

審議結果報告書

平成 18 年 8 月 31 日
医薬食品局審査管理課

[販 売 名] リプレガル点滴静注用 3.5mg
[一 般 名] アガルシダーゼ アルファ (遺伝子組換え)
[申 請 者] 住友製薬株式会社 (現 大日本住友製薬株式会社)
[申請年月日] 平成 14 年 11 月 11 日

[審議結果]

平成 18 年 8 月 24 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報告することとされた。また、本品目は生物由来製品に該当し、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。

なお、医療事故防止の観点から、販売名を「リプレガル点滴静注用 3.5mg」から「リプレガル点滴静注用 3.5mg」へと改めることとされた。

審査報告書

平成 18 年 8 月 8 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]	リプラガル点滴静注用 3.5mg (リプレガル点滴静注用 3.5mg に変更予定)
[一 般 名]	アガルシダーゼ アルファ (遺伝子組換え)
[申 請 者]	住友製薬株式会社 (現 大日本住友製薬株式会社)
[申請年月日]	平成 14 年 11 月 11 日
[剤型・含量]	1 バイアル中アガルシダーゼ アルファ (遺伝子組換え) 3.5mg を含有する 静注用製剤
[申請区分]	医療用医薬品 (1) 新有効成分含有医薬品
[化学構造式]	
構造式	別紙
本 質	
(日本名)	アルファガラクトシダーゼ A 遺伝子の増幅によってアルファガラクトシダーゼ A の発現が増加しているヒト線維肉腫細胞株 (HT-1080) 由来細胞株により産生される 398 個のアミノ酸残基 (C ₂₀₂₉ H ₃₀₈₀ N ₅₄₄ O ₅₈₇ S ₂₇ ; 分子量: 45,351.21, 1 個又は 2 個の C 末端アミノ酸残基が欠落しているものを含む) からなるサブユニット 2 つより構成される糖タンパク質 (分子量: 約 102,000)
(英 名)	Glycoprotein (molecular weight: ca. 102,000) consisting of two subunits containing 398 amino acid residues (C ₂₀₂₉ H ₃₀₈₀ N ₅₄₄ O ₅₈₇ S ₂₇ ; molecular weight: 45,351.21, including molecules lacking one or two C-terminal amino acid residues), produced in a human fibrosarcoma cell line (HT-1080)-derived cell line in which the expression of alfa galactosidase A is increased by amplification of the alfa galactosidase A gene
[特記事項]	希少疾病用医薬品
[審査担当部]	新薬審査第三部

[構造式]

アミノ酸配列

1	11	21	31	41					
LDNGL	ARTPT	MGWLH	WERFM	CNLDC	QEEP	SCISE	KLFME	MAELM	VSEGW
51	61	71	81	91					
KDAGY	EYLCI	DDCWM	APQRD	SEGRL	QADPQ	RFPHG	IRQLA	NYVHS	KGLKL
101	111	121	131	141					
GIYAD	VGNKT	CAGFP	GSFGY	YDIDA	QTFAD	WGVDL	LKFDG	CYCDS	LENLA
151	161	171	181	191					
DGYKH	MSLAL	NRTGR	SIVYS	CEWPL	YMWPF	QKPNY	TEIRQ	YCNHW	RNFAD
201	211	221	231	241					
IDDSW	KSIKS	ILDWT	SFNQE	RIVDV	AGPGG	WNDPD	MLVIG	NFGLS	WNQQV
251	261	271	281	291					
TQMAL	WAIMA	APLFM	SNDLR	HISPO	AKALL	QDKDV	IAINQ	DPLGK	QGYQL
301	311	321	331	341					
RQGDN	FEVWE	RPLSG	LAWAV	AMINR	QEIGG	PRSYT	IAVAS	LGKGV	ACNPA
351	361	371	381	391					
CFITQ	LLPVK	RKLGf	YEWTS	RLRSH	INPTG	TVLLQ	LENTM	QMSLK	DLL

N : N結合型糖鎖を結合していると予測されるアスパラギン

[主要な糖鎖構造]

組成	構造
Man ₇ GlcNAc ₂ (PO ₃) ₂	ハイマンノース型
Man ₇ GlcNAc ₂ (PO ₃)	ハイマンノース型
Man ₇ GlcNAc ₂	ハイマンノース型
Man ₆ GlcNAc ₂ (PO ₃)	ハイマンノース型
Man ₆ GlcNAc ₂	ハイマンノース型
Man ₅ GlcNAc ₂	ハイマンノース型
NeuAcGal ₂ Man ₃ GlcNAc ₄	コンプレックス型
NeuAc ₂ Gal ₂ Man ₃ GlcNAc ₄	コンプレックス型
NeuAcGal ₂ Man ₃ GlcNAc ₄ Fuc	コンプレックス型
NeuAc ₂ Gal ₂ Man ₃ GlcNAc ₄ Fuc	コンプレックス型
NeuAcGal ₃ Man ₃ GlcNAc ₅ Fuc	コンプレックス型
NeuAc ₂ Gal ₃ Man ₃ GlcNAc ₅ Fuc	コンプレックス型
NeuAc ₃ Gal ₃ Man ₃ GlcNAc ₅ Fuc	コンプレックス型
NeuAcGal ₄ Man ₃ GlcNAc ₆ Fuc	コンプレックス型
NeuAc ₂ Gal ₄ Man ₃ GlcNAc ₆ Fuc	コンプレックス型
NeuAc ₃ Gal ₄ Man ₃ GlcNAc ₆ Fuc	コンプレックス型
NeuAc ₄ Gal ₄ Man ₃ GlcNAc ₆ Fuc	コンプレックス型

Man : マンノース
 GlcNAc : N-アセチルグルコサミン
 NeuAc : N-アセチルノイラミン酸
 Gal : ガラクトース
 Fuc : フコース
 PO₃ : リン酸基

審査結果

平成 18 年 8 月 8 日

[販 売 名] リプラガル点滴静注用 3.5mg(リプレガル点滴静注用 3.5mg に変更予定)
[一 般 名] アガルシダーゼ アルファ (遺伝子組換え)
[申 請 者] 住友製薬株式会社 (現 大日本住友製薬株式会社)
[申請年月日] 平成 14 年 11 月 11 日
[特 記 事 項] 希少疾病用医薬品

[審査結果]

有効性については、18 歳以上の日本人男性ファブリー病患者 12 例を対象とした非盲検非対照試験において、本薬 0.2 mg/kg を 2 週間に 1 回、12 回 (22 週間) 静脈内投与したとき、主要評価項目である血漿中セラミドトリヘキソシド (CTH) 濃度及び尿沈渣中 CTH 量について、投与前値と比べて有意な低下が認められ、抗てんかん薬等非服用下での疼痛スコアについては、低下したが統計学的な有意差は認められなかった。

安全性については、本邦において、重篤な有害事象が 12 例中 2 例 (17%) に 2 件発現し、そのうち 1 例が因果関係ありとされた。この 1 例では、投与中のアレルギー反応 (呼吸困難、膨疹及びそう痒 (症)) が認められたが、投与中止後ステロイド剤の処置により消失した。抗 α GAL IgG 抗体は 2 例が 8 週後に陽性となったが、その後抗体価は低下し陰性化した。投与時反応に関しては、抗ヒスタミン剤や副腎皮質ホルモン剤等を投与するなどについて添付文書において注意喚起することとされた。その他問題となる副作用は認められなかった。

提出された資料から、本薬の有効性及び安全性が示されたと判断する。

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、下記の承認条件を付した上で、以下の効能・効果、用法・用量で承認して差し支えないと判断した。

【効能・効果】 ファブリー病

【用法・用量】 通常、アガルシダーゼ アルファ (遺伝子組換え) として、1 回体重 1 kg あたり 0.2mg を隔週、点滴静注する。

【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 16 年 8 月 27 日作成

1. 申請品目

[販売名]	リプラガル点滴静注用 3.5mg
[一般名]	アガルシダーゼ アルファ（遺伝子組換え）
[申請年月日]	平成 14 年 11 月 11 日
[申請者]	住友製薬株式会社
[申請時効能・効果]	ファブリー病に対する長期酵素補充療法
[申請時用法・用量]	アガルシダーゼ アルファ（遺伝子組換え）として 0.2mg/kg を 100mL の日局生理食塩液に希釈し、2 週間に 1 回、40 分以上かけて点滴静注する。
[特記事項]	希少疾病用医薬品

2. 提出された資料の概略及び医薬品医療機器総合機構における審査の概要

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

ファブリー病は、細胞内リソソーム中の加水分解酵素である α -ガラクトシダーゼ A（以下、 α GAL）の活性が先天的に欠損あるいは低下する X 染色体性劣性の先天代謝異常症である。本疾患においては、本来分解されるべきスフィンゴ糖脂質の蓄積がみられ、主としてセラミドトリヘキシソンド（以下、CTH）が様々な細胞や組織内に進行性に蓄積し、血管の内皮、外皮及び平滑筋細胞、腎上皮細胞、心筋細胞、背側根神経節及び自律神経系が選択的に障害される。典型例においては、学童期あるいは青年期に、四肢の激しい疼痛、被角血管腫とよばれる特徴的な皮膚疾患及び明瞭な角膜混濁などが発現し、年齢を重ねるに従って重要な器官が障害を受けるようになり、通常 30 歳代から 40 歳代に腎疾患、心疾患あるいは脳血管障害により死亡する。本邦においては、本疾患は特定疾患治療研究事業対象疾患に指定されており、2001 年末までに 177 名の患者が認定されている。

なお、本申請資料中ではファブリー病の α GAL 欠損によって体内に蓄積する基質をセラミドトリヘキシソンドと呼称し CTH と略しているが、これはグロボトリアオシルセラミド (GL-3) と同義である。

α GAL は、リソソーム中に運ばれてその機能を発揮するが、細胞外に分泌される α GAL もあり、その糖鎖部分のマンノース-6-リン酸（以下、M6P）残基が細胞表面の M6P レセプターに結合することによって捕捉され、再び細胞内に取り込まれてリソソームに送られることが知られている（Kornfeld, S. and Mellman, I. Ann. Rev. Cell Biology 1989;5:483-525）。そこで、 α GAL を静脈内に投与することにより、ファブリー病患者の細胞内リソソームに到達させることが可能と考えられ、1970 年代より補充療法が検討されてきている。本邦においては、遺伝子組換え技術によりチャイニーズハムスター卵巣細胞（以下、CHO 細胞）から産生される α GAL を有効成分とするアガルシダーゼベータ（遺伝子組換え）（販売名：ファブラザイム）が 2004 年 1 月に承認されている。

本申請品目は、米国 Transkaryotic Therapies 社（以下、TKT 社）により開発され、ヒト線維肉腫細胞株を用いて、 α GAL 遺伝子の [] に [] 配列及び [] 配列を挿入した遺伝子活性化技術

により産生される内因性 α GAL を有効成分とする製剤である。米国においては、19 年 月からファブリー病患者を対象とした臨床試験が開始されている。本邦においては、申請者である住友製薬株式会社が 1998 年 7 月に TKT 社と契約を締結し、開発に着手した。なお、本薬は 2001 年 8 月に EU で承認を取得したのを初めとして、2004 年 8 月現在 34 カ国で承認されている。

ロ. 物理的・化学的性質並びに規格及び試験方法に関する資料

本薬は、ヒト線維肉腫由来細胞株に 配列及びヒト 配列の一部を含む遺伝子活性化ベクターを導入することにより、ヒト α GAL 遺伝子座の で相同組換えを起こし、宿主細胞の内在性 α GAL 遺伝子が活性化されることにより生産される糖たんぱく質である。 α GAL はスフィンゴ糖脂質の末端 α -ガラクトースを遊離させる酵素である。

(1) 原薬

① 製法変更の経緯について

本薬の開発過程で、原薬の製造方法は 3 回変更されている。開発初期には、ヒト 細胞 を宿主細胞としてヒト α GAL のアミノ酸配列をコードするプラスミドを組み込んで樹立した細胞株より生産された α GAL (以下、A 製法品*) を用いて米国第 I 相試験 (TKT001) が実施された。その後、TKT 社が新たに樹立した遺伝子活性化法による細胞株より生産される本薬を用いて臨床試験及び非臨床試験が実施された。本薬は、はじめ TKT 社の委託先である B 社* により製造され (B 製法品*)、非臨床試験の一部及び米国第 II 相試験 (TKT003) の一部に使用された。その後 C 社* に委託先が変更されると共に製造方法が一部変更され (C 製法品*)、米国第 II 相試験 (TKT003) の一部及び本邦での試験を含むその他の臨床試験並びに非臨床試験の一部に使用された。

TKT 社はこれらの試験成績に基づき、C*社における製造方法 (C*製法) を申請製法として欧州等に申請、2001 年 8 月に欧州において承認されている。承認後、TKT 社は生産性の増大と品質の向上を目的として自社設備による製造方法 (D*製法) を開発し、2003 年 2 月には欧州において製造方法の一部変更承認申請を行い、同年 7 月に承認を得ている。

(機構注：製法の違いにより、本薬には A*、B*、C*及び D*の 4 種類 of 原薬及びそれに相当する製剤が存在する。後述するように製法が一部異なるものの、各種の規格試験及び臨床試験結果から、製品の特性に特段の相違はないと考えられる。このため、本報告書における試験に使用された原薬及び製剤についての記載は、製法の相違について言及する場合を除き「本薬」として記載した。)

申請者は、本邦における承認申請にあたり、国内臨床試験に使用した C*製法で申請し、承認取得後一部変更承認申請を行い、D*製法に切り替える予定としていた。しかしながら、C*製法で製造された原薬では生産用培地にカナダ産のウシ由来原料が使用されていたことから、平成 15 年 5 月 22 日付け医薬発第 0522002 号医薬局長通知「カナダ産のウシ等由来物を原材料として製造される医薬品、医療用具等の品質及び安全性確保について」を受け、申請者は申請製法をカナダ産のウシ由来原料を使用していない D*製法に変更したいと申し出るとともに、D*製法に関する資料、両製造法の工程比較、生産された原薬の物理的・化学的特性及び品質の比較、並びに薬物動態学的性質の比較結果を提出した。

機構は、現有の C*原薬が全てカナダ産のウシ由来原料を使用して製造されており今後 C*原薬

が製造される予定はないことから、生物由来原材料に係る安全確保の点を考慮すると、申請製法を D*製法に変更することは妥当であると考えられる。しかしながら、D*原薬は非臨床及び臨床試験に使用されたものではないことから、両製法による原薬の同等性を評価した上で、申請製法の妥当性について判断することとした。

② 原薬の製造について

原薬は、TKT 社で製造される。B*、C*及び D*原薬は同一のマスターセルバンク（以下、MCB）より製造されているが、ワーキングセルバンク（以下、WCB）、培養工程及び精製工程が変更されている。以下の製造法に関する記載については、D*製法を中心とし、変更部分については後述した。

i) 製造用細胞基材の由来、調製及び特性解析

製造のための宿主細胞としてヒト線維肉腫由来細胞株 HT-1080 が使用された。HT-1080 については特性解析が実施されている。宿主細胞のヒト α GAL 遺伝子の [REDACTED] に [REDACTED] を挿入する目的で遺伝子活性化プラスミド [REDACTED] が調製された。[REDACTED] は機能配列として [REDACTED] 及び [REDACTED] [REDACTED] 配列の一部、標的配列として [REDACTED] 配列等をプラスミド [REDACTED] に組み込んで構築され、全塩基配列が明らかにされた。決定された塩基配列と GenBank の塩基配列データベースに公表されている配列との間に [REDACTED] 塩基の差異が認められたが、いずれも [REDACTED] の遺伝子活性化機能には影響を与えない変化若しくは部位であると考察されている。[REDACTED] を制限酵素で消化して得られた DNA 断片を [REDACTED] により宿主細胞 HT-1080 に導入することにより、宿主細胞 [REDACTED] のヒト α GAL 遺伝子座の [REDACTED] で相同組換えが起こり、ベクター内に含まれる [REDACTED] 配列が宿主細胞のヒト α GAL 遺伝子座の [REDACTED] に挿入される。活性化されたヒト α GAL 遺伝子座では [REDACTED] から転写がはじまり、mRNA からヒト α GAL の前駆体が翻訳され、分泌に伴ってシグナル配列が切断され、可溶性の本薬が分泌生産される。選択培養を行い樹立した種細胞株 [REDACTED] より MCB が、MCB より WCB が調製された。

MCB について、細胞特性試験が実施されている。微生物及びウイルスに関する試験として、細菌及びマイコプラズマ並びにウイルスについては非特異的な電子顕微鏡観察、逆転写酵素活性、*in vitro* 及び *in vivo* 接種試験のほか、ヒト及びサル感染性の 16 種のウイルスの特異的検出、ウシ及びブタ由来ウイルスの試験が実施され、いずれの因子も検出されなかった。また、アイソザイム及び染色体分析による細胞の確認試験、細胞形態、増殖特性、本薬生産能、培養安定性、構造遺伝子配列及び本薬遺伝子コピー数について検討された。さらに、MCB より調製した相補的 DNA より、構造遺伝子配列が GenBank のヒト α GAL の塩基配列と一致することが確認された。

WCB 及び生産培養終了後の細胞（以下、EPC）について、微生物及びウイルスに関する試験（ウイルス粒子観察、細菌・真菌・ウイルス等に関する試験）、細胞特性試験（細胞の確認試験、細胞形態、増殖特性、本薬生産能、培養安定性、構造遺伝子配列及び本薬遺伝子コピー数）が実施され、培養工程中で汚染が認められず、また本薬遺伝子座の遺伝子構造が MCB の分析結果と一致したことから、培養期間を通じて遺伝的に安定であることが確認された。

EPC について、微生物及びウイルスに関する試験が実施され、汚染が認められないこと、また

細胞の同定及び本薬遺伝子構造の分析の結果、製造中安定に保たれていることが確認された。EPC より生産された EPC 由来精製バルク（**■**回のハーベストまでが原薬となるため、**■**回目のハーベストから精製されたもの）について構造及び機能に関する分析が実施された結果、**■**などの糖鎖の修飾の程度及び MALDI-TOF による分子量の主ピークにわずかな違いが認められており、製造期間を超えた培養によりリン酸化等の糖鎖の修飾に差が生じたこととされ、比活性、細胞内取り込み活性等は標準品と同等であったことから、有効性及び安全性に影響を与える変化ではないと考察されている。

MCB と WCB について定期的な安定性モニタリングが定められており、MCB では生存率、サザンブロットによる分析及び本薬コード領域の塩基配列の確認について、また、WCB については細胞数、細胞倍化時間、細胞生存率、本薬生産能及び生産された本薬のウェスタンブロットによる確認について、それぞれ許容基準が設定されている。

ii) 培養及び精製工程 (D*製法)

本薬の製造工程は、培養工程と精製工程により構成される。細胞培養工程では WCB から順次スケールアップし、拡大培養、生産培養を経て本薬を含む培養上清が得られる。培養工程について、WCB 解凍、拡大培養工程、全ての未加工バルク、**■**回目ハーベストの培養上清及び未精製バルクについてそれぞれ管理試験が設定され、許容基準及び処置基準が定められている。

精製工程では、**■**クロマトグラフィー、**■**クロマトグラフィー、**■**クロマトグラフィー、**■**イオン交換クロマトグラフィー、**■**クロマトグラフィー及びナノフィルトレーション工程を経て原薬が調製される。

精製工程における工程由来不純物の挙動について検討され、**■**、**■**、ウシ血清アルブミン（以下、BSA）、**■**、宿主細胞 DNA について D*製法における除去効率が検討されている。

本薬はヒト細胞株を宿主細胞として製造されており、製造工程中でも動物由来原材料が使用されていることから、外来性感染性物質に関する安全性評価が実施されている。

MCB、WCB 及び EPC について細胞の同定及びウイルス等に対する外因性・内因性因子試験等が実施され、管理規格が設けられている。培養工程における工程管理試験として、未加工バルクに対する生菌数、マイコプラズマ、逆転写酵素活性、ウシウイルス及び培養細胞による迷入因子試験が定められており、精製工程においては、工程管理試験として生菌数及びエンドトキシン試験が設定されている。

また、宿主細胞はヒト線維肉腫細胞株 HT-1080 に由来するが、HT-1080 は活性化された N-ras 遺伝子を持つことが報告されていることから (Hall A. Nature 1983; 303: 196-400)、原薬中宿主 DNA 含有量の安全性が検討されている。WHO が提示した、株化細胞を生産基材として医薬品製造に使用する場合の宿主細胞由来 DNA の混入許容値 (精製品 1 投与あたり 10ng) (WHO Technical Report 1998; Series No. 878) に対し、原薬中に残存する宿主 DNA のロット分析結果及びスパイク試験等の結果から、本薬精製工程の DNA 除去能は十分であることが確認され、また仮に原薬中に N-ras 遺伝子の混入があったとしても、原薬中の残存量と形質転換の出現頻度から算出される発がんの頻度は極めて低いものであること、原薬中に残存する DNA の分子サイズは N-ras のゲノムサイズよりも小さいことから、混入する宿主細胞由来 DNA に関する安全性は確認されたと考察されている。なお、宿主細胞 DNA の含有量については、原薬で規格限度値が

設定され、管理されることとなっている。

さらに、製造工程のウイルス除去・不活化能についても検討されている。5つのクロマトグラフィ工程及びナノフィルトレーション工程について、ウシウイルス性下痢ウイルス、マウス白血病ウイルス、ブタヘルペスウイルス、ブタパルボウイルスを用いて除去・不活化能力が評価され、これら4種のウイルスについて原薬の精製工程は総合的に高い除去効果を有することが確認されている。

iii) 製造工程の変更について

B*製法からC*製法への主な変更点は、WCBの設定、培養・生産培地の変更並びに精製工程の \times 倍スケールアップ及び各種カラム条件の変更である。

C*製法からD*製法への主な変更点は、培養及び精製工程の \times 倍スケールアップ(B*製法からでは \times 倍スケールアップ)、拡大培養・生産培養培地の変更(生物由来原材料の低減)、培養工程管理試験の変更(の削除、の一部省略)及び精製工程最終段階のナノフィルトレーションの孔径変更(nm から nm)である。

C*製法からD*製法への変更前後での製造法の同等性について検討されている。

培養工程については培地が変更されていることから、EPCの細胞特性解析、拡大培養における総細胞数、細胞生存率及び細胞倍化数(以下、PDL)、並びに培養上清の生菌数、マイコプラズマ及びウイルスの存在及び本薬酵素活性について検討され、細胞の安定性及び生産能等が比較された。その結果、D*製法において製造用細胞の安定性及び微生物学的安全性は保持されており、本薬酵素活性についてもC*原薬と同様であったが、PDLについては、D*製法では拡大培養工程における通算PDLが高いことから生産培養工程に供する細胞の細胞齢が高いことが確認された。しかしながらEPCの細胞特性解析によりD*製法においても製造用細胞は製造期間中安定に保たれていることなどから、細胞齢の上昇は製造期間中の細胞特性に影響を与えていないと判断されている。

精製工程については、本薬の収率、工程由来不純物の除去効率について各製法3ロットの実測値が比較され、同様な精製効率及び不純物除去効率を有していることが確認された。

③ 原薬の特性について

本申請にあたり特性結果が示されたのは主としてC*原薬によるものであり、B*原薬については一部の解析結果が比較検討されたのみである。なお、申請後申請製法が変更されたことから、D*製法による原薬の特性試験成績とC*原薬と比較した結果が追加提出された。それについては後段で記載する。

i) C*原薬の特性解析結果について

本薬の構造について、たんぱく質の一次構造(アミノ酸組成分析、N末端アミノ酸分析、ペプチドマップ、アミノ酸配列分析)、糖鎖構造(糖鎖消化酵素処理品のSDS-PAGE及びIEF、糖鎖マッピング、糖組成分析、各単糖結合位置の解析、MALDI-TOFによる糖鎖構造解析)に関する分析が実施され、物理的・化学的性質としては電気泳動的性質(SDS-PAGE、IEF)、液体クロマトグラフパターン(サイズ排除高速クロマトグラフィ(SE-HPLC)、逆相高速液体クロマトグラフィ(RP-HPLC))、分子量(SDS-PAGE、SE-HPLC、MALDI-TOF質量分析)、免疫化学的性

質、生物学的性質（細胞内取り込み活性、酵素比活性）、低分子量グリコフォームの構造解析等が実施されている。

たんぱく質の一次構造について、N 末端の 15 残基はヒト α GAL の遺伝子配列より予想される配列からシグナルペプチドが切断されたものと一致し、C 末端には不均一性が認められた。遺伝子配列から予想されたもの（398 残基のアミノ酸）と比較して C 末端のロイシン残基が欠落したものが主たる成分であり、完全長のもの及び C 末端が 2 残基欠落したものも少量存在していた。

糖鎖構造について、108 位、161 位及び 184 位の 3 カ所のアスパラギン残基に N 結合型糖鎖が結合していることが確認され、各種糖鎖消化酵素処理後の SDS-PAGE 及びクロマトグラフィーを行った結果より、高マンノース型、ハイブリッド型及びコンプレックス型糖鎖の存在、並びにシアル酸及びリン酸化された糖鎖を有していることが示唆された。 α GAL の細胞内への取り込みに重要であるとされる M6P の存在比は、マンノース ■mol あたり ■mol であり、本薬 1 分子あたり少なくとも ■個以上の割合で結合していると推測された。また、同様の存在比としてシアル酸は本薬の単量体あたり ■mol であった。MALDI-TOF 質量分析の結果推定された糖鎖及びその含量は、ハイマンノース型糖鎖 ■%以下、マンノース及びフコースからなる中性の骨格構造の糖鎖 ■%以下、ハイブリッド型糖鎖 ■%以下、2~4 本鎖のコンプレックス型糖鎖 ■%以下であった。コンプレックス型糖鎖のほとんどにフコースが付加しており、約 ■%にはシアル酸が付加していた。

ジスルフィド結合について、本薬は 12 個のシステイン残基を有しているが、分子内に 5 カ所の結合が確認されており、2 残基については遊離のチオールである可能性が示唆されている。

電気泳動的性質として、還元後 SDS-PAGE により分子量 45,000Da 付近のブロードな主バンドと直下の糖鎖結合量の違いによる副バンドが認められ、分子量は 43,000~68,000Da の範囲であった。IEF の結果、pI ■~■の範囲に約 ■本のバンドが検出され、報告されている h α GAL の等電点（血漿由来 4.1~4.4、脾臓由来 4.4~4.9、胎盤由来 5.0 及び 5.13）（Bishop DF and Desnick RJ. J Biol Chem 1981; 256: 1307-1316、Bishop DF and Sweeley CC. Biochem Biophys Acta 1978; 525: 399-409）と比較すると、■由来及び■由来のものと類似していると考えられた。

分子量について、MALDI-TOF 質量分析では 50,777Da を頂点とする約 46,000~約 55,000Da の範囲にブロードなピークが認められ、約 48,000Da 付近に低分子量グリコフォームに相当するピークも認められた。本薬のアミノ酸組成から求められる理論分子量は 45,400Da であり、測定された分子量の差は糖鎖の分子量とされた。また、SE-HPLC による見かけの分子量（ホモ二量体として）は、標準たんぱく質で作成した検量線から約 141,300Da と見積もられた。

生物学的性質として、本薬をヒト ■細胞と共に培養したところ細胞内への取り込みが確認され、この取り込みは遊離の M6P の共存により ■%以上阻害されたことから、本薬の細胞内への取り込みは細胞の M6P レセプターを介したものであることが示唆された。

酵素としての活性は、4-メチルウンベリフェリル- α -ガラクトピラノシドを基質として、1 時間に 4-メチルウンベリフェロンを 1nmol 遊離させる酵素量を 1 単位 (U) としたとき、原薬の比活性は ■~■U/mg であった。この値はヒト組織由来ヒト α GAL の報告値と同程度であった（脾臓由来： 4.07×10^6 U/mg、血漿由来 2.06×10^6 U/mg）（Bishop D.F. et al. PNAS 1986; 83: 4859-4864）。

SDS-PAGE における主・副泳動帯は糖鎖消化酵素処理により 1 本の泳動帯となることから、糖鎖の違いに起因していることが示唆されており、副泳動帯である低分子量グリコフォームについて検討が行われている。低分子量グリコフォームは中性の骨格構造糖鎖及びハイマンノース型糖鎖の

割合が比較的高く、シアル酸及びリン酸の付加が少ない等電点の最も高いグループであり、酵素活性はほぼ同等であるがヒト██████細胞への取り込みが低い（約██%）ことが確認された。低分子量グリコフォームは生産培養におけるハーベスト回数の増加に従って増加する傾向にあり、培養期間が長くなるほど増加することが示された。これは培養期間が長くなると細胞が溶解し、リソソーム内で一部糖鎖消化を受けた本薬が培養上清中に放出される割合が増加するためと考察されている。本薬中の低分子量グリコフォームの割合は約██%とされている。

また、シアル酸の結合様式は α 2,6結合のものが α 2,3結合のもの約██倍存在しているとされており、CHO細胞由来遺伝子組換えヒト α ガラクトシダーゼでは、 α 2,3結合のみしか見られないことが報告されている。

ii) 異なる製法で製造された原薬における特性の比較について

B*原薬及びC*原薬については、特性試験結果が比較されている。免疫学的性質、N末端アミノ酸配列、MALDI-TOF質量分析、ペプチドマップ、電気泳動的性質（糖鎖関連酵素消化処理）、クロマトグラフィ的性質、製造工程由来不純物、比活性、細胞内取り込み活性、バイオバーデン及びエンドトキシンについて比較されており、特性として両者は同様であると判断されている。

申請後、原薬の製法が変更されたことに伴い、D*原薬についての特性試験成績が提出された。D*原薬はN末端アミノ酸分析、ペプチドマップ及び主要なピークの同定結果よりC*原薬と同様なたんぱく質の一次構造を有することが示され、生理条件下における遊離SH基は両者とも単量体あたり0.2個未満であった。

糖鎖関連酵素消化物のSDS-PAGE及びウェスタンブロットによる分析において両原薬は同様な挙動を示し、糖鎖に係る電気泳動的性質は同様であると判断されている。

シアル酸及びM6Pについて、ノイラミニダーゼ及びホスファターゼ消化物のIEF・ウェスタンブロットによる試験を行ったところ、いずれの消化物も両原薬及びその混合物で同様な挙動を示したことから、シアル酸及びリン酸による修飾の程度は同様であると判断された。

██████で切り出した糖鎖の糖鎖マップでは、両原薬とも糖鎖の多様性に基づく多数のピークを与え、いくつかのピーク面積に若干の差が認められたが、パターンとしては同様であったことから、両原薬は同等と判断されている。また、糖組成についてもほぼ同程度であると判断されている。

その他、SDS-PAGE、SE-HPLC、RP-HPLC、MALDI-TOF質量分析、遠紫外円偏光二色性スペクトル、免疫化学的性質、細胞内取り込み活性、比活性について両原薬の成績が比較され、いずれも自主適合基準を満たし同様であったと判断されている。また、原薬の規格試験法についても、両原薬はいずれも設定された規格に適合した。

機構は、C*原薬とD*原薬の特性の比較において、糖組成、RP-HPLCクロマトグラム、MALDI-TOFのピークパターンに若干相違が認められることについて、両者を「同程度」と判断した根拠を尋ねた。申請者は、C*原薬及びD*原薬についてそれぞれ3~4ロットの結果を提示した上で、これらの測定値及びクロマトグラムは同じ原薬でもロット毎にある程度変動し、また試験法自体もある程度の変動を示すものであるとして、試験結果の変動の範囲には両原薬で差が認められていないと説明した。機構は回答を了承した。

機構は、本薬のC末端は予想されるアミノ酸配列から1残基欠落したものが主成分であると説明されていることについて、生物活性との関係及びそれぞれの分子種の含量について尋ねた。申

請者は以下の通り回答した。

本薬の C 末端欠損体含量を定量した結果はないが、C 末端アミノ酸が 2~10 残基欠損した α GAL は完全長の約 2~6 倍の酵素活性を示し 12 又は 17 残基欠損したものでは酵素活性は消失することが報告されている (Miyamura N, et al. J Clin Invest 1996; 98: 1809-1817) ことから、1 又は 2 残基の欠損では酵素活性は低下していないと考えられる。また、細胞内への取り込みは M6P レセプターを介するものであり C 末端欠損の影響はないと考えられることから、本薬における C 末端欠損は生物活性に影響しないと考える。また、 \blacksquare 残基以上の C 末端が欠損した場合、ペプチドマップ上に新たなピークが出現すると考えられることから、 \blacksquare 残基以上の欠損体の存在については設定した規格試験で管理できると考えている。機構は回答を了承した。

機構は、開発過程において A*、B*、C*及び D*原薬への変更に際し、その生物学的同等性についてそれぞれどのように評価したか、申請者に説明を求めた。

申請者は、いずれの変更時にも物理的・化学的特性の検討を行うとともに、A*から B*原薬への変更に際してはラット、B*から C*原薬への変更に際してはサル単回投与時の薬物動態による評価を実施したと回答した。また、臨床試験に使用した C*と D*原薬の同等性については、カニクイザルでの薬物動態学的試験とともに、ヒトにおける生物学的同等性試験の結果が追加提出された。カニクイザルに単回投与したときの薬物動態パラメータの 90%信頼区間は $C_{max}/Dose$ については、[0.91, 1.15]、 $AUC_{last}/Dose$ については、[0.78, 0.99]であり、 $C_{max}/Dose$ については生物学的同等性の判断基準である 0.8~1.25 の範囲内であり、 $AUC_{last}/Dose$ についてもその逸脱が軽微であったことから、両製剤で同程度の全身暴露が得られると判断されている。また、ヒトでの生物学的同等性試験では、 $C_{max}/Dose$ 及び $AUC_{last}/Dose$ の 90%信頼区間はそれぞれ、[0.99, 1.04] 及び [0.88, 0.93] でありいずれも生物学的に同等と判断されている。

なお、D*原薬の臨床使用経験について申請者は、20 \blacksquare 年 \blacksquare 月までに海外で 5 つの臨床試験に使用しており (TKT011、015、019、023、020)、100 例以上の患者に最長で約 11 カ月間の投与実績があること、これらの試験において、D*原薬への切り替えに際し有害事象の増加は認められておらず、D*原薬のみを使用した試験においても本薬の投与に起因した重篤な有害事象の発現は認められていないこと、また、健康成人に対し C*原薬及び D*原薬の生物学的同等性を評価するための試験 (TKT020) を実施したが、発現した有害事象の種類及び頻度に差は認められなかったと説明した。

機構は上記試験成績及び回答を了承し、D*原薬の C*原薬との同等性に関して問題はないものと判断した。

④ 原薬の管理について

申請後、原薬が D*製法によるものに変更されたことに伴い、原薬の規格及び試験方法も一部変更された。以下の内容は変更後のものについてである。

原薬の規格及び試験方法として、性状、確認試験 (ペプチドマップ、糖鎖マップ)、pH、純度試験 (SDS-PAGE、RP-HPLC 法、SE-HPLC 法、宿主細胞 DNA、宿主細胞たんぱく質、BIgG、BSA)、エンドトキシン、生菌数試験、細胞内取り込み活性試験、比活性、定量法 (紫外可視吸光度測定法) が設定され、資料が提出された。

確認試験の糖鎖マップは、本薬から酵素的に切り出した糖鎖を \blacksquare クロマトグラフィーで分析し、 \blacksquare 結合数及び \blacksquare 結合糖鎖によりグループ化して構成比を求めるものであり、

本薬の薬物動態及び細胞内への取り込みに影響する糖鎖の恒常性を定量的に管理する試験として設定されている。

比活性は、4-メチルウンベリフェリル・ α -D-ガラクトピラノシドを基質としてたんぱく質量当たりの酵素活性を求めるものである。

確認試験のペプチドマップについて、ピーク面積比が規格に設定されているため、システム再現性を設定するよう求め、対応されたのでこれを了承した。

純度試験の SDS-PAGE は、本薬製造時に使用しているウシ血清等のウシ由来たんぱく質の混入を広く検出することを目的として設定されている。判定基準が「標準品に添加した不純物 (BSA) の泳動帯より染色強度の強い新たな不純物の泳動帯を認めない」とされていることについて、機構は、デンストメトリーによる定量的な評価を実施することはできないか、また個々の不純物の染色強度だけでなく種類や総量に関する規格も設定する必要はないか申請者に尋ねた。申請者は、設定した規格は限度試験の規格としては十分ではないと考えられることから、染色強度の指標となる不純物の標準品への添加をやめ、「本品の [] 及び [] の [] 及び [] は標準品と同様であり、かつ、[] を認めない」に変更すると回答した。機構は回答を了承した。

