目次

略号一覧表 2
2.4 非臨床試験の概括評価 3
2.4.1 非臨床試験計画概略 3
2.4.2 薬理試験 4
2.4.2.1 効力を裏付ける試験 4
2.4.2.2 副次的薬理試験 4
2.4.2.3 安全性薬理試験 5
2.4.2.3.1 中枢神経系への影響 5
2.4.2.3.2 イヌの心血管系及び呼吸器系への影響 5
2.4.2.3.3 モルモットにおけるアナフィラキシー様反応誘発性（気管支攣縮作用）の評価 5
2.4.2.3.4 ウサギうっ血性血栓症モデルを用いた血栓形成能の評価 6
2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用試験 6
2.4.3 薬物動態試験 6
2.4.4 毒性試験 7
2.4.4.1 単回投与毒性試験 7
2.4.4.1.1 TAK-662 のマウス単回静脈内投与毒性試験 7
2.4.4.1.2 TAK-662 のラット単回静脈内投与毒性試験 7
2.4.4.2 反復投与毒性試験 8
2.4.4.3 遺伝毒性試験 8
2.4.4.4 がん原性試験 8
2.4.4.5 生殖発生毒性試験 8
2.4.4.6 局所刺激性試験 9
2.4.4.7 その他の毒性試験 9
2.4.5 総括及び結論 9
2.4.6 参考文献一覧 10

表

表 2.4.1-1 TAK-662 の非臨床安全性薬理試験及び毒性試験（GLP 非適用） 3
表 2.4.1-2 TAK-662 の非臨床安全性薬理試験及び毒性試験（GLP 適用） 4

略号一覧表

略号	略していない表現又は説明	
APC	Activated protein C	活性化プロテイン C
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
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use	医薬品規制調和国際会議
NMRI	Naval Medical Research Institute	—
NOAEL	No observed adverse effect level	無毒性量
PAI-1	Plasminogen activator inhibitor-1	プラスミノーゲンアクチベーターインヒビター1
PC	Protein C	プロテイン C
PK	Pharmacokinetic	薬物動態
$t_{1/2}$	Elimination half-life	消失半減期
TAK-662	Protein C Concentrate (Human)	プロテイン C 濃縮製剤（ヒト）
tPA	Tissue-type plasminogen activator	組織型プラスミノーゲンアクチベーター
Va	Activated form of factor V	活性化第 V 因子
VIIIa	Activated form of factor VIII	活性化第 VIII 因子

2.4 非臨床試験の概括評価

2.4.1 非臨床試験計画概略

非臨床安全性試験プログラムは、2001 年の欧州における最初の販売承認取得時に他の凝固因子製剤の評価に一般的に使用され、確立されていた様々な動物モデルを用いて実施した。また、各試験で検討した評価項目に対する各種動物の感受性に基づき、試験の種類ごとに適切な動物種を選択した。アナフィラキシー様反応の評価では、感受性が特に高いイヌ及びモルモットを選択した。局所刺激性の評価では、耳の血管での肉眼的観察が容易なことからウサギを選択した。血栓形成能の評価では、標準的なモデルである Wessler のウサギうっ血性血栓症モデルを用いた。単回投与毒性試験では、広く使用されているマウス及びラットを用いた。

TAK-662〔プロテイン C（PC）濃縮製剤（ヒト）〕の非臨床試験として、安全性薬理試験、単回投与毒性試験、変異原性試験及び局所刺激性試験を実施した。さらに、PC の中間バルク粉末を用いて、抗原性に関する探索的試験を実施した。

重要な安全性試験は、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に準拠して実施した。開発初期には、GLP 試験に類似した試験デザインの探索的試験を実施した。製造販売承認申請資料の第 4 部にはこれら両方の試験報告書を含め、本項にはその概括評価を示す。全ての安全性試験は申請予定の市販用製剤と同等の PC を含む凍結乾燥製剤を用いて実施した。

