductive and Developmental Toxicology								
REGN1500-TX-14149	2.6.7.12.A	Embryo-fetal development study (GLP)	SC	6F	5 mg/kg every 3 days from GD6 to GD18 (5 doses)	0.905[c]	ND[d]	NA
					10 mg/kg every 3 days from GD6 to GD18 (5 doses)	0.932[c]		
					30 mg/kg every 3 days from GD6 to GD18 (5 doses)	1.05[c]		
					100 mg/kg every 3 days from GD 6 to GD18 (5 doses)	1.50[c]		

Table 2: Summary of Toxicology Study Designs and Toxicokinetics of Total Evinacumab in Rat Serum Following Repeated Intravenous or Subcutaneous Injections of Evinacumab to Rats - Continued

Study No.	Module 2.6.7 Cross-Reference	Description (Compliance)	Dosing Route	Animals/TK Dose Group	Dose Level/Frequency (Total Number of Doses)	Accumulation Ratio	Approximate Number of Doses to Reach Steady State	Sex-Related Effect
R1500-TX-17096	2.6.7.11.A	Fertility/peri- and postnatal development study (GLP)	SC	9F (TK cohort)[e]	30 mg/kg every 3 days prior to pairing and through LD21 (25 doses)	2.82[g]	ND[d]	NA
					100 mg/kg every 3 days prior to pairing and through LD21 (25 doses)	3.43[g]	ND[d]	
Reproductive and Developmental Toxicology – Juvenile Toxicology Studies								
R1500-TX-17094	2.6.7.14.A	Juvenile study Neonatal growth and development study (with 8-week recovery) (GLP)	IV	24M/24F (TK Cohort)	100 mg/kg/week on PND 21 through PND 84 (10 doses)	3.73[f]	9	None
			SC		30 mg/kg/week on PND 21 through PND 84 (10 doses)	3.58[f]	7	
					100 mg/kg/week on PND 21 through PND 84 (10 doses)	4.31[f]	7	

[a] For study REGN1500-TX-11073, mean $AUC_{0\text{-}168h}$ at Dose 5 / mean $AUC_{0\text{-}168h}$ at Dose 1
[b] For study REGN1500-TX-12062, mean $AUC_{0\text{-}168h}$ at Dose 13 / mean $AUC_{0\text{-}168h}$ at Dose 1
[c] For study REGN1500-TX-14149, mean $AUC_{0\text{-}72h}$ at Dose 5 / mean $AUC_{0\text{-}72h}$ at Dose 1
[d] ND: The number of doses required to achieve steady state could not be determined because: 1) concentrations in serum following the last dosing interval continued to increase relative to the previous dosing interval or 2) multiple dosing resulted in ADA or 3) quantitative assessment is less definitive due to high variability observed throughout the treatment period, consistent with the composite sampling being used in this study
[e] In study R1500-TX-17096, males were not dosed
[f] For study R1500-TX-17094, mean $AUC_{0\text{-}168h}$ at Dose 10 / mean $AUC_{0\text{-}168h}$ at Dose 1
[g] For study R1500-TX-17096, mean $AUC_{0\text{-}72h}$ at Dose 25 / mean $AUC_{0\text{-}72h}$ at Dose 1
ADA, Anti-drug antibody; AUC, Area under the concentration-time curve; F, Female; GD, Gestation day; GLP, Good Laboratory Practice; IV, Intravenous; LD, Lactation day; M, Male; NA, Not applicable; ND, Not determined; PND, Postnatal day; SC, Subcutaneous; TK, Toxicokinetic

Table 3: Summary of Toxicology Study Designs and Toxicokinetics of Total Evinacumab in Rabbit Serum Following Repeated Intravenous Doses or Subcutaneous Injections of Evinacumab to Rabbits

Study No.	Module 2.6.7 Cross-Reference	Description (Compliance)	Dosing Route	Animals/TK Dose Group	Dose Level/Frequency (Total Number of Doses)	Accumulation Ratio	Approximate Number of Doses to Reach Steady State	Sex-Related Effect
Reproductive and Developmental Toxicology								
REGN1500-TX-14016	2.6.7.10	Embryo-fetal development study (GLP)	IV	6F	100 mg/kg on GD 7, 12, and 17 (3 doses)	1.62[a]	ND[b]	NA
			SC	6F	10 mg/kg on GD 7, 12, and 17 (3 doses)	1.18[a]		
					30 mg/kg on GD 7, 12, and 17 (3 doses)	1.33[a]		
					100 mg/kg on GD 7, 12, and 17 (3 doses)	1.71[a]		
REGN1500-TX-14092	2.6.7.12.B	Embryo-fetal development study (GLP)	SC	20F (Main Study)	5 mg/kg on GD 7, 10, 13, 16, and 19 (5 doses)	0.00804[c]	ND[b]	NA
					10 mg/kg on GD 7, 10, 13, 16, and 19 (5 doses)	0.504[c]		
					30 mg/kg on GD 7, 10, 13, 16, and 19 (5 doses)	1.46[c]		
				20F (Extension Study)	1 mg/kg (extension study) on GD 7, 10, 13, 16, and 19 (5 doses)	0.0153[c]		

Table 3: Summary of Toxicology Study Designs and Toxicokinetics of Total Evinacumab in Rabbit Serum Following Repeated Intravenous Doses or Subcutaneous Injections of Evinacumab to Rabbits - Continued

Study No.	Module 2.6.7 Cross-Reference	Description (Compliance)	Dosing Route	Animals/TK Dose Group	Dose Level/Frequency (Total Number of Doses)	Accumulation Ratio	Approximate Number of Doses to Reach Steady State	Sex-Related Effect
R1500-TX-17095	2.6.7.11.B	Seg I toxicology study (GLP)	IV	20M[d]	100 mg/kg every 5 days prior to mating through post pairing Day 26 (16 doses)	3.04[f]	10	NA
					300 mg/kg every 5 days prior to mating through post pairing Day 26 (16 doses)	2.67[f]	10	
Reproductive and Developmental Toxicology – Juvenile Toxicology Studies								
R1500-TX-17093	2.6.7.14.B	Juvenile study (GLP)	IV	20M/40F	30 mg/kg every 5 days from PND 21 through PND 141 (25 doses)	5.28[g]	25[h]	NA
					100 mg/kg every 5 days from PND 21 through PND 141 (25 doses)	5.97[g]	25[h]	
					300 mg/kg every 5 days from PND 21 through PND 141 (25 doses)	4.67[g]	25[h]	

Table 3: Summary of Toxicology Study Designs and Toxicokinetics of Total Evinacumab in Rabbit Serum Following Repeated Intravenous Doses or Subcutaneous Injections of Evinacumab to Rabbits - Continued

Study No.	Module 2.6.7 Cross-Reference	Description (Compliance)	Dosing Route	Animals/TK Dose Group	Dose Level/Frequency (Total Number of Doses)	Accumulation Ratio	Approximate Number of Doses to Reach Steady State	Sex-Related Effect
R1500-TX-18035	2.6.7.13	Juvenile study pilot neonatal growth and development study (non-GLP)	IV	6M/6F	300 mg/kg every 5 days from PND 21 through PND 96 (16 doses)	3.10[e]	ND[b]	None
			SC	6M/6F	30 mg/kg every 5 days from PND 21 through PND 96 (16 doses)	1.26[e]		
					100 mg/kg every 5 days from PND 21 through PND 96 (16 doses)	2.55[e]		
					300 mg/kg every 5 days from PND 21 through PND 96 (16 doses)	2.42[e]		

[a] For study REGN1500-TX-14016, mean $AUC_{0\text{-}120h}$ at Dose 3 / mean $AUC_{0\text{-}120h}$ at Dose 1
[b] ND: The number of doses required to achieve steady state could not be determined, because either 1) concentrations in serum following the last dosing interval continued to increase relative to the previous dosing interval or 2) multiple dosing resulted in ADA.
[c] For study REGN1500-TX-14092, mean $AUC_{0\text{-}72h}$ at Dose 5 / mean $AUC_{0\text{-}72h}$ at Dose 1
[d] In study R1500-TX-17095, females were not dosed
[e] For study R1500-TX-18035, mean $AUC_{0\text{-}120h}$ at Dose 11 / mean $AUC_{0\text{-}120h}$ at Dose 1
[f] For study R1500-TX-17095, mean $AUC_{0\text{-}120h}$ at Dose 15 / mean $AUC_{0\text{-}120h}$ at Dose 1
[g] For study R1500-TX-17093, mean $AUC_{0\text{-}120h}$ at Dose 25 / mean $AUC_{0\text{-}120h}$ at Dose 1
[h] Due to transient ADA effect in all dose groups, the achievement of steady state was somewhat prolonged
ADA, Anti-drug antibody; AUC, Area under the concentration-time curve; F, Female; GD, Gestation day; GLP, Good Laboratory Practice; IV, Intravenous; M, Male; NA, Not applicable; ND, Not determined; PND, Postnatal day; SC, Subcutaneous; TK, Toxicokinetic

Table 4: Summary of Toxicology Study Designs and Toxicokinetics of Total Evinacumab in Monkey Serum Following Repeated Intravenous Doses or Subcutaneous Injections of Evinacumab to Monkeys

Study No.	Module 2.6.7 Cross-Reference	Description (Compliance)	Dosing Route	Animals/TK Dose Group	Dose Level/Frequency (Total Number of Doses)	Accumulation Ratio	Approximate Number of Doses to Reach Steady State	Sex-Related Effect
REGN1500-TX-11072	2.6.7.7.C	5-week study with a 10-week recovery (GLP)	IV	6M/6F	10 mg/kg/week (5 doses)	2.75[a]	ND[b]	None
					30 mg/kg/week (5 doses)	2.72[a]		
					100 mg/kg/week (5 doses)	2.56[a]		
			SC	6M/6F	100 mg/kg/week (5 doses)	2.95[a]		
REGN1500-TX-12061	2.6.7.7.D	13-week study with 13-week recovery (GLP)	IV	6M/6F	100 mg/kg/week (13 doses)	3.58[c]	12	None
			SC	6M/6F	10 mg/kg/week (13 doses)	4.44[c]	12	
					30 mg/kg/week (13 doses)	3.69[c]	12	
					100 mg/kg/week (13 doses)	4.16[c]	12	
REGN1500-TX-14006	2.6.7.7.E	26-week study with 13-week recovery (GLP)	IV	6M/6F	100 mg/kg/week (26 doses)	4.69[d]	12	None
			SC	6M/6F	10 mg/kg/week (26 doses)	4.37[d]	12	
					30 mg/kg/week (26 doses)	5.00[d]	12	
					100 mg/kg/week (26 doses)	5.11[d]	12	

[a] For study REGN1500-TX-11072, mean $AUC_{0\text{-}168h}$ at Dose 5 / mean $AUC_{0\text{-}168h}$ at Dose 1
[b] ND: The number of doses required to achieve steady-state could not be determined, because either 1) concentrations in serum following the last dosing interval continued to increase relative to the previous dosing interval or 2) multiple dosing resulted in ADA.
[c] For study REGN1500-TX-12061, mean $AUC_{0\text{-}168h}$ at Dose 13 / mean $AUC_{0\text{-}168h}$ at Dose 1
[d] For study REGN1500-TX-14006, mean $AUC_{0\text{-}168h}$ at Dose 26 / mean $AUC_{0\text{-}168h}$ at Dose 1
ADA, Anti-drug antibody; AUC, Area under the concentration-time curve; F, Female; GLP, Good Laboratory Practice; IV, Intravenous; M, Male; ND, Not determined; SC, Subcutaneous; TK, Toxicokinetic