純度試験の RP-HPLC、SEC-HPLC、BSA 及び BIgG について、D*原薬の実測値も踏まえて規格値を厳密に設定するよう求め、対応されたのでこれを了承した。

純度試験の宿主細胞たんぱく質は SDS-PAGE で泳動した後ウェスタンブロットにより検出を行うものであるが、特定ロットの原薬を「アガルシダーゼアルファ対照品」としてポジティブコントロールに設定することにより、規格は「アガルシダーゼアルファ対照品に認められる泳動帯以外の新たな泳動帯を認めない」とされている。これについて機構は、対照品の定義が「検出される可能性のある不純物を全て含むロット」とのみされていて明確ではないこと、規格が「新たな泳動帯を認めない」とするのみで含量に関する規定がないことから、設定された対照品の妥当性（臨床使用経験があり有効性及び安全性が確認されたロットであるかどうか）並びに対照品の定義及び規格の設定について申請者に検討を求めた。

申請者は以下のように回答した。原薬中に検出される宿主由来たんぱく質について、ほとんどが BSA 及び BIgG に由来するものであるが、未同定のバンドもあるため対照品を用いて位置を確認する必要がある。また、染色に使用する抗体は複数のたんぱく質を抗原として作成されたものであり、染色強度は不純物の含量を必ずしも反映していないことから、対照品を同時に泳動して比較することが必要である。しかしながら、現在の規格には不純物含量に関する規定がないことから、対照品を用いて [] を規格に定めることとし、[] を対照品 2 として追加することにより、対照品 1 又は 2 のいずれか濃いほうの [] とすることとする。対照品 1 は C*原薬であるが、臨床的には Compassionate Use に使用されたロットである。対照品 2 は D*原薬であり、臨床試験には使用していないが、臨床試験に使用したロット（製剤ロット番号 F*）と比較したときに、対照品 2 に含まれる全ての泳動帯がロット F*で検出され、染色強度も全てロット F*より薄いことを確認している。ロット F*を使用した臨床試験において本ロットの安全性及び有効性に問題は指摘されていない。また、対照品の定義については、「これらの対照品を更新する際には、「リプラガル原薬」の宿主細胞たんぱく質の規格に適合するロットを新しい対照品として更新する」と変更する。

機構は回答を了承した。

細胞内取り込み活性試験は、本薬が体内において細胞内に取り込まれることにより細胞内に蓄積した CTH を減少させるものであることを考慮して設定されている。試験では細胞としてヒト [] 細胞を用い、原薬及び [] をそれぞれ添加して一定時間培養した後、 [] の酵素活性を測定している。機構は、細胞としてヒト [] 細胞を用いた理由について説明を求め、申請者は以下のとおり回答した。

本薬の細胞内への取り込みについて、ヒト [] 細胞とファブリー病患者の体内で CTH の蓄積が認められている血管内皮・外皮、平滑筋細胞等とで比較した試験は実施していないが、ヒト [] 細胞は M6P 受容体を介して M6P 型糖鎖を有するたんぱく質を取り込む細胞であること、また分離培養が容易であり、セルバンクを調製して本薬の品質試験に必要とされる量を確保できることから選択したと回答した。

機構は、ヒト [] 細胞のセルバンクの調製及び培養条件についても申請書への記載を求め、適切に対応されたのでこれを了承した。

機構は、低分子量グリコフォームについて、位置づけとして目的物質関連物質と捕らえているか申請者の見解を求めるとともに、ヒト [] 細胞への取り込みが低いことから限度値を設定する必要はないか、検討を求めた。申請者は、低分子量グリコフォームについて細胞内への取り込みが低いことから目的物質関連不純物と考えとし、純度試験を設定して管理することとすると回答した。試験法として、純度試験の SDS-PAGE を準用し、デンストメーターにより測定したとき高分子量グリコフォームは [] %以上とすると設定されたので、機構はこれを了承した。

機構は、本薬の細胞内への取り込みに必須とされる M6P について、C*原薬と D*原薬について比較して説明するよう求め、また含量規格を設定する必要はないか申請者に尋ねた。申請者は、D*原薬について M6P 含量を測定していないが、糖鎖マップにおいて M6P が結合した糖鎖のピークグループの構成比は両者ではほぼ一致していると考えとし、また、糖鎖マップにより糖鎖の構成比を管理していること、ヒト [] 細胞内への取り込み活性試験を設定していることから、M6P の含量を規格化して管理しなくても M6P 含量の恒常性は管理されていると回答した。機構は回答を了承した。

⑤ 標準物質について

D*原薬への変更に伴い、D*製法で調製された自家標準物質が新たに立てられ、純度及び特性に関する試験結果より、C*製法による標準物質と同様であると判断されている。

自家標準物質の規格として原薬と同一の規格が設定されていたことから、機構は、標準物質は原薬及び製剤の試験の際の対照標準として使用されることから、アミノ酸配列、糖組成分析等の直接構造を確認できる試験法を設定するよう求めた。申請者はたんぱく質の一次構造を確認するために、N 末端アミノ酸配列に関する規格を設定し、また糖鎖についても糖鎖マップの規格に各ピークグループの面積百分率を設定すると回答した。機構はこれを了承した。

(2) 製剤

① 製剤について

製剤は、原薬に安定剤であるポリソルベート 20 を添加した注射用製剤である。米国第 I 相試験では安定剤として [] を添加した製剤が使用されたが、その後安定剤はポリソルベート 20 に変更された。ポリソルベート 20 には、加速条件下で本薬の生物活性低下と重合体

形成を抑制する効果が確認されている。製剤は 5mL のホウ珪酸ガラスバイアルに [REDACTED] mL を無菌的に充填しブチルゴム栓を施したものである。

国内臨床試験を開始する以前に、製剤を冷所保存 (2~8℃) すると 6 カ月目以降にわずかな微粒子の発生が認められたことから、国内における臨床試験製剤は -65℃以下で保存したものを使用した。その後、この微粒子は遊離脂肪酸であることが確認され、ポリソルベート 20 が分解されて生じたものと推定されたことから、申請者は遊離脂肪酸等ポリソルベート 20 の分解物の安全性について文献調査を行い、製剤の安全性に影響を与えないことを確認したとしている。また、米国及び英国で実施された臨床試験では、微粒子が発生すると考えられる期間 2~8℃で保存した製剤をインラインフィルター使用のもと患者に投与しているが、臨床効果や安全性は -65℃以下で保存した製剤を使用した国内臨床試験と同様であったことから、-65℃以下と 2~8℃に保存した製剤は同等であると申請者は判断しており、欧米と同様に国内においても貯法は 2~8℃として申請されている。

機構は、両条件で保存した製剤を比較した臨床試験が実施されていないため、両者が同等であるか直接的に判断することはできないが、微粒子が発生していたと推定される欧米での試験においてインラインフィルターの目詰まり等が報告されていないこと、国内の治験においてもインラインフィルターを使用して投与を実施していたこと、またインラインフィルターによるろ過前後で製剤の酵素活性及びたんぱく質濃度に変化が認められていないとの試験結果があること、さらには安定性試験の結果を踏まえ、2~8℃保存条件下で遊離脂肪酸の微粒子が発生したとしても、インラインフィルターを使用することにより、同様に使用することができるとする申請者の見解を了承した (安定性の項も参照)。

② 製剤の管理について

製剤の規格及び試験方法として、性状、確認試験 (SDS-PAGE のウェスタンブロット法による検出)、pH、純度試験 (RP-HPLC 法、SE-HPLC)、比活性、定量法 (紫外可視吸光度測定法) のほか、注射剤の製剤試験が設定されている。ただし、保存中に安定剤のポリソルベートが分解されて遊離脂肪酸が微粒子として発生することが確認されていることから、不溶性異物検査及び不溶性微粒子試験は出荷時に参考試験として実施することとされており、規格としては設定されていない。機構は、製剤の投与時に 0.2 μm のインラインフィルターの使用を義務付けることを前提に、これら 2 項目を規格として設定しないこともやむを得ないと判断した。

純度試験の RP-HPLC について、D*原薬の実測値も踏まえて規格値を厳密に設定するよう求め、対応されたのでこれを了承した。

ハ. 安定性に関する資料

① 原薬の安定性について

D*原薬の安定性試験は、プラスチック容器 (本体: ポリエチレンテレフタレート共重合体、蓋: 高密度ポリエチレン) に入れたものについて、長期保存試験 (-65~-85℃、12 カ月 ([REDACTED] カ月まで継続中))、加速試験 (5±3℃、6 カ月間) 及び苛酷試験 (25±2℃/60±5%RH、3 カ月間) が実施されている。長期保存試験 (12 カ月間)、加速試験及び苛酷試験において、純度、生物活性、比活性等に経時変化は認められず、これらの条件下では安定であることが示された。

② 製剤の安定性について

D*原薬で製造された製剤の安定性試験として、長期保存試験（ $5\pm 3^{\circ}\text{C}$ 、18 カ月（ カ月まで継続中））及び加速試験（ $25\pm 2^{\circ}\text{C}/60\pm 5\%\text{RH}$ 、6 カ月）が実施されている。

長期保存試験 12 カ月までの試験成績及び加速試験において、純度、生物活性、比活性等に経時変化は認められず、これらの条件下では安定であるとされた。しかしながら、長期保存試験の 9 カ月以降、細胞内取り込み活性試験、IEF、RP-HPLC 等の試験項目が外されたことについて、機構は安定性を評価するうえで重要と考えられるこれらの項目をはずした理由を申請者に尋ねた。申請者は、糖鎖マップ試験により細胞内への取り込み活性に影響する M6P を含有する糖鎖の変化を迅速かつ明確に検出できること、IEF に反映される糖鎖の不均一性も糖鎖マップで検出できること、RP-HPLC は C*製剤の安定性試験で変化を認めなかったことから試験項目から削除したと説明した。しかしながら、これらの項目は安定性を確認するうえで有用な項目であると考えられることから、今後測定を行う 18 カ月以降については試験を行うとしたため、機構はこれを了承した。その後 18 カ月時点の試験成績が提出された。

このほか、C*原薬により調製された製剤について、苛酷試験が実施されている。高温条件下（ $38\sim 42^{\circ}\text{C}/70\sim 80\%\text{RH}$ 、6 カ月）では、1 カ月後より重合体の著しい増加を認め、6 カ月後には IEF の泳動パターンに変化が認められた。光照射（ $25^{\circ}\text{C}/$ 総照度 120 万 $\text{lux}\cdot\text{hr}$ 、総近紫外放射エネルギー $200\text{W}\cdot\text{h}/\text{m}^2$ 、 $25^{\circ}\text{C}/$ 総照度 140 万 $\text{lux}\cdot\text{hr}$ 、総近紫外放射エネルギー $252\text{W}\cdot\text{h}/\text{m}^2$ ）では、一次包装品で重合体の著しい増加と細胞内取り込み活性の減少を認めたが、2 次包装品（紙箱入り）では変化は認められなかった。また、振盪（ 5°C 又は 25°C にて毎分 150 回、24 時間）による品質の低下は認められなかった。

製剤は用時生理食塩液にて希釈して投与されることから、希釈後の安定性についても検討された。生理食塩液 100mL に本薬の 14mg 相当量を添加した液について 24 時間まで酵素活性及び総たんぱく質量に変化は認められなかった。

機構は、製剤を $2\sim 8^{\circ}\text{C}$ で保存することにより経時的に脂肪酸微粒子が発生することが確認されているものの、その他の項目については少なくとも 18 カ月まで変化は認められていないことから、臨床成績において $2\sim 8^{\circ}\text{C}$ で保存した製剤を使用した海外試験と -65°C で保存した製剤を使用した国内試験との間に有効性及び安全性の差異が指摘されていないのであれば、投与時にインラインフィルターによる脂肪酸微粒子の除去がなされることを条件に、貯法を $2\sim 8^{\circ}\text{C}$ とすることは可能と考えている。有効期間についてはこれまでに提出された試験成績に基づき、18 カ月の安定性は確認されていると判断した。また、光による品質の劣化が認められたことから貯法として「遮光」とすることが必要であると考え、申請者に求めたところ、貯法に追加されたのでこれを了承した。

二. 毒性に関する資料

1) 提出された資料の概要

(1) 単回投与毒性試験

単回投与毒性試験は静脈内投与により、ラット及びサルで検討されている。試験には 1mg/mL 濃度の製剤を用いていることから、高用量は投与可能な上限量である 10.0mg/kg に設定されている。ラットでは 9 週齢の SD 系ラット雌雄各群 10 匹に、1.0 及び 10.0mg/kg を単回静脈内投与し、各群雌雄各 5 匹を投与 24 時間後、残り雌雄各 5 匹を 14 日間の観察期間終了時に解剖している。

いずれの群も死亡例はなく、致死量は 10.0mg/kg を上回ると判断された。サルでは 69 カ月齢のカニクイザル雌雄各 1 頭/群に、1.0 又は 10.0mg/kg を単回静脈内投与し 14 日間観察している。いずれの群でも死亡例はなく、致死量は 10.0mg/kg を上回ると判断されている。ラット、サルいずれの動物でも投与に起因する毒性学的影響は認められていない。

(2) 反復投与毒性試験

反復投与毒性試験はラット、イヌ及びサルを用いて検討されている。高用量として設定した投与量の 1.0 mg/kg は臨床予定用量の 5 倍、2 週間あたりの投与では 10 倍量に相当する。ラットの反復投与及び回復試験は 7 週齢 SD 系ラット雌雄各群 20 匹に、0.0625、0.25 及び 1.0mg/kg を 1 週間に 1 回、13 週間反復静脈内投与を行い、各群雌雄各 10 匹を 4 週間の回復試験に供している。全期間を通じ死亡例や毒性学的影響は認められず無毒性量は 1.0mg/kg を上回ると判断されている。血清中 α GAL 活性について、投与 1、4、8、13 週時の C_{max} 及び AUC は雌雄とも投与量に応じた曝露が認められたが、反復投与による蓄積は認められないとしている（へ項参照）。なお、抗 α GAL 抗体の産生が認められている（参ニ-1 参照）が、抗体産生に起因すると考えられる毒性は認められていない。

イヌの 4 週間反復静脈内投与及び 4 週間回復試験は 5 カ月齢のビーグル犬雄 6 頭/群に 0.0625、0.25 及び 1.0mg/kg を当初 1 週間に 1 回 13 週間にわたり反復静脈内投与を行う予定で開始したが、投与群の約半数例の動物（18 例中 8 例）に激しい嘔吐、呼吸促迫、下痢等の重篤なアナフィラキシー反応が発現したため、投与を 4 週間（4 回）で中止し各群 2 例の動物は 4 週間の回復試験に、残りの動物は血液学的、血液生化学的検査を行った後剖検し病理組織学的検査を実施している。認められた症状は 3 ないし 4 回目の投与中あるいは投与直後に発現し、これら所見は通常イヌで認められるアナフィラキシー症状と同質で、病理学的検査では消化管の出血や血中ヒスタミン濃度が上昇し、さらに抗体の産生を伴っていることより、異種たんぱくに対する免疫反応が強く発現した典型的なアナフィラキシー症状であると考えられた。単回投与での C_{max} 及び AUC は投与量に伴い上昇することが確認されている一方、1.0mg/kg の 4 週間（4 回）投与後では単回投与と比べ C_{max} は低下したが、AUC は上昇（蓄積）する傾向が認められている。本試験で投与に起因する直接的な毒性はみられなかったものの、異種たんぱくに対する非特異的な免疫反応が強く発現しアナフィラキシーにより約半数例の動物が死亡し、イヌを用いた非げっ歯類の反復投与毒性の評価は困難として、サルを用いた反復投与毒性試験を実施している。

サルでの 13 週間反復投与及び 4 週間回復試験は 2~3 年齢のカニクイザル雄 5 頭/群に 0.063、0.25 及び 1.0mg/kg を 1 週間に 1 回、13 週間の反復静脈内投与を行った後、各 2 頭/群は 4 週間の回復性試験に供している。投与及び休薬期間を通じ死亡例は認められずサルでの無毒性量は 1.0mg/kg を上回ると判断されている。

本薬の保存条件の変更（冷蔵→冷凍）に伴い発生する重合体の安全性評価は、通常製剤と重合体を高濃度を含む製剤（以下、重合体エンリッチ品）との比較で行っている。実験は、6 週齢の Crj:CD(SD)雄性ラット各群 10 匹に、通常製剤及び重合体エンリッチ品それぞれ 0.25 及び 1.0mg/kg を 1 週間に 1 回、4 週間（4 回）反復静脈内投与している。高投与量はラット 13 週間並びに 26 週間投与試験で用いた高投与量を設定している。重合体エンリッチ品の重合体含有量は 1.55%（規格：1.0%以下）である。いずれの投与群においても、死亡動物や通常製剤及び重合体エンリッチ品に起因した毒性は認められていない。血清中 α GAL 活性については、初回投与日

(1週)及び最終投与日(4週)の C_{max} 及びAUCで雌雄ともに投与量に伴って上昇したが、反復投与による蓄積性は認められていない(参ニ-2参照)。

(3) 慢性毒性試験

慢性毒性は、ラット及びサルの13週間反復投与試験の結果において、血中動態や曝露の程度に種差がなく蓄積性を認めなかったこと、ラットの26週間反復投与試験では高用量(1.0mg/kg)においても毒性を認めなかったこと等から、ラットでのみ慢性毒性試験で検討している。

26週間反復静脈内投与及び4週間回復試験は7週齢SD系ラット雌雄各群20匹に、0.063、0.25及び1.0mg/kgを1週間に1回、26週間静脈内投与で行い各群雌雄各10匹を4週間回復試験に供している。0.063mg/kg群の雌雄各1匹、0.25mg/kg群の雌1匹は状態が悪化したため切迫殺、1.0mg/kg群の雌雄各1匹が死亡している。状態が悪化した原因として0.063mg/kg群の雄は変形肋骨が原因と考えられる呼吸困難、雌は眼窩静脈叢からの採血時における傷害、0.25mg/kg群の雌は乳腺の腺癌が考えられた。1.0mg/kg群の死亡原因は雄が前立腺の膿瘍、雌は腎芽腫であった。また、腎芽腫は回復群の1.0mg/kg群の雌1匹にも発生した。認められた腫瘍について、乳腺の腺癌は組織型などから同系統で好発する自然発生性であると考えられ、腎芽腫の発生についても偶発性の可能性が高いと考えられた(腎に対する影響は後述)。したがって、状態の悪化や死亡に被験物質の直接的な関連性は認められなかったことから、無毒性量は1.0mg/kgを上回ると判定されている。

なお、抗 α GAL抗体の産生が認められたが、抗体の産生に起因すると考えられる毒性は認められていない。

腎臓の影響に対するエキスパートレポートとしてラット26週間反復静脈内投与及び4週間回復試験での腎臓を病理組織学的に精査し、発現した腎腫瘍と投与の関連性について、病理専門家によるレビューを実施している。全動物の腎臓の病理組織標本を光学顕微鏡的に精査した結果、高用量投与群と回復群の雌各1例で典型的な腎芽腫が認められたが、その他の腎腫瘍は認められていない。腫瘍以外の所見として加齢性の自然発生性の病変が認められたのみで、前腫瘍性病変を含む腎臓のいかなる構成組織にも投与の影響は認められていない。

腎芽腫は胎児性の腫瘍であり、化学物質等によるラット実験的誘発では腎臓組織が未発達な胎児や未熟な個体の感受性が高いことが報告されている。腫瘍の発生には通常前病変が伴い、ラット腎芽腫の場合の前腫瘍性病変は、尿細管間に芽細胞の小集簇として見られるが、本レビューでは認められていない。また本薬は生物学的たんぱく産物であり非遺伝毒性物質と考えられ、通常腎芽腫を誘発する化学物質は強い遺伝障害性を有し多臓器に対する発癌物質でもある。これら化学物質による腎芽腫の誘発には胎児発生後期での経胎盤投与、卵巣摘出若齢ラットへの投与あるいは免疫抑制下での投与など特殊な状況下での報告が多い。さらに米国 National Toxicology Program (NTP)あるいは National Cancer Institute (NCI) program で試験された約400の化合物中39種類がラットあるいはマウスに腎臓腫瘍を誘発したが、組織型はいずれも腎芽腫ではなかった。以上の理由から本薬と腎芽腫発生の関連性は極めて低く、さらにある種の系統のラットでは腎芽腫が高率に発現し、遺伝的要因も発生に重要な関わりが考えられる。このうち、Upjohn Sprague-Dawley系の亜系統では雄よりも雌でより発現するとの報告があり、本薬の26週間投与試験に用いたSprague-Dawleyラットは同腹児の履歴はないものの、腫瘍が発現した2例の雌ラットが近い関係にある可能性は否定できない。結論として本試験で発現した腎芽腫の発現は自

然発生的なものと考えられる。

(4) 生殖発生毒性試験

生殖発生毒性試験として、ラットを用いた生殖機能及び次世代の発生に及ぼす影響について「雄ラットにおける授胎能に関する試験」及び「雌ラットにおける受胎能及び催奇形性に関する試験」が実施されている。また、ウサギを用いた母動物及び次世代の発生に及ぼす影響は「ウサギにおける催奇形性に関する試験」が実施されている。

雄ラットにおける授胎能に関する試験は雄ラットに交配前 28 日間及び交配期間から剖検まで、0、0.0625、0.25 及び 1.0mg/kg を 3 回/週、投与し無処置雌と交配後、受胎した雌は妊娠 13 日に帝王切開を行い雄の生殖機能及び次世代の発生に及ぼす影響を検討している。いずれの投与量においても投与に起因すると考えられる一般毒性、雄の生殖能や生殖器官重量、精子検査及び精巢の病理組織学的検査で影響はなかった。さらに、胎児に対しても胚児致死作用はみられず、雄動物の一般毒性及び生殖並びに次世代の発生に対する無毒性量は 1.0mg/kg を上回ると判定されている。

雌ラットにおける受胎能及び催奇形性に関する試験は雌ラットに交配 14 日前から妊娠 17 日まで 0、0.0625、0.25 及び 1.0mg/kg を 1 日 1 回投与し無処置の雄と交配させている。妊娠した雌は妊娠 20 日目に帝王切開し、生殖機能及び次世代の発生に及ぼす影響を検討している。いずれの群でも投与に起因すると考えられる一般毒性や雌の生殖能に影響はなかった。また胎児についても胚・児致死作用及び催奇形作用は認められず雌動物の一般毒性及び生殖並びに次世代の発生に対する無毒性量は 1.0mg/kg を上回ると判定されている。

催奇形性に関する試験として雌のウサギに 1 日 1 回の頻度で妊娠 7 日から 19 日まで 0、0.0625、0.25 及び 1.0mg/kg を投与し、母動物及び次世代の発生に及ぼす影響を検討している。いずれの投与量においても、投与に起因すると考えられる一般毒性及び妊娠維持に対する影響は見られていない。また、胎児についても胚・児致死作用及び催奇形作用は認められず雌動物の一般毒性及び生殖並びに次世代の発生に対する無毒性量は 1.0mg/kg を上回ると判定されている。

(5) 抗原性試験

抗原性試験としては原薬中に含まれる不純物である BIgG、BSA 及びウシトランスフェリンの抗原性を評価するために、本薬及び不純物 (BIgG : 2.0 μ g/mg, BSA : 300ng/mg, ウシトランスフェリン : 200ng/mg) を添加した本薬のモルモットを用いた能動的全身性アナフィラキシー (以下、ASA) 及び受身皮膚アナフィラキシー (以下、PCA) 試験を実施している。

Hartley 系雌性モルモットを用い感作は 0.2mg/kg の本薬 (不純物無添加品及び不純物添加品) を週 1 回、3 週間静脈内投与した。感作動物に本薬を含まない不純物混合液を静脈内投与して ASA 反応を惹起した。また、感作動物より得た血清を皮内投与した動物に、エバンスブルーと不純物混合液を静脈内投与して PCA 反応を惹起した。いずれの抗体検出系においても不純物に対する反応は認められていない。一方、これらの感作動物又は感作血清を用いて本薬で惹起した場合には、アナフィラキシー反応が認められた。

以上の結果から、本薬はヒトたんぱくであることからモルモットで抗原性を示すものの、本試験条件下では本薬に含まれる不純物の抗原性は認められないとしている。

本薬の保存条件変更 (冷蔵→冷凍) に伴い発生する重合体と本薬の抗原性の異同についてモル

モット血清を用いたゲル内沈降反応（Ouchterlony 法）で検討している（参考資料ニ-4）。

Hartley 系雄性モルモットを用い本薬重合体エンリッチ品感作群として、臨床用量である 0.2 mg/kg を静脈内に 2 回あるいは 3 回投与する群、陽性対照群として 2 mg/kg の卵白アルブミン（以下、EA）を皮下投与する群、対照群として無処置群を設けている。最終感作 2 週間後に血清を採取してゲル内沈降反応（Ouchterlony 法）を実施した結果、本薬重合体エンリッチ品感作群及び EA 感作群より得られた血清はいずれも抗原である本薬重合体エンリッチ品あるいは EA と沈降線を形成せず、本感作条件で得られた血清では抗原性の異同を評価できていない。陽性対照である EA 投与群でも沈降線は形成されなかったが、同時期に実施した EA を Freund's complete adjuvant（以下、FCA）とともに投与した試験では沈降線が形成されたことから、抗原性を評価するためには FCA を用いた検討が適切と考え、追加検討を実施している。

Hartley 系雄性モルモットを用い、臨床用量（0.2 mg/kg）の約 3 倍量である 0.58 mg/kg の本薬重合体エンリッチ品を免疫増強剤である FCA とともに週 1 回、3 週間皮下投与して感作し、非感作群として生理食塩液と FCA の等量乳化物を投与する群、陽性対照群として 2 mg/kg の EA を FCA とともに感作する群を設けている。

最終感作 2 週間後に血清を採取してゲル内沈降反応（Ouchterlony 法）を実施した結果、本薬重合体エンリッチ品感作群より得られた血清はいずれも抗原として用いた本薬重合体エンリッチ品及び本薬と沈降線を形成し、かつ 2 本の沈降線はいずれも融合したため、本薬重合体エンリッチ品と本薬の抗原性に異同はないとしている。一方、非感作群より得られた血清はいずれも本薬重合体エンリッチ品及び本薬とは沈降線を形成しなかった。EA 感作群より得られた血清は EA を抗原とした場合、明かな沈降線を生じ非感作群より得られた血清は EA と沈降線を形成しなかった。

以上の結果から、本試験条件下では本薬 重合体エンリッチ品と本薬の抗原性に異同は認められないとしている。

機構は、臨床使用における本薬中に含まれる BIgG に対する抗体産生の可能性について説明を求めた。

米国第 II 相試験及び継続投与試験において本薬が投与された被験者 25 例の血清中の抗体を部分精製した宿主細胞たんぱく質及びウシ血清たんぱく質（BIgG を含む）を抗原として ELISA 法で測定したところ、25 例中 8 例において当該抗原に対する抗体が陽性であった。投与時反応が認められた被験者は、陽性 8 例中 4 例、陰性 17 例中 8 例であり、当該抗原に対する抗体発現と投与時反応の間に関連は認められなかった。また、ドイツにおける女性患者を対象とした臨床試験においては、本薬が投与された被験者 15 例中 2 例で当該抗原に対する抗体が陽性であったが、この 2 例を含め 15 例全例で投与時反応は認められなかった。以上のことから臨床試験において投与時反応との関連性は認められず、モルモットを用いた抗原性試験においてもアナフィラキシー反応は認められなかったことから、含有される BIgG が安全性上の問題となる可能性は低いと考えられる旨申請者は回答した。

機構は、回答を了承した。

(6) 遺伝毒性試験

遺伝毒性試験は本薬がたんぱく製剤であることより実施されていない。

(7) 局所刺激性試験

局所刺激性試験は実施されていない。しかしラット及びカニクイザルで実施した一般毒性試験いずれの試験でも投与部位に異常は認められず、さらに、カニクイザルの試験では病理組織学的検査においても投与部位に異常は認められていない。

(8) がん原性試験

本薬はヒト細胞内リソソーム中に存在する加水分解酵素であり、がん原性を指摘する報告もなく、ラットの 26 週間反復投与毒性試験において腫瘍性病変が認められたものの、いずれも自然発生的なものとされたことから、がん原性試験は実施されていない。

(9) 依存性試験

各種毒性試験及び一般薬理試験において中枢への影響を示唆する変化が認められなかったことから、依存性試験は実施されていない。

(10) 併用毒性試験

本薬はヒト型酵素たんぱくで遺伝的に本酵素活性が低い患者に対し補充療法として直接血液中に投与され、投与後は機能を発揮する場所である臓器組織に速やかに分布し、血中からは速やかに消失、投与後 3 時間には投与前のレベルまで活性が低下するとの理由により併用毒性に関する試験は実施されていない。

2) 機構における審査の概略

機構はラット 13 週間反復静脈内投与時の血清中 α GAL 活性及び C_{max} が、測定時期と雌雄により差 (10 倍) が認められた要因について申請者に説明を求めた。

申請者は以下のように回答した。血清中 α GAL 活性の C_{max} は、投与後最初の 2 時点である投与後 5 分の濃度 (以下、 $C_{(5)}$) と投与後 10 分の濃度 (以下、 $C_{(10)}$) を用い、 $C_{(5)}$ が $C_{(10)}$ より高い濃度を示した場合は $C_{(5)}$ 及び $C_{(10)}$ の対数を時間に対してプロットし、これらを結ぶ直線式から、投与直後の濃度 (以下、 $C_{(0)}$) として外挿して算出、 $C_{(10)}$ が $C_{(5)}$ より高い濃度を示した場合は $C_{(10)}$ を、 $C_{(5)}$ 及び $C_{(10)}$ が同じ濃度を示した場合は $C_{(5)}$ 及び $C_{(10)}$ をそれぞれ C_{max} として提示した。さらに C_{max} の測定時期差に異種たんぱくに対する抗体産生が影響している可能性を検討し、血清中 α GAL 活性と抗 α GAL 抗体陽性の動物数の関係については、試験に用いた動物が同一個体でないため明確な関連は不明であるものの、抗体陽性の動物数と血清中 α GAL 活性の変動との間に明確な傾向が認められず、血中濃度と抗体産生の機序については解明できなかったが、抗体の産生が α GAL の体内動態に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。また投与量の違いや雌雄を用いた複数の試験において、血清中 α GAL 活性に一定の傾向が認められないため、測定時期の違いや性差によって差が生じた可能性は低いと考えられる。

単回投与後と反復投与後を比較したときの C_{max} に大きなばらつきが認められた要因としては、本薬は消失が速やかであり、特に静脈内投与直後という薬物濃度が変化しやすい時期の測定であったこと、一時点ごとに別動物から採血したため $C_{(5)}$ と $C_{(10)}$ は、異なる動物であること、さらに実測値から外挿して算出した値を用いたためであると考えられた。なお、AUC については大きなばらつきは認められていない。

機構は回答を了承した。

機構はイヌで強いアナフィラキシー反応が認められたことから、種差による反応性の違いについて申請者に説明を求めた。

申請者は以下のように回答した。一般に動物種によりアナフィラキシーに対する反応性は異なり、イヌはラットに比べてアナフィラキシー反応を起こしやすい動物であることが知られているが、その種差のメカニズムについての詳細は明らかではない。アナフィラキシー反応時に血管透過性を亢進させるヒスタミン閾値濃度がイヌはラットと比較して 100~1,000 倍感度が高いことがその一因となった可能性は考えられる。本薬投与によるイヌでのアナフィラキシー反応は、異種たんぱくに対する免疫反応に起因したものであると考え、ヒトで起こる可能性は低いと考えられる。

機構は回答を了承した。

機構は局所刺激性試験を実施せず、ヒトでの安全性を確保出来るとした理由について申請者に説明を求めた。

申請者は以下のように回答した。ラットやサルへのいずれの反復投与試験においても一般症状観察及び剖検の結果、投与部位には何ら所見が認められておらず、また近接した部位に複数回投与した場合でも投与部位における傷害は認められなかった。臨床試験での投与部位についての詳細な記録はないが、投与頻度は 2 週間に 1 回であり、かつ完全に同一部位に投与する可能性は低いことから、臨床での局所刺激性は類推可能であり、本薬の局所刺激性には問題ないと考えられる。なお、本邦での第 II 相臨床試験では、投与部位の刺激性に起因する有害事象は報告されていない。

機構は回答を了承した。

機構は、反復投与毒性試験における最大投与量や反復期間について、一般の薬物に比べると必ずしも十分とはいえないが、本薬はヒト細胞を用いて生産されるスフィンゴ糖脂質の加水分解酵素 α GAL であり、臨床投与量が (0.2mg/kg/2week) であり、それと比べて約 10 倍の用量まで試験されていることを考慮すると、提出された資料からは大きな問題はないと考えた。

ホ. 薬理作用に関する資料

1) 提出された資料の概要

(1) 効力を裏付ける薬理試験

ファブリー病患者と同様に肝臓、心臓及び腎臓で CTH が蓄積することが知られている雄性ヘミ接合体 α GAL ノックアウトマウスを用いて本薬の CTH に対する効果について検討された。

約 5~10 カ月齢の雄性ヘミ接合体 α GAL ノックアウトマウスにおいて、本薬 (0.27 及び 0.78 mg/kg) を週 3 回 3 週間 (計 7 回) 間歇静脈内投与すると、肝臓の CTH 蓄積が減少した (減少率: 97.7 及び 97.5%、CTH 量: 対照群 7.32 ± 1.87 nmol/mg protein (平均値 \pm SD)、本薬群 0.17 ± 0.04 及び 0.18 ± 0.10 nmol/mg protein)。各用量での CTH 減少率は、心臓では 73.2% 及び 76.1% (CTH 量: 対照群 2.72 ± 0.53 nmol/mg protein、本薬群 0.73 ± 0.17 及び 0.65 ± 0.26 nmol/mg protein)、腎臓では 21.0% 及び 24.2% (CTH 量: 対照群 41.29 ± 8.58 nmol/mg protein、本薬群 32.62 ± 7.75 及び 31.30 ± 9.06 nmol/mg protein) であった。また、週 1 回 8 週間 (計 8 回) 間歇静脈内投与した時には、いずれの投与量でも肝臓の CTH は減少し (減少率: 98.5 及び 99.1%、CTH 量: 対照群 11.49 ± 2.55 nmol/mg protein、本薬群 0.23 ± 0.09 及び 0.14 ± 0.04 nmol/mg protein)、心臓では 64.9% 及び 86.6% (CTH 量: 対照群 1.34 ± 0.33 nmol/mg protein、本薬群

0.47±0.27 及び 0.18±0.06 nmol/mg protein)、腎臓では 29.1%及び 63.5% (CTH 量：対照群 40.95±4.63 nmol/mg protein、本薬群 29.02±6.90 及び 14.93±2.58 nmol/mg protein) であった。最終投与 7 日後に肝臓、心臓及び腎臓を採取し、抗 α GAL 抗体を用いて免疫組織化学的染色を行ったところ、本薬投与群での肝臓に強い陽性所見が認められた。

また、以下の資料が参考資料として提示された。約 6.5 カ月齢の雌性ホモ接合体 α GAL ノックアウトマウスに本薬 (0.2 及び 1.0 mg/kg) を単回静脈内投与あるいは本薬 (0.1 及び 1.0 mg/kg) を週 3 回 (計 7 回) 静脈内投与したところ、肝臓、心臓及び腎臓で CTH 減少が認められた。

以上のことから、本薬は肝臓、心臓及び腎臓において CTH 蓄積を軽減させることが示唆された。

(2) 作用機序

機構は、本薬の作用機序について申請者に説明を求め、申請者は以下のように説明した。

ファブリー病では、細胞内リソソーム中の加水分解酵素である α GAL の活性が先天的に欠損あるいは低下しているため、本酵素により分解されるべきスフィンゴ糖脂質の蓄積がみられ、主として CTH が様々な細胞や組織内に進行性に蓄積する。ヒト体内において、細胞外に分泌された α GAL は、その糖鎖部分の M6P 残基が細胞表面の M6P レセプターに結合することによって捕捉され、細胞内に取り込まれてリソソームに輸送されることが知られている (Kornfeld, S. and Mellman, I. *Ann. Rev. Cell Biology* 1989; 5: 483-525)。このことから、 α GAL を静脈内投与することにより、ファブリー病患者の細胞内リソソームに到達させることが可能と考えられ、 α GAL の補充療法が検討されてきた。