探索的試験（GLP 非適用）及び GLP 試験の一覧をそれぞれ表 2.4.1-1 及び表 2.4.1-2 に示す。

表 2.4.1-1　TAK-662 の非臨床安全性薬理試験及び毒性試験（GLP 非適用）

試験の種類	試験番号	表題
安全性薬理試験	PR309405	General Pharmacodynamics of Protein C (Human; Monoclonal Antibody Purified) Vapor Heated, after Intravenous Administration in Anesthetized Dogs
	PR199404	Protein C (Human; Monoclonal Antibody Purified) Vapor Heated in Guinea Pigs: General Pharmacodynamics after Intra-Arterial Administration
	PR209404	Investigations on the Potential Thrombogenicity of Protein C (Human; Monoclonal Antibody Purified) Vapor Heated
単回投与毒性試験	PR229405	Determination of Acute Toxicity in Mice after Intravenous Administration of Protein C (Human; Monoclonal Antibody Purified) Vapor Heated
	PR259404	Determination of Acute Toxicity in Rats after Intravenous Administration of Protein C (Human; Monoclonal Antibody Purified) Vapor Heated
局所刺激性試験	PR359405	Investigations on Local Tolerance after Intra-arterial, Intravenous, and Paravenous Administration of Protein C (Human; Monoclonal Antibody Purified) Vapor Heated in Rabbits
その他の毒性試験：抗原性試験	PR419405	Immunological Evaluation of Protein C (Human; Monoclonal Antibody Purified) Before and After Vapor Heating

GLP：医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準

表 2.4.1-2 TAK-662 の非臨床安全性薬理試験及び毒性試験（GLP 適用）

試験の種類	試験番号	表題
安全性薬理試験	PR299906	General Pharmacodynamics of Protein C Human after Intravenous Administration in Anesthetized Dogs
	PR149905	Studies on Anaphylactoid Potential of Protein C Human: Bronchospastic Activity in Guinea Pigs
	PR289906	Investigation on the Thrombogenic Potential of Protein C Human in a Rabbit Stasis Model
単回投与毒性試験	PR129905	Determination of Acute Toxicity in Mice after Intravenous Administration of Protein C Human
	PR139905	Determination of Acute Toxicity in Rats after Intravenous Administration of Protein C Human
遺伝毒性試験	IM17	Salmonella Typhimurium Reverse Mutation Assay with “CEPROTIN (Protein C Human)”
局所刺激性試験	PR279906	Investigations on Local Tolerance of Protein C Human in Rabbits

GLP：医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準

2.4.2 薬理試験

2.4.2.1 効力を裏付ける試験

PC はビタミン K 依存性の抗凝固因子であり、主に肝臓で合成され、血漿中では不活性なセリンプロテアーゼ前駆体として循環する。PC は血管内皮細胞膜上でトロンビン／トロンボモジュリン複合体により活性化され、抗凝固作用を有する活性化プロテイン C（APC）に変換される。APC は補酵素であるプロテイン S の存在下で活性化第 V 因子（Va）及び活性化第 VIII 因子（VIIIa）を選択的に不活化し、凝固促進因子であるトロンビンの生成を抑制することにより抗凝固作用を示す。また、APC はプラスミノーゲンアクチベーターインヒビター 1（PAI-1）に結合し、組織型プラスミノーゲンアクチベーター（tPA）の活性を促進することにより、間接的な線溶促進作用を示す。さらに、Va 及び VIIIa の不活化によるトロンビン生成抑制により、トロンビン活性化線溶阻害因子の活性が抑制され、線溶促進作用をもたらす。その他、APC は細胞保護作用及び抗炎症作用も有することが明らかとなっている[1][2]。

PC の薬力学は公表論文及び臨床経験により十分に特徴付けられているため、TAK-662 を用いた効力を裏付ける試験は実施しなかった。

TAK-662 は非活性型 PC 濃縮製剤である。一方、本邦で市販されているアナクト®C は APC である。ヒト及び動物ともに公表文献で報告されているように[3][4]、TAK-662 は体内で PC が APC に変換されることにより効力を示す。

ヒト血漿を用いた in vitro 凝固試験において、ヘビ毒で活性化した PC 濃縮製剤は、PC をトロンビンで活性化し精製した APC 製剤と同様に、活性化部分トロンボプラスチン時間を濃度依存的に延長したことから、APC の抗凝固活性が示された[5]。その他の各種 in vitro 試験結果からも予想されるように[6][7][8]、in vivo 試験でも種特異的 APC をブタに投与すると凝固時間が延長することが報告されている[9]。

