

審議結果報告書

平成 18 年 12 月 7 日
医薬食品局審査管理課

[販 売 名] ソマバート皮下注用 10mg、同 15mg、同 20mg

[一 般 名] ペグビソマント（遺伝子組換え）

[申 請 者] ファルマシア株式会社

（現ファイザー株式会社）

[申請年月日] 平成 14 年 12 月 24 日

[審 議 結 果]

平成 18 年 11 月 30 日に開催された医薬品第一部会において、本品目を承認して差し支えないとされ、薬事・食品衛生審議会薬事分科会において報告することとされた。なお、本品目は生物由来製品及び特定生物由来製品に該当せず、再審査期間は 10 年とし、原体及び製剤ともに劇薬に該当するとされた。

審査報告書

平成 18 年 11 月 20 日
独立行政法人医薬品医療機器総合機構

承認申請のあった下記の医薬品にかかる医薬品医療機器総合機構での審査結果は、以下のとおりである。

記

[販 売 名]	ソマバート皮下注用 10mg、同 15mg、同 20mg
[一 般 名]	ペグビソマント（遺伝子組換え）
[申 請 者]	ファルマシア株式会社（現 ファイザー株式会社）
[申請年月日]	平成 14 年 12 月 24 日
[剤型・含量]	1 バイアル中にペグビソマント（遺伝子組換え）のタンパク質部分として 10 mg、15 mg 又は 20 mg を含有する注射用凍結乾燥製剤
[申請区分]	医療用医薬品 (1) 新有効成分含有医薬品
[化学構造]	
分子式	$C_{980}H_{1514}N_{259}O_{303}S_7 \cdot 5 [CH_3OCH_2(CH_2OCH_2)_nCH_2CO]$ (n=101~122)
分子量	約 47,000
構造式	別紙
本 質	
(日本名)	18-L-アスパラギン酸-21-L-アスパラギン-120-L-リジン-167-L-アスパラギン-168-L-アラニン-171-L-セリン-172-L-アルギニン-174-L-セリン-179-L-トレオニン化ヒト成長ホルモンをコードする cDNA の発現により組換え体で産生される 191 個のアミノ酸残基からなるヒト成長ホルモン誘導體 ($C_{980}H_{1519}N_{259}O_{303}S_7$; 分子量: 22,001.56) のアミノ酸残基（主たる部位: N 末端フェニルアラニン並びに第 38 位、第 41 位、第 70 位、第 115 位、第 120 位、第 140 位、第 145 位及び第 158 位リジン）の 9 箇所平均約 5 分子の直鎖ポリエチレングリコール（平均分子量: 約 5000）がアミド結合した修飾タンパク質（分子量: 約 47,000）
(英 名)	Modified protein (molecular weight: ca 47,000) that is linear polyethylene glycol (molecular weight: ca 5000)-conjugated human growth hormone analogue consisting of 191 amino acid residues ($C_{980}H_{1519}N_{259}O_{303}S_7$; molecular weight: 22,001.56) produced in a recombinant cell by expression of a cDNA encoding 18-L-asparatic acid-21-L-

asparagine-120-L-lysine-167-L-asparagine-
168-L-alanine- 171-L-serine-172-L-arginine-174-L-serine-179-L-threonine
human growth hormone, approximate five molecules of polyethylene glycol
attached to amino acid residues (major site: F1, K38, K41, K70, K115, K120,
K140, K145 and K158) by amide linkagee

[特記事項]

希少疾病用医薬品

[審査担当部]

新薬審査第三部



- PEG 化部位：PEG 化される可能性の高いアミノ酸残基を**影付き太字**で示す。

ペグビソマント（遺伝子組換え）のアミノ酸配列

審査結果

平成 18 年 11 月 20 日

[販 売 名]	ソマバート皮下注用 10mg、同 15mg、同 20mg
[一 般 名]	ペグビソマント（遺伝子組換え）
[申 請 者]	ファルマシア株式会社（現 ファイザー株式会社）
[申請年月日]	平成 14 年 12 月 24 日
[特記事項]	希少疾病用医薬品
[審査結果]	

提出された資料から、外科的処置、他剤による治療で効果が不十分な場合又は施行が困難な場合の先端巨大症における IGF-I（ソマトメジン-C）分泌過剰状態及び諸症状の改善に対する本剤の有効性及び安全性が示されたと判断する。

有効性については、国内第Ⅱ/Ⅲ相非盲検非対照試験の成績等から示されたと判断する。安全性については、検討された症例数が少なかったこと、肝機能障害及び脳腫瘍の副作用等が懸念されることから、製造販売後調査の中で検討する必要があると考える。