本薬は、 α -ガラクトース残基を加水分解により切り離す酵素活性を有するとともに、糖鎖には M6P 残基が存在し、これが細胞表面の M6P レセプターに結合することにより細胞内に取り込まれ、リソソームに輸送されて細胞及び組織内に蓄積するスフィンゴ糖脂質を分解することにより効力を発揮するものと考えられる。

(3) 一般薬理試験

本薬の一般薬理試験として、一般症状及び行動、中枢神経系、呼吸・循環器系、自律神経系・平滑筋、消化器系、泌尿器系、血液系に及ぼす影響が検討され、*in vivo* 試験では 10 mg/kg (i.v.)、*in vitro* 試験では 3×10^{-5} g/mL まで特記すべき事項は認められていない。

2) 機構における審査の概略

(1) モデル動物の妥当性について

機構は、CTH を指標として α GAL ノックアウトマウスをファブリー病のモデル動物とするものの妥当性について、ファブリー病患者と α GAL ノックアウトマウスとの病態の相違点及びその理由について、公表論文等での考察もまとめた上で申請者としての考えを示すよう求めた。

申請者は以下のように回答した。ファブリー病患者と α GAL ノックアウトマウスでの病態との間には以下のような差がある。

α GAL ノックアウトマウスでは、加齢に伴い、ファブリー病患者で障害を受ける主要臓器とされる腎臓、心臓等で CTH が蓄積する。しかしながら、脂質蓄積パターンについては、血管内皮細胞において、ファブリー病患者では CTH 蓄積が認められるのに対し、ノックアウトマウスで

は軽度である。また、寿命を含めファブリー病患者でみられる臨床症状や臓器障害は、 α GAL ノックアウトマウスの 80 週齢まで認められていない (T. Ohshima et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1997; 94: 2540-2544, T. Ohshima et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1999; 96: 6423-6427)。

α GAL ノックアウトマウスとファブリー病患者で病態が異なる主な理由としては、糖脂質の代謝系の違いによる可能性が考えられる。ファブリー病患者で蓄積する CTH の供給源は十分には解明されていないが、血管の内皮細胞や平滑筋細胞においては、血中の CTH 取り込みが寄与しており (R.J. Desnick et al., In: The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease (ed by C.R. Scriver et al.), 7th ed, McGraw-Hill, New York, 1995 ; p2741-2784,)、赤血球の主要な中性糖脂質であり CTH の前駆体であるグロボシドが血中 CTH の主要な供給源と推定されている。一方、マウスではヒトに比べて赤血球におけるグロボシドの存在量が少ないとされている (T. Ohshima et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1999; 96: 6423-6427)。このため、 α GAL ノックアウトマウスでは血管内皮細胞で CTH が大量に蓄積せず、ヒトの病態とは異なるものと考えられる。さらに、マウスではヒトに比べて寿命が短く臓器への CTH 蓄積期間が短いことが、 α GAL ノックアウトマウスでは腎不全等の臓器障害や臨床症状を示さない理由と考える。 α GAL ノックアウトマウスではファブリー病患者の病態と異なっているが、 α GAL ノックアウトマウスにおいてもファブリー病患者で蓄積が認められている腎臓、肝臓、心臓等の臓器で同様の CTH 蓄積が観察されることから、外来性に投与した本薬がこれらの臓器に到達し、CTH 蓄積を軽減させることを薬理的に確認することは可能であると考えられる。

さらに機構は、 α GAL ノックアウトマウスで観察している組織 (肝臓・心臓・腎臓) の選択理由について、ファブリー病の病態と関連させて説明し、ファブリー病の病態等からみて、他の組織について確認する必要がなかったか申請者に説明を求めた。

申請者は以下のように回答した。ヒトにおけるファブリー病の病態を考慮すると、血管内皮細胞や血管平滑筋細胞における CTH 蓄積及び組織病理を検討することが重要と考えられる。しかしながら、 α GAL ノックアウトマウスでは血管内皮細胞や血管平滑筋細胞における CTH 蓄積が認められず、これらの細胞における本薬の薬効評価は困難と考える。ラットに ¹²⁵I 標識した本薬を単回投与したところ、肝臓に比較的高濃度に分布し、腎臓や心臓にも分布していた (吸収・分布・代謝・排泄の項参照) ことから、肝臓、心臓及び腎臓を観察することとした。

以上について機構は、 α GAL ノックアウトマウスではファブリー病患者で認められるような臨床症状や臓器障害が認められないことから、 α GAL ノックアウトマウスがファブリー病の病態モデルとして適当であるとは言い切れないものの、本薬による CTH 蓄積の減少作用を確認することは可能であると考えている。

(2) 投与量等の妥当性について

機構は、投与量及び投与間隔も含めた投与方法の妥当性について、申請者にヒトにおける実使用時を考慮に入れた説明を求めた。また、正常動物と比較したデータもあれば提示するよう求めた。

申請者は以下のように回答した。

①投与量及び投与間隔も含めた投与方法の妥当性について

本薬の用法・用量に関しては、本邦及び海外の臨床試験成績に基づき、0.2mg/kg の投与量で 2 週間に 1 回の投与頻度が設定されている。

雄性 α GAL ノックアウトマウスにおける本薬の投与量は 0.27 及び 0.78mg/kg であり、臨床での投与量に近い用量で薬効が認められると考えられる。本薬を単回投与した時の血中濃度の半減期は、マウス、ラット等の動物及びヒトともに 2 時間以内と短かったが、ラットに $[^{125}\text{I}]$ 標識した本薬を単回静脈内投与した時の組織（肝臓、心臓及び腎臓）中放射能濃度の半減期は 1~2.5 日であった。また本薬ではないものの、ファブリー病患者由来の線維芽細胞内に取り込まれた α GAL 活性の細胞内半減期は 4 日であることが報告されている（Mayes JS, et al., Am. J. Hum. Genet. 1982; 34: 602-610）。さらに、米国第 I 相試験において、ヒトでの本薬の肝臓中半減期は 1 日以上と推定される。これらのことから、ヒト及び動物において、本薬の血中や組織濃度の半減期に大きな差はなく、間歇投与でも効果が期待できるものと推察される。

②正常動物との比較について

参考資料として提出した雌 α GAL ノックアウトマウスの試験では、雌正常マウスの CTH レベルも測定している。雌正常マウスの肝臓、心臓及び腎臓の CTH 含量は、それぞれ約 0.04、0.01 及び 0.37 nmol/mg protein であり、雌 α GAL ノックアウトマウス（4.75、3.32 及び 20.73 nmol/mg protein）に比べて低値であった。一方、雌 α GAL ノックアウトマウスに本薬を投与すると、これらの臓器で CTH 蓄積が軽減され、3 週間間歇投与では肝臓で CTH 蓄積が雌正常マウスのレベル程度まで軽減されたと申請者は考えている。

機構は、回答を了承した。

(3) 一般薬理試験について

機構は、一般薬理試験として実施された試験の妥当性について申請者に説明を求めた。

申請者は以下のように回答した。

一般症状及び行動では全身組織の障害について、鎮痛作用では後根神経節への影響、呼吸・循環器系では心筋細胞、血管系内皮・外皮、平滑筋細胞、自律神経系、摘出回腸では自律神経系、尿量・尿中電解質排泄では腎上皮細胞及びメサンギウム細胞の障害について確認している。

本薬の臨床用量 0.2mg/kg の 50 倍量に相当する 10mg/kg まで静脈内投与しており、いずれの器官系にも影響は認められていない。以上から、一般薬理試験において実施された試験項目はファブリー病における障害組織と照らして考えた場合でも問題ないものとする。

機構は、試験で使用した動物の妥当性についても考慮する必要があると考えるものの、本薬が酵素補充療法に用いる薬物であることや毒性試験において確認された内容もあること等を考慮して、提出された資料で評価することとした。なお、実使用時の安全性については臨床の項を参照のこと。

へ. 吸収、分布、代謝、排泄に関する資料

1) 提出された資料の概要

薬物動態の検討には、本薬の ^{125}I -標識体及び非標識体が用いられた。血清中放射能濃度は液体シンチレーションカウンターにより測定し、血清中（血漿中）非標識体濃度は内因性 α GAL 活性のバックグラウンド値を差し引いた α GAL 活性濃度として算出した。また、 α GAL 活性は、合成基質の 4-メチルウンベリフェリル $\cdot\alpha$ -ガラクトピラノシドを 1 時間に 1nmol 加水分解する活性を 1U として表示した。

(1)非臨床薬物動態試験成績

①吸収

i)単回投与

雌雄ラットに本薬 0.0625、0.25 及び 1mg/kg を単回静脈内投与したとき、投与直後の血清中 α GAL 活性 (C_{max}) は雄ではそれぞれ 2,381、11,843 及び 39,939 U/mL、雌ではそれぞれ 932、5,527 及び 33,458 U/mL、血清中 α GAL 活性の $AUC_{0-t_{last}}$ は雄ではそれぞれ 446、2,042 及び 11,081 U·hr/mL、雌ではそれぞれ 283、1,633 及び 8,795 U·hr/mL であり、投与量の増加に伴ってほぼ直線的に上昇した。 C_{max} 及び $AUC_{0-t_{last}}$ の増加率は、雄の C_{max} を除いて投与量の増加率よりもやや大きく、これに関して申請者は、投与量の増加に伴い組織への取り込み等の消失経路が飽和している可能性も示唆されるが、雄における 0.25mg/kg 投与及び 1mg/kg 投与での CL 値を 0.0625mg/kg 投与と比較すると、それぞれ 95%及び 71%であり、非線形の程度は顕著なものではないと考察している (雌ではデータ不十分のため 0.0625mg/kg 投与での CL が算出できなかった)。また、 C_{max} 及び $AUC_{0-t_{last}}$ は雄が雌よりも高い傾向を示したが、 V_{ss} 及び CL に性差は認められなかった。

雄イヌに本薬 0.0625、0.25 及び 1mg/kg を単回静脈内投与したとき、 C_{max} はそれぞれ 1,767、10,492 及び 43,605 U·hr/mL、血清中 α GAL 活性の $AUC_{0-\infty}$ はそれぞれ 231、1,554 及び 9,508 U·hr/mL であった。 C_{max} 及び $AUC_{0-\infty}$ の増加率は、投与量の増加率よりも大きく、0.25mg/kg 投与及び 1mg/kg 投与での CL 値を 0.0625mg/kg 投与と比較すると、それぞれ 62%及び 38%と低下しており、申請者は、投与量の増加に伴い組織への取り込み等の消失経路が飽和している可能性が示唆されると考察している。

雄サルに本薬 0.063、0.25 及び 1mg/kg を単回静脈内投与したとき、 C_{max} はそれぞれ 3,191、15,756 及び 27,905 U/mL、血清中 α GAL 活性の $AUC_{0-\infty}$ はそれぞれ 451、3,147 及び 12,822 U·hr/mL であり、サルの体内動態は非線形である傾向が示唆された。0.25mg/kg 投与及び 1mg/kg 投与での CL 値を 0.0625mg/kg 投与と比較すると、それぞれ 64%及び 60%と低下しており、申請者は、投与量の増加に伴い組織への取り込み等の消失経路が飽和している可能性が示唆されると考察している。

雌雄サルに本薬 1mg/kg を単回静脈内投与した時、血清中 α GAL 活性の動態パラメータには明確な性差は認められなかった。

ii)反復投与

雌雄ラットに本薬 0.0625、0.25 及び 1mg/kg を 1 週間に 1 回 13 週間反復静脈内投与した時、単回投与後と反復最終投与後の C_{max} 及びその $AUC_{0-t_{last}}$ に差はなく、雌雄ともに反復投与による蓄積傾向は認められなかった。

雄イヌに本薬 1mg/kg を 1 週間 1 回 4 週間反復静脈内投与した時、4 週間反復投与後では単回投与後と比べて C_{max} は 67%に減少し、 $AUC_{0-\infty}$ は 209%に増加し、見掛けの消失半減期 ($t_{1/2}$) は約 18 倍に延長した。この結果に関して申請者は、血液学的、血液生化学的検査の結果及び病理組織学的検査の結果から、血中ヒスタミン濃度の上昇、抗体の産生が観測されており、イヌにおいては強くアナフィラキシー反応が認められたこと、また、単回投与試験に比べて例数が不足していることから、イヌを用いた反復投与試験では本薬の蓄積性について適切に評価できていないと考察している。

雄サルに本薬 0.063、0.25 及び 1mg/kg を 1 週間 1 回 13 週間反復静脈内投与した時、単回投与後と反復投与後の C_{max} 及び $AUC_{0-\infty}$ に差はなく、反復投与による蓄積は認められなかった。

②分布

雄ラットに、ポリソルベート 20 を含まない処方で $[^{125}I]$ 標識した本薬 0.13 及び 1.28 mg/kg を単回静脈内投与した時、放射能分布は、投与後 4 時間では甲状腺（血漿の 420~510 倍）及び肝臓（血漿の 8~10 倍）で高く、脾臓、骨髄及び胃においても血漿より高濃度の放射能が認められた。投与後 24 時間では、甲状腺を除くすべての組織で、放射能は投与後 4 時間に比べて低下した。投与後 4 時間において、甲状腺、肝臓、脾臓、骨髄及び副腎に分布した放射能は、その 70% 以上が、組織ホモジネートを TCA で処理した場合の TCA 沈殿画分に存在することから、たんぱく質として存在しているものと考えられた。

雄ラットに、ポリソルベート 20 を含む処方で、 $[^{125}I]$ 標識した本薬 1.41~1.49mg/kg を単回静脈内投与した時、投与後 4、24 及び 48 時間の組織中放射能分布は、ポリソルベート 20 を含まない処方と比較して差は認められなかった。また、投与後 48 時間においても甲状腺、腎臓及び肝臓には比較的高濃度の放射能が認められた。

③ 代謝

本申請においては、代謝に関する試験は実施されていない。

④ 排泄

雄ラットに、ポリソルベート 20 を含まない処方で $[^{125}I]$ 標識した本薬 0.13 及び 1.28mg/kg を単回静脈内投与した時、投与後 24 時間までに投与放射能の 61.6~78.8% が尿中に排泄された。なお、投与後 24 時間の肝臓に投与放射能の 18~37% が分布していた。

雄ラットに、ポリソルベート 20 を含む処方で $[^{125}I]$ 標識した本薬 1.41mg/kg を単回静脈内投与した時、投与後 48 時間までに投与放射能の 65.9% が尿中に排泄された。なお、投与後 48 時間の肝臓及び甲状腺にそれぞれ投与放射能の 7% が分布していた。

(2)臨床薬物動態試験成績

本薬の薬物動態は、国内において 18 歳以上の男性ファブリー病患者を対象に、外国において男女ファブリー病患者を対象に検討された。

①本邦における第 II 相試験 (D3101002 試験、添付資料ト・1)

日本人男性ファブリー病患者 12 例を対象に、本薬 0.2mg/kg を 2 週間に 1 回、40 分間で 12 回静脈内投与した国内第 II 相試験において、初回投与時での血漿中 α GAL 活性の C_{max} 、 $AUC_{0-\infty}$ 、 $AUC_{0-\infty}$ /投与活性(以下、 $AUC_{0-\infty}$ 補正值)及び $t_{1/2}$ の平均値は、それぞれ 5,169 U/mL、364,277 min·U/mL、0.52 及び 56 min であり、12 回目投与時 (1 例脱落し 11 例) での血漿中 α GAL 活性の C_{max} 、 $AUC_{0-\infty}$ 、 $AUC_{0-\infty}$ 補正值及び $t_{1/2}$ の平均値は、それぞれ 3,030 U/mL、334,225 min·U/mL、0.48 及び 134 min であった。12 回目投与時では、初回投与時と比較して C_{max} の平均値の低下、 $AUC_{0-\infty}$ 及び $AUC_{0-\infty}$ 補正值の平均値の減少及び $t_{1/2}$ の平均値の延長が認められた。被験者別では、5 例 (No.1、3、4、9 及び 10) で C_{max} が低下し、このうち 4 例では $AUC_{0-\infty}$ 及び $AUC_{0-\infty}$ 補正值

の減少もみられた。この5例のうち、2例（No.3及び4）では、ELISA法により測定した血清中抗 α GAL IgG抗体が8週後で陽性（初回投与前の吸光度の2倍以上の上昇）であった。その後、No.3の抗体価はやや低下したが、16週後及び23週後においても初回投与前の1.7倍程度であった。一方、No.4では、抗体価は16週後及び23週後においてほぼ初回投与前値まで低下した。他の3例（No.1、9及び10）は、試験期間を通して抗体の産生はみられなかった。以上から、申請者は、抗体の産生と当該パラメータの低下あるいは減少が時期的に一致していると考えられるのは、該当する5例のうちNo.3の1例のみであり、薬物動態パラメータの変化は必ずしも抗体の産生と一致しなかったと説明している。

②海外における第I相試験（TKT001試験、添付資料ト-2）

欧米人男性ファブリー病患者10例を対象に、遺伝子組換え法によって製造した α GAL 0.007、0.014、0.028、0.056及び0.110 mg/kg（各2例）を20分間で静脈内投与した米国第I相試験において、いずれの用量でも活性はほぼ投与終了時の20～24分で最大となった後、低下し、8時間後にはほぼ消失した。 C_{max} 及び $AUC_{0-\infty}$ は、投与酵素活性（U/kg）の増加に伴って直線的に増加した。また、本試験においては、投与前及び投与後44時間に実施した肝バイオプシーによって得られた検体中の α GAL活性を測定し、肝臓中の薬物動態が検討されている。肝臓に対する分布率は、投与量の増加に応じて減少する傾向がみられた。肝臓への分布率が44時間後においても25%を超える例が認められることから、申請者は、肝臓中の半減期は24時間以上であると考察している。また、投与後の α GAL活性の濃度は、0.056mg/kgと0.110mg/kgでほぼ同様であり、申請者は、肝臓への取り込みは飽和していると考察している。さらに、抗ヒト α GAL抗体を用いた免疫組織学的染色により、肝臓への分布を検討したところ、投与後の標本でクッパー細胞及び洞様内皮細胞の染色がみられ、肝実質細胞では細胞膜近傍の細胞内小器官に染色が認められた。

③米国における継続投与試験（TKT006試験、添付資料ト-4）

米国第II相試験を終了した欧米人男性ファブリー病患者23例（プラセボ又は本薬0.2mg/kgを2週間に1回12回静脈内投与）を対象に、本薬0.2mg/kgを2週間に1回26回静脈内投与した継続投与試験において、継続投与試験初回投与時（プラセボからの切り替え群では1回目、継続投与群では13回目投与）及び51週投与時（切り替え群では26回目、継続投与群では38回目投与）の投与後24時間までの血漿中薬物濃度が測定されている。切り替え群の初回投与時における C_{max} 、 $AUC_{0-\infty}$ 、 $AUC_{0-\infty}$ 補正值及び $t_{1/2}$ の平均値はそれぞれ3,386 U/mL、241,104 U \cdot min/mL、0.40及び108 minであり、いずれのパラメータも被験者間の変動は少なかったが、51週の時点でのパラメータは被験者間で変動がみられた。10例のうち3例（No.1、14及び22）で初回投与時に比較して、 C_{max} 、 $AUC_{0-\infty}$ 及び $AUC_{0-\infty}$ 補正值の明らかな低下・減少がみられ、4例（No.11、13、17及び25）では不変であり、3例（No.3、7及び9）では増加がみられた。パラメータの値の低下・減少がみられた3例のうち2例は本試験52週時で抗体が陽性であり、不変及び増加の7例では陰性であったことから、申請者は、パラメータの値の低下・減少に抗体産生が関与していると考察している。継続投与群の初回投与では、13例のうち8例（No.2、10、16、18、19、21、23及び27）で、初回投与時の切り替え群に比較して明らかな C_{max} 、 $AUC_{0-\infty}$ 及び $AUC_{0-\infty}$ 補正值の低値が認められた。この8例は、第II相終了時でいずれも抗体が陽性であったが、残りの5

例中 4 例で陰性であり、申請者は、パラメータの値の低下・減少に抗体産生が関与していると考えしている。さらに 51 週の時点では、継続投与群の被験者の大部分でパラメータの変化がみられた。初回投与時に当該パラメータの明らかな低値を示した 8 例のうち 4 例 (No.2、18、21 及び 27) では上昇・増加が、また、2 例では低下・減少 (No.16 及び 19) がみられた。また、1 例 (No.10) では不変であった (No.23 は実施せず)。残りの 5 例では、上昇・増加したものが 2 例 (No.8 及び 12)、不変が 1 例 (No.6) 及び低下・減少が 1 例 (No.4) であった (No.15 は実施せず)。初回投与時に明らかな低値を示し、51 週時にパラメータ値の上昇・増加が認められた 4 例のうち 3 例は、第 II 相終了時ではいずれも抗体が陽性であったが、本試験 52 週時においては陰性となっており、申請者は、抗体陰性になったことによってパラメータ値の低下・減少が回復したものと考察している。

④英国における継続投与試験 (27 週までの途中結果) (TKT007 試験、添付資料ト-6)

英国第 II 相試験を終了した欧米人ファブリー病患者 15 例 (プラセボ又は本薬 0.2mg/kg を 2 週間に 1 回 12 回静脈内投与) を対象に、本薬 0.2mg/kg を 2 週間に 1 回静脈内投与を行っている継続投与試験において、継続投与試験初回投与時 (プラセボからの切り替え群では 1 回目、継続投与群では 13 回目投与) 及び 27 週投与時 (切り替え群では 14 回目、継続投与群では 26 回目投与) の投与後 24 時間までの血漿中薬物濃度が測定されている。切り替え群の初回投与時における C_{max} 、 $AUC_{0-\infty}$ 、 $AUC_{0-\infty}$ 補正值及び $t_{1/2}$ はそれぞれ 4,115 U/mL、276,775 U·min/mL、0.46 及び 117 min であったが、27 週の時点でのパラメータに被験者間で変動がみられた。初回投与に比較して 2 例 (No.2 及び 13) で C_{max} 、 $AUC_{0-\infty}$ 及び $AUC_{0-\infty}$ 補正值の著明な低下・減少がみられた。このうち No.2 は抗体検査が陽性であったが、No.13 は陰性であった。継続投与群の初回投与では、同時期の切り替え群に比較して 2 例 (No.6 及び 15) で C_{max} 、 $AUC_{0-\infty}$ 及び $AUC_{0-\infty}$ 補正值の明らかな低値を示した。この 2 例は、いずれも第 II 相終了時では抗体が陽性であるが、他の 5 例はいずれも陰性であることから、申請者は、抗体産生とパラメータの減少には関連があると考察している。本試験 27 週時には、継続投与群の 5 例について測定が実施され、第 II 相終了時の抗体陽性及び陰性の判定は 27 週時においても変化はなかったが、初回投与時に薬物動態パラメータの低値を示した 2 例のうち 1 例 (No.15) では、上昇・増加する傾向が認められた。

⑤ドイツにおける女性患者を対象とした試験 (TKT014 試験、添付資料ト-7)

欧米人 (ドイツ) 女性ファブリー病患者 15 例を対象に、本薬 0.2mg/kg を 2 週間に 1 回、40 分間で静脈内投与したとき、初回投与時における C_{max} 、 $AUC_{0-\infty}$ 、 $AUC_{0-\infty}$ 補正值及び $t_{1/2}$ の平均値はそれぞれ 5,014 U/mL、336,736 U·min/mL、0.51 及び 89 min であった。

⑥本邦における成績と海外における成績の比較 (添付資料ト-1、4、6、7)

国内第 II 相試験と海外 3 試験 (米国継続試験、英国継続試験及びドイツ女性対象試験) における初回投与時の血漿中薬物動態パラメータを比較したとき、 C_{max} 及び $AUC_{0-\infty}$ は、国内第 II 相試験及びドイツ女性対象試験で米国継続試験及び英国継続試験と比較して高い傾向が認められたが、申請者は、 $AUC_{0-\infty}$ 補正值の値には大きな差は認められなかったことから日本人と欧米人では本薬の薬物動態に大きな差はないと判断している。また、 $t_{1/2}$ の平均値は国内第 II 相試験が最も小さい値に算出されたが、申請者は、この違いは本邦と海外において血漿中 α GAL 活性の測定下限値

が異なることにより生じたものであると考察している。

⑦異なる施設で製造された製剤の比較（追へ-2）

健康成人男性 40 例を対象に C*製剤及び D*製剤について 2×2 クロスオーバー試験を実施した結果、 AUC_{last} 補正值及び C_{max} /投与活性（以下、 C_{max} 補正值）の比（D*製剤/C*製剤）の幾何平均は 0.90（90%信頼区間：[0.88, 0.93]）及び 1.01（90%信頼区間：[0.99, 1.04]）であり、90%信頼区間は生物学的同等性試験の基準を満たした。

2) 機構における審査の概略

機構は主として以下の点について審査を行った。

(1) 本薬の体内動態の性差について

機構は、雌雄ラットに本薬を単回静脈内投与した際に、 C_{max} 及び $AUC_{0-tlast}$ に性差が認められたことについて申請者に考察を求めた。

申請者は以下のように回答した。13 週間反復静脈内投与した際の薬物動態パラメータも含めて、 $AUC_{0-tlast}$ について同一投与量及び同一測定週毎に雌雄ラットで比較したとき、雄/雌の比は 0.68～1.6 倍の範囲であり、若干のばらつきは認められたものの、一定の傾向はなく、本質的な雌雄差がある可能性は低いと考えられる。一方、 C_{max} について同一投与量及び同一測定週毎に雌雄ラットで比較すると、雄/雌の比は 0.22～2.6 倍の範囲であり、ばらつきも大きく、投与量及び測定週により大きな差が認められる場合があったが、性差に関する一定の傾向は認められなかった。 C_{max} は投与後 5 分及び 10 分の血清中 α GAL 活性値から投与直後の値として外挿して算出しており、実測値の個体差が増幅されることから、個体差及び計算上の要因によるところが大きく、本質的な性差が存在する可能性は小さいと考えられる。

機構は本回答を妥当と判断した。

(2) 本薬との薬物相互作用について

機構は、 α GAL 活性阻害作用を有する薬物と本薬との相互作用について申請者に説明を求めた。これに対し申請者は以下のように回答した。

EU の添付文書の「使用上の注意・薬物相互作用」には、「クロロキン、アミオダロン、ベノキン、ゲンタマイシンは細胞内 α GAL 活性を阻害するので併用してはならない。」と記載されている。該当する 4 薬剤のうち、 α GAL 活性を阻害すると報告されているのはクロロキンのみであり（*Experimental Cell Research*, 1981;136: 327-333）、アミオダロンとベノキンはファブリー病でみられる眼科的所見と同様の症状が現れること（*Arch. Ophthalmol.*,1981;99: 257-261, *Int. Ophthalmol.*,1981;4 (1-2): 67-76, *Annals of Ophthalmology*,1984;16 (8): 762-766, *Can. J. Ophthalmol.*, 1982; 17(3): 96-99, *Arch. Ophthalmol.*, 1983;101(1): 64-68）、ゲンタマイシンは尿中に α GAL が排泄されることが報告されている（*Schweiz Med. Wochenschr.* 108(40): 1541-1545; 1978）。しかし、EU 当局より、クロロキン以外の薬剤についても α GAL 活性を阻害する可能性を排除できないとして 4 薬剤の記載を勧告された。一方、アミオダロンに関しては α GAL 活性を阻害しないことが報告されており（*JAMA* 249(16): 2177-2178; 1983）、また、この他本邦において医薬品として承認され現在使用されている薬剤で α GAL 活性を阻害すると報告

されている薬剤は見出せなかった。したがって本邦の添付文書には α GAL 活性を阻害する薬剤に関する記載は不要としたが、添付文書への記載の必要性を判断するため α GAL 活性を阻害し、臨床的に影響する薬剤に関しては今後も調査を継続する。

機構は、海外における相互作用に関する注意喚起等を参考に、本邦の添付文書（案）を見直す必要があると考える。

(3) 人種間における薬物動態の比較について

機構は、 $AUC_{0-\infty}$ を投与活性で割った値（ $AUC_{0-\infty}$ 補正值）を比較に用いる理由及び日本人と欧米人の薬物動態の差について申請者に説明を求めた。

申請者は以下のように回答した。本薬は酵素製剤であり、製剤ロットごとに α GAL の 1mg あたりの酵素活性が異なるため、海外データとの比較にあたり投与活性による $AUC_{0-\infty}$ を補正した値を用いることが適切と考えられる。また、日本人と欧米人の初回投与時における薬物動態パラメータの差については、国内及び海外で実施された臨床試験における本薬の酵素活性が試験毎に異なるため、 $AUC_{0-\infty}$ 補正值及び C_{max} 補正值を求め、各試験の成績について比較したとき、国内第Ⅱ相試験、英国継続投与試験及びドイツ女性試験における両パラメータはほぼ同様であったことから、日本人と欧米人の間に大きな差はないと考えられた（機構注釈：英国継続投与試験における薬物動態パラメータは、国内第Ⅱ相試験及びドイツ女性試験の成績よりも低い傾向がみられる）。一方、米国継続試験では他の試験に比較して低下する傾向を示したが、原因の一つとして少数例のために個体差による偏りが考えられたが、明確な原因は分からなかった。

国内第Ⅱ相試験、米国継続投与試験及び英国継続投与試験における反復投与時の薬物動態パラメータの変動の程度差について、 C_{max} 補正值変動（初回投与－複数回投与）及び $AUC_{0-\infty}$ 補正值変動（初回投与－複数回投与）により検討したとき、国内第Ⅱ相試験及び英国継続試験における $AUC_{0-\infty}$ 補正值及び C_{max} 補正值の変動はほぼ同様であった。米国継続試験では他の試験に比較して低い値の範囲に分布したが、当該試験では他の 2 試験の約 2 倍の投与回数後の測定であったことが偏りの原因の一つである可能性はあると考えるが、原因は不明である。また、抗体の産生により $AUC_{0-\infty}$ 及び C_{max} が影響を受けて減少する傾向があることから、被験者ごとに IgG 抗体価と $AUC_{0-\infty}$ 補正值または C_{max} 補正值について検討を行ったが、全体として一定の関係はみられなかったため、抗体価の違いによる分布の偏りを説明することは出来なかった。しかしながら、ほぼ同一の投与回数で検討された国内第Ⅱ相試験及び英国継続試験における $AUC_{0-\infty}$ 補正值及び C_{max} 補正值の分布はほぼ同様であったことから日本人と欧米人の間に大きな差はないと考える。

機構は、各試験における初回投与時の C_{max} 、 $AUC_{0-\infty}$ 及び $AUC_{0-\infty}$ 補正值の値は大きな差はないとされているが、国内第Ⅱ相試験及びドイツ女性対象試験におけるパラメータ値が米国継続投与試験及び英国継続投与試験よりも高めとなる傾向がみられることから、この差について体格に関連する背景因子等を踏まえた説明を申請者に求めた。

申請者は以下のように回答した。体格に関連する背景因子である体重及び体表面積と当該の各試験の初回投与時における C_{max} 、 $AUC_{0-\infty}$ 及び $AUC_{0-\infty}$ 補正值の関係について検討したとき、体重の平均値が高い試験、または体表面積の平均値が高い試験ほど薬物動態パラメータ値の平均値が低い傾向がみられた。しかし、薬物動態パラメータ値と体重、または薬物動態パラメータ値と体表面積の間に一定の関係がみられなかった。したがって、体重の違い、体表面積の違いにより、国内第Ⅱ相試験及びドイツ女性対象試験におけるパラメータ値が米国継続投与試験及び英国継続

投与試験よりも高めとなる傾向を説明することは困難であると述べた。

機構は、各試験における症例数が少なかったことから、人種間における薬物動態パラメータ値の差についての説明が出来なかったものと考ええる。

ト．臨床試験の試験成績に関する資料

1) 提出された臨床試験成績の概要

本邦における第Ⅱ相試験 (D3101002、ト-1)・継続投与試験 (D3101003、追ト-1)、米国における第Ⅰ相臨床試験 (TKT001、ト-2)・第Ⅱ相臨床試験 (TKT003、ト-3)・継続投与試験 (TKT006、ト-4)、英国における第Ⅱ相臨床試験 (TKT005、ト-5)・継続投与試験 (TKT007、ト-6 及び追ト-2)、ドイツにおける女性患者を対象とした臨床試験 (TKT014、ト-7) の 8 試験が評価資料として提出された。

(1) 本邦における第Ⅱ相試験 (D3101002) 添付資料ト-1

本薬の有効性と安全性を検討する目的で、18 歳以上の日本人男性ファブリー病患者 12 例を対象としたオープン (非盲検非対照) 試験が 20 年 月 から 20 年 月 まで実施された (薬物動態についてはへ項を参照)。

本試験における用法・用量は、米国及び英国における第Ⅱ相臨床試験 (TKT003、TKT005) と同様に、本薬 0.2mg/kg を、2 週間に 1 回の頻度で 12 回 (22 週間) 静脈内投与 (投与時間も海外と同様に 40 分間) とされた。

本試験に登録された 12 例全例に治験薬が投与されたが、そのうち 1 例 (No.11) について、4 回目投与中に投与時反応が発現し、治験責任医師の判断で試験が中止された。この被験者は 4 回目投与を完了しなかったことから、治験実施計画書の規定 (有効性解析対象は治験薬を 4 回以上投与された症例) に従い有効性解析対象から除外され、11 例が有効性解析対象とされた。安全性については治験薬が投与された 12 例全例が解析対象とされた。

被験者は全 12 例男性であり、年齢は 28.5 ± 7.9 (歳) (平均値 \pm SD)、 α GAL 活性 (健常人の基準値下限に対する%) は、 $4.8 \pm 2.6\%$ であった。活性絶対値については、1 例は血漿中活性で 0.20 nmol/hr/mL (基準値 $10.0 \sim 30.0$)、残り 11 例は白血球中活性で、内 7 例が外部検査機関で測定され $0.90 \sim 3.30$ nmol/hr/mg protein (基準値 $49.8 \sim 116.4$) であり、4 例は 3 つの医療機関にて測定され $0.16 \sim 3.20$ nmol/hr/mg protein (基準値 $19.7 \sim 38.0$, $21.2 \sim 53.1$, $30.8 \sim 39.6$) であった。また、本疾患に伴う疼痛の鎮痛剤である抗てんかん薬は 1 例を除いて全例が服用していた。

有効性については、血漿中 CTH 濃度・尿沈渣中 CTH 量・抗てんかん薬等非服用下での疼痛が主要評価項目とされた。血漿中 CTH 濃度については、投与前値から 23 週間にかけて有効性解析対象の全 11 例で低下し、平均値についても統計学的に有意な低下が認められた ($13.9 \pm 5.7 \rightarrow 6.8 \pm 2.2$ (nmol/mL) (平均値 \pm SD、以下同)、 $p=0.001$; Wilcoxon の符号付順位和検定、以下同)。また、尿沈渣中 CTH 量については、11 例中 10 例で減少し、平均値についても有意な減少が認められた ($3217.2 \pm 1804.9 \rightarrow 1714.3 \pm 1525.4$ (nmol/g クレアチニン)、 $p=0.002$)。次に、鎮痛目的の抗てんかん薬等非服用下における BPI [簡易疼痛調査用紙(縮小版)] 項目 3 (最強の痛み、0 から 10 の 11 段階) については、統計学的な有意差は認められなかったが、11 例中 7 例で改善した ($6.6 \pm 2.2 \rightarrow 5.5 \pm 2.3$ (ユニット)、 $p=0.25$)。

副次評価項目について、疼痛重症度は、11 例中 9 例でスコアが低下し 22 または 23 (22/23)

週後の投与前値からの変化量は -1.4 ± 1.9 と、統計学的に有意な改善が認められた ($p=0.031$; Wilcoxon の符号付順位和検定、以下同)。また、疼痛による生活妨害度は 11 例中 8 例で低下し、22/23 週後の投与前値からの変化量は -2.2 ± 2.5 と、有意な改善が認められた ($p=0.024$)。

心 MRI で測定した左室心筋重量は、心 MRI 解析対象 6 例中 5 例で維持あるいは減少したが、有意差は認められなかった (211.97 ± 101.59 (投与前値) $\rightarrow 203.59 \pm 116.00$ g (23 週後)、 $p=0.438$)。また、クレアチニンクリアランスは、投与前後で変化が認められなかった (11 例、 102.15 ± 22.57 (投与前値) $\rightarrow 102.52 \pm 33.00$ mL/min (23 週後)、 $p=0.831$)。腎組織病理検査では、3 例 (4 例が対象とされたが、1 例は糸球体数が規定に達せず除外) 中 2 例で正常糸球体の割合が増加あるいは維持された。また、腎組織中 CTH 量は 4 例で 491.42 ± 297.14 (投与前値) $\rightarrow 339.42 \pm 149.60$ nmol/mg protein (23 週後) と変化した。

