目次

略号一覧表 3
2.4 非臨床試験の概括評価 5
2.4.1 非臨床試験計画の概要 5
2.4.2 薬理試験 7
2.4.2.1 効力を裏付ける試験 7
2.4.2.1.1 TAK-755 の in vitro 活性 7
2.4.2.1.2 In vivo 試験 7
2.4.2.2 副次的薬理試験 10
2.4.2.3 安全性薬理試験 10
2.4.2.3.1 中枢神経系 10
2.4.2.3.2 心血管系及び呼吸系 10
2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用試験 11
2.4.3 薬物動態試験 11
2.4.3.1 吸収 13
2.4.3.2 分布 14
2.4.3.2.1 ラットを用いた胎盤通過試験 14
2.4.3.3 代謝 14
2.4.3.4 排泄 15
2.4.3.5 薬物動態学的薬物相互作用 15
2.4.3.6 その他の薬物動態試験 15
2.4.4 毒性試験 15
2.4.4.1 単回投与毒性試験 17
2.4.4.2 反復投与毒性試験 17
2.4.4.2.1 SD ラットを用いた反復投与毒性試験 17
2.4.4.2.2 New Zealand white ウサギを用いた反復投与毒性試験 19
2.4.4.2.3 カニクイザルを用いた反復投与毒性試験 19
2.4.4.3 遺伝毒性試験 20
2.4.4.4 がん原性試験 20
2.4.4.5 生殖発生毒性試験 20
2.4.4.6 幼若動物を用いた試験 21
2.4.4.7 局所刺激性試験 22
2.4.4.8 トキシコキネティクス 22
2.4.4.9 その他の毒性試験 23
2.4.5 総括及び結論 23
2.4.6 参考文献一覧 27

表

表 2.4.3-1　TAK-755 を単回 IV 又は SC 投与したときの ADAMTS13 活性の血漿中 PK パラメータの平均値 12
表 2.4.4-1　TAK-755 の毒性試験一覧 16
表 2.4.4-2　SD ラット及びカニクイザルに TAK-755 を単回又は反復 IV 投与したときの NOAEL での ADAMTS13 活性の血漿中 TK パラメータの平均値 23
表 2.4.5-1　TAK-755：NOAEL 並びに AUC 及び C_{max} に基づく安全域 26

略号一覧表

略号	略していない表現又は説明	
ADA	antidrug antibody	抗薬物抗体
ADAMTS13	a disintegrin and metalloproteinase with a thrombospondin type 1 motif, number 13	トロンボスポンジン 1 型モチーフを有するディスインテグリン及びメタロプロテイナーゼ第 13 番
AUC	area under the concentration-time curve	血漿中濃度－時間曲線下面積
AUC_t	area under the concentration-time curve from time 0 to time t	投与後 0 から t 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
AUC_{last}	area under the concentration-time curve from time 0 to time of the last quantifiable concentration	投与後 0 時間から最終定量可能時点までの血漿中濃度－時間曲線下面積
C_{ave}	average concentration	平均血漿中濃度
CL	total clearance after intravenous administration, calculated using the observed value of the last quantifiable concentration	全身クリアランス
C_{max}	maximum observed concentration	最高血漿中濃度
cTTP	congenital thrombotic thrombocytopenic purpura	先天性血栓性血小板減少性紫斑病
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay	酵素結合免疫吸着測定法
ERT	enzyme replacement therapy	酵素補充療法
FRETS-VWF73	fluorescence resonance energy transfer substrate composed of 73 amino acids from the A2 domain of von Willebrand factor	VWF の A2 ドメインの 73 個のアミノ酸から構成される蛍光共鳴エネルギー転移基質
FVIII	coagulation factor VIII	血液凝固第 VIII 因子
GD	Gestation Day	妊娠日数
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
IA	intra-arterial	動脈内
ICH	International Council for Harmonisation	医薬品規制調和国際会議
IV	intravenous(ly)	静脈内
KO	knock-out	ノックアウト
LDH	lactate dehydrogenase	乳酸脱水素酵素
MRT	mean residence time	平均滞留時間
NOAEL	no-observed-adverse-effect level	無毒性量
PV	paravenous(ly)	静脈周囲
QD	once daily	1 日 1 回
Q2W	once every 2 weeks	2 週に 1 回
Q3D	once every third day	3 日に 1 回
QW	once weekly	週 1 回
rADAMTS13	recombinant a disintegrin and metalloproteinase with a thrombospondin type 1 motif, number 13	ADAMTS13（遺伝子組換え）
RCo	ristocetin cofactor activity	リストセチン・コファクター活性
rVWF	recombinant von Willebrand factor	遺伝子組換え VWF
SC	subcutaneous	皮下
SD	Sprague Dawley	－

略号一覧表（続き）

略号	略していない表現又は説明	
$t_{1/2z}$	terminal disposition phase half-life	終末相における消失半減期
TK	toxicokinetic(s)	トキシコキネティクス
t_{max}	time of first occurrence of C_{max}	最高血漿中濃度到達時間
TTP	thrombotic thrombocytopenic purpura	血栓性血小板減少性紫斑病
V_{ss}	volume of distribution at steady state after intravenous administration, calculated using the observed value of the last quantifiable concentration	定常状態における分布容積
VWF	von Willebrand factor	フォン・ヴィレブランド因子

2.4 非臨床試験の概括評価

2.4.1 非臨床試験計画の概要

トロンボスポンジン 1 型モチーフを有するディスインテグリン及びメタロプロテイナーゼ第 13 番（ADAMTS13）（遺伝子組換え）（rADAMTS13、以下、TAK-755、別名 SHP655 又は BAX930）は、先天性血栓性血小板減少性紫斑病〔先天性 TTP（cTTP）、ADAMTS13 の先天性欠乏症〕患者に対する酵素補充療法（ERT）として開発中である。ADAMTS13 は、フォン・ヴィレブランド因子（VWF）の A2 ドメイン内に存在する Tyr1605-Met1606 を切断して VWF フラグメントを形成することにより、VWF マルチマーのサイズを調節する。形成された VWF フラグメントは、高分子量 VWF マルチマーとは異なり、血栓症の発症を促進しない[1]。VWF は、主に血管内皮細胞及び巨核球によって合成される多量体糖タンパク質である[2]。VWF は正常な 1 次止血に必須であり、また血液凝固第 VIII 因子（FVIII）のキャリアータンパク質としても働き、FVIII と非共有結合複合体を形成し血液中を循環している。cTTP の根本原因は、常染色体潜性遺伝の ADAMTS13 欠乏及び臨床的な VWF-ADAMTS13 の機能不全である。cTTP 患者では、VWF の切断作用が低下していることにより、微小血管系の血栓性疾患である TTP を発症しやすくなる。

臨床試験及び承認申請のために、げっ歯類及び非げっ歯類（非ヒト霊長類を含む）を用いた in vivo での薬理、安全性薬理、薬物動態及び毒性試験を含む、TAK-755 の一連の非臨床試験を実施した。

TAK-755 の生理学的有効性は、ADAMTS13 ノックアウト（KO）マウス、Sprague Dawley（SD）ラット、Dunkin-Hartley モルモット、カニクイザル、及びミニブタの血漿中に含まれる VWF に対する TAK-755 によるタンパク質分解作用を VWF マルチマー解析により in vitro で評価した。また、TAK-755 による VWF 切断作用の特異性は、ADAMTS13 中和抗体で ADAMTS13 活性を阻害することにより評価した。TAK-755 の補充療法としての有効性を in vivo で評価するため、ADAMTS13 KO マウスに超大型マルチマーを含有する遺伝子組換え VWF（rVWF）を投与することにより TTP 様症状及び病態を誘発させるモデルを用いた。TAK-755 を予防的又は治療的に静脈内（IV）投与すると、rVWF 投与による TTP 様症状が予防又は軽減された。SD ラット及びカニクイザルに TAK-755 を IV 投与した毒性試験の血漿検体を用いて VWF マルチマー解析を実施した結果、これら動物種における in vivo での TAK-755 による内因性 VWF の認識及び切断作用が示された。

TAK-755 は、よく知られた特異的な作用機序を有するバイオテクノロジー由来のヒト rADAMTS13 であるため、TAK-755 の独立した安全性薬理試験は実施しなかった。安全性薬理の評価項目は、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）を適用した毒性試験に含めた。ラット及びサルにそれぞれ 1,820 IU/kg 及び 1,790 U/kg を IV 投与し、中枢神経系に対する影響を観察したところ、異常はみられなかった。サルを用いた反復投与試験では、検討した最高用量である 400 U/kg まで TAK-755 の忍容性は良好であり、心血管系及び呼吸系パラメータに対する有害作用は認められなかった。

ADAMTS13 KO マウス、SD ラット、カニクイザル及び Göttingen ミニブタに TAK-755 を単回 IV 投与したときの TAK-755 の薬物動態プロファイルを評価した。安全性評価に選択した動物種であるラット及びサルにおける TAK-755 の薬物動態プロファイルは類似していた。Göttingen ミニブタに TAK-755 を IV 投与及び皮下（SC）投与してバイオアベイラビリティ

を評価した。TAK-755 を反復投与したときの TAK-755 のトキシコキネティクス（TK）プロファイルは、抗薬物抗体（ADA）形成（結合及び中和）とともに、New Zealand white ウサギを用いた探索的試験、並びにラット及びサルを用いた毒性試験で検討した。また、妊娠ラットに TAK-755 3,200 U/kg を妊娠日数（GD）21 に単回 IV 投与し、胎盤通過を評価した。ADAMTS13 KO マウス、SD ラット、New Zealand white ウサギ、カニクイザル及び Göttingen ミニブタに TAK-755 をそれぞれ最大 200、1,820、800、1,790 及び 200 U/kg の用量で単回 IV ボーラス投与したとき、並びに Göttingen ミニブタに TAK-755 を 1,000 U/kg の用量で単回 SC 投与したとき、TAK-755 の曝露が確認された。全体的に、初回投与後の TAK-755 の全身曝露量〔最高血漿中濃度（C_{max}）及び血漿中濃度－時間曲線下面積（AUC）〕は用量の増加に伴ってほぼ用量に比例して増加し、性差は認められなかった。

SD ラット及びカニクイザルを用いて TAK-755 の IV 投与時の毒性を評価した。SD ラット及びカニクイザルは毒性評価で汎用され、TAK-755 はいずれの動物種の内因性 VWF も切断できることから選択した。TAK-755 をラットは最長 26 週間まで、サルは最長 4 週間まで IV ボーラス投与した GLP 適用反復投与毒性試験を実施した。TAK-755 を SD ラットでは 1 日 1 回（QD）又は 3 日に 1 回（Q3D）、カニクイザルでは週 1 回（QW）IV 投与した。ウサギ及びサルに TAK-755 を反復投与したところ、TAK-755 に対する中和抗体（以下、中和 ADA）発現により ADAMTS13 活性が低下し、TTP 様症状を呈したため、慢性毒性及び生殖毒性の評価には SD ラットのみを使用した。なお、SD ラット及びカニクイザルに TAK-755 を 4 週間投与したときの毒性プロファイルは類似していた。