3.1. ラット及びサルにおける総エビナクマブの薬物動態評価

3.1.1. ラットにおける総エビナクマブの薬物動態

ラット血清中総エビナクマブの濃度–時間プロファイルを、雄 Sprague Dawley ラットにエビナクマブを 1 mg/kg、5 mg/kg 及び 15 mg/kg の用量で単回 IV 又は SC 投与して評価した（Table 1, Figure 1, Module 2.6.5.3, REGN1500-PK-12005）。

投与前及び投与後の規定された時点で血液試料を経時的に採取した。その結果として得られた血清中総エビナクマブ濃度を、バリデーション実施済みの ELISA を用いて分析した（Section 2.1）。

ラットにおける総エビナクマブの濃度–時間プロファイルは、短時間の分布相（IV）又は吸収相（SC）に続く線形の β 消失相及び非線形の標的介在性消失相を特徴とする。1 mg/kg を IV 投与した動物では、主にごく低濃度で長い終末消失相（TMC 後の相）が認められた。低 IV 用量では、β 消失相はそれほど明確ではなかった。個々の濃度–時間プロファイルの一部の低下、特に SC 投与後の低下の加速は、総エビナクマブ濃度に及ぼす ADA の影響を反映している可能性がある（Section 7.1）。

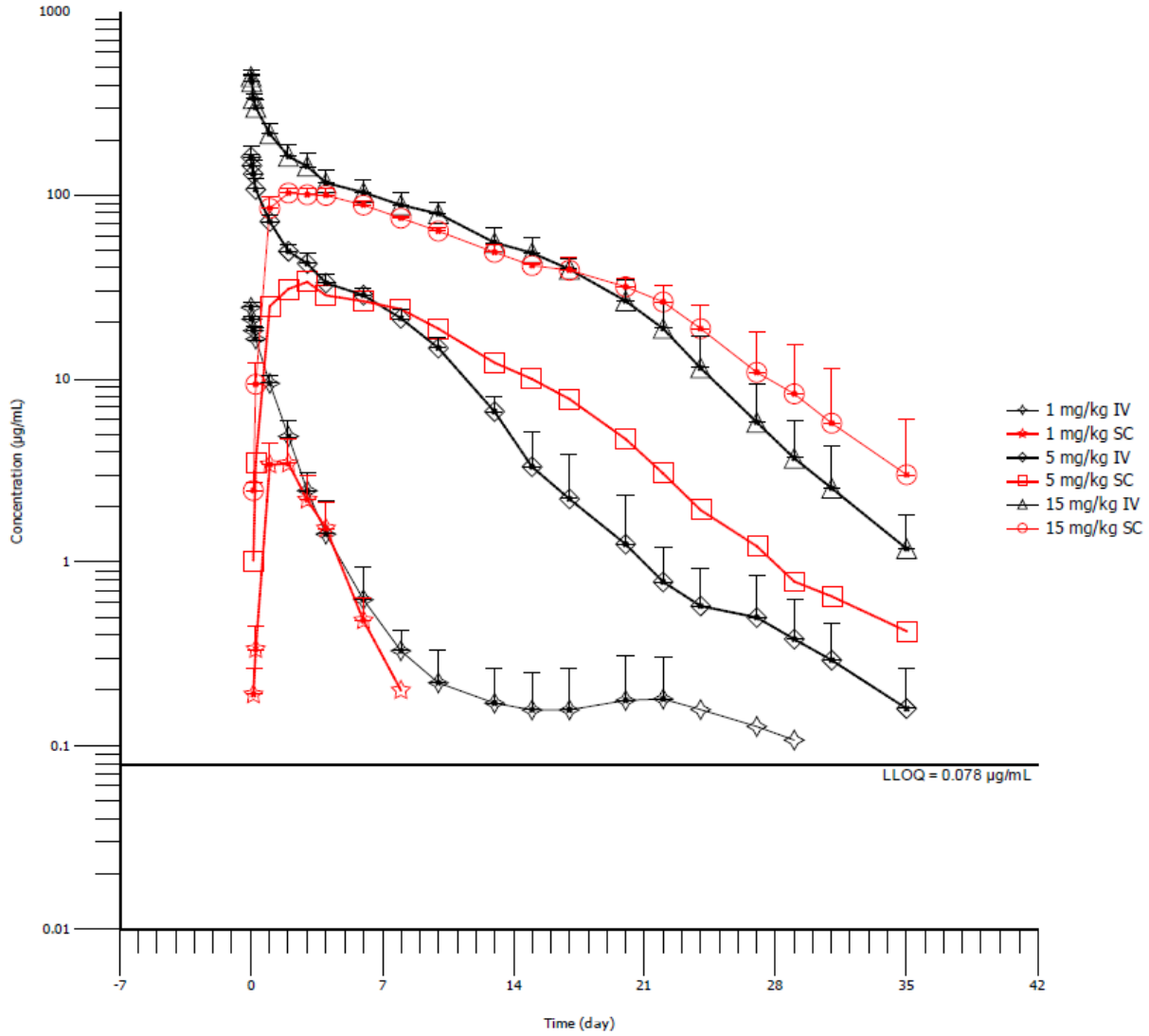
IV 投与後の C_{max} 平均値はほぼ用量に比例した値であったが、曝露量（AUC_{inf}）は用量比例性を上回る増加を示し、高い用量及び濃度では用量比例性に近づく傾向が示され、1～5 mg/kg の用量では AUC／投与量比の 2.7 倍の上昇、5～15 mg/kg の用量では AUC／投与量比の 1.4 倍に増加した。全身クリアランス（CL）平均値が投与量増加に伴って低下したことは、認められた非線形 PK と一致する。

SC 投与後の C_{max} 平均値は、1～5 mg/kg 投与群では用量比例性を上回る上昇を示し、5～15 mg/kg 投与群では用量に比例して上昇した。曝露量（AUC_{inf}）は、特に 1～5 mg/kg 投与群では用量比例性を上回る増加を示した。t_{max} 平均値は、36 時間（1 mg/kg 投与群）から 72 時間（5 mg/kg 投与群）の範囲であった。SC 投与後のエビナクマブのバイオアベイラビリティは、約 37%（1 mg/kg）、84%（5 mg/kg）及び 76%（15 mg/kg）であった。

消失半減期（$t_{1/2}$）推定値は、線形の β 消失相が最も長時間になる場合として 15 mg/kg IV 投与群で 4 日、15 mg/kg SC 投与群では 5 日であった。

ADA は、エビナクマブ投与動物の 19%で検出された（Section 7.1, Table 5）。さらに ADA 陰性であった動物の 21%、主として 5 mg/kg 及び 15 mg/kg SC 投与群の動物では、ADA 陽性動物の濃度–時間プロファイル特性が示された。

Figure 1: Mean (±SD) Concentrations of Total Evinacumab in Serum after a Single IV or SC Dose of Evinacumab to Male Rats (REGN1500-PK-12005)



IV, Intravenous; LLOQ, Lower limit of quantitation; N; Number of animals; SC, Subcutaneous; SD, Standard deviation
Notes: N = 7 animals/group. For the 5 mg/kg SC group, a single value at each time point was plotted and hence, no SD was included.

3.1.2. サルにおける総エビナクマブの薬物動態

雌雄カニクイザルにエビナクマブを 1 mg/kg、5 mg/kg 及び 15 mg/kg の用量で単回 IV 又は SC 投与して、サル血清中総エビナクマブの濃度–時間プロファイルを評価した（Table 1, Figure 2, Module 2.6.5.4, REGN1500-PK-11088）。

投与前及び投与後の規定された時点で血液試料を経時的に採取した。その結果として得られた血清中総エビナクマブ濃度を、バリデーション実施済みの ELISA を用いて分析した（Section 2.1）。

1 mg/kg IV 投与後のサルにおける総エビナクマブの濃度–時間プロファイルは、短時間の分布相に続く非線形の標的介在相及び長い終末消失相（TMC 後の相）を特徴とする。5 mg/kg IV 投与後は線形の β 消失相がより明確になり、非線形の標的介在相がより長くなる。15 mg/kg IV 投与後は、標的を介した経路を飽和させるのに十分な濃度になると考えられるため、β 消失相がより長くなる。
個々の濃度–時間プロファイルの一部の低下、特に 1 mg/kg IV 投与と比較した場合の 5 mg/kg SC 投与後の低下の加速は、総エビナクマブ濃度に及ぼす ADA の影響を反映している可能性がある。

IV 投与後の C_{max} 平均値はほぼ用量に比例した値であったが、曝露量（AUC_{inf}）は用量比例性を上回る増加を示し、高い用量及び濃度では用量比例性に近づく傾向が示され、1～5 mg/kg の用量では AUC／投与量比の 5.2 倍、5～15 mg/kg の用量では AUC／投与量比の 1.6 倍に増加した。全身クリアランス値が投与量に伴って低下したことは、認められた非線形 PK と一致する。SC 投与後の曝露量平均値は、用量比例性を上回る増加を示した。

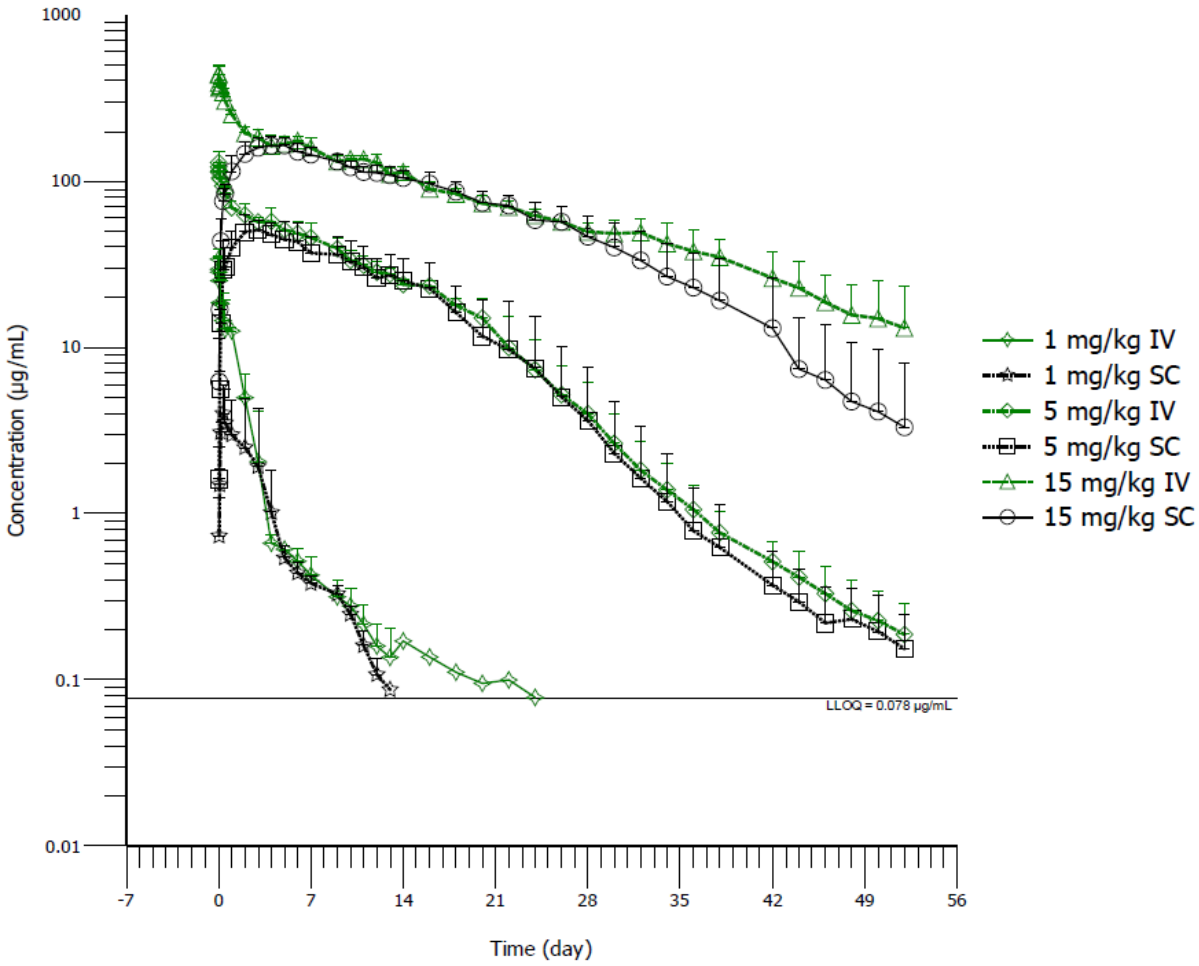
t_{max} 平均値は 1 mg/kg SC 投与群で最も短く（20 時間）、5 及び 15 mg/kg SC 投与群ではそれぞれ 56～106 時間の範囲であった。SC 投与後のバイオアベイラビリティ推定値は、約 39%（1 mg/kg）、82%（5 mg/kg）及び 77%（15 mg/kg）であった。