2.4.2.2 副次的薬理試験

副次的薬理試験は実施しなかった。副次的薬理作用は、安全性薬理試験及び毒性試験において評価した。

2.4.2.3 安全性薬理試験

全ての GLP 試験において、TAK-662 に含まれる PC に代えて PC と同量の人血清アルブミン並びに TAK-662 と同量の塩化ナトリウム及びクエン酸ナトリウム水和物を含有する溶液をアルブミン対照として用いた。

2.4.2.3.1 中枢神経系への影響

中枢神経系への影響を評価する試験は実施しなかった。TAK-662 は作用機序が十分に解明されていること、内因性ヒトタンパク質であること並びに非臨床試験及び臨床使用経験において中枢神経系に対する毒性を示す所見が認められていないことを踏まえると、中枢神経系への影響を評価するための独立した安全性薬理試験は必要ないと考えられる。

2.4.2.3.2 イヌの心血管系及び呼吸器系への影響

GLP 適用の PR299906 試験において、麻酔下で自発呼吸する雌雄ビーグル犬に、TAK-662 500 IU/kg（2 ロット）、アルブミン対照又は陰性対照（生理食塩液）を 5 mL/kg の液量で静脈内投与した。各群 4 匹（雌雄各 2 匹）から成る 4 群を設定した。被験物質又は対照投与 180 分後、アナフィラキシー様反応の発現を確認するため、全例に陽性対照として筋注用免疫グロブリン 50 mg/kg を静脈内投与した。

TAK-662 投与後、心電図以外の心血管系パラメータに変化は認められなかった。心電図については、1 ロットの TAK-662 群の雄 2 匹及びアルブミン対照群の雌 1 匹で洞性不整脈が観察された。このような変化は本試験で用いた別ロットの TAK-662 群並びに PR309405 試験で TAK-662（PR299906 試験で使用したロットとは異なる 2 ロット）及び溶媒対照を投与した 10 匹では認められなかったことから、3 匹で観察された心電図変化が投与に関連するかについて明確な説明はできなかった。

呼吸器系及び血液凝固系パラメータについては、両ロットの TAK-662 投与後の変化は、アルブミン対照及び／又は陰性対照群でも観察されたことから、生物学的に意味のある変化ではないと考えられた。

陽性対照投与により、心拍数を除く全てのパラメータで有意な変化が認められたことから、試験系の妥当性が確認された。TAK-662、アルブミン対照及び陰性対照投与により、生物学的に意味のある変化は認められなかった。

GLP 非適用の PR309405 試験において、上記の GLP 適用試験と同様の試験デザインで、2 ロットの TAK-662 を評価した。本試験において、検討したいずれのパラメータにも投薬による有害作用は認められなかった。

以上の結果から、TAK-662 投与により心血管系及び呼吸器系機能並びに血液凝固系パラメータに生物学的の意味のある変化は認められず、アナフィラキシー様反応及び播種性血管内凝固の発現リスクは生じ難いと考えられる。

2.4.2.3.3 モルモットにおけるアナフィラキシー様反応誘発性（気管支攣縮作用）の評価

GLP 適用の PR149905 試験において、麻酔下の雄 Dunkin Hartley モルモットに TAK-662 300 IU/kg（2 ロット）、アルブミン対照又は陰性対照（生理食塩液）を 3 mL/kg の液量で動脈内投与した。各群 6 匹から成る 4 群を設定した。被験物質又は対照投与 20 分後に、アナフ

ィラキシー様反応の発現を確認するため、全例に陽性対照として筋注用免疫グロブリン 50 mg/kg を動脈内投与した。気管支攣縮作用は、投与後における肺膨張圧の増加の程度を測定することにより評価した。

TAK-662、アルブミン対照及び陰性対照を投与した動物にいずれも陽性反応は認められなかったが、その後の免疫グロブリン投与により全例で陽性反応が認められたことから、試験系の妥当性が確認された。

GLP 非適用の PR199404 試験において、上記の GLP 適用試験と同様の試験デザインで、3 ロットの TAK-662 を評価した。本試験でも、TAK-662 300 IU/kg を動脈内投与したいずれの動物にも有意な変化は認められなかったが、陽性対照投与後に肺膨張圧は有意に増加した。