遺伝毒性試験及びがん原性試験は、医薬品規制調和国際会議（ICH）ガイドライン S6（R1）に基づき、TAK-755 などのバイオテクノロジー応用医薬品の安全性評価には適用されないため、実施しなかった。TAK-755 は、補充療法に使用する内因性タンパク質に相当するタンパク質であるため、発がん性に関する懸念は少ない。SD ラットを用いた 26 週間反復投与毒性試験では、TAK-755 のがん原性を示唆する前がん又はがん病変は認められなかった。

SD ラットを用いた雌受胎能及び胚・胎児発生に関する試験並びに出生前及び出生後の発生に関する試験を、400 U/kg までの用量で実施した。雄の受胎能評価項目（生殖器官重量、精子検査、生殖器官の病理組織学的検査）は 400 U/kg までの用量で実施した SD ラットを用いた 26 週間反復投与毒性試験において検討した。ウサギは、中和 ADA が発現し曝露が不十分であり、TTP 様症状が認められたことから、更なる評価には適さないと考えられたため、胚・胎児発生に関する試験には使用しなかった。

カニクイザルを用いた 4 週間反復投与毒性試験（QW 投与）では、2 回目の投与後に TAK-755 に対する結合抗体（以下、結合 ADA）、試験終了時には中和 ADA の発現が認められた。カニクイザルでは、5 回目の投与後に中和 ADA が発現し、試験終了時の TAK-755 の曝露量が顕著に減少し、一部の個体では内因性 ADAMTS13 に対する抗体の交差反応性により TTP 様症状が発現した。したがって、カニクイザルは TAK-755 の長期の試験には適していないと考えられた。TAK-755 に対する抗体の発現はカニクイザルに異種タンパク質を反復投与することで起きる予期された免疫反応である。

New Zealand white ウサギに TAK-755 を IV、動脈内（IA）、静脈周囲（PV）又は SC 投与し、局所刺激性を評価した。

非臨床薬理試験、薬物動態試験及び毒性試験では、TAK-755 は凍結乾燥した状態で提供され、溶解して IV、IA、PV 又は SC 投与した。SD ラットを用いて生殖発生毒性及び胎盤通過を評価した 1 試験では、TAK-755 を L ヒスチジン、塩化ナトリウム、塩化カルシウム水和物、D-マンニトール、精製白糖及び 0.05%ポリソルベート 80（pH 7.0）で調製した。添加剤は公定書収載品であり、新規又は動物由来の添加剤は使用していない（製剤中の添加剤の一覧については 3.2.P.4.1 を参照）。国際共同第 3 相試験実施中に、単一ヌクレオチド置換が観察され、97 位のアミノ酸がグルタミン（Q）からアルギニン（R）に置換された（R97）。非臨床試験用及び臨床試験用の TAK-755 原薬ロット並びに ADAMTS13 の構造及び機能に対する R97 変異型の影響に関する評価の概要をモジュール 3（3.2.S.3.1 及び 3.2.S.2.6 Manufacturing Process Development - Historical Batch Analyses）に示す。主要な非臨床試験で使用した TAK-755 のロットを、2.6.7.4 に示した。Q97 天然型タンパク質と R97 変異型タンパク質の両者を含む TAK-755 の酵素特性の評価により、TAK-755 は血漿由来の ADAMTS13 の酵素特性を強く反映していることが示された。

一連の非臨床プログラムは、参考文献とともに、TAK-755 の作用機序、薬力学、薬物動態及び安全性に関する包括的評価を提供し、TAK-755 の製造販売承認を支持するものと考えられる。

2.4.2 薬理試験

TAK-755 の薬理活性は in vitro 及び in vivo で示されており、その試験の一覧を 2.6.3.1 に示した。

2.4.2.1 効力を裏付ける試験

2.4.2.1.1 TAK-755 の in vitro 活性

TAK-755 の生理学的有効性を in vivo で評価するために、まずは in vitro で ADAMTS13 KO マウス、SD ラット、Dunkin-Hartley モルモット、カニクイザル及びミニブタの血漿中に含まれる VWF に対する TAK-755 によるタンパク質分解作用を VWF マルチマー解析により検討し、各動物種の in vivo モデルとしての適切性を評価した（2.6.3.2.1、4.2.1.1-1）。

VWF マルチマー解析において、種々の動物由来の血漿を TAK-755 とともにインキュベートすると、VWF マルチマー数の減少及び典型的な triplet バンドの出現が認められた。ADAMTS13 中和抗体又は金属イオンキレート剤のエチレンジアミン四酢酸で ADAMTS13 活性を阻害することにより VWF の切断が阻害されたことから、VWF は TAK-755 によって特異的に切断されることが示された。各動物種由来の VWF 基質に対するマルチマー切断作用の程度には違いがみられたが、検討したすべての動物種が TAK-755 の in vivo での薬効評価に適していると考えられた。

2.4.2.1.2 In vivo 試験

2.4.2.1.2.1 TTP 動物モデル

ADAMTS13 KO マウスに超大型 VWF マルチマーを含有する rVWF を高用量で投与することにより TTP 様症状を誘発させる TTP 動物モデルが開発された[3]。このマウスモデルでは、ヒト高分子量 VWF マルチマーが切断されず、高用量の rVWF をマウスに投与すると、重度

の一般状態の異常所見を示し、重度の血小板減少症及びいくつかの臓器で血栓塞栓性変化が認められた。これらの症状はTTP患者の臨床症状に酷似していた。また、rVWFを投与した多くのADAMTS13 KOマウスで、体重減少、重度の血小板減少症、血清乳酸脱水素酵素（LDH）値の上昇及び心臓の血栓性変化が認められたことから、本モデルにおけるTTP様症状の誘発は均質、安定かつ再現性があることが確認された（2.6.3.2.2、4.2.1.1-2、4.2.1.1-3、4.2.1.1-4及び4.2.1.1-5）。

被験物質の有効性は、TTPのマーカーである血小板減少及びLDH上昇の抑制の程度と定義した。さらに、臓器損傷を病理組織学的に評価した。ADAMTS13 KOマウスを用いたrVWF誘発性TTPモデルにTAK-755を予防的及び治療的に投与したときの有効性評価を以降に示す（2.4.2.1.2.2及び2.4.2.1.2.3）。また、ADAMTS13 KOマウスにおいて、TAK-755の予防的投与によりrVWFを介した軟膜微小血管血栓症の発症を効果的に防ぎ、TAK-755の治療的投与によりrVWFを介して脳血管内に発生した血栓又は形成中の血栓が速やかに消失した結果も併せて示す（2.4.2.1.2.4）[4]。

さらに、SDラット及びカニクイザルを用いた反復投与毒性試験の血漿検体を用いたVWFマルチマー解析において、TAK-755のin vivoでの内因性VWFマルチマー切断作用を評価した結果も示す（2.4.2.1.2.5）。

2.4.2.1.2.2 ADAMTS13 KOマウスを用いたrVWF誘発性TTPモデルにおけるTAK-755の予防的投与による有効性

ADAMTS13 KOマウスを用いたrVWF誘発性TTPモデルにおいて、TAK-755を予防的に単回投与したとき、TTP様症状に対するTAK-755用量依存的な予防効果（TTPの特徴である血小板減少及びLDH上昇の抑制）が示された（2.6.3.2.2、4.2.1.1-2）。また、TAK-755は、同一用量のOctaplas（現在TTP患者の標準治療に使用されている新鮮凍結ヒト血漿製剤、欧米にて販売）と比較して同程度又はわずかに上回る有効性を示した。

TAK-755（1～200 U/kg）を予防的に単回投与した直後にrVWF〔2,000 VWF：リストセチン・コファクター活性（RCo）U/kg〕を投与したとき、製剤緩衝液投与（vehicle）群と比較して、TTP様症状が用量依存的に軽減されることが示された。TAK-755群のすべての用量で、vehicle群と比較して血小板数減少の改善（$p \leq 0.0003$）及び血清LDH上昇の改善（$p < 0.0001$）が認められた。血小板減少症に対する臨床的に意味のある予防効果はTAK-755群の40 U/kg以上の用量で認められた。TAK-755群（1 U/kg以上）では破砕赤血球の重症度が低下し、より高用量のTAK-755群では破砕赤血球の発現頻度及び重症度が低下した。また、TAK-755群でTTP関連の病理組織学的所見の重症度が用量依存的に低下し、TAK-755群（80 U/kg以上）で心筋壊死及び急性心筋炎の発現頻度が低下した。

ADAMTS13 KOマウスを用いたrVWF誘発性TTPモデルにおいて、TAK-755（200 U/kg）を予防的かつ経時的に単回投与したとき、TTP様症状に対するTAK-755投与間隔依存的な予防効果（血小板減少及びLDH上昇の抑制）が示された（2.6.3.2.2、4.2.1.1-3）。rVWF（2,000 VWF:RCoU/kg）投与によりTTPを誘発する72時間前以内にTAK-755（200 U/kg）を投与した群では、製剤緩衝液投与（vehicle）群と比較して、臨床的に意味のある予防効果（血小板減少の予防）、加えてヘマトクリット値又はヘモグロビン値低下の予防、破砕赤血球の発現予防、及び血清LDH上昇の抑制が示された。TTP誘発の3時間前以内にTAK-755

（200 U/kg）を投与した群では、心筋病変を含む TTP 関連病変が完全に予防された。TAK-755 の投与後から rVWF を投与するまでの投与間隔の延長に伴い、心筋壊死、急性心筋炎及び出血の重症度が上昇した。ただし、急性心筋壊死及び出血の重症度は、TTP 誘発の 120 時間前に TAK-755 を投与した群においても vehicle 群と比較して低かった。

2.4.2.1.2.3 ADAMTS13 KO マウスを用いた rVWF 誘発性 TTP モデルにおける TAK-755 の治療的投与による有効性

ADAMTS13 KO マウスを用いた rVWF 誘発性 TTP モデルにおいて、TAK-755 を治療的に単回投与したとき、TTP 様症状に対する TAK-755 投与間隔依存的な治療効果（血小板減少及び LDH 上昇の抑制）が示された（2.6.3.2.2、4.2.1.1-4）。rVWF（2,000 VWF:RCoU/kg）投与の 15、30 又は 180 分後に TAK-755（200 U/kg）を IV 投与したとき、TTP 様症状が rVWF の投与後から TAK-755 を投与する前までの投与間隔依存的に軽減されることが示された。rVWF 投与の 15～180 分後に TAK-755 を投与した群では、製剤緩衝液投与（vehicle）群と比較して統計学的に有意な血小板数減少の改善（$p \leq 0.0001$）及び血清 LDH 上昇の改善（$p \leq 0.0001$）が認められ、血小板減少症の進行が抑制された。rVWF 投与の 15 及び 30 分後に TAK-755 を投与した群では破砕赤血球の発現頻度及び重症度が低下し、rVWF 投与の 180 分後に TAK-755 を投与した群でも低下傾向を示した。さらに、rVWF 投与の 15 及び 30 分後に TAK-755 を投与した群で TTP 関連の病理組織学的所見の重症度が低下した。rVWF 投与の 180 分後に TAK-755 を投与した群では病理組織学的所見に対する治療効果は軽微であった。