消失半減期（$t_{1/2}$）推定値は、線形の β 消失相が最も長時間になる場合として 15 mg/kg IV 投与群で 10 日であった。

ADA はエビナクマブ投与動物の 28%で逆用量依存的に検出され、1 mg/kg 投与群では ADA 検出率が比較的高かった（Section 7.3, Table 7）。さらに 36 匹中 6 匹（17%）が ADA 陰性であったが、ADA 陽性動物に特徴的な濃度-時間プロファイルを示した。これら 6 匹の ADA 陽性様反応を呈した個体は、確認された ADA 陽性動物に加えて、平均 PK パラメータの算出から除外された。

単回 IV 又は SC 投与後のサルにおけるエビナクマブの PK プロファイル又は免疫原性プロファイルにおいて、エビナクマブ曝露量に性差は認められなかった。

Figure 2: Mean (±SD) Concentrations of Total Evinacumab in Serum after a Single IV or SC Dose of Evinacumab to Male and Female Monkeys (REGN1500-PK-11088)



IV, Intravenous; LLOQ, Lower limit of quantitation; N, Number of animals; SC, Subcutaneous
Note: N = 3 animals/sex/group.

3.2. ラット及びサルにおける総エビナクマブのトキシコキネティクス評価

3.2.1. ラットにおける総エビナクマブのトキシコキネティクス評価

雌雄 Sprague Dawley ラットを用いた毒性試験の一環として、エビナクマブを 10～100 mg/kg の用量範囲で週 1 回 5 週間又は 13 週間 IV 又は SC 投与し、最終投与後 10 週間又は 13 週間の回復期間を設けて、ラット血清中総エビナクマブの TK プロファイルを評価した（Table 2, REGN1500-TX-11073 及び REGN1500-TX-12062, Module 2.6.7）。

総エビナクマブの継続曝露は、5 週間及び 13 週間の投与期間を通して全投与群の動物の大多数（それぞれ 89%及び 100%）で認められた。エビナクマブは 10 週間及び 13 週間の回復期間を通して全動物で概ね検出された。

週 1 回 5 週間又は 13 週間 IV 又は SC 投与したときの C_{max} 平均値は、ほぼ用量に比例して上昇した。曝露量（$AUC_{0\text{-}168h}$）平均値は、投与期間が 5 週間の場合は投与期間を通して用量比例性をやや上回る増加を示し、投与期間が 13 週間の場合は用量に比例して増加した。回復期間中に用量比例性を上回る曝露量増加がみられたことは、単回投与 PK 試験で認められた非線形動態及び TMC と一致する。

エビナクマブを 10 mg/kg/週以上の用量で週 1 回最長 13 週間投与したときのラット血清中蓄積（AUC に基づく）は、初回投与時と比較して、IV 投与及び SC 投与でそれぞれ約 1.5～2.1 倍、及び 1.3～2.2 倍であった。5 週間及び 13 週間試験でそれぞれ週 1 回 5 週間及び 7 週間投与後に定常状態に達した。ラットの長期毒性試験でみられた蓄積の程度は、ラット単回投与 PK 試験に基づいて予想されたとおりであった。

5 週間及び 13 週間試験では、エビナクマブを投与したラットのそれぞれ 8%及び 18%で ADA 陽性反応が認められた（Section 7.1, Table 5）。13 週間試験ではさらに、ADA 陰性であった動物の 8%で ADA 陽性動物の濃度–時間プロファイル特性が示された。

反復 IV 又は SC 投与後のラットにおけるエビナクマブの TK プロファイル又は免疫原性プロファイルにおいて、エビナクマブ曝露量に性差は認められなかった。

3.2.2. サルにおける総エビナクマブのトキシコキネティクス評価

雌雄カニクイザルを用いた毒性試験の一環として、エビナクマブを 10～100 mg/kg の用量範囲で週 1 回 5 週間、13 週間又は 26 週間 IV 又は SC 投与し、最終投与後 10 週間又は 13 週間の回復期間を設けて、サル血清中総エビナクマブの TK プロファイルを評価した（Table 4, REGN1500-TX-11072, REGN1500-TX-12061 及び REGN1500-TX-14006, Module 2.6.7）。

総エビナクマブの継続曝露は、全投与群の動物の大多数で 5 週間、13 週間及び 26 週間の投与期間を通して認められた（それぞれ 100%、96%及び 100%）。エビナクマブは 10 週間及び 13 週間の回復期間を通して全動物で概ね検出された。

C_{max} 及び曝露量（$AUC_{0\text{-}168h}$）平均値は、5 週間、13 週間及び 26 週間の投与期間を通してほぼ用量に比例して増加した。回復期間中は、5 週間試験では 30 mg/kg/週以上の用量、13 週間及び 26 週間試験では 100 mg/kg/週の用量で線形動態が認められたが、低濃度では 10 mg/kg の用量で非線形 TMC が明らかであった。週 1 回投与後の回復期間中に認められた非線形性は、単回投与 PK 試験でみられた非線形動態及び TMC と一致する。

エビナクマブを 10 mg/kg/週以上の用量で週 1 回最長 26 週間投与したときのサル血清中蓄積は、初回投与時と比較して、IV 投与及び SC 投与でそれぞれ約 2.6～4.7 倍、及び 3～5.1 倍であった。13 週間及び 26 週間試験では週 1 回 12 週間投与後に定常状態に達した。26 週間試験では投与期間終了近くまで定常状態の達成がみられなかったことは、ADA の一過性の影響の結果である可能性が高

い。サルの長期毒性試験でみられた蓄積の程度は、サル単回投与 PK 試験に基づいて予想されたとおりであった。

5 週間、13 週間及び 26 週間試験では、エビナクマブを投与したサルのそれぞれ 4%、4%及び 10%で ADA 陽性反応が認められた（Section 7.3, Table 7）。13 週間及び 26 週間試験ではさらに、ADA 陰性であった動物のそれぞれ 2%及び 4%で ADA 陽性動物の濃度–時間プロファイル特性が示された。

反復 IV 又は SC 投与後のサルにおけるエビナクマブの TK プロファイル又は免疫原性プロファイルにおいて、エビナクマブ曝露量に性差は認められなかった。

3.3. 幼若ラット及びウサギにおける総エビナクマブのトキシコキネティクス評価

3.3.1. 幼若ラットにおける総エビナクマブのトキシコキネティクス評価

幼若雌雄 Sprague Dawley ラットを用いた毒性試験の一環として、出生後 21 日目から 84 日目まで（計 10 回）エビナクマブ 30 mg/kg/週又は 100 mg/kg/週を週 1 回 SC 投与、又はエビナクマブ 100 mg/kg/週を週 1 回 IV 投与し、最終投与後 8 週間の回復期間を設けて、ラット血清中エビナクマブの TK プロファイルを評価した（Table 2, R1500-TX-17094［ピボタル試験］, Module 2.6.7）。

総エビナクマブの継続曝露は、TK 群のうちエビナクマブを投与した（動物 1 匹を除く）全動物で投与期間を通して維持された。総エビナクマブの検出可能な濃度は、エビナクマブ投与動物の 94%で 8 週間の回復期間を通して認められた。

C_{max} 及び曝露量（AUC_{tau}）平均値は、SC 投与群では投与期間中、用量に比例して増加した。回復期間中は TMC のために非線形動態が認められた。

全用量で週 1 回 10 週間投与したときのラット血清中エビナクマブの蓄積は、初回投与時と比較して、SC 投与及び IV 投与でそれぞれ約 3.6～4.3 倍、及び 3.7 倍であった。全投与群で週 1 回 7 週間投与後に定常状態に達した。

ADA は、エビナクマブ投与動物の 6%で検出された（Section 7.1, Table 5）。

反復 IV 又は SC 投与後のラットにおけるエビナクマブの TK プロファイル又は免疫原性プロファイルにおいて、エビナクマブ曝露量に性差は認められなかった。

3.3.2. 幼若ウサギにおける総エビナクマブのトキシコキネティクス評価

幼若雌雄 New Zealand White ウサギを用いた毒性試験の一環として、出生後 21 日目から 96 日目まで 5 日毎に（計 16 回）エビナクマブ 300 mg/kg を IV 投与、又は 30 mg/kg、100 mg/kg 及び 300 mg/kg を SC 投与（R1500-TX-18035［パイロット試験］）、若しくは出生後 21 日目から 141 日目まで 5 日毎に（計 25 回）エビナクマブ 30 mg/kg、100 mg/kg 及び 300 mg/kg を IV 投与

（R1500-TX-17093, Table 3, Module 2.6.7）して、ウサギ血清中総エビナクマブの TK プロファイルを評価した。

3.3.2.1. 幼若 New Zealand White ウサギを用いたエビナクマブ静脈内投与及び皮下投与の非ピボタル毒性試験（R1500-TX-18035）

総エビナクマブの継続曝露は、エビナクマブを投与した（動物 2 匹を除く）全動物（96%）で投与期間を通して維持された。

C_{max} 及び曝露量（AUC_{tau}）平均値は、100～300 mg/kg SC 投与群では投与期間を通して用量に比例して増加した。30 mg/kg SC 投与群で C_{max} 及び曝露量が用量比例性を下回ったことは、30 mg/kg 投与群では濃度に及ぼす ADA の影響がより強かったためである可能性が高い。

最長 10 週間投与したときのウサギ血清中エビナクマブの蓄積は全用量で認められ、蓄積は初回投与時と比較して IV 投与では約 3 倍、SC 投与では 1.3～2.6 倍となった。

パイロット試験では、エビナクマブ投与動物の 2%で ADA 陽性反応が認められた（Section 7.2, Table 6）。パイロット試験ではさらに、ADA 陰性であったウサギの 31%、主として 30 mg/kg SC 投与群の動物で ADA 陽性動物の濃度–時間プロファイル特性が示された。