以上、医薬品医療機器総合機構における審査の結果、本品目については、以下の承認条件を付した上で、以下の効能・効果及び用法・用量で承認して差し支えないと判断した。

【効能・効果】	下記疾患における IGF-I（ソマトメジン-C）分泌過剰状態及び諸症状の改善 先端巨大症（外科的処置、他剤による治療で効果が不十分な場合又は施行が困難な場合）
【用法・用量】	通常、成人にはペグビソマント（遺伝子組換え）として初日に 40mg（タンパク質部分）を 1 日 1 回皮下投与する。2 日目以降は 1 日 1 回 10mg（タンパク質部分）を投与する。なお、血清中 IGF-I 値及び症状に応じて、1 日量 30mg（タンパク質部分）を上限として、5mg（タンパク質部分）ずつ適宜増減する。
【承認条件】	国内での治験症例が極めて限られていることから、製造販売後、一定数の症例に係るデータが集積されるまでの間は、全症例を対象に使用成績調査を実施することにより、本剤使用患者の背景情報を把握するとともに、本剤の安全性及び有効性に関するデータを早期に収集し、本剤の適正使用に必要な措置を講じること。

審査報告 (1)

平成 18 年 10 月 31 日

I. 申請品目

[販売名]	ソマバート皮下注用 10mg、同 15mg、同 20mg
[一般名]	ペグビソマント（遺伝子組換え）
[申請者名]	ファルマシア株式会社（現 ファイザー株式会社）
[申請年月日]	平成 14 年 12 月 24 日
[剤型・含量]	1 バイアル中にペグビソマント（遺伝子組換え）のタンパク質部分として 10 mg、15 mg 又は 20 mg を含有する注射用凍結乾燥製剤
[申請時効能・効果]	末端肥大症における血清中インスリン様成長因子-I（IGF-I）値の正常化及び諸症状の改善（ただし、外科的処置、放射線療法による効果が不十分な場合又は施行が困難な場合）
[申請時用法・用量]	通常、成人にはペグビソマント（遺伝子組換え）として初日に 80mg（タンパク質部分）を 1 日 1 回皮下投与する。2 日目以降は 1 日 1 回 10mg（タンパク質部分）から投与を開始し、その後血清中 IGF-I 値及び症状に応じて、1 日量 10mg～30mg（タンパク質部分）の範囲で 5mg（タンパク質部分）ずつ適宜増減する。
[特記事項]	希少疾病用医薬品

II. 提出された資料の概略及び審査の概要

本申請において、申請者が提出した資料及び国立医薬品食品衛生研究所医薬品医療機器審査センター（審査センター）（平成 16 年 3 月末日まで）、又は独立行政法人医薬品医療機器総合機構（機構）（平成 16 年 4 月 1 日以降）からの照会事項に対する申請者の回答の概略は、以下のようであった。なお、本審査報告 (1) においては、審査センターにおける照会・判断等についても機構の名称に統一し、記載している。

申請時に日本人患者における使用成績がなかったことから、追加で日本人患者における有効性及び安全性を確認するための臨床試験が実施された。当該試験成績が提出された段階で機構は審査を再開した。

イ. 起原又は発見の経緯及び外国における使用状況等に関する資料

先端巨大症は、下垂体からの成長ホルモン（GH）の分泌が亢進して起こる疾患であり、その殆どは GH 産生下垂体腺腫に起因する。下垂体腺腫が生ずる原因としては、視床下部障害により起こるとするものと、下垂体 GH 産生細胞の異常により起こるとするものの 2 つの考え方があがるが、後者が有力である。下垂体以外の腫瘍として、稀に肺・膵カルチノイドによる Growth hormone-releasing hormone（GHRH）産生腫瘍が原因となることが知られている。

ペグビソマント（遺伝子組換え）（本薬又は B2036-PEG）は、ヒト成長ホルモン（hGH）のアミ

ノ酸配列中 9 カ所が置換されたタンパク (B2036) の N 末端及びリジン残基に、1 分子当たり分子量 5000 のポリエチレングリコール (PEG) 4~6 個を共有結合させた化合物であり、19 年 から 社により開発が開始された。B2036 は、先端巨大症の主要な原因が GH 分泌過剰であることより、GH 受容体拮抗作用を有するものとして分子生物学的に探索された hGH の遺伝子組換え体であり、本薬は、血中濃度を長時間高く維持することを期待して PEG 化が施されている。なお、 社が 19 年~19 年に最初の生産スケールロットを製造し、20 年 月に本薬の米国を除く各国での承認申請及び全世界における販売権に関する契約を Pharmacia 社(現 Pfizer 社)との間で締結した。さらに、20 年 月には () され、2006 年 9 月現在、世界 40 の国と地域において承認されている。