ADAMTS13 KO マウスを用いた rVWF 誘発性 TTP モデルにおいて、TAK-755（1～200 U/kg）を治療的に単回投与したとき、TTP 様症状に対する TAK-755 用量依存的な治療効果が示された（2.6.3.2.2、4.2.1.1-5）。TAK-755 は Octaplas と比較して同程度又はわずかに上回る有効性を示した。rVWF（2,000 VWF:RCoU/kg）投与の 16 分後に TAK-755（1～200 U/kg）を治療的に単回投与したとき、製剤緩衝液投与（vehicle）群と比較して、用量依存的な治療効果が認められた。TAK-755 群で破砕赤血球の重症度、LDH 値及び血小板数減少の改善が認められ、TAK-755 群の 5～200 U/kg の用量範囲では TTP 関連所見の発現頻度及び重症度の低下も認められた。

2.4.2.1.2.4 ADAMTS13 KO マウスを用いた rVWF 誘発性 TTP モデルにおける微小血管血栓の形成及び消失に対する TAK-755 の有効性

ADAMTS13 KO マウスに rVWF（2,000 VWF:RCoU/kg）を IV 投与して TTP を誘発し、リアルタイム生体内顕微鏡を用いて脳における微小血管をモニターし記録することにより、微小血管血栓の形成及び消失を評価した[4]。溶媒（生理食塩水）若しくは TAK-755（320 U/kg）を rVWF 投与の 10 分前に予防的に、又は rVWF 投与の 30～60 分後（血栓が血管径の約 70%を閉塞した時点）に治療的に、尾静脈内から投与した。頭蓋内顕微鏡を用いた観察から、可溶性 rVWF が血管壁の内皮に接着して自己会合し、血小板の接着が開始した結果、脳の血管損傷を伴わない軟膜微小血管血栓が形成されたことが示された。この際、脳血管内で発生した血栓は、フィブリンを含まない超大型 VWF に付着した活性化していない血小板から構成されていた。TAK-755 の予防的投与により rVWF による微小血管血栓の

発生が予防され、TAK-755 の治療的投与により rVWF 投与後の脳血管内で発生した血栓又は形成中の血栓が速やかに消失した。

2.4.2.1.2.5 SD ラット及びサルにおける TAK-755 の in vivo 薬理活性の評価

SD ラット及びカニクイザルを用いた反復投与毒性試験（2.6.6.3）の血漿検体を用いて、TAK-755 がこれら 2 つの動物種において内因性 VWF の切断作用を示すことを VWF マルチマー解析により検討した。TAK-755 の in vivo 薬理活性は、凝固カスケードで活性を示す VWF の高分子量マルチマーをより小さなフラグメントに切断（又は分解）することである。ラット及びサルの毒性試験の検体を用いて薬理活性を確認するために、低分解能アガロースゲル電気泳動を用いて血漿検体中の VWF マルチマー及びフラグメントを分離した。VWF マルチマー解析の結果、SD ラットでは TAK-755 の初回投与 3 時間後及び最終投与の 1 日後に、カニクイザルでは TAK-755 の初回投与の 3 時間後（ただし、1 匹では初回投与の 5 分後）に、TAK-755 による in vivo での内因性 VWF の切断作用が示された（4.2.3.2-2 及び 4.2.3.2-7）。

2.4.2.2 副次的薬理試験

ラットの尾端出血モデルを用いて、超生理学的用量の TAK-755 と抗血栓薬との相互作用の可能性を検討した。雄の SD ラットに、生理食塩水（vehicle）、超生理学的用量の TAK-755（3,111 U/kg）単独、エノキサパリン（30 mg/kg）単独、アセチルサリチル酸（30 mg/kg）単独、TAK-755 とエノキサパリン併用、又は TAK-755 とアセチルサリチル酸併用で IV 投与し、その 5 分後にラット尾端を切断した。その結果、超生理学的用量の TAK-755 の単独投与、又はエノキサパリン若しくはアセチルサリチル酸との併用投与のいずれの条件においても、過剰な薬理作用による出血イベント増加のリスクは低いことが示唆された（2.6.3.3.2）[5]。

2.4.2.3 安全性薬理試験

2.4.2.3.1 中枢神経系

安全性薬理の評価項目は、カニクイザルを用いた単回漸増投与毒性試験（GLP 適用試験）、並びにラット及びサルを用いた反復投与毒性試験（GLP 適用試験）の一部として評価した（2.6.3.4、4.2.3.2-4、4.2.3.1-1 及び 4.2.3.2-7）。カニクイザルに TAK-755 を 1,790 U/kg の用量で単回 IV 投与したとき、中枢神経系への影響を示唆する一般状態の変化は認められなかった。ラット及びサルにそれぞれ 1,820 IU/kg 及び 400 U/kg を反復 IV 投与したとき、TAK-755 に起因する中枢神経系に関連した臨床所見及び脳の病理組織学的所見は認められなかった。ラットでの用量 1,820 IU/kg 及びサルでの用量 1,790 U/kg における C_{max} は、TAK-755 を臨床予定用量である 40 IU/kg で投与したときの C_{max} のそれぞれ 97 倍及び 29 倍であった（表 2.4.5-1）。

2.4.2.3.2 心血管系及び呼吸系

カニクイザルを用いた反復投与毒性試験（GLP 適用）において、計 5 回投与（QW）の 2 及び 4 回目の投与後に心電図を評価した（2.6.3.4、4.2.3.2-7）。また、2、3 及び 4 回目の投

与後に血圧及び呼吸数を測定した。TAK-755 を 400 U/kg（高用量）の用量まで投与したとき、心血管系及び呼吸系パラメータへの影響は認められなかった。TAK-755 400 U/kg の初回投与後の C_{max} は、臨床予定用量である 40 IU/kg を IV 投与したときの C_{max} の 7.8 倍であった（表 2.4.5-1）。

2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用試験

副次的薬理試験（2.4.2.2）としてラットの尾端出血モデルを用いた TAK-755 とエノキサパリン又はアセチルサリチル酸との相互作用試験を実施した結果、出血傾向は増加しなかった。なお、TAK-755 が治療用遺伝子組換えタンパク質であり、他の薬物との相互作用が予想されないことから、薬力学的薬物相互作用試験は実施しなかった。

2.4.3 薬物動態試験

TAK-755 の薬物動態試験の一覧を 2.6.5.1 に示した。

ADAMTS13 KO マウス、SD ラット、カニクイザル及び Göttingen ミニブタに TAK-755 を単回 IV ボーラス投与したとき、並びに Göttingen ミニブタに単回 SC 投与したときの TAK-755 の薬物動態プロファイルを評価した（表 2.4.3-1）。クエン酸添加血漿中の ADAMTS13 活性は ADAMTS13 活性アッセイ〔VWF の A2 ドメインの 73 個のアミノ酸から構成される蛍光共鳴エネルギー転移基質（FRETS-VWF73）アッセイ〕を用いて、ADAMTS13 タンパク質（抗原）は酵素結合免疫吸着測定法（ELISA）を用いて測定した。SD ラット、New Zealand white ウサギ及びカニクイザルを用いた反復投与毒性試験並びに SD ラットを用いた生殖発生毒性試験（表 2.4.4-2）で、TAK-755 を IV 投与したときの TAK-755 の TK プロファイルを評価した。

表 2.4.3-1　TAK-755 を単回 IV 又は SC 投与したときの ADAMTS13 活性の血漿中 PK パラメータの平均値

動物種	用量 (U/kg)	投与経路	実際の投与量 (U/kg)	実際の AUC_{last} (h*U/mL)	実際の AUC_{∞} (h*U/mL)	用量で補正した AUC_{last} (h*U/mL/U/kg)	用量で補正した AUC_{∞} (h*U/mL/U/kg)	$t_{1/2z}$ (h)	MRT 又は MTT (h)	t_{last} (h)	t_{max} (h) (b)	C_{max} (U/mL)	IVR (%)	IR (U/mL/U/kg)	CL (mL/h/kg)	V_{ss} (mL/kg)
ADAMTS13	40	IV	41.4～44.3	4.21 (a)	5.16 (a)	0.098	0.120	10.0	13.6	42	0.083	0.478	56.3	0.012	8.3	113
KO マウス	80	IV	79.6～85.6	10.3 (a)	11.9 (a)	0.125	0.144	15.9	19.4	42	0.083	1.03	62.8	0.013	7.0	135
	200	IV	229～267	27.2 (a)	32.4 (a)	0.110	0.131	17.3	21.1	42	0.083	2.44	51.9	0.011	7.6	161
Sprague	80	IV	75.2	24.5 (a)	25.9 (a)	0.326	0.344	16.7	22.8	80	0.083	1.45	60.2	0.019	2.9	66.3
Dawley ラット	200	IV	183	70.1 (a)	77.6 (a)	0.384	0.425	25.6	30.8	80	0.083	3.74	64.1	0.020	2.4	72.6
	400	IV	339	155 (a)	170 (a)	0.458	0.502	24.0	29.9	80	0.083	7.11	65.7	0.021	2.0	59.6
カニクイザル	200 (Day 1)	IV	185	69.9 (a)	82.3 (a)	0.377	0.444	24.6	29.6	60	0.083	4.17	90.0	0.023	2.3	66.7
	1,790 (Day 15)	IV	1,630	654 (a)	825 (a) (c)	0.401	0.506	27.9	36.2	60	0.083	33.0	80.9	0.020	2.0	71.5
Göttingen ミニブタ	200	IV (d)	200	NA	NA	0.306	NA	6.1	NA	72	0.083	2.77	NA	NA	NA	NA
	1,000	SC (d)	1,070	NA	NA	0.198	NA	150	NA	72	24	3.67	NA	NA	NA	NA
	200	IV (e)	190	68.3	88.0	NA	NA	47.0	64.1 (f)	102	0.083	2.90	61.0	NA	2.16	139
	200	SC (e)	190	47.2	81.6	NA	NA	56.8	104 (f)	102	30	0.618	13.0	NA	1.61 (g)	NA