3.3.2.2. 幼若 New Zealand White ウサギを用いた静脈内投与本試験（R1500-TX-17093）

総エビナクマブの継続曝露は、エビナクマブを投与した（動物 9 匹を除く）全動物（95%）で投与期間を通して維持された。

C_{max} 及び曝露量（AUC_{tau}）平均値は、全投与群で投与期間を通して用量に比例して増加した。複数回投与後には全投与群で薬物蓄積が認められた。ADA の一過性の影響により、定常状態に達するまでの時間がやや延長したが、25 回目の投与で概ね定常状態に達した。

ADA 陽性反応は、エビナクマブ投与動物の 9%で認められた（Section 7.2, Table 6）。

反復 IV 投与後の幼若ウサギにおけるエビナクマブの TK プロファイル又は免疫原性プロファイルにおいて、エビナクマブ曝露量に性差は認められなかった。

4. 分布

4.1. ラット及びウサギ胚・胎仔発生試験

4.1.1. ラットを用いたエビナクマブの胚・胎仔発生試験

妊娠 Sprague Dawley ラット（母ラット）の胚・胎仔発生試験の一環として、妊娠 6 日目から 18 日目まで 3 日毎にエビナクマブ 5～100 mg/kg を SC 投与して、母仔ラット血清中エビナクマブの TK プロファイルを評価した（計 5 回投与；REGN1500-TX-14149, Table 2, Module 2.6.7）。エビナクマブの胎盤通過性の評価も実施した。

総エビナクマブの継続曝露は、TK 群のうちエビナクマブを投与した（動物 1 匹を除く）全動物において 15 日間の投与期間を通して維持された。総エビナクマブは、TK 群のうちエビナクマブを投与した動物の全胎仔試料において剖検時（妊娠 21 日目）に検出可能であった。

母ラットにおける C_{max} 及び曝露量（AUC_{tau}）平均値は、投与期間を通してほぼ用量に比例して増加した。

TK 群の全投与動物における妊娠 21 日目の胎仔ラット及び母ラットにおける総エビナクマブ濃度の平均比（$C_{Fetal}/C_{Maternal}$）は同程度であり、0.419～0.619 の範囲であった。以上の所見は、エビナクマブが胎盤を通過することを示している。全投与群のすべての仔ラットが妊娠 21 日目に全身曝露を示し、母仔における総エビナクマブ濃度の平均比は用量非依存的であった。

母仔ラット検体はすべて ADA 陰性であった（Section 7.1, Table 5）。

4.1.2. ウサギを用いたエビナクマブの胚・胎仔発生試験

妊娠 New Zealand White ウサギの非ピボタル胚・胎仔発生試験の一環として、妊娠 7 日目から 17 日目まで 5 日毎に（計 3 回投与）エビナクマブを 10～100 mg/kg の用量範囲で SC 投与、又はエビナクマブ 100 mg/kg を IV 投与して、ウサギ血清中エビナクマブの TK プロファイルを評価した（REGN1500-TX-14016［非ピボタル試験］）。妊娠 New Zealand White ウサギの胚・胎仔発生の本試験の一環として、妊娠 7 日目から 19 日目まで 3 日毎に（計 5 回投与）エビナクマブを 1～30 mg/kg の用量範囲で SC 投与して、ウサギ血清中エビナクマブの TK プロファイルを評価した（Table 3, REGN1500-TX-14092, Module 2.6.7）。

4.1.2.1. 妊娠 New Zealand White ウサギを用いたエビナクマブの非ピボタル、用量設定、胚・胎仔発生試験（REGN1500-TX-14016）

総エビナクマブの継続曝露は、エビナクマブを 30 mg/kg 以上投与した動物の 94%で妊娠 22 日目まで、100 mg/kg を 3 回 SC 又は IV 投与した動物の 92%で妊娠 27 日目まで維持された。

C_{max} 及び曝露量（$AUC_{0\text{-}120h}$）平均値がほぼ用量比例性を上回る増加を示したことが、複数回投与後により明らかであったことは、低用量かつ低濃度で ADA 発現率が高かったことを反映している。

蓄積がごくわずかであったことは（初回投与時と比較して 1.7 倍以下）、エビナクマブ濃度に及ぼす ADA の影響を反映している。

ADA はエビナクマブ投与動物の 46%で検出され、ADA 発現率は逆用量依存的であり、10 mg/kg では ADA 発現率が比較的高かった（Section 7.2, Table 6）。

4.1.2.2. 妊娠 New Zealand White ウサギを用いたエビナクマブの胚・胎仔発生の本試験（REGN1500-TX-14092）

エビナクマブ 30 mg/kg を投与した動物では、総エビナクマブの継続曝露が 84%の動物で妊娠 22 日目まで、53%の動物で妊娠 29 日目まで維持された。30 mg/kg 未満の用量では概して断続曝露が認められた。総エビナクマブ濃度は、10 mg/kg 投与群の母動物 16 匹中 3 匹の胎仔、及び 30 mg/kg 投与群の母動物 10 匹中 7 匹の胎仔において妊娠 29 日目に定量可能であった。1 mg/kg 及び 5 mg/kg 投与群における濃度はすべて定量下限未満であった。全投与群で ADA の影響が強かったために濃度データは限られているが、10 mg/kg 及び 30 mg/kg 投与群では胎仔血清中エビナクマブ濃度が一般的に母動物血清中濃度以上であった。

C_{max} 及び曝露量（$AUC_{0\text{-}3days}$）平均値は、全投与群においてほぼ用量比例性を上回る増加を示し、TMC は主として低用量で認められた。

蓄積がごくわずかであったことは（初回投与時と比較して 1.5 倍以下）、エビナクマブ濃度に及ぼす ADA の影響を反映している。

ADA はエビナクマブ投与動物の 88%で検出された。ADA 発現率は逆用量依存的であり、10 mg/kg 以下の用量では ADA 発現率が比較的高かった。ADA 陽性反応は全投与群の大多数の胎仔の血清中で妊娠 29 日目に認められた（Section 7.2, Table 6）。

4.2. ラット及びウサギを用いたエビナクマブの受胎能、着床までの初期胚発生、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

Sprague Dawley ラット毒性試験の一環として、交配前 0 日から妊娠 21 日目まで（胚・胎仔 TK F_0 雌［母］ラットに計 17 回投与）又は授乳 21 日目まで（TK F_0 雌ラットに計 25 回投与）3 日毎にエビナクマブ 30 mg/kg 又は 100 mg/kg を SC 投与して、ラット血清中エビナクマブの TK プロファイルを評価した（Table 2, R1500-TX-17096, Module 2.6.7）。さらに、雄ウサギの受胎能試験の一環として、交配前から交配後 26 日目まで 5 日毎に（計 16 回投与）エビナクマブ 100 mg/kg 又は 300 mg/kg を IV 投与して、雄ウサギの血清中エビナクマブの TK プロファイルを評価した（R1500-TX-17095, Table 3, Module 2.6.7）。

4.2.1. Sprague Dawley ラットを用いた雌受胎能、着床までの初期胚発生、出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する皮下投与試験（R1500-TX-17096）

TK 群の F_0 雌へのエビナクマブの SC 投与後、総エビナクマブの継続曝露は TK 群の F_0 雌 2 匹を除く 89%の動物で投与期間を通して認められた。全母動物ラット及び胚・胎仔 TK 群の F_0 雌の胎仔において、妊娠 21 日目の 1 回の試料採取時点で総エビナクマブの検出可能な濃度が認められた。総エビナクマブの検出可能な濃度は、出生後 7 日目にすべての仔のプール試料においても、また、F_1 動物（TK F_0 群の雌の仔）22 匹中 12 匹においても成熟後 63 日目まで認められた。

C_{max} 平均値は、30～100 mg/kg の用量による 1 回目、20 回目及び 25 回目の SC 投与後で同等であった（1.4 倍以内）。13 回目投与後の C_{max} 平均値が 30 mg/kg 投与群で比較的高かったことは（2.4 倍）、両投与群の投与期間を通して認められた総エビナクマブ濃度のばらつきの大きさを反映している可能性が高く、この試験では試料採取方法として複合サンプリング法（n=3／時点、異なる採取時点で別動物を用いている）を用いていたことから、及び 100 mg/kg 投与群でみられた ADA の明らかな影響が、このばらつきの一因であった可能性がある。曝露量（AUC_{tau}）は両投与群の投与期間を通して概ね用量に比例して増加したが、13 回目投与後に 30 mg/kg 投与群で AUC_{tau} が約 2 倍に増加したことは、この場合も投与期間を通して認められた総エビナクマブ濃度のばらつきの大きさを反映しており、この試験では試料採取方法として複合サンプリング法を用いていたことと一致する。複数回投与後の薬物蓄積は、両投与群で概ね認められた。

ADA 陽性反応は、エビナクマブ投与動物の 8%で認められた（Section 7.1, Table 5）。しかし、この試験では試料採取方法として複合サンプリング法を用いていたことから、ADA 陽性数と、ADA の影響による総エビナクマブ濃度の急低下との間の相関関係は明確に判断できなかった。

4.2.2. New Zealand White ウサギを用いた雄受胎能及び着床までの初期胚発生の静脈内投与試験（R1500-TX-17095）

血清中総エビナクマブの継続曝露は、動物 1 匹（100 mg/kg 投与群）を除く他の全雄動物（97%）において、試験中の全試料採取時点で認められた。精漿中総エビナクマブの検出可能な濃度は、交配後の 1 回の試料採取時点（交配後 12 日目；試験 60 日目）に 91%の動物で認められた。血清中総エビナクマブ濃度と比較したほぼ対応する時点の精漿中総エビナクマブ濃度の割合の中央値は、概ね約 0.6%であった。エビナクマブ投与雄ウサギと交配した雌ウサギにおいて、血清中総エビナクマブの検出可能な濃度は、妊娠期のいずれの試料採取時点でも認められなかった。

C_{max} 及び曝露量（AUC_{tau}）平均値は、両投与群の投与期間を通して用量に比例して増加した。薬物蓄積は複数回投与後、両投与群において認められた。定常状態濃度は、10 回目投与までに概ね達成された。

ADA 陽性反応は、エビナクマブ投与動物の 21%で認められた（Section 7.2, Table 6）。100 mg/kg 及び 300 mg/kg 投与群のそれぞれ 5 匹中 4 匹及び 3 匹中 1 匹では、ADA 陽性反応とエビナクマブ濃度の急低下との間に相関がみられた。

5. 代謝（動物種間の比較）

バイオテクノロジー応用医薬品（モノクローナル抗体）の代謝として、ICH ガイドライン（S6[R1], 2012）–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（2011 年 6 月）に基づいて予測される結果は、低分子ペプチド及び個々のアミノ酸への分解である。したがって、エビナクマブの代謝経路は概ね解明されていることから、古典的な生体内変化試験は実施していない。

6. 排泄

エビナクマブ（タンパク質）はアミノ酸に異化され、内因性アミノ酸プールに加わった後に内因性タンパク質に取り込まれると予測されるため、排泄試験は実施しなかった。多くの免疫グロブリンはヒト母乳中に移行するが、サル母乳からの IgG4 の経口吸収はごくわずかであるため（Kane, 2009; Pentsuk, 2009; Stengel, 2008; Vasiliauskas, 2006）、エビナクマブが母乳中に移行するかどうかを評価する試験は実施しなかった。

