TABLE OF CONTENTS

LIST OF TABLES 1
本項で使用する用語・略語 2
1. まとめ 3
2. 分析法 4
2.1. ウサギ血漿中マルスタシマブの定量法 4
3. 吸収 5
3.1. 反復投与時のトキシコキネティクス 5
3.1.1. 生殖発生毒性試験においてラットおよびウサギへ反復投与したときのトキシコキネティクス 5
4. 分布 6
5. 代謝（動物種間の比較） 6
6. 排泄 6
7. 薬物動態学的薬物相互作用 6
8. その他の薬物動態試験 6
9. 考察及び結論 7
10. 図表 7

LIST OF TABLES

Table 1. ラットおよびウサギへ反復投与したときのトキシコキネティクス（生殖発生毒性試験） 5

本項で使用する用語・略語

用語・略号	省略していない表現または定義
AUC_{168}	area under the plasma concentration-time curve from time zero to 168 hours：0 時間から 168 時間までの血漿中濃度-時間曲線下面積
C_{max}	maximum plasma concentration：最高血漿中濃度
Fd	heavy chain of fragment antigen binding region of antibody：抗体のフラグメント抗原結合領域の重鎖
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
IgG	immunoglobulin G：免疫グロブリン G
N	number：例数
TFPI	tissue factor pathway inhibitor：組織因子経路インヒビター

1. まとめ

マルスタシマブは「血液凝固第VIII因子又は第IX因子に対するインヒビターを保有しない先天性血友病患者における出血傾向の抑制」を適応症として 2024 年 12 月に承認を取得しており，マルスタシマブの非臨床プロファイルは初回申請承認資料に詳述された一連の薬理試験，薬物動態試験および毒性試験によって広範に評価されている。

今回の「血液凝固第VIII因子又は第IX因子に対するインヒビターを保有する先天性血友病患者における出血傾向の抑制」の適応追加に関する一部変更承認申請にあたり，初回申請以降に追加された薬物動態試験成績を提出する。本項ではその概要について記述する。

ウサギにおけるマルスタシマブの定量法をバリデートした。生殖発生毒性試験において，ラットおよびウサギにマルスタシマブを静脈内反復投与した際の曝露量は用量にほぼ比例して増加した。

2. 分析法

ウサギにおけるマルスタシマブの定量にはリガンド結合アッセイを用いた。GLP 試験で採取した血漿試料の濃度測定には，以下のバリデートされた方法を用いた。

2.1. ウサギ血漿中マルスタシマブの定量法

報告書番号：15-[redacted]20（PF-06741086_[redacted]_031711）

概要表：2.6.5.2A，2.6.5.2B

ウサギ血漿を用いてバリデートした分析法では，マイクロタイタープレートに固定化したストレプトアビジンにビオチン標識 TFPI を結合させ，この TFPI によりマルスタシマブを捕捉し，ホースラディッシュペルオキシダーゼと結合させたヤギ抗ヒト IgG Fd 抗体を用いてマルスタシマブを検出した。ペルオキシダーゼ基質を用いて発色シグナルを生成させ，プレートリーダーを用いて発色シグナル強度を測定した。4 パラメータ回帰モデルを用いて作成した検量線を使用し，内挿法により試料濃度を算出した。希釈していないウサギ血漿における定量範囲は 40.0～1800 ng/mL であった。

3. 吸収

3.1. 反復投与時のトキシコキネティクス

GLP 適用の生殖発生毒性試験におけるトキシコキネティクスにおいて，用量と曝露量の関係を評価した。

3.1.1. 生殖発生毒性試験においてラットおよびウサギへ反復投与したときのトキシコキネティクス

報告書番号：[redacted]PZ257，[redacted]PZ187，[redacted]PZ233

概要表：2.6.7.12，2.6.7.13A，2.6.7.13B

雌ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（[redacted]PZ257 試験）ならびにラットまたはウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験（[redacted]PZ187 試験および [redacted]PZ233 試験）において静脈内投与したときの曝露量を評価した（Table 1）。