本申請は、19 年 月に希少疾病用医薬品指定を受けている。当初、希少疾病用医薬品指定を申請したのは 社であったが、その後ファルマシア株式会社<現ファイザー株式会社>に承認申請及び販売権が移譲され、20 年 月 日に希少疾病用医薬品指定の付替えがなされている。得られた試験成績から先端巨大症に対する有効性及び安全性が確認されたとして輸入承認申請が行われた。

審査の過程において、効能・効果に関して、医学会、医療現場及び「先端巨大症および下垂体性巨人症の診断と治療の手引き」(厚生労働科学研究費補助金、難治性疾患克服研究事業、間脳下垂体機能障害に関する調査研究班、平成 17 年度総括・分担研究報告書、2006)において、「末端肥大症」よりも「先端巨大症」が優先して使用されていることから、疾患名を「先端巨大症」に変更する旨が申請者から申し出され、機構はこれを妥当と判断した。

ロ. 物理的・化学的性質並びに規格及び試験方法等に関する資料

<提出された資料の概略>

1. 原薬の特性

B2036 及び B2036-PEG の構造については、N-末端配列の決定 (B2036 のみ)、アミノ酸分析、質量分析 (MALDI-TOF)、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (SDS-PAGE) 分析 (還元及び非還元)、等電点電気泳動解析、トリプシン消化ペプチドマップ及びその LC-MS 分析、紫外可視吸収スペクトル解析、円二色性スペクトル解析、キャピラリー電気泳動による PEG 化特性解析 (B2036-PEG のみ) により検討された。また、B2036 及び B2036-PEG の生物活性としては、 () をもとに検討された。

2. 原薬の製造

1) 細胞基材の調製方法及び管理方法

B2036 遺伝子発現プラスミド () は以下のように作製された。まず、野生型 hGH のコード領域を () と連結して発現させるプラスミドから、hGH の

コード領域で [] の誘発が促進されるような改変プラスミドが作製された。このプラスミドから [] 法により Site[†]での hGH 受容体への結合親和性が高い変異体が単離され、さらに GH 受容体 [] の増強及び PEG 化されるアミノ酸残基である [] 残基の [] の最適化を目的とする部位特異的変異導入の結果、B2036 のコード領域が得られた。この遺伝子発現カセットを、 [] 下で hGH を産生するプラスミド [] の発現カセットと置換することにより、プラスミド [] を得た。

マスターセルバンク (MCB) は、大腸菌 [] を [] により形質転換し、 [] を含む Luria Broth (LB) 培地で [] 段階培養して調製された。ワーキングセルバンク (WCB) は初代 MCB から調製され、WCB1 及び WCB2 を経て現在は WCB3 に更新されている。MCB、WCB1、WCB2 及び WCB3 について、セルバンクの特性解析試験 (宿主の確認、生菌数、非宿主の混入、バクテリオファージの混入、制限酵素地図、構造遺伝子配列、プラスミドの保持、プラスミドコピー数<WCB3 を除く>) が実施された。

MCB の安定性評価は、特性解析試験 (宿主の確認、生菌数<濃度>、プラスミドの保持、非宿主の混入、制限酵素地図及び構造遺伝子配列) により行い、MCB を更新するか、又は全てのバイアルがなくなるまで少なくとも [] 年ごとに継続的に実施される。WCB1 の安定性試験は、20 [] 年 [] 月に新たに WCB2 が作製されたため、20 [] 年 [] 月に終了している。WCB2 の安定性評価は、最低でも [] 年ごとに全てのバイアルがなくなるまで実施され、試験としては、細胞生存率、プラスミドの保持、制限酵素地図及び DNA 配列の決定が行われる。WCB3 の安定性評価は、少なくとも [] 年ごとに行われ、WCB を更新するか、又は全てのバイアルがなくなるまで行われる。

MCB 及び WCB の更新は、調製後、特性解析及び純度 (表現型による宿主確認、非宿主の混入否定、バクテリオファージの混入否定、制限酵素地図、構造遺伝子配列及びプラスミドの保持) についての試験後に行われる。調製した WCB の安定性評価は、WCB を更新するか、又は全てのバイアルがなくなるまで少なくとも [] 年ごとに実施し、安定性試験では、醗酵槽を用いた生産培養試験により細胞増殖能及び目的タンパク質の生産能を評価するとともに遺伝学的試験 (制限酵素地図、構造遺伝子配列) を実施する。なお、遺伝学的試験には、必要に応じて [] ([]) を用いる。

[] 培養については、WCB1 より調製されたサンプルにより検討された。同時に培養された一部は、最小継代培養細胞のサンプル採取及び試験にも使用された。特性解析試験 (制限酵素地図、構造遺伝子配列、プラスミドコピー数、非宿主の混入及びバクテリオファージの混入) の結果、 [] は、最小継代培養サンプルに比べ、プラスミドコピー数の増加が認められた。