7. 免疫原性

7.1. ラットにおけるエビナクマブの免疫原性

エビナクマブを 1～15 mg/kg の用量範囲で単回 IV 又は SC 投与する PK 試験 1 試験、及びエビナクマブを 10～100 mg/kg の用量範囲で週 1 回 5 週間又は 13 週間 IV 又は SC 投与する毒性試験 2 試験において、成体ラットにおけるエビナクマブの免疫原性を評価した（Table 5, REGN1500-PK-12005, Module 2.6.5, REGN1500-TX-11073 及び REGN1500-TX-12062, Module 2.6.7）。幼若ラットにおける免疫原性は、出生後 21 日目から 84 日目までエビナクマブ 30 mg/kg 又は 100 mg/kg を週 1 回 SC 投与、又はエビナクマブ 100 mg/kg を IV 投与する毒性試験 1 試験において評価した（Table 5, R1500-TX-17094, Module 2.6.7）。さらに、妊娠 6 日目から 18 日目まで 3 日毎にエビナクマブ 5～100 mg/kg を SC 投与するラット胚・胎仔発生試験、及び交配前から交配後の妊娠 21 日目又は授乳 21 日目まで 3 日毎にエビナクマブ 30 mg/kg 又は 100 mg/kg を SC 投与する受胎能／周産期・出生後発生（PPND）試験において、エビナクマブの免疫原性を評価した（Table 5, REGN1500-TX-14149 及び R1500-TX-17096, Module 2.6.7）。

PK 試験の投与前及び投与後 35 日目までに採取した試料、又は毒性試験の投与期間及び回復期間中に採取した試料について、バリデーション実施済みのブリッジング免疫測定法を用いて、抗ヒト IgG4 抗体の有無を分析した（Section 2.2）。

ADA 陽性反応は、成体ラット及び幼若ラットを用いた単回投与 PK 試験及び反復投与毒性試験において認められた。ADA 陽性反応発現率は、単回投与後の全投与群で低度（0～25%以下）から中程度（25%超～50%以下）、かつ用量依存的であり、1 mg/kg 投与群では ADA 発現率が比較的高かった。ADA 陽性反応発現率は、幼若ラット及び成体ラットへの複数回投与後の全投与群で概して低度から中程度、かつ用量依存的であった。ADA 陽性であった動物では、ADA 陰性動物と比べて全般的に ADA の存在がエビナクマブ曝露量の減少と関連していたことから、ADA によりエビナクマブ消失が加速することが示唆される。ADA 陰性であった成体ラットの 21%以下では、ADA 陽性動物と同等の、濃度が急低下する濃度-時間プロファイルが示された。ADA の影響を受けたと考えられる動物の濃度値は、NCA から除外した。

妊娠ラットの胚・胎仔発生試験では、すべての母仔の試料が ADA 陰性であった。

妊娠ラット、授乳ラット及びその仔を用いた受胎能、着床までの初期胚発生、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では、ADA 陽性反応が TK 群の F_0 動物及び胚・胎仔 TK 群の F_0 動物 39 匹中 3 匹で認められた。しかし、この試験では試料採取方法として複合サンプリング法を用いていたことから、ADA 陽性数と、総エビナクマブ濃度との間の相関関係は明確に判断できなかった。30 mg/kg 投与群（約 49%）及び 100 mg/kg 投与群（約 54%）の総エビナクマブ濃度測定値の大半が、ADA 検査の DTL（272.8 µg/mL）を超えた。濃度データをすべて用いて濃度平均値、プロット及び PK パラメータを推定した。

成体ラット及び幼若ラットに単回投与及び複数回投与したときのエビナクマブ濃度は、30 mg/kg 以下の用量では濃度の 60%以上が ADA 検査の DTL（206 µg/mL）未満であり、100 mg/kg の用量では濃度の 50%以上が DTL を超えた。したがって、100 mg/kg の用量では ADA 発現率が過小評価されている可能性がある。ラット毒性試験では、ADA の存在とエビナクマブの総投与回数との間に、明らかな又は一貫した相関はみられなかった（Table 5）。

雌雄両方を用いた各試験では、ADA の発現頻度に実質的な性差は概ね認められなかった（Table 5）。

要約すると、ADA 陽性ラットの大多数では、ADA の存在と（同じ投与群の他の動物と比べて）低いエビナクマブ濃度との間に相関が認められた。100 mg/kg の用量で ADA 反応が低いことは、高用量での薬物耐性及び／又は高い循環薬物濃度が ADA 測定に干渉する可能性を反映していると考えられる。エビナクマブはヒト抗体であるため、ラットへのエビナクマブ投与後の ADA 発現は予想外のことではない。しかし、ラットで認められた免疫原性は、ヒトにおける免疫原性を必ずしも予測するものではない。ラット試験では、ADA の存在はエビナクマブの薬物動態又は安全性プロファイルの特徴付けに影響を及ぼさなかった。

Table 5: Summary of Evinacumab Immunogenicity in Rats

Study	Module 2.6.5 or 2.6.7 Cross-Reference	Total # of Doses (Frequency)	Animals/ Dose Group (M/F)	Dose (Route) (mg/kg)	ADA Frequency (ADA (+)/Total)	Sex Distribution for ADA (+) (M/F)	Total % ADA (+)	Effect on Clearance
Single-Dose PK								
REGN1500-PK-12005	2.6.5.5	1	7M	1 (IV)	3 / 7	NA	43%	↑
				5 (IV)	1 / 7	NA	14%	↑
				15 (IV)	0 / 7	NA	0%	NA
				1 (SC)	2 / 7	NA	29%	↑
				5 (SC)	1 / 7	NA	14%	↑
				15 (SC)	1 / 7	NA	14%	↑
Repeat-Dose Toxicology								
REGN1500-TX-11073	2.6.7.7.A	5 (weekly)	9M/9F	10 (IV)	0 / 18	0M/0F	0%	NA
				30 (IV)	1 / 18	0M/1F	5.6%	↑
				100 (IV)	0 / 18	0M/0F	0%	NA
				100 (SC)	5 / 18	4M/1F	28%	↑
REGN1500-TX-12062	2.6.7.7.B	13 (weekly)	9M/9F	100 (IV)	3 / 18	2M/1F	17%	↑
				10 (SC)	3 / 18	2M/1F	17%	↑
				30 (SC)	2 / 18	1M/1F	11%	↑
				100 (SC)	5 / 18	3M/2F	28%	↑
Reproductive and Developmental Toxicology								
REGN1500-TX-14149	2.6.7.12.A	5 (every 3 days from GD6 to GD18)	22F (Main Study)/ 6F (TK cohort)	5 (SC)	0 / 28[a]	NA	0%	NA
				10 (SC)	0 / 28[a]	NA	0%	NA
				30 (SC)	0 / 28[a]	NA	0%	NA
				100 (SC)	0 / 28[a]	NA	0%	NA

Table 5: Summary of Evinacumab Immunogenicity in Rats - Continued

Study	Module 2.6.5 or 2.6.7 Cross-Reference	Total # of Doses (Frequency)	Animals/ Dose Group (M/F)	Dose (Route) (mg/kg)	ADA Frequency (ADA (+)/Total)	Sex Distribution for ADA (+) (M/F)	Total % ADA (+)	Effect on Clearance
Reproductive and Developmental Toxicology								
R1500-TX-17096	2.6.7.11.A	25 (every 3 days prior to pairing and through LD21)	9F (F_0 females TK cohort)[b]	30 (SC)	0 / 9	NA	0%	NA
				100 (SC)	2 / 9	NA	22%	ND
		17 (every 3 days prior to pairing and through GD21)	4F (F_0 females embryo-fetal TK cohort)[b]	30 (SC)	0 / 4	NA	0%	NA
				100 (SC)	0 / 4	NA	0%	NA
Reproductive and Developmental Toxicology – Juvenile Toxicology Studies								
R1500-TX-17094	2.6.7.14.A	10 (weekly from PND 21 through PND 84)	9M/9F (TK Cohort)[d]	100 (IV)	2 / 18	2M/0F	11%	ND
				30 (SC)	0 / 18	0M/0F	0%	ND
				100 (SC)	1 / 18	1M/0F	5.6%	ND

[a] In study REGN1500-TX-14149, all dams and corresponding fetal samples were ADA negative.
[b] In study R1500-TX-17096, males were not dosed
[d] In study R1500-TX-17094, samples for analysis of anti-human IgG4 antibodies were collected from 9 males and 9 females (18 rats per group).
ADA, Anti-drug antibody; F, Female; GD, Gestation Day; IV, Intravenous; LD, Lactation Day; M, Male; NA, Not applicable; ND, Not determined; PK, Pharmacokinetics; PND, Postnatal Day; SC, Subcutaneous; TK, Toxicokinetic; ↑, Increase in clearance

7.2. ウサギにおけるエビナクマブの免疫原性

成体ウサギにおけるエビナクマブの免疫原性は、毒性試験 2 試験において、妊娠 7 日目から 17 日目まで 5 日毎にエビナクマブを 10～100 mg/kg の用量範囲で SC 投与、又はエビナクマブ 100 mg/kg を IV 投与、若しくは交配前から交配後 26 日目まで 5 日毎にエビナクマブ 100 mg/kg 又は 300 mg/kg を IV 投与して評価した（Table 6, REGN1500-TX-14016 及び R1500-TX-17095, Module 2.6.7）。幼若ウサギにおける免疫原性は、毒性試験 2 試験において、出生後 21 日目から 96 日目まで 5 日毎にエビナクマブ 30～300 mg/kg を SC 投与、又はエビナクマブ 300 mg/kg を IV 投与、あるいは出生後 21 日目から 141 日目まで 5 日毎にエビナクマブ 30～300 mg/kg を IV 投与して評価した（Table 6, R1500-TX-18035 及び R1500-TX-17093, Module 2.6.7）。エビナクマブの免疫原性はさらに、妊娠 7 日目から 19 日目まで 3 日毎にエビナクマブを 1～30 mg/kg の用量範囲で SC 投与するウサギ胚・胎仔発生試験においても評価した（Table 6, REGN1500-TX-14092, Module 2.6.7）。

投与前、並びに投与期間及び回復期間中に採取した試料は、ブリッジング免疫測定法を用いて、抗ヒト IgG4 抗体の有無について分析した（Section 2.2）。

ADA 陽性反応は、成体ウサギ及び幼若ウサギを用いたすべての反復投与毒性試験において認められた。ADA 発現率は、全投与群の成体ウサギへの複数回投与後では低度（0～25%以下）から高度（50%以上）、かつ逆用量依存的であり、30 mg/kg 以下の用量では ADA 発現率が比較的高かった。ADA 陽性反応発現率は、全投与群の幼若ウサギへの複数回投与後では概して低度、かつ用量依存的であった。ADA 陽性であった動物では、ADA 陰性動物と比べて一般的に ADA の存在がエビナクマブの濃度及び曝露量の減少と関連していたことから、ADA によりエビナクマブ消失が加速することが示唆される。ADA 陰性であった幼若ウサギの約 31%以下では、ADA 陽性動物のプロファイル特性である、濃度が急低下する濃度-時間プロファイルが示された。ADA の影響を受けたと考えられる動物の濃度値は、NCA から除外した。ただし、R1500-TX-17093 試験の幼若ウサギにおける総エビナクマブの濃度–時間プロファイルの視覚分析に基づき、総エビナクマブ濃度が急低下した後の時点で濃度が上昇する一過性の ADA 反応が、全投与群を対象とした ADA 反応陰性の数匹の動物で認められた。この一過性の ADA 反応は、主として 30 mg/kg IV 投与群の動物でみられた。この試験中のすべての時点における動物の曝露量全体を明確にするため、いずれの濃度値も平均濃度の計算及び NCA から除外しなかった。