抗 α GAL IgG 抗体は 2 例が 8 週後に陽性となったが、その後抗体価は低下し陰性化した。抗体が陽性となった 2 例のうち 1 例で投与時反応が発現したが、他の 1 例では投与時反応は発現せず、投与時反応との関連は不明であった。また、血清中抗 α GAL IgE 抗体は全例陰性であった。

安全性については、治験薬が投与された 12 例全例に有害事象が認められた。そのうち因果関係の否定できない有害事象 (副作用) は、12 例中 9 例 (75.0%) に 26 種類が認められた。主なものは、発熱、倦怠 (感)、四肢疼痛、悪寒、呼吸困難及びクレアチンフォスフォキナーゼ上昇であった。重篤な有害事象として 12 例中 1 例 (No.11) に、投与中のアレルギー反応 (呼吸困難、膨疹及びそう痒 (症)) が認められ、投与中止後ステロイド剤の処置により消失したが、経過観察のため入院した。治験は中止され、因果関係は「関連あり」と判定された。上記のアレルギー反応発現例以外に、膨疹、そう痒 (症) などの投与時反応が 2 例で発現したが、抗ヒスタミン剤の前処置により投与継続可能であった。

臨床検査値は、実施医療機関における基準値からの逸脱が散見されたが、異常変動ありと判定されたものは、好酸球増多 1 例、血清 GOT 上昇 1 例、 γ -GTP 上昇 1 例、LDH 上昇 1 例、尿たんぱくの増加 2 例及びクレアチンフォスフォキナーゼ上昇 2 例であった。クレアチンフォスフォキナーゼの上昇については、1 例は過度な運動による可能性、他の 1 例は筋肉由来であることが示唆された。なお、 γ -GTP 上昇 1 例及び尿たんぱくの増加 2 例については、治験薬との因果関係はないと判断された。

(2) 本邦における継続投与試験 (D3101003) 添付資料追ト-1

本邦における第 II 相臨床試験 (D3101002) を終了した被験者を対象として、長期投与における安全性と有効性を検討することを目的に、第 II 相試験と同一の投与方法で 26 回投与 (約 1 年間) の継続投与試験が実施された。なお、さらに本試験を終了した被験者を対象として、本試験と同一の投与方法で 52 回投与 (約 2 年間) の再継続投与試験を実施中である。

本継続試験においては、第 II 相臨床試験における投与及び 23 週後の検査を完了した 11 例のうち、本治験では治験参加に同意した 9 例に治験薬が投与された。このうち、1 例 (No.6) は被験者の都合により治験の継続が困難となり、治験薬の 4 回目投与後に中止した。この被験者は、治験実施計画書の規定 (有効性解析対象は本治験において治験薬を 6 回以上投与された症例) に従い有効性解析対象から除外し、残り 8 例が有効性解析対象とされた。安全性解析対象例は治験薬が投与された 9 例全例とされた。また、第 II 相臨床試験で実施された被験者で、本治験で同意が得られた場合に行う心 MRI は 5 例で実施された。

有効性について、血漿中 CTH 濃度は、第 II 相試験終了時 7.4 ± 2.3 (nmol/mL) (n=8、平均値 \pm SD、以下同)、継続 51 週後における変化量は、 -0.1 ± 0.8 (nmol/mL) であり、尿沈渣中 CTH 量は、第 II 相試験終了時 2175.8 ± 1553.8 (nmol/g クレアチニン)、継続 51 週後における変化量は -571.2 ± 1089.4 (nmol/g クレアチニン) であった。抗てんかん薬等非服用下における BPI による疼痛の生活妨害度の平均値は第 II 相試験終了時 3.04 ± 1.65 であり、継続 51 週後の第 II 相試験終了時からの変化量は -0.34 ± 1.78 であった。心 MRI における左室心筋重量の平均値は第 II 相試験終了時 223.79 ± 117.30 g (n=5) であり、継続 51 週後の第 II 相試験終了時からの変化量は 38.68 ± 113.54 g であった。クレアチニークリアランスの平均値は第 II 相試験終了時 96.75 ± 35.07 mL/min (n=8) であり、継続 51 週後の第 II 相試験終了時からの変化量は 2.34 ± 15.84 mL/min であった。

安全性については、治験薬が投与された 9 例全例に有害事象が認められた。そのうち因果関係の否定できない有害事象（副作用）は 9 例中 6 例（66.7%）に 11 種類が認められ、発熱、熱感、悪寒、倦怠（感）が各 2 例に、血中クレアチニン上昇、胸部圧迫感、微熱、下腿浮腫、口渇、耳鳴、顔面皮疹が各 1 例に認められた。副作用の重症度は 1 種類（血中クレアチニン上昇）が中等度で、その他は軽度であった。これらのうち、第 II 相臨床試験ではみられず、本試験で認められた副作用は、血中クレアチニン上昇、微熱、耳鳴及び顔面皮疹であり、各 1 例の発現であった。

投与時反応は、3 例に認められた。1 例目では、第 II 相臨床試験において投与時反応が発現したが（7、8、10、11 回目に一時的な軽度の胸部圧迫感または呼吸困難の発現）、抗ヒスタミン剤の前処置を実施した 12 回目投与では投与時反応が発現しなかったため、本試験においても継続して同前処置を実施していたが、7 回目及び 8 回目投与時に胸部圧迫感が発現した。9 回目投与以降抗ヒスタミン剤と副腎皮質ホルモンの前処置を実施したところ、10 回目投与時以降は発現しなかった。2 例目では、本治験の初回投与時に悪寒、発熱が発現し抗ヒスタミン剤と副腎皮質ホルモンの前処置に強力ネオミノファーゲンシーを追加し、投与時間を 60 分として試験を継続したが、5、13、18 回目投与時にも悪寒、発熱が発現した。しかし、いずれも軽度であり、他の投与時には認められず、試験を完了した。3 例目では、2 回目及び 4 回目投与時に悪寒、発熱が発現した。最終的に抗ヒスタミン剤と副腎皮質ホルモンの前処置に加え、投与方法を一旦中断後再投与する方法に変更した後投与時反応は発現しなかった。なお、投与時反応が発現した 3 例の血清中抗 α GALIgE 抗体はいずれも陰性で、IgG 抗体は 3 例中 2 例が陽性であった。

継続投与 12 週後、26 週後、38 週後及び 51 週後の血清サンプルを用いて測定した血清中抗 α GALIgG 抗体は、2 例が陽性となった。1 例は、第 II 相臨床試験の投与 8 週後に陽性となり、終了時には陰性となったが、本試験の 12 週後に再度陽性となった。他の 1 例は、第 II 相臨床試験の 8 週後に陽性となったが、終了時には陰性であった。本試験の 12 週後で再度陽性となったが、26 週後以降はいずれも陰性であった。この 2 例では、いずれも投与時反応が発現した。

臨床検査値の基準値からの逸脱のうち、異常変動ありと判定されたものは、好酸球上昇 1 例、クレアチニン上昇 1 例、アルブミン低下 1 例、尿たんぱく異常 1 例であった。好酸球上昇は偶発的感冒によるもの、アルブミン低下及び尿たんぱく異常は原疾患によるもので、いずれも因果関係は否定された。クレアチニン上昇については、経時的に上昇し、因果関係は不明と判断された。

(3) 米国における第 I 相臨床試験 (TKT001) 添付資料ト-2

18 歳以上の欧米人男性ファブリー病患者 10 例を対象に、遺伝子組換え法によって製造した α

GALの5用量(各2例、0.007、0.014、0.028、0.056及び0.110 mg/kg)の単回静脈内投与試験が実施された(薬物動態についてはへ項を参照)。

薬力学的効果については、投与前及び投与後44時間の肝生検検体において肝臓中CTHが 7.86 ± 6.85 から 5.46 ± 4.36 (nmol/mgたんぱく)(平均値 \pm SD、以下同)に減少した($p < 0.05$; Wilcoxonの符号付き順位和検定、以下同)。投与前及び投与28日後における24時間尿の沈渣中CTH量は 1555 ± 590 から 964 ± 475 (nmol/gクレアチニン)に減少した($p < 0.01$)。また、血漿中CTH濃度は、投与前後で変化は認められなかった。

安全性について、総数18件の有害事象が9例の被験者で認められたが、発現頻度と投与量には関係はみられなかった。発現頻度が高かったものとしては、注射部反応(肝生検に伴う穿刺部位の反応)(3例)、疼痛(2例)、頭痛(2例)及び発熱(2例)があった。腎結石(1例)及び咽頭炎・肺うっ血(1例)を除き、すべての有害事象は試験終了までに消失した。

重篤な有害事象に関しては、発熱が1件認められた。本被験者は、投与28日後に歯科医により治療を受けた後、発熱して1晩入院した。発現時にアモキシリンを予防的に服用していたことから、これによる過敏反応と考えられ、治験薬との関連性は「関連なし」と判断された。投与28日後までの検査において、いずれの被験者においても抗 α GAL抗体は検出されなかった。また、本試験中に死亡した症例は認められなかった。

(4) 米国における第II相臨床試験(TKT003)添付資料ト-3

18歳以上の男性ファブリー病患者26例(本薬投与群14例、プラセボ投与群12例)を対象とした、無作為化プラセボ対照二重盲検試験が19■■年■■月から19■■年■■月まで実施された。

本試験の用法・用量は本薬を0.2mg/kgあるいはプラセボを2週間に1回の頻度で12回(22週間)静脈内投与とされた。なお、投与時間は当初20分間であったが、投与時反応が発現したため、途中から40分間に変更された。

プラセボ群の一例(No.20)が21週時の投与後に同意を撤回した以外、他の症例は全例本試験を完了した。本試験においては、すべての症例を有効性及び安全性の解析対象とした。年齢は本薬群、プラセボ群それぞれ 34.0 ± 2.2 、 34.4 ± 2.2 (歳)(平均値 \pm SE、以下同)であった。血漿中CTH濃度(nmol/mL)は本薬群 12.14 ± 0.907 、プラセボ群 10.96 ± 1.087 であった。 α GAL活性は血漿中、白血球中とも収集されていない。ファブリー病の神経疼痛の鎮痛目的での抗てんかん薬等の服用は、プラセボ群ではすべての被験者が服用しているのに対し、本薬群では4例(29%)の被験者が服用していなかった。最強の痛みについては、抗てんかん薬服用下、非服用下のいずれにおいても、本薬群に比べプラセボ群で高いスコアであった(服用下本薬群 4.2 ± 0.54 、プラセボ群 6.3 ± 0.74)。同様に、生活妨害度及び疼痛重症度についても、本薬群に比べプラセボ群で高かった。

有効性について、主要評価項目である抗てんかん薬非服用下でのBPI項目3(最強の痛み)のスコアの低下は、本薬群 6.2 ± 0.46 (投与前)(平均値 \pm SE、以下同) $\rightarrow 4.3 \pm 0.73$ (23/24週後)、プラセボ群 $7.3 \pm 0.63 \rightarrow 6.8 \pm 0.64$ であり、スコアの変化のAUCは、本薬群 22.4 ± 9.37 、プラセボ群 1.0 ± 13.49 と統計学的な有意差は認められなかった($p = 0.195$; 2標本t検定)。

二次評価項目である抗てんかん薬非服用下でのBPIによる疼痛重症度[BPIにおける項目3~6(最強の痛み、最弱の痛み、平均の痛み、現在の痛み)の平均値]について、23/24週後の投与前値からの変化については、本薬群 -1.1 ± 0.32 、プラセボ群 -0.7 ± 0.60 であった($p = 0.015$; 反復

測定分散分析、 $p=0.402$ ；投与前値を共変量とした共分散分析（事後解析）。また、抗てんかん薬非服用下での BPI による疼痛の生活妨害度 [項目 9A~G（生活全般、気分、歩行機能、通常の歩行、他人との関係、睡眠、生活での喜びのそれぞれが痛みによりどれだけ妨げられたか）の平均値] の 23/24 週後の投与前値からの変化は、本薬群 -1.1 ± 0.49 、プラセボ群 -0.6 ± 0.55 とプラセボ群に比べ経時的なスコアの低下が大きかった ($p=0.051$ ；反復測定分散分析、 $p=0.215$ ；投与前値を共変量とした共分散分析（事後解析）)。抗てんかん薬等の服用を中止することができた期間は、本薬群では治験期間のほぼ半分の期間に相当する 93.5 日であるのに対し、プラセボ群では 25.4 日であり、有意差が認められた ($p=0.013$ 、2 標本 t 検定)。

プラセボ群においては $19.7\text{mL}/\text{min}$ のクレアチニンクリアランスの低下が認められた（投与前 $107.3\pm 12.22\text{ mL}/\text{min}$ 、24 週後の変化 -19.7 ± 9.09 ）が、本薬群ではほとんど変化がなかった（投与前 $103.1\pm 7.64\text{ mL}/\text{min}$ 、24 週後の変化 -0.1 ± 5.87 ）。

腎組織病理検査にて正常糸球体の割合は、本薬群で 8.2%の増加があったのに対し、プラセボ群では 15.9%減少しており、群間に有意差が認められた ($p=0.012$ ；投与前値を共変量とした共分散分析、以下同)。メサンギウム肥厚糸球体の割合は、本薬群で 12.5%の減少、プラセボ群で 16.5%の増加となり、群間に有意差が認められた ($p=0.010$)。

尿沈渣中 CTH は 24 週後においては、プラセボ群が 228.8 (nmol/g クレアチニン) 増加したのに対し、本薬群では 749.3 (nmol/g クレアチニン) 減少した。腎生検サンプルによる腎組織中 CTH 量の変化において、群間に差は認められなかった。各評価時期における血漿中 CTH 濃度は、プラセボ群では変化が少ないのに対し、本薬群では $5.8\sim 6.6\text{nmol}/\text{mL}$ の低下が認められた（本薬群投与前 $12.141\pm 0.907\text{ nmol}/\text{mL}$ 、24 週後の変化 -6.953 ± 0.779 、プラセボ群それぞれ 10.962 ± 1.087 、 -0.576 ± 0.659 ）。反復測定分散分析の結果、投与群と時間の交互作用が有意であったため ($p<0.001$)、評価時期ごとに比較を行った。その結果、血漿中 CTH 濃度の変化量はいずれの評価時期においても有意差が認められた ($p<0.005$ ；一元配置分散分析)。心 MRI 法においては、左室心筋重量の変化に有意差は認められなかった（本薬群 $226.1\pm 17.41\rightarrow 23$ 週後 $229.6\pm 16.97\text{g}$ 、プラセボ群 $211.8\pm 12.5\rightarrow 215.9\pm 11.20$ 、 $p=0.930$ ；投与前値を共変量とした共分散分析）。

安全性について、死亡例あるいは有害事象の発現により試験を中止した例はなかった。

本薬投与群で発現した治験薬との関連性が否定できない有害事象のうち、最も発現例数が多かったのは、アレルギー反応（6 例）であり、続いて悪寒（5 例）、さらに発熱、めまい、紅斑性発疹、潮紅（いずれも 3 例）の順であった。本薬投与群における重篤な有害事象は 7 件であった。これらのうち本薬と関連性あり、あるいは否定できないと判断されたものは、投与時反応（アレルギー反応）2 件及び投与後の発熱 1 件の計 3 件であり、いずれも入院あるいは入院の延長が必要であった。

本薬投与群 14 例中 8 例において 4 回目以降の投与時あるいは投与終了直後に、悪寒、顔面潮紅、末梢性浮腫などの投与時反応が発現した。これらの症状は、バイタルサインの変化を伴わず、投与の中断あるいは副腎皮質ホルモン及び抗ヒスタミン剤の投与で症状は消失した。投与時反応の発現により実施計画書が改訂されて、治験薬の投与時間が 20 分から 40 分に延長され、この反応が起こった被験者に対しては、予防措置として、投与に際し副腎皮質ホルモン及び抗ヒスタミン剤を前処置することとした。これにより、6 例では発現が抑えられた。残る 2 例 (No.16 及び 18) では、前処置を行っても再発を防止できなかったが、本薬の投与を 1~5 分間投与後一

且中断し、約 5 分後に再開する投与方法で再発なく投与を終了することが可能であった。これにより、それ以降の投与は問題なく完了することができた。

本薬投与群の 14 例中 9 例で免疫沈降法において抗 α GAL 抗体が陽性となった。なお、ELISA 法により IgE 抗体が陽性となった例はみられなかった。抗体産生と投与時反応の発現には明確な関係は認められなかった。臨床検査値の異常変動は全例でみられたが、本薬との関連が否定できない異常変動はなかった。

(5) 継続投与試験 (TKT006) 添付資料ト-4

本薬の長期投与における安全性及び有効性の検討を目的として、第 II 相臨床試験 (TKT003) を終了した本薬投与群の被験者 14 例 (継続投与群) 及びプラセボ投与群の被験者 12 例中 11 例 (切り替え群) (計 25 例) に対し、本薬を第 II 相臨床試験と同様の投与方法 (投与時間は 40 分間) で 26 回 (50 週間) 投与する継続投与試験を実施した。

有効性について、主要評価項目は、左室心筋重量、糸球体ろ過率 (GFR) 及び疼痛とされた。心 MRI により測定した左室心筋重量は、終了時において第 II 相臨床試験終了時に比較して有意に減少し、心肥大の改善効果がみられた (52 週後の第 II 相試験終了時からの変化、継続投与群 -21.7 ± 4.70 、切り替え群 -27.7 ± 10.06 、それぞれ $p < 0.001$ 、 $p = 0.023$; 対応のある t 検定)。また、第 II 相臨床試験の 24 週間の本薬投与時期に GFR の有意な低下がみられたが、さらに 52 週間までの 1 年間の本薬の投与では、GFR は 1.9 mL/min の上昇であり安定していた (継続投与群 (平均値 \pm SE); 投与前 81.0 ± 6.39 (mL/min)、第 II 相終了時 72.2 ± 4.31 、52 週後 74.1 ± 6.80 、切り替え群; 投与前 98.0 ± 10.80 、第 II 相終了時 78.2 ± 7.65 、52 週後 95.4 ± 10.76)。疼痛-BPI 項目 3 (最強の痛み) については第 II 相臨床試験において 1.9 ユニットの有意な疼痛軽減が認められたが、継続投与群において継続投与試験に入っても引き続き疼痛の軽減効果が持続し、計 18 ヶ月間の投与を行った 52 週後では有意ではなかったが、投与前に比べ 1.2 ユニットの疼痛スコアの低下がみられた。一方、切り替え群では、本薬を投与されて以降、27 週後から有意な改善が認められ、計 1 年間の投与を行った 52 週後では、第 II 相臨床試験終了時に比較して平均で 2.5 ユニットの有意な低下が認められた。

安全性について、本試験中に死亡した症例はなかった。

継続投与試験で新たに発現した重篤な有害事象は、8 例 (11 件) であったが、いずれも治験薬との関連性はないと判断された。新たに発現した投与時反応は、切り替え群の 11 例中 2 例のみであった。治験薬との関連性が否定できない有害事象のうち、最も発現例数が多かったのは、多汗 (16 例) であり、続いて潮紅 (11 例)、運動過多 (10 例)、悪寒 (9 例)、発熱 (6 例)、背部痛 (5 例) 及び熱不耐性 (5 例) であり、他は 5 例未満の発現であった。有害事象により中止となった例はなく、全例が試験を完了した。

(6) 英国における第 II 相臨床試験 (TKT005) 添付資料ト-5

左室肥大を有する 18 歳以上の男性ファブリー病患者 15 例 (本薬投与群 7 例、プラセボ投与群 8 例) を対象とした、無作為化プラセボ対照二重盲検試験が 19 年 月 から 20 年 月 まで実施された。

本試験の用法・用量は、本薬を 0.2 mg/kg あるいはプラセボを 2 週間に 1 回の頻度で 12 回 (22 週間) 静脈内投与とされた。なお、投与時間は、米国における第 II 相臨床試験において投与時間

が 20 分間の場合に投与時反応が認められたため、40 分間とされた。

主要評価項目である心臓中 CTH 量（心生検検体）は、本薬投与群で減少した（投与前値 0.712 ± 0.179 、24 週後の変化量 -0.132 ± 0.164 、(nmol/ μ g protein) 平均値 \pm SE) のに対し、プラセボ群では増加（投与前値 0.581 ± 0.075 、24 週後の変化量 0.053 ± 0.084 、(nmol/ μ g protein)）が認められたが、両群に有意差は認められなかった（ $p=0.423$ ；投与前値を共変量とした共分散分析）。

心 MRI により測定した左室心筋重量の 24 週後の変化量は（平均値 \pm SE）、プラセボ投与群で増加したが（ 21.82 ± 5.90 g）、本薬投与群では減少し（ -11.48 ± 11.16 g）、両群間で有意差が認められた（ $p=0.041$ ；投与前値を共変量とした共分散分析）。

GFR の変化量（24 週後の投与前値からの変化量）は、本薬群 25.4 ± 6.39 mL/min、プラセボ群 14.3 ± 8.40 mL/min に有意差は認められなかった（ $p=0.344$ ；投与前値を共変量とした共分散分析）。また、血漿中 CTH 濃度の変化は群間に有意差が認められ、プラセボ群では血漿中 CTH レベルにほとんど変化がなかったが（ -0.55 ± 0.35 nmol/mL）、本薬群では 6 ヶ月間で 6.22 nmol/mL の低下が認められた（ $p<0.001$ ；投与前値を共変量とした共分散分析）。

安全性について、重篤な有害事象が本薬群の 1 例（No.9）で発現したが、治験薬との関連性はないと判断された。死亡例あるいは有害事象の発現により試験を中止した症例はなかった。

投与時反応は認められず、また、他の有害事象においても問題になるものはみられなかった。有害事象の重症度は、両群ともほとんどが軽度又は中等度であった。当初の投与時間が 20 分間であった米国第 II 相臨床試験と異なり、本試験では投与時間を 40 分間としたことにより投与時反応が抑制されたものと考えられた。抗体については、本薬投与群 7 例中 2 例で免疫沈降法において抗 α GAL 抗体が陽性であったが、ELISA 法により IgE 抗体が陽性となった例はみられなかった。

(7) 継続投与試験 (TKT007) 添付資料ト-6、追ト-2

本薬の長期投与における安全性及び有効性の検討を目的として、第 II 相臨床試験 (TKT005) を終了した本薬群の被験者 7 例（継続投与群）及びプラセボ群の被験者 8 例（切り替え群）の計 15 例に、本薬 0.2 mg/kg を 2 週間に 1 回、40 分間で静脈内投与する継続投与試験（54 回、106 週間）が実施された。

本試験において、107 週後までに 5 例が試験を中止したが、この内 3 例が被験者の都合、1 例が入院及び 1 例が死亡によるものであった。したがって、27 週後まで投与された 13 例が有効性解析対象、全 15 例が安全性解析対象とされた。

有効性について、主要評価項目である血漿中 CTH 濃度について、切り替え群では、第 II 相臨床試験終了時 12.78 ± 1.67 nmol/mL ($n=8$)（平均値 \pm SE）に比較して、継続投与試験 27 週後で第 II 相臨床試験終了時から -7.30 ± 1.10 nmol/mL の有意な変化（ $p<0.001$ ；対応のある t 検定）がみられ、その後、2 年間の投与終了時（107 週後 ($n=7$) -4.51 ± 1.48 nmol/mL）まで低下が持続した。また、継続投与群においては、第 II 相試験投与前値 12.59 ± 1.65 nmol/mL ($n=7$) と比して第 II 相臨床試験終了時に -6.22 ± 1.05 nmol/mL の有意な低下がみられ、継続投与試験の 27 週後においても有意な低下（ -7.52 ± 1.55 nmol/mL）が維持された（ $p=0.008$ ）。その後、継続投与試験 107 週後 -5.48 ± 2.73 nmol/mL ($n=3$) と低下が維持される傾向を認めた。

安全性について、死亡 1 例を含め、5 例の被験者に重篤な有害事象が発現したが、いずれも治

験薬との関連性はないと判断された。死亡例 (No. 5、37 歳) は、第 II 相臨床試験においてプラセボ投与例であり、開始時点で軽度の腎不全を有していた。継続投与試験移行後に末期腎不全と診断されて腹膜透析を開始した。後に腎臓移植を受け、移植自体は成功したが、手術直後急激に状態が悪化して同日に死亡した。治験責任医師より死亡は術後合併症によるものであり、治験薬との関連性はないと判断された。その他の 4 例は尿路感染、投薬過誤、フレグモーネ、睾丸痛などであった。

切り替え群の 8 例のうち 1 例において投与時反応が発現した。発現した 1 例 (No. 11) は、23 週後に胸痛、咳及び潮紅、25 週後に潮紅、胸痛、咽頭部緊張及び咳を発現したが、バイタルサインに変化はなかった。27 週後は、副腎皮質ホルモンと抗ヒスタミン薬の前処置によって投与時反応は抑制され、以降のすべての投与でも前処置により抑制された。

全 15 例のうち、治験薬との関連性が否定できない有害事象 (副作用) が発現したのは 3 例 (No. 9、No. 11 及び No. 15) であり、No. 9 及び No. 15 では多汗がみられ、No. 11 では悪寒、咽頭部緊張、温度感覚変化、咳、胸痛、潮紅、発熱及び疲労がみられた。

試験期間全体の抗体産生について調べるため、投与 13、27、41、55、81 及び 107 週後に採取した血清を用いて、ELISA 法 (IgA、IgM、IgE 及び IgG 抗体) 及び中和活性測定法の 2 種の検査法により抗 α GAL 抗体検査を実施した。14 例の被験者のうち 6 例 (No.2、No.4、No.10、No.11、No.12 及び No.15) が ELISA 法及び中和活性測定法の 2 種の検査法のいずれかで抗体産生が陽性となった。ELISA 法及び中和活性測定法のいずれも陽性であったのは 2 例 (No. 2 及び No. 15) であった。ELISA 法のみで陽性であったのは 1 例 (No. 11) であった。中和活性測定法のみで陽性であったのは 3 例 (No. 4、No. 10 及び No. 12) であった。

No. 4 は 41 週後のみが、また、No. 12 は 81 週後のみが陽性であった。ELISA 法で陽性となった被験者のいずれにおいても、IgG 抗体のみが陽性であり、IgE 抗体は検出されなかった。

臨床検査値の異常変動が認められた例があったが、いずれも本薬との関連性は否定され、多くが原疾患によるものと判断された。

(8) ドイツにおける女性患者を対象とした臨床試験 (TKT014) 添付資料ト-7

女性ファブリー病患者に対する本薬の反復投与した時の有効性及び安全性を検討することを目的として、18 歳以上の女性ファブリー病患者 15 例に対し、本薬 0.2mg/kg を 2 週間に 1 回、40 分間で静脈内投与した。試験期間中にドイツで承認され、各被験者は承認後投与を終了した (機構注：市販品の投与に移行したと考えられると申請者は回答しているが確認されていない) ことから、20 回以上本薬を投与された被験者は 8 例、14~18 回投与された被験者は 3 例、8~9 回投与された被験者は 4 例であった。

有効性について、尿沈渣中 CTH 量は (平均値 \pm SE)、投与前 399.6 ± 111.93 nmol/24hr (n=15) から 13 週後 246.1 ± 35.91 (n=15) へと減少傾向を示した (p=0.077; 対応のある t 検定、以下同)。血漿中 CTH 濃度は投与前 5.7 ± 0.91 から 13 週後 4.8 ± 0.55 nmol/mL へと減少した (p=0.029)。

安全性について、死亡 1 例を含め、3 例において重篤な有害事象が発現したが、いずれも本薬との関連性はなく、原疾患によるものであると判断された。

死亡例 (No.2、56 歳) は、ファブリー病に加え慢性閉塞性気道疾患 (以下、COPD)、COPD に伴う肺気腫、腎不全、喘息、眩暈、耳鳴、左耳難聴、頻拍性不整脈、大動脈弁狭窄 (症)、心筋症及び失神を伴う心房細動を合併していた。この被験者では、重篤な有害事象が 3 件 (心筋梗塞、

COPDの急性悪化及び脳塞栓症)発現したが、このうち43週後の投与7日後にみられた脳塞栓症により痙攣及び心停止を生じ死亡した。治験責任医師により、この死亡は治験薬との関連性はなく、ファブリー病の末期症状であると判断された。有害事象は15例中14例に認められたが、そのうち治験薬との関連性が否定できない有害事象(副作用)は6例に11種類が認められた。有害事象の重症度はほとんどが軽度又は中等度であり、重度の有害事象は2例で報告された。1例(No.2)では重度の有害事象が5件発現し、最終的に脳塞栓症により死亡した。他の1症例(No.11)においては難聴が認められ、転帰は軽快であった。

なお、本試験では投与時反応は認められなかった。本試験の投与前、13週後、27週後及び41週後の血清サンプルによる検討では、抗体産生はみられなかった。

2) 機構における審査の概要

(1) 外国での使用状況

本薬は、ドイツ、フランスなどのEU加盟国(CPMPによる承認)、ノルウェー、アイスランドなどの合計34カ国(平成16年8月現在)で承認されており、効能・効果は「ファブリー病(α -ガラクトシダーゼA欠乏)と確定診断された患者に対する長期酵素補充療法」、用法・用量は「アガルシダーゼアルファとして0.2mg/kgを2週間に1回、40分間で静脈内投与する」であり本申請と同様である。なおCPMPでは本薬と類薬のアガルシダーゼベータ(遺伝子組換え)と本薬は同時に審議され同時に承認(2001年8月3日)されている。

機構は本薬とアガルシダーゼベータ(遺伝子組換え)の欧州における使い分けについて申請者に尋ねた。

申請者は以下のように回答した。詳細な情報は得られていないものの、点滴時間の違い(本薬で40分間、アガルシダーゼベータ(遺伝子組換え)では体重60kgで4時間以上)、IgG抗体産生頻度の違い(本薬の国内臨床試験では2/12例、アガルシダーゼベータ(遺伝子組換え)では11/13例)から、本薬を希望する患者もあると考える。具体例としては、欧州で平成16年3月12日現在までに少なくとも8例の患者が副作用、患者の希望などにより、アガルシダーゼベータ(遺伝子組換え)から本薬に切り替えられている。

機構は、利便性等から本薬を希望する患者がいるかもしれないとの主張は理解するものの、欧州での本薬からアガルシダーゼベータ(遺伝子組換え)への逆の切り替え症例数、市場占有率などが明らかではなく、両薬の学会における評価も定まっていないことから、類薬との使い分けに関する情報は必ずしも十分ではないと考える。

また、米国における状況について、申請者は以下のように説明している。米国においては類薬のアガルシダーゼベータ(遺伝子組換え)が先に承認されており、同国のオフアンドラッグ法により、この7年間に同一の効能で、構造が類似していると考えられる薬物が承認を得るためには、既承認薬に対し「有効性が優り、安全性が同等以上である」、あるいは「有効性は同等であるが、安全性が優る」ことのいずれかを示すことを証明する必要があると規定されている。20██年██月██日にFDAからTKT社に本薬とアガルシダーゼベータ(遺伝子組換え)が有効性と安全性の観点から異なる薬剤であることを示すためには、本薬とアガルシダーゼベータ(遺伝子組換え)を直接比較する臨床試験の実施が必要であるとの見解が示された。TKT社は、FDAの回答を検討した結果、ファブリー病が希少疾病であること、及び米国ではアガルシダーゼベータ(遺伝子組換え)が承認され使用されていることから、比較試験に必要な症例数を確保することは困難と考え、申請を

取り下げた。

(2) 対象疾患について

本薬の対象疾患であるファブリー病については、同じ対象疾患に対する同様の効能・効果により平成 16 年 1 月に承認されたアガルシダーゼベータ（遺伝子組換え）の審査の過程で既に述べている（アガルシダーゼベータ（遺伝子組換え）の審査報告書（平成 15 年 11 月 13 日付け衛研発第 3739 号「ファブラザイム点滴静注用 5mg、同 35mg 審査報告書」）参照）。

アガルシダーゼベータ（遺伝子組換え）においては血漿 α GAL 活性 1.5 nmol/hr/mL 未満又は白血球 α GAL 活性 < 4nmol/時/mg の患者を対象にしており、実際には組み入れ患者の殆どで測定限度以下であった。これに対し本薬では組み入れ基準に活性は明記されておらず、結果的に組み入れられた患者は第 II 相試験（D3101002）では健常人の基準値下限に対して $4.8 \pm 2.6\%$ であったことが示された。両薬の試験では測定機関が異なり、一般に代理基質による酵素活性測定系では低活性付近での測定の精度に問題が生じることが多いため、両試験における対象患者を一概に比較することは困難と考える。しかしながら、本邦における第 II 相試験（D3101002）での α GAL 活性絶対値も上記のアガルシダーゼベータ（遺伝子組換え）の組み入れ基準範囲を逸脱しておらず、臨床的症状などで明らかなファブリー病の患者のみが組み入れられているため、同等の重症度を示し、酵素欠損の程度なども同様の患者群が組み入れられたと判断した。

(3) 海外試験成績と国内試験成績の比較可能性について

機構は、海外臨床試験成績を評価する上で、海外試験成績と国内試験成績の比較可能性について、申請者に見解を求めた。

申請者は以下のように回答した。ファブリー病は α GAL 活性の欠損あるいは低下により、全身の組織に CTH を主としたスフィンゴ糖脂質が蓄積することによって発症する。病因並びに病態は、本邦及び海外の患者で同様であり、欠損あるいは低下した α GAL を補充する目的で本薬を投与した場合、本邦でも海外と同様な治療効果が期待できるものと考えられる。なお、同じリソソーム病であるゴーシェ病の酵素補充療法剤では本邦と海外の患者で成績が同様であることが確認されており、このことから本薬の本邦における治療効果が期待されると考えられる。

本疾患は希少疾病のため患者数が極めて少ないことから、可能な限り海外臨床成績と比較ができるように、薬物動態を含めて米国第 II 相臨床試験とほぼ同様の方法で本邦第 II 相臨床試験を実施した。

機構は、本疾患が単一の酵素活性欠損により引き起こされる機序の比較的明らかな疾患であり、国内試験がプラセボ群を設定しておらず、プラセボに対する治療効果の大きさを国内外で比較することはできないものの、本薬による血漿中 CTH 濃度低下傾向などが国内外で同様に認められたこと、特定の酵素欠損が原因であり民族的要因が影響し難い病態であることなどから、国内の症例において海外の症例と同様の効果が認められることが推測され、申請者の回答を妥当なものとして判断した。

(4) 評価項目の妥当性について

希少疾病であるファブリー病を対象とする臨床試験の評価項目として何が最適であるのかはコンセンサスが得られていない。類薬のアガルシダーゼベータ では pivotal trial において腎生検組

織中の GL-3 (CTH) 減少が主要評価項目とされた。本申請では下記のように種々の項目が主要評価項目とされた(第 I 相試験 (TKT001) 及び一般臨床試験 (TKT014) は省略)。

- ト-1 尿沈渣中 CTH 量、血漿中 CTH 濃度、抗てんかん薬等非服用下での疼痛
- ト-3 抗てんかん薬等非服用下での疼痛
- ト-4 左室心筋重量 (心 MRI)、糸球体ろ過率 (GFR)、疼痛
- ト-5 心臓中 CTH 量
- ト-6 血漿中 CTH 濃度

機構は、この内 pivotal trial である米国第 II 相臨床試験 (TKT003) の疼痛、及び国内第 II 相臨床試験 (D3101002) の尿沈渣中 CTH 量 (米国第 II 相臨床試験 (TKT003) の副次評価項目でもある)、血漿中 CTH 濃度、疼痛が本申請の審査には重要と考えられ、これらの主要評価項目としての妥当性について尋ねた。

①疼痛について

申請者は以下のように回答した。抗てんかん薬等断薬時の疼痛 (BPI 項目 3) について、ファブリー病に起因する疼痛は、神経系に CTH が蓄積し、背側根神経節等が障害されることにより起こると考え、若年より発症し、極めて大きな苦痛をもたらして患者の QOL を低下させる。この疼痛には、通常の鎮痛剤は効果がなく、テグレトール等の抗てんかん薬等が使用されている。したがって、疼痛はファブリー病の主要症状の一つと位置付けられると考えられることから設定した。

機構は、疼痛の軽減は予後に直接関わるものではないが、QOL の改善に寄与するため臨床上意義の大きいエンドポイントとして妥当と考えられるため、機構はこの回答を了承した。