細胞加齢限界 (LCA) については、WCB1 及び WCB2 を用いて培養試験が実施され、それぞれの LCA 培養液の特性解析の結果、プラスミドの保持が確認された。

2) 製造工程

[†] GH は 2 つの受容体結合部位 (Site1 及び Site2) を有する。ホ. 薬理作用に関する資料 1.1) 作用機序の項参照。

原薬の製造工程は、醗酵、B2036の回収及びその精製、B2036のPEG化及び処方化原薬の精製よりなる。醗酵工程は、植菌、細胞の増殖及びB2036の産生、細胞収穫から構成され、B2036の回収工程は、細胞[]の[]及び[]、[]及び[]からなる。B2036の精製工程は、[]クロマトグラフィー、[]クロマトグラフィー（[]）、[]フィルトレーション（[]F）①及び[]インキュベーション、[]クロマトグラフィー（[]）①、[]F②、ろ過/充填/凍結保存からなる。B2036のPEG化及び処方化原薬の精製工程は、PEG化、[]クロマトグラフィー、[]F③、[]クロマトグラフィー②、[]F④、B2036-PEGのろ過/充填からなる。保管容器に充てんされた原薬は、[]℃にて保管される。

3) 製造工程の変更

本薬の開発過程で、製造方法は3回変更されている（[]プロセス、P1プロセス、P2プロセス、P3プロセス<申請製造法>）。[]プロセスからP1プロセスへの製法変更では、[]及び[]工程における[]及び[]、[]工程及び[]工程における[]及び[]の[]、[]工程後におけるバッファー交換条件について変更が行われた。また、P1プロセスからP2プロセスへの変更の際しても、同様の工程について変更された。P1プロセス製剤（P1製剤）とP2プロセス製剤（P2製剤）の同等性/同質性については、B2036不純物プロファイル、PEG化プロファイル、比活性の比較・検討が行われ、同等/同質であるとされた。

P3プロセスは、米国FDAの20[]年承認可能通知書で要求された品質特性を満たすために[]社により開発された。[]工程以降の操作について、[]又は[]などの変更、[]過程の追加などが行われ、FDAから要求された純度を上回る目的物質が得られたと申請者は説明している。P3プロセス中間体B2036では、P2プロセス中間体と比べ、目的物質関連物質の混在量の低下、純度の向上が認められた。この結果について、申請者は、P3プロセス製剤（P3製剤）は純度が高いものの、比活性、PEG化プロファイルはP2製剤と類似すること、また[]の含量の差から見積もるとP3製剤は最大で約[]%活性が高いと予想されるが、投与量が個々の患者毎に調節されることから、予想される臨床上の効果に大きな影響はないと説明している。

P2製剤とP3製剤の同等性/同質性については、非臨床試験（安全性）、臨床試験（薬物動態、臨床上的有効性及び安全性）においても検討された（二. 毒性に関する資料 2. 反復投与毒性試験の項 及び ト. 臨床試験の試験成績に関する資料 2. 3) 市販後臨床試験の項 参照）。非臨床試験（安全性）では毒性及び薬物動態プロファイルに差が認められず、不純物はこれらプロファイルに影響しないものと考えられた。また、海外市販後臨床試験（467-MET-9119-007試験）において、P2製剤、P3製剤それぞれの投与終了時の血清中B2036-PEGのトラフ濃度を比較したところ、生物学的同等性の許容域内であり、臨床上的有効性・安全性についても概ね差異は認められなかった。以上より、申請者は、ICHガイドラインQ5Eに基づき、P3製剤を今後使用することは

妥当であると説明している。

3. 原薬の管理

本薬については PEG 化が B2036-PEG の測定に影響を与えることから、精製 B2036 について工程内規格及び試験方法が設定され管理されている。試験項目としては、性状、pH、確認試験（ペプチドマップ、SDS-PAGE<還元及び非還元、銀染色>）、純度試験（イオン交換クロマトグラフィー（以下、IEX-HPLC）<物質 A*、物質 B*>、逆相クロマトグラフィー（以下、RP-HPLC）<物質 A*、物質 C*、物質 D*、その他>、サイズ排除クロマトグラフィー（以下、SE-HPLC）<物質 A*>、SDS-PAGE<還元及び非還元、銀染色>、疎水性相互作用クロマトグラフィー（以下、HI-HPLC）<物質 A*、物質 E*、物質 F*、物質 G*>）、総 DNA 量試験、大腸菌タンパク質、エンドトキシン、微生物限度試験、定量法（紫外可視吸光度）が設定されている。B2036 の不純物プロファイルについて検討された結果、物質 E*、物質 B*、物質 H*、物質 C*及び物質 G*は活性を有することが確認され、目的物質関連物質と分類された。一方、物質 F*及び物質 D*については活性を確認するに十分な量が単離されなかったことから目的物質由来不純物と分類された。

