2.6.1　緒言

2.6.1.1　被験物質

国際一般名：avacincaptad pegol

米国一般名：avacincaptad pegol sodium

一般的名称：アバシンカプタド　ペゴルナトリウム

国際純正・応用化学連合（IUPAC）名：Poly(oxy-1,2-ethanediyl), α-hydro-ω-methoxy-, 5'-ether with RNA ((2'-deoxy-2'-fluoro)C-Gm-(2'-deoxy-2'-fluoro)C-(2'-deoxy-2'-fluoro)C-G-(2'-deoxy-2'-fluoro)C-Gm-Gm-(2'-deoxy-2'-fluoro)U-(2'-deoxy-2'-fluoro)C-(2'-deoxy-2'-fluoro)U-(2'-deoxy-2'-fluoro)C-Am-Gm-Gm-(2'-deoxy-2'-fluoro)C-G-(2'-deoxy-2'-fluoro)C-(2'-deoxy-2'-fluoro)U-Gm-Am-Gm-(2'-deoxy-2'-fluoro)U-(2'-deoxy-2'-fluoro)C-(2'-deoxy-2'-fluoro)U-Gm-Am-Gm-(2'-deoxy-2'-fluoro)U-(2'-deoxy-2'-fluoro)U-(2'-deoxy-2'-fluoro)U-A-(2'-deoxy-2'-fluoro)C-(2'-deoxy-2'-fluoro)C-(2'-deoxy-2'-fluoro)U-Gm-(2'-deoxy-2'-fluoro)C-Gm-(3'→3')-dT) 5'-[6-[[(2,3- dihydroxypropoxy)carbonyl] amino]hexyl hydrogen phosphate], sodium salt (2:1:39)

分子式

非ポリエチレングリコール（PEG）化アプタマー（遊離酸）：$C_{389}H_{482}F_{21}N_{142}O_{258}P_{39}$

アバシンカプタド　ペゴル（遊離酸）：$C_{395}H_{492}F_{21}N_{142}O_{262}P_{39}(C_2H_4O)_{2n}$ ただし，n = 約 485

分子量

非 PEG 化アプタマー（遊離酸）：平均質量 12,882 Da

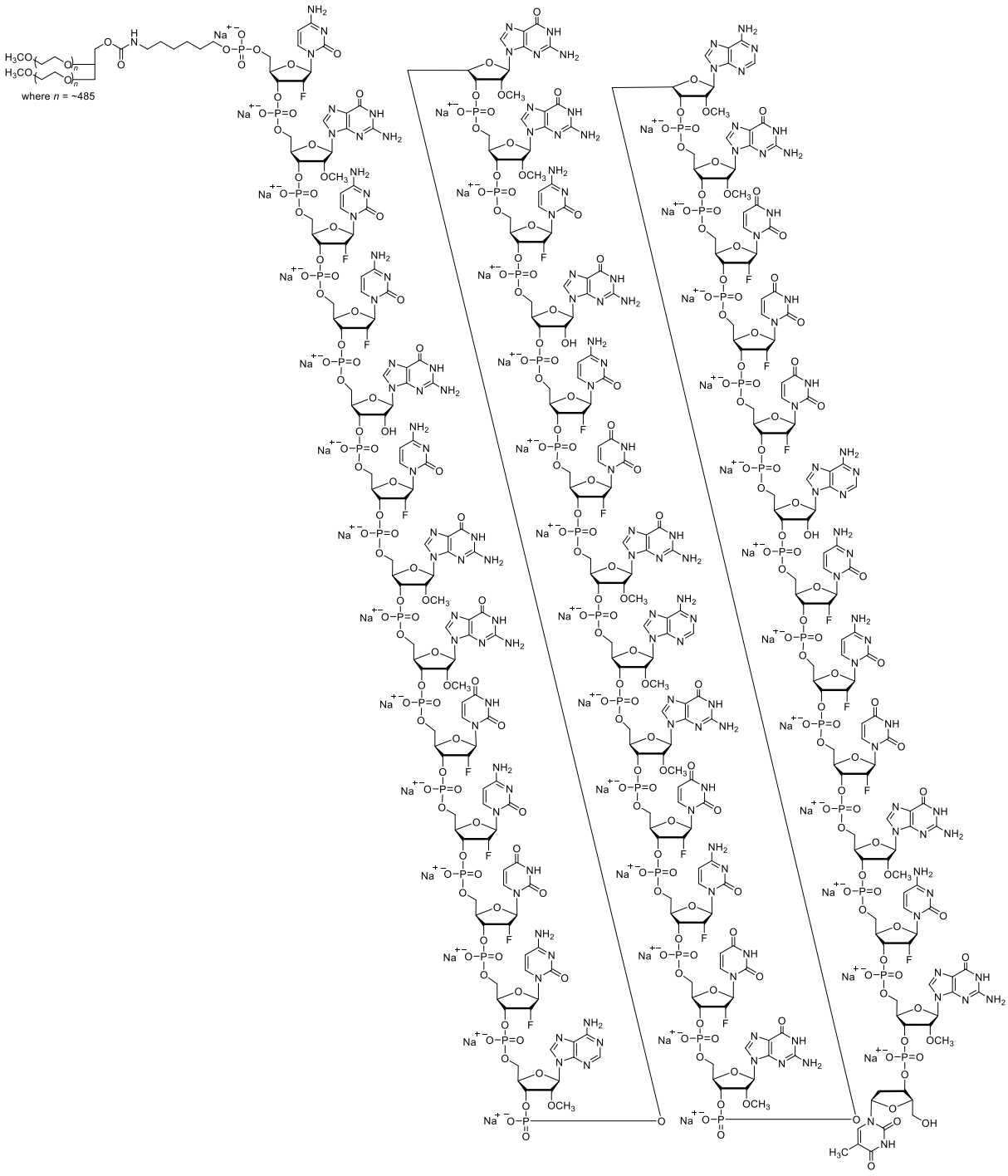
アバシンカプタド　ペゴル（遊離酸）：12,882 Da + 約 43,000 Da PEG = 約 55,882 Da

CAS 番号：1491144-00-3

化合物番号：ARC1905

構造式：アバシンカプタド　ペゴルナトリウムの構造を図 2.6.1- 1 に示す。

図 2.6.1- 1　　アバシンカプタド　ペゴルナトリウムの分子構造



2.6.1.2　薬理学的作用及び背景

アバシンカプタド　ペゴルナトリウム（ARC1905，以降「アバシンカプタド　ペゴル」）は，PEG 共役 RNA アプタマーである。ヒト補体第 5 成分（C5）に高い親和性と選択性で結合して作用し，補体活性化を阻害する。

C5a 及び C5b は補体カスケードの主な末端エフェクターであり，補体の活性化に伴って生成する C5 転換酵素によって，C5 から開裂する［Holers, 2014］。C5a はインフラマソームのプライミングと活性化に関与し，炎症反応を伴うプログラムされた溶解性細胞死であるパイロトーシスを引き起こす［Brandstetter et al, 2015］。また，C5b は細胞表面に細胞膜傷害性複合体を形成及び蓄積させ，細胞死を引き起こす［Holers, 2014］。C5 は，加齢黄斑変性（AMD）において炎症の重要なメディエーターとされており［Brandstetter et al, 2015］，地図状萎縮（GA）の特徴である網膜下ドルーゼンの中には補体蛋白が検出されている［Hageman et al, 2001; Cao et al, 2016］。

アバシンカプタド　ペゴルは，補体カスケードの最終段階に位置する C5 に結合して活性化（C5a 及び C5b への開裂）を阻害するため，どの補体経路（古典，第二又はレクチン）を介した活性化であっても阻害作用が期待できる。一方，アバシンカプタド　ペゴルは宿主防御機構の重要な構成要素である C3 から C3a 及び C3b への切断を阻害しないため，C3b による病原体除去などの補体経路の有益な効果は維持される。

2.6.1.3　効能・効果

萎縮型 AMD における GA の進行抑制

2.6.1.4　用法・用量

アバシンカプタド　ペゴル 2 mg/0.1 mL（リンカーを含むオリゴヌクレオチド部分として）を初回から 12 カ月までは 1 カ月に 1 回，硝子体内投与し，以降は 2 カ月に 1 回，硝子体内投与する。

2.6.1.5　参考文献

Brandstetter C, Holz FG, Krohne TU. Complement component C5a primes retinal pigment epithelial cells for inflammasome activation by lipofuscin-mediated photooxidative damage. J Biol Chem. 2015;290(52):31189-98.

Cao S, Wang JCC, Gao J, Wong M, To E, White VA, et al. CFH Y402h polymorphism and the complement activation product C5a: effects on NF- κB activation and inflammasome gene regulation. Br J Ophthalmol. 2016;100(5):713-8.

Hageman GS, Luthert PJ, Chong NHV, Johnson LV, Anderson DH, Mullins RF. An integrated hypothesis that considers drusen as biomarkers of immune-mediated processes at the RPE-Bruch's membrane interface in aging and age-related macular degeneration. Prog Retin Eye Res. 2001;20(6):705-32.

Holers VM. Complement and its receptors: new insights into human disease. Annu Rev Immunol. 2014;32:433-59.

目次

2.6.2　薬理試験の概要文 5
2.6.2.1　まとめ 5
2.6.2.2　効力を裏付ける試験 7
2.6.2.2.1　In Vitro 効力を裏付ける試験 7
2.6.2.2.2　In Vivo 効力を裏付ける試験 12
2.6.2.3　副次的薬理試験 26
2.6.2.3.1　オフターゲット作用の検討 26
2.6.2.4　安全性薬理試験 32
2.6.2.4.1　In Vitro 安全性薬理試験 32
2.6.2.4.2　In Vivo 安全性薬理試験 33
2.6.2.5　薬力学的薬物相互作用試験 34
2.6.2.5.1　ARC187 のヘパリン及びプロタミンの薬力学的特性に対する影響（C5-DI-001-05 試験） 34
2.6.2.6　考察及び結論 35
2.6.2.7　図表 36
2.6.2.8　参考文献 37

表

表 2.6.2- 1　Ex vivo 用量漸増静脈内投与後の古典経路の活性化（ATCF）及び第二経路の活性化（ザイモサンを介する C5a 生成）による補体活性の阻害 14
表 2.6.2- 2　用量漸増静脈内投与後の血漿中アバシンカプタド　ペゴルの濃度と補体活性（ATCF）阻害の関係 15
表 2.6.2- 3　Ex vivo 単回静脈内投与後の古典経路の活性化（sRBC 溶血）による補体活性に対する阻害 18
表 2.6.2- 4　アバシンカプタド　ペゴルの蛋白親和性スクリーニング 26
表 2.6.2- 5　アバシンカプタド　ペゴルのオフターゲット作用の評価を実施した試験 27

図

図 2.6.2- 1　ARC186 の補体蛋白への結合 8

図 2.6.2- 2　ヒト血清の存在下における ARC672 及びアバシンカプタド　ペゴルによる溶血の阻害 9
図 2.6.2- 3　ヒト及びカニクイザル血清中のアバシンカプタド　ペゴルによる C5a 生成の阻害 10
図 2.6.2- 4　ヒト又はカニクイザル血清中のアバシンカプタド　ペゴルが C3a 生成に及ぼす影響 11
図 2.6.2- 5　ヒト，カニクイザル及びラット血清の存在下におけるアバシンカプタド　ペゴルによる溶血の阻害 12
図 2.6.2- 6　Ex vivo 単回静脈内投与後の古典経路の活性化（ATCF）による補体活性に対する阻害 17
図 2.6.2- 7　単回静脈内投与後の血漿中アバシンカプタド　ペゴル濃度と補体活性（ATCF）阻害の関係 19
図 2.6.2- 8　Ex vivo 反復静脈内投与後の古典経路の活性化（ATCF）による補体活性に対する阻害 21
図 2.6.2- 9　Ex vivo　反復静脈投与後の第二経路活性化（ザイモサンを介する C5a 生成）による補体活性に対する阻害 22
図 2.6.2- 10 Ex vivo　反復静脈内投与後の古典経路活性化（sRBC 溶血）による補体活性に対する阻害 23
図 2.6.2- 11 Ex vivo　反復静脈内投与後の古典経路活性化（cRBC 溶血）による補体活性に対する阻害 24
図 2.6.2- 12 反復静脈内投与後の血漿中アバシンカプタド　ペゴル濃度と補体活性（ATCF）阻害の関係 25
図 2.6.2- 13 生理食塩水対照群と ARC187 群の平均 ACT 35

略語及び用語の一覧

略語及び用語	定義
ACT	activated clotting time：活性凝固時間
AMD	age-related macular degeneration：加齢黄斑変性
APTT	activated partial thromboplastin time：活性化部分トロンボプラスチン時間
ARC186	5’末端にヒドロキシル基をもつアバシンカプタド　ペゴルナトリウムのオリゴヌクレオチド部分
ARC187	アバシンカプタド　ペゴルナトリウムと異なる供給元の分岐 PEG が，同じオリゴヌクレオチドに結合した PEG 共役アプタマー
ARC672	ヘキシルアミノリンカーがホスホジエステル結合によって 5’末端に結合したアバシンカプタド　ペゴルナトリウムのオリゴヌクレオチド部分
ATCF	animal total complement function：動物の総補体機能
Bb	fragment of complement Factor B：補体 B 因子の断片
C3	complement component 3：補体第 3 成分
C5	complement component 5：補体第 5 成分
CPB	cardiopulmonary bypass：心肺バイパス
cRBC	chicken red blood cells：ニワトリ赤血球
CH_{50}	50% complement-mediated hemolysis：50%補体媒介溶血
ECG	electrocardiogram：心電図
GA	geographic atrophy：地図状萎縮
GLP	Good Laboratory Practice：医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施基準
hERG	human ether-à-go-go related gene：ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子
HR	heart rate：心拍数
IC_{50}	concentration of drug required for 50% inhibition of activity in vitro：in vitro で 50%の活性阻害に必要な薬物濃度
IC_{90}	concentration of drug required for 90% inhibition of activity in vitro：in vitro で 90%の活性阻害に必要な薬物濃度
IC_{99}	concentration of drug required for 99% inhibition of activity in vitro：in vitro で 99%の活性阻害に必要な薬物濃度
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use：医薬品規制調和国際会議
IgG	immunoglobulin G：免疫グロブリン G
IgM	immunoglobulin M：免疫グロブリン M
K_D	dissociation constant：解離定数
K_I	inhibition constant：阻害定数
MAC	membrane attack complex：細胞膜傷害性複合体
MAP	mean arterial pressure：平均動脈圧
NOAEL	No-Observed-Adverse-Effect-Level：無毒性量
NOEL	No-Observed-Effect-Level：無作用量
NZW	New Zealand White
$PaCO_2$	partial pressures of carbon dioxide：二酸化炭素分圧
PaO_2	partial pressures of oxygen：酸素分圧
PD	pharmacodynamics：ファーマコダイナミクス
PEG	polyethylene glycol：ポリエチレングリコール
PT	prothrombin time：プロトロンビン時間
RNA	ribonucleic acid：リボ核酸
SaO_2	saturation of hemoglobin with oxygen：ヘモグロビン酸素飽和度
SD	Sprague-Dawley

略語及び用語	定義
sRBC	sheep red blood cells：ヒツジ赤血球
TD	toxicodynamics：トキシコダイナミクス
TK	toxicokinetics：トキシコキネティクス

2.6.2　薬理試験の概要文

2.6.2.1　まとめ

アバシンカプタド　ペゴルナトリウム（ARC1905，以下，アバシンカプタド　ペゴル）について，GA を伴う萎縮型 AMD の治療薬としての有用性を裏付ける非臨床薬理試験を実施した。

アバシンカプタド　ペゴルの薬理及び安全性薬理プロファイルを特徴付ける一連の試験の概要表は，［2.6.3 薬理試験概要表］に示した。安全性薬理試験は，ICH ガイドライン S7A（安全性薬理試験ガイドライン）及び S7B（ヒト用医薬品の心室再分極遅延［QT 間隔延長］の潜在的可能性に関する非臨床的評価）に従って実施した。また，生物学的に同等な化合物である ARC187 を用いた試験や，PEG 非存在下における C5 へのアプタマーの結合を評価するために，ARC672 又は ARC186 を用いた試験を実施した。使用したアプタマーは，各試験において明記されている。全ての in vivo 薬理試験及び GLP に準拠した安全性薬理試験では，製品化を予定しているアバシンカプタド　ペゴルを用いた。アバシンカプタド　ペゴルの濃度及び用量はオリゴヌクレオチドの質量として表記した。

当初アバシンカプタド　ペゴルは，他の疾患（心血管系）への適応を想定していたため，硝子体内投与経路とは異なる静脈内投与経路を用いた多数の非臨床試験が実施されており，in vivo の全ての効力を裏付ける試験及び安全性薬理試験においては，アバシンカプタド　ペゴルは静脈内投与された。静脈内投与は，アバシンカプタド　ペゴルの臨床投与経路ではないが，試験で得られた結果はアバシンカプタド　ペゴルの薬理学的特性と作用機序の理解の一助となる。さらに，ヒト疾患を反映し，且つアバシンカプタド　ペゴルの作用を予見できる GA の適切な動物モデルが存在しないため，本プログラムでは化合物の効力，標的への関与，選択性，薬物動態及び安全性に焦点を当てている。