また、BPI (Brief pain inventory) の疼痛評価としての妥当性を尋ねたところ、申請者は以下のように回答した。BPI は、米国において英語版の評価が行われた後、少なくとも 7 ヶ国語に翻訳され、各国で使用されている。日本語版 BPI も、癌患者の疼痛の評価により評価が行われている (J. Pain Symptom Manage. 1998 ; 16:364-373)。本方法は、米国において 20 例の癌患者において同一被験者での繰り返し評価 (平均間隔 1.9 日) が実施され、再現性が高いことから信頼できるものであると考えられる (Pain.1983 ; 17:197-210)。また、リウマチ患者 91 例による繰り返し評価における再現性を検討した結果、BPI 項目 3 等の 11 段階評価の信頼性は、Visual Analogue Scale (VAS) と比較して同等以上であることが報告されている (J. Rheumatol.1990; 17:1022-1024.)。以上のことから、BPI によって疼痛の重症度を再現性よく評価することは可能であると考えられる。

機構はこの回答を了承した。

②尿沈渣中 CTH 量、血漿中 CTH 濃度について

尿沈渣中 CTH 量、血漿中 CTH 濃度について、申請者は以下のように回答した。ファブリー病は、先天的な α GAL 活性の欠損あるいは低下により、全身の組織に CTH を中心としたスフィンゴ糖脂質が蓄積することによって発症する。ファブリー病患者に α GAL を投与すると、肝臓組織中 CTH 量、心臓組織中及び腎臓組織中 CTH 量の減少とともに血漿中 CTH 濃度が低下することが報告されている (Am. J. Hum. Genet. 2001; 68: 711-722.)。健康人よりも高濃度であることが報告されているファブリー病患者の血漿中 CTH 濃度 (FEBS Letters. 2002; 515:171-176.) は、全

身の組織における CTH の蓄積を反映すると考えられる。ファブリー病患者の尿沈渣にみられる細胞のうち、約 80%が剥離した腎尿細管細胞であり、これらの細胞のリソソームに CTH の存在が認められることから、尿沈渣中 CTH 量は、主に腎尿細管細胞に蓄積した CTH 量を示すと考えられ、腎臓中 CTH 量の指標の一つと考えられている(Am. J. Clin. Pathol. 1984; 82: 24-28)。したがって、尿沈渣中 CTH 量が減少することは、腎尿細管細胞中の CTH 蓄積の軽減を示唆しており、腎臓組織中 CTH 量減少の指標となり得ると考えられる。

機構は、尿沈渣、血漿中の CTH 変化が組織中の CTH 変化を示唆することは認めるものの、これらの指標で改善しているにも拘らず、生検では組織学的に悪化している症例も見受けられるため説明を求めた。

申請者は以下のように回答した。腎生検を実施した本邦及び米国第Ⅱ相臨床試験に関し、血漿中 CTH 濃度、腎組織中 CTH 量及び腎病理検査（正常糸球体の割合）の変化の関係を整理し、下表に示した。

本邦及び米国第Ⅱ相臨床試験における被検者ごとの血漿中、尿沈渣中及び腎組織中 CTH 量の変化と腎病理組織学的評価との関係（申請者作成、機構一部改変）

被験者番号	血漿中 CTH 濃度 (nmol/mL)	尿沈渣中 CTH 量 (nmol/g クレアチニン)	腎組織中 CTH 量 (nmol/mg たんぱく)	腎組織中 CTH 量 (nmol/mg 湿重量)	正常糸球体の割合 (%)
本邦第Ⅱ相臨床試験					
4	-17.3	149.67	107.0		—
6	-4.9	-2447.8	-159.4		19.4
8	-7.1	-1489.55	-609.3		2.0
12	-10.1	-2234.24	53.7		29.2
米国第Ⅱ相臨床試験（本薬群）					
2	-5.2	-1376.5		-13.5	1.0
4	-7.5	-422.0		-7.6	3.0
6	-6.2	-744.0		-12.5	22.0
8	-5.3	-1670.5		-4.1	9.0
10	-6.7	2035.5		-4.5	#
12	-3.1	-663.0		-3.6	17.0
15	-6.0	-1112.0		-7.8	17.0
19	-6.6	-551.5		-1.0	8.0
21	-6.0	-398.5		7.1	41.0
23	-6.4	803.0		-6.1	17.0
26	-6.7	-880.0			13.0
27	-5.8	-676.5		9.8	5.0

- ・ 本邦及び米国第Ⅱ相臨床試験において腎生検を実施した被験者について示した。
- ・ 血漿中 CTH 濃度、腎組織中 CTH 量及び正常糸球体の割合は、24 週後の投与前値からの変化量を示した。
- 一：糸球体数が腎組織病理検査計画書の規定を満たさなかったため解析不能
- #：投与前後も正常糸球体の割合が 0% であり、変化なし

網掛けは悪化方向の変化

表に示したように評価結果が符合しなかった症例が一部に存在する。理由の一つとして CTH 蓄積が軽減されたとしても、CTH の蓄積により、すでに本薬投与前から腎組織の不可逆的な障害が進行中の場合には、これを完全に阻止することは困難であったことが考えられる。しかしながら評価結果が符合する被験者の割合の方が高いことから、血漿中及び腎組織中 CTH 量の変化は、腎病理学評価と相互に関連する可能性が高く、腎組織障害の指標となり得ると考えられた。

機構は血漿中、尿沈渣中 CTH と腎組織中の CTH の変化が必ずしも一致しないこと、また、腎組織中 CTH が低下しても組織形態学的な改善に繋がらない場合があることに注意を払いつつも、全体としては本薬の有効性が示唆されていると判断し、この回答を了承した。

(5) 効能・効果について

機構は「ファブリー病に対する長期酵素補充療法」との申請時効能・効果について臨床試験の成績を反映させた内容となっているかどうかを検討し、必要に応じて効能・効果について再度検

討することを求めた。

申請者は以下のように回答した。臨床試験からは本薬がファブリー病の原因である CTH の蓄積を軽減することにより、死亡をもたらす腎機能障害及び心機能障害の進行が抑制されること、及び QOL を低下させる疼痛が改善されることが示唆された。このことから、本薬を長期投与することにより、ファブリー病において欠損あるいは低下した α GAL が補充され、ファブリー病に起因する臓器障害の進行の抑制、死亡時期の遅延及び QOL の向上が期待できることから、本効能・効果の設定は妥当性があるものと考えられた。

機構は、この回答内容を理解するものの、本薬が長期にわたって、欠損或いは非常に低下した酵素活性を補う目的で投与され、結果的に本疾病で問題となる臓器障害を予防することを期待して使われることから、効能・効果中に補充療法である旨を記載する必要はないと考える。更に、類薬であるアガルシダーゼベータ（遺伝子組換え）の効能・効果は単に「ファブリー病」とされており、同様の目的で使用されるものについて効果・効能に差異が認められるのは好ましくないことから、下記のような効能・効果が適当であると考ええる。

また、本薬の臨床試験において検証されたのは欠損或いは非常に低下した酵素活性を持つ古典的ファブリー病症例における有用性であり類薬であるアガルシダーゼベータ（遺伝子組換え）と同じであるため、いわゆる心ファブリー病症例については類薬と同様に取り扱うことが適当であると判断した。（アガルシダーゼベータ（遺伝子組換え）の公開版審査報告書（平成 15 年 11 月 13 日付け衛研発第 3739 号「ファブラザイム点滴静注用 5mg、同 35mg 審査報告書」）、p35（1）対象疾患について、p39（3）亜型患者について、p45、1）亜型ファブリー病について、2）心ファブリー病について の項参照）

【効能・効果】 ファブリー病

効能・効果に関連する使用上の注意

- (1) 本剤はファブリー病と確定診断された患者にのみ使用すること。
- (2) 心臓にのみ病変が認められる亜型のいわゆる心ファブリー病患者での安全性及び有効性は確立していない。

(6)用法・用量設定について

機構は、海外の用法・用量をもとに国内臨床試験を実施しているが、提出された資料からは用法・用量の設定の経緯及び根拠が不明確であることから、用法・用量の設定根拠について説明することを求めた。

申請者は以下のように回答した。第 I 相臨床試験では、最高用量 0.110mg/kg に対し、公比 1/2 で低用量側の 4 用量を設定した。最高用量である 0.110mg/kg（マウス単回投与毒性試験で薬物による影響が認められなかった最高用量 2.3mg/kg の約 1/20）は、他の酵素製剤の用量を参考に設定された。具体的には、たんぱく量として、酵素製剤である [] 及び [] の用量を参考とした。単回投与である米国第 I 相試験の用量を検討するにあたり、安全性の観点から、上記 2 剤の 1 回あたりの投与量で最も低い用量（0.1mg/kg）を参考に、最高用量を 0.110 mg/kg とした。本試験の結果、いずれの用量においても安全性に問題は認められなかった。また、0.007mg/kg～0.110mg/kg の範囲全体としては、投与前値と比較して本薬投与による有意な肝臓中蓄積 CTH 量の減少及び尿沈渣中 CTH 量の減少が認められた。第 I 相臨床試験の最高用量である 0.110mg/kg

において、安全性に問題が認められなかったことを踏まえ、目的とする臓器に対して本薬の分布量の増加が期待される第 I 相臨床試験の最高用量の約 2 倍である 0.2mg/kg が米国第 II 相臨床試験の用量として考えられた。0.2mg/kg の用量は、非臨床毒性試験におけるラット単回投与及びラット 3 ヶ月反復投与毒性試験（1 回/週）の無毒性量である 10mg/kg 及び 1.0mg/kg のそれぞれ 1/50 及び 1/5 である。一方、ファブリー病患者由来の線維芽細胞を用いた検討で、細胞内に取り込まれた α GAL 活性の細胞内半減期は 4 日と報告されており（Mayes JS, et al. Am. J. Hum. Genet. 1982 ; 34: 602-10）、さらに、米国第 I 相臨床試験での検討結果から、ヒトでの本薬の肝臓中半減期は 1 日以上と推定されていることから、間欠投与での効果が期待できると考えられた。これらの情報を基に検討した結果、ファブリー病と同じリソソーム病であるゴーシェ病の酵素補充療法剤であるイミグルセラゼが 2 週間に 1 回の投与（Grabowski G.A. et al. Ann. Intern. Med. 1995; 122: 33-39.）であることを考慮し、本薬についても患者への負担が考えられることから、2 週間に 1 回の投与頻度と設定した。

機構は、ヒトで本薬の用量設定試験を実施しておらず、提出された回答書からは本薬の用量設定根拠が明確になっているとは言い難いと考え、本薬の用法・用量の設定根拠（用法・用量の妥当性）について、申請者としての今後の方策等も含めて再度説明することを求めた。

申請者は以下のように回答した。海外及び本邦のいずれにおいても、申請用法・用量（0.2mg/kg を 2 週間に 1 回投与）以外の用法・用量で有効性及び安全性について検討していない。しかしながら、本用法・用量で実施した米国、英国、ドイツ及び本邦の臨床試験の成績から、ファブリー病に対する有効性が確認されるとともに、安全性にも大きな問題はなく、臨床的に有用なものと考えている。本薬の臨床推奨用法・用量の探索を行うことを目的として、米国 TKT 社は、ファブリー病患者における新たな用法・用量選択のための薬物動態並びに薬力学的試験（米国で実施予定）及び男性及び女性ファブリー病患者に対する 2 種類の用法・用量における無作為化比較試験（欧州で実施予定）を立案中である。申請者は、これらの試験の終了後に、その成績を基に申請用法・用量の妥当性について検討する予定である。

機構は、米国で TKT 社が承認取得を断念したことから、前者の米国での試験の実行可能性は低いと考える。また、本邦では既にアガルシダーゼベータ（遺伝子組換え）が承認されており、本邦におけるファブリー病患者数は少ないことに鑑み、本邦において市販後にアガルシダーゼベータ（遺伝子組換え）との比較対照試験等を実施し、本薬の申請用法・用量について検討することは非常に困難であると考えている。

一方、本薬の申請用法・用量について、用量設定試験を経ずに設定され、その用量が類薬であるアガルシダーゼベータ（遺伝子組換え）と比べて低用量である（アガルシダーゼベータ（遺伝子組換え）：隔週 1mg/kg に対し、本薬：隔週 0.2mg/kg）理由も明らかでないことから、臨床推奨用法・用量の妥当性について専門協議の議論を踏まえ、最終的に判断することとした。

(7)抗体産生について

機構は抗体産生が安全性及び有効性に与える影響について尋ねた。

申請者は以下のように回答した。

①安全性に関して

本邦第 II 相臨床試験及び米国第 II 相臨床試験で重篤な投与時反応発現例が認められ、最も留意

する必要がある副作用と考えられた。投与時反応の発現率は、本邦第Ⅱ相臨床試験（抗体陽性例で 1/2、陰性例で 2/10）、米国第Ⅱ相試験（陽性 7/9、陰性 1/5）及び米国継続投与試験・継続投与群（陽性 8/11、陰性 1/3）で、抗体陽性例では抗体陰性例よりも高かった。一方、米国継続投与試験・切り替え群（陽性 1/6、陰性 1/5）では、発現率は両者でほぼ同様であり、英国第Ⅱ相臨床試験（陽性 0/2、陰性 0/5）及び英国継続投与試験・継続投与群（陽性 0/3、陰性 0/2）ではいずれにおいても発現はみられなかった。また、英国継続投与試験・切り替え群（陽性 0/2、陰性 1/6）では、抗体陰性例で投与時反応が発現したが、抗体陽性例では認められなかった。以上から抗体の産生が投与時反応の発現に関係する可能性は否定できないが、抗体の産生の有無にかかわらず投与時反応が発現する可能性もあると考えられた。また、抗体陽性例において投与時反応が発現した例と投与時反応がみられなかった例の抗体価の指標に明確な違いは認められなかった。

機構は、抗体産生と投与時反応の因果関係について、少ない症例数で断定することは困難であると考えられる。他の機序に関する考察及び高い発現頻度の患者に対する前処置等の必要性について尋ねた。

申請者は以下のように回答した。臨床試験で認められた投与時反応は、初回投与では認められず複数回の投与で発現するが、投与中又は投与終了直後にみられること、この臨床症状として潮紅、膨疹、悪寒、呼吸困難（息苦しさ）等が発現したことなどから、Ⅰ型アレルギーとの関連が疑われる。一方、IgE、IgA、IgM 抗体の発現がみられないこと、血清トリプターゼ活性の上昇が認められないこと、血圧などのバイタルサインに異常がみられないこと、そして抗ヒスタミン薬及び副腎皮質ホルモン剤による投与速度の減少により一旦中断しても投与再開が可能であったことなどから、抗体の関与するⅠ型アレルギー反応であるとは考えにくく、その発現機序については明らかではない。

投与時間を 20 分から 40 分間に変更した以降に実施した本邦第Ⅱ相、米国継続（切り替え群）、英国第Ⅱ相及び継続、並びにドイツ女性対象試験の結果をあわせると、本薬投与による投与時反応は 53 例中 6 例（11.3%）に発現した。本邦の臨床試験においては、3 例に発現したが、1 例は無処置で消失し、他の 2 例は投与中断と抗ヒスタミン薬及び副腎皮質ホルモン剤処置により回復し、対処可能であった。治験責任医師の判断により投与中止に至った 1 例を除き、他の 2 例では抗ヒスタミン薬による前処置によって投与継続が可能であった。一方、海外では、前処置あるいは前処置と投与方法の変更により投与継続が可能であった。

以上から、申請用法・用量での本薬投与による投与時反応発現のリスクと、前処置による患者への負担を考慮すると、前処置は最初の投与から実施するよりもむしろ、投与時反応が発現した投与回以降に、投与を継続した時に実施することが妥当であると考えられる。このことから、本薬の添付文書（案）「使用上の注意」において、以下のような注意喚起を行っている。

「使用上の注意 1.重要な基本的注意

本剤の投与中又は投与後 1 時間以内に **infusion reaction** があらわれることがある。主な症状は悪寒と顔面潮紅であり、頭痛、呼吸困難、腹痛、嘔気、胸痛、そう痒、浮腫、蕁麻疹等のアレルギー反応を伴うこともある。**Infusion reaction** は、通常本剤による治療開始 2~4 ヶ月で発現する。本剤投与中に重度の **infusion reaction** があらわれた場合には、投与を中断し、必要に応じて適切な処置（抗ヒスタミン剤、副腎皮質ホルモン剤投与等）を行う。経過をみながら投与再開を考慮すること。前投薬（抗ヒスタミン剤、副腎皮質ホルモン剤を本剤投与 1~3 時間前に投与）

等の処置を行うことにより、本剤の infusion reaction は軽減される。(前投薬等の処置を行っても infusion reaction が軽減しない例において、同処置を実施した上で本剤を 1~5 分間投与して中断し、約 5 分後に投与を再開することにより infusion reaction は軽減され、投与継続が可能であった。)

これに対し機構は以下のように考える。類薬のアガルシダーゼベータ (遺伝子組換え) では本邦における第 II 相試験で 85% に IgG 抗体が陽性 (ファブラザイム点滴静注用 5mg、ファブラザイム点滴静注用 35mg 審査報告書 p4)、投与時反応が 10/13 例で認められたのに比べて、本薬では先の回答のように抗体陽性率及び投与時反応発現率とも低かった。特に投与時間が延長されて以降は 10% 程度の投与時反応しか発生しておらず、安全性に関しては上記の使用上の注意 (案) による注意喚起により、対処可能であると判断する。

②有効性に関して

申請者は以下のように回答した。抗体を産生した被験者の薬物動態は影響を受け、 C_{max} 並びに $AUC_{0-\infty}$ の減少など、薬物動態パラメータが変化する可能性があると考えられた。また、この変化は、抗体価が高いほど大きいものと考えられた。(下図、右の 2 図参照)

抗体の産生は本薬による尿沈渣中 CTH 量の減少効果を減弱させることが示唆された (下図参照) が、血漿中 CTH 濃度の低下、疼痛スコアの減少に及ぼす明確な影響は認められなかった。

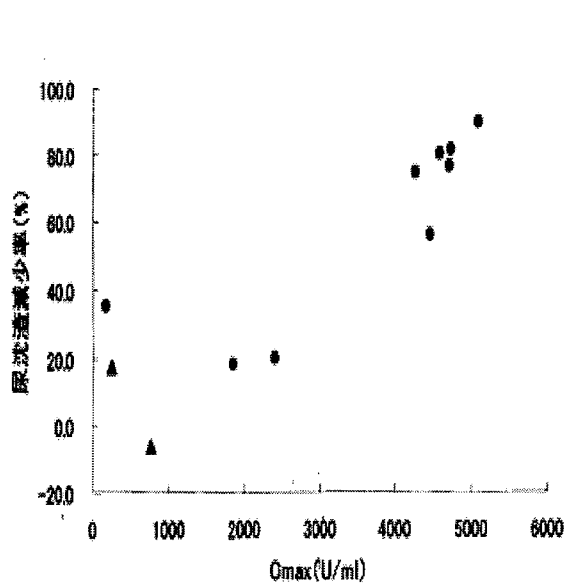


図 1 本邦第 II 相臨床試験における尿沈渣中 CTH 量減少率と C_{max} の関係 (申請者作成)

尿沈渣中 CTH 減少率 (%) = (投与前 - 23 週後) / 投与前 × 100

● : 抗体陰性 ▲ : 抗体陽性

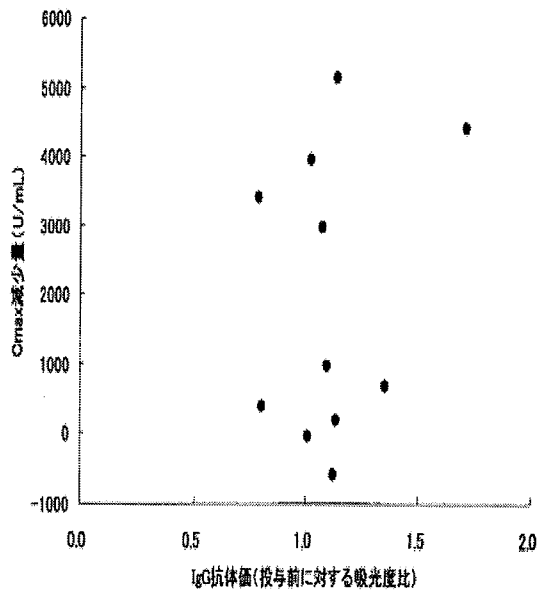
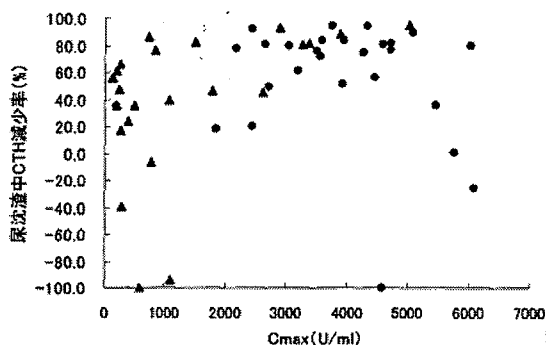


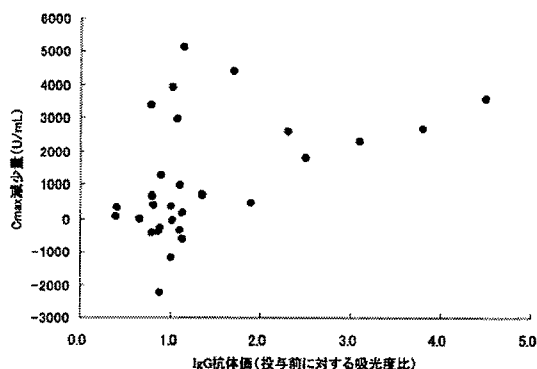
図 1 本邦第 II 相臨床試験における抗体産生と C_{max} 減少量の関係 (申請者作成)



本邦、米国及び英国臨床試験における尿沈渣中 CTH 減少率
と Cmax の関係

米国と英国では、第Ⅱ相と継続投与で症例が重複するため
それぞれの被験者の最終時点に表示した。

●：抗体陰性 ▲：抗体陽性



本邦第Ⅱ相、米国並びに英国継続投与試験・切り
替え群における IgG 抗体価と Cmax 減少量

機構は、以下のように考える。前掲の四つの図から、本薬においては抗体産生が C_{max} 等を低下させ、その結果、有効性を減弱させる可能性があることが示唆された。本薬においては全体の約半数の症例では(36/71 例)抗体が陰性であり、もしこのような症例において抗体が出現した場合、有効性に与える影響が懸念される。全体としては、抗体が陰性である症例の成績が抗体陽性症例の低い有効性をマスクしている可能性もあり、全体の成績の解釈にも影響を与えかねない。類薬のアガルシダーゼベータ(遺伝子組換え)では約 85%に IgG 抗体が出現しているにも拘らず腎生検組織における GL-3 の除去効果が検証され、抗体の存在は有効性に明らかな影響を与えないとされている。評価項目や方法等も異なるため一概に比較することは困難であるが、見かけ上の用量がアガルシダーゼベータ(遺伝子組換え)では 1mg/kg/2 週間と本薬の 5 倍であることについて、この差異が関連している可能性も考えられる。機構は、ファブリー病の病変は基本的に腎機能障害など不可逆的なものであることから、本薬投与中に抗体が出現し、血中濃度が低下したような症例には漫然と本薬を投与するのではなく、類薬への変更を考慮する等の方策を取ることが望ましいと考える。この点について申請者に見解を求めた。

申請者は以下のように回答した。本薬の投与により抗体が産生した患者の 31%は尿沈渣中 CTH 量の減少効果の減弱はみられず、必ずしも抗体の影響を受けるわけではないと考えられた。さらに、尿沈渣中 CTH 量の減少効果が減弱した患者においても、本薬の投与を継続することにより 71%の患者で抗体価が低下または抗体が消失して効果の回復が認められた。また、24%の患者で抗体価は不変または上昇したが、効果の回復が認められ、一方、効果の回復が認められなかった患者は 6%のみであった。したがって、抗体を産生した患者において必ずしも効果の減弱が起こるわけではなく、抗体の影響を受けない患者も少なくないと考えられること、及び抗体を産生し、効果の減弱がみられた患者においても投与を継続することにより多くの場合効果の回復が期待できると考えられることから、本薬の投与継続の妥当性を判断するには、抗体産生を指標とするよりも本薬の効果の減弱及び投与継続による効果の回復を指標とする方が適切と考えられる。上記の内容を踏まえ、使用上の注意(案)を下記のように変更する。

【改訂後】(下線部：追加箇所)

6. その他の注意

本剤の投与により、アガルシダーゼアルファ（遺伝子組換え）に対する IgG 抗体が産生され、効果が減弱した例が報告されている。これらの大部分では、本剤の投与を継続することにより効果が回復したが、回復がみられない例もあった。本剤投与中に、疼痛の悪化など効果の減弱がみられた患者で、投与を継続しても効果が回復しない場合は投与を中止し、他の治療法に切り替えることを考慮すること。

【改訂前】

記載なし

機構は、添付文書中に抗体産生による効果減弱について、注意喚起を行うことは妥当であるもの、投与を継続して効果が回復するのを待つことが適当であるかどうか、アガルシダーゼベータ（遺伝子組換え）との使い分けにもかかわることから、専門協議の議論を踏まえ判断することとした。

(8)小児への投与について

機構は、対象疾患の性質に鑑み、本薬が小児に投与されることが考えられるものの、申請資料中の臨床試験では 18 歳以上の症例のみにて評価されているため、申請者の見解を求めた。

申請者は以下のように回答した。ファブリー病疾患の患者は早期から CTH の蓄積が始まっていると考えられ、ファブリー病の病因及び本薬の作用機序を考慮すると、可能な限り早期の投与開始が望ましいと考えられる。一方、本疾患の顕著な臨床症状の一つである疼痛は、多くが小児科年齢である学童期から現れ、早い場合にはたんぱく尿など腎機能障害の兆候も同時期に出現し、まれに腎機能障害が急速に進行する患者もみられる。したがって、医師や保護者の指導のもと、本薬のリスクとベネフィット等を考慮した上で、本薬の学童期における投与開始が必要と判断されるケースもあり得ると考えられる。

本薬の添付文書(案)の「使用上の注意」の項において、小児等への使用経験が少ないため「低出生体重児、新生児、乳児、幼児又は小児に対する安全性は確立していない」と注意喚起しているが、小児に対し使用禁忌とはしていない。今後は市販後調査を通じて、小児科年齢の患者における本薬の安全性情報を蓄積する予定である。

なお、現在、欧州では本薬長期投与による有効性と安全性を調査するために、患者登録システムである Fabry Outcome Survey (以下、FOS) が運営されている。FOS には、2003 年 5 月現在、欧州の 11 カ国 36 医療機関が参加し、市販後の本薬投与患者並びに非投与患者あわせて 400 例近くが登録され、この中で 18 歳以下の患者は 2003 年 1 月現在 35 名 (17 例が本薬投与患者で 6~18 歳。用法用量は 19 歳以上の患者と同じ 0.2mg/kg/2 週間) であり、本薬長期投与時の有効性と安全性が調査されている。

2003 年 5 月 6 日現在までに、5 症例に 16 件の有害事象が報告されている。4 症例は投与時反応(1 件、3 件、3 件、8 件)、1 症例(患者登録番号 ████████) は腎機能低下であり、いずれも因果関係を否定できないとされている。腎機能低下の症例については、無償提供での初回投与直後の投与当日に測定した GFR の測定値(データは報告されず) から腎機能低下が報告された。しかしながら、本患者では投与前、3、6、12 カ月後の GFR は何れも 99~104 mL/min の正常範囲

内であり、詳細不明である。

機構は、小児における投与経験が非常に限られており、特に安全性については評価が不十分であるものの、現時点で特段注目すべき報告もなく、小児に対する投与を禁忌とはせずに市販後に情報を集積するとの回答を了承した。なお、小児に対する市販後の情報収集については、既承認薬との関係や情報収集の実施可能性等も含めて、専門協議の議論を踏まえて判断することとした。

⑨死亡及び重篤な有害事象について

英国継続及びドイツ女性を対象とした試験において各1例の死亡例が認められた。英国継続試験における死亡例は、英国第Ⅱ相試験においてプラセボ投与群であり、開始時点で軽度の腎不全を有していた。継続投与と試験移行後に末期腎不全と診断され、腎移植後に治験責任医師により術後合併症による死亡であり治験薬との関連性はないとされている。また、ドイツ女性試験においては、前述のように大動脈弁狭窄症、心筋症と心房細動を合併していた症例が脳塞栓症を起こして死亡したものであり、本薬の投与による影響は否定的である。治験担当医師も本薬との因果関係を否定しており、特に問題にならないと機構は判断する。

重篤な有害事象は、本邦では12例中2例(17%)に2件発現し、海外では65例中20例(31%)に36件が発現した。本邦及び海外あわせて本薬が投与された77例のうち、22例(29%)に38件の重篤な有害事象が発現した。重篤な副作用は、本邦で1例に1件及び海外(米国第Ⅱ相)で3例に各1件が発現し、本邦と海外の総計で4例(5%)に各1件が発現した。この4例のうち、本邦の1例及び米国第Ⅱ相試験で発現した3例のうち2例は、投与時反応であるアレルギー反応であった。米国の2例は、当初20分間で投与を実施しており、投与時反応が発現しやすい状況にあったと考えられる。いずれも抗ヒスタミン剤及びステロイド剤等の処置により症状は消失した。投与時反応以外の米国の1例は発熱であった。

機構は、重篤な有害事象についても問題となるものは投与時反応であると考え、この点に関しては前述のように、適宜前処置を施すことなどにより対処できると判断している。

3. 承認審査資料適合性調査結果

1) 適合性書面調査結果

医薬品副作用被害救済・研究振興調査機構により薬事法14条第4項後段に規定する書面による調査が実施されたが、治験実施計画書に基づく投与時間(40分)から逸脱している症例が複数見られ、これについて承認審査資料付録において省略している等の問題が見られたが、逸脱症例は輸液ポンプの送液誤差又はポンプの不調が原因である旨の回答がなされ、当該逸脱症例について総括報告書に追記することとされ、機構は承認審査資料に基づき審査を行うことについては支障ないものと判断した。

2) GCP 実地調査結果

医薬品副作用被害救済・研究振興調査機構において提出された資料に対してGCP実地調査が行われたが、提出された資料に基づき審査を実施することに支障はないと判断した。

4. 総合評価

機構は、提出された資料について以上のような審査を行った結果、以下の結論に達した。

有効性に関しては、本薬が希少疾病を対象としていることを考慮すると、血漿中及び尿沈渣中 CTH と腎組織中 CTH の変化が必ずしも一致せず、腎臓の組織形態学的な改善につながらない場合が認められたものの、全体として本薬の有効性は示唆されていると判断している。

安全性に関しては、留意する副作用として投与時反応が挙げられているが、使用上の注意において、投与時反応が認められる可能性があることを情報提供するとともに、重度の投与時反応が認められた場合には投与を中止し、投与再開に際しては抗ヒスタミン剤や副腎皮質ホルモン剤等を前投薬する旨を注意喚起することにより対処可能と判断した。

用法・用量については、国内第Ⅱ相試験及び海外第Ⅱ相試験において、本薬 0.2 mg/kg が 2 週間に 1 回静脈内投与され、ほぼ同様の有効性及び安全性が認められた。1 用量による臨床試験しか実施されていないため、本薬の臨床推奨用量が明確に検証されているとは言い難いものの、現時点では古典的ファブリー病症例に対して類薬 1 つしか市場にない現状に鑑み、申請用法・用量で本薬を承認し、市販後に本薬の臨床推奨用量を含めて、長期にわたる安全性及び有効性について、確認する必要があると判断する。

本薬の必要性、機構の判断の妥当性について、市販後調査の実施可能性も含めて、専門協議の議論を踏まえ、最終的に判断したい。

審査報告 (2)

平成 18 年 8 月 8 日作成

1. 申請品目

[販 売 名]	リプラガル点滴静注用 3.5mg (リプレガル点滴静注用 3.5mg に変更予定)
[一 般 名]	アガルシダーゼ アルファ (遺伝子組換え)
[申請年月日]	平成 14 年 11 月 11 日
[申 請 者]	住友製薬株式会社 (現 大日本住友製薬株式会社)

2. 審査内容

医薬品医療機器総合機構 (以下、機構) は、審査報告 (1) をもとに専門委員へ意見を求めた。委員との協議を踏まえた審査結果を報告する。なお、専門協議後、平成 16 年 2 月 18 日付け薬食発第 0218004 号医薬食品局長通知を受けて、本薬の培養工程で使用されるウシ血清が米国産の γ 線非照射仔ウシ血清からニュージーランド産又はオーストラリア産の γ 線照射仔ウシ血清に変更されることとなった。今般、これに伴い品質に関する資料及び安定性に関する資料が追加提出され、機構は審査を再開した。

また、販売名について、医療事故防止の観点から、類似名称を有する医薬品として取り違えが生じないように販売名を改める方向で検討し、販売名を「リプラガル点滴静注用 3.5mg」から「リプレガル点滴静注用 3.5mg」に改める旨、申請者より提案され、機構はこれを了承した。

ロ. 物理的・化学的性質並びに規格及び試験方法に関する資料

本薬の培養工程で使用されるウシ血清が米国産の γ 線非照射仔ウシ血清からニュージーランド産又はオーストラリア産の γ 線照射仔ウシ血清に変更されることとなり、これに伴い原薬の精製工程が一部変更された (E*製法及び原薬)。また、E*原薬の製造には、第二代 WCB が使用された。

第二代 WCB では、培養培地及び凍結保存培地の組成並びに細胞濃度について調製工程が若干初代から変更された。調製された第二代 WCB について管理試験が実施され、微生物及びウイルスに関する試験、細胞の性質に関する試験について許容基準に適合するとともに、細胞増殖性及び SMP-536 生産能について初代 WCB と同様であったことから、SMP-536 の製造に適切な細胞であると結論されている。

本薬製造の拡大培養及び生産培養工程で使用されていたウシ血清の上記切り替えに際し、ニュージーランド産又はオーストラリア産の γ 線照射仔ウシ血清を使用して製造された未精製バルク ■ロットについて細胞数、細胞生存率及び未加工バルクの酵素活性が米国産仔ウシ血清での実績と比較された結果、未加工バルクの単位容量あたりの酵素活性がやや低い傾向が認められたものの工程管理基準を満たしており、問題はないと判断されている。

また、 γ 線照射仔ウシ血清では γ 線照射の影響で分子量約 30kDa 付近の低分子量 BSA が増加しており、従来の精製工程では血清由来 BSA の除去が不完全となる可能性が小スケールでの検討から示唆されたことから、除去効率を高めるために精製工程の見直しが行われ、■カラム工

程の洗浄液量、■■■■カラムの洗浄液の■■■■、■■■■カラムの洗浄液の追加並びに溶出液の■■■■及び流速を変更した E*製法が確立された。

D*製法及び E*製法により製造された実生産スケールの原薬 1 ロットについて構造、物理的・化学的性質、免疫化学的性質、生物学的性質及び品質に関する検討が実施された。その結果、E*原薬ではグリカンマップ上でピークグループ G*（リン酸が■個結合した糖鎖）の含量（存在比）が D*標準品の■■■%と低い値を示したが（D*標準品では■■■■%に対して■■■■%）、そのほかは D*標準品と同様であった。

機構は、ピークグループ G*は本薬の細胞内への取り込みに必須のリン酸を含む糖鎖であることから、E*原薬のピークグループ G*含量が低いことについて、製法変更の影響か又は製造のバラツキによるものか、また本薬の有効性に対する影響について申請者に説明を求めた。

申請者は以下のように回答した。現時点では E*製法で製造したロット数が少なく、製造のバラツキがどの程度であるのかは不明であるが、WCB の切り替え及び血清の変更がピークグループ G*の含量に影響を与える可能性については、これまでに製法検討を行った種々の条件の組み合わせ（初代又は 2 代目 WCB、米国又はニュージーランド産血清、 γ 線照射の有無及び D*又は E*製法）が異なる■種類のロットについて、製造スケールの類似したロットの成績を比較したところ、血清原産国の変更が影響を与えた可能性は低く、WCB の切り替え、 γ 線照射及び精製工程の変更が影響を与えた可能性は否定できないと考えられた。しかしながら、ピークグループ G*は含量が少ないため、元々 TKT 社の規格でも他のピークより規格幅が広く（他のピークが■～■■■%であるのに対し■～■■■%）E*原薬においても規格の範囲内であったこと、主要なリン酸結合糖鎖であるピークグループ H*（リン酸が■個結合した糖鎖）とピークグループ G*を合計した E*原薬のリン酸結合糖鎖の含量は D*標準品と C*標準品の中間であったこと、E*原薬の各ピークグループの面積百分率はピークグループ G*も含め D*原薬及び C*原薬の実績又は平均値 \pm 3SD の変動の範囲内であったこと、また細胞内取り込み活性において E*原薬は D*標準品の■■■%であり同等であることが確認されていることから、ピークグループ G*の含量が D*標準品よりも低い傾向にあるものの、本薬の有効性には影響を与えないと判断している。