出典：4.2.2.2-1（マウス）、4.2.2.2-2（ラット）、4.2.3.1-1（サル）、4.2.2.2-3（ミニブタ）、4.2.2.2-4（ミニブタ）

ADAMTS13：トロンボスポンジン 1 型モチーフを有するディスインテグリン及びメタロプロテイナーゼ第 13 番、AUC：血漿中濃度－時間曲線下面積、AUC_{∞}：投与後 0 時間から無限大時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積、AUC_{last}：投与後 0 時間から最終定量可能時点までの血漿中濃度－時間曲線下面積、CL：全身クリアランス（AUC_{∞}を用いて算出）、C_{max}：最高血漿中濃度、IR：増分回収率、IV：静脈内、IVR：in vivo 回収率、KO：ノックアウト、MRT：平均滞留時間、MTT：平均通過時間、NA：該当なし、PK：薬物動態、SC：皮下、$t_{1/2z}$：終末相における消失半減期、t_{last}：最終定量可能時点、t_{max}：最高血漿中濃度到達時間、V_{ss}：定常状態における分布容積

(a) 実際の AUC は、用量で補正した AUC に実際の投与量の平均値を乗じることにより事後に概算した。

(b) PK パラメータは平均値で示すが、t_{max}は中央値で示した。

(c) AUC_{∞}は外挿した AUC の 20%超と推定された。

(d) Göttingen ミニブタを用いた 4.2.2.2-3 では、TAK-755 の血漿中濃度が観察期間中に十分に低下しなかったため、終末相及び初期の半減期の推定は慎重に検討する必要がある。終末相及び初期の半減期に関連する値は含めなかった。

(e) Göttingen ミニブタを用いた 4.2.2.2-4 に基づく。用量で補正した AUC_{last}、用量で補正した AUC_{∞}及び IR の値は含めなかった。

(f) IV 投与後の MRT 及び SC 投与後の MTT をそれぞれ推定した。

(g) AUC_{last}の値に基づき、バイオアベイラビリティを 69.1%と仮定して算出した。

2.4.3.1 吸収

TAK-755 の薬物動態の要約を 2.6.5.3.1 及び 2.6.5.3.2 に示す。

GLP 適用下で、ADAMTS13 KO マウスに TAK-755 を 40、80 及び 200 U/kg の用量で単回 IV 投与したとき、ADAMTS13 活性及び ADAMTS13 タンパク質（抗原）の曝露量（C_{max} 及び AUC）は用量の増加に伴って概ね用量に比例して増加した（4.2.2.2-1）。ADAMTS13 活性及び ADAMTS13 タンパク質（抗原）の終末相における消失半減期（$t_{1/2z}$）はそれぞれ 10.0～17.3 時間及び 15.4～20.2 時間であり、ADAMTS13 活性及び ADAMTS13 タンパク質（抗原）の最高血漿中濃度到達時間（t_{max}）は用量にかかわらず 5 分であった。ADAMTS13 活性及び ADAMTS13 タンパク質（抗原）の 3 用量での定常状態における分布容積（V_{ss}）は、113～178 mL/kg であった。

GLP 適用下で、SD ラットに TAK-755 を 80、200 及び 400 U/kg の用量で単回 IV 投与したとき、ADAMTS13 活性及び ADAMTS13 タンパク質（抗原）の曝露量（C_{max} 及び AUC）は用量の増加に伴って増加した（4.2.2.2-2）。ADAMTS13 活性及び ADAMTS13 タンパク質（抗原）の $t_{1/2z}$ はそれぞれ 16.7～25.6 時間及び 23.5～24.0 時間であり、ADAMTS13 活性及び ADAMTS13 タンパク質（抗原）の t_{max} は用量にかかわらず 5 分であった。ADAMTS13 活性及び ADAMTS13 タンパク質（抗原）の 3 用量での V_{ss} は、それぞれ 59.6～72.6 mL/kg 及び 86.4～95.0 mL/kg であった。

GLP 適用下で実施した用量漸増投与毒性試験において、カニクイザルに TAK-755 を Day 1 に 200 U/kg、Day 15 に 1,790 U/kg の用量で単回 IV 投与したとき、TAK-755 の曝露量（C_{max} 及び AUC）は用量の増加に伴って用量に比例して増加した（4.2.3.1-1）。ADAMTS13 活性及び ADAMTS13 タンパク質（抗原）の $t_{1/2z}$ は両用量で 24.6～27.9 時間であった。雌雄合算した ADAMTS13 活性の C_{max} は 200 U/kg 投与後の Day 1 で 4.17 U/mL、1,790 U/kg 投与後の Day 15 で 33.0 U/mL であった。異種タンパク質を反復投与後に免疫応答が予想されることから、Day 0、Day 14 及び Day 18 に TAK-755 に対する ADA を評価した結果、8 匹中 2 匹で結合 ADA 陽性、全動物 8 匹で中和 ADA 陰性であった（2.4.4.2.3）。ADA 陽性動物で、全身クリアランス（CL）及び AUC に対する影響は認められなかった。

Göttingen ミニブタを用いた GLP 非適用の試験では、Göttingen ミニブタに TAK-755 を 200 U/kg の用量で単回 IV（ボーラス）投与又は 1,000 U/kg の用量で単回 SC 投与した。TAK-755 を SC 投与したときの t_{max} の中央値は、ADAMTS13 活性で 24 時間、ADAMTS13 タンパク質（抗原）で 28 時間であった（4.2.2.2-3）。TAK-755 の血漿中濃度は 72 時間の観察期間中に十分に低下しなかったため、薬物動態パラメータの推定については慎重に検討した。このため、追加試験を行った。Göttingen ミニブタを用いた GLP 非適用の追加試験では、TAK-755 を 200 U/kg の用量で単回 IV 又は SC 投与した。投与後 0 時間から最終定量可能時点までの血漿中濃度－時間曲線下面積（AUC_{last}）に基づき、TAK-755 を SC 投与したときのバイオアベイラビリティは IV 投与したときに対して、ADAMTS13 タンパク質（抗原）で 65.9%、ADAMTS13 活性で 69.1%であった（4.2.2.2-4）。ADAMTS13 活性及び ADAMTS13 タンパク質（抗原）に関する AUC_{last} は IV 投与と SC 投与で同程度であったが（その差は 2 倍未満）、ADAMTS13 活性及び ADAMTS13 タンパク質（抗原）の C_{max} は IV 投与したときで SC 投与したときよりも約 5 倍高かった。ADAMTS13 活性及び ADAMTS13 タンパク質（抗原）の t_{max} の中央値は IV 投与したときで 5 分、SC 投与したときで 30 時間であった。

ADAMTS13 活性の $t_{1/2z}$ は、IV 投与及び SC 投与したときでそれぞれ 47.0 時間及び 56.8 時間、ADAMTS13 タンパク質（抗原）の $t_{1/2z}$ は、IV 投与及び SC 投与したときでそれぞれ 48.8 時間及び 41.3 時間であった。

要約すると、TAK-755 を同程度の用量で IV 投与したときの TAK-755 の曝露量（AUC）は、ラット、サル及びミニブタで同程度であった。In vivo 回収率はサルでラット及びミニブタより高く、C_{max}、CL 及び $t_{1/2z}$ は、個体間変動を考慮すると、ラットとサルで同程度の範囲内であった。$t_{1/2z}$ はミニブタでラット及びサルよりも約 2 倍長かった。C_{max} 及び CL はミニブタとラット及びサルで同程度であった。ミニブタに TAK-755 を SC 投与したときの IV 投与したときに対するバイオアベイラビリティは、ADAMTS13 タンパク質（抗原）及び ADAMTS13 活性でそれぞれ 65.9%及び 69.1%であった。平均滞留時間（MRT）及び V_{ss} はラットとサルで同程度の範囲内であった。MRT 及び V_{ss} はミニブタでラット及びサルよりも高値であった。V_{ss} は血漿容積よりも高値であり、TAK-755 は血漿に加えて他の組織にも分布する可能性が示唆された。ADAMTS13 KO マウスでは、他の動物種と比較して AUC は低く、CL 及び V_{ss} は高値であったことから、ADAMTS13 KO 動物種では TAK-755 の消費量が増加することが示唆された。

2.4.3.2 分布

SD ラットに TAK-755 を単回 IV 投与したときの胎盤通過を評価した（2.4.3.2.1）。TAK-755 の分布、代謝及び排泄に関するその他の試験は実施しなかった。他の外因性タンパク質と同様に、組換えタンパク質の最終的な消失経路は個々の構成アミノ酸への分解であり、これが通常のタンパク質プールに再度取り込まれると考えられる。さらに、TAK-755 の標的部位は全身循環血中に存在し、安全性所見のエビデンス又はその他の懸念がないことから、追加の分布評価は実施しなかった。

2.4.3.2.1 ラットを用いた胎盤通過試験

交配後の雌 SD ラット（6 匹／群）に TAK-755 を GD 21 に単回 IV ボーラス投与したときの TAK-755 の胎盤通過を評価した（GLP 非適用）（2.6.5.7、4.2.3.5.1-1）。溶媒対照（製剤緩衝液）又は TAK-755 を 3,200 U/kg の用量で投与し、投与後 30 分に動物を安楽死させ胎盤通過を評価した。投与の忍容性は良好であり、TAK-755 に関連した有害な一般状態の変化及び剖検所見は認められなかった（2.6.6.6）。

ADAMTS13 タンパク質（抗原）は、対照群の母動物及び胎児の血清中では検出されなかった（0.0031 µg/mL 未満）。TAK-755 を 3,200 U/kg の用量で単回投与したとき、投与後 30 分の血清中 ADAMTS13 タンパク質（抗原）濃度は、母動物で 19.62～37.09 µg/mL、胎児で 0.01～0.12 µg/mL であり、母体の血清中 ADAMTS13 タンパク質（抗原）濃度に対する胎児の血清中 ADAMTS13 タンパク質（抗原）濃度は最高で 0.6%であった。