アバシンカプタド　ペゴルの静脈内投与による非臨床薬理試験を実施するために，当初はげっ歯類として SD ラット，非げっ歯類としてカニクイザルを選択した。

SD ラットは，アンチセンスオリゴヌクレオチドで報告されている非特異的な凝固阻害（APTT の延長）や標的臓器へのオリゴヌクレオチド関連物質の蓄積に対して感受性を有する可能性が高いと報告されている［Farman & Kornbrust, 2003］。したがって，薬理活性を示さないものの，SD ラットはアバシンカプタド　ペゴルの非臨床毒性評価に適した種（及び系統）であり，非特異的な TD 及び毒性［2.6.6 毒性試験の概要文］の評価が可能であると考えられた。

カニクイザルは，ヒトと比べて作用が弱いものの in vitro 及び ex vivo でアバシンカプタド　ペゴルが C5 活性化を阻害するため，アバシンカプタド　ペゴルの非臨床評価に適した種であると考えられた。また，カニクイザルはアンチセンスオリゴヌクレオチドで報告されている非特異的な凝固阻害（APTT の延長）や標的臓器へのオリゴヌクレオチド関連物質の蓄積に対して感受性を有することが報告されている［Farman & Kornbrust, 2003］。したがって，カニクイザルはアバシンカプタド　ペゴルの PD，非特異的な TD 及び毒性［2.6.6 毒性試験の概要文］の評価が可能である種と考えられた。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験では結合試験及び補体活性阻害試験を実施し，2.6.2.3 副次的薬理試験ではアバシンカプタド　ペゴルのオフターゲット作用を検討した。2.6.2.4 安全性薬理試験では，in vitro hERG チャネル電気生理学的試験及びラット及びカニクイザルを用いた in vivo 試験を実施し，中枢神経系，心血管系及び呼吸系への影響を評価した。

効力を裏付ける試験

In vitro においてアバシンカプタド　ペゴルは，ヒト C5 に高い親和性及び選択性を示し，古典及び第二経路活性化後の補体活性を阻害した。アバシンカプタド　ペゴルはヒト C5 の活性化を完全に阻害する一方，補体 C3 の切断や C3a の生成を阻害しなかったことから，病原体に対する宿主防御などの補体経路の有益な効果は維持されると考えられる。

アバシンカプタド　ペゴルに対する，カニクイザル及び SD ラットの反応性を検討した。アバシンカプタド　ペゴルはカニクイザル C5 に反応したが，効力はヒト C5 に対する反応に比べて 10 倍程度低かった。一方で，アバシンカプタド　ペゴルはラット C5 には反応しなかった。

また，アバシンカプタド　ペゴルをカニクイザルに静脈内投与した 3 つの in vivo 単回又は反復投与試験において，血漿中アバシンカプタド　ペゴル濃度が 130 µg/mL を超えると，補体の古典及び第二経路を介した補体経路の活性化が阻害されることが示された。

アバシンカプタド　ペゴルの効力を裏付ける薬力学試験は 2.6.2.2 効力を裏付ける試験に示す。

副次的薬理試験

アンチセンス分子などのオリゴヌクレオチドは，内因性凝固系の抑制及び補体の第二経路の活性化と関連している［Henry et al, 1997; Sheehan & Lan, 1998］。アバシンカプタド　ペゴルのこれらの潜在的なオフターゲット作用を，カニクイザル及び SD ラットにおいて in vitro 及び in vivo の両方で評価した。

抗凝固作用

In vitro 及び in vivo 試験の結果（SD ラット，NZW ウサギ，ビーグル犬及びカニクイザル）から，アバシンカプタド　ペゴルの抗凝固作用及び APTT 延長のリスクは低いことが示唆された。カニクイザルを用いた in vivo 試験において，少なくとも 200 µg/mL までの血漿中濃度では抗凝固作用を示さなかった。APTT に対しては 389 µg/mL 以上の血漿中濃度においては延長させる可能性が示されたが，この閾値濃度は，アンチセンスオリゴヌクレオチドが APTT を延長すると報告されている血漿中濃度（100 µg/mL 未満）［Sheehan and Lan, 1998］の少なくとも 3 倍である。同様に SD ラットにおいて，アバシンカプタド　ペゴルは軽度から中等度の APTT 延長を示したが，血漿中濃度との明確な相関は認められなかった。NZW ウサギ及びビーグル犬において，アバシンカプタド　ペゴルの硝子体内投与後の凝固系パラメータには，生物学的に意味のある変化は観察されなかった。

補体活性化作用

アンチセンスオリゴヌクレオチドとは異なり，アバシンカプタド　ペゴルは in vitro のヒト血清又は in vivo のカニクイザルにおいて，2 mg/mL の濃度でも補体の活性化（C3a 及び／又は Bb 生成により評価）を示さなかった。この濃度は，硝子体内投与後の動物で測定されたアバシンカプタド　ペゴルの血漿中濃度より数千倍高い。

アバシンカプタド　ペゴルの副次的薬理試験は 2.6.2.3 副次的薬理試験項に示す。

安全性薬理試験

hERG を発現させた HEK293 細胞を用いて，hERG 電流に及ぼす影響を検討した。また，カニクイザル又は SD ラットを用いて，アバシンカプタド　ペゴルを静脈内投与し，心血管系及び呼吸系又は中枢神経系に及ぼす影響を検討した。hERG 電流抑制作用の IC_{50} は 100 µmol/L 以上であった。カニクイザルの心血管系及び呼吸系，SD ラットの中枢神経系に対するアバシンカプタド　ペゴルの影響は認められなかった。

アバシンカプタド　ペゴルの安全性薬理試験は，2.6.2.4 安全性薬理試験に示す。

薬力学的薬物相互作用試験

ARC187 を用いて，アバシンカプタド　ペゴルがヘパリン誘発 ACT に影響を及ぼす可能性及びプロタミンによるその中和に影響を及ぼす可能性を，SD ラットにおいて評価した。平均血漿中濃度 13.60 µmol/L で，ARC187 はラットにおけるヘパリンの抗凝固剤としての機能又はヘパリンの効果を中和させるプロタミンの機能を阻害しなかった。

アバシンカプタド　ペゴルの薬力学的薬物相互作用試験は 2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験に示す。

2.6.2.2　効力を裏付ける試験

2.6.2.2.1　In Vitro 効力を裏付ける試験

2.6.2.2.1.1　結合試験

2.6.2.2.1.1.1　C5 に対する親和性及び選択性（3021-PH-0001 及び C5-PHARM-001-05 試験）

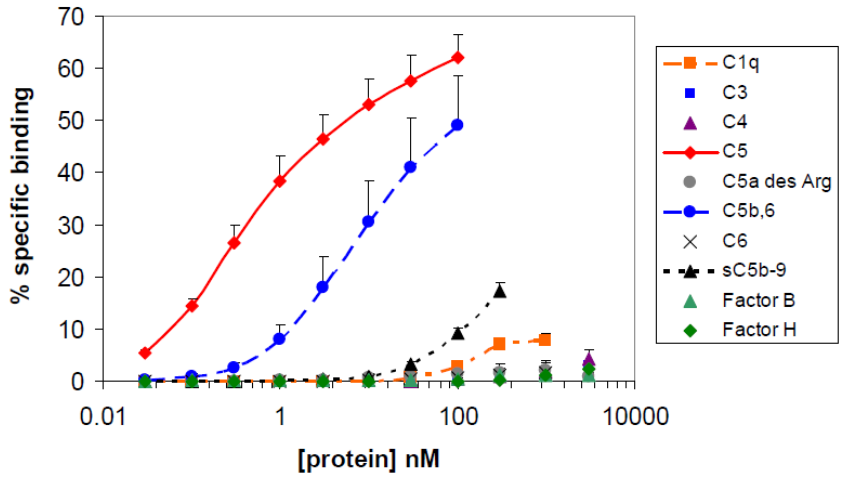
添付資料 4.2.1.1-1，4.2.1.1-2 (参)

アバシンカプタド　ペゴル及び ARC186 のヒト C5 に対する結合親和性を検討した。併せて他の血清蛋白（補体成分や凝固因子）に対する結合親和性も検討した。凝固因子に対する作用については副次的薬理試験として 2.6.2.3.1.2 抗凝固作用及び補体活性化作用に記載した。

［3021-PH-0001 試験］では，アバシンカプタド　ペゴルのヒト C5 蛋白に対する結合親和性を，Biacore™システムを用いた表面プラズモン共鳴法により評価した。ヒト C5 に結合するアバシンカプタド　ペゴルの K_D 値は 6.0 nmol/L（95%信頼区間: 3.4, 11）であった。

［C5-PHARM-001-05 試験］では，ニトロセルロース濾過を用いて，25°C 及び 37°C における精製ヒト C5 蛋白への ARC186 の結合を評価した。その結果，ARC186 はヒト C5 に高い親和性（25°C における $K_D = 0.14 \pm 0.036$ nmol/L; 37°C における $K_D = 0.41 \pm 0.056$ nmol/L）で結合した。PEG が付加されたアバシンカプタド　ペゴルの C5 結合活性は，ARC186 とほとんど変わらなかった（25°C における $K_D = 0.15 \pm 0.048$ nmol/L; 37°C における $K_D = 0.69 \pm 0.148$ nmol/L）。種々の補体蛋白と C5 に対する親和性を直接比較した結果，ARC186 は C5 に対して非常に親和性が高く（$K_D = 0.41$ nmol/L），C5b,6 及び sC5b-9 も認識するがその親和性は約 10 倍及び 1000 倍低かった（それぞれ $K_D = 6.5$ nmol/L 及び ≥ 300 nmol/L）。C5b,6 及び sC5b-9 に対する作用は，おそらく C5b 成分の認識によるものと考えられる。一方 ARC186 は，C1q，C3，C4，C5a des Arg，C6 及び補体制御蛋白である B 因子と H 因子を認識しなかった（図 2.6.2- 1）。したがって，アバシンカプタド　ペゴルは，細菌のオプソニン化に重要な C3b の生成や制御因子による補体活性化の自然免疫制御を阻害しないと考えられた。

図 2.6.2- 1　　ARC186 の補体蛋白への結合



Each point represents the mean + SD.
ARC186: the oligonucleotide portion of avacincaptad pegol with a 5'-hydroxyl terminus; nM: nmol/L.
Source: Study C5-PHARM-001-05.

2.6.2.2.1.2　In Vitro 補体活性化の阻害

2.6.2.2.1.2.1　補体の古典経路活性化の阻害（C5-PHARM-002-05 試験）

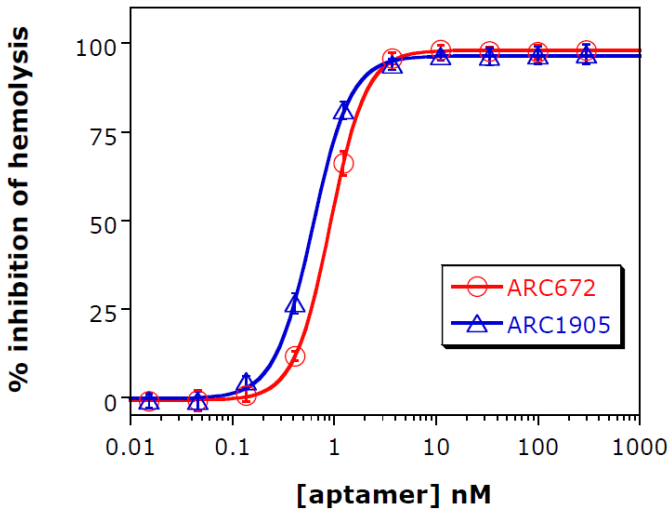
添付資料 4.2.1.1-3 (参)

補体の古典経路は，通常，補体成分 C1 の C1q サブユニットに結合する抗原抗体（IgG 又は IgM）複合体によって活性化される。また，DNA，多糖類（ヘパリン-プロタミン複合体やリポ多糖類など）及び蛋白（β-アミロイドなど）を含む他の多くの非抗体リガンドも C 反応性蛋白を介して直接的又は間接的に C1 を刺激し古典経路を活性化することが知られている。

補体の古典経路（抗体／抗原依存性）活性化に対するアバシンカプタド　ペゴルの効果を，ヒト又はカニクイザルの補体成分の存在下 sRBC 溶血試験系を用いて評価した。本試験及び 2.6.2.2 効力を裏付ける試験で用いた cRBC 及び sRBC 溶血試験系は適格性評価されており，試験系の適格性は［C5-PHARM-008-05 試験］に記載されている。本試験では，希釈（0.1%）したヒト又はサルの血清サンプルを，抗赤血球抗体をあらかじめ結合させた sRBC に添加することにより溶血させることで，古典経路の活性化を評価した。溶血の程度は可溶化ヘモグロビン量を指標とし，残存赤血球除去後の 415 nm（又は 541 nm）における吸光度によって定量化した。

アバシンカプタド　ペゴルはヒトの血清サンプルを用いた sRBC 溶血試験系において溶血を抑制し，その IC_{99} 値は 5.09 ± 0.5 nmol/L であった。非 PEG 化抗 C5 アプタマー（ARC672）及び PEG 化抗 C5 アプタマー（アバシンカプタド　ペゴル）を並行して解析したところ，PEG 結合はヒト血清中のアプタマー機能にほとんど影響を及ぼさず，いずれも IC_{50} 値が 0.6 nmol/L 程度で古典経路の活性化を阻害することが示された（図 2.6.2- 2）。さらに，アバシンカプタド　ペゴルはヒトよりも 10 倍程度効力が低かったものの，カニクイザル補体の活性化を阻害した。

図 2.6.2- 2　　ヒト血清の存在下における ARC672 及びアバシンカプタド　ペゴルによる溶血の阻害



Each point represents the mean ± SD.

ARC1905: avacincaptad pegol; ARC672: the oligonucleotide portion of avacincaptad pegol with a phosphodiester backbone and a terminal hexylamino linker at the 5'terminus; nM: nmol/L.
Source: Study C5-PHARM-002-05.

2.6.2.2.1.2.2　補体の第二経路活性化の抑制（C5-PHARM-003-05 試験）

添付資料 4.2.1.1-4 (参)

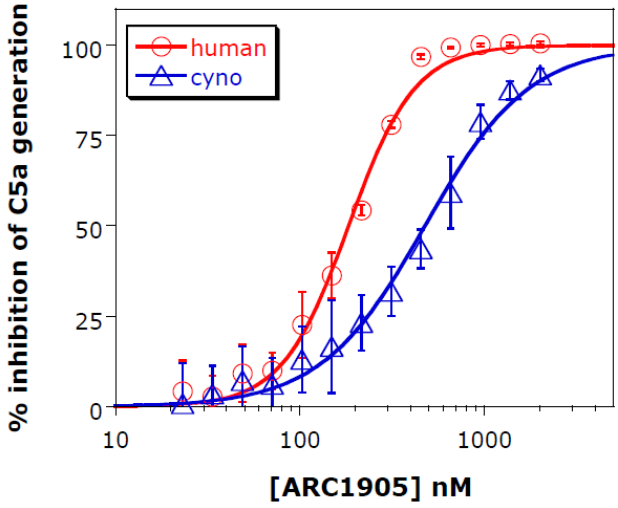
補体の第二経路活性化に対するアバシンカプタド　ペゴルの効果を，ヒト及びカニクイザル血清を用いて評価した。第二経路の活性化剤として酵母細胞壁の多糖成分であるザイモサンを用い，補体カスケードの下流に位置する C5 活性化（C5a の生成）と，上流に位置する C3 活性化（C3a の生成）を評価した。

ヒト血清において，アバシンカプタド　ペゴルはザイモサンを介した C5a 生成を阻害し，IC_{90} 値は 442 ± 23 nmol/L，IC_{99} 値は 1090 ± 198 nmol/L であった（図 2.6.2- 3）。一方，アバシンカプタド　ペゴルのカニクイザル補体活性に対する阻害作用（IC_{90} 及び IC_{99} 値）は，本試験条件下ではヒトに比して約 4～6 倍弱かった。

C3 活性化の指標である C3a レベルに対するアバシンカプタド　ペゴルの影響を評価したところ，アバシンカプタド　ペゴルは 2 µmol/L までの濃度で C3a 生成を阻害しなかった（図 2.6.2- 4）。

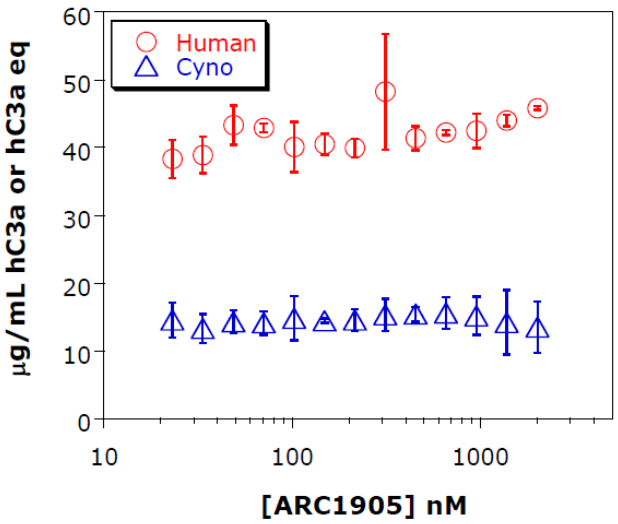
これらのことから，アバシンカプタド　ペゴルは補体カスケードの下流因子を選択的に抑制して C5a 及び MAC の炎症誘発を阻害するが，病原体による防御機構の引き金となる C3a や C3b 生成などの上流因子には影響しないことが期待された。

図 2.6.2- 3　　ヒト及びカニクイザル血清中のアバシンカプタド　ペゴルによる C5a 生成の阻害



Each point represents the mean ± SD.
ARC1905: avacincaptad pegol; cyno: cynomolgus monkey; nM: nmol/L.
Source: Study C5-PHARM-003-05.