原薬の B2036-PEG については規格及び試験方法として、性状、pH、確認試験（ペプチドマップ）、浸透圧、純度試験（SE-HPLC<凝集体>、 法<物質 B*>、ペプチドマップ/HPLC<物質 H*>）、エンドトキシン、微生物限度試験、PEG 化体比、生物活性試験（ アッセイ）、含量（紫外可視吸光度）が設定されている。原薬の不純物の規格は、規格試験、試験法バリデーション及び安定性試験の結果を考慮して設定されている。

4. 標準物質

B2036-PEG の製造及び試験には 2 種類の標準物質（B2036-PEG 標準物質及び B2036 標準物質）が使用されており、それぞれ 3 種類の製造工程（ プロセス、P2 プロセス及び P3 プロセス）により製造され、分子特性及び品質特性について比較検討されている。P3 プロセス標準物質がもっとも純度が高いものの、その目的物質関連物質、目的物質由来不純物及び製造工程由来不純物の種類に変化は認められていない。B2036 標準物質は工程内管理規格を、また、B2036-PEG 標準物質は原薬の規格をそれぞれ満たしている。P3 プロセスによる標準物質は、B2036-PEG、B2036 とともに実生産ロットを用いて製造されている。

標準物質は、B2036 の確認試験及び純度試験、原薬の確認試験、純度試験、PEG 化体比及び生物活性、また、製剤の確認試験、純度試験、PEG 化体比、生物活性にそれぞれ用いられ、いずれも自家一次標準物質が用いられる。なお、申請時に P2 プロセス以前は自家一次標準物質を基準として検定された自家常用標準物質が使用されていたが、P3 プロセス以降は使用されていない。P3 プロセスによる B2036-PEG 自家一次標準物質及び B2036 自家一次標準物質は、それぞれの規格試験に適合した最初のロットについて追加の適格性試験（B2036-PEG については流体力学的半径、円二色性、蛍光スペクトル、等電点電気泳動、トリプシン消化ペプチドマップ LC/MS 分析及び MALDI-TOF 質量分析法、B2036 については N 末端配列、アミノ酸分析、流体力学的半径、円二

色性、蛍光スペクトル、等電点電気泳動、エレクトロスプレー質量分析及びトリプシン消化ペプチドマップ LC/MS 分析) を実施し、設定された。

なお、B2036-PEG 自家一次標準物質の生物活性については原薬及び製剤と異なり単位表記とされている。本剤の開発を進めていた米国 [] 社は、十分な特性解析が行われた最初のペグピソマント自家一次標準物質の生物活性を「B2036 []mg 相当量当たり []単位」と設定しており、新しいペグピソマント自家一次標準物質の生物活性値については、既知の生物活性値を有する更新前のペグピソマント自家一次標準物質の生物活性値を基準として付与していく方法（ブリッジング）を採用している。

5. 製剤の製造及び管理

B2036-PEG 製剤は、原薬に [] 剤として D-マンニトール及びグリシンを添加し、[] 剤を加えて凍結乾燥した無菌の白色の粉末であり、無菌注射用水に用時溶解して用いる単回投与無菌バイアル製剤である。活性タンパク質 (B2036) として 10mg、15mg 及び 20mg を含有する製剤が申請されている。

本剤の製剤処方 [] 社ヒト成長ホルモン (hGH : []) の製剤化開発に基づき開発され、本剤と [] の製剤処方は本質的に同一である。製剤の規格及び試験方法として、性状 (凍結乾燥品、溶解後の液)、確認試験 (ペプチドマップ、SDS-PAGE<還元及び非還元>)、pH、純度試験 (SDS-PAGE<還元及び非還元>、[] 法<物質 B*>、SE-HPLC<凝集体>、RP-HPLC<物質 H*>)、水分、エンドトキシン、含量均一性試験、不溶性異物検査、不溶性微粒子試験、無菌試験、PEG 化体比、生物活性試験 ([] アッセイ)、含量 (紫外可視吸光度) が設定されている。

<審査の概略>

機構は PEG 化の程度として B2036 一分子あたり共有結合する PEG5000 分子数を 5 個程度として開発設計した理由を尋ねた。

申請者は以下のように回答した。hGH について PEG 化の程度と生物活性の関係について検討されており、GH-PEG6 (6 カ所 PEG 化された GH) や GH-PEG7 は生物活性が低下する一方、PEG 化度の低い GH-PEG3、GH-PEG2 及び GH-PEG1 は生体内の半減期が短いことから、hGH 1 分子当たりの PEG5000 分子数は 4~5 個が最適であると報告されている (Clark R *et al.*, *J Biol Chem* 1996; 271: 21969-21977)。したがって、GH のアナログである B2036 についても同様の結果が期待できると考え本薬の開発を行った。