2.4.3.3 代謝

2.4.3.2 参照。

2.4.3.4 排泄

2.4.3.2 参照。

2.4.3.5 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。

2.4.3.6 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。

2.4.4 毒性試験

TAK-755 の毒性試験の一覧を表 2.4.4-1 に示し、概要を 2.6.7.1 に示した。

表 2.4.4-1　TAK-755 の毒性試験一覧

動物種	投与経路	用量又は濃度	投与レジメン	GLP	添付資料番号／報告書番号
単回投与毒性試験					
サル	IV	200 及び 1,790 U/kg	Day 1 に 200 U/kg、Day 15 に 1,790 U/kg を単回用量漸増投与	適用	4.2.3.1-1／8234215
反復投与毒性試験					
ラット	IV	0、80、200 又は 400 U/kg	QD で 5 日間	適用	4.2.3.2-1／527739
ラット	IV	0、80、400 又は 800 U/kg	Q3D で 4 週間	適用	4.2.3.2-2／PV2511001
ラット	IV	0、800 又は 1,820 IU/kg(a)	QD で 30 日間	適用	4.2.3.2-4／504247
ラット	IV	0、80、200 又は 400 U/kg	Q3D で 26 週間	適用	4.2.3.2-5／523430
ウサギ	IV	0、80、400 又は 800 U/kg	Q3D で 2 週間	非適用	4.2.3.2-6／AU0112W01
サル	IV	0 又は 800 U/kg	QW で 4 週間	適用	4.2.3.1-1／8234215
サル	IV	0、80、200 又は 400 U/kg	QW で 4 週間	適用	4.2.3.2-7／8243420
遺伝毒性試験					
TAK-755 の遺伝毒性試験は実施していない。					
がん原性試験					
TAK-755 のがん原性試験は実施していない。					
生殖発生毒性試験					
ラット	IV	3200 U/kg	GD 21 に単回投与	非適用	4.2.3.5.1-1／495388(b)
ラット	IV	0、80、200 又は 400 U/kg	Q3D で交配前 2 週間から交配期間中を経て約 GD 16 まで	適用	4.2.3.5.1-2／497081
ラット	IV	0、80、200 又は 400 U/kg	Q3D で GD 6 から授乳約 21 日まで	適用	4.2.3.5.3-1／496821
局所刺激性試験					
ウサギ	IV、IA 及び PV	0 又は 311 U/mL	単回投与	適用	4.2.3.6-1／PV2541101
ウサギ	SC	0 又は 300 IU/mL(a)	単回投与	適用	4.2.3.6-2／L11910M-SHP655
その他の毒性試験					
TAK-755 のその他の毒性試験は実施していない。					

ADAMTS13：トロンボスポンジン 1 型モチーフを有するディスインテグリン及びメタロプロテイナーゼ第 13 番、FRETS-VWF73：VWF の A2 ドメインの 73 個のアミノ酸から構成される蛍光共鳴エネルギー転移基質、GD：妊娠日数、GLP：医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準、IA：動脈内、IU：国際単位、IV：静脈内、PV：静脈周囲、QD：1 日 1 回、Q3D：3 日に 1 回、QW：週 1 回、SC：皮下、VWF：フォン・ヴィレブランド因子

(a) 本試験の投与量は IU に基づくものであった。2014 年に、世界保健機関（WHO）ADAMTS13 の第一国際基準（NIBSC コード：[redacted]）が確立された。その結果、遺伝子組換え二次標準品（[redacted]）を社内で製造し、ADAMTS13 の新しい WHO 標準品に対して検定し、物質の試験及び出荷のために導入した。FRETS-VWF73 を用いた ADAMTS13 の活性測定法について、正常プール血漿（単位：U）から WHO 標準品に対して検定した遺伝子組換え標準品（単位：IU）への変換により、[redacted]%の[redacted]が認められた。

(b) 単回投与時の胎盤移行性を検討する試験であり、投与 30 分後に剖検を実施した。

2.4.4.1 単回投与毒性試験

ICH ガイドライン M3（R2）に従い、TAK-755 の独立した単回投与（急性）毒性試験は実施しなかった。急性毒性はカニクイザルを用いた用量漸増投与毒性試験で評価した（2.4.4.2.3、2.6.7.5、4.2.3.1-1）。マルチマー解析の結果、サルに TAK-755 を投与したところ VWF マルチマーの切断が認められ、サルにおける TAK-755 の薬理学的効果が示唆された。サルに TAK-755 を 1,790 U/kg の用量で単回低速 IV ボーラス投与したときの忍容性は良好であり、ADAMTS13 活性の C_{max} は 33.0 U/mL、投与後 0 から 60 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積（AUC_{60}）は 654 h*U/mL であった。

2.4.4.2 反復投与毒性試験

反復投与毒性試験は、SD ラット、New Zealand white ウサギ及びカニクイザルを用いて実施した。ラット及びサルは薬理活性を有する動物種である。

2.4.4.2.1 SD ラットを用いた反復投与毒性試験

SD ラットに TAK-755 を 0（製剤緩衝液、溶媒対照）、80、200 又は 400 U/kg の用量で QD、5 日間 IV ボーラス投与し、その後 2 週間の回復期間を設けた GLP 適用試験を実施した（2.6.7.7.1、4.2.3.2-1）。TAK-755 に関連した有害作用は認められず、結合 ADA の発現も認められなかった。

TAK-755 200 U/kg を投与した 1 匹が Day 5 に死亡した。この個体の一般状態に変化は認められなかった。剖検では、肝臓及び肺葉の暗色化並びに顎下リンパ節の腫大が認められた。病理組織学的検査では、死戦期変化と考えられるうっ血が認められ、剖検時に認められた肝臓及び肺の所見と関連していた。顎下リンパ節に軽度の形質細胞増加が認められ、剖検時に認められた腫大と関連していた。これらの所見はいずれも死因とは判断できず、死因は不明であるが、中間用量群の 1 匹の所見であり TAK-755 との関連は低いと考えられた。

ラットに TAK-755 を投与したとき、いずれの用量でも忍容性は良好であった。無毒性量（NOAEL）は検討した最高用量の 400 U/kg であり、この用量における Day 5 の ADAMTS13 活性の C_{max} は雄で 6.04 U/mL、雌で 4.30 U/mL、投与後 0 から 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積（AUC_{24}）は雄で 83.1 h*U/mL、雌で 63.4 h*U/mL であった。

SD ラットに TAK-755 を 0（製剤緩衝液、溶媒対照）、80、400 又は 800 U/kg の用量で Q3D、28 日間（10 回投与）IV ボーラス投与し、2 週間の回復期間を設けた GLP 適用試験を実施した（2.6.7.7.2、4.2.3.2-2）。TAK-755 の忍容性は良好であった。TAK-755 の反復投与により、結合 ADA の用量依存的な発現増加傾向が認められた。結合 ADA は、80 U/kg 群の 10 匹中 1 匹（Day 29 及び Day 42）、400 U/kg 群の 10 匹中 3 匹（Day 29 に 2 匹、Day 42 に 3 匹）及び 800 U/kg 群の 10 匹中 7 匹（Day 29 に 4 匹、Day 42 に 7 匹）で認められた。80 U/kg 群及び 400 U/kg 群では、結合 ADA 陽性動物で中和 ADA も認められた。800 U/kg 群では、結合 ADA 陽性動物 7 匹中 3 匹で中和 ADA も認められた。ADA 発現に関連した有害作用は認められず、中和 ADA 発現による TAK-755 の曝露量の減少は認められなかった。マルチマー解析の結果、VWF マルチマーの切断が認められ、in vivo でのラットにおける TAK-755 の薬理学的効果が示唆された。

ラットに TAK-755 を投与したときの忍容性は良好であり、TAK-755 に関連した有害作用は認められなかった。ラットにおける TAK-755 の NOAEL は、評価した最高用量である 800 U/kg であり、この用量における Day 28 の ADAMTS13 活性の C_{max} は雄で 15.6 U/mL、雌で 13.1 U/mL、投与後 0 から 72 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積（AUC_{72}）は雄で 313 h*U/mL、雌で 176 h*U/mL であった。

SD ラットに TAK-755 を 0（製剤緩衝液、溶媒対照）、800 又は 1,820 IU/kg の用量で QD、30 日間 IV ボーラス投与し、2 週間の回復期間を設けた GLP 適用試験を実施した（2.6.7.7.3、4.2.3.2-4）。TAK-755 投与に関連した計画外の死亡は認められず、一般状態、体重、体重変化量、摂餌量、眼科学的検査、血液学的検査、凝固系検査、血液生化学的検査、尿量、尿検査、器官重量、剖検所見及び病理組織学的検査においても TAK-755 投与に関連した影響は認められなかった。投与期間終了時に、対照群及び 1,820 IU/kg/日群の動物で認められた軽微な異物塞栓及び軽微又は軽度の肺の炎症性細胞浸潤は、反復 IV 投与に関連する所見と考えられた。

4 匹（800 IU/kg 群の 10 匹中 1 匹、1,820 IU/kg 群の 10 匹中 3 匹）が回復期間終了時に結合 ADA 陽性であったことから、中和抗体についても検討した。1,820 IU/kg 群の 3 匹では、投与前から回復期間終了時までの期間に中和 ADA の増加が認められた。

ラットに TAK-755 を 800 及び 1,820 IU/kg の用量で QD、30 日間 IV 投与したときの忍容性は良好であり、標的器官毒性は認められなかった。実際の投与量に基づく C_{max} 及び AUC_{24} は、いずれの時点においても用量の増加に伴って増加し、投与期間に伴った蓄積性が認められた。これらの結果から、NOAEL は評価した最高用量の 1,820 IU/kg であり、この用量における Day 30 の ADAMTS13 活性の雌雄合算の C_{max} 及び AUC_{24} は、109 IU/mL 及び 1,150 h*IU/mL であった。

SD ラットに TAK-755 を 0（製剤緩衝液、溶媒対照）、80、200 又は 400 U/kg の用量で Q3D、26 週間 IV ボーラス投与し（投与容量：2 mL/kg）、4 週間の回復期間を設けた GLP 適用試験を実施した（2.6.7.7.4、4.2.3.2-5）。試験期間中に雄 4 匹が計画外に安楽死又は死亡発見された。死亡と TAK-755 との関連を示唆する有害な徴候は認められなかった。体重、体重増加量、摂餌量、眼科学的検査、血液学的検査、凝固系検査、血液生化学的検査、尿量、尿検査、精子検査（精巣上体内精子の運動性、形態及び数、並びに精巣内精子細胞数）、器官重量、剖検所見及び病理組織学的検査において、TAK-755 に関連した有害作用は認められなかった。

TAK-755 の全身曝露量は、概ね用量に伴って増加を示した。TAK-755 の全身曝露量に性差は認められなかった。

C_{max} 及び AUC で評価した Day 181 の TAK-755 の曝露量は、いずれの用量でも Day 1 と比較して増加したが、蓄積比は 2 未満であった。

対照群及び 80 U/kg 群では、結合 ADA は検出されなかった。200 U/kg 群の 1 匹及び 400 U/kg 群の 2 匹では、投与前と比較して log2 抗体価の 2 段階を超える増加が認められた（すなわち結合 ADA 陽性）。これらの動物では、中和 ADA は定量限界（0.7 BU/mL）未満であったため、中和 ADA 陰性と判断された。以上より、SD ラットに 400 U/kg を Q3D で 26 週間 IV 投与したところ、TAK-755 に関連した毒性は認められなかった。これらの結果に基づき、NOAEL は、評価した最高用量である 400 U/kg であり、この用量における Day 181

の ADAMTS13 活性の C_{max} は雄で 10.0 U/mL、雌で 9.12 U/mL、AUC_{72} は雄で 268 h*U/mL、雌で 177 h*U/mL であった。