図 2.6.2- 4　　ヒト又はカニクイザル血清中のアバシンカプタド　ペゴルが C3a 生成に及ぼす影響



Each point represents the mean ± SD.
ARC1905: avacincaptad pegol; cyno: cynomolgus monkey; eq: equivalents; nM: nmol/L.
Source: Study C5-PHARM-003-05.

2.6.2.2.1.2.3　心肺バイパス回路のチュービングループモデルにおける補体活性化の阻害（C5-PHARM-004-05 試験）

添付資料 4.2.1.1-5 (参)

CPB 回路では，血液の外的環境曝露に伴う血液／表面，及び血液／空気界面において第二経路が誘導され，補体が活性化されることが知られている［Gong et al, 1996］。チュービングループモデルは，外的環境曝露による補体活性化に対するさまざまな種類の表面［Pekna et al, 1994; Kopp et al, 2002］，酸素供給装置［Pekna et al, 1993］及び抗 C5 モノクローナル抗体［Rinder et al, 1995］を含む阻害剤［Nilsson et al, 1998］などの影響を in vitro において検討するために考案された。

9 mL の外科用チュービングループを用いて 37°C の水槽中に血液を循環させる単純なモデル［Nilsson et al, 1998］を用い，アバシンカプタド　ペゴルの作用を評価した。血液／表面及び血液／空気界面を模すために，チュービングループはビバリルジンで抗凝固処理した 5 mL の全血を部分的に充填し，4 mL の空気ポケットを残した。本モデルにおいては 1 時間の循環で C3a 及び C5a が生成され，補体活性化が十分に誘発されることが確認された。

アバシンカプタド　ペゴルは C5a の生成を阻害したが，C3a の生成は阻害せず，このことは抗 C5 モノクローナル抗体の結果［Rinder et al, 1995］と一致していた。アバシンカプタド　ペゴルの全血における IC_{50} 値は 119 ± 28.6 nmol/L，IC_{90} 値は 268 ± 39.2 nmol/L，IC_{99} 値は

694 ± 241 nmol/L であった。全血のヘマトクリット値が 45%と仮定した際の血漿中の IC_{50} 値は 216 ± 52.0 nmol/L，IC_{90} 値は 487 ± 71 nmol/L，IC_{99} 値は 1261 ± 438 nmol/L であった。

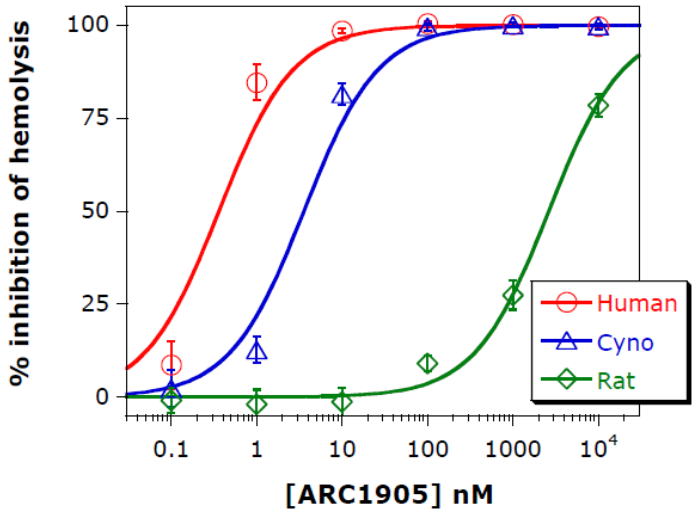
2.6.2.2.1.2.4　ヒト，カニクイザル及び SD ラットにおける抗補体活性（C5-PHARM-005-05 試験）

添付資料 4.2.1.1-6 (参)

アバシンカプタド　ペゴルのヒト，カニクイザル又はラット補体の古典経路活性化に対する作用を，sRBC 溶血試験系により評価した。ヒト及びカニクイザルでは 0.1%，ラットでは 0.3%に希釈した血清を用いた。

アバシンカプタド　ペゴルはヒト，カニクイザル及びラット補体の古典経路活性化を阻害し，その IC_{50} 値はそれぞれ 0.35 ± 0.09，3.69 ± 0.60 及び 2700 ± 470 nmol/L であった（図 2.6.2- 5）。ヒト及びカニクイザルの補体活性に対する結果は［C5-PHARM-002-05 試験］と同様であり，カニクイザルにおける活性はヒトにおける活性に比して 10 倍程度低かった。しかし本試験でのラットにおける活性はヒトよりも数千倍以上低く，10 µmol/L でも 80%程度の阻害であった。

図 2.6.2- 5　　ヒト，カニクイザル及びラット血清の存在下におけるアバシンカプタド　ペゴルによる溶血の阻害



Each point represents the mean ± SD.
ARC1905: avacincaptad pegol; cyno: cynomolgus monkey; nM: nmol/L.
Source: Study C5-PHARM-005-05.

2.6.2.2.2　In Vivo 効力を裏付ける試験

滲出型 AMD には，in vivo での治療の有効性を示すために使用できる確立済みの非臨床モデルがいくつか存在するが，GA を伴う萎縮型 AMD の検証されたモデルはない。GA の疾患病態生

物学及び化合物の治療効果を予測・検証するために，これまで GA 様表現型を示す複数のモデルの開発が試みられたが，残念なことにほとんど成功していない。GA に認められる病態生物学の一部の側面にいくらか類似している可能性のあるモデルは存在するが，疾患の全経過を再現するものはなく複数の臨床プログラムの結果を予測できなかった。そのため GA を伴う萎縮型 AMD の分野では，非臨床における有効性の評価は in vivo モデルではなく，化合物の効力，標的への関与及び選択性によって評価されている。アバシンカプタド　ペゴルにおいても，非臨床の評価はこれらによる有効性の側面に加えて薬物動態と安全性に重点を置いている。

2.6.2.2.2.1　単回投与時の効力を裏付ける試験

2.6.2.2.2.1.1　覚醒下カニクイザルに静脈内投与した際のアバシンカプタド　ペゴルの心血管及び呼吸系に対する作用（KSH00039 試験）

添付資料 4.2.1.3-2 (参)

本試験の目的は，アバシンカプタド　ペゴルを漸増法にて単回静脈内投与し，カニクイザルの心血管系及び呼吸系に対する作用を検討し，同時にアバシンカプタド　ペゴルの TK，PD 及び TD を評価することである。静脈内投与はアバシンカプタド　ペゴルの臨床投与経路ではないものの，本試験で得られた結果はアバシンカプタド　ペゴルの薬理学的特性と作用機序の理解の一助となる。本項では PD の結果のみを示す。TD 及び安全性薬理試験の結果は，それぞれ 2.6.2.3.1.2 抗凝固作用及び補体活性化作用及び 2.6.2.4.2.1.1 覚醒下カニクイザルに静脈内投与した際のアバシンカプタド　ペゴルの心血管系及び呼吸系に対する作用（KSH00039 試験）に記載した。

アバシンカプタド　ペゴルによる補体活性の阻害は，古典経路の活性指標である ATCF（sRBC 溶血試験において 50%補体媒介溶血をもたらす血漿希釈度［CH_{50} units/mL］によって評価）と，第二経路の活性指標であるザイモサンによる C5a 産生を，ex vivo で測定することによって評価した。4 例の雄カニクイザルのグループに，それぞれ 1，8，22 及び 36 日目に 0（生理食塩水），10，30 又は 100 mg/kg のアバシンカプタド　ペゴルを，急速静脈内投与した。ATCF 値及びザイモサン投与後の C5a 濃度の減少によって示されたように，アバシンカプタド　ペゴルは 10 mg/kg 以上で補体活性を阻害した。

Ex vivo 動物の補体総機能に対する阻害

ATCF 阻害のピークは，アバシンカプタド　ペゴルの全用量で投与後 0.5 時間に観察され，10 mg/kg では 97%，30 及び 100 mg/kg ではそれぞれ 100%阻害した（表 2.6.2- 1）。投与後 2 時間でも，アバシンカプタド　ペゴルの全用量で 95%以上の阻害が観察された。

Ex vivo ザイモサンを介する C5a 生成に対する阻害

アバシンカプタド　ペゴルを 10，30 又は 100 mg/kg 投与すると，投与後 0.5 及び 2 時間でザイモサン刺激後の C5a 値は 77%，74%又は 69%以上減少した（表 2.6.2- 1）。しかし 100 mg/kg でも元の濃度の 25%が残存しており，アバシンカプタド　ペゴルによる最大減少後も，C5a 濃度は一定程度残る（15 ng/mL）ことが示された。

表 2.6.2- 1　　Ex vivo 用量漸増静脈内投与後の古典経路の活性化（ATCF）及び第二経路の活性化（ザイモサンを介する C5a 生成）による補体活性の阻害

		Mean		SD		% Change from Pre-dose	
Dose (mg/kg)	**Day; Hour**	**ATCF (CH_{50} units/mL)**	**C5a (ng/mL)**	**ATCF (CH_{50} units/mL)**	**C5a (ng/mL)**	**ATCF (CH_{50} units/mL)**	**C5a (ng/mL)**
0	1; Pre	331	66.9	58	9.4	NA	NA
	1; 0.5	303	63.3	54	6.2	-8%	-5%
	1; 2	308	59.3	49	6.6	-7%	-11%
10	8; Pre	321	66.1	66	6.4	NA	NA
	8; 0.5	9	14.3	9	1.6	-97%	-78%
	8; 2	16	15.2	15	2.9	-95%	-77%
30	22; Pre	331	58.0	73	5.1	NA	NA
	22; 0.5	0	15.2	0	3.8	-100%	-74%
	22; 2	1	12.7	1	2.8	-100%	-78%
100	36; Pre	304	60.5	103	6.5	NA	NA
	36; 0.5	0	18.6	0	3.3	-100%	-69%
	36; 2	0	15.2	0	2.7	-100%	-75%

ATCF: animal total complement function; CH_{50}: 50% complement-mediated hemolysis; Pre: pre-dose; NA: not applicable.
Source: Study KSH00039.

静脈内投与後の血漿中アバシンカプタド　ペゴル濃度と PD の関係

血漿中アバシンカプタド　ペゴル濃度と補体活性阻害を直接比較するため，血液サンプルを採取した。濃度と活性の関係を議論するため，ATCF 値を使用した（表 2.6.2- 2）。

本試験では，ピークの血漿中アバシンカプタド　ペゴル濃度がそれぞれ 130，390 又は 1300 µg/mL 以上となるよう 3 用量を急速静脈内投与した。これらの血漿中アバシンカプタド　ペゴルの濃度は，カニクイザルにおいて補体活性をほぼ最大に阻害すると予想されるアバシンカプタド　ペゴルの目標濃度（130 µg/mL = 10 µmol/L）の 1 倍，3 倍及び 10 倍に相当する。

アバシンカプタド　ペゴルの濃度は，投与後 0.5 及び 2 時間で，10，30 又は 100 mg/kg の用量でそれぞれの目標濃度（130，390，1300 µg/mL）を超えた。全用量で，平均血漿中アバシンカプタド　ペゴルの濃度は，投与後 2 時間まで 130 µg/mL を超えていた。投与後 24 時間では PD を測定していないが，アバシンカプタド　ペゴルの濃度が 130 µg/mL より高い値を維持したのは 100 mg/kg だけであった。

全用量で，平均アバシンカプタド　ペゴルの濃度が 130 µg/mL を超える場合（実際は 154 µg/mL 以上），ATCF は 95%以上阻害されていた。これらの結果より，カニクイザルへの静脈内投与後，アバシンカプタド　ペゴルが一定の濃度以上になると，補体活性が阻害されることが示唆された。

表 2.6.2- 2　　用量漸増静脈内投与後の血漿中アバシンカプタド　ペゴルの濃度と補体活性（ATCF）阻害の関係

Dose (mg/kg)	Day; Hour	Plasma avacincaptad pegol (µg/mL)	Inhibition of ATCF (%)
Pre	-5	< LLOQ	NR
0 mg/kg	1; Pre	< LLOQ	0%
	1; 0.5	< LLOQ	8%
	1; 2	< LLOQ	7%
	2; 24	< LLOQ	NR
10 mg/kg	8; Pre	< LLOQ	0%
	8; 0.5	220	97%
	8; 2	154	95%
	9; 24	14	NR
30 mg/kg	22; Pre	< LLOQ	0%
	22; 0.5	701	100%
	22; 2	508	100%
	23; 24	35	NR
100 mg/kg	36; Pre	< LLOQ	0%
	36; 0.5	2072	100%
	36; 2	1595	100%
	37; 24	140	NR

ATCF: animal total complement function; LLOQ: lower limit of quantification; NR: not reported; Pre: pre-dose.
Note: LLOQ = 0.820 µg/mL.
Source: Study KSH00039.

アバシンカプタド　ペゴルは補体の古典及び第二経路の活性化を阻害した。投与後 0.5 及び 2 時間で，10 mg/kg 以上のアバシンカプタド　ペゴルは ATCF の 95%～100%及びザイモサンを介する C5a 生成の 69%～78%を阻害した。130 µg/mL を超えるアバシンカプタド　ペゴルの血漿中濃度は，用量又は時点に関係なく ATCF の 95%以上阻害した。本試験において，アバシンカプタド　ペゴルは目標濃度以上で補体活性を完全に阻害した。

2.6.2.2.2.1.2　カニクイザルにおける単回投与試験（KSH00033 試験）

添付資料 4.2.3.1-2 (参)

本試験の目的は，カニクイザルにアバシンカプタド　ペゴルを単回静脈内投与した後の全身毒性，TK，PD 及び TD を評価し，投与後 14 日の回復性を検討することである。静脈内投与はアバシンカプタド　ペゴルの臨床投与経路ではないが，本試験で得られた結果はアバシンカプタド　ペゴルの薬理学的特性と作用機序の理解の一助となる。本項では PD の結果のみを示す。本試験

の毒性所見の結果と考察は，［2.6.6.2.2 カニクイザルにおける単回投与試験（KSH00033 試験）］に記載した。

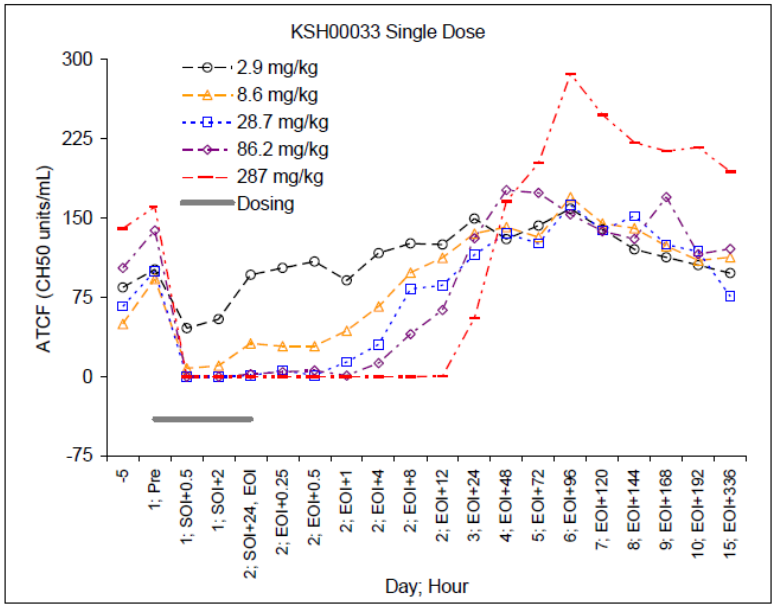
雌雄各 1 例のカニクイザルに対し，1 日目にアバシンカプタド　ペゴルを 0（生理食塩水），1，3，10，30 又は 100 mg/kg を 20 mL/kg で急速静脈内投与後，それぞれ 0，0.0013，0.0039，0.013，0.039 又は 0.13 mg/kg/min を 0.026 mL/kg/min（37.44 mL/kg/day）の速度で 24 時間持続静脈内投与した。総投与量は 0，2.9，8.6，28.7，86.2 又は 287 mg/kg に相当する。アバシンカプタド　ペゴルによる補体活性の阻害は，ATCF 及び sRBC 溶血の ex vivo における阻害を測定することによって評価した（サンプル数は限られる）。2.9 mg/kg 相当以上のアバシンカプタド　ペゴルは，ATCF 値及び sRBC 溶血の減少によって示されるように，用量に関連して補体活性を阻害した。

Ex vivo 動物の補体総機能に対する阻害

アバシンカプタド　ペゴルを投与した全群において，ATCF 阻害のピークは持続投与開始後 0.5 時間で観察された。阻害率は 2.9，8.6，28.7，86.2 及び 287 mg/kg でそれぞれ 55%，91%，100%，100%及び 100%であり（図 2.6.2- 6），98%以上の阻害がみられたのは，28.7 mg/kg 以上の用量であった。28.7 mg/kg 以上の用量では，24 時間の持続投与中，98%以上の阻害が維持された。2.9 及び 8.6 mg/kg では持続投与終了前にベースライン値に回復し始め，28.7，86.2 又は 287 mg/kg では持続投与終了の 1，4 又は 24 時間後にそれぞれベースライン値に回復し始めた。持続投与終了時の ATCF 阻害率は，2.9，8.6，28.7，86.2 及び 287 mg/kg でそれぞれ 5%，66%，99%，98%及び 100%であった。

持続投与終了後 ATCF の阻害は徐々に消失し，阻害の持続時間は用量に関連していた。28.7，86.2 及び 287 mg/kg の用量では，91%～100%の阻害はそれぞれ持続投与終了後，0.5，4 及び 12 時間持続した。2.9，8.6，28.7，86.2 及び 287 mg/kg の用量では，持続投与終了後，0.25，8，24，48 及び 48 時間で ATCF が 1 日目のベースライン値以上に回復した。287 mg/kg では，持続投与終了 4 日後に ATCF 値がベースライン値のほぼ 2 倍に増加したが，その理由は不明である。

図 2.6.2- 6　　Ex vivo 単回静脈内投与後の古典経路の活性化（ATCF）による補体活性に対する阻害



Each point represents the mean.