胚・胎仔発生試験では、妊娠ウサギの 88%が ADA 陽性であった。ADA 陽性発現率は用量と逆相関し、30 mg/kg 以下の用量では ADA 発現率が比較的高かった。ADA 陽性反応は 10 mg/kg 以下の投与群の胎仔の大多数（81%以上）、及び 30 mg/kg 投与群の全胎仔の 48%の血清中で妊娠 29 日目に認められた。ADA の存在は、妊娠ウサギとその胎仔におけるエビナクマブの濃度及び曝露量の減少と関連していた。

雄受胎能試験では、エビナクマブ投与動物の 21%が ADA 陽性であった。ADA 陽性反応は、100 mg/kg 投与群及び 300 mg/kg 投与群のそれぞれ 5 匹中 4 匹及び 3 匹中 1 匹でエビナクマブ濃度の

急低下と相関した。しかし、この試験中のすべての時点における動物のエビナクマブ曝露量全体を明確にするため、総エビナクマブのいずれの濃度値も平均濃度の計算及び NCA から除外しなかった。

エビナクマブを複数回 IV 又は SC 投与したとき、10 mg/kg 以下の用量ではすべての濃度が ADA 検査の DTL（153 µg/mL）未満、30 mg/kg 以上の用量では濃度の 50%以上が DTL を超えた。幼若ウサギでは、100 mg/kg 及び 300 mg/kg SC 及び IV 投与群の濃度の大多数（約 99%）が DTL を超えた。30 mg/kg SC 投与群では複数回投与後の濃度の約 45%が DTL を超え、30 mg/kg IV 投与群では複数回投与後の測定濃度の約 68%が DTL を超えた。雄ウサギでは、100 mg/kg 及び 300 mg/kg IV 投与群への複数回投与後の濃度の大多数（約 98%）が DTL を超えた。したがって、30 mg/kg 以上の用量では ADA 発現率が過小評価されている可能性がある。ウサギ毒性試験では、ADA の存在とエビナクマブの総投与回数との間に明らかな又は一貫した相関はみられなかった（Table 6）。

雌雄両方を用いた各試験では、ADA の発現頻度に実質的な性差は概ね認められなかった（Table 6）。

要約すると、ADA 陽性ウサギの大多数では、ADA の存在と（同じ投与群の他の動物と比べて）低いエビナクマブ濃度との間に相関が認められた。30 mg/kg 超の用量で ADA 反応が低いことは、高用量での薬物耐性及び/又は高い循環薬物濃度が ADA 測定に干渉する可能性を反映していると考えられる。エビナクマブはヒト抗体であるため、ウサギへのエビナクマブ投与後の ADA 発現は、予想外のことではない。ウサギにおける ADA の高い発現率にもかかわらず、全投与群の動物の大多数で継続曝露が認められた。しかし、ウサギで認められた免疫原性は、ヒトにおける免疫原性を必ずしも予測するものではない。ウサギ試験では、ADA の存在はエビナクマブの薬物動態又は安全性プロファイルの特徴付けに影響を及ぼさなかった。

Table 6: Summary of Evinacumab Immunogenicity in Rabbits

Study	Module 2.6.7 Cross-Reference	Total # of Doses (Frequency)	Animals/ Dose Group (M/F)	Dose (Route) (mg/kg)	ADA Frequency (ADA (+)/Total)	Sex Distribution for ADA (+) (M/F)	Total % ADA (+)	Effect on Clearance
Reproductive and Developmental Toxicology								
REGN1500-TX-14016	2.6.7.10	3 (on GD 7, 12, and 17)	6F	100 (IV)	1 / 6	NA	17%	↑
				10 (SC)	5 / 6	NA	83%	↑
				30 (SC)	4 / 6	NA	67%	↑
				100 (SC)	1 / 6	NA	17%	↑
REGN1500-TX-14092	2.6.7.12.B	5 (on GD 7, 10, 13, 16, and 19)	20F (Main Study)	5 (SC)	20 / 20[a]	NA	100%	↑
				10 (SC)	18 / 20[a]	NA	90%	↑
				30 (SC)	13 / 20[a]	NA	65%	↑
			20F (Extension Study)	1 (SC)	19 / 20[a]	NA	95%	↑
R1500-TX-17095	2.6.7.11.B	16 (every 5 days prior to mating through post pairing Day 26)	20M[b]	100 (IV)	5 / 20	NA	25%	↑
				300 (IV)	3 / 19	NA	16%	↑
Reproductive and Developmental Toxicology – Juvenile Toxicology Studies								
R1500-TX-17093	2.6.7.16.B	25 (every 5 days from PND 21 through PND 141)	20M/40F	30 (IV)	8 / 60	NA	13%	↑
				100 (IV)	8 / 60	NA	13%	↑
				300 (IV)	0 / 58	NA	0%	NA
R1500-TX-18035	2.6.7.13	16 (every 5 days from PND 21 through PND 96)	6M/6F	300 (IV)	0 / 12	0M / 0F	0%	NA
				30 (SC)	1 / 12	0M / 1F	8.0%	None
				100 (SC)	0 / 12	0M / 0F	0%	NA
				300 (SC)	0 / 12	0M / 0F	0%	NA

[a] In study REGN1500-TX-14092, anti-human IgG4 antibodies were detected in fetuses from all maternal rabbits in the 1 mg/kg group (99% of all fetuses) and 5 mg/kg group (100% of all fetuses), in fetuses from 13 of 16 maternal rabbits in the 10 mg/kg dose group (81% of all fetuses), and in fetuses from 6 of 10 maternal rabbits in the 30 mg/kg group (48% of all fetuses)

[b] In study R1500-TX-17095, females were not dosed

ADA, Anti-drug antibody; F, Female; GD, Gestation day; IV, Intravenous; M, Male; NA, Not applicable; PND, Postnatal Day; SC, Subcutaneous; ↑, Increase in clearance

7.3. サルにおけるエビナクマブの免疫原性

サルにおけるエビナクマブの免疫原性は、エビナクマブを 1 mg/kg、5 mg/kg 及び 15 mg/kg の用量で単回 IV 又は SC 投与する PK 試験 1 試験、並びに 10～100 mg/kg の用量範囲で週 1 回 5 週間、13 週間又は 26 週間 IV 又は SC 投与する毒性試験 3 試験において評価した（Table 7, REGN1500-PK-11088, Module 2.6.5, 並びに REGN1500-TX-11072, REGN1500-TX-12061 及び REGN1500-TX-14006, Module 2.6.7）。

PK 試験の投与前及び投与後 52 日目までに採取した試料、又は毒性試験の投与期間及び回復期間中に採取した試料は、バリデーション実施済みのブリッジング免疫測定法を用いて、抗ヒト IgG4 抗体の有無について分析した（Section 2.2）。

ADA 陽性反応は、サルを用いた PK 試験及び毒性試験全体において認められた。ADA 陽性反応発現率は、単回投与後の全投与群で低度（0～25%以下）から中程度（25%超～50%以下）、かつ逆用量依存的であり、1 mg/kg の用量では ADA 発現率が比較的高かった。ADA 陽性反応発現率は、サルへの複数回投与後の全投与群で概して低度から中程度、かつ用量非依存的であった。ADA 陽性であった動物では、ADA 陰性動物と比べて一般的に ADA の存在がエビナクマブ曝露量の減少と関連していたことから、ADA によりエビナクマブ消失が加速することが示唆される。ADA 陰性であったサルの 17%以下では、ADA 陽性動物のプロファイル特性である、濃度が急低下する濃度-時間プロファイルが示された。ADA の影響を受けたと考えられる動物の濃度値は、NCA から除外した。

評価したすべての用量で単回投与したとき、エビナクマブ濃度の大多数は ADA 検査の DTL（257 µg/mL）未満であった。したがって ADA 検査結果の解釈に関して、単回投与後のエビナクマブ濃度が干渉するとは予測されない。10 mg/kg 以下の用量で複数回投与したときのエビナクマブ濃度は、13 週間毒性試験を例外として、大半（57%以上）が DTL 未満であった。複数回投与したすべての試験において、30 mg/kg 以上の用量では濃度の大多数（92%以上）が DTL を超えた。ただし、反復投与試験における最高用量での ADA 発現率は、過小評価されている可能性がある。サル毒性試験では、ADA 発現率がエビナクマブ投与回数に伴って上昇した 10 mg/kg 投与群を除き、ADA の存在とエビナクマブの総投与回数との間に明らかな又は一貫した相関はみられなかった（Table 7）。

雌雄両方を用いた各試験では、ADA の発現頻度に実質的な性差は概ね認められなかった（Table 7）。

要約すると、ADA 陽性サルの大多数では、ADA の存在と（同じ投与群の他の動物と比べて）低いエビナクマブ濃度との間に相関が認められた。30 mg/kg 以上の用量で ADA 反応が低いことは、高用量での薬物耐性及び／又は高い循環薬物濃度が ADA 測定に干渉する可能性を反映していると考えられる。エビナクマブはヒト抗体であるため、サルへのエビナクマブ投与後の ADA 発現は、予想外のことではない。しかし、サルで認められた免疫原性は、ヒトにおける免疫原性を必ずしも

予測するものではない。サル試験では、ADA の存在はエビナクマブの薬物動態又は安全性プロファイルの特徴付けに影響を及ぼさなかった。

Table 7: Summary of Evinacumab Immunogenicity in Monkeys

Study	Module 2.6.5 or 2.6.7 Cross-Reference	Total # of Doses (Frequency)	Animals/ Dose Group (M/F)	Dose (Route) (mg/kg)	ADA Frequency (ADA (+)/Total)	Sex Distribution for ADA (+) (M/F)	Total % ADA (+)	Effect on Clearance
Single-Dose PK								
REGN1500-PK-11088	2.6.5.6	1	3M/3F	1 (IV)	3 / 6	1M/2F	50%	↑
				5 (IV)	1 / 6	1M/0F	17%	↑
				15 (IV)	0 / 6	0M/0F	0%	NA
				1 (SC)	3 / 6	2M/1F	50%	↑
				5 (SC)	2 / 6	0M/2F	33%	↑
				15 (SC)	1 / 6	0M/1F	17%	↑
Repeat-Dose Toxicology								
REGN1500-TX-11072	2.6.7.7.C	5 (weekly)	6M/6F	10 (IV)	0 / 12	0M/0F	0%	NA
				30 (IV)	0 / 12	0M/0F	0%	NA
				100 (IV)	1 / 12	0M/1F	8.3%	↑
				100 (SC)	1 / 12	0M/1F	8.3%	↑
REGN1500-TX-12061	2.6.7.7.D	13 (weekly)	6M/6F	100 (IV)	0 / 12	0M/0F	0%	NA
				10 (SC)	2 / 12	1M/1F	17%	↑
				30 (SC)	0 / 12	0M/0F	0%	NA
				100 (SC)	0 / 12	0M/0F	0%	NA
REGN1500-TX-14006	2.6.7.7.E	26 (weekly)	6M/6F	100 (IV)	0 / 12	0M/0F	0%	NA
				10 (SC)	5 / 12	2M/3F	42%	↑
				30 (SC)	0 / 12	0M/0F	0%	NA
				100 (SC)	0 / 12	0M/0F	0%	NA