以上の結果から、TAK-662 投与後のアナフィラキシー様反応の発現リスクは生じ難いと考えられる。

2.4.2.3.4 ウサギうっ血性血栓症モデルを用いた血栓形成能の評価

GLP 適用の PR289906 試験において、雌雄ニュージーランド白色種ウサギを 1 群 8 匹から成る 3 群に割付け、各群 6 匹に TAK-662 200 IU/kg（2 ロット）又はアルブミン対照を 2 mL/kg の液量で静脈内投与した。各群 2 匹には、陽性対照として同液量の活性型プロトロンビン複合体製剤（20 U/kg）を静脈内投与した。

血栓形成能は、Wessler らが報告した半定量法[10]により、血栓の形成に比例するスコアリングシステム（スコア 0～4、血栓形成能のない陰性物質はスコア 1 を超えない）を用いて評価した。

両ロットの TAK-662（200 IU/kg）投与動物（計 12 匹）では、スコアが 0.5 であった 1 匹を除き、いずれもスコア 0 であり、アルブミン対照投与動物でも血栓形成は認められなかった。陽性対照投与動物でのスコアは 3～4 の範囲であり、試験系の妥当性が確認された。

GLP 非適用の PR209404 試験において、上記の GLP 適用試験と同様の試験デザインで、3 ロットの TAK-662 を評価した。TAK-662 を投与したいずれの動物でもスコアは 0 であった。

以上の結果から、TAK-662 投与後の血栓形成リスクは生じ難いと考えられる。

2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用試験

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-662 の非臨床薬物動態（PK）試験は実施していないが、ヒト PC の PK を非臨床試験で評価する意義はないことを示唆する結果が幾つか得られている。第一に、非臨床動物種でのヒトタンパク質の消失半減期（$t_{1/2}$）は顕著に短いことが知られている。実際、モルモットにおけるヒト PC の $t_{1/2}$ は 2 時間であり[11]、TAK-662 の臨床試験で算出された $t_{1/2}$ の中央値（IMAG-098 試験及び 400101 試験でそれぞれ 10.0 時間及び 12.1 時間）よりも顕著に短い（2.7.2.2.2 及び 2.7.2.2.3 項）。また、ラットのプロテイン S はヒト APC の補酵素として機能できず[12]、ヒト血漿中と比較してラット血漿中ではヒト APC の活性が低い[13]。さらに、ヒト APC は血漿中で PC インヒビター及び α_1-アンチトリプシンによる代謝を受けて不活性化されるが、ヒト血漿中と比較してラット血漿中では不活化速度が速い（ラット及びヒト血

漿での $t_{1/2}$ はそれぞれ 4.4 分及び 13.8 分）[13]。これらの結果を踏まえ、TAK-662 の非臨床 PK 試験を実施する意義はないと考えられた。

2.4.4 毒性試験

2.4.4.1 単回投与毒性試験

2.4.4.1.1 TAK-662 のマウス単回静脈内投与毒性試験

GLP 適用の PR129905 試験において、2 ロットの TAK-662 を評価した。雌雄 Naval Medical Research Institute（NMRI）マウスに、注射用水で約 100 IU/mL の濃度に溶解した TAK-662 を静脈内投与した。TAK-662 は 1500、3000 又は 6000 IU/kg をそれぞれ 15、30 又は 60 mL/kg の液量で投与した。また、アルブミン対照溶液（TAK-662 に含まれる PC に代えて PC と同量の人血清アルブミン並びに TAK-662 と同量の塩化ナトリウム及びクエン酸ナトリウム水和物を含有する）を TAK-662 と同液量で投与した。さらに、陰性対照として生理食塩液を 60 mL/kg の液量で投与した。TAK-662 1500 IU/kg 又はアルブミン対照溶液 15 mL/kg を投与した動物では、生理食塩液を投与した動物と同様に、投与に関連した一般状態所見は認められず、死亡もみられなかった。3000 IU/kg 以上の TAK-662 又は 30 mL/kg 以上のアルブミン対照溶液を投与した動物では、痙攣、呼吸困難、活動性低下及び／又は死亡が認められた。死亡はいずれも投与後 5 分以内に認められた。これらの毒性所見は TAK-662 及びアルブミン対照溶液に含まれる高濃度のクエン酸の毒性に関連していた。本試験結果から、マウスにおける TAK-662 の概略の致死量は 3000 IU/kg であり、無毒性量（NOAEL）は 1500 IU/kg であった。NOAEL は臨床の予定最高投与量である 120 IU/kg の 12.5 倍である。