ATCF: animal total complement function; CH_{50}: 50% complement-mediated hemolysis; EOI: end of infusion; Pre: pre-dose; SOI: start of infusion.

Source: Study KSH00033.

Ex vivo sRBC 溶血に対する阻害

アバシンカプタド　ペゴル 2.9，8.6，28.7，86.2 及び 287 mg/kg 持続投与終了後 0.25 時間の sRBC 溶血阻害率は，それぞれ 21%，54%，62%，78%及び 81%であった（表 2.6.2- 3）。阻害活性は用量に関連していたが，この試験で観察された補体活性の最大阻害率は 81%であった。持続投与終了後 2 日目に評価したところ，全ての用量で補体活性は回復していた。

表 2.6.2- 3　Ex vivo 単回静脈内投与後の古典経路の活性化（sRBC 溶血）による補体活性に対する阻害

	Day; Hour	Mean (Combined)					% Change from Baseline (Combined)				
Dose (mg/kg):		**2.9**	**8.6**	**28.7**	**86.2**	**287**	**2.9**	**8.6**	**28.7**	**86.2**	**287**
Sheep RBC Hemolysis (%)	-5	93	83	91	87	92	NA	NA	NA	NA	NA
	1; Pre	100	100	100	100	100	0%	0%	0%	0%	0%
	2; EOI+ 0.25	79	46	38	22	19	-21%	-54%	-62%	-78%	-81%
	4; EOI+ 48	100	113	89	88	91	0%	13%	-11%	-12%	-9%
	15; EOI+ 336	94	103	104	106	116	-6%	3%	4%	6%	16%

EOI: end of infusion; NA: not applicable; Pre: pre-dose; RBC: red blood cell.
Source: Study KSH00033.

静脈内投与後の血漿中アバシンカプタド　ペゴル濃度と PD 活性の関係

血漿中アバシンカプタド　ペゴル濃度と補体活性阻害を直接比較するため，血液サンプルを採取した。濃度と活性の関係を議論するため，ATCF 値を使用した（図 2.6.2- 7）。

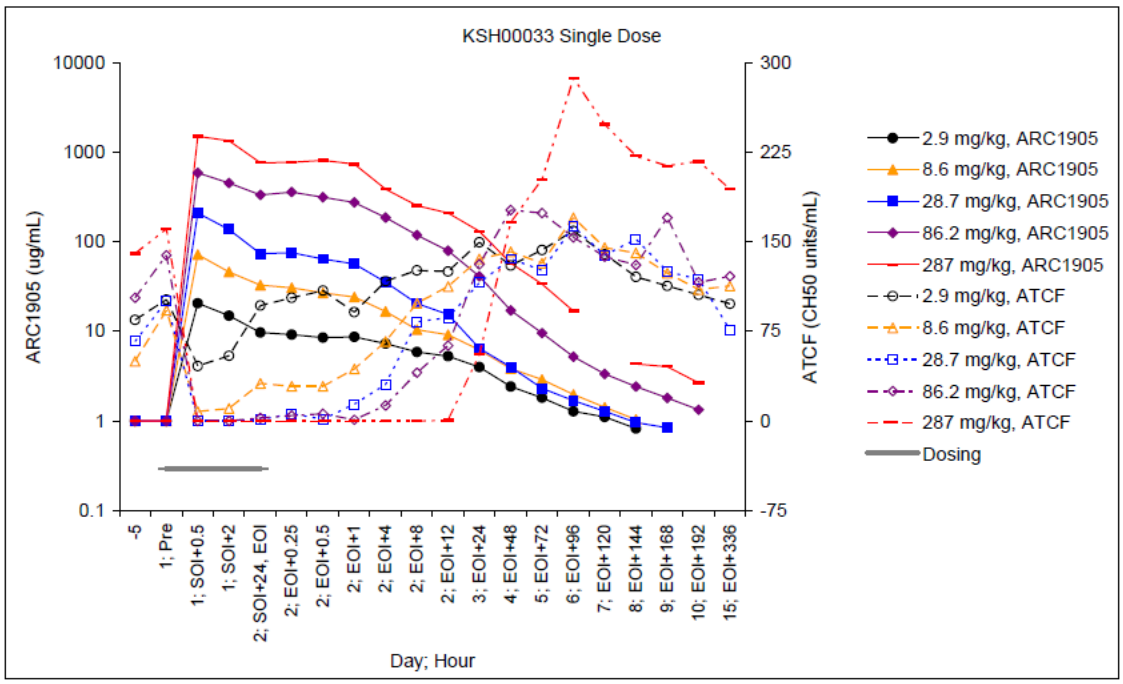
本試験では，5 用量の急速静脈内投与及び 24 時間の持続静脈内投与により，血漿中アバシンカプタド　ペゴル濃度がそれぞれ約 13，39，130，390 又は 1300 µg/mL になるように設計した。これらの血漿中アバシンカプタド　ペゴルの目標濃度は，カニクイザルにおけるアバシンカプタド　ペゴルの目標濃度（130 µg/mL = 10 µmol/L）の 0.1，0.3，1，3 又は 10 倍に相当する。24 時間でこれらの投与量はそれぞれ 2.9，8.6，28.7，86.2 又は 287 mg/kg の用量であった。したがって，28.7 mg/kg 以上の投与量のみが補体活性を完全に阻害すると予想された。

予想通り，28.7 mg/kg 以上の用量で，持続投与期間を通して ATCF の 98%以上の阻害が認められた。アバシンカプタド　ペゴルの濃度は，持続投与開始後 0.5 及び 2 時間で，28.7，86.2 及び 287 mg/kg の用量でそれぞれの目標血漿中濃度（つまり，130，390 及び 1300 µg/mL）を超えたが，持続投与終了時には目標血漿中濃度を下回った。28.7，86.2 又は 287 mg/kg の用量で，それぞれ持続投与開始後 2 時間，持続投与終了後 4 又は 12 時間まで，平均血漿中アバシンカプタド　ペゴルの濃度は 130 µg/mL（目標濃度）を超えた。

全用量において，平均アバシンカプタド　ペゴルの濃度が 130 µg/mL を超えると（実際は 137 µg/mL 以上），91%以上の ATCF を阻害した。91%未満の ATCF の阻害時の平均アバシンカプタド　ペゴル濃度は，130 µg/mL 以下であった。これらの濃度と活性の関係はいくつかの例外を除き，全用量群で持続投与中又は投与中止後に認められていた。28.7 mg/kg では，持続投与終了時や持続投与終了後 0.25 及び 0.5 時間に，64.3～75.2 µg/mL の平均アバシンカプタド　ペゴルの濃度であったが，ATCF は 94%～99%阻害を示した。

これらの結果はカニクイザルにおいて目標濃度以上のアバシンカプタド　ペゴルが補体活性阻害を示すことを示している。ただし，これらの用量で選択した持続投与速度は，24 時間の持続投与期間の終了時にそれぞれの目標アバシンカプタド　ペゴル濃度を維持するのに十分ではなかった。しかし血漿中濃度と補体活性の阻害との相関関係は，カニクイザル単回静脈内投与試験（KSH00039 試験）での観察結果を裏付けるものであった。

図 2.6.2- 7　　単回静脈内投与後の血漿中アバシンカプタド　ペゴル濃度と補体活性（ATCF）阻害の関係



Each point represents the mean.

ATCF: animal total complement function; ARC1905: avacincaptad pegol; CH_{50}: 50% complement-mediated hemolysis; EOI: end of infusion; Pre: pre-dose; SOI: start of infusion.

Source: Study KSH00033.

以上より，アバシンカプタド　ペゴルは用量に関連して ATCF 及び sRBC 溶血を阻害することが示されたことから，補体の古典経路の活性化を抑制することが実証された。用量や時点に関係なく，アバシンカプタド　ペゴルの濃度が 130 µg/mL を超えると，ATCF が 91%以上阻害された。したがって，アバシンカプタド　ペゴルをカニクイザルに静脈内投与すると，目標濃度以上で補体活性が完全に阻害されることが示された。

2.6.2.2.2.2　反復投与時の効力を裏付ける試験

2.6.2.2.2.2.1　カニクイザルにおける 7 日間反復静脈内投与試験（KSH00040 試験）

添付資料 4.2.3.2-4 (参)

本試験の目的は，カニクイザルにアバシンカプタド　ペゴルを静脈内投与後，7 日間連続持続静脈内投与したときの全身毒性，TK，PD 及び TD を評価し，持続投与終了翌日又は 14 日の休薬時における回復性を評価することである。静脈内投与はアバシンカプタド　ペゴルの臨床投与経路ではないが，本試験で得られた結果はアバシンカプタド　ペゴルの薬理学的特性と作用機序の理解の一助となる。本項では，PD の結果のみを示す。本試験の毒性所見の結果と考察は，［2.6.6.3.4 カニクイザルにおける 7 日間反復静脈内投与試験（KSH00040 試験）］に記載した。TD 結果は 2.6.2.3.1.2 抗凝固作用及び補体活性化作用に記載した。

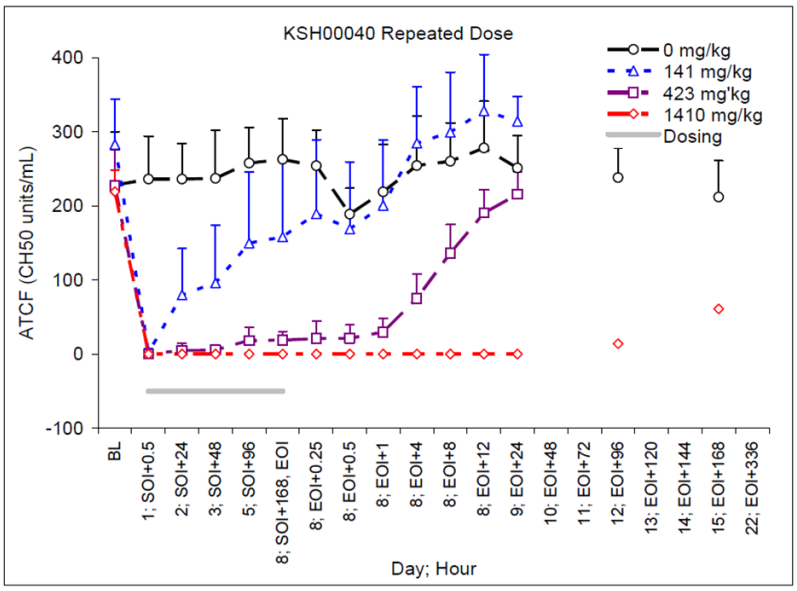
雌雄各群 3 又は 5 例のカニクイザルに対し，1 日目にアバシンカプタド　ペゴルを 0（生理食塩水），10，30 又は 100 mg/kg を 20 mL/kg で急速静脈内投与後，それぞれ 0，0.013，0.039 又は 0.13 mg/kg/min を 0.026 mL/kg/min（37.44 mL/kg/day）の速度で 7 日間持続静脈内投与した。総投与量は 0，141，423 又は 1410 mg/kg に相当する。アバシンカプタド　ペゴルによる補体活性の阻害は，ATCF，ザイモサンによる C5a 産生及び sRBC 又は cRBC 溶血を，ex vivo で測定することによって評価した。アバシンカプタド　ペゴルは，ATCF 値，ザイモサン後の C5a 濃度及び sRBC や cRBC 溶血を用量に関連して抑制した。結果は試験間でおおむね類似しており，性別による違いはなかった。

Ex vivo 動物の補体総機能に対する阻害

アバシンカプタド　ペゴルを投与した全群において，ATCF 阻害のピークは持続投与開始後 0.5 時間で観察された。阻害率は 141，423 及び 1410 mg/kg でそれぞれ 99%，100%及び 100%であり（図 2.6.2- 8），全用量で 98%以上の ATCF の阻害が達成された。98%以上の阻害は，141，423 又は 1410 mg/kg の用量で，それぞれ持続投与開始後 0.5，48 時間又は持続投与終了後 24 時間まで維持された。ATCF が回復し始めたのは，141，423 及び 1410 mg/kg 群で，それぞれ持続投与開始後 24 時間以内，持続投与終了後 4 時間以内及び 24 時間以降であった。持続投与終了時の ATCF の阻害率は，141，423 及び 1410 mg/kg でそれぞれ 44%，92%及び 100%であった。

持続投与終了後 ATCF の阻害は徐々に消失し，阻害の持続時間は用量に関連していた。423 及び 1410 mg/kg の用量では，91%～100%の阻害はそれぞれ持続投与終了後，0.5 及び 96 時間持続した。141 mg/kg の用量では，持続投与終了後 4 時間までに ATCF はベースライン値以上となったが，423 又は 1410 mg/kg ではそれぞれ最終サンプルを採取した持続投与終了後 1 日又は 7 日までに回復しなかった。

図 2.6.2- 8　Ex vivo 反復静脈内投与後の古典経路の活性化（ATCF）による補体活性に対する阻害



Each point represents the mean + SD.

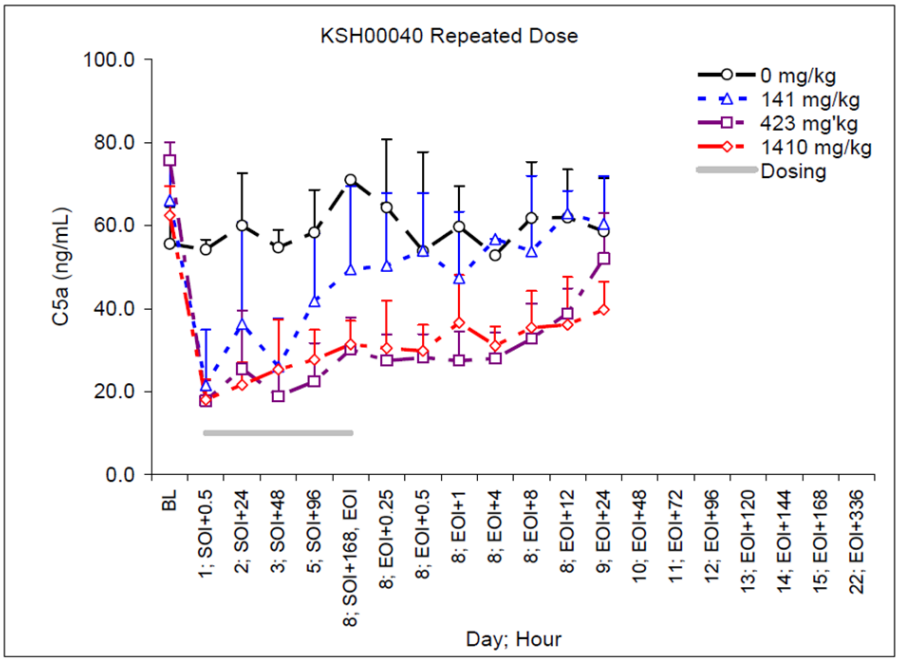
ATCF: animal total complement function; BL: baseline/prestudy; CH_{50}: 50% complement-mediated hemolysis; EOI: end of infusion; SOI: start of infusion.

Source: Study KSH00040.

Ex vivo ザイモサンを介する C5a 生成に対する阻害

アバシンカプタド　ペゴル 141，423 又は 1410 mg/kg において，持続投与開始後 0.5 時間のザイモサン刺激後の C5a 値は 67%，77%又は 71%減少した（図 2.6.2- 9）。これらの値は減少のピークを示していた。423 及び 1410 mg/kg の阻害率は全時点で同程度であり，持続投与開始から 48 時間後までは 141 mg/kg の阻害率ともほぼ同程度であった。これは，少なくとも初期にはこれらの用量では用量関連性がないことを示唆している。さらに，ザイモサン刺激後の C5a 値は顕著に減少したが，いずれの用量でもベースライン濃度の 23%以上が残存しており，アバシンカプタドペゴルによる最大減少後も，C5a 濃度は一定程度残る（18～22 ng/mL）ことが示唆された。ザイモサン刺激による C5a 値は，141 mg/kg では持続投与開始後 96 時間までにベースライン値に回復し始め，この用量では持続投与終了後 12 時間までにベースライン値に達した。一方で，ザイモサン刺激による C5a 値は，423 及び 1410 mg/kg では持続投与終了後 1 日までにベースライン値に回復しなかった。

図 2.6.2- 9　　Ex vivo 反復静脈投与後の第二経路活性化（ザイモサンを介する C5a 生成）による補体活性に対する阻害

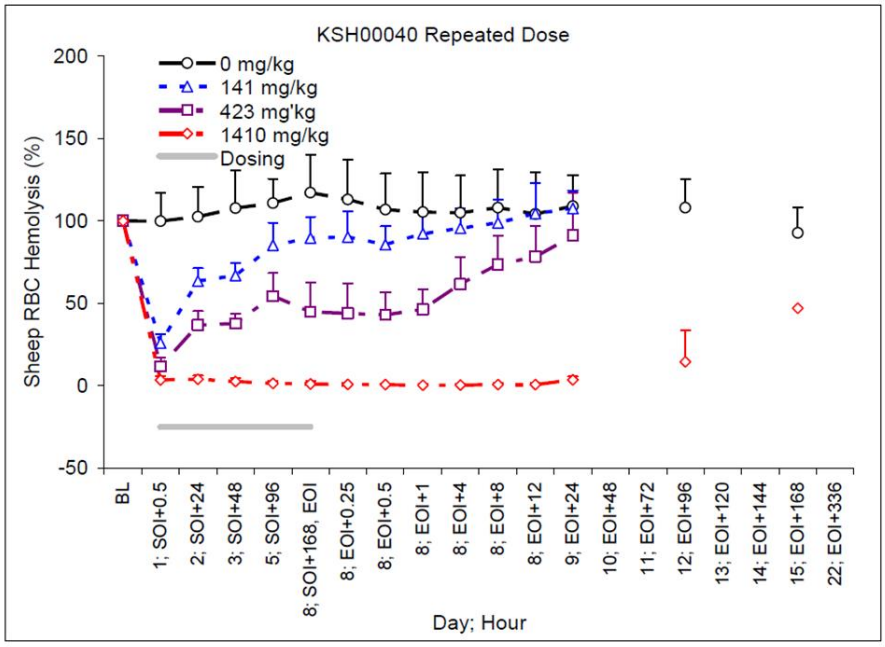


Each point represents the mean + SD.
BL: baseline/prestudy; EOI: end of infusion; SOI: start of infusion.
Source: Study KSH00040.