機構は、臨床試験は P1 プロセス及び P2 プロセスにより製造されたものが使用されているが、申請製法及び申請規格は P3 プロセスにより製造されるものとなっており、P2 製剤と P3 製剤とは、比活性又は PEG 化プロファイル等、品質に係る試験項目において違いが認められることから、申請製剤の臨床の有効性及び安全性を担保する上での品質保証について、申請者の見解を説明するよう求めた。

申請者は、以下のように回答した。P2 製剤と P3 製剤について、品質以外の項目について比較したとき、非臨床（安全性）及び海外市販後臨床試験の結果は同等、同質であった。また、本邦で実施された追加臨床試験において、P3 製剤の日本人患者における有効性及び安全性が確認されている。ICH ガイドライン Q5E に基づき、品質が向上し、安全性及び有効性につき有害な影響を及ぼさない P3 製剤を今後使用することは妥当であると考えた。

機構は、生物活性の規格値の幅が広く設定されている理由を尋ねるとともに、実測データの多くが % を 回っていたことから当該規格値の妥当性について説明を求めた。

申請者は以下のように説明した。本生物活性試験においては、細胞応答（増殖した細胞数）が増大すると測定値のバラツキも大きくなり、かつ細胞増殖は指数関数的であることから、データを正規分布させるためには測定値を対数変換して評価する必要がある。P3 製剤のロットにおける比生物活性の測定値の平均 $\pm 3 \times$ 標準偏差は % ~ % であることから規格値は % と設定した。上限値については下限値と同一の規格幅を 上から算出した結果 % と設定していたが、規格設定について再考し、 % に変更する。

機構は、標準物質の更新方法について説明するよう求めた。

申請者は以下のように説明した。B2036 自家一次標準物質の更新時には、工程内規格及び試験方法に適合した B2036 について、試験（性状、確認試験<流体力学的半径、円二色性、蛍光スペクトル、トリプシン消化ペプチドマップ LC/MS 分析及びエレクトロスプレー質量分析>、N 末端アミノ酸配列、構成アミノ酸、等電点）を実施し、適合することを確認する。B2036-PEG 自家一次標準物質の更新時には、原薬の規格及び試験方法に適合した原薬について試験（性状、確認試験<流体力学的半径、円二色性、蛍光スペクトル、トリプシン消化ペプチドマップ LC/MS 分析及び MALDI-TOF 質量分析>、等電点、生物活性試験）を実施し、適合することを確認する。

機構は、本剤の生物活性を単位で規定できないか検討を求めた。

申請者は以下のように説明した。本剤の生物活性については単位表示も理論的には可能であるが、生物活性試験から得られる力価と臨床上の力価の関係は確立されておらず、臨床においても表示量及び投与量として質量（mg）を使用し、単位表記は使用しない。生物活性試験法の目的は製造における一貫性の確認であり、当該規格を全世界共通で運用していることから、原薬及び製剤の生物活性表記としては相対力価 % 表記を採用したい。

機構は、以上を了承し、設定された原薬及び製剤の規格及び試験方法について妥当と判断した。

ハ、安定性に関する資料

<提出された資料の概略>

1. B2036 の安定性

原薬及び製剤の特性を評価する上で、B2036 は重要と判断され、B2036 についても安定性試験が実施された。B2036（P3 プロセス、プラスチックボトル、密栓）について、長期保存試験（℃、24 カ月、継続実施中）、加速試験（℃、6 カ月）及び苛酷試験（℃、2 カ月）が実施され、外観、確認試験（SDS-PAGE<還元及び非還元>）、pH、純度試験（SDS-PAGE<還元及び

非還元>、IEX-HPLC<物質 A*、物質 B*>、RP-HPLC<物質 A*、物質 C*、物質 D*、その他>、SE-HPLC<物質 A*>)、エンドトキシン、微生物限度試験、含量が測定項目とされた。その結果、加速試験及び苛酷試験で、IEX-HPLC において物質 A*の低下、物質 B*の増加が認められ、加速試験では両項目とも一部のロットで規格を逸脱し、苛酷試験では平均値が規格を逸脱した。加えて苛酷試験では規格値を下回る物質 A*の低下 (RP-HPLC) が認められたが、その他の項目において明確な品質の変化は認められなかった。