GLP 非適用の PR229405 試験において、上記の GLP 適用試験と同様の試験デザインで、3 ロットの TAK-662 を 1500、3000、5000 又は 6000 IU/kg の用量で静脈内投与し、同一の項目を評価した。3000 IU/kg 以上の群で痙攣、呼吸困難、活動性低下及び死亡が認められ、クエン酸の毒性に関連した所見と考えられた。概略の致死量は 3000 IU/kg であり、NOAEL は 1500 IU/kg であった。

2.4.4.1.2 TAK-662 のラット単回静脈内投与毒性試験

GLP 適用の PR139905 試験において、2 ロットの TAK-662 を評価した。雌雄 Sprague Dawley ラットに、注射用水で約 100 IU/mL の濃度に溶解した TAK-662（2000 IU/kg）、アルブミン対照溶液（TAK-662 に含まれる PC に代えて PC と同量の人血清アルブミン並びに TAK-662 と同量の塩化ナトリウム及びクエン酸ナトリウム水和物を含有する）又は陰性対照（生理食塩液）を 20 mL/kg の液量で静脈内投与した。TAK-662 に関連した死亡、一般状態所見、体重変化及び肉眼的病理所見は認められなかった。ラットにおける TAK-662 の概略の致死量は 2000 IU/kg 超であり、NOAEL は 2000 IU/kg であった。NOAEL は臨床の予定最高投与量である 120 IU/kg の約 16.7 倍である。

GLP 非適用の PR259404 試験において、上記の GLP 適用試験と同様の試験デザインで、3 ロットの TAK-662 を 1000 又は 2000 IU/kg の用量で投与して同一の項目を評価した結果、同様に死亡又は毒性症状は認められなかった。概略の致死量は 2000 IU/kg 超であり、NOAEL は 2000 IU/kg 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実施しなかった。TAK-662 は製剤中の PC が生体内で APC へ変換されることにより効力を示す。APC の抗凝固／抗血栓作用については高い種特異性が示されており[14]、主として補酵素であるプロテイン S 及び標的である第 V 因子の種特異性に起因していると考えられている[12][13]。したがって、薬理作用に関連する毒性試験動物種の使用には限界があり、TAK-662 の安全性評価のために薬理学的に適切な動物種を選択することは極めて困難である。医薬品規制調和国際会議（ICH）S6（R1）ガイドラインに基づくと、慢性疾患に対する適用が検討されているバイオテクノロジー応用医薬品では、適切な動物種における 6 ヵ月間反復投与毒性試験の実施が一般的に適当と考えられている。しかし、動物にヒトタンパク質を反復投与する試験では、異種動物に抗体が産生されるリスク及びヒトでの反応を反映しない抗原抗体反応に基づく不適合反応のリスクがある。また、TAK-662 は内因性ヒトタンパク質を生理的レベルに到達させることを意図した補充療法として使用される。したがって、推奨用法・用量での臨床使用において、反復投与による安全性の懸念は生じないと考えられる。

2.4.4.3 遺伝毒性試験

GLP 適用の IM17 試験では、ネズミチフス菌株 TA97a、TA98、TA100、TA102 及び TA1535 を用いた復帰突然変異試験において、TAK-662 は 100 µL/plate（10 IU/plate）の用量まで変異原性を示さなかった。

2.4.4.4 がん原性試験

がん原性試験は実施しなかった。TAK-662 に含まれる PC は内因性ヒトタンパク質であり、抗凝固／抗血栓作用に基づく薬理作用が十分に特徴付けられていることから、がん原性は予測されない。異種動物にヒトタンパク質を反復投与する試験の実施は、抗体産生のリスクのため困難であり、抗原抗体反応に基づく不適合反応はヒトでの反応を反映しないと考えられる。「医薬品のがん原性試験に関するガイドラインの改正について（平成 20 年 11 月 27 日付薬食審査発第 1127001 号）」に基づき、TAK-662 が内因性ヒトタンパク質を生理的レベルに到達させることを意図した補充療法として使用されることを考慮すると、がん原性試験は必要とされない。