ADA, Anti-drug antibody; F, Female; IV, Intravenous; M, Male; NA, Not applicable; PK, Pharmacokinetics; SC, Subcutaneous; ↑, Increase in clearance

8. 薬物動態学的薬物相互作用

薬物動態学的薬物相互作用試験は実施しなかった。

9. その他の薬物動態試験

その他の薬物動態試験は実施しなかった。

10. 考察及び結論

ラット及びサルにおける総エビナクマブの薬物動態は、低濃度では非線形の標的介在動態、高濃度（概ね 10～30 μg/mL 超）では線形動態を特徴とする。低濃度では標的を介した経路を飽和させるには不十分なため、投与量の増加に伴い曝露量は用量比例性を上回る増加を示す。濃度が上昇し、標的を介した経路を飽和させるのに十分な濃度になると、エビナクマブの全身曝露量は用量に比例する線形動態に近づく。

ラット及びサルにエビナクマブ 1～15 mg/kg を単回 IV 又は SC 投与したときの総エビナクマブの濃度-時間プロファイルは、分布相（IV 投与の場合）又は吸収相（SC 投与の場合）に続く線形 β 消失相及び TMC 相を特徴とし、ごく低濃度では長時間の線形消失相（TMC 後の相）が認められた。TMC 経路を飽和させるには不十分な濃度では、クリアランスは濃度に対する逆依存性を示した。線形の β 消失相が最も長時間になる用量として 15 mg/kg を IV 投与したときの t1/2 推定値は、ラット及びサルでそれぞれ 4 日及び 10 日であった。15 mg/kg の用量で単回 SC 投与したときのエビナクマブのバイオアベイラビリティ推定値は、ラットで 76%、サルでは 77%であった。

ラットの場合は最長 13 週間、サルの場合は 26 週間、エビナクマブを 10～100 mg/kg/週の用量範囲で週 1 回 IV 又は SC 投与したとき、総エビナクマブの継続曝露は動物の大多数においてすべての用量で投与期間を通して認められ、総エビナクマブ濃度は最長 13 週間の回復期間を通して両動物種で検出された。ラット及びサルにおける C_{max} 及び曝露量（AUC）平均値は、投与期間を通してほぼ用量に比例して増加した。回復期間中、両動物種で曝露量は用量比例性を上回る増加を示し、サルでは低用量（30 mg/kg/週未満）で非線形 TMC が明らかであったことは、対応する単回投与 PK 試験で認められた非線形動態及び非線形 TMC と一致する。10 mg/kg/週以上の用量で最長 13 週間（ラット）又は 26 週間（サル）投与したとき、エビナクマブの蓄積量はラット及びサルでそれぞれ約 1.3～2 倍及び 3～5 倍であった。ラット 13 週間試験では週 1 回、約 7 週間投与後、サル 26 週間試験では週 1 回、約 12 週間投与後に定常状態に達した。

幼若ラットにエビナクマブを 30～100 mg/kg の用量範囲でほぼ週 1 回 IV 又は SC 投与したときのエビナクマブの曝露量及び動態は、成体ラットの反復投与毒性試験において認められた曝露量及び動態と同程度であった。幼若ラットに 30 mg/kg 以上の用量で投与したときの蓄積量は、約 4 倍であった。幼若ラットでは週 1 回 7 週間投与後に全投与群で定常状態に達した。

毒性試験において、幼若ラットにエビナクマブ 30～300 mg/kg を 5 日毎に最長 10 週間又は 17 週間、IV 又は SC 投与したとき、総エビナクマブの継続曝露が動物の大多数で投与期間を通して認められた。C_{max} 及び曝露量平均値は、30 mg/kg 超の用量で投与した SC 投与群全体で投与期間を通して用量に比例して増加し、曝露量に影響を及ぼす ADA が低用量及び IV 投与群全体で投与期間を通して認められた。複数回投与後には全投与群で薬物蓄積がみられた。幼若ウサギでは ADA の一過性の影響により、最長 17 週間の IV 投与後では定常状態に達するまでの時間がやや延長したが、25 回目の投与で概ね定常状態に達した。

妊娠ラット及び妊娠ウサギに最高 100 mg/kg までの用量で 3 日毎に SC 投与した生殖発生毒性試験では、継続曝露が全ラットにおいて、及び 30 mg/kg 投与群のウサギの約半数で妊娠 29 日目まで維持された。C_{max} 及び曝露量平均値は、ラットでは投与期間を通して用量に比例した増加を示し、ウサギではほぼ用量比例性を上回る増加を示したことは、ウサギの低用量での TMC を反映している。

総エビナクマブ濃度は、薬物を投与した全ラットの胎仔血清試料では剖検時（妊娠 21 日目）に、10 mg/kg 及び 30 mg/kg 投与群の 38%の母ウサギの胎仔では妊娠 29 日目に測定可能であった。胎仔において濃度が測定可能であったことは、エビナクマブの胎盤通過性を示している（Kane, 2009; Pentsuk, 2009; Stengel, 2008; Vasiliauskas, 2006）。

雌ラットの受胎能試験並びに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の一環として、授乳 21 日目又は妊娠 21 日目までエビナクマブを 30 mg/kg 又は 100 mg/kg の用量で SC 投与して、エビナクマブの TK を評価した（Section 4.2.1）。総エビナクマブの継続曝露は、エビナクマブを投与した TK 群の F_0 動物の大多数で投与期間を通して維持された。全母ラット及び胚・胎仔 TK 群の F_0 動物の胎仔において、総エビナクマブの検出可能な濃度が認められた。総エビナクマブの検出可能な濃度は、すべてのプール試料及び F_1 動物 22 匹中 12 匹においても認められた。TK 群の F_0 動物及び胚・胎仔 F_0 群の多数の動物において総エビナクマブの継続曝露が維持されたことに基づくと、毒性 F_0 群の動物も試験中、総エビナクマブに曝露したと考えられる。複数回投与後のエビナクマブの蓄積は全投与群で概ね認められた。エビナクマブ投与動物では、用量に比例した曝露量増加が投与期間を通して概ね認められた。

雄ウサギの受胎能試験の一環として、エビナクマブ 100 mg/kg 又は 300 mg/kg を 5 日毎に IV 投与してエビナクマブの TK を評価した（Section 4.2.2）。総エビナクマブの継続曝露は、エビナクマブ投与動物の大多数において、投与期間を通して維持された。複数回投与後の蓄積は、100 mg/kg 及び 300 mg/kg 投与群の双方で認められた。全投与群において、用量に比例した曝露量増加が投与期間を通して認められた。

免疫原性はサル及びラットでは概して低く（一般的に各試験で 25%未満）、ウサギでは高かった（一般的に 50%超）。サルにおける抗ヒト IgG4 抗体反応では逆用量依存性がみられ、低用量では反応率が高かったが、ラット及びウサギのいずれにおいても用量非依存性が示された。この測定法では、評価した全動物種において一般的に 30 mg/kg 以上の用量で DTL を超えたことから、この用量では ADA 反応が過小評価されている可能性が示唆される。ADA 陽性であった動物の大多数では、ADA 陰性の動物で認められたものより低いエビナクマブ濃度と、ADA の存在が相関したことから、ADA によるエビナクマブのクリアランスの加速が示唆される。ADA は全動物種で認められたが、動物の大多数で継続曝露が維持された。ラット、ウサギ及びサルで認められた免疫原性は、概してヒトにおける免疫原性を予測するものではない。各試験全体で大多数の動物において継続曝

露が認められたことから、ADA の存在は、エビナクマブの薬物動態又は安全性プロファイルの特徴付けに影響を及ぼさなかった。

エビナクマブの非臨床薬物動態データは、すべての試験及び動物種全体で一貫していた。ラット及びサルで認められると予想される薬物蓄積で裏付けられるように、エビナクマブの複数回投与後の動態が単回投与後の薬物動態と一致したことは、すべての反復投与毒性試験の投与期間及び回復期間中に動物の大多数でエビナクマブの十分な曝露が確実に得られたことを示す。結論として、ラット、ウサギ及びサルを用いた非臨床 PK 及び TK 試験は、エビナクマブの臨床開発を支持するものであった。

11. 参考文献

Kane SV, Acquah LA. Placental transport of immunoglobulins: a clinical review for gastroenterologists who prescribe therapeutic monoclonal antibodies to women during conception and pregnancy. Am J Gastroenterol 2009;104:228-233; doi: 10.1038/ajg.2008.71.

Pentsuk N, van der Laan JW. An interspecies comparison of placental antibody transfer: new insights into developmental toxicity testing of monoclonal antibodies. Birth Defects Research (Part B) 2009;86:328-344; doi: 10.1002/bdrb.20201.

S6(R1) Guidance for Industry: S6 Addendum to Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology Derived Pharmaceuticals. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Center for Biologics Evaluation and Research (CBER), ICH, May 2012: ucm194490.

Stengel JZ, Engel HL. Is infliximab safe to use while breastfeeding? World J Gastroenterol 2008;14(19):3085-3087; doi: http://dx.doi.org/10.3748/wjg.14.3085.

Vasiliauskas EA, Church JA, Silverman N, Barry M, Targan SR, Dubinsky MC. Case report: evidence for transplacental transfer of maternally administered infliximab to the newborn. Clinical Gastronenterology 2006;4:1255-1258; doi:10.1016/j.cgh.2006.07.018.

目次

2.6.5.1. 薬物動態試験：一覧表 2
2.6.5.2. 薬物動態試験及び毒性試験を裏付けるための分析方法及びバリデーション試験 3
2.6.5.3. ラットにおけるエビナクマブの薬物動態 4
2.6.5.4. サルにおけるエビナクマブの薬物動態 5
2.6.5.5. ラットにおけるエビナクマブの免疫原性 6
2.6.5.6. サルにおけるエビナクマブの免疫原性 7

2.6.5.1. 薬物動態試験：一覧表

Overview				**Test Article: evinacumab (REGN1500)**
Type of Study (GLP Status)	**Test System (Sex)**	**Method of Administration**	**Testing Facility**	**Study Number**
Absorption				
Single-dose PK (non-GLP)	Sprague Dawley rat (M)	SC and IV injection	Regeneron Pharmaceuticals, Inc. Tarrytown, NY	REGN1500-PK-12005
Single-dose PK (non-GLP)	Cynomolgus monkey (M, F)	SC and IV injection	Charles River Laboratories Preclinical Services Reno, NV	REGN1500-PK-11088
Distribution - Not Applicable				
Metabolism - Not Applicable				
Excretion - Not Applicable[a]				
Pharmacokinetic Drug Interactions - Not Applicable				
Other – Not Applicable				

[a] Clearance and $t_{1/2}$ (half-life) are reported in the absorption studies.