機構は、安全対策のために製法を若干変更した製剤が市販用製剤となることについて、品質面での検討結果から製法改良前後の原薬にほとんど差が認められないとする点は回答を了承するが、本薬については製造販売後に全例を登録した調査が予定されており、その中で有効性及び安全性に臨床試験とは異なる傾向が認められないかについても情報を収集し、製法の変更による影響がないことを確認しておく必要があると考える。

ハ. 安定性に関する資料

機構は、E*原薬及び当該原薬より製造された製剤の安定性に関する資料について提出を求めた。申請者は原薬について $-65\sim 85^{\circ}\text{C}$ 、12 カ月までの長期保存試験成績、及び $5\pm 3^{\circ}\text{C}$ 、6 カ月保存の加速試験成績を、製剤について $5\pm 3^{\circ}\text{C}$ 、9 カ月までの長期保存試験成績、及び $25\pm 2^{\circ}\text{C}/60\pm 5\%\text{RH}$ 、6 カ月保存の加速試験成績を提出した。長期保存試験成績について、提出された保存期間において品質の変化を示唆する傾向は認められておらず、加速試験成績においても変化は認められていない。長期保存試験は原薬では■■■カ月まで、製剤では■■■カ月まで継続される予定である。有効期間については、今後提出される資料を見て判断したい。

へ. 吸収、分布、代謝、排泄に関する資料

英国第Ⅱ相臨床試験を終了した欧米人男性ファブリー病患者 15 例（プラセボ又は本薬 0.2mg/kg を 2 週間に 1 回 12 回静脈内投与）を対象に、本薬 0.2mg/kg を 2 週間に 1 回 54 回静脈内投与した継続投与試験の結果が追加提出されている（追ト-2）。

27 週で C_{max} 、 $AUC_{0-\infty}$ 及び $AUC_{0-\infty}$ 補正值の著明な低下・減少がみられた 2 例（No.2、No.13）で、55 週後投与時（切り替え群では 28 回目、継続投与群では 40 回目投与）には、これらのパラメータが上昇・増加し回復がみられた。なお、2 例のうち 1 例は 27 週と同様に抗体検査は陽性であった。他の 6 例のうち 1 例（No.11）ではパラメータの回復はみられなかったが、5 例では回復が認められた。55 週の時点では 2 例のみ（No.3 及び 12）で血漿中濃度が測定され、1 例（No.3）では 27 週に比較してパラメータの低下・減少がみられたが、もう 1 例（No.12）では 27 週に比較して回復が認められた。また、抗体はいずれも陰性であった。

以上から、本薬を 1 年～1 年半投与した 10 例のうち全例で薬物動態パラメータの低下・減少がみられたが、8 例では投与を継続することにより回復が認められた。なお、抗体産生と薬物動態パラメータの低下・減少は必ずしも一致しなかったとされた。

ト. 臨床に関する資料

専門協議において、ファブリー病に対する既存治療薬として類薬であるアガルシダーゼ ベータ（遺伝子組換え）があるなかで、本薬の臨床推奨用量が類薬であるアガルシダーゼ ベータ（遺伝子組換え）より低用量であることから、本薬の有用性について再確認したところ、① 類薬であるアガルシダーゼ ベータ（遺伝子組換え）で強いアレルギー反応が出た患者、② 女性でかつ症状が軽い患者に対しては、本薬を投与する意義があるとの意見が出された。

(1) 効能・効果について

本薬は、類薬であるアガルシダーゼ ベータ（遺伝子組換え）（販売名：ファブラザイム点滴静注用 5mg、同 35mg）と同様の作用機序及び目的で使用されるものであり、臨床現場での混乱を避けるためにも、類薬と同様に効能・効果は「ファブリー病」とすることが適当であるとする機構の判断は、専門協議において支持された。これに基づき、申請者は効能・効果を「ファブリー病」に改めると回答し、機構はこれを了承した。

(2) 心ファブリー病について

機構は、本薬の臨床試験では心臓への効果についても検討されているが、欠損或いは非常に低下した酵素活性を持つ古典的ファブリー病患者で心臓にも症状がみられる患者を対象としており、酵素活性の低下は認められるものの他臓器に臨床所見がみられない心ファブリー病に対する効果は確認されていないと考える。また、機構は、既承認類薬であるアガルシダーゼ ベータ（遺伝子組換え）と異なる取扱いをすることにより臨床現場を混乱させる恐れがあること、現時点では、心ファブリー病に対する有効性及び安全性を評価するための資料が十分ではないことから、類薬と同様に添付文書の効能・効果に関連する使用上の注意において心ファブリー病に対する安全性及び有効性は確立していない旨を記載し、注意喚起することが適当であり、製造販売後に心ファブリー病に対する安全性及び有効性を確認する必要があると判断した。

これに基づき、申請者の見解を求めたところ、以下のように改める旨が回答され、機構はこれを了承した。

【効能・効果】

ファブリー病

【効能・効果に関連する使用上の注意】

- (1) 本剤はファブリー病と確定診断された患者にのみ使用すること。
- (2) 心臓にのみ病変が認められる亜型のいわゆる心ファブリー病患者での安全性及び有効性は確立していない。

さらに機構は、心ファブリー病における安全性及び有効性を確認するために、心ファブリー病患者を対象とした製造販売後臨床試験の実施可能性について申請者の見解を示すように求めた。

申請者は、以下のように回答した。左室肥大を有するファブリー病患者を対象とした英国第Ⅱ相試験では本薬群 1/7 例（心臓中 CTH 減少、左室心筋重量減少又は維持、左室内径並びに心室中隔厚減少、左室拡張末期容量減少、心電図 QRS 時間短縮）、女性ファブリー病患者を対象としたドイツにおける臨床試験では 2/15 例（血漿中 CTH 量減少、左室心筋重量減少、心室中隔厚減少、左室後壁厚減少、心電図 QRS 時間短縮）が心ファブリー病患者であり、本薬の投与により心臓障害の改善がみられた。このことから、本薬が心ファブリー病患者の心臓障害に有効性を示すと考える。

しかしながら、本邦における臨床試験では心ファブリー病患者に対する検討がなされていないことから、製造販売後に、心ファブリー病に対する本薬の安全性及び有効性に関して更なる検討が必要であると考え。既承認類薬が存在すること、対象患者数及び必要症例数等から実施可能性を考慮すると、製造販売後臨床試験は困難であるため、心ファブリー病患者を対象とした特定使用成績調査（全症例対象）を実施することで、心ファブリー病患者に対する本薬の安全性及び有効性について確認する予定である。

機構は、心ファブリー病患者数は少ないとは言いきれないものの、罹患当初は心肥大のみで自覚症状がないため、確定診断時には病状が進行した症例、あるいは診断に至らない症例も多いことが予測されることから、治療される患者が少ない可能性があるとの専門委員の意見も踏まえ、全症例を対象とした特定使用成績調査を実施し、その中で確実に心ファブリー病に対する評価が可能となるような調査（期間、調査項目等）を設定するよう申請者に指導した。

(3) 用法・用量について

国内第Ⅱ相試験及び海外第Ⅱ相試験において投与された本薬の用量は 0.2 mg/kg であり、1 用量による臨床試験しか実施されていないため、本薬の臨床推奨用量が明確に検証されているとは言い難いが、本用量で国内外において有効性及び安全性が確認されていること、海外において市販後に用量検討のための臨床試験を実施中であること、古典的ファブリー病に対する薬剤が 1 つしか承認されていないことから、製造販売後に臨床推奨用量を確認することを前提に 0.2mg/kg を隔週投与することで止むを得ないものとする機構の考えは、専門協議において支持された。機構は、本薬の臨床推奨用量を設定するための臨床試験が本邦で実施されていないことから、製造

販売後において検討する必要があるか申請者の見解を求めた。

申請者は、以下のように回答した。米国 Shire Human Genetic Therapies 社 (旧 TKT 社) は、本薬の更なる至適用法・用量の探索を行うことを目的に、臨床試験 1 としてファブリー病患者における用法・用量検討のための薬物動態並びに薬力学試験 (オープン試験) を実施し、更に臨床試験 2 としてより長期で実施計画を検討中である。臨床試験 1 において、用法・用量として、投与群 1 : 0.1mg/kg、20 分、1 回/週、10 回 9 週 (総投与量 1.0mg/kg)、投与群 2 (申請用法・用量) : 0.2mg/kg、40 分、1 回/2 週、5 回 8 週 (総投与量 1.0mg/kg)、投与群 3 : 0.2mg/kg、40 分、1 回/週、10 回 9 週 (総投与量 2.0mg/kg)、投与群 4 : 0.4mg/kg、80 分、1 回/2 週、5 回 8 週 (総投与量 2.0mg/kg)、投与群 5 : 0.4mg/kg、80 分、1 回/週、10 回 9 週 (総投与量 4.0mg/kg) が設定され、血漿中 CTH 濃度を指標として海外での承認用法・用量 (本邦での申請用法・用量と同じ) の妥当性について検討された。その結果、投与群 2 の被験者における血漿中 CTH 濃度の低下は、投与群 1、3、4 及び 5 と同様であり、安全性においても大きな差はみられなかった。以上から、いずれの用法・用量においても薬力学及び安全性の観点から同様であった。なお、臨床試験 2 については、臨床試験 1 の成績に加え、有用性の観点からも用法・用量の妥当性について確認する予定である。海外臨床試験 1 の成績から、本邦での申請用法・用量は妥当であると考えられるが、臨床試験 2 の成績から新たな用法・用量が見出されたと判断された場合には、本邦において本薬が投与されている患者を対象に、新たな用法・用量に切り替えることにより、安全性評価を中心とした臨床試験を実施する予定である。代替用法・用量への切り替え前 (試験開始時) と試験終了時とで有効性の増強の有無等を評価することは可能と考えられ、この試験結果をもとに海外での臨床試験成績との整合性について考察を行う予定である。なお、この試験成績を含め総合的に検討した結果、必要と認められた場合は、用法・用量に関する一部変更申請を行う予定である。

機構は、回答を了承した。

なお、申請者は以下のように用法・用量を整備する旨回答し、機構はこれを了承した。

【用法・用量】 (変更前)

アガルシダーゼ アルファ (遺伝子組換え) として、0.2mg を 100mL の日局生理食塩液に希釈し、2 週間に 1 回、40 分以上かけて点滴静注する。

【用法・用量】 (変更後)

通常、アガルシダーゼ アルファ (遺伝子組換え) として、1 回体重 1 kg あたり 0.2mg を隔週、点滴静注する。

【用法・用量に関連する使用上の注意】 (変更後)

- (1) 投与速度 : 投与速度が速いと infusion related reaction が発現しやすいので、投与は 40 分以上かけて行うこと。
- (2) 希釈方法 : 患者の体重あたりで計算した本剤 [アガルシダーゼ アルファ (遺伝子組換え) として 1mg/mL の溶液] の必要量を用時にバイアルから採取し、100mL の日局生理食塩液に加えて希釈する。
- (3) 本剤は保存中に少量の微粒子を生じることがあるため、本剤投与時には 0.2 ミクロンのインラインフィルターを通して投与すること。

(4) 抗体産生及び投与時反応、効果が減弱した場合の対応について

本薬の投与により留意する必要がある副作用として投与時反応が挙げられているが、使用上の注意において、投与時反応が認められる可能性があることを情報提供するとともに、重度の投与時反応が認められた場合には投与を中止し、投与再開に際しては抗ヒスタミン剤や副腎皮質ホルモン剤等を前投薬する旨を注意喚起することにより対処可能であるとした機構の判断は、専門協議において支持された。

さらに機構は、先に申請者より提示された添付文書（案）において、投与時反応に関する注意喚起を警告欄にも記載するとともに、投与再開を考慮する際の基準やその方法等についても重要な基本的注意（審査報告(1)ト項参照）の中で情報提供しよう申請者に求めた。

申請者は、警告欄においても注意喚起するとともに、海外における臨床試験を参考に、重要な基本的注意を以下のように改めると回答し、機構はこれを了承した。

2. 重要な基本的注意

(2) 本剤の投与中又は投与終了後1時間以内に **infusion related reaction** があらわれることがある。主な症状は悪寒と顔面潮紅であり、頭痛、呼吸困難、腹痛、嘔気、胸痛、そう痒、浮腫、蕁麻疹等のアレルギー反応を伴うこともある。**Infusion related reaction** は、通常本剤による治療開始2~4カ月で発現する。本剤投与中に **infusion related reaction** があらわれた場合には、必要に応じて投与を中断し、適切な処置（抗ヒスタミン剤、副腎皮質ホルモン剤投与等）を行うこと。処置後は経過を観察し、投与再開に際しては以下を考慮すること。

- 1) **Infusion related reaction** が不変又は悪化した場合には、投与を再開しないこと。
Infusion related reaction に対する追加処置を考慮すること。
- 2) **Infusion related reaction** が軽快又は消失した場合、投与再開を考慮すること。再開の場合、必要に応じ、投与速度を中断前の1/2を目安として下げること。

(3) **Infusion related reaction** が発現した患者への次回投与に際しては、以下を考慮すること。

- 1) 前投薬（抗ヒスタミン剤、副腎皮質ホルモン剤等を本剤投与1~3時間前に投与）の処置を行うこと。
- 2) 前投薬等の処置を行っても **infusion related reaction** が軽減しない症例において、同処置を実施した上で本剤を1~5分間投与して中断し、約5分後に投与を再開することにより **infusion related reaction** が軽減された例がある。

なお、本薬においては抗体産生により本薬投与後の C_{max} 、AUC 等が低下し、その結果、有効性を減弱させる可能性があるとしていることから、機構は、抗体産生時の対策として本薬継続投与により効果の回復を待つだけでなく、類薬への切替えも考慮に入れて考察しよう申請者に説明を求めた。

申請者は、以下のように回答した。尿沈CTHの減少効果がIgG抗体の産生により減弱する症例が認められたが、ほとんどの場合は投与を継続することにより効果が回復した。しかしながら、回復しない症例も認められたことから、重要な基本的注意の項に以下のように記載することとし

た。

【6.その他の注意】(変更前)

本剤の投与により、アガルスダージェ アルファ (遺伝子組換え) に対する IgG 抗体が産生し、効果が減弱した例が報告されている。これらの大部分では、本剤の投与を継続することにより効果が回復したが、回復が見られない例もあった。本剤投与中に、疼痛の悪化などの効果の減弱がみられた患者で、投与を継続しても効果が回復しない場合は投与を中止し、他の治療法に切り替えることを考慮すること。

【2. 重要な基本的注意】(変更後)

- (4) 本剤の投与により、アガルスダージェ アルファ (遺伝子組換え) に対する IgG 抗体が産生し、効果が減弱した例が報告されている。これらの大部分では、本剤の投与を継続することにより効果が回復したが、回復が見られない例もあった。本剤投与中に、疼痛の悪化などの効果の減弱がみられた患者では他の治療法に切り替えることも考慮すること。【臨床成績】の項参照】

機構は、回答を了承した。

(5) 小児への投与について

国内臨床試験では 18 歳以上の症例で評価されており、小児ファブリー病患者では実施されていない。さらに、海外データを含めても小児ファブリー病患者への使用経験が少ないため、使用上の注意において、「低出生体重児、新生児、乳児、幼児又は小児に対する安全性及び有効性は確立していない」旨の注意喚起を行い、製造販売後調査において、小児に対する本薬の安全性及び有効性に関する情報を収集するという機構の判断は、専門協議で支持された。これに基づき、申請者は使用上の注意について、以下のように改めると回答した。また、製造販売後調査については、長期使用に関する特定使用成績調査の中で、安全性及び有効性について確認すると回答した (製造販売後調査の項参照)。

【4.小児への投与】(変更前)

低出生体重児、新生児、乳児、幼児又は小児に対する安全性は確立していない。【使用経験が少ない】

【4.小児への投与】(変更後)

低出生体重児、新生児、乳児、幼児又は小児に対する安全性及び有効性は確立していない。【使用経験が少ない】

機構は回答を了承した。

(6) 製造販売後調査について

提出された国内試験成績が極めて限られた症例によるものであることから、全投与症例を対象

とした製造販売後調査を実施し、小児及び本薬の用法・用量の確認も含めた長期使用時の安全性及び有効性に関する特定使用成績調査の実施が必要であるとする機構の判断は、専門委員に支持された。

これを受けて申請者は、製造販売後において、以下のような調査を実施する旨、回答した。小児も含めたファブリー病患者全例を対象として本剤の長期使用による安全性及び有効性を検討するために、病型等を含めた患者背景、体重や本剤投与状況等を含めた治療経過、心エコーや 12 誘導心電図等を含めた心機能、腎機能、脳血管障害、尿沈渣中 CTH、血漿中 CTH 濃度、IgG 抗体等を含めた臨床検査、及び疼痛等を含めた臨床症状などを調査項目とした、長期使用に関する特定使用成績調査を実施する。さらに、心ファブリー病患者全例に対する使用実態下での安全性及び有効性を検討するために、特定使用成績調査を実施する。

機構は、これを了承した。

3.総合評価

機構は、以上の審査の結果、下記のように効能・効果及び用法・用量を整備し、承認条件を付した上で、本薬を承認して差し支えないと判断する。本薬は希少疾病用医薬品であることから、再審査期間は 10 年とすることが適当であると判断する。

なお、本薬は生物由来製品に該当し、原体及び製剤ともに劇薬に該当すると判断する。

【効能・効果】

ファブリー病

【用法・用量】

通常、アガルシダーゼ アルファ（遺伝子組換え）として、1 回体重 1 kg あたり 0.2mg を隔週、点滴静注する。

【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。

審査報告書

平成 18 年 8 月 8 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]	リプラガル点滴静注用 3.5mg (リプレガル点滴静注用 3.5mg に変更予定)
[一 般 名]	アガルシダーゼ アルファ (遺伝子組換え)
[申 請 者]	住友製薬株式会社 (現 大日本住友製薬株式会社)
[申請年月日]	平成 14 年 11 月 11 日
[剤型・含量]	1 バイアル中アガルシダーゼ アルファ (遺伝子組換え) 3.5mg を含有する 静注用製剤
[申請区分]	医療用医薬品 (1) 新有効成分含有医薬品
[化学構造式]	
構造式	別紙
本 質	
(日本名)	アルファガラクトシダーゼ A 遺伝子の増幅によってアルファガラクトシダーゼ A の発現が増加しているヒト線維肉腫細胞株 (HT-1080) 由来細胞株により産生される 398 個のアミノ酸残基 (C ₂₀₂₉ H ₃₀₈₀ N ₅₄₄ O ₅₈₇ S ₂₇ ; 分子量: 45,351.21, 1 個又は 2 個の C 末端アミノ酸残基が欠落しているものを含む) からなるサブユニット 2 つより構成される糖タンパク質 (分子量: 約 102,000)
(英 名)	Glycoprotein (molecular weight: ca. 102,000) consisting of two subunits containing 398 amino acid residues (C ₂₀₂₉ H ₃₀₈₀ N ₅₄₄ O ₅₈₇ S ₂₇ ; molecular weight: 45,351.21, including molecules lacking one or two C-terminal amino acid residues), produced in a human fibrosarcoma cell line (HT-1080)-derived cell line in which the expression of alfa galactosidase A is increased by amplification of the alfa galactosidase A gene
[特記事項]	希少疾病用医薬品
[審査担当部]	新薬審査第三部

[構造式]

アミノ酸配列

1	11	21	31	41					
LDNGL	ARTPT	MGWLH	WERFM	CNLDC	QEEP	DCISE	KLFME	MAELM	VSEGW
51	61	71	81	91					
KDAGY	EYLCI	DDCWM	APQRD	SEGRL	QADPQ	RFPHG	IRQLA	NYVHS	KGLKL
101	111	121	131	141					
GIYAD	VGNKT	CAGFP	GSFGY	YDIDA	QTFAD	WGVDL	LKFDG	CYCDS	LENLA
151	161	171	181	191					
DGYKH	MSLAL	NRTGR	SIVYS	CEWPL	YMWPF	QKPNY	TEIRQ	YCNHW	RNFAD
201	211	221	231	241					
IDDSW	KSIKS	ILDWT	SFNQE	RIVDV	AGPGG	WNDPD	MLVIG	NFGLS	WNQQV
251	261	271	281	291					
TQMAL	WAIMA	APLFM	SNDLR	HISPG	AKALL	QDKDV	IAINQ	DPLGK	QGYQL
301	311	321	331	341					
RQGDN	FEVWE	RPLSG	LAWAV	AMINR	QEIGG	PRSYT	IAVAS	LGKGV	ACNPA
351	361	371	381	391					
CFITQ	LLPVK	RKLG	YEWTS	RLRSH	INPTG	TVLLQ	LENTM	QMSLK	DLL

N : N結合型糖鎖を結合していると予測されるアスパラギン

[主要な糖鎖構造]

組成	構造
Man ₇ GlcNAc ₂ (PO ₃) ₂	ハイマンノース型
Man ₇ GlcNAc ₂ (PO ₃)	ハイマンノース型
Man ₇ GlcNAc ₂	ハイマンノース型
Man ₆ GlcNAc ₂ (PO ₃)	ハイマンノース型
Man ₆ GlcNAc ₂	ハイマンノース型
Man ₅ GlcNAc ₂	ハイマンノース型
NeuAcGal ₂ Man ₃ GlcNAc ₄	コンプレックス型
NeuAc ₂ Gal ₂ Man ₃ GlcNAc ₄	コンプレックス型
NeuAcGal ₂ Man ₃ GlcNAc ₄ Fuc	コンプレックス型
NeuAc ₂ Gal ₂ Man ₃ GlcNAc ₄ Fuc	コンプレックス型
NeuAcGal ₃ Man ₃ GlcNAc ₅ Fuc	コンプレックス型
NeuAc ₂ Gal ₃ Man ₃ GlcNAc ₅ Fuc	コンプレックス型
NeuAc ₃ Gal ₃ Man ₃ GlcNAc ₅ Fuc	コンプレックス型
NeuAcGal ₄ Man ₃ GlcNAc ₆ Fuc	コンプレックス型
NeuAc ₂ Gal ₄ Man ₃ GlcNAc ₆ Fuc	コンプレックス型
NeuAc ₃ Gal ₄ Man ₃ GlcNAc ₆ Fuc	コンプレックス型
NeuAc ₄ Gal ₄ Man ₃ GlcNAc ₆ Fuc	コンプレックス型

Man : マンノース
 GlcNAc : N-アセチルグルコサミン
 NeuAc : N-アセチルノイラミン酸
 Gal : ガラクトース
 Fuc : フコース
 PO₃ : リン酸基

審査結果

平成 18 年 8 月 8 日

[販 売 名] リプラガル点滴静注用 3.5mg(リプレガル点滴静注用 3.5mg に変更予定)
[一 般 名] アガルシダーゼ アルファ (遺伝子組換え)
[申 請 者] 住友製薬株式会社 (現 大日本住友製薬株式会社)
[申請年月日] 平成 14 年 11 月 11 日
[特 記 事 項] 希少疾病用医薬品

[審査結果]

有効性については、18 歳以上の日本人男性ファブリー病患者 12 例を対象とした非盲検非対照試験において、本薬 0.2 mg/kg を 2 週間に 1 回、12 回 (22 週間) 静脈内投与したとき、主要評価項目である血漿中セラミドトリヘキソシド (CTH) 濃度及び尿沈渣中 CTH 量について、投与前値と比べて有意な低下が認められ、抗てんかん薬等非服用下での疼痛スコアについては、低下したが統計学的な有意差は認められなかった。

安全性については、本邦において、重篤な有害事象が 12 例中 2 例 (17%) に 2 件発現し、そのうち 1 例が因果関係ありとされた。この 1 例では、投与中のアレルギー反応 (呼吸困難、膨疹及びそう痒 (症)) が認められたが、投与中止後ステロイド剤の処置により消失した。抗 α GALIgG 抗体は 2 例が 8 週後に陽性となったが、その後抗体価は低下し陰性化した。投与時反応に関しては、抗ヒスタミン剤や副腎皮質ホルモン剤等を投与するなどについて添付文書において注意喚起することとされた。その他問題となる副作用は認められなかった。

提出された資料から、本薬の有効性及び安全性が示されたと判断する。

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、下記の承認条件を付した上で、以下の効能・効果、用法・用量で承認して差し支えないと判断した。

【効能・効果】 ファブリー病

【用法・用量】 通常、アガルシダーゼ アルファ (遺伝子組換え) として、1 回体重 1 kg あたり 0.2mg を隔週、点滴静注する。

【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 16 年 8 月 27 日作成

1. 申請品目

[販売名]	リプラガル点滴静注用 3.5mg
[一般名]	アガルシダーゼ アルファ（遺伝子組換え）
[申請年月日]	平成 14 年 11 月 11 日
[申請者]	住友製薬株式会社
[申請時効能・効果]	ファブリー病に対する長期酵素補充療法
[申請時用法・用量]	アガルシダーゼ アルファ（遺伝子組換え）として 0.2mg/kg を 100mL の日局生理食塩液に希釈し、2 週間に 1 回、40 分以上かけて点滴静注する。
[特記事項]	希少疾病用医薬品

2. 提出された資料の概略及び医薬品医療機器総合機構における審査の概要

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

ファブリー病は、細胞内リソソーム中の加水分解酵素である α -ガラクトシダーゼ A（以下、 α GAL）の活性が先天的に欠損あるいは低下する X 染色体性劣性の先天代謝異常症である。本疾患においては、本来分解されるべきスフィンゴ糖脂質の蓄積がみられ、主としてセラミドトリヘキソシド（以下、CTH）が様々な細胞や組織内に進行性に蓄積し、血管の内皮、外皮及び平滑筋細胞、腎上皮細胞、心筋細胞、背側根神経節及び自律神経系が選択的に障害される。典型例においては、学童期あるいは青年期に、四肢の激しい疼痛、被角血管腫とよばれる特徴的な皮膚疾患及び明瞭な角膜混濁などが発現し、年齢を重ねるに従って重要な器官が障害を受けるようになり、通常 30 歳代から 40 歳代に腎疾患、心疾患あるいは脳血管障害により死亡する。本邦においては、本疾患は特定疾患治療研究事業対象疾患に指定されており、2001 年末までに 177 名の患者が認定されている。

なお、本申請資料中ではファブリー病の α GAL 欠損によって体内に蓄積する基質をセラミドトリヘキソシドと呼称し CTH と略しているが、これはグロボトリアオシルセラミド (GL-3) と同義である。

α GAL は、リソソーム中に運ばれてその機能を発揮するが、細胞外に分泌される α GAL もあり、その糖鎖部分のマンノース-6-リン酸（以下、M6P）残基が細胞表面の M6P レセプターに結合することによって捕捉され、再び細胞内に取り込まれてリソソームに送られることが知られている（Kornfeld, S. and Mellman, I. Ann. Rev. Cell Biology 1989;5:483-525）。そこで、 α GAL を静脈内に投与することにより、ファブリー病患者の細胞内リソソームに到達させることが可能と考えられ、1970 年代より補充療法が検討されてきている。本邦においては、遺伝子組換え技術によりチャイニーズハムスター卵巣細胞（以下、CHO 細胞）から産生される α GAL を有効成分とするアガルシダーゼベータ（遺伝子組換え）（販売名：ファブラザイム）が 2004 年 1 月に承認されている。

本申請品目は、米国 Transkaryotic Therapies 社（以下、TKT 社）により開発され、ヒト線維肉腫細胞株を用いて、 α GAL 遺伝子の [] に [] 配列及び [] 配列を挿入した遺伝子活性化技術

により産生される内因性 α GAL を有効成分とする製剤である。米国においては、19 年 月 からファブリー病患者を対象とした臨床試験が開始されている。本邦においては、申請者である住友製薬株式会社が 1998 年 7 月に TKT 社と契約を締結し、開発に着手した。なお、本薬は 2001 年 8 月に EU で承認を取得したのを初めとして、2004 年 8 月現在 34 カ国で承認されている。

ロ. 物理的・化学的性質並びに規格及び試験方法に関する資料

本薬は、ヒト線維肉腫由来細胞株に 配列及びヒト 配列の一部を含む遺伝子活性化ベクターを導入することにより、ヒト α GAL 遺伝子座の で相同組換えを起こし、宿主細胞の内在性 α GAL 遺伝子が活性化されることにより生産される糖たんぱく質である。 α GAL はスフィンゴ糖脂質の末端 α -ガラクトースを遊離させる酵素である。

(1) 原薬

① 製法変更の経緯について

本薬の開発過程で、原薬の製造方法は 3 回変更されている。開発初期には、ヒト 細胞 を宿主細胞としてヒト α GAL のアミノ酸配列をコードするプラスミドを組み込んで樹立した細胞株より生産された α GAL (以下、A 製法品*) を用いて米国第 I 相試験 (TKT001) が実施された。その後、TKT 社が新たに樹立した遺伝子活性化法による細胞株より生産される本薬を用いて臨床試験及び非臨床試験が実施された。本薬は、はじめ TKT 社の委託先である B 社* により製造され (B 製法品*)、非臨床試験の一部及び米国第 II 相試験 (TKT003) の一部に使用された。その後 C 社* に委託先が変更されると共に製造方法が一部変更され (C 製法品*)、米国第 II 相試験 (TKT003) の一部及び本邦での試験を含むその他の臨床試験並びに非臨床試験の一部に使用された。

TKT 社はこれらの試験成績に基づき、C*社における製造方法 (C*製法) を申請製法として欧州等に申請、2001 年 8 月に欧州において承認されている。承認後、TKT 社は生産性の増大と品質の向上を目的として自社設備による製造方法 (D*製法) を開発し、2003 年 2 月には欧州において製造方法の一部変更承認申請を行い、同年 7 月に承認を得ている。

(機構注：製法の違いにより、本薬には A*、B*、C*及び D*の 4 種類の原薬及びそれに相当する製剤が存在する。後述するように製法が一部異なるものの、各種の規格試験及び臨床試験結果から、製品の特性に特段の相違はないと考えられる。このため、本報告書における試験に使用された原薬及び製剤についての記載は、製法の相違について言及する場合を除き「本薬」として記載した。)

申請者は、本邦における承認申請にあたり、国内臨床試験に使用した C*製法で申請し、承認取得後一部変更承認申請を行い、D*製法に切り替える予定としていた。しかしながら、C*製法で製造された原薬では生産用培地にカナダ産のウシ由来原料が使用されていたことから、平成 15 年 5 月 22 日付け医薬発第 0522002 号医薬局長通知「カナダ産のウシ等由来物を原材料として製造される医薬品、医療用具等の品質及び安全性確保について」を受け、申請者は申請製法をカナダ産のウシ由来原料を使用していない D*製法に変更したいと申し出るとともに、D*製法に関する資料、両製造法の工程比較、生産された原薬の物理的・化学的特性及び品質の比較、並びに薬物動態学的性質の比較結果を提出した。

機構は、現有の C*原薬が全てカナダ産のウシ由来原料を使用して製造されており今後 C*原薬

が製造される予定はないことから、生物由来原材料に係る安全確保の点を考慮すると、申請製法を D*製法に変更することは妥当であると考えられる。しかしながら、D*原薬は非臨床及び臨床試験に使用されたものではないことから、両製法による原薬の同等性を評価した上で、申請製法の妥当性について判断することとした。

② 原薬の製造について

原薬は、TKT 社で製造される。B*、C*及び D*原薬は同一のマスターセルバンク（以下、MCB）より製造されているが、ワーキングセルバンク（以下、WCB）、培養工程及び精製工程が変更されている。以下の製造法に関する記載については、D*製法を中心とし、変更部分については後述した。

i) 製造用細胞基材の由来、調製及び特性解析

製造のための宿主細胞としてヒト線維肉腫由来細胞株 HT-1080 が使用された。HT-1080 については特性解析が実施されている。宿主細胞のヒト α GAL 遺伝子の [REDACTED] に [REDACTED] を挿入する目的で遺伝子活性化プラスミド [REDACTED] が調製された。[REDACTED] は機能配列として [REDACTED] 及び [REDACTED] [REDACTED] 配列の一部、標的配列として [REDACTED] 配列等をプラスミド [REDACTED] に組み込んで構築され、全塩基配列が明らかにされた。決定された塩基配列と GenBank の塩基配列データベースに公表されている配列との間に [REDACTED] 塩基の差異が認められたが、いずれも [REDACTED] の遺伝子活性化機能には影響を与えない変化若しくは部位であると考察されている。[REDACTED] を制限酵素で消化して得られた DNA 断片を [REDACTED] により宿主細胞 HT-1080 に導入することにより、宿主細胞 [REDACTED] のヒト α GAL 遺伝子座の [REDACTED] で相同組換えが起こり、ベクター内に含まれる [REDACTED] 配列が宿主細胞のヒト α GAL 遺伝子座の [REDACTED] に挿入される。活性化されたヒト α GAL 遺伝子座では [REDACTED] から転写がはじまり、mRNA からヒト α GAL の前駆体が翻訳され、分泌に伴ってシグナル配列が切断され、可溶性の本薬が分泌生産される。選択培養を行い樹立した種細胞株 [REDACTED] より MCB が、MCB より WCB が調製された。

MCB について、細胞特性試験が実施されている。微生物及びウイルスに関する試験として、細菌及びマイコプラズマ並びにウイルスについては非特異的な電子顕微鏡観察、逆転写酵素活性、*in vitro* 及び *in vivo* 接種試験のほか、ヒト及びサル感染性の 16 種のウイルスの特異的検出、ウシ及びブタ由来ウイルスの試験が実施され、いずれの因子も検出されなかった。また、アイソザイム及び染色体分析による細胞の確認試験、細胞形態、増殖特性、本薬生産能、培養安定性、構造遺伝子配列及び本薬遺伝子コピー数について検討された。さらに、MCB より調製した相補的 DNA より、構造遺伝子配列が GenBank のヒト α GAL の塩基配列と一致することが確認された。

WCB 及び生産培養終了後の細胞（以下、EPC）について、微生物及びウイルスに関する試験（ウイルス粒子観察、細菌・真菌・ウイルス等に関する試験）、細胞特性試験（細胞の確認試験、細胞形態、増殖特性、本薬生産能、培養安定性、構造遺伝子配列及び本薬遺伝子コピー数）が実施され、培養工程中で汚染が認められず、また本薬遺伝子座の遺伝子構造が MCB の分析結果と一致したことから、培養期間を通じて遺伝的に安定であることが確認された。

EPC について、微生物及びウイルスに関する試験が実施され、汚染が認められないこと、また

細胞の同定及び本薬遺伝子構造の分析の結果、製造中安定に保たれていることが確認された。EPC より生産された EPC 由来精製バルク（■回のハーベストまでが原薬となるため、■回目のハーベストから精製されたもの）について構造及び機能に関する分析が実施された結果、■などの糖鎖の修飾の程度及び MALDI-TOF による分子量の主ピークにわずかな違いが認められており、製造期間を超えた培養によりリン酸化等の糖鎖の修飾に差が生じたこととされ、比活性、細胞内取り込み活性等は標準品と同等であったことから、有効性及び安全性に影響を与える変化ではないと考察されている。

MCB と WCB について定期的な安定性モニタリングが定められており、MCB では生存率、サザンブロットによる分析及び本薬コード領域の塩基配列の確認について、また、WCB については細胞数、細胞倍化時間、細胞生存率、本薬生産能及び生産された本薬のウェスタンブロットによる確認について、それぞれ許容基準が設定されている。

ii) 培養及び精製工程 (D*製法)

本薬の製造工程は、培養工程と精製工程により構成される。細胞培養工程では WCB から順次スケールアップし、拡大培養、生産培養を経て本薬を含む培養上清が得られる。培養工程について、WCB 解凍、拡大培養工程、全ての未加工バルク、■回目ハーベストの培養上清及び未精製バルクについてそれぞれ管理試験が設定され、許容基準及び処置基準が定められている。

精製工程では、■クロマトグラフィー、■クロマトグラフィー、■クロマトグラフィー、■イオン交換クロマトグラフィー、■クロマトグラフィー及びナノフィルトレーション工程を経て原薬が調製される。

精製工程における工程由来不純物の挙動について検討され、■、ウシ血清アルブミン（以下、BSA）、■、宿主細胞 DNA について D*製法における除去効率が検討されている。