以上の試験結果より、申請者は、B2036 をプラスチックボトル (密栓) 中、■■■■℃で保存するとき、24 カ月間品質を適正に維持できると結論している。

2. 原薬の安定性

原薬 (P3 プロセス、プラスチックボトル、密栓) については、■、■、■ mg/mL それぞれの濃度について、長期保存試験 (■■■■℃、24 カ月、継続実施中)、加速試験 (■■■■℃、6 カ月) 及び苛酷試験 (■℃、2 カ月) が実施され、外観、確認試験 (SDS-PAGE<還元及び非還元>)、pH、純度試験 (SDS-PAGE<還元及び非還元>、物質 A*、PEG 化体、物質 B*、物質 H*)、エンドトキシン、微生物限度試験、生物活性、含量が測定項目として設定された。その結果、長期保存試験及び加速試験において、PEG 化体、物質 B*及び生物活性の規格値範囲内での変動が認められ、苛酷試験において規格値を上回る物質 B*の増加、規格値範囲内の PEG 化体及び生物活性の変動が認められたが、その他に明確な品質の変化は認められなかった。

以上の試験結果より、申請者は、原薬をプラスチックボトル (密栓) 中、■■■■℃で保存するとき 24 カ月間品質を適正に維持できると結論している。

3. 製剤の安定性

製剤 (P3 プロセス、ガラスバイアル+ゴム栓) の安定性については、10、15、20 mg の各製剤に関して、長期保存試験 (5℃、36 カ月)、加速試験 (25℃、60 %RH、36 カ月)、苛酷試験 [温度・湿度 (30℃/60 %RH 及び 40℃/75 %RH、6 カ月)、光 (25℃、120 万 lux・hr + 200W・h/m²)] が実施され、外観 (溶解前及び溶解後)、確認試験 (SDS-PAGE<還元及び非還元>)、pH、溶解時間、純度試験 (SDS-PAGE<還元及び非還元>、物質 B*、凝集体、物質 H*及び PEG 化体比)、水分、エンドトキシン、不溶性異物、不溶性微粒子、無菌試験、生物活性及び含量が測定項目として設定された。なお、エンドトキシン、不溶性微粒子及び無菌試験については苛酷試験では実施されていない。また、本剤は注射用水に用時溶解して使用することから、注射用水 1mL に溶解後の製剤の安定性 (15~25℃、バイアル又はポリプロピレン製シリンジ、24 時間) について検討され、pH、純度試験 (物質 B*、凝集体、物質 H*、PEG 化体)、生物活性及び含量が試験項目として設定された。その結果、長期保存試験において、物質 B*、物質 H*、PEG 化体及び生物活性について規格値の範囲内での変動が認められた。加速試験では、外観 (溶解後) に経時的な着色が認められ、24 カ月以降は「うすい帯緑黄色」を呈し、規格を逸脱した。また、物質 B*では ■■■■カ月保存以降、規格から逸脱するロットが複数認められ、凝集体及び物質 H*については、■■■■カ月以降規

格を逸脱した。PEG 化体、水分及び生物活性については、規格範囲内での変動が認められた。苛酷試験 [温度・湿度 (30°C/60 %RH)] では、溶解後の液の外観に着色 (わずかに帯緑黄色) が認められるとともに、規格範囲内の水分の増加が認められた。また凝集体及び物質 H* が規格限度値前後まで増加し、PEG 化体 (PEG [] カ所 PEG 化された B2036)、PEG []、PEG ([]) では測定値に変動がみられたが、1 ロットで繰り返し [] 回のうちの 1 つの測定値で規格の逸脱がみられた他は規格範囲内であった。生物活性についても規格範囲内の変動が認められた。苛酷試験 [温度・湿度 (40°C/75 %RH)] では、外観 (溶解後) に着色 (わずかに帯緑黄色)、SDS-PAGE において一部のロットで新規のマイナーバンドの出現、規格値内の水分の増加が認められた。また、凝集体、物質 H*、物質 B* が増加し、いずれも規格を逸脱した。PEG 化体及び生物活性では、規格値の範囲内の変動が認められた。苛酷試験 [光] 及び溶解後の製剤については、全ての試験項目で変化は認められなかった。

以上の試験結果より、申請者は、製剤をガラスバイアル (密封) 中、5°C で保存するとき 36 カ月間品質を適正に維持でき、また溶解後の溶液については、室温で [] 時間までは品質を適正に維持できるものと考えられると結論している。

<審査の概略>

機構は、原薬及び製剤の安定性試験で、経時的に PEG [] が増加し PEG [] が減少する傾向がみられたため、PEG 鎖の脱離が生じている可能性及び遊離 PEG 鎖の安全性について説明を求めた。

申請者は、以下のように回答した。分析法であるキャピラリー電気泳動法は、現時点において科学的に最良な方法であるが、ある程度の変動を含んでいる。PEG 鎖数の測定結果は、測定時点で測定値に変動は認められるが、明瞭な経時的傾向は認められなかった。5、25、30 及び 40°C で保存した製剤中の遊離 PEG 鎖について LC-SEC/MS 法により検討したところ、検出された PEG 鎖の量は、PEG の最大 1 日投与量 (皮下注射: 40mg) の [] ~ [] であった。保存中に僅かな PEG 鎖の脱離はあるが、その量は本剤の安全性に影響を与えないものとする。