Ex vivo sRBC 溶血に対する阻害

sRBC 溶血試験系でアバシンカプタド　ペゴルを評価した結果，141，423 及び 1410 mg/kg では持続投与開始後 0.5 時間で 74%，88%及び 97%の阻害が認められた（図 2.6.2- 10）。持続投与終了前に 141 及び 423 mg/kg ではベースライン値に回復しつつあったが，1410 mg/kg では持続投与終了後 24 時間まで 90%以上の阻害が維持された。この試験では，1410 mg/kg の持続投与開始後 96 時間で 98%以上の溶血阻害が観察されたが，より低用量では観察されなかった。

図 2.6.2- 10　Ex vivo 反復静脈内投与後の古典経路活性化（sRBC 溶血）による補体活性に対する阻害

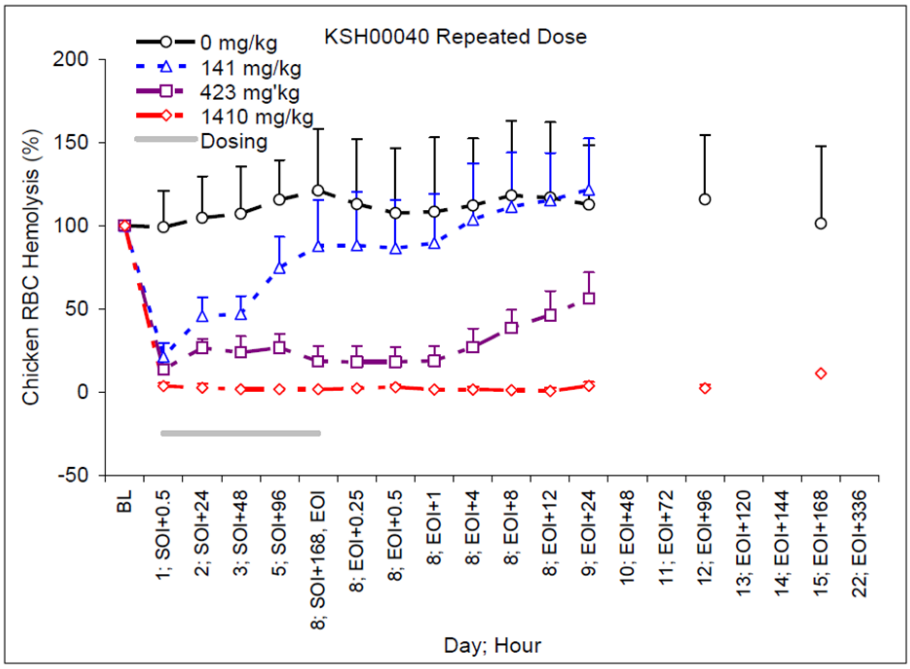


Each point represents the mean + SD.
BL: baseline/prestudy; EOI: end of infusion; RBC: red blood cell; SOI: start of infusion.
Source: Study KSH00040.

Ex vivo cRBC 溶血に対する阻害

cRBC 溶血試験系でアバシンカプタド　ペゴルを評価した結果，141，423 及び 1410 mg/kg では持続投与開始後 0.5 時間で 79%，86%及び 96%の阻害が認められた（図 2.6.2- 11）。141 mg/kg では持続投与終了前にベースライン値に回復しつつあったが，423 mg/kg ではその程度は低く，1410 mg/kg では持続投与終了後 96 時間まで 90%以上の阻害が維持された。この試験では，1410 mg/kg の持続投与開始後 48 時間までは 98%以上の溶血阻害は観察されず，より低用量では観察されなかった。

図 2.6.2- 11　Ex vivo 反復静脈内投与後の古典経路活性化（cRBC 溶血）による補体活性に対する阻害



Each point represents the mean + SD.
BL: baseline/prestudy; EOI: end of infusion; RBC: red blood cell; SOI: start of infusion.
Source: Study KSH00040.

静脈内投与後の血漿中アバシンカプタド　ペゴル濃度と PD 活性の関係

血漿中アバシンカプタド　ペゴル濃度と補体活性阻害を直接比較するため，血液サンプルを採取した。濃度と活性の関係を議論するため，ATCF 値を使用した（図 2.6.2- 12）。

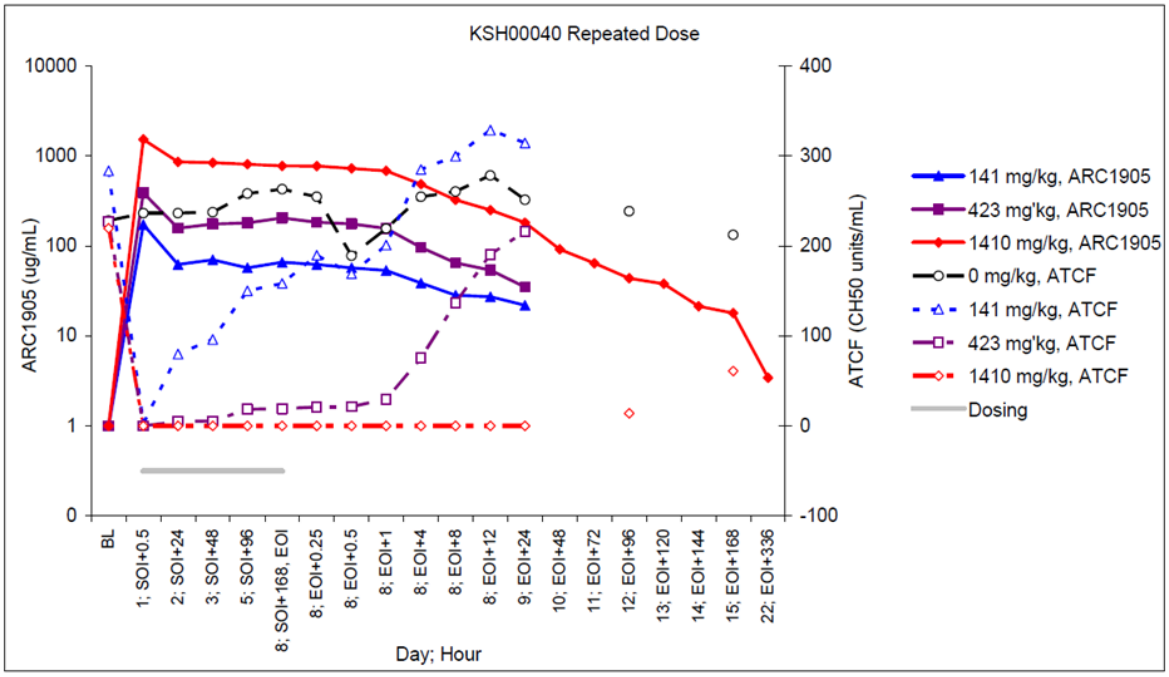
本試験は，3 用量の急速静脈内投与及び 24 時間の持続静脈内投与により，血漿中アバシンカプタド　ペゴル濃度がそれぞれ 130，390 又は 1300 µg/mL となるよう設計された。これらの血漿中アバシンカプタド　ペゴルの目標濃度は，カニクイザルにおけるアバシンカプタド　ペゴルの目標濃度（130 µg/mL = 10 µmol/L）の 1，3 及び 10 倍に相当する。24 時間で，これらの投与量はそれぞれ，28.7，86.2 又は 287 mg/kg となった。その後，持続静脈内投与を更に 6 日間継続し，合計（累積）投与量はそれぞれ 141，423 又は 1410 mg/kg となった。したがって，全用量で補体活性を完全に阻害されると予想された。

ATCF の 98%以上の阻害は 1410 mg/kg では持続投与期間を通して認められたが，141 mg/kg では持続投与開始後 0.5 時間，423 mg/kg では持続投与開始後 48 時間までの期間でのみ認められた。これらの血漿中アバシンカプタド　ペゴルの目標濃度は，持続投与開始後 0.5 時間で 141，423 及び 1410 mg/kg の用量でそれぞれの目標濃度（130，390 及び 1300 µg/mL）に近い，若しくは上回ったが，その後の持続投与中は常に目標濃度を下回った。130 µg/mL（目標濃度）を超え

ていたのは，141，423 及び 1410 mg/kg の用量で，それぞれ持続投与開始後 0.5 時間，持続投与終了後 1 時間及び 24 時間までであった。

全用量において，平均血漿中アバシンカプタド　ペゴル濃度が 130 µg/mL を超えた時（実際は 156 µg/mL 以上）に，86%以上の ATCF 阻害が認められた。96 µg/mL 以下の時の阻害率は 86%未満であった。これらの濃度と活性の関係は，全用量群の持続投与中又は持続投与後で同様であった。今回の試験では，持続静脈内投与により各用量群における目標濃度を持続的に達成することはできなかったものの，カニクイザル in vivo において目標濃度（130 µg/mL）を超えるアバシンカプタド　ペゴルにより，補体活性は阻害されると考えられた。

図 2.6.2- 12　反復静脈内投与後の血漿中アバシンカプタド　ペゴル濃度と補体活性（ATCF）阻害の関係



Each point represents the mean.

ATCF: animal total complement function; ARC1905: avacincaptad pegol; BL: baseline/prestudy; CH_{50}: 50% complement-mediated hemolysis; EOI: end of infusion; SOI: start of infusion.

Source: Study KSH00040.

以上の結果を要約すると，アバシンカプタド　ペゴルは用量に関連して ATCF，sRBC 溶血，cRBC 溶血及びザイモサン刺激による C5a 生成を阻害したことから，補体の古典経路及び第二経路の活性化を抑制することが示された。用量や時点に関係なく，アバシンカプタド　ペゴルの濃度が 130 µg/mL を超えると，ATCF が 86%以上阻害された。

2.6.2.3　副次的薬理試験

2.6.2.3.1　オフターゲット作用の検討

2.6.2.3.1.1　蛋白親和性スクリーニング（1059148 試験）

添付資料 4.2.1.2-1 (参)

ラット及びヒトの蛋白パネルに対するアバシンカプタド　ペゴルの親和性について，放射性リガンド結合試験を用いて評価した。アバシンカプタド　ペゴル 10 µmol/L（130 µg/mL）の濃度で 50%以上の阻害を示した蛋白について，0.1～100 µmol/L の濃度で試験を再実施し，50%以上の阻害を示す濃度を同定したうえで，非線形最小二乗回帰分析により IC_{50} 値を算出した。K_I 値は，観察された IC_{50} 値，試験に使用された放射性リガンドの濃度及びリガンドの K_D 値を使用して計算した（表 2.6.2- 4）。

表 2.6.2- 4　　アバシンカプタド　ペゴルの蛋白親和性スクリーニング

Biochemical Assay	**Species**	**IC_{50} (µmol/L)**	**K_I (µmol/L)**
Neuromedin U NMU2	Human	0.268	0.177
Chemokine CCR4	Human	0.419	0.220
Colchicine	Rat	0.344	0.343
Calcium Channel N-Type	Rat	1.11	0.929
Potassium Channel [KA]	Rat	1.63	1.27
Tumor Necrosis Factor (TNF), Non-Selective	Human	1.84	1.32
Vasoactive Intestinal Peptide VIP1	Human	2.25	1.58
Glycine, Strychnine-Sensitive	Rat	4.16	2.35
Epidermal Growth Factor (EGF)	Human	6.04	2.36
Galanin GAL1	Human	5.61	3.63
Chemokine CXCR2 (IL-8B)	Human	10.3	7.20
Adrenergic α1A	Rat	20.0	8.11
Corticotropin Releasing Factor CRF1	Human	10.6	9.57

IC_{50}: concentration of drug required for 50% inhibition of activity in vitro; K_I: inhibition constant.
Source: Study 1059148.

アバシンカプタド　ペゴルは，約 160 種類の蛋白のうち 13 種類（ヒト 8 種類，ラット 5 種類）のリガンド結合を阻害した。ヒト蛋白に対する IC_{50} 値は 0.268～10.6 μmol/L（3.45～137 μg/mL）であった。これら IC_{50} 値は硝子体内投与後の動物で測定したアバシンカプタド　ペゴルの血漿中濃度よりも顕著に高かったことから，生体内においては，阻害が認められた 13 種類の蛋白と相互作用する可能性は低いと考えられた。

2.6.2.3.1.2　抗凝固作用及び補体活性化作用

アバシンカプタド　ペゴルの抗凝固作用及び補体活性化作用を，in vitro 及び in vivo で評価した。これらの作用は必ずしもアバシンカプタド　ペゴルの C5 阻害作用に関連しないため，オフターゲット作用として記載した。

アバシンカプタド　ペゴルの抗凝固作用及び補体活性化作用に関連する評価は，複数の試験（表 2.6.2- 5）で実施されており，以下に結果の概要を示す。

表 2.6.2- 5　　アバシンカプタド　ペゴルのオフターゲット作用の評価を実施した試験

Type of Study	**Study Report Number / CTD Number**
Affinity and specificity of avacincaptad pegol for human C5	C5-PHARM-001-05 / 4.2.1.1-2 (参)
Off-target effects of avacincaptad pegol on coagulation and complement activation	C5-PHARM-006-05 / 4.2.1.2-2 (参)
Cardiovascular and respiratory safety pharmacology study of avacincaptad pegol in conscious, radiotelemetry-instrumented cynomolgus monkeys	KSH00039 / 4.2.1.3-2 (参)
Single-dose range-finding study of toxicity, toxicokinetics and toxicodynamics	KSH00038 / 4.2.3.1-1
Single-dose range-finding study of toxicity, toxicokinetics, pharmacodynamics and toxicodynamics	KSH00033 / 4.2.3.1-2 (参)
Single and repeated-dose toxicity study of avacincaptad pegol with and without combination treatment with Ranibizumab	XGL00005 / 4.2.3.2-1
Single and repeated-dose toxicity study of avacincaptad pegol with and without combination treatment with Ranibizumab	XGL00006 / 4.2.3.2-2
Repeated-dose, toxicity, toxicokinetics, and toxicodynamics study of avacincaptad pegol in SD rats	501280 / 4.2.3.2-3
Repeated-dose, toxicity, toxicokinetics, pharmacodynamics and toxicodynamics study of avacincaptad pegol in cynomolgus monkeys	KSH00040 / 4.2.3.2-4 (参)

アバシンカプタド　ペゴルの凝固系に及ぼす作用

添付資料 4.2.1.1-2 (参)，4.2.1.2-2 (参)，4.2.1.3-2 (参)，4.2.3.1-1，4.2.3.1-2 (参)，4.2.3.2-1，4.2.3.2-2，4.2.3.2-3，4.2.3.2-4 (参)

In vitro 試験［C5-PHARM-001-05 試験］では，結合試験系を用いて，ARC186 の C5 に対する親和性とともに，トロンビン，第 Xa 因子，第 IXaβ 因子及びアンチトロンビンを含む凝固因子のサ

ブセットに対する親和性を検討した。これら 4 種類の蛋白は，塩基性（アルギニン及びリシン）アミノ酸残基に富んだヘパリン結合部位を有していることから，ポリアニオン性ホスホジエステル骨格を有するアプタマー結合を引き寄せる可能性がある。また，この検討では抗ヘパリン作用を有する高カチオン性ポリペプチドであるプロタミンに対する親和性も検討した。

ARC186 は，試験した 4 つの凝固因子のうち，トロンビンに対して高濃度（K_D = 3 μmol/L）で相互作用を示した。33 個のアミノ酸のうち 21 個がアルギニンであるプロタミンとの相互作用は約 10 倍強かった（K_D = 150 ± 27 nmol/L）。ARC186 はプロタミン及びトロンビンと結合するものの，その親和性は同じ試験内で実施した C5（K_D = 0.41 nmol/L）に対するよりも約 400 及び 7000 倍低かった。ARC186 は，第 Xa 因子，第 IXaβ 因子又はアンチトロンビンには結合活性を示さなかった。