本薬はヒト細胞株を宿主細胞として製造されており、製造工程中でも動物由来原材料が使用されていることから、外来性感染性物質に関する安全性評価が実施されている。

MCB、WCB 及び EPC について細胞の同定及びウイルス等に対する外因性・内因性因子試験等が実施され、管理規格が設けられている。培養工程における工程管理試験として、未加工バルクに対する生菌数、マイコプラズマ、逆転写酵素活性、ウシウイルス及び培養細胞による迷入因子試験が定められており、精製工程においては、工程管理試験として生菌数及びエンドトキシン試験が設定されている。

また、宿主細胞はヒト線維肉腫細胞株 HT-1080 に由来するが、HT-1080 は活性化された N-ras 遺伝子を持つことが報告されていることから (Hall A. Nature 1983; 303: 196-400)、原薬中宿主 DNA 含有量の安全性が検討されている。WHO が提示した、株化細胞を生産基材として医薬品製造に使用する場合の宿主細胞由来 DNA の混入許容値 (精製品 1 投与あたり 10ng) (WHO Technical Report 1998; Series No. 878) に対し、原薬中に残存する宿主 DNA のロット分析結果及びスパイク試験等の結果から、本薬精製工程の DNA 除去能は十分であることが確認され、また仮に原薬中に N-ras 遺伝子の混入があったとしても、原薬中の残存量と形質転換の出現頻度から算出される発がんの頻度は極めて低いものであること、原薬中に残存する DNA の分子サイズは N-ras のゲノムサイズよりも小さいことから、混入する宿主細胞由来 DNA に関する安全性は確認されたと考察されている。なお、宿主細胞 DNA の含有量については、原薬で規格限度値が

設定され、管理されることとなっている。

さらに、製造工程のウイルス除去・不活化能についても検討されている。5つのクロマトグラフィー工程及びナノフィルトレーション工程について、ウシウイルス性下痢ウイルス、マウス白血病ウイルス、ブタヘルペスウイルス、ブタパルボウイルスを用いて除去・不活化能力が評価され、これら4種のウイルスについて原薬の精製工程は総合的に高い除去効果を有することが確認されている。

iii) 製造工程の変更について

B*製法からC*製法への主な変更点は、WCBの設定、培養・生産培地の変更並びに精製工程の \times 倍スケールアップ及び各種カラム条件の変更である。

C*製法からD*製法への主な変更点は、培養及び精製工程の \times 倍スケールアップ(B*製法からでは \times 倍スケールアップ)、拡大培養・生産培養培地の変更(生物由来原材料の低減)、培養工程管理試験の変更(の削除、の一部省略)及び精製工程最終段階のナノフィルトレーションの孔径変更(μm から μm)である。

C*製法からD*製法への変更前後での製造法の同等性について検討されている。

培養工程については培地が変更されていることから、EPCの細胞特性解析、拡大培養における総細胞数、細胞生存率及び細胞倍化数(以下、PDL)、並びに培養上清の生菌数、マイコプラズマ及びウイルスの存在及び本薬酵素活性について検討され、細胞の安定性及び生産能等が比較された。その結果、D*製法において製造用細胞の安定性及び微生物学的安全性は保持されており、本薬酵素活性についてもC*原薬と同様であったが、PDLについては、D*製法では拡大培養工程における通算PDLが高いことから生産培養工程に供する細胞の細胞齢が高いことが確認された。しかしながらEPCの細胞特性解析によりD*製法においても製造用細胞は製造期間中安定に保たれていることなどから、細胞齢の上昇は製造期間中の細胞特性に影響を与えていないと判断されている。

精製工程については、本薬の収率、工程由来不純物の除去効率について各製法3ロットの実測値が比較され、同様な精製効率及び不純物除去効率を有していることが確認された。

③ 原薬の特性について

本申請にあたり特性結果が示されたのは主としてC*原薬によるものであり、B*原薬については一部の解析結果が比較検討されたのみである。なお、申請後申請製法が変更されたことから、D*製法による原薬の特性試験成績とC*原薬と比較した結果が追加提出された。それについては後段で記載する。

i) C*原薬の特性解析結果について

本薬の構造について、たんぱく質の一次構造(アミノ酸組成分析、N末端アミノ酸分析、ペプチドマップ、アミノ酸配列分析)、糖鎖構造(糖鎖消化酵素処理品のSDS-PAGE及びIEF、糖鎖マッピング、糖組成分析、各単糖結合位置の解析、MALDI-TOFによる糖鎖構造解析)に関する分析が実施され、物理的・化学的性質としては電気泳動的性質(SDS-PAGE、IEF)、液体クロマトグラフパターン(サイズ排除高速クロマトグラフィー(SE-HPLC)、逆相高速液体クロマトグラフィー(RP-HPLC))、分子量(SDS-PAGE、SE-HPLC、MALDI-TOF質量分析)、免疫化学的性

質、生物学的性質（細胞内取り込み活性、酵素比活性）、低分子量グリコフォームの構造解析等が実施されている。

たんぱく質の一次構造について、N 末端の 15 残基はヒト α GAL の遺伝子配列より予想される配列からシグナルペプチドが切断されたものと一致し、C 末端には不均一性が認められた。遺伝子配列から予想されたもの（398 残基のアミノ酸）と比較して C 末端のロイシン残基が欠落したものが主たる成分であり、完全長のもの及び C 末端が 2 残基欠落したものも少量存在していた。

糖鎖構造について、108 位、161 位及び 184 位の 3 カ所のアスパラギン残基に N 結合型糖鎖が結合していることが確認され、各種糖鎖消化酵素処理後の SDS-PAGE 及びクロマトグラフィーを行った結果より、高マンノース型、ハイブリッド型及びコンプレックス型糖鎖の存在、並びにシアル酸及びリン酸化された糖鎖を有していることが示唆された。 α GAL の細胞内への取り込みに重要であるとされる M6P の存在比は、マンノース ■mol あたり ■mol であり、本薬 1 分子あたり少なくとも ■個以上の割合で結合していると推測された。また、同様の存在比としてシアル酸は本薬の単量体あたり ■mol であった。MALDI-TOF 質量分析の結果推定された糖鎖及びその含量は、ハイマンノース型糖鎖 ■%以下、マンノース及びフコースからなる中性の骨格構造の糖鎖 ■%以下、ハイブリッド型糖鎖 ■%以下、2~4 本鎖のコンプレックス型糖鎖 ■%以下であった。コンプレックス型糖鎖のほとんどにフコースが付加しており、約 ■%にはシアル酸が付加していた。

ジスルフィド結合について、本薬は 12 個のシステイン残基を有しているが、分子内に 5 カ所の結合が確認されており、2 残基については遊離のチオールである可能性が示唆されている。

電気泳動的性質として、還元後 SDS-PAGE により分子量 45,000Da 付近のブロードな主バンドと直下の糖鎖結合量の違いによる副バンドが認められ、分子量は 43,000~68,000Da の範囲であった。IEF の結果、pI ■~■の範囲に約 ■本のバンドが検出され、報告されている h α GAL の等電点（血漿由来 4.1~4.4、脾臓由来 4.4~4.9、胎盤由来 5.0 及び 5.13）（Bishop DF and Desnick RJ. J Biol Chem 1981; 256: 1307-1316、Bishop DF and Sweeley CC. Biochem Biophys Acta 1978; 525: 399-409）と比較すると、■由来及び■由来のものと類似していると考察された。

分子量について、MALDI-TOF 質量分析では 50,777Da を頂点とする約 46,000~約 55,000Da の範囲にブロードなピークが認められ、約 48,000Da 付近に低分子量グリコフォームに相当するピークも認められた。本薬のアミノ酸組成から求められる理論分子量は 45,400Da であり、測定された分子量の差は糖鎖の分子量とされた。また、SE-HPLC による見かけの分子量（ホモ二量体として）は、標準たんぱく質で作成した検量線から約 141,300Da と見積もられた。

生物学的性質として、本薬をヒト ■細胞と共に培養したところ細胞内への取り込みが確認され、この取り込みは遊離の M6P の共存により ■%以上阻害されたことから、本薬の細胞内への取り込みは細胞の M6P レセプターを介したものであることが示唆された。

酵素としての活性は、4-メチルウンベリフェリル- α -ガラクトピラノシドを基質として、1 時間に 4-メチルウンベリフェロンを 1nmol 遊離させる酵素量を 1 単位 (U) としたとき、原薬の比活性は ■~■U/mg であった。この値はヒト組織由来ヒト α GAL の報告値と同程度であった（脾臓由来： 4.07×10^6 U/mg、血漿由来 2.06×10^6 U/mg）（Bishop D.F. et al. PNAS 1986; 83: 4859-4864）。

SDS-PAGE における主・副泳動帯は糖鎖消化酵素処理により 1 本の泳動帯となることから、糖鎖の違いに起因していることが示唆されており、副泳動帯である低分子量グリコフォームについて検討が行われている。低分子量グリコフォームは中性の骨格構造糖鎖及びハイマンノース型糖鎖の

割合が比較的高く、シアル酸及びリン酸の付加が少ない等電点の最も高いグループであり、酵素活性はほぼ同等であるがヒト██████細胞への取り込みが低い（約██%）ことが確認された。低分子量グリコフォームは生産培養におけるハーベスト回数の増加に従って増加する傾向にあり、培養期間が長くなるほど増加することが示された。これは培養期間が長くなると細胞が溶解し、リソソーム内で一部糖鎖消化を受けた本薬が培養上清中に放出される割合が増加するためと考察されている。本薬中の低分子量グリコフォームの割合は約██%とされている。

また、シアル酸の結合様式は α 2,6結合のものが α 2,3結合のもの約██倍存在しているとされており、CHO細胞由来遺伝子組換えヒト α ガラクトシダーゼでは、 α 2,3結合のみしか見られないことが報告されている。

ii) 異なる製法で製造された原薬における特性の比較について

B*原薬及びC*原薬については、特性試験結果が比較されている。免疫学的性質、N末端アミノ酸配列、MALDI-TOF質量分析、ペプチドマップ、電気泳動的性質（糖鎖関連酵素消化処理）、クロマトグラフィ的性質、製造工程由来不純物、比活性、細胞内取り込み活性、バイオバーデン及びエンドトキシンについて比較されており、特性として両者は同様であると判断されている。

申請後、原薬の製法が変更されたことに伴い、D*原薬についての特性試験成績が提出された。D*原薬はN末端アミノ酸分析、ペプチドマップ及び主要なピークの同定結果よりC*原薬と同様なたんぱく質の一次構造を有することが示され、生理条件下における遊離SH基は両者とも単量体あたり0.2個未満であった。

糖鎖関連酵素消化物のSDS-PAGE及びウェスタンブロットによる分析において両原薬は同様な挙動を示し、糖鎖に係る電気泳動的性質は同様であると判断されている。

シアル酸及びM6Pについて、ノイラミニダーゼ及びホスファターゼ消化物のIEF・ウェスタンブロットによる試験を行ったところ、いずれの消化物も両原薬及びその混合物で同様な挙動を示したことから、シアル酸及びリン酸による修飾の程度は同様であると判断された。

██████で切り出した糖鎖の糖鎖マップでは、両原薬とも糖鎖の多様性に基づく多数のピークを与え、いくつかのピーク面積に若干の差が認められたが、パターンとしては同様であったことから、両原薬は同等と判断されている。また、糖組成についてもほぼ同程度であると判断されている。

その他、SDS-PAGE、SE-HPLC、RP-HPLC、MALDI-TOF質量分析、遠紫外円偏光二色性スペクトル、免疫化学的性質、細胞内取り込み活性、比活性について両原薬の成績が比較され、いずれも自主適合基準を満たし同様であったと判断されている。また、原薬の規格試験法についても、両原薬はいずれも設定された規格に適合した。

機構は、C*原薬とD*原薬の特性の比較において、糖組成、RP-HPLCクロマトグラム、MALDI-TOFのピークパターンに若干相違が認められることについて、両者を「同程度」と判断した根拠を尋ねた。申請者は、C*原薬及びD*原薬についてそれぞれ3~4ロットの結果を提示した上で、これらの測定値及びクロマトグラムは同じ原薬でもロット毎にある程度変動し、また試験法自体もある程度の変動を示すものであるとして、試験結果の変動の範囲には両原薬で差が認められていないと説明した。機構は回答を了承した。

機構は、本薬のC末端は予想されるアミノ酸配列から1残基欠落したものが主成分であると説明されていることについて、生物活性との関係及びそれぞれの分子種の含量について尋ねた。申

請者は以下の通り回答した。

本薬の C 末端欠損体含量を定量した結果はないが、C 末端アミノ酸が 2～10 残基欠損した α GAL は完全長の約 2～6 倍の酵素活性を示し 12 又は 17 残基欠失したものでは酵素活性は消失することが報告されている (Miyamura N, et al. J Clin Invest 1996; 98: 1809-1817) ことから、1 又は 2 残基の欠損では酵素活性は低下していないと考えられる。また、細胞内への取り込みは M6P レセプターを介するものであり C 末端欠損の影響はないと考えられることから、本薬における C 末端欠損は生物活性に影響しないと考える。また、 \blacksquare 残基以上の C 末端が欠損した場合、ペプチドマップ上に新たなピークが出現すると考えられることから、 \blacksquare 残基以上の欠損体の存在については設定した規格試験で管理できると考えている。機構は回答を了承した。

機構は、開発過程において A*、B*、C* 及び D* 原薬への変更の際し、その生物学的同等性についてそれぞれどのように評価したか、申請者に説明を求めた。

申請者は、いずれの変更時にも物理的・化学的特性の検討を行うとともに、A* から B* 原薬への変更の際にはラット、B* から C* 原薬への変更の際にはサル単回投与時の薬物動態による評価を実施したと回答した。また、臨床試験に使用した C* と D* 原薬の同等性については、カニクイザルでの薬物動態学的試験とともに、ヒトにおける生物学的同等性試験の結果が追加提出された。カニクイザルに単回投与したときの薬物動態パラメータの 90% 信頼区間は $C_{max}/Dose$ については、[0.91, 1.15]、 $AUC_{last}/Dose$ については、[0.78, 0.99] であり、 $C_{max}/Dose$ については生物学的同等性の判断基準である 0.8～1.25 の範囲内であり、 $AUC_{last}/Dose$ についてもその逸脱が軽微であったことから、両製剤で同程度の全身暴露が得られると判断されている。また、ヒトでの生物学的同等性試験では、 $C_{max}/Dose$ 及び $AUC_{last}/Dose$ の 90% 信頼区間はそれぞれ、[0.99, 1.04] 及び [0.88, 0.93] でありいずれも生物学的に同等と判断されている。

なお、D* 原薬の臨床使用経験について申請者は、20 \blacksquare 年 \blacksquare 月までに海外で 5 つの臨床試験に使用しており (TKT011、015、019、023、020)、100 例以上の患者に最長で約 11 カ月間の投与実績があること、これらの試験において、D* 原薬への切り替えに際し有害事象の増加は認められておらず、D* 原薬のみを使用した試験においても本薬の投与に起因した重篤な有害事象の発現は認められていないこと、また、健康成人に対し C* 原薬及び D* 原薬の生物学的同等性を評価するための試験 (TKT020) を実施したが、発現した有害事象の種類及び頻度に差は認められなかったと説明した。

機構は上記試験成績及び回答を了承し、D* 原薬の C* 原薬との同等性に関して問題はないものと判断した。

④ 原薬の管理について

申請後、原薬が D* 製法によるものに変更されたことに伴い、原薬の規格及び試験方法も一部変更された。以下の内容は変更後のものについてである。

原薬の規格及び試験方法として、性状、確認試験 (ペプチドマップ、糖鎖マップ)、pH、純度試験 (SDS-PAGE、RP-HPLC 法、SE-HPLC 法、宿主細胞 DNA、宿主細胞たんぱく質、BIgG、BSA)、エンドトキシン、生菌数試験、細胞内取り込み活性試験、比活性、定量法 (紫外可視吸光度測定法) が設定され、資料が提出された。

確認試験の糖鎖マップは、本薬から酵素的に切り出した糖鎖を \blacksquare クロマトグラフィーで分析し、 \blacksquare 結合数及び \blacksquare 結合糖鎖によりグループ化して構成比を求めるものであり、

本薬の薬物動態及び細胞内への取り込みに影響する糖鎖の恒常性を定量的に管理する試験として設定されている。

比活性は、4-メチルウンベリフェリル・ α -D-ガラクトピラノシドを基質としてたんぱく質量当たりの酵素活性を求めるものである。

確認試験のペプチドマップについて、ピーク面積比が規格に設定されているため、システム再現性を設定するよう求め、対応されたのでこれを了承した。

純度試験の SDS-PAGE は、本薬製造時に使用しているウシ血清等のウシ由来たんぱく質の混入を広く検出することを目的として設定されている。判定基準が「標準品に添加した不純物 (BSA) の泳動帯より染色強度の強い新たな不純物の泳動帯を認めない」とされていることについて、機構は、デンストメトリーによる定量的な評価を実施することはできないか、また個々の不純物の染色強度だけでなく種類や総量に関する規格も設定する必要はないか申請者に尋ねた。申請者は、設定した規格は限度試験の規格としては十分ではないと考えられることから、染色強度の指標となる不純物の標準品への添加をやめ、「本品の [] 及び [] の [] 及び [] は標準品と同様であり、かつ、 [] を認めない」に変更すると回答した。機構は回答を了承した。

純度試験の RP-HPLC、SEC-HPLC、BSA 及び BIgG について、D*原薬の実測値も踏まえて規格値を厳密に設定するよう求め、対応されたのでこれを了承した。

純度試験の宿主細胞たんぱく質は SDS-PAGE で泳動した後ウェスタンブロットにより検出を行うものであるが、特定ロットの原薬を「アガルシダーゼアルファ対照品」としてポジティブコントロールに設定することにより、規格は「アガルシダーゼアルファ対照品に認められる泳動帯以外の新たな泳動帯を認めない」とされている。これについて機構は、対照品の定義が「検出される可能性のある不純物を全て含むロット」とのみされていて明確ではないこと、規格が「新たな泳動帯を認めない」とするのみで含量に関する規定がないことから、設定された対照品の妥当性（臨床使用経験があり有効性及び安全性が確認されたロットであるかどうか）並びに対照品の定義及び規格の設定について申請者に検討を求めた。

申請者は以下のように回答した。原薬中に検出される宿主由来たんぱく質について、ほとんどが BSA 及び BIgG に由来するものであるが、未同定のバンドもあるため対照品を用いて位置を確認する必要がある。また、染色に使用する抗体は複数のたんぱく質を抗原として作成されたものであり、染色強度は不純物の含量を必ずしも反映していないことから、対照品を同時に泳動して比較することが必要である。しかしながら、現在の規格には不純物含量に関する規定がないことから、対照品を用いて [] を規格に定めることとし、 [] を対照品 2 として追加することにより、対照品 1 又は 2 のいずれか濃いほうの [] とすることとする。対照品 1 は C*原薬であるが、臨床的には Compassionate Use に使用されたロットである。対照品 2 は D*原薬であり、臨床試験には使用していないが、臨床試験に使用したロット（製剤ロット番号 F*）と比較したときに、対照品 2 に含まれる全ての泳動帯がロット F*で検出され、染色強度も全てロット F*より薄いことを確認している。ロット F*を使用した臨床試験において本ロットの安全性及び有効性に問題は指摘されていない。また、対照品の定義については、「これらの対照品を更新する際には、「リプラガル原薬」の宿主細胞たんぱく質の規格に適合するロットを新しい対照品として更新する」と変更する。

機構は回答を了承した。

細胞内取り込み活性試験は、本薬が体内において細胞内に取り込まれることにより細胞内に蓄積した CTH を減少させるものであることを考慮して設定されている。試験では細胞としてヒト [] 細胞を用い、原薬及び [] をそれぞれ添加して一定時間培養した後、 [] の酵素活性を測定している。機構は、細胞としてヒト [] 細胞を用いた理由について説明を求め、申請者は以下のとおり回答した。

本薬の細胞内への取り込みについて、ヒト [] 細胞とファブリー病患者の体内で CTH の蓄積が認められている血管内皮・外皮、平滑筋細胞等とで比較した試験は実施していないが、ヒト [] 細胞は M6P 受容体を介して M6P 型糖鎖を有するたんぱく質を取り込む細胞であること、また分離培養が容易であり、セルバンクを調製して本薬の品質試験に必要とされる量を確保できることから選択したと回答した。

機構は、ヒト [] 細胞のセルバンクの調製及び培養条件についても申請書への記載を求め、適切に対応されたのでこれを了承した。

機構は、低分子量グリコフォームについて、位置づけとして目的物質関連物質と捕らえているか申請者の見解を求めるとともに、ヒト [] 細胞への取り込みが低いことから限度値を設定する必要はないか、検討を求めた。申請者は、低分子量グリコフォームについて細胞内への取り込みが低いことから目的物質関連不純物と考えとし、純度試験を設定して管理することとすると回答した。試験法として、純度試験の SDS-PAGE を準用し、デンストメーターにより測定したとき高分子量グリコフォームは [] %以上とすると設定されたので、機構はこれを了承した。

機構は、本薬の細胞内への取り込みに必須とされる M6P について、C*原薬と D*原薬について比較して説明するよう求め、また含量規格を設定する必要はないか申請者に尋ねた。申請者は、D*原薬について M6P 含量を測定していないが、糖鎖マップにおいて M6P が結合した糖鎖のピークグループの構成比は両者ではほぼ一致していると考えとし、また、糖鎖マップにより糖鎖の構成比を管理していること、ヒト [] 細胞内への取り込み活性試験を設定していることから、M6P の含量を規格化して管理しなくても M6P 含量の恒常性は管理されていると回答した。機構は回答を了承した。

⑤ 標準物質について

D*原薬への変更に伴い、D*製法で調製された自家標準物質が新たに立てられ、純度及び特性に関する試験結果より、C*製法による標準物質と同様であると判断されている。

自家標準物質の規格として原薬と同一の規格が設定されていたことから、機構は、標準物質は原薬及び製剤の試験の際の対照標準として使用されることから、アミノ酸配列、糖組成分析等の直接構造を確認できる試験法を設定するよう求めた。申請者はたんぱく質の一次構造を確認するために、N 末端アミノ酸配列に関する規格を設定し、また糖鎖についても糖鎖マップの規格に各ピークグループの面積百分率を設定すると回答した。機構はこれを了承した。

(2) 製剤

① 製剤について

製剤は、原薬に安定剤であるポリソルベート 20 を添加した注射用製剤である。米国第 I 相試験では安定剤として [] を添加した製剤が使用されたが、その後安定剤はポリソルベート 20 に変更された。ポリソルベート 20 には、加速条件下で本薬の生物活性低下と重合体

形成を抑制する効果が確認されている。製剤は 5mL のホウ珪酸ガラスバイアルに [REDACTED] mL を無菌的に充填しブチルゴム栓を施したものである。

国内臨床試験を開始する以前に、製剤を冷所保存 (2~8℃) すると 6 カ月目以降にわずかな微粒子の発生が認められたことから、国内における臨床試験製剤は -65℃以下で保存したものを使用した。その後、この微粒子は遊離脂肪酸であることが確認され、ポリソルベート 20 が分解されて生じたものと推定されたことから、申請者は遊離脂肪酸等ポリソルベート 20 の分解物の安全性について文献調査を行い、製剤の安全性に影響を与えないことを確認したとしている。また、米国及び英国で実施された臨床試験では、微粒子が発生すると考えられる期間 2~8℃で保存した製剤をインラインフィルター使用のもと患者に投与しているが、臨床効果や安全性は -65℃以下で保存した製剤を使用した国内臨床試験と同様であったことから、-65℃以下と 2~8℃に保存した製剤は同等であると申請者は判断しており、欧米と同様に国内においても貯法は 2~8℃として申請されている。

機構は、両条件で保存した製剤を比較した臨床試験が実施されていないため、両者が同等であるか直接的に判断することはできないが、微粒子が発生していたと推定される欧米での試験においてインラインフィルターの目詰まり等が報告されていないこと、国内の治験においてもインラインフィルターを使用して投与を実施していたこと、またインラインフィルターによるろ過前後で製剤の酵素活性及びたんぱく質濃度に変化が認められていないとの試験結果があること、さらには安定性試験の結果を踏まえ、2~8℃保存条件下で遊離脂肪酸の微粒子が発生したとしても、インラインフィルターを使用することにより、同様に使用することができるとする申請者の見解を了承した (安定性の項も参照)。

② 製剤の管理について

製剤の規格及び試験方法として、性状、確認試験 (SDS-PAGE のウェスタンブロット法による検出)、pH、純度試験 (RP-HPLC 法、SE-HPLC)、比活性、定量法 (紫外可視吸光度測定法) のほか、注射剤の製剤試験が設定されている。ただし、保存中に安定剤のポリソルベートが分解されて遊離脂肪酸が微粒子として発生することが確認されていることから、不溶性異物検査及び不溶性微粒子試験は出荷時に参考試験として実施することとされており、規格としては設定されていない。機構は、製剤の投与時に 0.2 μm のインラインフィルターの使用を義務付けることを前提に、これら 2 項目を規格として設定しないこともやむを得ないと判断した。

純度試験の RP-HPLC について、D*原薬の実測値も踏まえて規格値を厳密に設定するよう求め、対応されたのでこれを了承した。

ハ. 安定性に関する資料

① 原薬の安定性について

D*原薬の安定性試験は、プラスチック容器 (本体: ポリエチレンテレフタレート共重合体、蓋: 高密度ポリエチレン) に入れたものについて、長期保存試験 (-65~-85℃、12 カ月 ([REDACTED] カ月まで継続中))、加速試験 (5±3℃、6 カ月間) 及び苛酷試験 (25±2℃/60±5%RH、3 カ月間) が実施されている。長期保存試験 (12 カ月間)、加速試験及び苛酷試験において、純度、生物活性、比活性等に経時変化は認められず、これらの条件下では安定であることが示された。

② 製剤の安定性について

D*原薬で製造された製剤の安定性試験として、長期保存試験（ $5\pm 3^{\circ}\text{C}$ 、18 カ月（ カ月まで継続中））及び加速試験（ $25\pm 2^{\circ}\text{C}/60\pm 5\%\text{RH}$ 、6 カ月）が実施されている。

長期保存試験 12 カ月までの試験成績及び加速試験において、純度、生物活性、比活性等に経時変化は認められず、これらの条件下では安定であるとされた。しかしながら、長期保存試験の 9 カ月以降、細胞内取り込み活性試験、IEF、RP-HPLC 等の試験項目が外されたことについて、機構は安定性を評価するうえで重要と考えられるこれらの項目をはずした理由を申請者に尋ねた。申請者は、糖鎖マップ試験により細胞内への取り込み活性に影響する M6P を含有する糖鎖の変化を迅速かつ明確に検出できること、IEF に反映される糖鎖の不均一性も糖鎖マップで検出できること、RP-HPLC は C*製剤の安定性試験で変化を認めなかったことから試験項目から削除したと説明した。しかしながら、これらの項目は安定性を確認するうえで有用な項目であると考えられることから、今後測定を行う 18 カ月以降については試験を行うとしたため、機構はこれを了承した。その後 18 カ月時点の試験成績が提出された。

このほか、C*原薬により調製された製剤について、苛酷試験が実施されている。高温条件下（ $38\sim 42^{\circ}\text{C}/70\sim 80\%\text{RH}$ 、6 カ月）では、1 カ月後より重合体の著しい増加を認め、6 カ月後には IEF の泳動パターンに変化が認められた。光照射（ 25°C /総照度 120 万 lux・hr、総近紫外放射エネルギー $200\text{W}\cdot\text{h}/\text{m}^2$ 、 25°C /総照度 140 万 lux・hr、総近紫外放射エネルギー $252\text{W}\cdot\text{h}/\text{m}^2$ ）では、一次包装品で重合体の著しい増加と細胞内取り込み活性の減少を認めたが、2 次包装品（紙箱入り）では変化は認められなかった。また、振盪（ 5°C 又は 25°C にて毎分 150 回、24 時間）による品質の低下は認められなかった。

製剤は用時生理食塩液にて希釈して投与されることから、希釈後の安定性についても検討された。生理食塩液 100mL に本薬の 14mg 相当量を添加した液について 24 時間まで酵素活性及び総たんぱく質量に変化は認められなかった。

機構は、製剤を $2\sim 8^{\circ}\text{C}$ で保存することにより経時的に脂肪酸微粒子が発生することが確認されているものの、その他の項目については少なくとも 18 カ月まで変化は認められていないことから、臨床成績において $2\sim 8^{\circ}\text{C}$ で保存した製剤を使用した海外試験と -65°C で保存した製剤を使用した国内試験との間に有効性及び安全性の差異が指摘されていないのであれば、投与時にインラインフィルターによる脂肪酸微粒子の除去がなされることを条件に、貯法を $2\sim 8^{\circ}\text{C}$ とすることは可能と考えている。有効期間についてはこれまでに提出された試験成績に基づき、18 カ月の安定性は確認されていると判断した。また、光による品質の劣化が認められたことから貯法として「遮光」とすることが必要であると考え、申請者に求めたところ、貯法に追加されたのでこれを了承した。

二. 毒性に関する資料

1) 提出された資料の概要

(1) 単回投与毒性試験

単回投与毒性試験は静脈内投与により、ラット及びサルで検討されている。試験には 1mg/mL 濃度の製剤を用いていることから、高用量は投与可能な上限量である 10.0mg/kg に設定されている。ラットでは 9 週齢の SD 系ラット雌雄各群 10 匹に、1.0 及び 10.0mg/kg を単回静脈内投与し、各群雌雄各 5 匹を投与 24 時間後、残り雌雄各 5 匹を 14 日間の観察期間終了時に解剖している。

いずれの群も死亡例はなく、致死量は 10.0mg/kg を上回ると判断された。サルでは 69 カ月齢のカニクイザル雌雄各 1 頭/群に、1.0 又は 10.0mg/kg を単回静脈内投与し 14 日間観察している。いずれの群でも死亡例はなく、致死量は 10.0mg/kg を上回ると判断されている。ラット、サルいずれの動物でも投与に起因する毒性学的影響は認められていない。

(2) 反復投与毒性試験

反復投与毒性試験はラット、イヌ及びサルを用いて検討されている。高用量として設定した投与量の 1.0 mg/kg は臨床予定用量の 5 倍、2 週間あたりの投与では 10 倍量に相当する。ラットの反復投与及び回復試験は 7 週齢 SD 系ラット雌雄各群 20 匹に、0.0625、0.25 及び 1.0mg/kg を 1 週間に 1 回、13 週間反復静脈内投与を行い、各群雌雄各 10 匹を 4 週間の回復試験に供している。全期間を通じ死亡例や毒性学的影響は認められず無毒性量は 1.0mg/kg を上回ると判断されている。血清中 α GAL 活性について、投与 1、4、8、13 週時の C_{max} 及び AUC は雌雄とも投与量に応じた曝露が認められたが、反復投与による蓄積は認められないとしている（へ項参照）。なお、抗 α GAL 抗体の産生が認められている（参ニ-1 参照）が、抗体産生に起因すると考えられる毒性は認められていない。

イヌの 4 週間反復静脈内投与及び 4 週間回復試験は 5 カ月齢のビーグル犬雄 6 頭/群に 0.0625、0.25 及び 1.0mg/kg を当初 1 週間に 1 回 13 週間にわたり反復静脈内投与を行う予定で開始したが、投与群の約半数例の動物（18 例中 8 例）に激しい嘔吐、呼吸促迫、下痢等の重篤なアナフィラキシー反応が発現したため、投与を 4 週間（4 回）で中止し各群 2 例の動物は 4 週間の回復試験に、残りの動物は血液学的、血液生化学的検査を行った後剖検し病理組織学的検査を実施している。認められた症状は 3 ないし 4 回目の投与中あるいは投与直後に発現し、これら所見は通常イヌで認められるアナフィラキシー症状と同質で、病理学的検査では消化管の出血や血中ヒスタミン濃度が上昇し、さらに抗体の産生を伴っていることより、異種たんぱくに対する免疫反応が強く発現した典型的なアナフィラキシー症状であると考えられた。単回投与での C_{max} 及び AUC は投与量に伴い上昇することが確認されている一方、1.0mg/kg の 4 週間（4 回）投与後では単回投与と比べ C_{max} は低下したが、AUC は上昇（蓄積）する傾向が認められている。本試験で投与に起因する直接的な毒性はみられなかったものの、異種たんぱくに対する非特異的な免疫反応が強く発現しアナフィラキシーにより約半数例の動物が死亡し、イヌを用いた非げっ歯類の反復投与毒性の評価は困難として、サルを用いた反復投与毒性試験を実施している。

サルでの 13 週間反復投与及び 4 週間回復試験は 2~3 年齢のカニクイザル雄 5 頭/群に 0.063、0.25 及び 1.0mg/kg を 1 週間に 1 回、13 週間の反復静脈内投与を行った後、各 2 頭/群は 4 週間の回復性試験に供している。投与及び休薬期間を通じ死亡例は認められずサルでの無毒性量は 1.0mg/kg を上回ると判断されている。

本薬の保存条件の変更（冷蔵→冷凍）に伴い発生する重合体の安全性評価は、通常製剤と重合体を高濃度を含む製剤（以下、重合体エンリッチ品）との比較で行っている。実験は、6 週齢の Crj:CD(SD)雄性ラット各群 10 匹に、通常製剤及び重合体エンリッチ品それぞれ 0.25 及び 1.0mg/kg を 1 週間に 1 回、4 週間（4 回）反復静脈内投与している。高投与量はラット 13 週間並びに 26 週間投与試験で用いた高投与量を設定している。重合体エンリッチ品の重合体含有量は 1.55%（規格：1.0%以下）である。いずれの投与群においても、死亡動物や通常製剤及び重合体エンリッチ品に起因した毒性は認められていない。血清中 α GAL 活性については、初回投与日

(1週)及び最終投与日(4週)の C_{max} 及びAUCで雌雄ともに投与量に伴って上昇したが、反復投与による蓄積性は認められていない(参ニ-2参照)。

(3) 慢性毒性試験

慢性毒性は、ラット及びサルの13週間反復投与試験の結果において、血中動態や曝露の程度に種差がなく蓄積性を認めなかったこと、ラットの26週間反復投与試験では高用量(1.0mg/kg)においても毒性を認めなかったこと等から、ラットでのみ慢性毒性試験で検討している。

26週間反復静脈内投与及び4週間回復試験は7週齢SD系ラット雌雄各群20匹に、0.063、0.25及び1.0mg/kgを1週間に1回、26週間静脈内投与で行い各群雌雄各10匹を4週間回復試験に供している。0.063mg/kg群の雌雄各1匹、0.25mg/kg群の雌1匹は状態が悪化したため切迫殺、1.0mg/kg群の雌雄各1匹が死亡している。状態が悪化した原因として0.063mg/kg群の雄は変形肋骨が原因と考えられる呼吸困難、雌は眼窩静脈叢からの採血時における傷害、0.25mg/kg群の雌は乳腺の腺癌が考えられた。1.0mg/kg群の死亡原因は雄が前立腺の膿瘍、雌は腎芽腫であった。また、腎芽腫は回復群の1.0mg/kg群の雌1匹にも発生した。認められた腫瘍について、乳腺の腺癌は組織型などから同系統で好発する自然発生性であると考えられ、腎芽腫の発生についても偶発性の可能性が高いと考えられた(腎に対する影響は後述)。したがって、状態の悪化や死亡に被験物質の直接的な関連性は認められなかったことから、無毒性量は1.0mg/kgを上回ると判定されている。

なお、抗 α GAL抗体の産生が認められたが、抗体の産生に起因すると考えられる毒性は認められていない。

腎臓の影響に対するエキスパートレポートとしてラット26週間反復静脈内投与及び4週間回復試験での腎臓を病理組織学的に精査し、発現した腎腫瘍と投与の関連性について、病理専門家によるレビューを実施している。全動物の腎臓の病理組織標本を光学顕微鏡的に精査した結果、高用量投与群と回復群の雌各1例で典型的な腎芽腫が認められたが、その他の腎腫瘍は認められていない。腫瘍以外の所見として加齢性の自然発生性の病変が認められたのみで、前腫瘍性病変を含む腎臓のいかなる構成組織にも投与の影響は認められていない。