2.4.4.2.2 New Zealand white ウサギを用いた反復投与毒性試験

雌 New Zealand white ウサギに TAK-755 を 0（製剤緩衝液、溶媒対照）、80、400 又は 800 U/kg の用量（投与容量：5 mL/kg）で Q3D、2 週間 IV ボーラス投与した GLP 非適用試験を実施した（2.6.7.6、4.2.3.2-6）。ウサギ VWF の切断は認められなかった。試験期間中に死亡は認められず、TAK-755 に関連した一般状態の変化、体重及び器官重量への影響は認められなかった。中和 ADA の発現により、中用量群及び高用量群（400 及び 800 U/kg）で TTP 様の所見（ヘマトクリット値、ヘモグロビン濃度及び血小板数の減少、並びに心筋細胞の変性／壊死及び炎症）が認められた。TAK-755 投与後に、薬理活性がみられないこと、中和抗体の発現率が高いこと及び TTP に対する感受性が亢進していることから、ウサギは TAK-755 の非臨床評価には適さない動物種であることが示唆された。

2.4.4.2.3 カニクイザルを用いた反復投与毒性試験

カニクイザルに TAK-755 を 0（製剤緩衝液、溶媒対照）又は 800 U/kg の用量で QW、4 週間低速 IV ボーラス投与した GLP 適用予備試験を実施した（2.6.7.6、4.2.3.1-1）。TAK-755 の忍容性は良好であり、TAK-755 に関連した有害作用は認められなかった。血液学的パラメータの評価では、800 U/kg 群の雌全例で血小板減少が認められ、総ビリルビンの増加、剖検所見及び病理組織学的変化〔雌 1 匹で腎臓及び胃の赤色巣、雌 2 匹（全例）で心臓、副腎、胃、皮膚の出血／うっ血〕並びに網状赤血球数の増加を伴う中等度の溶血性貧血が認められた。TAK-755 を投与した雌に認められた溶血性貧血及び血小板減少は、ADAMTS13 欠乏時に臨床的にみられる影響であり、雌での中和 ADA 抗体価の上昇に起因するものであった。TAK-755 に対する ADA 発現は、カニクイザルに異種タンパク質を反復投与したときに予想される免疫反応であり、有害ではないと考えられた。中和 ADA が認められなかった個体では、最終投与の 24 時間後に VWF マルチマーの切断が認められた。

カニクイザルに TAK-755 を 0（製剤緩衝液、溶媒対照）、80、200 又は 400 U/kg の用量で QW、4 週間 IV ボーラス投与し、2 週間の回復期間を設けた GLP 適用試験を実施した（2.6.7.7.5、4.2.3.2-7）。投与部位における TAK-755 の忍容性は良好であり、TAK-755 に関連した有害な一般状態の変化及び所見は認められなかった。

高用量群の雌 5 匹中 2 匹及び中用量群の雌 5 匹中 1 匹に血小板の減少が認められた。この高用量群の雌 1 匹では、血小板数の減少は顕著であり、溶血性貧血、ビリルビン血症及び LDH 遊離、病理組織学的検査で肝臓及び心臓における髄外造血、小血管中膜肥厚、並びに腎臓のタンパク円柱が認められた。これらの所見は投与期間終了時及び／又は回復期間に認められ、ADAMTS13 欠乏を示唆する既知の臨床病理所見に類似していた。これらの雌では試験終了時（Week 4）に中和 ADA 抗体価が顕著に増加したことから、これらの変化は内因性サル ADAMTS13 との交差反応性を持つ中和 ADA の発現によるものと考えられた。

さらに、VWF マルチマー解析の結果、TAK-755 の単回投与では VWF が切断（VWF 高分子量マルチマーは部分的に消失）されたが、反復投与後には VWF 高分子量マルチマーの消

失がみられなかったことから、TAK-755 の反復投与により誘発された中和抗体により内因性 ADAMTS13 が欠乏したものと考えられた。

対照群では、結合 ADA の発現は認められなかった。TAK-755 の反復投与により、結合 ADA の時間及び用量依存的な発現が認められた。低用量群の 10 匹中 4 匹、中用量群の 10 匹中 7 匹及び高用量群の全例が結合 ADA 陽性であった。結合 ADA が陽性と判定された動物のうち、低用量群の 1 匹、中用量群の 6 匹及び高用量群の 8 匹は、中和 ADA も陽性であった。

その結果、中和 ADA の発現により、すべての TAK-755 群で、ADAMTS13 活性の AUC_{last}〔高用量群における用量調整 AUC_{last}：0.450 h*U/mL/U/kg（Day 1）、0.048 h*U/mL/U/kg（Day 29）〕、ADAMTS13 タンパク質（抗原）の AUC_{last}〔高用量群における用量調整 AUC_{last}：0.341 µg/kg（Day 1）、 0.007 µg /kg（Day 29）〕、ADAMTS13 活性の C_{max}〔高用量群における C_{max}：8.698 U/mL（Day 1）、5.353 U/mL（Day 29）〕及び ADAMTS13 タンパク質（抗原）の C_{max}〔高用量群における C_{max}：5.116 µg/mL（Day 1）、2.220 µg/mL（Day 29）〕の明らかな減少が認められた。

NOAEL における用量未調整 AUC_{last}（以下の計算式に従って算出した雌雄合算値：実際の投与量×用量調整 AUC_{last}）は、初回投与後で 182 h*U/mL、最終投与後（Day 29）で 20 h*U/mL であった。

以上より、検討したすべての用量において、TAK-755 を投与したときの忍容性は良好であり、TAK-755 に直接関連する有害な臨床症状及び所見は認められなかった。TAK-755 投与による ADA の発現は、異種タンパク質をサルに反復投与したときに予想される免疫反応である。したがって、NOAEL は検討した最高用量の 400 U/kg であり、この用量における Day 29 の ADAMTS13 活性の C_{max} は 5.35 U/mL、投与後 0 から 70 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積（AUC_{70}）は 19.6 h*U/mL であった。

2.4.4.3 遺伝毒性試験

ICH S6（R1）「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」に従い、遺伝毒性試験は TAK-755 のようなバイオテクノロジー応用医薬品の安全性評価には適用されないため、実施しなかった。

2.4.4.4 がん原性試験

ICH S6（R1）に従い、がん原性試験は TAK-755 のようなバイオテクノロジー応用医薬品の安全性評価には適用されないため実施しなかった。TAK-755 による補充療法は内因性タンパク質に相当するタンパク質を使用するため、発癌性に関する懸念は少ない。ラットを用いた長期反復投与毒性試験において、TAK-755 のがん原性を示唆する前がん又はがん病変は認められなかった。

2.4.4.5 生殖発生毒性試験

生殖発生毒性及び胎盤通過に関する評価を行う目的で GLP 非適用試験として、交配させた雌 SD ラットに TAK-755 を GD 21 に単回ボーラス IV 投与した（2.6.7.11、4.2.3.5.1-1）。溶媒対照（製剤緩衝液）又は TAK-755 の 3200 U/kg を投与し、投与 30 分後に剖検した。胎

児血清中の ADAMTS13 抗原濃度は、GD 21 の投与 30 分後の母動物血清中濃度の 0.6%以下であった。TAK-755 に関連した所見は認められなかった（一般状態、剖検所見、体重増加量、摂餌量及び妊娠状態）。

受胎能及び胚・胎児発生に関する GLP 適用試験を実施し、雌 SD ラットに交配前 2 週間、交配期間中及び妊娠約 16 日まで TAK-755 を Q3D、0（製剤緩衝液、溶媒対照）、80、200 及び 400 U/kg の用量で IV ボーラス投与した（2.6.7.13、4.2.3.5.1-2）。TAK-755 の 400 U/kg まで投与したところ、いずれの用量においても、TAK-755 に関連した一般状態、体重及び摂餌量の変化、剖検所見は認められなかった。交尾行動、受胎能、性周期及び妊娠状態は、群間で差はなかった。胎児の内臓／骨格検査における異常及び変異の種類及び発現頻度、並びに骨化パラメータから、TAK-755 に関連した影響は示唆されなかった。

ADAMTS13 活性解析により、TAK-755 群すべてで TAK-755 の曝露が認められた。血漿中 ADAMTS13 濃度－時間プロファイルは IV ボーラス投与経路から予想されるものであり、投与後の血漿中濃度の定常的な低下を特徴とする単相性のプロファイルを示した。反復投与後の TAK-755 の全身曝露量は、Days 22 と Day 31/34 で概ね同程度であった。

以上より、TAK-755 を 0、80、200 及び 400 U/kg の用量で投与したとき、母動物に対する有害作用は認められず、受胎能、妊娠状態及び胎児の発達に TAK-755 に関連した影響は認められなかった。また、試験期間中、いずれの動物においても結合 ADA は検出されなかった。したがって、母動物及び胎児に対する NOAEL は、検討した最高用量（400 U/kg）と判断された。この用量における Day 31/34 の ADAMTS13 活性の IV ボーラス投与後の初期濃度は 4.41 U/mL 及び投与後 0 から 54 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積（AUC_{54}）は 97.6 h*U/mL であった。

出生前及び出生後の発生に関する GLP 適用試験を実施し、雌 SD ラットに TAK-755 を 0（製剤緩衝液、溶媒対照）、80、200 又は 400 U/kg の用量で、GD 6 から離乳又は授乳約 21 日目まで Q3D で IV ボーラス投与（投与容量 2 mL/kg）し、妊娠／分娩／授乳期ラット及び受胎から出生児の性成熟までの発達に対する TAK-755 の影響を評価した（2.6.7.14、4.2.3.5.3-1）。400 U/kg 群では、対照群と比べて LDH が低かったが、対照群の背景値の範囲内であり、有害ではないと考えられた。すべての F0 動物で ADA の発現は認められず、血漿試料の ADAMTS13 活性から、すべての用量で TAK-755 の曝露が認められた。F1 動物では、身体的及び機能的発達並びに生殖機能への影響は認められなかった。これらの所見に基づき、母動物の NOAEL は検討した最高用量の 400 U/kg と判断された。

2.4.4.6 幼若動物を用いた試験

TAK-755 のラット及びサルを用いた反復投与毒性試験、並びにラットを用いた生殖発生毒性試験において毒性所見は認められなかったことから、発達中の標的器官に対する懸念はないと考えられ、幼若動物を用いた毒性試験は実施しなかった。

新生児では、若年成人群（20～35 歳）と比較して、ADAMTS13 値は通常では著しく低い。しかしながら、生後 6 カ月までに若年成人群の血漿中濃度と同程度になる[6]。ADAMTS13 の既知の基質は VWF のみである[1]。さらに、正期産児の血漿中 VWF 濃度は成人より高く、生後 6 ヵ月間で徐々に低下し、生後 3 週間から、典型的な成人 VWF マルチマーパターンへと成熟していく[7]。これらのことから、成人と小児の間で TAK-755 に対する感受性に大き

な違いがあるとは考えられない。したがって、成熟動物を用いた標準的な毒性試験により、TAK-755 の投与に関連する有害事象は予測可能であり、成人の安全性データを外挿することも可能である。以上より、幼若動物を用いた試験は、小児患者集団に対する本剤の安全性に関する情報を追加するものとは考え難かった。