2 つ目の in vitro 試験である［C5-PHARM-006-05 試験］では，アバシンカプタド　ペゴルの抗凝固作用を APTT 及び PT の測定により評価した。これらはいずれも臨床において一般的に測定されている項目であり，APTT は内因系，PT は外因系の凝固因子への影響を調べるために用いられる。アバシンカプタド　ペゴルは 2 mg/mL で APTT を有意に延長（1.7 倍）したが，同濃度では PT にほとんど影響を及ぼさなかった。この濃度（2 mg/mL）は，硝子体内投与後の動物で測定したアバシンカプタド　ペゴルの血漿中濃度より顕著に高いが，高濃度においては軽度の抗凝固特性を有する可能性を示している。また，ARC594（サイズ及び PEG 含量が同程度の C5 非選択的アプタマー）についても同様の結果が認められたことから，凝固系に対して認められた影響はアプタマーに一般的な作用である可能性が示唆された。

In vivo 安全性薬理試験［KSH00039 試験］（2.6.2.2.2.1.1 覚醒下カニクイザルに静脈内投与した際のアバシンカプタド　ペゴルの心血管及び呼吸系に対する作用（KSH00039 試験）及び 2.6.2.4.2.1.1 覚醒下カニクイザルに静脈内投与した際のアバシンカプタド　ペゴルの心血管系及び呼吸系に対する作用（KSH00039 試験））では，カニクイザルにアバシンカプタド　ペゴルを漸増法にて単回静脈内投与した後，APTT，PT 及びフィブリノゲンを測定した。アバシンカプタド　ペゴルは，30 mg/kg 以上の投与後 0.5 時間（701 μg/mL 以上に相当）で平均 APTT を 76%～80%延長させた。100 mg/kg の投与後 24 時間では APTT は軽度（19%）に延長したままであった。PT に対しては，アバシンカプタド　ペゴルは 100 mg/kg の投与後 0.5 時間で軽度（19%）に延長させ，100 mg/kg の投与後 24 時間においてもわずか（11%）に延長したままであった。平均血漿中フィブリノゲン濃度はアバシンカプタド　ペゴルの用量と関連して低下し，30 mg/kg 及び 100 mg/kg の投与後 0.5 時間では中等度（それぞれ 33%及び 45%），0 mg/kg 及び 10 mg/kg では軽度（それぞれ 17%及び 18%）であった。

In vivo 毒性試験［KSH00038 試験］（[2.6.6.2.1. ラットにおける単回投与試験（KSH00038 試験）]）では，SD ラットに単回静脈内投与した後，APTT，PT 及びフィブリノゲンを測定した。血液サンプルはベースライン，2，8 及び 15 日目に採取した。数例の動物では，数日にわたって APTT 及び／又は PT の顕著な延長（212 秒超）及び／又はフィブリノゲン値の顕著な低値（69.4 mg/dL 未満）が認められた。これらの変化が認められたのは 2 日目が最も多く，8 及び 15

日目はそれより少なかった。APTT，PT 又はフィブリノゲン値の変化はアバシンカプタド　ペゴルの濃度と直接的に関連していなかったが，これは，凝固系パラメータが 2，8 及び 15 日目にのみ評価されたため，アバシンカプタド　ペゴル濃度がピークとなる初期の時点で評価されなかったためと考えられる。以上より，アバシンカプタド　ペゴルは APTT，PT を延長させ，フィブリノゲン値を低下させる可能性が示されたが，アバシンカプタド　ペゴル濃度との明確な関連は認められなかった。

In vivo 毒性試験［KSH00033 試験］（2.6.2.2.2.1.2 カニクイザルにおける単回投与試験（KSH00033 試験）及び［2.6.6.2.2 カニクイザルにおける単回投与試験（KSH00033 試験）］）では，カニクイザルに単回静脈内投与した後，24 時間かけて持続静脈内投与し，凝固系パラメータである APTT，PT 及びフィブリノゲンを測定した。APTT，PT 及びフィブリノゲン値にアバシンカプタド　ペゴルによる変化はなかった。観察された変化（投与 4 日目に 86.2 mg/kg で APTT の 80%延長，又は投与 2 及び 4 日目にほとんどの群におけるフィブリノゲン値の上昇など）は，用量及び／又は時間に関連した関係がないためアバシンカプタド　ペゴルとの関連性はないと判断された。

In vivo 毒性試験［501280 試験］（[2.6.6.3.3 ラットにおける 7 日間反復静脈内投与試験（501280 試験）]）では，雄 SD ラットに急速静脈内投与後，連続 7 日間持続静脈内投与したときの APTT 延長を評価した。採血はベースライン，持続投与開始後 0.5，48 及び 168 時間，並びに持続投与終了後 24 及び 336 時間に行った。アバシンカプタド　ペゴルは 760 mg/kg 以上で用量に関連して APTT を延長させた。APTT の延長は，760 mg/kg の持続投与開始後 0.5 時間（アバシンカプタド　ペゴル血漿中濃度 922 µg/mL）及び 48 時間（アバシンカプタド　ペゴル血漿中濃度 557 µg/mL）で軽度（174%）であり，1410 mg/kg の持続投与開始後 0.5 及び 48 時間，又は 8 日目の持続投与終了時（アバシンカプタド　ペゴル血漿中濃度はそれぞれ 1433，631 及び 370 µg/mL）で中等度（207%～334%）であった。PT の延長及びフィブリノゲン値の低下が認められたものの，用量及び／又は時間に関連した関係が認められなかったことから，アバシンカプタド　ペゴルに起因するものではないと判断された。

In vivo 毒性試験［KSH00040 試験］（2.6.2.2.2.2.1 カニクイザルにおける 7 日間反復静脈内投与試験（KSH00040 試験）及び［2.6.6.3.4 カニクイザルにおける 7 日間反復静脈内投与試験（KSH00040 試験）］）では，カニクイザルに急速単回静脈内投与後，連続 7 日間持続静脈内投与したときの APTT，PT 及びフィブリノゲンを測定することによりアバシンカプタド　ペゴルの凝固系に対する作用を評価した。アバシンカプタド　ペゴルは 423 mg/kg 以上で APTT の延長及びフィブリノゲン値を低下させ，1410 mg/kg では PT を延長させた。APTT については，持続投与開始後 0.5 時間において 423 mg/kg（血漿中濃度 389 µg/mL）で軽度（4.3 秒），1410 mg/kg（血漿中濃度 1300 µg/mL）で中等度（12.5 秒）の延長が認められた。8 日目の持続投与終了後，APTT は 423 mg/kg で軽度（5.6 秒），1410 mg/kg で顕著（127.5 秒）に延長した。9 日目（持続投与終了 1 日後）には APTT は 423 mg/kg で軽度（7.5 秒），1410 mg/kg で中等度（27.6 秒）の延長が認められた。22 日目においても APTT は 1410 mg/kg 群で依然として軽度（2.8 秒）な延長が認められ

た。アバシンカプタド　ペゴルは 1410 mg/kg でのみ PT に影響を与えたが，その変化はより遅く生じ，より速やかに消失した。8 日目の持続投与終了時には，PT は顕著（41.9 秒）に延長したが，9 日目には軽度（6.0 秒）の延長であった。22 日目までに PT はベースラインに戻った。フィブリノゲン値は投与 5 日前と比較して 9 日目まで低下し続け，423 mg/kg では中等度（26%）の低下，1410 mg/kg では顕著（69%）な低下が認められた。フィブリノゲン値は 1410 mg/kg で 22 日目でも中等度（36%）に低下したままであった。1410 mg/kg での影響は，この用量群の 10 例中 6 例（雄 2 例，雌 4 例）で観察された死亡に寄与した可能性がある。7 日間の持続投与後の APTT，PT 及びフィブリノゲン値のこれらの顕著な変化は，単回静脈内投与後に観察された軽度から中等度の影響と比較すると用量関連性があるかもしれない。

最後に，アバシンカプタド　ペゴルを硝子体内投与による 2 つの in vivo 毒性試験である NZW ウサギの試験［XGL00005 試験］及びビーグル犬の試験［XGL00006 試験］（［2.6.6.3.1　ウサギにおける単回あるいは 9 カ月間反復硝子体内投与試験（XGL00005 試験）］及び［2.6.6.3.2　ビーグル犬における単回あるいは 9 カ月間反復硝子体内投与試験（XGL00006 試験）］）において評価した。両試験において，ラニビズマブ（ルセンティス®）との併用又は非併用下で，アバシンカプタド　ペゴルを単回又は反復（10 回）硝子体内投与後に，凝固系パラメータである APTT，PT 及びフィブリノゲンを測定した。XGL00005 試験では，測定された凝固系パラメータに生物学的又は毒性学的意義のある変化は認められず，アバシンカプタド　ペゴルの投与はこれらのパラメータに明らかな影響を及ぼさなかった。XGL00006 試験において，アバシンカプタド　ペゴルは雌雄ともに最高用量の 3.0 mg／眼（ラニビズマブを併用又は非併用下で両眼硝子体内投与）で投与 13 週目から 25 及び 37 週目まで APTT を軽度（13%～31%）に延長させた。この変化は 1 カ月の回復期間後に回復し，変化の程度が小さいことから生物学的に意味のある変化ではないことが示唆された。

結論として，アバシンカプタド　ペゴルは in vitro 結合実験で特定の凝固因子と相互作用することが示されたが，APTT 又は PT への変化を決定的に示すものではなかった。In vivo では，臨床使用時と比べて高曝露となる静脈内投与後にのみ，その作用は観察された。さらに，反復硝子体内投与 in vivo 試験の結果から，アバシンカプタド　ペゴルに，ヒトにおける想定血漿中濃度で臨床的に意味のある抗凝固作用又は APTT 延長のリスクの懸念はないことが示唆された。

アバシンカプタド　ペゴルの補体活性化に及ぼす作用

添付資料 4.2.1.2-2 (参)，4.2.1.3-2 (参)，4.2.3.1-2 (参)，4.2.3.2-4 (参)

核酸は，古典又は第二経路のいずれかによって補体を活性化することができる。特にホスホロチオエートアンチセンスオリゴヌクレオチドは，おそらく H 因子の調節活性を阻害することにより，第二経路を活性化するとされている［Henry et al, 1997］。［C5-PHARM-006-05 試験］では，C5 作用上流での補体活性化に対するアバシンカプタド　ペゴルの作用を，ヒト血清中の C3a 生成を測定することにより評価した。アバシンカプタド　ペゴルの作用は 2 mg/mL まで検討し，補体の第二経路の活性化因子であるザイモサンを陽性対照として用いた。補体活性化に対す

るクラスエフェクトを評価するため，その他のアプタマーも陽性対照として比較した。アプタマー又はザイモサンが存在しない場合，15 分間のインキュベーションにより C3a レベルが約 2 倍増加した（1.77 ± 0.049～3.86 ± 0.365 µg/mL）。陽性対照であるアプタマー又はザイモサンの添加では，C3a は約 20 µg/mL まで増加した。C3a 濃度を約 5 倍増加させた陽性対照のアプタマー及びザイモサンとは異なり，アバシンカプタド　ペゴルは 2 mg/mL までの濃度で補体活性化をほとんど又は全く誘発しなかった。

In vivo 安全性薬理試験［KSH00039 試験］（2.6.2.2.2.1.1 覚醒下カニクイザルに静脈内投与した際のアバシンカプタド　ペゴルの心血管及び呼吸系に対する作用（KSH00039 試験）及び 2.6.2.4.2.1.1 覚醒下カニクイザルに静脈内投与した際のアバシンカプタド　ペゴルの心血管系及び呼吸系に対する作用（KSH00039 試験））及び毒性試験［KSH00033 試験］（2.6.2.2.2.1.2 カニクイザルにおける単回投与試験（KSH00033 試験）及び［2.6.6.2.2 カニクイザルにおける単回投与試験（KSH00033 試験）］）では，カニクイザル血漿中の Bb 及び C3a 濃度を測定することにより，アバシンカプタド　ペゴルによる補体の活性化を評価した。カニクイザルの Bb 及び C3a の正常範囲は，それぞれ 0.17～1.09 µg/mL 及び 0～368 ng/mL であった。いずれの試験においても Bb の濃度の平均値は投与後高かったものの，全時点で正常範囲内であった。C3a の平均濃度も投与後高かったが，ほとんどのサンプルは正常範囲内の値であった。KSH00039 試験では，例外として，0 mg/kg 投与群の 2 例で 1 日目の投与 0.5 時間における C3a 値は 413 及び 542 ng/mL，100 mg/kg の 1 例で 36 日目の投与 0.5 時間における C3a 値は 377 ng/mL であった。KSH00033 試験では，例外として，287 mg/kg 投与群の雌で投与 5 日前の C3a 値が 425 ng/mL，86.2 mg/kg 投与群の雌で 1 日目の持続投与開始後 0.5 時間に 405 ng/mL，8.6，28.7，287 mg/kg 投与群の雄及び 86.2，287 mg/kg 投与群の雌で投与 2 日目の持続投与終了後 0.25 時間にそれぞれ 850，484，379 及び 388，399 ng/mL であった。これら Bb 及び C3a 値の若干の上昇は，補体が活性化されている可能性を示唆するものの，一方で用量や時間関連性がなく，また，アバシンカプタド　ペゴル投与前にも認められていることから，アバシンカプタド　ペゴルには関連せず，むしろ処置そのものによる影響と考えられる。

In vivo 毒性試験［KSH00040 試験］（2.6.2.2.2.2.1 カニクイザルにおける 7 日間反復静脈内投与試験（KSH00040 試験）及び［2.6.6.3.4 カニクイザルにおける 7 日間反復静脈内投与試験（KSH00040 試験）］）では，カニクイザル血漿中の Bb 及び C3a 濃度を測定することにより，アバシンカプタド　ペゴルによる補体の活性化を評価した。持続投与開始後 0.5，24 及び 168 時間に血液サンプルを採取した。上述の通り，カニクイザルの Bb 値の正常範囲は 0.17～1.09 µg/mL である。Bb の濃度は，対照群では全動物の全時点で正常範囲内であった。141，423 及び 1410 mg/kg 投与群では，それぞれ 6 例中 2 例，6 例中 5 例及び 10 例中 2 例で少なくとも 1 時点で正常範囲を上回る Bb 値が観察された。最も高い Bb 濃度（1.82 µg/mL）は，423 mg/kg 投与群の動物で持続投与終了時に観察された。C3a 値については，正常範囲は 0～368 ng/mL であるが，0，141，423 及び 1410 mg/kg では，それぞれ 6 例中 5 例，6 例中 4 例，6 例中 6 例及び 10 例中 8 例で少なくとも 1 時点で正常範囲を上回る C3a 値が観察された。最も高い C3a の濃度

（1252 ng/mL）は，2 日目に対照群の動物で観察された。これらのごく軽度から若干高い Bb 及び C3a 値は，補体が活性化されている可能性を示唆するものの，用量又は時間に関連した反応が認められないことから，アバシンカプタド　ペゴルには関連せず，むしろ処置そのものによる影響と考えられる。

以上より，C3a の生成を測定した in vitro 試験及び血漿中 Bb と C3a を測定した in vivo 評価において，アバシンカプタド　ペゴルは補体の活性化を示さないと結論づけられた。

2.6.2.4　安全性薬理試験

ICH S7A 及び S7B に準拠して，hERG チャネル（in vitro），心血管系及び呼吸系（カニクイザル）並びに中枢神経系（ラット）に及ぼす影響を評価するため，アバシンカプタド　ペゴルを用いて非 GLP での in vitro 及び GLP での in vivo 安全性薬理試験を実施した。また，アンチセンスオリゴヌクレオチドのクラスエフェクトと報告されているオフターゲット作用（すなわち，内因性凝固系の抑制及び補体の第二経路の活性化）をアバシンカプト　ペゴルが誘発する可能性を検討し，その結果を 2.6.2.3.1.2 抗凝固作用及び補体活性化作用に記載した。

安全性薬理試験の結果は，臨床推奨用量における曝露量では，心血管系，呼吸系及び中枢神経系に影響を及ぼす可能性はないことを示している。安全性薬理試験の概要と特記すべき所見を［2.6.3.4 安全性薬理試験］に示す。

2.6.2.4.1　In Vitro 安全性薬理試験

2.6.2.4.1.1　hERG チャネルに対するアバシンカプタド　ペゴルの作用（050601.BTE 試験）

添付資料 4.2.1.3-1 (参)

アバシンカプタド　ペゴルの 10 及び 100 µmol/L の濃度で，hERG チャネルを発現させた HEK293 細胞を用いて，ホールセルパッチクランプ法により急速活性型遅延整流心臓カリウム電流に対する影響を非 GLP で検討した。アバシンカプタド　ペゴルの各濃度における hERG チャネル電流の阻害率を求め，IC_{50} を算出した。

hERG 電流に対してアバシンカプタド　ペゴルは，濃度上昇に伴って抑制作用を示し，阻害率の平均値（平均値 ± 標準誤差）は，10 µmol/L で 0.8 ± 0.5%（n = 3），100 µmol/L で 10.1 ± 1.3%（n = 5）であった。IC_{50} は求められず，100 µmol/L 以上であった。アバシンカプタド　ペゴルは，100 µmol/L まで hERG チャネルにはほとんど影響しないと判断された。