2.4.4.5 生殖発生毒性試験

生殖発生毒性試験は実施しなかった。TAK-662 に含まれる PC は内因性ヒトタンパク質であり、血液中での抗凝固作用及び間接的な線溶促進作用を有することが知られている。また、TAK-662 は内因性ヒトタンパク質を生理的レベルに到達させることを意図した補充療法として用いられることから、過剰な薬理作用が発現することによる生殖発生への影響は予測されない。薬理作用に関連する毒性試験動物種の使用には限界があり、TAK-662 の安全性評価のために薬理学的に適切な動物種を選択することは極めて困難である。さらに、異種動物にヒトタンパク質を反復投与する試験の実施は、抗体産生のリスクのため困難であり、抗原抗体反応に基づく不適合反応はヒトでの反応を反映しないと考えられる。したがって、動物試験を実施する意義はないと考えられる。

2.4.4.6 局所刺激性試験

GLP 適用の PR279906 試験において、注射用水に約 100 IU/mL の濃度で溶解した TAK-662 を雌雄ニュージーランド白色種ウサギの片耳に静脈内、動脈内又は静脈周囲投与した。2 ロットの TAK-662 をそれぞれ 500 IU／匹（静脈内及び動脈内投与、5 mL／匹）又は 100 IU／匹（静脈周囲投与、1 mL／匹）の用量で投与した。対照群には、同液量のアルブミン対照溶液（TAK-662 に含まれる PC に代えて PC と同量の人血清アルブミン並びに TAK-662 と同量の塩化ナトリウム及びクエン酸ナトリウム水和物を含有する）を投与した。陰性対照として、同液量の生理食塩液を各動物の対側耳に同様に投与した。観察期間中、いずれの動物にも行動異常は認められず、投与部位に TAK-662 に関連した所見は認められなかった。TAK-662 及びアルブミン対照溶液のいずれの投与でも投与部位に病理組織学的所見は認められなかった。結論として、TAK-662 のウサギにおける静脈内、動脈内又は静脈周囲投与時の忍容性は良好であった。

GLP 非適用の PR359405 試験において、上記の GLP 適用試験と同様の試験デザインで、3 ロットの TAK-662 を同液量で同用量まで投与し、同一の項目を評価した。その結果、同様に良好な忍容性が示された。

2.4.4.7 その他の毒性試験

GLP 非適用の PR419405 試験において、精製 PC の蒸気加熱処理による新規抗原の生成の有無を評価し、製造工程におけるウイルス不活化のための蒸気加熱処理が PC の分子完全性に及ぼす影響を検討した。TAK-662 の製造工程における精製 PC の蒸気加熱処理により新規抗原の生成は認められず、蒸気加熱処理前の精製 PC 中に存在する抗原の減少もみられなかった。

2.4.5 総括及び結論

TAK-662 は、先天性 PC 欠乏症患者における血栓の治療及び予防を目的とした内因性ヒトタンパク質であり、PC の補充療法として用いられる。

PC の薬力学は公表論文及び臨床経験により十分に特徴付けられているため、TAK-662 を用いた効力を裏付ける試験は実施しなかった。

安全性薬理試験において、TAK-662 を 200～500 IU/kg の用量範囲で単回投与した。イヌに TAK-662 500 IU/kg を静脈内投与後、心血管系及び呼吸器系機能並びに血液凝固系パラメータに生物学的に意味のある変化は認められなかった。モルモットに TAK-662 300 IU/kg を動脈内投与後、アナフィラキシー様反応は認められなかった。ウサギに TAK-662 200 IU/kg を静脈内投与後、血栓形成は認められなかった。以上より、安全性薬理試験において TAK-662 投与に関連する有害な影響は認められず、これらの試験における無影響量は、臨床の予定最高投与量である 120 IU/kg を上回っていた。

TAK-662 の非臨床 PK 試験は実施しなかった。モルモットにおけるヒト PC の $t_{1/2}$ は顕著に短いこと、ヒト血漿中と比較して、ラット血漿中ではヒト APC の活性が低く、ヒト APC 不活化速度が速いことを踏まえると、非臨床 PK 試験を実施する意義はないと考えられた。

TAK-662 の単回投与毒性試験における概略の致死量及び NOAEL は、マウスではそれぞれ 3000 IU/kg 及び 1500 IU/kg、ラットではそれぞれ 2000 IU/kg 超及び 2000 IU/kg であった。マ