2.4.4.7 局所刺激性試験

New Zealand white ウサギの右耳に TAK-755 を単回 IV 投与、単回 IA 投与（いずれも 311 U/mL の用量、投与容量 5 mL を 2 分以内に投与）又は単回 PV（ボーラス）投与（311 U/mL の用量、投与容量 0.5 mL）したときの局所刺激性を GLP 適用試験で評価した（2.6.7.16、4.2.3.6-1）。検討したいずれの投与経路においても、TAK-755 投与後の一般状態に変化はみられず、投与部位の肉眼的変化は認められなかった。病理組織学的検査では、投与部位の局所組織に TAK-755 に関連した有害作用は認められなかった。

別の GLP 適用試験も実施し、雄 New Zealand white ウサギの背部の右側又は左側に TAK-755（300 IU/mL の用量、投与容量 1 mL）を単回 SC 投与したときの局所刺激性を生理食塩水（溶媒対照）と比較し、注射部位を肉眼的及び病理組織学的に評価した（2.6.7.16、4.2.3.6-2）。

ウサギに TAK-755 を投与したときの忍容性は良好であり、IV、IA、PV 及び SC 投与後の一般状態、皮膚所見、体重、体重増加量、摂餌量、剖検及び病理組織学的検査に TAK-755 に関連した所見は認められなかった。

2.4.4.8 トキシコキネティクス

全試験期間における ADAMTS13 活性に基づく全身曝露量の TK 解析結果（2.6.6.2、2.6.6.3 及び 2.6.6.6.1）、並びに主要な非臨床毒性試験の NOAEL における血漿中 TK パラメータの平均値を表 2.4.4-2 に示す。主要な試験の NOAEL は、評価した各最高用量であった。

表 2.4.4-2　SD ラット及びカニクイザルに TAK-755 を単回又は反復 IV 投与したときの NOAEL での ADAMTS13 活性の血漿中 TK パラメータの平均値

動物種（試験の種類）	投与レジメン	投与回数	NOAEL (U/kg)	C_{max} (U/mL)	AUC_{last} (h*U/mL)	t_{last} (h)
単回投与試験						
サル（用量漸増）	QD	1	1,790(a)	33.0	654	60
反復投与毒性試験						
ラット（5 日間）	QD	5	400	6.04/4.30 (M/F)	83/63 (M/F)	24
ラット（28 日間）	Q3D	10	800	14.3	244	72
ラット（30 日間）	QD	30	1,820 (IU/kg) (b)	109	1150	24
ラット（26 週間）	Q3D	61	400	9.56	223	72
サル（1 ヵ月）	QW	5	400	8.70(c)	182 [c]	70
生殖発生毒性試験						
ラット（雌受胎能及び胚・胎児発生に関する試験）	Q3D	11-12	400	4.41(d)	97.6(d)	54(d)
ラット（出生前及び出生後の発生に関する試験）	Q3D	11-12	400	4.41(e)	97.6(e)	54(e)

出典：4.2.3.1-1、4.2.3.2-1、4.2.3.2-2、4.2.3.2-4、4.2.3.2-5、4.2.3.2-7、4.2.3.5.1-2 及び 4.2.3.5.3-1
ADAMTS13：トロンボスポンジン 1 型モチーフを有するディスインテグリン及びメタロプロテイナーゼ第 13 番、AUC_{last}：投与後 0 時間から最終定量可能時点までの血漿中濃度－時間曲線下面積、C_{max}：最高血漿中濃度、F：雌、FRETS-VWF73：VWF の A2 ドメインの 73 個のアミノ酸から構成される蛍光共鳴エネルギー転移基質、IU：国際単位、IV：静脈内、M：雄、NOAEL：無毒性量、QD：1 日 1 回、Q3D：3 日に 1 回、QW：週 1 回、SD：Sprague Dawley、TK：トキシコキネティクス、t_{last}：最終定量可能時点、VWF：フォン・ヴィレブランド因子
(a) 1,790 U/kg の忍容性は良好であった。
(b) 本試験の投与量は IU に基づくものであった。2014 年に、世界保健機関（WHO）ADAMTS13 の第一国際基準（NIBSC コード:[redacted]）が確立された。その結果、遺伝子組換え二次標準品（[redacted]）を社内で製造し、ADAMTS13 の新しい WHO 標準品に対して検定し、物質の試験及び出荷のために導入した。FRETS-VWF73 を用いた ADAMTS13 の活性測定法について、正常プール血漿（単位：U）から WHO 標準品に対して検定した遺伝子組換え標準品（単位：IU）への変換により、[redacted]%の[redacted]が認められた。
(c) 週 1 回投与開始時の値を用いた。Week 4 の投与後には中和抗体の発現率が高く、TAK-755 の曝露量は低かった。
(d) 最終投与日付近での反復投与後の値；Day 31 又は Day 34。
(e) 4.2.3.5.3-1 では TK は実施していない。値は 4.2.3.5.1-2 から引用した。

2.4.4.9 その他の毒性試験

その他の TAK-755 の毒性試験は実施していない。

2.4.5 総括及び結論

TAK-755 の生理学的有効性は、in vitro では各種動物由来の血漿中に含まれる VWF に対する TAK-755 によるタンパク質分解作用により評価し、in vivo では TAK-755 の予防的及び治療的投与による血小板減少及び LDH 上昇の抑制の程度により評価した。ラット及びサルを用いた GLP 適用毒性試験で使用した投与レジメンは、連日投与、Q3D 投与及び QW 投与を含む、臨床での予防治療で適用予定の様々な投与レジメンをカバーしている。

ラットの尾端出血モデルに超生理学的用量の TAK-755 を投与したとき、TAK-755 単独投与又はエノキサパリン若しくはアセチルサリチル酸との併用投与のいずれにおいても、過剰な薬理作用による出血イベント増加のリスクは低かった[5]。

TAK-755 は、よく知られた特異的な作用機序を有するバイオテクノロジー由来のヒト rADAMTS13 であるため、TAK-755 の独立した安全性薬理試験は実施しなかった。安全性薬理の評価項目は GLP 適用の毒性試験に含めた。ラット及びサルにそれぞれ 1,820 IU/kg 及

び 1,790 U/kg を IV 投与し、中枢神経系への影響を評価したところ、異常はみられなかった。これらの用量の C_{max} は、臨床予定用量である 40 IU/kg を IV 投与したときの C_{max} のそれぞれ 97 倍及び 29 倍であった。サルを用いた反復投与毒性試験において、最高用量である 400 U/kg まで心血管系及び呼吸系パラメータに TAK-755 に関連した影響は認められず、本用量の C_{max} は臨床予定用量である 40 IU/kg を IV 投与したときの C_{max} の 7.8 倍であった。

TAK-755 を同程度の用量で IV 投与したときの TAK-755 の曝露量（AUC）は、ラット、ミニブタ及びサルで同程度であった。In vivo 回収率はサルでラット及びミニブタよりも高かったが、MRT、C_{max}、CL、V_{ss}、$t_{1/2z}$ 及び増分回収率は、個体間変動を考慮すると、ラットとサルで同程度の範囲内であった。MRT 及び V_{ss} はミニブタでラット及びサルよりも高値であり、$t_{1/2z}$ はミニブタでラット及びサルよりも約 2 倍長かった。C_{max} 及び CL はミニブタとラット及びサルで同程度であった。V_{ss} は血漿容積より高値であった。ミニブタに TAK-755 を SC 投与したときの IV 投与したときに対するバイオアベイラビリティは、ADAMTS13 タンパク質（抗原）及び ADAMTS13 活性でそれぞれ 65.9%及び 69.1%であった。ADAMTS13 KO マウスでは、他の動物種と比較して AUC は低く、CL 及び V_{ss} は高値であったことから、ADAMTS13 KO 動物種では TAK-755 の消費量が増加することが示唆された。

ラットを用いた胎盤通過試験において、母動物に体重に基づく臨床予定用量である 40 IU/kg の 80 倍に相当する用量で GD 21 に TAK-755 を投与したとき胎児の血清中に検出された TAK-755 はごく少量（最高で母動物の 0.6%）であった。早産児、新生児及び母動物の ADAMTS13 タンパク質（抗原）濃度は同程度であることから、ADAMTS13 タンパク質（抗原）の母動物から胎児へのごく少量の移行は生物学的に重要ではないと考えられた[8][9]。

全体的に、ADAMTS13 KO マウス、SD ラット、New Zealand white ウサギ、カニクイザル及び Göttingen ミニブタに、TAK-755 をそれぞれ最大 200、1,820、800、1,790 及び 200 U/kg の用量で単回 IV ボーラス投与したとき、並びに Göttingen ミニブタに 1,000 U/kg の用量で単回 SC 投与したとき、TAK-755 の曝露が認められた。全体的に、初回投与後の TAK-755 の全身曝露量（C_{max} 及び AUC）は、用量の増加に伴ってほぼ用量に比例して増加し、性差は認められなかった。

IV ボーラス投与したときの TAK-755 の反復投与毒性について、ラットでは最長 26 週間、サルでは最長 1 ヵ月間評価した。TAK-755 を SD ラットでは QD 又は Q3D、カニクイザルでは QW で IV 投与した。TAK-755 の忍容性は良好であり、主要な試験の NOAEL は評価した最高用量であった。ラットを用いた 30 日間及び 26 週間毒性試験において、最高用量（NOAEL）を投与したときの AUC は、臨床での予防治療における IV 投与用量（40 IU/kg）で 2 週に 1 回（Q2W）投与したときの AUC のそれぞれ 222 倍及び 14 倍であった。サルに単回及び 1 ヵ月間反復投与時の最高用量を投与したときの AUC は、臨床での予防治療における IV 投与用量（40 IU/kg）で Q2W 投与したときの AUC のそれぞれ 50 倍及び 12 倍であった。サルでは、中和 ADA が Day 14 には認められなかったが、Day 32 には認められ、TAK-755 の最終曝露量の減少と関連していた。以上から、初回投与時の TAK-755 の曝露量より、AUC の安全域は 12 と算出された。ヒト rADAMTS13 は動物にとって異種タンパク質であるため、ラット及びカニクイザルに rADAMTS13 を反復投与したとき、時間及び用量依存的な結合 ADA 及び中和 ADA の発現が認められた。ラットでは、結合 ADA 及び中和