2.6.2.4.2　In Vivo 安全性薬理試験

2.6.2.4.2.1　心血管，呼吸系

2.6.2.4.2.1.1　覚醒下カニクイザルに静脈内投与した際のアバシンカプタド　ペゴルの心血管系及び呼吸系に対する作用（KSH00039 試験）

添付資料 4.2.1.3-2

テレメトリー送信機を埋め込んだ 4 例の雄カニクイザルに，0（生理食塩水），10，30 及び 100 mg/kg のアバシンカプタド　ペゴルをそれぞれ 1 日目，8 日目，22 日目及び 36 日目に漸増法にて単回静脈内投与し，心血管系（平均血圧，心拍数，体温，心電図［RR，QT 及び QTc 間隔］）及び呼吸系（血中ガス［$PaCO_2$，PaO_2，pH 及び SaO_2］及び呼吸数）に対する作用について検討した。また，一般症状，体重，摂餌状態の確認及び臨床検査（血液学，凝固系及び血液生化学）を行った。加えて，試験前（1 日目の 1 週間前以内）及び各投与後 0.5 時間及び 24 時間に採血し，アバシンカプタド　ペゴルの PD（補体活性の阻害）及び TD（凝固及び補体活性化作用）を評価した。PD 及び TD の結果は，それぞれ 2.6.2.2.2.1.1 覚醒下カニクイザルに静脈内投与した際のアバシンカプタド　ペゴルの心血管及び呼吸系に対する作用（KSH00039 試験）及び 2.6.2.3.1.2 抗凝固作用及び補体活性化作用に記載した。

試験期間中に死亡はなかった。100 mg/kg まで平均血圧，心拍数，体温，心電図パラメータ（RR，QT 及び QTc 間隔），血液ガス（$PaCO_2$，PaO_2，pH 及び SaO_2）及び呼吸数にアバシンカプタド　ペゴルの作用は認められなかった。10，30 及び 100 mg/kg 投与時の C_{max} は，それぞれ 220，701 及び 2072 µg/mL であった。

以上の結果から，本試験条件下においてカニクイザルの心血管系，呼吸系及び体温に対する NOEL は，100 mg/kg であると判断された。

2.6.2.4.2.2　中枢神経系

2.6.2.4.2.2.1　SD ラットに静脈内投与した際のアバシンカプタド　ペゴルの中枢神経系に対する作用（KSH00043 試験）

添付資料 4.2.1.3-3

雌雄 SD ラット（6 例/性/群）に 0（生理食塩水），26，100 及び 260 mg/kg のアバシンカプタド　ペゴルを単回静脈内投与し，中枢神経系（行動，自律神経機能，外観，自発運動，歩行，聴覚反応等）及び体温への作用について検討した。また，体重及び一般症状への作用も検討した。

試験期間中に死亡はなかった。260 mg/kg まで一般症状及び行動検査項目にアバシンカプタド　ペゴルの作用は認められなかった。26 mg/kg 以上では，投与 2 日目の体重が投与 1 日目に比べてわずかに低く（2%～7%），260 mg/kg では投与 1 日目の体温が投与 2 日目に比べてわずかに低くなる傾向（1.0°C～1.1°C）が認められた。体温については，軽度であり中枢神経系の変化を示唆

するものではないと考えられた。以上の結果から，アバシンカプタド　ペゴルを静脈内投与した時の SD ラットの中枢神経系に対する NOAEL は 260 mg/kg であると判断された。

2.6.2.5　薬力学的薬物相互作用試験

2.6.2.5.1　ARC187 のヘパリン及びプロタミンの薬力学的特性に対する影響（C5-DI-001-05 試験）

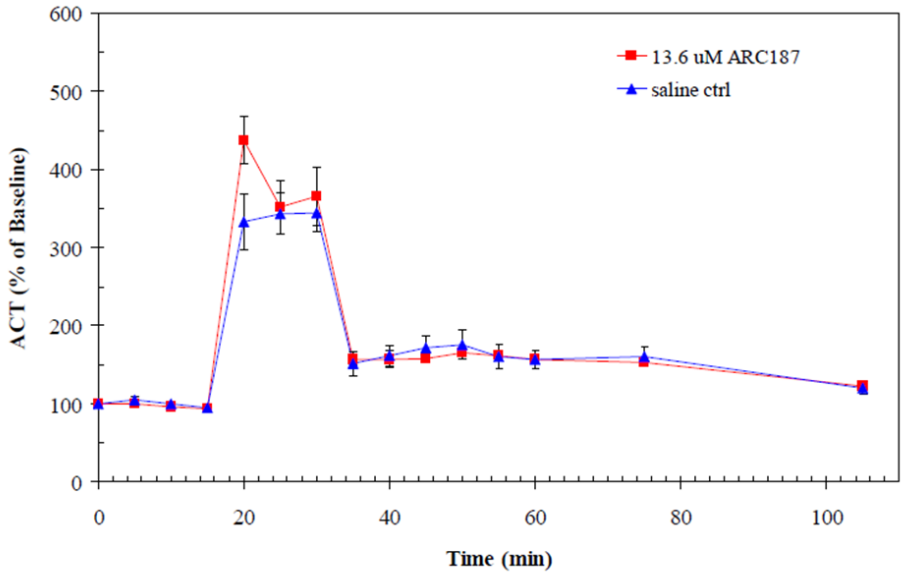
添付資料 4.2.1.4-1 (参)

ARC187 を用いて SD ラットにおける ACT を測定することにより，アバシンカプタド　ペゴルがヘパリン及びプロタミンの作用に影響を及ぼす可能性について検討した。

雄性ラット（7 例／群）に ARC187（第 1 群）又は生理食塩水（第 2 群）を投与した。ARC187 を単回急速静脈内投与（10.2 mg/kg）に続いて 2 時間持続投与（0.0076 mg/kg/min）し，血漿中濃度が 10 µmol/L（130 µg/mL）以上となるようにした。ARC187 持続投与開始 15 分後，ラットに 7 mg/kg のヘパリンを急速静脈内投与した。ヘパリン投与の 15 分後，ラットに 2.1 mg/kg のプロタミンを急速静脈内投与した。血漿中 ARC187 濃度及び ACT の測定のため，投与前及び持続投与開始後の複数の時点で血液サンプルを採取した。

投与後 5 分で測定した最初の時点で ARC187 の血漿中濃度は 10 µmol/L 以上の目標範囲に達し，その濃度は持続投与の期間中維持された。持続投与中の平均アプタマー濃度は 13.60 µmol/L であった。第 1 群の平均 ACT（図 2.6.2- 13）はベースライン 133 秒（100%ベースライン），ヘパリン投与後最大 569 秒（438%ベースライン）であり，プロタミン投与により 5 分未満で 207 秒に低下した。第 2 群（生理食塩水投与）の平均 ACT は，ベースライン 141 秒（100%ベースライン），ヘパリン投与後最大 482 秒（344%ベースライン）であり，プロタミン投与により 5 分未満で 215 秒に低下した。

図 2.6.2- 13　　生理食塩水対照群と ARC187 群の平均 ACT



Each point represents the mean ± SEM.

ACT: activated clotting time; ARC187: same modified RNA oligonucleotide as avacincaptad pegol but are conjugated to polyethylene glycol from different supplier; ctrl: control; µM: µmol/L.

Source: Study C5-DI-001-05.

これらの結果，ARC187（平均血漿中濃度 13.60 µmol/L）はヘパリンの抗凝固活性に影響を与えず，プロタミンの抗ヘパリン作用にも影響を与えないことが示された。

2.6.2.6　考察及び結論

アバシンカプタド　ペゴルの作用機序，効力を裏付ける薬理作用，副次的薬理作用，安全性薬理作用，薬力学的薬物相互作用を特徴付けるために，一連の薬理試験を実施した。

アバシンカプタド　ペゴルは高い親和性で選択的にヒト C5 に結合し，補体の古典及び／又は第二経路の活性化後の C5 切断を阻害し，補体活性化の最終段階を阻害した。カニクイザル C5 に対するアバシンカプタド　ペゴルの作用は，in vitro においてヒトの 10 分の 1 程度であったことから，静脈内投与後のカニクイザルの血漿中アバシンカプタド　ペゴルの目標濃度を 10 µmol/L = 130 µg/mL とした。カニクイザルを用いた in vivo の結果から，血漿中濃度が 130 µg/mL を超えると，ex vivo における補体の古典経路及び第二経路の活性化による補体活性がほぼ最大に阻害されることが確認された。このことにより，ヒトへの硝子体内投与後に，硝子体液中でアバシンカプタド　ペゴルが目標濃度に達することにより，補体活性が局所において阻害されることが期待される。

C5a は，インフラマソームのプライミングと活性化につながる強力なアナフィラトキシン及びケモタキシンである。一方 C5b は，C6 から C9 と結合して溶菌性 MAC である C5b-9 を形成する。アバシンカプタド　ペゴルは，C5 に結合し，C5a 及び C5b への切断を阻害することが期待

される。開発中の他のオリゴヌクレオチド（アンチセンス）化合物は，補体活性化作用が知られているが，アバシンカプタド　ペゴルは in vitro 又は in vivo で補体を活性化しなかった。アバシンカプタド　ペゴルの臨床投与経路は硝子体内投与のため，硝子体腔外への緩徐な排出後の全身濃度は 1 mL 当たり数百ナノグラムの範囲と非常に低く，C5 の阻害は眼に限定される可能性が高い。補体が AMD の病因に重要な役割を果たすことが示唆されているため，アバシンカプタド　ペゴルは C5 活性化及び補体活性化の最終段階を直接阻害することにより，GA を伴う萎縮型 AMD 患者において治療効果をもたらす可能性がある。

アバシンカプタド　ペゴルのオフターゲット作用は抗凝固作用（APTT の延長）に限られており，これは，アバシンカプタド　ペゴルをカニクイザルに静脈内投与した時に観察され，その時の血漿中濃度は約 389 μg/mL であった。この濃度は，アンチセンスオリゴヌクレオチドが APTT を延長すると報告されている血漿中濃度（100 μg/mL 未満）の 3 倍以上であり［Sheehan & Lan, 1998］，硝子体内投与後にヒトで観察された血漿中濃度（ISEE2008 PK 報告書［5.3.3.2-2］）の約千倍であった。ウサギ及びビーグル犬では，アバシンカプタド　ペゴルの硝子体内投与後に測定された凝固系パラメータに生物学的に有意な変化は認められなかった。したがって，APTT の延長はヒトでの硝子体内投与による潜在的なリスクではないと考えられる。アバシンカプタド　ペゴルは C5 活性化を完全に阻害したが，C3 の切断や C3a の生成を阻害しなかったことから，病原体に対する宿主防御などの補体経路の有益な効果は維持されると考えられる。

安全性薬理試験の結果から，カニクイザルの心血管系及び呼吸系に対する作用はアバシンカプタド　ペゴルの 100 mg/kg まで認められず，ラットの中枢神経系に対する作用はアバシンカプタド　ペゴルの 260 mg/kg まで認められなかった。したがって，アバシンカプタド　ペゴルは心血管系，呼吸系及び中枢神経系に対して明らかな作用を示さないと考えられた。アバシンカプタド　ペゴルの 100 mg/kg をカニクイザルに静脈内投与した時の血漿中濃度は 2072 μg/mL（約 161 μmol/L）であり，ヒトに 2 mg を月 1 回硝子体内投与した際の定常状態での平均血漿中最高濃度（C_{max}）の 0.347 μg/mL に対して数千倍高い（ISEE2008 PK 報告書［5.3.3.2-2］）。

薬力学的薬物相互作用試験では，in vitro で ARC186 がプロタミンに対する弱い親和性を示した一方で，ARC187（平均血漿中濃度 13.60 μmol/L）はラットの in vivo でのヘパリン又はプロタミンの使用を妨げないことが示されたことから，アバシンカプタド　ペゴルがヘパリン及びプロタミンの作用に影響を及ぼす可能性が低いことが示唆された。

本項で示した効力を裏付ける試験，副次的薬理試験，安全性薬理試験及び薬力学的薬物相互作用試験の結果より，ヒトにおける GA を伴う萎縮型 AMD の治療薬としてアバシンカプタド　ペゴルが有用であることが，非臨床試験から示唆された。

2.6.2.7　図表

図表は，各項の本文中の適切な場所に挿入した。

2.6.2.8　参考文献

Farman CA, Kornbrust DJ. Oligodeoxynucleotide studies in primates: antisense and immune stimulatory indications. Toxicol Pathol. 2003;31(Suppl.):119-22.

Gong J, Larsson R, Ekdahl KN, Mollnes TE, Nilsson U, Nilsson B. Tubing loops as a model for cardiopulmonary bypass circuits: both the biomaterial and the blood-gas phase interfaces induce complement activation in an in vitro model. J Clin Immunol. 1996;16:222-9.

Henry SP, Giclas PC, Leeds J, Pangburn M, Auletta C, Levin AA, et al. Activation of the alternative pathway of complement by a phosphorothioate oligonucleotide: potential mechanism of action. J. Pharmacol Exp. Ther. 1997;281:810-6.

Kopp R, Mottaghy K, Kirschfink M. Mechanism of complement activation during extracorporeal blood-biomaterial interaction: effects of heparin-coated and uncoated surfaces. ASAIO J. 2002;48:598-605.

Nilsson B, Larsson R, Hong J, Elgue G, Ekdahl KN, Sahu A, et al. Compstatin inhibits complement and cellular activation in whole blood in two models of extracorporeal circulation. Blood. 1998;92:1661-7.

Pekna M, Nilsson L, Nilsson-Ekdahl K, Nilsson UR , Nilsson B. Evidence for iC3 generation during cardiopulmonary bypass as the result of blood-gas interaction. Clin Exp Immunol. 1993;91:404-9.

Pekna M, Hagman L, Halden E, Nilsson UR, Nilsson B, Thelin S. Complement activation during cardiopulmonary bypass: effects of immobilized heparin. Ann Thorac Surg. 1994;58:421-4.

Rinder CS, Rinder HM, Smith BR, Fitch JCK, Smith MJ, Tracey JB, et al. Blockade of C5a and C5b-9 generation inhibits leukocyte and platelet activation during extracorporeal circulation. J Clin Invest. 1995;96:1564-72.

Sheehan JP, Lan HC. Phosphorothioate oligonucleotides inhibit the intrinsic tenase complex. Blood. 1998;92(5):1617-25.

目次

2.6.3　薬理試験概要表.....2
2.6.3.1　薬理試験：一覧表.....2
2.6.3.2　効力を裏付ける試験.....5
2.6.3.3　副次的薬理試験.....8
2.6.3.4　安全性薬理試験.....11
2.6.3.5　薬力学的薬物相互作用試験.....12

2.6.3　薬理試験概要表

2.6.3.1　薬理試験：一覧表

被験物質：アバシンカプタド　ペゴルナトリウム

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	CTD Number
Primary Pharmacodynamics					
Affinity of avacincaptad pegol for human C5	Biotinylated human C5 protein	In vitro	Axcelead Drug Discovery Partners	3021-PH-0001	4.2.1.1-1
Affinity and specificity of avacincaptad pegol for human C5[a]	Isolated human proteins	In vitro	Archemix	C5-PHARM-001-05	4.2.1.1-2 (参)
Avacincaptad pegol inhibition of classical complement pathway activation	Sheep erythrocyte hemolysis assay in presence of human and cynomolgus monkey complement components	In vitro	Archemix	C5-PHARM-002-05	4.2.1.1-3 (参)
Avacincaptad pegol inhibition of alternative complement pathway activation	Human and cynomolgus monkey serum	In vitro	Archemix	C5-PHARM-003-05	4.2.1.1-4 (参)
Avacincaptad pegol inhibition of complement activation in a tubing loop model of cardiopulmonary bypass circulation	Cardiopulmonary bypass model	In vitro	Archemix	C5-PHARM-004-05	4.2.1.1-5 (参)
Anti-complement activity of avacincaptad pegol across species: human, cynomolgus monkey and rat	Sheep erythrocyte hemolysis assay in presence of human, cynomolgus monkey or rat complement components	In vitro	Archemix	C5-PHARM-005-05	4.2.1.1-6 (参)
Qualification of chicken and sheep erythrocyte hemolysis assays	Chicken and sheep erythrocyte hemolysis assay in presence of normal human serum	In vitro	Archemix	C5-PHARM-008-05	4.2.1.1-7 (参)
Cardiovascular and respiratory safety pharmacology study of avacincaptad pegol in conscious, radiotelemetry-instrumented cynomolgus monkeys[a]	Cynomolgus monkeys	Intravenous	Charles River Laboratories	KSH00039	4.2.1.3-2 (参)[c]
Single-dose range-finding, toxicity, toxicokinetics, pharmacodynamics and toxicodynamics study of avacincaptad pegol in cynomolgus monkeys[a,b]	Cynomolgus monkeys	Intravenous by bolus injection followed by continuous infusion over 24 hours once	Charles River Laboratories	KSH00033	4.2.3.1-2 (参)