いずれの試験においても，溶媒対照群においてマルスタシマブは検出されなかった。またマルスタシマブの曝露量（AUC_{168}）は用量にほぼ比例して増加した。

Table 1.　ラットおよびウサギへ反復投与したときのトキシコキネティクス（生殖発生毒性試験）

試験/試験番号	用量 (mg/kg/dose)	C_{max}[a] (ng/mL)	AUC_{168}[a] (ng•h/mL)
雌ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験[b]/[redacted]PZ257	20	602,000	19,700,000
	60	2,140,000	88,500,000
	120	2,940,000	169,000,000
ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験[c]/[redacted]PZ187	20	480,000	9,120,000
	60	1,430,000	39,400,000
	180	4,130,000	154,000,000
ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験[d]/[redacted]PZ233	10	355,000	17,600,000
	40	1,140,000	77,500,000
	125	3,690,000	291,000,000

a. 反復投与時の C_{max} および AUC_{168} は血漿中濃度の平均値を示す。
b. 雌ラットに対して交配 14 日前から週 1 回，妊娠 6 日までマルスタシマブを静脈内投与したときの妊娠 8 日の曝露量を示す（N = 5）。
c. 雌ラットに対して妊娠 6 日および妊娠 12 日にマルスタシマブを静脈内投与したときの妊娠 12 日の曝露量を示す（N = 5）。
d. 雌ウサギに対して妊娠 7 日および妊娠 14 日にマルスタシマブを静脈内投与したときの妊娠 14 日の曝露量を示す（N = 5）。

4. 分布

本申請における提出データなし。

5. 代謝（動物種間の比較）

本申請における提出データなし。

6. 排泄

本申請における提出データなし。

7. 薬物動態学的薬物相互作用

本申請における提出データなし。

8. その他の薬物動態試験

本申請における提出データなし。

9. 考察及び結論

生殖発生毒性試験において，ラットおよびウサギにマルスタシマブを静脈内反復投与した際の曝露量は用量にほぼ比例して増加した。

10. 図表

表は，本文中の該当箇所または薬物動態試験概要表（2.6.5 項）ならびに毒性試験概要表（2.6.7 項）に記載した。

TABLE OF CONTENTS

2.6.5.1. PHARMACOKINETICS OVERVIEW 2
2.6.5.2A. OVERALL SUMMARY OF METHOD VALIDATION REPORTS AND ASSOCIATED STUDIES 3
2.6.5.2B. SUMMARY OF ANALYTICAL METHOD VALIDATION PARAMETERS 4

2.6.5.1. PHARMACOKINETICS OVERVIEW

Test Article: PF-06741086

Type of Study	Test System	Method of Administration	In-Life Facility	Report Number
Analytical Method and Validations[a]				
Reproductive and Developmental Toxicokinetics				
Once Weekly Intravenous Injection in Embryofetal Development Study (GLP)[b]	Pregnant Wistar Han Rats	IV	Pfizer	[redacted]PZ187
Female Fertility Study (GLP)[b]	Wistar Han Rat	IV	Pfizer	[redacted]PZ257
Embryofetal Development Study in Pregnant Rabbits (GLP)[b]	New Zealand White Rabbits	IV	Pfizer	[redacted]PZ233

a. Analytical methods are listed in Tabulated Summary 2.6.5.2A.
b. Toxicokinetic parameters are presented in Tabulated Summaries 2.6.7.12, 2.6.7.13A and 2.6.7.13B.

2.6.5.2A. OVERALL SUMMARY OF METHOD VALIDATION REPORTS AND ASSOCIATED STUDIES

Test Article: PF-06741086

Report Number	Report Issue Date	Method Type	Quantification Range	Study
Rabbit K2 EDTA Plasma				
15-[redacted]20 (PF-06741086 [redacted] 031711)	[redacted] 20[redacted]	Validation ([redacted][a])	Quantitation of PF-06741086	40 to 1,800 ng/mL	[redacted]PZ233

Notes: Analytical methods presented in this table are ligand binding assays. A summary of validation parameters are provided in Tabulated Summary 2.6.5.2B. Validated methods were used to support embryo-fetal development studies.

a. [redacted].

2.6.5.2B. SUMMARY OF ANALYTICAL METHOD VALIDATION PARAMETERS Test Article: PF-06741086

Quantification of PF-06741086		
Report Number	15-[redacted]20 (PF-06741086_[redacted]_031711)	
Species	Rabbit	
Matrix	Plasma	
Quantification Range	40 to 1,800 ng/mL	
Validation Samples (ng/mL)	40, 110, 400, 1,300, 1,800 ng/mL	
Mean Performance[a]	**Intra-Run**	**Inter-Run**
Precision %CV	≤9.9	≤4.5
Accuracy %RE	-7 to 6.7	-2.3 to 0.8
Total Error %	1.0 to 12.1	4.0 to 5.5
Long-Term Stability	31 days at -70°C	

Notes: Additional validation assessments are presented in validation reports.
a. Acceptance criteria; accuracy and precision (≤ 20% [≤25% LLOQ/ULOQ]) and total error (≤ 30% [40% at LLOQ]).