ADA の発現率は低く、結合 ADA 及び中和 ADA の発現は TAK-755 の曝露量に影響を及ぼさないと結論付けた。サルでは、反復投与試験で結合 ADA 及び中和 ADA の発現率が高く、1 ヵ月間の投与期間終了時に中和 ADA が認められた一部の個体では、血小板の減少、血中ビリルビン及び LDH の増加、病理組織学的所見として肝臓における造血、心臓における髄外造血及び小血管中膜肥厚、並びに腎臓のタンパク円柱が認められた。これらの所見は ADAMTS13 欠乏症で認められる既知の臨床所見に類似していた。これらの影響はラットでは認められなかったが、ウサギを用いた予備試験では TAK-755 の反復投与により TTP 様作用が認められた。サル及びウサギでは、これらの変化は結合 ADA 及び中和 ADA の高発現、又は抗体価の高値によるものであり、内因性 ADAMTS13 に対する交差反応性中和 ADA の発現に関連すると考えられた。上記に加え、反復投与試験終了時までに TAK-755 の曝露量が低くなることから、サルを慢性毒性試験に、ウサギを生殖発生毒性試験に用いることは適切ではないと判断された。TAK-755 に対する抗体の発現は、TAK-755 などの異種ヒト組換えタンパク質をサル及びウサギに反復投与したときに予想される免疫反応であり、有害ではないと考えられた。さらに、動物での ADA の発現は、ヒトでの抗体発現を予測するものではないと考えられている〔ICH S6（R1）〕。治験依頼者は、抗体反応を誘発する可能性に関連する臨床的免疫原性リスクをモニタリングしている。

遺伝毒性試験及びがん原性試験は、TAK-755 が内因性の ADAMTS13 タンパク質（抗原）と同等であり、バイオテクノロジーによる補充療法は発癌性に関する懸念が少ないため実施しなかった。ラットを用いた 26 週間反復投与毒性試験では、TAK-755 のがん原性を示唆する前がん又はがん病変は認められなかった。

ラットを用いた雌受胎能及び初期胚発生に関する生殖発生毒性試験で、所見は認められなかった。また、ラットを用いた 4 週間及び 26 週間反復投与毒性試験では、精子検査及び生殖器官の病理組織学的検査を実施したが、雌雄の受胎能に対する懸念は認められなかった。また、ラットを用いた出生前及び出生後の発生に関する試験でも、所見は認められなかった。ラットを用いた胎盤通過試験では、TAK-755 に関連した所見は認められなかった〔胎児血清中の ADAMTS13 タンパク質（抗原）濃度は、GD 21 の投与 30 分後における母動物血清中濃度の 0.6%以下であった〕。以上より、TAK-755 は受胎能及び胚発生に影響を及ぼさないと考えられる。

毒性試験の NOAEL での TAK-755 の曝露量に基づく安全域と、TAK-755 を臨床予定用量である 40 IU/kg の用量で IV 投与したときの TAK-755 の曝露量との比較を表 2.4.5-1 に示す。試験終了時に高頻度で中和 ADA が認められたサルの 1 ヵ月間毒性試験を除き、非臨床試験の最終投与後の C_{max} 及び AUC を用いて安全域を算出した。サルの 1 ヵ月間毒性試験では、初回投与後の TAK-755 の曝露量を用いた（C_{max}：8.70 U/mL、AUC：182 h*U/mL）。

TAK-755 は、cTTP 患者に対する ERT として開発しており、予防又は急性期（一時補充）投与を目的としている。急性期治療では、初回投与量として Day 1 に 40 IU/kg を投与し、Day 2 に 20 IU/kg、Day 3 以降から急性 TTP エピソードの回復後 2 日目までは 15 IU/kg を投与することを想定している。予防治療では、40 IU/kg を Q2W 投与し、必要に応じて QW 投与も可能とする。非臨床試験で様々な投与レジメン（QD、Q3D 又は QW 投与）を用いたこと、及び AUC の最終定量可能時点（t_{last}）（表 2.4.5-1）が異なることから（例：AUC_{24}、AUC_{72}）、母集団薬物動態解析〔第 1 相 cTTP 試験 1 試験及び実施中の第 3 相 cTTP 試験 2

試験を用いて実施（5.3.3.5-1）〕で得られた 40 IU/kg を IV 投与したときの定常状態における平均血漿中濃度（C_{ave}）である 0.216 IU/mL（Q2W）を用いて、非臨床データと同等の臨床 AUC を算出した。

表 2.4.5-1　TAK-755：NOAEL 並びに AUC 及び C_{max} に基づく安全域

添付資料番号	動物種（試験の種類）	投与レジメン	NOAEL (U/kg)	C_{max} (U/mL)	AUC_{last} (h*U/mL)	t_{last} (h)	予防的治療の安全域(a) 用量比 (U/kg) (b)	C_{max} (c)	Q2W AUC (d)
単回漸増投与									
4.2.3.1-1	サル（用量漸増）	QD	1,790 (e)	33.0	654	60	45	29	50
反復投与毒性試験									
4.2.3.2-1	ラット（5 日間）	QD	400	6.04/4.30 (M/F)	83/63 (M/F)	24	10	5.4/3.8 (M/F)	16/12 (M/F)
4.2.3.2-2	ラット（28 日間）	Q3D	800	14.3	244	72	20	13	16
4.2.3.2-4	ラット（30 日間）	QD	1,820 (IU/kg)	109	1150	24	46	97	222
4.2.3.2-5	ラット（26 週間）	Q3D	400	9.56	223	72	10	8.5	14
4.2.3.2-7	サル（1 ヵ月）	QW	400	8.70 (f)	182 (f)	70	10	7.8	12
生殖発生毒性試験									
4.2.3.5.1-2	ラット（雌受胎能及び胚・胎児発生）	Q3D	400	4.41 (g)	97.6 (g)	54	10	3.9	8.4
4.2.3.5.3-1	ラット（出生前及び出生後の発生）	Q3D	400	4.41 (h)	97.6 (h)	54 (h)	10	3.9	8.4

出典：4.2.3.1-1、4.2.3.2-1、4.2.3.2-4、4.2.3.2-2、4.2.3.2-5、4.2.3.2-7、4.2.3.5.1-2 及び 4.2.3.5.3-1

AUC：血漿中濃度－時間曲線下面積、AUC_{last}：投与後 0 時間から最終定量可能時点までの血漿中濃度－時間曲線下面積、C_{ave}：平均血漿中濃度、$C_{ave,ss}$：定常状態における 1 投与間隔内の平均血漿中濃度、C_{max}：最高血漿中濃度、$C_{max,ss}$：定常状態における最高血漿中濃度、cTTP：先天性血栓性血小板減少性紫斑病、F：雌、IU：国際単位、M：雄、NOAEL：無毒性量、PK：薬物動態、Q2W：2 週に 1 回、Q3D：3 日に 1 回、QD：1 日 1 回、QW：週 1 回、t_{last}：最終定量可能時点

(a) 安全域の算出に用いた 40 IU/kg の予防投与時の臨床 PK パラメータは、第 1 相 cTTP 試験 1 試験及び進行中の第 3 相 cTTP 試験 2 試験を用いて実施した母集団 PK 解析から得られたものである（5.3.3.5-1）。定常状態における $C_{max,ss}$ のモデル平均値は 1.12 IU/mL（Q2W 投与）であった。$C_{ave,ss}$ の平均値は 0.216 IU/mL（Q2W 投与）であった。急性期投与レジメンの予備的パラメータは得られていないが、AUC は予防投与時の約 2 倍になると予想される。

(b) 安全域=NOAEL の非臨床用量（U/kg）/臨床用量（40 IU/kg）

(c) 安全域=NOAEL の非臨床 C_{max}/臨床 C_{max}（1.12 IU/mL）

(d) 安全域=NOAEL の非臨床 AUC_{last}/（Q2W レジメンの 40 IU/kg の C_{ave}（0.216 IU/mL）×非臨床試験での t_{last} 値）

(e) 1,790 U/kg の忍容性は良好であった。

(f) 週 1 回投与開始時の値を用いた。Week 4 の投与後は中和抗体の発現率が高く、TAK-755 の曝露量は低かった。

(g) 最終投与日付近での反復投与後の値；Day 31 又は Day 34。

(h) 4.2.3.5.3-1 ではトキシコキネティクス試験は実施しなかった。値は 4.2.3.5.1-2 から引用した。

急性期投与時のモデルパラメータは得られていないが、急性期投与時の投与レジメン（Day 1 に 40 IU/kg、Day 2 に 20 IU/kg、その後は急性 TTP エピソードの回復後 2 日目まで 15 IU/kg QD）の総投与量 75 IU/kg は、予防投与時の 40 IU/kg のほぼ 2 倍である。したがって、急性期投与時の AUC に基づく安全域は予防投与時よりも低いことが予想される。ラットを用いた 30 日間及び 26 週間反復投与毒性試験の安全域が広いことを考慮すると、急性期投与レジメンはこれまでに得られた非臨床試験の情報によって裏付けられていると考えられる。

一連の非臨床試験プログラムは、cTTP 患者に TAK-755 の臨床使用を支持するために、作用機序及び安全性の包括的評価を提供するものと考えられる。

2.4.6 参考文献一覧

[1] Gao W, Anderson PJ, Sadler JE. Extensive contacts between ADAMTS13 exosites and von Willebrand factor domain A2 contribute to substrate specificity. Blood. 2008;112(5):1713-9.

[2] Zheng XL. ADAMTS13 and von Willebrand factor in thrombotic thrombocytopenic purpura. Annu Rev Med. 2015;66:211-25.

[3] Schiviz A, Wuersch K, Piskernik C, Dietrich B, Hoellriegl W, Rottensteiner H, et al. A new mouse model mimicking thrombotic thrombocytopenic purpura: correction of symptoms by recombinant human ADAMTS13. Blood. 2012;119(25):6128-35.

[4] Adili R, Holinstat M. Formation and resolution of pial microvascular thrombosis in a mouse model of thrombotic thrombocytopenic purpura. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2019;39(9):1817-30.

[5] Rossato P, Glantschnig H, Leidenmühler P, Kopic A, Ruthsatz T, Majer B, et al. Absence of exaggerated pharmacology by recombinant ADAMTS13 in the rat and monkey. Blood Coagul Fibrinolysis. 2022;33(1):56-60.

[6] Mannucci PM, Canciani MT, Forza I, Lussana F, Lattuada A, Rossi E. Changes in health and disease of the metalloprotease that cleaves von Willebrand factor. Blood. 2001;98(9):2730-5.

[7] Manco-Johnson MJ. Development of hemostasis in the fetus and neonate. Thromb Res. 2007;119 Suppl 1:S4-S5.

[8] Rieger M, Ferrari S, Kremer Hovinga JA, Konetschny C, Herzog A, Koller L, et al. Relation between ADAMTS13 activity and ADAMTS13 antigen levels in healthy donors and patients with thrombotic microangiopathies (TMA). Thromb Haemost. 2006;95(2):212-20.

[9] Strauss T, Elisha N, Ravid B, Rosenberg N, Lubetsky A, Levy-Mendelovich S, et al. Activity of Von Willebrand factor and levels of VWF-cleaving protease (ADAMTS13) in preterm and full term neonates. Blood Cells Mol Dis. 2017;67:14-7.