F, Female; GLP, Good Laboratory Practice; IV, Intravenous; M, Male; PK, Pharmacokinetics; SC, Subcutaneous

2.6.5.2. 薬物動態試験及び毒性試験を裏付けるための分析方法及びバリデーション試験

Study Number	**Species**	**Title**
REGN1500-AV-12018-SA-01V1	Rat	Validation of a Bioanalytical Method for the Quantitative Measurement of Total REGN1500 in Rat Serum
REGN1500-AV-12017-SA-01V1	Monkey	Validation of a Bioanalytical Method for the Quantitative Measurement of Total REGN1500 in Monkey Serum
REGN1500-AV-14091-VA-01V1	Rabbit	Validation of a Bioanalytical Method for the Quantitative Measurement of Total REGN1500 in Rabbit Serum
REGN846-AV-10009-SA-01V1	Rat	Validation of a Bioanalytical Method for Detection of Anti-REGN846 Antibodies in Acid Treated Rat Serum using Electrochemiluminescence
REGN846-AV-10006-SA-01V1	Monkey	Validation of a Bioanalytical Method for Detection of Anti-REGN846 Antibodies in Acid Treated Monkey Serum using Electrochemiluminescence

2.6.5.3. ラットにおけるエビナクマブの薬物動態

										Test Article: evinacumab (Lot# 9010900004)							
										Study No. REGN1500-PK-12005							
Species:	**Rat (Sprague Dawley)**																
Sex/Number of Animals:	**7M/group**																
Vehicle/Formulation:	**10mM histidine, 0.1% w/v polysorbate 80, 5% w/v sucrose, diluted in 0.9% sodium chloride, pH 6.0**																
Matrix:	**Serum**																
Analyte:	**Total evinacumab**																
Assay:	**ELISA**																
Method of Administration:	**IV**									**SC**							
Dose (mg/kg):	**1**			**5**			**15**			**1**			**5**			**15**	
PK Parameter:	**N**	**Mean**	**SD**	**N**	**Mean**	**SD**	**N**	**Mean**	**SD**	**N**	**Mean**	**SD**	**N**	**Mean**	**SD**	**N**	**Mean**	**SD**
C_{max} (µg/mL)	4	24.4	1.71	5	161	24.3	7	447	44.6	4	3.63	1.17	1	33.6	NC	3	103	5.60
C_{max}/Dose ((µg/mL)/(mg/kg))	4	24.4	1.71	5	32.2	4.86	7	29.8	2.98	4	3.63	1.17	1	6.72	NC	3	6.88	0.374
C_0 (µg/mL)	4	24.8	1.83	5	163	25.0	7	445	41.6	4	NA	NA	1	NA	NA	3	NA	NA
t_{max} (day)	4	0.00346	0.00	5	0.00346	0.00	7	0.00875	0.0146	4	1.50	0.583	1	3.00	NC	3	2.33	0.583
AUC_{all} (day•µg/mL)	4	32.8	6.29	5	450	23.2	7	1950	255	4	11.3	4.15	1	378	NC	3	1460	90.4
AUC_{inf} (day•µg/mL)	4	33.6	6.13	5	450	23.1	7	1950	257	4	12.6	3.88	1	380	NC	3	1490	126
AUC_{inf}/Dose (day•(µg/mL)/(mg/kg))	4	33.6	6.13	5	90.0	4.63	7	130	17.1	4	12.6	3.88	1	76.0	NC	3	99.3	8.42
$t_{1/2}$ (day)	4	6.08	1.44	5	4.42	1.29	7	3.51	0.596	4	1.48	0.227	1	4.25	NC	3	5.04	2.59
CL (mL/day/kg)	4	30.5	5.30	5	11.1	0.586	7	7.78	0.977	4	NA	NA	1	NA	NA	3	NA	NA
V_{ss} (mL/kg)	4	98.4	25.3	5	54.3	7.76	7	60.2	6.85	4	NA	NA	1	NA	NA	3	NA	NA
Bioavailability[a] (%)	4	NA	NA	5	NA	NA	7	NA	NA	4	37.4	NA	1	84.4	NA	3	76.3	NA

[a] Bioavailability was calculated as (SC mean AUC_{inf}/mean AUC_{inf} at the respective IV dose level) x 100%.

ADA; Anti-drug antibody; AUC, Area under the concentration-time curve; AUC_{all}, AUC computed from time zero to the time of the last concentration; AUC_{inf}, AUC from time zero extrapolated to infinity; $C_{0,}$ Initial concentration determined by back extrapolation; CL, Total body clearance; C_{max}, Peak concentration; ELISA, Enzyme-linked immunosorbent assay; IV, Intravenous; M, Male; N, Number of animals; NA, Not applicable; NC, Not calculated; PK, Pharmacokinetics; SC, Subcutaneous; SD, Standard deviation; $t_{1/2}$, Half-life; t_{max}, Time to C_{max}; V_{ss}, Volume of distribution at steady state

Note: PK parameters from ADA positive animals were excluded in mean calculations.

2.6.5.4. サルにおけるエビナクマブの薬物動態

									Test Article: evinacumab (Lot# 9010900004)								
									Study No. REGN1500-PK-11088								
Species:	**Monkey (cynomolgus)**																
Sex/Number of Animals:	**3M/3F/group**																
Vehicle/Formulation:	**10mM histidine, 0.1% w/v polysorbate 80, 5% w/v sucrose, diluted in 0.9% sodium chloride, pH 6.0**																
Matrix:	**Serum**																
Analyte:	**Total evinacumab**																
Assay:	**ELISA**																
Method of Administration:	**IV**									**SC**							
Dose (mg/kg):	**1**			**5**			**15**			**1**			**5**			**15**	
PK Parameter:	**N**	**Mean**	**SD**	**N**	**Mean**	**SD**	**N**	**Mean**	**SD**	**N**	**Mean**	**SD**	**N**	**Mean**	**SD**	**N**	**Mean**	**SD**
C_{max} (µg/mL)	2	34.0	5.30	3	130	21.2	4	445	55.8	3	4.65	1.83	3	53.1	9.64	5	170	17.9
C_{max}/Dose ((µg/mL)/(mg/kg))	2	34.0	5.30	3	25.9	4.24	4	29.7	3.72	3	4.65	1.83	3	10.6	1.93	5	11.3	1.19
C_0 (µg/mL)	2	34.6	5.23	3	131	20.3	4	443	55.2	3	NA	NA	3	NA	NA	5	NA	NA
t_{max} (day)	2	0.00125	0.00	3	0.00125	0.00	4	0.00354	0.00458	3	0.833	1.00	3	2.33	1.54	5	4.42	0.542
AUC_{all} (day•µg/mL)	2	32.6	10.3	3	871	110	4	4110	270	3	12.5	7.25	3	717	249	5	3320	488
AUC_{inf} (day•µg/mL)	2	33.3	10.7	3	871	110	4	4330	525	3	12.9	7.21	3	717	250	5	3350	529
AUC_{inf}/Dose (day•(µg/mL)/(mg/kg))	2	33.3	10.7	3	174	22.0	4	289	34.9	3	12.9	7.21	3	143	50.0	5	223	35.3
$t_{1/2}$ (day)	2	6.08	4.11	3	5.58	1.01	4	10.1	3.64	3	2.46	0.596	3	5.71	1.65	5	4.83	1.63
CL (mL/day/kg)	2	31.7	10.2	3	5.81	0.785	4	3.48	0.391	3	NA	NA	3	NA	NA	5	NA	NA
V_{ss} (mL/kg)	2	75.6	0.946	3	53.2	1.47	4	60.6	7.78	3	NA	NA	3	NA	NA	5	NA	NA
Bioavailability[a] (%)	2	NA	NA	3	NA	NA	4	NA	NA	3	38.7	NA	3	82.3	NA	5	77.2	NA

[a] Bioavailability was calculated as (SC mean AUC_{inf}/mean AUC_{inf} at the respective IV dose level) x 100%.

ADA; Anti-drug antibody; AUC, Area under the concentration-time curve; AUC_{all}, AUC computed from time zero to the time of the last concentration; AUC_{inf}, AUC from time zero extrapolated to infinity; C_0, Initial concentration determined by back extrapolation; CL, Total body clearance; C_{max}, Peak concentration; ELISA; Enzyme-linked immunosorbent assay; F, Female; IV, Intravenous; M, Male; N, Number of animals; NA, Not applicable; PK, Pharmacokinetics; SC, Subcutaneous; SD, Standard deviation; $t_{1/2}$, Half-life; t_{max}, Time to C_{max}; V_{ss}, Volume of distribution at steady state

Note: PK parameters from ADA positive animals and animals with concentrations considered to be impacted by ADA were excluded in mean calculations.

2.6.5.5. ラットにおけるエビナクマブの免疫原性

	Test Article: evinacumab (Lot# 9010900004)					
	Study No. REGN1500-PK-12005					
Species:	Rat (Sprague Dawley)					
Sex/Number of Animals:	**7M/group**					
Vehicle/Formulation:	10mM histidine, 0.1% w/v polysorbate 80, 5% w/v sucrose, diluted in 0.9% sodium chloride, pH 6.0					
Matrix:	Serum					
Method:	A non-quantitative, titer-based, bridging immunoassay that uses a floating cut point to determine positive anti-REGN846 (anti-human IgG4) antibody response levels in rat serum samples (drug tolerance limit, ie, the concentration of drug that will reduce the signal of a sample containing 500 ng/mL of the positive control to the plate cut point, is approximately 206 µg/mL of evinacumab in rat serum.					
Method of Administration:	**IV**	**IV**	**IV**	**SC**	**SC**	**SC**
Dose (mg/kg):	**1**	**5**	**15**	**1**	**5**	**15**
Time Point (hour)	**Number of animals with a positive anti-human IgG4 antibody response**					
Predose	0 / 7	0 / 7	0 / 7	0 / 7	0 / 7	0 / 7
840	3 / 7	1 / 7	0 / 7	2 / 7	1 / 7	1 / 7
Overall (post dose)	3 / 7	1 / 7	0 / 7	2 / 7	1 / 7	1 / 7

ADA, Anti-drug antibody; IV, Intravenous; M, Male; SC, Subcutaneous
Note: Ratios reflect the number of positive ADA animals relative to the total number of animals assessed at each time point or overall.

2.6.5.6. サルにおけるエビナクマブの免疫原性

				Test Article: evinacumab (Lot# 9010900004)		
				Study No. REGN1500-PK-11088		
Species:	Monkey (cynomolgus)					
Sex/Number of Animals:	**3M/3F/group**					
Vehicle/Formulation:	10mM histidine, 0.1% w/v polysorbate 80, 5% w/v sucrose, diluted in 0.9% sodium chloride, pH 6.0					
Matrix:	Serum					
Method:	A non-quantitative, titer-based, bridging immunoassay that uses a floating cut point to determine positive anti-REGN846 (anti-human IgG4) antibody response levels in cynomolgus monkey serum samples (drug tolerance limit, ie, the concentration of drug that will reduce the signal of a sample containing 500 ng/mL of the positive control to the plate cut point, is approximately 257 µg/mL of evinacumab in monkey serum.					
Method of Administration:	**IV**	**IV**	**IV**	**SC**	**SC**	**SC**
Dose (mg/kg):	**1**	**5**	**15**	**1**	**5**	**15**
Time Point (hour)	**Number of animals with a positive anti-human IgG4 antibody response**					
Predose	1 / 6	0 / 6	0 / 6	0 / 6	0 / 6	0 / 6
672	3 / 6	1 / 6	0 / 6	3 / 6	2 / 6	0 / 6
1248	3 / 6	1 / 6	0 / 6	1 / 6	1 / 6	1 / 6
Overall (post dose)	3 / 6	1 / 6	0 / 6	3 / 6	2 / 6	1 / 6

ADA, Anti-drug antibody; F, Female; IV, Intravenous; M, Male; SC, Subcutaneous
Note: Ratios reflect the number of positive ADA animals relative to the total number of animals assessed at each time point or overall.