ウスで認められた毒性所見は投与液に含まれるクエン酸の毒性に関連していた。両動物種共に臨床の予定最高投与量（120 IU/kg）と NOAEL との間に十分に大きな安全域が示されている。TAK-662 の反復投与毒性試験及び生殖発生毒性試験は実施していないが、TAK-662 は内因性ヒトタンパク質を生理的レベルに到達させることを意図した補充療法として使用されることから、推奨用法・用量での臨床使用において反復投与による安全性の懸念はないと考えられ、過剰な薬理作用が発現することによる生殖発生への影響も予測されない。In vitro 復帰突然変異試験において、TAK-662 の変異原性は示されなかった。TAK-662 に含まれる PC は内因性ヒトタンパク質であり、抗凝固／抗血栓作用に基づく薬理作用が十分に特徴付けられていることから、遺伝毒性及びがん原性は予測されない。ウサギを用いた局所刺激性試験において、予定臨床使用濃度である 100 IU/mL の静脈内、動脈内又は静脈周囲投与の忍容性は良好であることが示された。さらに、ウサギを用いた抗原性に関する探索的試験において、精製 PC の蒸気加熱処理により新規抗原の生成又は蒸気加熱処理前の精製 PC 中に存在する抗原の減少のいずれの変化も認められなかった。

結論として、非臨床安全性薬理及び毒性評価に関する以上の情報は、TAK-662 の臨床使用における安全性を十分支持していると考えられる。

2.4.6 参考文献一覧

[1] Mosnier LO, Zlokovic BV, Griffin JH. The cytoprotective protein C pathway. Blood. 2007;109(8):3161-72.

[2] Dinarvand P, Moser KA. Protein C Deficiency. Arch Pathol Lab Med. 2019;143(10):1281-5.

[3] Conard J, Bauer KA, Gruber A, Griffin JH, Schwarz HP, Horellou MH, et al. Normalization of markers of coagulation activation with a purified protein C concentrate in adults with homozygous protein C deficiency. Blood. 1993;82(4):1159-64.

[4] Pichler L, Schramm W, Ulrich W, Varadi K, Schwarz HP. Antinociceptive properties of protein C in a model of inflammatory hyperalgesia in rats. Thromb Haemost. 1995;73(2):252-5.

[5] Okajima K, Koga S, Kaji M, Inoue M, Nakagaki T, Funatsu A, et al. Effect of protein C and activated protein C on coagulation and fibrinolysis in normal human subjects. Thromb Haemost. 1990;63(1):48-53.

[6] Comp PC, Esmon CT. Activated protein C inhibits platelet prothrombin-converting activity. Blood. 1979;54(6):1272-81.

[7] Comp PC, Jacocks RM, Ferrell GL, Esmon CT. Activation of protein C in vivo. J Clin Invest. 1982;70(1):127-34.

[8] Marlar RA, Kleiss AJ, Griffin JH. Mechanism of action of human activated protein C, a thrombin-dependent anticoagulant enzyme. Blood. 1982;59(5):1067-72.

[9] Snow TR, Deal MT, Dickey DT, Esmon CT. Protein C activation following coronary artery occlusion in the in situ porcine heart. Circulation. 1991;84(1):293-9.

[10] Wessler S, Reimer SM, Sheps MC. Biologic assay of a thrombosis-inducing activity in human serum. J Appl Physiol. 1959;14:943-6.

[11] Berger Jr. H, Kirstein CG, Orthner CL 1991. Pharmacokinetics of activated protein C in guinea pigs. Blood. 77(10):2174-84.

[12] Yasuda F, Hayashi T, Tanitame K, Nishioka J, Suzuki K. Molecular cloning and functional characterization of rat plasma protein S. J Biochem. 1995;117(2):374-83.

[13] Katsuura Y, Mochizuki T, Tamura M, Hoshide S, Kiyoki M, Nakagaki T, et al. Species specificity of anticoagulant activity of activated human protein C. Involvement of factor V as well as protein S. Thromb Res. 1996;82(2):147-57.

[14] Macias WL, Yan SB, Williams MD, Um SL, Sandusky GE, Ballard DW, et al. New insights into the protein C pathway: potential implications for the biological activities of drotrecogin alfa (activated). Crit Care. 2005;9 Suppl 4:S38-45.