機構は、申請者が長期安定性試験において「生物活性値に増加傾向が認められた」と解釈していることについて、生物活性が増加する理由の考察と説明を求めた。

申請者は、調査、考察したものの、原因の特定には至らなかったと回答した。

機構は、生物活性試験の精度が相対標準偏差 [] % であることから、試験成績で認められた数値の変動について、理由の説明もないまま「経時的な増加傾向を認める」と結論することは不適切であり、測定値のばらつきの要因等を勘案し、考察を深めることは可能であったと考える。しかし、生物活性値の変動は、いずれも規格範囲内であり、品質上、大きな問題とはならないと考え、申請者の設定した B2036、原薬及び製剤の貯法及び有効期間については妥当であると判断する。

二. 毒性に関する資料

<提出された資料の概略>

1. 単回投与毒性試験

単回投与毒性試験としてはマウスの静脈内及び皮下投与、カニクイザルの静脈内投与が実施された。

マウス単回静脈内及び皮下投与試験は本薬 0、0.3、1、3、10 mg/kg で実施され、死亡例は認められず、皮下投与雌の 1 mg/kg 及び 3 mg/kg で子宮角に液体の貯留が認められたのみであった。概略の致死量は 10 mg/kg 以上と判断された。

カニクイザルの単回静脈内投与試験は 15、100 mg/kg で実施され、死亡例は認められず、15 mg/kg 以上の雌雄で血清 IGF-I 値の低下及び胸腺萎縮が、15 mg/kg の雌で月経によると思われる血尿が、100 mg/kg の雌雄で血清リンの低下、白血球数、尿中ナトリウム減少が、100 mg/kg の雄で血尿が認められた。概略の致死量は 100 mg/kg 以上と判断されている。本試験では対照群を設定していないが、本薬投与の影響については同一個体における諸検査値を投与前後で比較することにより評価可能であると考えられた。また、胸腺の萎縮については、加齢性変化でよく認められる所見であるが、本試験に供したサルは精巣が未成熟で、胸腺の萎縮が自然発生するまでの月齢には達していなかったと考えられ、本薬投与による影響と判断された。しかし、性差や、その程度に用量相関性はないことから、毒性学的意義は低いと考えられると申請者は説明している。

2. 反復投与毒性試験

反復投与毒性試験はマウス 14 日間、ラット 28 日間（P2 から P3 への製造方法の変更に伴う検討）、サル 28 日間隔日、ラット 26 週間、サル 26 週間週 1 回投与が皮下投与で実施され、サル 28 日間週 2 回が静脈内投与で実施された。

マウス 14 日間皮下投与試験は 0、0.1、0.3、1、3 mg/kg/日 で実施され、0.1 mg/kg/日の雌 1/10 例が死亡したが、外傷による事故死と判断された。血液生化学的検査では、1 mg/kg/日以上の雌雄で総タンパク、0.3 mg/kg/日以上の雌雄でアルブミンの増加、0.1 mg/kg/日以上の雄でアルブミン/グロブリン比の上昇、1 mg/kg/日以上の雌と 3 mg/kg/日の雄で総コレステロールの増加、1 mg/kg/日以上の雌雄でカルシウムの増加、0.3 mg/kg/日以上の雌と 1 mg/kg/日以上の雄でアルカリフォスファターゼの減少、1 mg/kg/日以上の雄でグルコース量の減少が認められた。対照群を含む多くの群で投与部位の炎症及び出血が認められ、剖検又は病理組織学的検査では 1 mg/kg/日以上の雌雄で肝細胞の好酸性及び好塩基性の増強が認められた。アルブミン、総タンパク及びアルブミン/グロブリン比の変化は、本薬投与で肝臓におけるタンパク合成が促進、カルシウムの増加は総タンパクの測定時にタンパクに結合していたカルシウムが遊離したもので、総タンパクの増加に伴う二次的な変化と考えられた。肝細胞の好酸性の増強はグリコーゲンの減少、好塩基性の増強はタンパク合成が促進されたことによるとし、いずれも毒性学的意義は低いと考えられた。無毒性量は 3 mg/kg/日と判断されている。

サル 28 日間隔日皮下投与試験では 0、0.1、0.3、1、3 mg/kg が 1 日おきに投与され、0.3 mg/kg 以上の雌と 1 mg/kg 以上の雄で体重減少が認められ、血液学的検査で 1 mg/kg 以上の雄、3 mg/kg の雌でヘモグロビン量の減少、ヘマトクリット低下、赤血球数減少が、血液生化学的検査で 1 mg/kg 以上の雌雄でアルカリフォスファターゼの減少が認められ、本薬の薬理作用に起因した変化と考