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	CTD Number
Repeated-dose, toxicity, toxicokinetics, pharmacodynamics and toxicodynamics study of avacincaptad pegol in cynomolgus monkeys[a,b]	Cynomolgus monkeys	Intravenous by bolus injection followed by continuous infusion for 7 consecutive days	Charles River Laboratories	KSH00040	4.2.3.2-4 (参)
Secondary Pharmacodynamics					
Affinity of avacincaptad pegol for range of rat and human proteins (SpectrumScreen®)	Protein affinity screen; panel of rat and human proteins	In vitro	MDS Pharma Services	1059148	4.2.1.2-1 (参)
Affinity and specificity of avacincaptad pegol for human C5[a]	Isolated human proteins	In vitro	Archemix	C5-PHARM-001-05	4.2.1.1-2 (参)
Off-target effects of avacincaptad pegol on coagulation and complement activation	Coagulation assay (APTT and PT) using human plasma Complement activation (level of C3) assay using human serum	In vitro	Archemix	C5-PHARM-006-05	4.2.1.2-2 (参)
Cardiovascular and respiratory safety pharmacology study of avacincaptad pegol in conscious, radiotelemetry-instrumented cynomolgus monkeys[a]	Cynomolgus monkeys	Intravenous	Charles River Laboratories	KSH00039	4.2.1.3-2 (参)[d]
Single-dose range-finding study of toxicity, toxicokinetics and toxicodynamics[b]	SD rats	Intravenous	Charles River Laboratories	KSH00038	4.2.3.1-1[e]
Single-dose range-finding study of toxicity, toxicokinetics, pharmacodynamics and toxicodynamics[a,b]	Cynomolgus monkeys	Intravenous by bolus injection followed by continuous infusion over 24 hours once	Charles River Laboratories	KSH00033	4.2.3.1-2 (参)
Single and repeated-dose toxicity study of avacincaptad pegol with and without combination treatment with Ranibizumab (Lucentis®)[b]	NZW rabbits	Intravitreal injection (One month [single dose] 9 months [10 injections, repeat dose]	Charles River Laboratories	XGL00005	4.2.3.2-1
Single and repeated-dose toxicity study of avacincaptad pegol with and without combination treatment with Ranibizumab[b]	Beagle dogs	Intravitreal injection (One month [single dose] 9 months [10 injections, repeat dose]	Charles River Laboratories	XGL00006	4.2.3.2-2
Repeated-dose, toxicity, toxicokinetics, and toxicodynamics study of avacincaptad pegol in SD rats[b]	SD rats	Intravenous by bolus injection followed by continuous infusion for 7 consecutive days	Charles River Laboratories	501280	4.2.3.2-3[e]
Repeated-dose, toxicity, toxicokinetics, pharmacodynamics and toxicodynamics study of avacincaptad pegol in cynomolgus monkeys[a,b]	Cynomolgus monkeys	Intravenous by bolus injection followed by continuous infusion for 7 consecutive days	Charles River Laboratories	KSH00040	4.2.3.2-4 (参)

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	CTD Number
Safety Pharmacology					
Effect of avacincaptad pegol on hERG channel currents	HEK293 cells expressing hERG channels	In vitro	ChanTest	050601.BTE	4.2.1.3-1(参)
Cardiovascular and respiratory safety pharmacology study of avacincaptad pegol in radiotelemetry-instrumented cynomolgus monkeys[a]	Cynomolgus monkeys	Intravenous	Charles River Laboratories	KSH00039	4.2.1.3-2[f]
Central nervous system safety pharmacology study of avacincaptad pegol in SD rats	SD rats	Intravenous	Charles River Laboratories	KSH00043	4.2.1.3-3
Pharmacodynamic Drug Interactions					
Effect of ARC187 on the pharmacodynamic properties of heparin and protamine	SD rats	Intravenous by bolus injection followed by continuous infusion for 2 hours	Archemix	C5-DI-001-05	4.2.1.4-1 (参)

APTT: activated partial thromboplastin time; C3: complement component 3; C5: complement component 5; HEK: human embryonic kidney; hERG: human ether- à -go-go-related gene; NZW: New Zealand White; PT: prothrombin time; SD: Sprague-Dawley.

a: The study appears in multiple locations in this table as study results are applicable to different sections of the nonclinical pharmacology module.

b: The study is included in the toxicology tabulated and written summaries and the reports are provided in Module 4.2.3. Relevant pharmacology study results are summarized in applicable nonclinical pharmacology modules.

c: 安全性薬理試験としては評価資料であるが，この試験の一部として実施した効力を裏付ける試験は参考資料として位置づける。

d: 安全性薬理試験としては評価資料であるが，この試験の一部として実施した副次的薬理試験は参考資料として位置づける。

e: 単回及び反復静脈内投与毒性試験としては参考資料としているが，この試験の一部として実施した副次的薬理試験は重要な試験のため評価資料として位置付ける。

f: この試験の一部として実施した効力を裏付ける試験及び副次的薬理試験は参考資料であるが，安全性薬理試験としては評価資料として位置付ける。

2.6.3.2　効力を裏付ける試験

被験物質：アバシンカプタド　ペゴルナトリウム

Type of Study	Test System	Method of Administration	Dose[a]	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number	CTD Number
Affinity of avacincaptad pegol for human C5	Biotinylated human C5 protein	In vitro	NA	NA	High affinity of avacincaptad pegol for human C5.	3021-PH-0001	4.2.1.1-1
Affinity and specificity of avacincaptad pegol for human C5	Isolated human proteins	In vitro	NA	NA	High affinity and specificity for human C5. (C1q, C3, C4, C5a des Arg, C6 or C' regulatory proteins, Factor B and Factor H not recognized by ARC186[b]).	C5-PHARM-001-05	4.2.1.1-2 (参)
Avacincaptad pegol inhibition of classical complement pathway activation	Sheep erythrocyte hemolysis assay in presence of human and cynomolgus monkey complement components	In vitro	NA	NA	Complete (90%-99%) in vitro inhibition of complement activity achieved in human and monkey serum (effects approximately 10-fold less potent in cynomolgus monkey model).	C5-PHARM-002-05	4.2.1.1-3 (参)
Avacincaptad pegol inhibition of alternative complement pathway activation	Human and cynomolgus monkey serum	In vitro	NA	NA	Essentially complete in vitro blockade of C5 activation in both species. Upstream complement activation was not affected. C3a generation was not inhibited up to 2 µmol/L avacincaptad pegol concentration.	C5-PHARM-003-05	4.2.1.1-4 (参)
Avacincaptad pegol inhibition of complement activation in a tubing loop model of cardiopulmonary bypass circulation	Cardiopulmonary bypass model	In vitro	NA	NA	Inhibition of C5a generation, but not C3a.	C5-PHARM-004-05	4.2.1.1-5 (参)
Anti-complement activity of avacincaptad pegol across species: human, cynomolgus monkey and rat	Sheep erythrocyte hemolysis assay in presence of human, cynomolgus monkey or rat	In vitro	NA	NA	Complete (90%-99%) inhibition in vitro of complement activity in human and cynomolgus monkey serum (but approximately 10-fold less potent against monkey complement vs. human).	C5-PHARM-005-05	4.2.1.1-6 (参)

Type of Study	Test System	Method of Administration	Dose[a]	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number	CTD Number
	complement components				Little to no specific inhibitory activity observed against rat complement activation at low concentrations, but inhibition was observed at high [1-10 µmol/L] concentrations.		
Qualification of chicken and sheep erythrocyte hemolysis assays	Chicken and sheep erythrocyte hemolysis assay in presence of normal human serum	In vitro	NA	NA	Chicken and sheep erythrocyte hemolysis assays were qualified.	C5-PHARM-008-05	4.2.1.1-7 (参)
Cardiovascular and respiratory safety pharmacology study of avacincaptad pegol in conscious, radiotelemetry-instrumented cynomolgus monkeys	Cynomolgus monkeys	Intravenous (bolus)	0, 10, 30 and 100 mg/kg	4M	At 0.5 and 2 hours after dosing avacincaptad pegol at ≥ 10 mg/kg was associated with > 95% inhibition of ATCF and 69% to 78% inhibition of zymosan-mediated generation of C5a.	KSH00039	4.2.1.3-2 (参)[c]
Single-dose range-finding study and toxicity, toxicokinetics, pharmacodynamics and toxicodynamics of avacincaptad pegol in cynomolgus monkeys	Cynomolgus monkeys	Intravenous by bolus injection followed by continuous infusion over 24 hours once	iv bolus: 0, 1, 3, 10, 30 and 100 mg/kg Continuous iv infusion: 0, 1.9, 5.6, 18.7, 56.2 and 187 mg/kg Oligonucleotide cumulative dose: 0, 2.9, 8.6, 28.7, 86.2 and 287 mg/kg	1M, 1F	≥ 98% inhibition of ATCF was attained only at doses ≥ 28.7 mg/kg and was maintained during the 24-hour infusion. Maximal inhibition of complement activity observed with the sheep erythrocyte hemolysis assay was 81% at the highest dose of 287 mg/kg and a dose-related effect was evident.	KSH00033	4.2.3.1-2 (参)

Type of Study	Test System	Method of Administration	Dose[a]	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number	CTD Number
Repeated-dose, toxicity, toxicokinetics, pharmacodynamics and toxicodynamics study of avacincaptad pegol in cynomolgus monkeys	Cynomolgus monkeys	Intravenous by bolus injection followed by continuous infusion for 7 consecutive days	iv bolus: 0, 10, 30 and 100 mg/kg Continuous iv infusion: 0, 131, 393 and 1310 mg/kg Oligonucleotide cumulative dose: 0, 141, 423 and 1410 mg/kg	3-5M, 3-5F	Avacincaptad pegol at ≥ 141 mg/kg was associated with dose-related inhibition of complement activity, as indicated by decreases in ATCF values, post-zymosan C5a concentrations and sRBC and cRBC hemolysis.	KSH00040	4.2.3.2-4 (参)

ATCF: animal total complement function; C5: complement component 5; cRBC: chicken red blood cell; F: female; iv: intravenous; M: male; NA: not applicable; sRBC: sheep red blood cell.

a: The dose of avacincaptad pegol is based on the mass (weight) of the oligonucleotide.

b: The oligonucleotide portion of avacincaptad pegol with a 5'-hydroxyl terminus.

c: 安全性薬理試験としては評価資料であるが，この試験の一部として実施した効力を裏付ける試験は参考資料として位置づける。

2.6.3.3　副次的薬理試験

被験物質：アバシンカプタド　ペゴルナトリウム

Type of Study	Test System	Method of Administration	Dose[a]	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number	CTD Number
Affinity of avacincaptad pegol for range of rat and human proteins (SpectrumScreen®)	Protein affinity screen; panel of rat and human proteins	In vitro	NA	NA	Partial inhibition of ligand binding for 13 of approximately 160 proteins: 8 human and 5 rat, with IC_{50} values for the human proteins ranging from 0.268 to 10.6 µmol/L (3.5 to 137 µg/mL)	1059148	4.2.1.2-1 (参)
Affinity and specificity of avacincaptad pegol for human C5	Isolated human proteins	In vitro	NA	NA	The aptamer ARC186[b] recognizes protamine and thrombin with approximately 400- and 7000-fold lesser affinity (K_D = 150 nmol/L and 3000 nmol/L, respectively) than C5 (K_D = 0.41 nmol/L). No significant binding to Factor Xa, Factor IXaβ or antithrombin.	C5-PHARM-001-05	4.2.1.1-2 (参)
Off-target effects of avacincaptad pegol on coagulation and complement activation	Coagulation assay (APTT and PT) using human plasma Complement activation (level of C3) assay using human serum	In vitro	NA	NA	No complement activation or PT prolongation up to 2 mg/mL. The prolongation of APTT (1.7-fold) at 2 mg/mL.	C5-PHARM-006-05	4.2.1.2-2 (参)
Cardiovascular and respiratory safety pharmacology study of avacincaptad pegol in conscious, radiotelemetry-instrumented cynomolgus monkeys	Cynomolgus monkeys	Intravenous	0, 10, 30 and 100 mg/kg	4M	Mild to moderate effects on coagulation parameters PT, APTT and fibrinogen.	KSH00039	4.2.1.3-2 (参)[f]

Type of Study	Test System	Method of Administration	Dose[a]	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number	CTD Number
Single-dose range-finding study of toxicity, toxicokinetics and toxicodynamics	SD rats	Intravenous (Single iv bolus injection)	0, 10, 26, 54, 100, 260, 540 and 800 mg/kg	9M, 7-9F	Moderate effects on coagulation parameters PT, APTT and fibrinogen.	KSH00038	4.2.3.1-1[g]
Single-dose range-finding study of toxicity, toxicokinetics, pharmacodynamics and toxicodynamics	Cynomolgus monkeys	Intravenous (Single iv bolus injection followed by continuous infusion over 24 hours)	iv bolus: 0, 1, 3, 10, 30 and 100 mg/kg Continuous iv infusion: 0, 1.9, 5.6, 18.7, 56.2 and 187 mg/kg Oligonucleotide cumulative dose: 0, 2.9, 8.6, 28.7, 86.2 and 287 mg/kg	1M, 1F	None	KSH00033	4.2.3.1-2 (参)
Single and repeated-dose toxicity study of avacincaptad pegol with and without combination treatment with Ranibizumab	NZW rabbits	Intravitreal injection (One month [single-dose] 9 months [10 injections, repeat-dose])	0, 0.15, 0.5, 1.5, 1.5 + 0.3[c] and 1.5 + 0 mg/eye[d]	2-9M, 2-9F	None	XGL00005	4.2.3.2-1
Single and repeated-dose toxicity study of avacincaptad pegol with and without combination treatment with Ranibizumab	Beagle dogs	Intravitreal injection (One month [single-dose] 9 months [10 injections, repeat-dose])	0, 0.3, 1.0, 3.0, 3.0 + 0.5[c] and 3.0 + 0 mg/eye[d]	2-9M, 2-9F	Reversible minor prolongation of APTT. No avacincaptad pegol-related changes to PT and fibrinogen values.	XGL00006	4.2.3.2-2
Repeated-dose, toxicity, toxicokinetics, and toxicodynamics study of avacincaptad pegol in SD rats	SD rats	Intravenous by bolus injection followed by continuous infusion for	iv bolus: 0, 26, 54 and 100 mg/kg Continuous iv infusion: 0, 341,	10M[e]	Dose-dependent mild to moderate prolongation of APTT. No avacincaptad pegol-related changes to PT and fibrinogen values.	501280	4.2.3.2-3[g]

Type of Study	Test System	Method of Administration	Dose[a]	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number	CTD Number
		7 consecutive days	706 and 1310 mg/kg				
Repeated-dose, toxicity, toxicokinetics, pharmacodynamics and toxicodynamics study of avacincaptad pegol in cynomolgus monkeys	Cynomolgus monkeys	Intravenous by bolus injection followed by continuous infusion for 7 consecutive days	iv bolus: 0, 10, 30 and 100 mg/kg Continuous iv infusion: 0, 131, 393 and 1310 mg/kg Oligonucleotide cumulative dose: 0, 141, 423 and 1410 mg/kg	3-5M, 3-5F	Dose-related marked changes in APTT, PT, and fibrinogen values following 7 days of continuous infusion.	KSH00040	4.2.3.2-4 (参)

APTT: activated partial thromboplastin time; C5: component 5; IC_{50}: 50% inhibitory concentration; iv: intravenous; F: female; KD: dissociation constant; M: male; NA: not applicable; NZW: New Zealand White; PT: prothrombin time; SD: Sprague-Dawley.

a: The dose of avacincaptad pegol is based on the mass (weight) of the oligonucleotide.

b: The oligonucleotide portion of avacincaptad pegol with a 5'-hydroxyl terminus.

c: Avacincaptad pegol and Ranibizumab doses, respectively.

d: The test materials were administered to both eyes of the animals.

e: Ten males / group out of 14 males / satellite group were used for the coagulation evaluation.

f: 安全性薬理試験としては評価資料であるが，この試験の一部として実施した副次的薬理試験は参考資料として位置付ける。

g: 単回及び反復静脈内投与毒性試験としては参考資料としているが，この試験の一部として実施した副次的薬理試験は重要な試験のため評価資料として位置付ける。

2.6.3.4　安全性薬理試験

被験物質：アバシンカプタド　ペゴルナトリウム

Organ Systems Evaluated	Species / Strain	Method of Administration	Dose[a]	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP	Study Number	CTD Number
Cardiovascular	HEK293 cells expressing hERG channels	In vitro	10 and 100 µmol/L	NA	Concentration dependent inhibition of hERG K^+ currents with estimated IC_{50} of > 100 µmol/L avacincaptad pegol.	No	050601.BTE	4.2.1.3-1 (参)
Cardiovascular, Respiratory	Cynomolgus monkeys	Intravenous (bolus)	0, 10, 30 and 100 mg/kg	4M	None	Yes	KSH00039	4.2.1.3-2[b]
Central nervous system	Rat / SD	Intravenous (bolus)	0, 26, 100 and 260 mg/kg	6M, 6F	None	Yes	KSH00043	4.2.1.3-3

F: female; GLP: Good Laboratory Practice; hERG: human ether-à-go-go-related gene; IC_{50}: 50% inhibitory concentration; K^+: positively charged potassium ion; M: Male; NA: not applicable; SD: Sprague-Dawley.

a: The dose of avacincaptad pegol is based on the mass (weight) of the oligonucleotide.

b: この試験の一部として実施した効力を裏付ける試験及び副次的薬理試験は参考資料であるが，安全性薬理試験としては評価資料として位置付ける。

2.6.3.5　薬力学的薬物相互作用試験

被験物質：ARC187[a]

Type of Study	Test System	Method of Administration	Dose[b]	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number	CTD Number
Effect of ARC187[a] on the pharmacodynamic properties of heparin and protamine	SD rats	Intravenous by bolus injection followed by continuous infusion for 2 hours	iv bolus: 10.2 mg/kg Continuous iv infusion: 0.0076 mg/kg/min	7M	At mean plasma concentration up to 13.60 µmol/L, ARC187 did not interfere with heparin or protamine, when administered concomitantly.	C5-DI-001-05	4.2.1.4-1 (参)

iv: intravenous; M: male; SD: Sprague-Dawley.

a: ARC187 has a same modified RNA oligonucleotide as avacincaptad pegol but are conjugated to polyethylene glycol from different supplier.

b: The dose of ARC187 is based on the mass (weight) of the oligonucleotide.