腎芽腫は胎児性の腫瘍であり、化学物質等によるラット実験的誘発では腎臓組織が未発達な胎児や未熟な個体の感受性が高いことが報告されている。腫瘍の発生には通常前病変が伴い、ラット腎芽腫の場合の前腫瘍性病変は、尿細管間に芽細胞の小集簇として見られるが、本レビューでは認められていない。また本薬は生物学的たんぱく産物であり非遺伝毒性物質と考えられ、通常腎芽腫を誘発する化学物質は強い遺伝障害性を有し多臓器に対する発癌物質でもある。これら化学物質による腎芽腫の誘発には胎児発生後期での経胎盤投与、卵巣摘出若齢ラットへの投与あるいは免疫抑制下での投与など特殊な状況下での報告が多い。さらに米国 National Toxicology Program (NTP)あるいは National Cancer Institute (NCI) program で試験された約400の化合物中39種類がラットあるいはマウスに腎臓腫瘍を誘発したが、組織型はいずれも腎芽腫ではなかった。以上の理由から本薬と腎芽腫発生の関連性は極めて低く、さらにある種の系統のラットでは腎芽腫が高率に発現し、遺伝的要因も発生に重要な関わりが考えられる。このうち、Upjohn Sprague-Dawley系の亜系統では雄よりも雌でより発現するとの報告があり、本薬の26週間投与試験に用いたSprague-Dawleyラットは同腹児の履歴はないものの、腫瘍が発現した2例の雌ラットが近い関係にある可能性は否定できない。結論として本試験で発現した腎芽腫の発現は自

然発生的なものと考えられる。

(4) 生殖発生毒性試験

生殖発生毒性試験として、ラットを用いた生殖機能及び次世代の発生に及ぼす影響について「雄ラットにおける授胎能に関する試験」及び「雌ラットにおける受胎能及び催奇形性に関する試験」が実施されている。また、ウサギを用いた母動物及び次世代の発生に及ぼす影響は「ウサギにおける催奇形性に関する試験」が実施されている。

雄ラットにおける授胎能に関する試験は雄ラットに交配前 28 日間及び交配期間から剖検まで、0、0.0625、0.25 及び 1.0mg/kg を 3 回/週、投与し無処置雌と交配後、受胎した雌は妊娠 13 日に帝王切開を行い雄の生殖機能及び次世代の発生に及ぼす影響を検討している。いずれの投与量においても投与に起因すると考えられる一般毒性、雄の生殖能や生殖器官重量、精子検査及び精巢の病理組織学的検査で影響はなかった。さらに、胎児に対しても胚児致死作用はみられず、雄動物の一般毒性及び生殖並びに次世代の発生に対する無毒性量は 1.0mg/kg を上回ると判定されている。

雌ラットにおける受胎能及び催奇形性に関する試験は雌ラットに交配 14 日前から妊娠 17 日まで 0、0.0625、0.25 及び 1.0mg/kg を 1 日 1 回投与し無処置の雄と交配させている。妊娠した雌は妊娠 20 日目に帝王切開し、生殖機能及び次世代の発生に及ぼす影響を検討している。いずれの群でも投与に起因すると考えられる一般毒性や雌の生殖能に影響はなかった。また胎児についても胚・児致死作用及び催奇形作用は認められず雌動物の一般毒性及び生殖並びに次世代の発生に対する無毒性量は 1.0mg/kg を上回ると判定されている。

催奇形性に関する試験として雌のウサギに 1 日 1 回の頻度で妊娠 7 日から 19 日まで 0、0.0625、0.25 及び 1.0mg/kg を投与し、母動物及び次世代の発生に及ぼす影響を検討している。いずれの投与量においても、投与に起因すると考えられる一般毒性及び妊娠維持に対する影響は見られていない。また、胎児についても胚・児致死作用及び催奇形作用は認められず雌動物の一般毒性及び生殖並びに次世代の発生に対する無毒性量は 1.0mg/kg を上回ると判定されている。

(5) 抗原性試験

抗原性試験としては原薬中に含まれる不純物である BIgG、BSA 及びウシトランスフェリンの抗原性を評価するために、本薬及び不純物 (BIgG : 2.0 μ g/mg, BSA : 300ng/mg, ウシトランスフェリン : 200ng/mg) を添加した本薬のモルモットを用いた能動的全身性アナフィラキシー (以下、ASA) 及び受身皮膚アナフィラキシー (以下、PCA) 試験を実施している。

Hartley 系雌性モルモットを用い感作は 0.2mg/kg の本薬 (不純物無添加品及び不純物添加品) を週 1 回、3 週間静脈内投与した。感作動物に本薬を含まない不純物混合液を静脈内投与して ASA 反応を惹起した。また、感作動物より得た血清を皮内投与した動物に、エバンスブルーと不純物混合液を静脈内投与して PCA 反応を惹起した。いずれの抗体検出系においても不純物に対する反応は認められていない。一方、これらの感作動物又は感作血清を用いて本薬で惹起した場合には、アナフィラキシー反応が認められた。

以上の結果から、本薬はヒトたんぱくであることからモルモットで抗原性を示すものの、本試験条件下では本薬に含まれる不純物の抗原性は認められないとしている。

本薬の保存条件変更 (冷蔵→冷凍) に伴い発生する重合体と本薬の抗原性の異同についてモル

モット血清を用いたゲル内沈降反応（Ouchterlony 法）で検討している（参考資料ニ-4）。

Hartley 系雄性モルモットを用い本薬重合体エンリッチ品感作群として、臨床用量である 0.2 mg/kg を静脈内に 2 回あるいは 3 回投与する群、陽性対照群として 2 mg/kg の卵白アルブミン（以下、EA）を皮下投与する群、対照群として無処置群を設けている。最終感作 2 週間後に血清を採取してゲル内沈降反応（Ouchterlony 法）を実施した結果、本薬重合体エンリッチ品感作群及び EA 感作群より得られた血清はいずれも抗原である本薬重合体エンリッチ品あるいは EA と沈降線を形成せず、本感作条件で得られた血清では抗原性の異同を評価できていない。陽性対照である EA 投与群でも沈降線は形成されなかったが、同時期に実施した EA を Freund's complete adjuvant（以下、FCA）とともに投与した試験では沈降線が形成されたことから、抗原性を評価するためには FCA を用いた検討が適切と考え、追加検討を実施している。

Hartley 系雄性モルモットを用い、臨床用量（0.2 mg/kg）の約 3 倍量である 0.58 mg/kg の本薬重合体エンリッチ品を免疫増強剤である FCA とともに週 1 回、3 週間皮下投与して感作し、非感作群として生理食塩液と FCA の等量乳化物を投与する群、陽性対照群として 2 mg/kg の EA を FCA とともに感作する群を設けている。

最終感作 2 週間後に血清を採取してゲル内沈降反応（Ouchterlony 法）を実施した結果、本薬重合体エンリッチ品感作群より得られた血清はいずれも抗原として用いた本薬重合体エンリッチ品及び本薬と沈降線を形成し、かつ 2 本の沈降線はいずれも融合したため、本薬重合体エンリッチ品と本薬の抗原性に異同はないとしている。一方、非感作群より得られた血清はいずれも本薬重合体エンリッチ品及び本薬とは沈降線を形成しなかった。EA 感作群より得られた血清は EA を抗原とした場合、明かな沈降線を生じ非感作群より得られた血清は EA と沈降線を形成しなかった。

以上の結果から、本試験条件下では本薬 重合体エンリッチ品と本薬の抗原性に異同は認められないとしている。

機構は、臨床使用における本薬中に含まれる BIgG に対する抗体産生の可能性について説明を求めた。

米国第 II 相試験及び継続投与試験において本薬が投与された被験者 25 例の血清中の抗体を部分精製した宿主細胞たんぱく質及びウシ血清たんぱく質（BIgG を含む）を抗原として ELISA 法で測定したところ、25 例中 8 例において当該抗原に対する抗体が陽性であった。投与時反応が認められた被験者は、陽性 8 例中 4 例、陰性 17 例中 8 例であり、当該抗原に対する抗体発現と投与時反応の間に関連は認められなかった。また、ドイツにおける女性患者を対象とした臨床試験においては、本薬が投与された被験者 15 例中 2 例で当該抗原に対する抗体が陽性であったが、この 2 例を含め 15 例全例で投与時反応は認められなかった。以上のことから臨床試験において投与時反応との関連性は認められず、モルモットを用いた抗原性試験においてもアナフィラキシー反応は認められなかったことから、含有される BIgG が安全性上の問題となる可能性は低いと考えられる旨申請者は回答した。

機構は、回答を了承した。

(6) 遺伝毒性試験

遺伝毒性試験は本薬がたんぱく製剤であることより実施されていない。

(7) 局所刺激性試験

局所刺激性試験は実施されていない。しかしラット及びカニクイザルで実施した一般毒性試験いずれの試験でも投与部位に異常は認められず、さらに、カニクイザルの試験では病理組織学的検査においても投与部位に異常は認められていない。

(8) がん原性試験

本薬はヒト細胞内リソソーム中に存在する加水分解酵素であり、がん原性を指摘する報告もなく、ラットの 26 週間反復投与毒性試験において腫瘍性病変が認められたものの、いずれも自然発生的なものとされたことから、がん原性試験は実施されていない。

(9) 依存性試験

各種毒性試験及び一般薬理試験において中枢への影響を示唆する変化が認められなかったことから、依存性試験は実施されていない。

(10) 併用毒性試験

本薬はヒト型酵素たんぱくで遺伝的に本酵素活性が低い患者に対し補充療法として直接血液中に投与され、投与後は機能を発揮する場所である臓器組織に速やかに分布し、血中からは速やかに消失、投与後 3 時間には投与前のレベルまで活性が低下するとの理由により併用毒性に関する試験は実施されていない。

2) 機構における審査の概略

機構はラット 13 週間反復静脈内投与時の血清中 α GAL 活性及び C_{max} が、測定時期と雌雄により差 (10 倍) が認められた要因について申請者に説明を求めた。

申請者は以下のように回答した。血清中 α GAL 活性の C_{max} は、投与後最初の 2 時点である投与後 5 分の濃度 (以下、 $C_{(5)}$) と投与後 10 分の濃度 (以下、 $C_{(10)}$) を用い、 $C_{(5)}$ が $C_{(10)}$ より高い濃度を示した場合は $C_{(5)}$ 及び $C_{(10)}$ の対数を時間に対してプロットし、これらを結ぶ直線式から、投与直後の濃度 (以下、 $C_{(0)}$) として外挿して算出、 $C_{(10)}$ が $C_{(5)}$ より高い濃度を示した場合は $C_{(10)}$ を、 $C_{(5)}$ 及び $C_{(10)}$ が同じ濃度を示した場合は $C_{(5)}$ 及び $C_{(10)}$ をそれぞれ C_{max} として提示した。さらに C_{max} の測定時期差に異種たんぱくに対する抗体産生が影響している可能性を検討し、血清中 α GAL 活性と抗 α GAL 抗体陽性の動物数の関係については、試験に用いた動物が同一個体でないため明確な関連は不明であるものの、抗体陽性の動物数と血清中 α GAL 活性の変動との間に明確な傾向が認められず、血中濃度と抗体産生の機序については解明できなかったが、抗体の産生が α GAL の体内動態に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。また投与量の違いや雌雄を用いた複数の試験において、血清中 α GAL 活性に一定の傾向が認められないため、測定時期の違いや性差によって差が生じた可能性は低いと考えられる。

単回投与後と反復投与後を比較したときの C_{max} に大きなばらつきが認められた要因としては、本薬は消失が速やかであり、特に静脈内投与直後という薬物濃度が変化しやすい時期の測定であったこと、一時点ごとに別動物から採血したため $C_{(5)}$ と $C_{(10)}$ は、異なる動物であること、さらに実測値から外挿して算出した値を用いたためであると考えられた。なお、AUC については大きなばらつきは認められていない。

機構は回答を了承した。

機構はイヌで強いアナフィラキシー反応が認められたことから、種差による反応性の違いについて申請者に説明を求めた。

申請者は以下のように回答した。一般に動物種によりアナフィラキシーに対する反応性は異なり、イヌはラットに比べてアナフィラキシー反応を起こしやすい動物であることが知られているが、その種差のメカニズムについての詳細は明らかではない。アナフィラキシー反応時に血管透過性を亢進させるヒスタミン閾値濃度がイヌはラットと比較して 100~1,000 倍感度が高いことがその一因となった可能性は考えられる。本薬投与によるイヌでのアナフィラキシー反応は、異種たんぱくに対する免疫反応に起因したものであると考え、ヒトで起こる可能性は低いと考えられる。

機構は回答を了承した。

機構は局所刺激性試験を実施せず、ヒトでの安全性を確保出来るとした理由について申請者に説明を求めた。

申請者は以下のように回答した。ラットやサルへのいずれの反復投与試験においても一般症状観察及び剖検の結果、投与部位には何ら所見が認められておらず、また近接した部位に複数回投与した場合でも投与部位における傷害は認められなかった。臨床試験での投与部位についての詳細な記録はないが、投与頻度は 2 週間に 1 回であり、かつ完全に同一部位に投与する可能性は低いことから、臨床での局所刺激性は類推可能であり、本薬の局所刺激性には問題ないと考えられる。なお、本邦での第 II 相臨床試験では、投与部位の刺激性に起因する有害事象は報告されていない。

機構は回答を了承した。

機構は、反復投与毒性試験における最大投与量や反復期間について、一般の薬物に比べると必ずしも十分とはいえないが、本薬はヒト細胞を用いて生産されるスフィンゴ糖脂質の加水分解酵素 α GAL であり、臨床投与量が (0.2mg/kg/2week) であり、それと比べて約 10 倍の用量まで試験されていることを考慮すると、提出された資料からは大きな問題はないと考えた。

ホ. 薬理作用に関する資料

1) 提出された資料の概要

(1) 効力を裏付ける薬理試験

ファブリー病患者と同様に肝臓、心臓及び腎臓で CTH が蓄積することが知られている雄性ヘミ接合体 α GAL ノックアウトマウスを用いて本薬の CTH に対する効果について検討された。

約 5~10 カ月齢の雄性ヘミ接合体 α GAL ノックアウトマウスにおいて、本薬 (0.27 及び 0.78 mg/kg) を週 3 回 3 週間 (計 7 回) 間歇静脈内投与すると、肝臓の CTH 蓄積が減少した (減少率: 97.7 及び 97.5%、CTH 量: 対照群 7.32 ± 1.87 nmol/mg protein (平均値 \pm SD)、本薬群 0.17 ± 0.04 及び 0.18 ± 0.10 nmol/mg protein)。各用量での CTH 減少率は、心臓では 73.2% 及び 76.1% (CTH 量: 対照群 2.72 ± 0.53 nmol/mg protein、本薬群 0.73 ± 0.17 及び 0.65 ± 0.26 nmol/mg protein)、腎臓では 21.0% 及び 24.2% (CTH 量: 対照群 41.29 ± 8.58 nmol/mg protein、本薬群 32.62 ± 7.75 及び 31.30 ± 9.06 nmol/mg protein) であった。また、週 1 回 8 週間 (計 8 回) 間歇静脈内投与した時には、いずれの投与量でも肝臓の CTH は減少し (減少率: 98.5 及び 99.1%、CTH 量: 対照群 11.49 ± 2.55 nmol/mg protein、本薬群 0.23 ± 0.09 及び 0.14 ± 0.04 nmol/mg protein)、心臓では 64.9% 及び 86.6% (CTH 量: 対照群 1.34 ± 0.33 nmol/mg protein、本薬群

0.47±0.27 及び 0.18±0.06 nmol/mg protein)、腎臓では 29.1%及び 63.5% (CTH 量：対照群 40.95±4.63 nmol/mg protein、本薬群 29.02±6.90 及び 14.93±2.58 nmol/mg protein) であった。最終投与 7 日後に肝臓、心臓及び腎臓を採取し、抗 α GAL 抗体を用いて免疫組織化学的染色を行ったところ、本薬投与群での肝臓に強い陽性所見が認められた。

また、以下の資料が参考資料として提示された。約 6.5 カ月齢の雌性ホモ接合体 α GAL ノックアウトマウスに本薬 (0.2 及び 1.0 mg/kg) を単回静脈内投与あるいは本薬 (0.1 及び 1.0 mg/kg) を週 3 回 (計 7 回) 静脈内投与したところ、肝臓、心臓及び腎臓で CTH 減少が認められた。

以上のことから、本薬は肝臓、心臓及び腎臓において CTH 蓄積を軽減させることが示唆された。

(2) 作用機序

機構は、本薬の作用機序について申請者に説明を求め、申請者は以下のように説明した。

ファブリー病では、細胞内リソソーム中の加水分解酵素である α GAL の活性が先天的に欠損あるいは低下しているため、本酵素により分解されるべきスフィンゴ糖脂質の蓄積がみられ、主として CTH が様々な細胞や組織内に進行性に蓄積する。ヒト体内において、細胞外に分泌された α GAL は、その糖鎖部分の M6P 残基が細胞表面の M6P レセプターに結合することによって捕捉され、細胞内に取り込まれてリソソームに輸送されることが知られている (Kornfeld, S. and Mellman, I. Ann. Rev. Cell Biology 1989; 5: 483-525)。このことから、 α GAL を静脈内投与することにより、ファブリー病患者の細胞内リソソームに到達させることが可能と考えられ、 α GAL の補充療法が検討されてきた。

本薬は、 α -ガラクトース残基を加水分解により切り離す酵素活性を有するとともに、糖鎖には M6P 残基が存在し、これが細胞表面の M6P レセプターに結合することにより細胞内に取り込まれ、リソソームに輸送されて細胞及び組織内に蓄積するスフィンゴ糖脂質を分解することにより効力を発揮するものと考えられる。

(3) 一般薬理試験

本薬の一般薬理試験として、一般症状及び行動、中枢神経系、呼吸・循環器系、自律神経系・平滑筋、消化器系、泌尿器系、血液系に及ぼす影響が検討され、*in vivo* 試験では 10 mg/kg (i.v.)、*in vitro* 試験では 3×10^{-5} g/mL まで特記すべき事項は認められていない。

2) 機構における審査の概略

(1) モデル動物の妥当性について

機構は、CTH を指標として α GAL ノックアウトマウスをファブリー病のモデル動物とするものの妥当性について、ファブリー病患者と α GAL ノックアウトマウスとの病態の相違点及びその理由について、公表論文等での考察もまとめた上で申請者としての考えを示すよう求めた。

申請者は以下のように回答した。ファブリー病患者と α GAL ノックアウトマウスでの病態との間には以下のような差がある。

α GAL ノックアウトマウスでは、加齢に伴い、ファブリー病患者で障害を受ける主要臓器とされる腎臓、心臓等で CTH が蓄積する。しかしながら、脂質蓄積パターンについては、血管内皮細胞において、ファブリー病患者では CTH 蓄積が認められるのに対し、ノックアウトマウスで

は軽度である。また、寿命を含めファブリー病患者でみられる臨床症状や臓器障害は、 α GAL ノックアウトマウスの 80 週齢まで認められていない (T. Ohshima et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1997; 94: 2540-2544, T. Ohshima et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1999; 96: 6423-6427)。

α GAL ノックアウトマウスとファブリー病患者で病態が異なる主な理由としては、糖脂質の代謝系の違いによる可能性が考えられる。ファブリー病患者で蓄積する CTH の供給源は十分には解明されていないが、血管の内皮細胞や平滑筋細胞においては、血中の CTH 取り込みが寄与しており (R.J. Desnick et al., In: The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease (ed by C.R. Scriver et al.), 7th ed, McGraw-Hill, New York, 1995 ; p2741-2784,)、赤血球の主要な中性糖脂質であり CTH の前駆体であるグロボシドが血中 CTH の主要な供給源と推定されている。一方、マウスではヒトに比べて赤血球におけるグロボシドの存在量が少ないとされている (T. Ohshima et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1999; 96: 6423-6427)。このため、 α GAL ノックアウトマウスでは血管内皮細胞で CTH が大量に蓄積せず、ヒトの病態とは異なるものと考えられる。さらに、マウスではヒトに比べて寿命が短く臓器への CTH 蓄積期間が短いことが、 α GAL ノックアウトマウスでは腎不全等の臓器障害や臨床症状を示さない理由と考える。 α GAL ノックアウトマウスではファブリー病患者の病態と異なっているが、 α GAL ノックアウトマウスにおいてもファブリー病患者で蓄積が認められている腎臓、肝臓、心臓等の臓器で同様の CTH 蓄積が観察されることから、外来性に投与した本薬がこれらの臓器に到達し、CTH 蓄積を軽減させることを薬理的に確認することは可能であると考えられる。

さらに機構は、 α GAL ノックアウトマウスで観察している組織 (肝臓・心臓・腎臓) の選択理由について、ファブリー病の病態と関連させて説明し、ファブリー病の病態等からみて、他の組織について確認する必要がなかったか申請者に説明を求めた。

申請者は以下のように回答した。ヒトにおけるファブリー病の病態を考慮すると、血管内皮細胞や血管平滑筋細胞における CTH 蓄積及び組織病理を検討することが重要と考えられる。しかしながら、 α GAL ノックアウトマウスでは血管内皮細胞や血管平滑筋細胞における CTH 蓄積が認められず、これらの細胞における本薬の薬効評価は困難と考える。ラットに ¹²⁵I 標識した本薬を単回投与したところ、肝臓に比較的高濃度に分布し、腎臓や心臓にも分布していた (吸収・分布・代謝・排泄の項参照) ことから、肝臓、心臓及び腎臓を観察することとした。

以上について機構は、 α GAL ノックアウトマウスではファブリー病患者で認められるような臨床症状や臓器障害が認められないことから、 α GAL ノックアウトマウスがファブリー病の病態モデルとして適当であるとは言い切れないものの、本薬による CTH 蓄積の減少作用を確認することは可能であると考えている。

(2) 投与量等の妥当性について

機構は、投与量及び投与間隔も含めた投与方法の妥当性について、申請者にヒトにおける実使用時を考慮に入れた説明を求めた。また、正常動物と比較したデータもあれば提示するよう求めた。

申請者は以下のように回答した。

①投与量及び投与間隔も含めた投与方法の妥当性について

本薬の用法・用量に関しては、本邦及び海外の臨床試験成績に基づき、0.2mg/kg の投与量で 2 週間に 1 回の投与頻度が設定されている。

雄性 α GAL ノックアウトマウスにおける本薬の投与量は 0.27 及び 0.78mg/kg であり、臨床での投与量に近い用量で薬効が認められると考えられる。本薬を単回投与した時の血中濃度の半減期は、マウス、ラット等の動物及びヒトともに 2 時間以内と短かったが、ラットに $[^{125}\text{I}]$ 標識した本薬を単回静脈内投与した時の組織（肝臓、心臓及び腎臓）中放射能濃度の半減期は 1~2.5 日であった。また本薬ではないものの、ファブリー病患者由来の線維芽細胞内に取り込まれた α GAL 活性の細胞内半減期は 4 日であることが報告されている（Mayes JS, et al., Am. J. Hum. Genet. 1982; 34: 602-610）。さらに、米国第 I 相試験において、ヒトでの本薬の肝臓中半減期は 1 日以上と推定される。これらのことから、ヒト及び動物において、本薬の血中や組織濃度の半減期に大きな差はなく、間歇投与でも効果が期待できるものと推察される。

②正常動物との比較について

参考資料として提出した雌 α GAL ノックアウトマウスの試験では、雌正常マウスの CTH レベルも測定している。雌正常マウスの肝臓、心臓及び腎臓の CTH 含量は、それぞれ約 0.04、0.01 及び 0.37 nmol/mg protein であり、雌 α GAL ノックアウトマウス（4.75、3.32 及び 20.73 nmol/mg protein）に比べて低値であった。一方、雌 α GAL ノックアウトマウスに本薬を投与すると、これらの臓器で CTH 蓄積が軽減され、3 週間間歇投与では肝臓で CTH 蓄積が雌正常マウスのレベル程度まで軽減されたと申請者は考えている。

機構は、回答を了承した。

(3) 一般薬理試験について

機構は、一般薬理試験として実施された試験の妥当性について申請者に説明を求めた。

申請者は以下のように回答した。

一般症状及び行動では全身組織の障害について、鎮痛作用では後根神経節への影響、呼吸・循環器系では心筋細胞、血管系内皮・外皮、平滑筋細胞、自律神経系、摘出回腸では自律神経系、尿量・尿中電解質排泄では腎上皮細胞及びメサングウム細胞の障害について確認している。

本薬の臨床用量 0.2mg/kg の 50 倍量に相当する 10mg/kg まで静脈内投与しており、いずれの器官系にも影響は認められていない。以上から、一般薬理試験において実施された試験項目はファブリー病における障害組織と照らして考えた場合でも問題ないものとする。

機構は、試験で使用した動物の妥当性についても考慮する必要があると考えるものの、本薬が酵素補充療法に用いる薬物であることや毒性試験において確認された内容もあること等を考慮して、提出された資料で評価することとした。なお、実使用時の安全性については臨床の項を参照のこと。

へ. 吸収、分布、代謝、排泄に関する資料

1) 提出された資料の概要

薬物動態の検討には、本薬の ^{125}I -標識体及び非標識体を用いられた。血清中放射能濃度は液体シンチレーションカウンターにより測定し、血清中（血漿中）非標識体濃度は内因性 α GAL 活性のバックグラウンド値を差し引いた α GAL 活性濃度として算出した。また、 α GAL 活性は、合成基質の 4-メチルウンベリフェリル- α -ガラクトピラノシドを 1 時間に 1nmol 加水分解する活性を 1U として表示した。

(1)非臨床薬物動態試験成績

①吸収

i)単回投与

雌雄ラットに本薬 0.0625、0.25 及び 1mg/kg を単回静脈内投与したとき、投与直後の血清中 α GAL 活性 (C_{max}) は雄ではそれぞれ 2,381、11,843 及び 39,939 U/mL、雌ではそれぞれ 932、5,527 及び 33,458 U/mL、血清中 α GAL 活性の $AUC_{0-t_{last}}$ は雄ではそれぞれ 446、2,042 及び 11,081 U·hr/mL、雌ではそれぞれ 283、1,633 及び 8,795 U·hr/mL であり、投与量の増加に伴ってほぼ直線的に上昇した。 C_{max} 及び $AUC_{0-t_{last}}$ の増加率は、雄の C_{max} を除いて投与量の増加率よりもやや大きく、これに関して申請者は、投与量の増加に伴い組織への取り込み等の消失経路が飽和している可能性も示唆されるが、雄における 0.25mg/kg 投与及び 1mg/kg 投与での CL 値を 0.0625mg/kg 投与と比較すると、それぞれ 95%及び 71%であり、非線形の程度は顕著なものではないと考察している（雌ではデータ不十分のため 0.0625mg/kg 投与での CL が算出できなかった）。また、 C_{max} 及び $AUC_{0-t_{last}}$ は雄が雌よりも高い傾向を示したが、 V_{ss} 及び CL に性差は認められなかった。

雄イヌに本薬 0.0625、0.25 及び 1mg/kg を単回静脈内投与したとき、 C_{max} はそれぞれ 1,767、10,492 及び 43,605 U·hr/mL、血清中 α GAL 活性の $AUC_{0-\infty}$ はそれぞれ 231、1,554 及び 9,508 U·hr/mL であった。 C_{max} 及び $AUC_{0-\infty}$ の増加率は、投与量の増加率よりも大きく、0.25mg/kg 投与及び 1mg/kg 投与での CL 値を 0.0625mg/kg 投与と比較すると、それぞれ 62%及び 38%と低下しており、申請者は、投与量の増加に伴い組織への取り込み等の消失経路が飽和している可能性が示唆されると考察している。

雄サルに本薬 0.063、0.25 及び 1mg/kg を単回静脈内投与したとき、 C_{max} はそれぞれ 3,191、15,756 及び 27,905 U/mL、血清中 α GAL 活性の $AUC_{0-\infty}$ はそれぞれ 451、3,147 及び 12,822 U·hr/mL であり、サルの体内動態は非線形である傾向が示唆された。0.25mg/kg 投与及び 1mg/kg 投与での CL 値を 0.0625mg/kg 投与と比較すると、それぞれ 64%及び 60%と低下しており、申請者は、投与量の増加に伴い組織への取り込み等の消失経路が飽和している可能性が示唆されると考察している。

雌雄サルに本薬 1mg/kg を単回静脈内投与した時、血清中 α GAL 活性の動態パラメータには明確な性差は認められなかった。

ii)反復投与

雌雄ラットに本薬 0.0625、0.25 及び 1mg/kg を 1 週間に 1 回 13 週間反復静脈内投与した時、単回投与後と反復最終投与後の C_{max} 及びその $AUC_{0-t_{last}}$ に差はなく、雌雄ともに反復投与による蓄積傾向は認められなかった。

雄イヌに本薬 1mg/kg を 1 週間 1 回 4 週間反復静脈内投与した時、4 週間反復投与後では単回投与後と比べて C_{max} は 67%に減少し、 $AUC_{0-\infty}$ は 209%に増加し、見掛けの消失半減期 ($t_{1/2}$) は約 18 倍に延長した。この結果に関して申請者は、血液学的、血液生化学的検査の結果及び病理組織学的検査の結果から、血中ヒスタミン濃度の上昇、抗体の産生が観測されており、イヌにおいては強くアナフィラキシー反応が認められたこと、また、単回投与試験に比べて例数が不足していることから、イヌを用いた反復投与試験では本薬の蓄積性について適切に評価できていないと考察している。

雄サルに本薬 0.063、0.25 及び 1mg/kg を 1 週間 1 回 13 週間反復静脈内投与した時、単回投与後と反復投与後の C_{max} 及び $AUC_{0-\infty}$ に差はなく、反復投与による蓄積は認められなかった。

②分布

雄ラットに、ポリソルベート 20 を含まない処方で $[^{125}I]$ 標識した本薬 0.13 及び 1.28 mg/kg を単回静脈内投与した時、放射能分布は、投与後 4 時間では甲状腺（血漿の 420~510 倍）及び肝臓（血漿の 8~10 倍）で高く、脾臓、骨髄及び胃においても血漿より高濃度の放射能が認められた。投与後 24 時間では、甲状腺を除くすべての組織で、放射能は投与後 4 時間に比べて低下した。投与後 4 時間において、甲状腺、肝臓、脾臓、骨髄及び副腎に分布した放射能は、その 70% 以上が、組織ホモジネートを TCA で処理した場合の TCA 沈殿画分に存在することから、たんぱく質として存在しているものと考えられた。

雄ラットに、ポリソルベート 20 を含む処方で、 $[^{125}I]$ 標識した本薬 1.41~1.49mg/kg を単回静脈内投与した時、投与後 4、24 及び 48 時間の組織中放射能分布は、ポリソルベート 20 を含まない処方と比較して差は認められなかった。また、投与後 48 時間においても甲状腺、腎臓及び肝臓には比較的高濃度の放射能が認められた。

③ 代謝

本申請においては、代謝に関する試験は実施されていない。

④ 排泄

雄ラットに、ポリソルベート 20 を含まない処方で $[^{125}I]$ 標識した本薬 0.13 及び 1.28mg/kg を単回静脈内投与した時、投与後 24 時間までに投与放射能の 61.6~78.8% が尿中に排泄された。なお、投与後 24 時間の肝臓に投与放射能の 18~37% が分布していた。

雄ラットに、ポリソルベート 20 を含む処方で $[^{125}I]$ 標識した本薬 1.41mg/kg を単回静脈内投与した時、投与後 48 時間までに投与放射能の 65.9% が尿中に排泄された。なお、投与後 48 時間の肝臓及び甲状腺にそれぞれ投与放射能の 7% が分布していた。

(2)臨床薬物動態試験成績

本薬の薬物動態は、国内において 18 歳以上の男性ファブリー病患者を対象に、外国において男女ファブリー病患者を対象に検討された。

①本邦における第 II 相試験 (D3101002 試験、添付資料ト・1)

日本人男性ファブリー病患者 12 例を対象に、本薬 0.2mg/kg を 2 週間に 1 回、40 分間で 12 回静脈内投与した国内第 II 相試験において、初回投与時での血漿中 α GAL 活性の C_{max} 、 $AUC_{0-\infty}$ 、 $AUC_{0-\infty}$ /投与活性(以下、 $AUC_{0-\infty}$ 補正值)及び $t_{1/2}$ の平均値は、それぞれ 5,169 U/mL、364,277 min·U/mL、0.52 及び 56 min であり、12 回目投与時 (1 例脱落し 11 例) での血漿中 α GAL 活性の C_{max} 、 $AUC_{0-\infty}$ 、 $AUC_{0-\infty}$ 補正值及び $t_{1/2}$ の平均値は、それぞれ 3,030 U/mL、334,225 min·U/mL、0.48 及び 134 min であった。12 回目投与時では、初回投与時と比較して C_{max} の平均値の低下、 $AUC_{0-\infty}$ 及び $AUC_{0-\infty}$ 補正值の平均値の減少及び $t_{1/2}$ の平均値の延長が認められた。被験者別では、5 例 (No.1、3、4、9 及び 10) で C_{max} が低下し、このうち 4 例では $AUC_{0-\infty}$ 及び $AUC_{0-\infty}$ 補正值

の減少もみられた。この5例のうち、2例（No.3及び4）では、ELISA法により測定した血清中抗 α GAL IgG抗体が8週後で陽性（初回投与前の吸光度の2倍以上の上昇）であった。その後、No.3の抗体価はやや低下したが、16週後及び23週後においても初回投与前の1.7倍程度であった。一方、No.4では、抗体価は16週後及び23週後においてほぼ初回投与前値まで低下した。他の3例（No.1、9及び10）は、試験期間を通して抗体の産生はみられなかった。以上から、申請者は、抗体の産生と当該パラメータの低下あるいは減少が時期的に一致していると考えられるのは、該当する5例のうちNo.3の1例のみであり、薬物動態パラメータの変化は必ずしも抗体の産生と一致しなかったと説明している。

②海外における第I相試験（TKT001試験、添付資料ト-2）

欧米人男性ファブリー病患者10例を対象に、遺伝子組換え法によって製造した α GAL 0.007、0.014、0.028、0.056及び0.110 mg/kg（各2例）を20分間で静脈内投与した米国第I相試験において、いずれの用量でも活性はほぼ投与終了時の20～24分で最大となった後、低下し、8時間後にはほぼ消失した。 C_{max} 及び $AUC_{0-\infty}$ は、投与酵素活性（U/kg）の増加に伴って直線的に増加した。また、本試験においては、投与前及び投与後44時間に実施した肝バイオプシーによって得られた検体中の α GAL活性を測定し、肝臓中の薬物動態が検討されている。肝臓に対する分布率は、投与量の増加に応じて減少する傾向がみられた。肝臓への分布率が44時間後においても25%を超える例が認められることから、申請者は、肝臓中の半減期は24時間以上であると考察している。また、投与後の α GAL活性の濃度は、0.056mg/kgと0.110mg/kgでほぼ同様であり、申請者は、肝臓への取り込みは飽和していると考察している。さらに、抗ヒト α GAL抗体を用いた免疫組織学的染色により、肝臓への分布を検討したところ、投与後の標本でクッパー細胞及び洞様内皮細胞の染色がみられ、肝実質細胞では細胞膜近傍の細胞内小器官に染色が認められた。

③米国における継続投与試験（TKT006試験、添付資料ト-4）

米国第II相試験を終了した欧米人男性ファブリー病患者23例（プラセボ又は本薬0.2mg/kgを2週間に1回12回静脈内投与）を対象に、本薬0.2mg/kgを2週間に1回26回静脈内投与した継続投与試験において、継続投与試験初回投与時（プラセボからの切り替え群では1回目、継続投与群では13回目投与）及び51週投与時（切り替え群では26回目、継続投与群では38回目投与）の投与後24時間までの血漿中薬物濃度が測定されている。切り替え群の初回投与時における C_{max} 、 $AUC_{0-\infty}$ 、 $AUC_{0-\infty}$ 補正值及び $t_{1/2}$ の平均値はそれぞれ3,386 U/mL、241,104 U \cdot min/mL、0.40及び108 minであり、いずれのパラメータも被験者間の変動は少なかったが、51週の時点でのパラメータは被験者間で変動がみられた。10例のうち3例（No.1、14及び22）で初回投与時に比較して、 C_{max} 、 $AUC_{0-\infty}$ 及び $AUC_{0-\infty}$ 補正值の明らかな低下・減少がみられ、4例（No.11、13、17及び25）では不変であり、3例（No.3、7及び9）では増加がみられた。パラメータの値の低下・減少がみられた3例のうち2例は本試験52週時で抗体が陽性であり、不変及び増加の7例では陰性であったことから、申請者は、パラメータの値の低下・減少に抗体産生が関与していると考察している。継続投与群の初回投与では、13例のうち8例（No.2、10、16、18、19、21、23及び27）で、初回投与時の切り替え群に比較して明らかな C_{max} 、 $AUC_{0-\infty}$ 及び $AUC_{0-\infty}$ 補正值の低値が認められた。この8例は、第II相終了時でいずれも抗体が陽性であったが、残りの5

例中 4 例で陰性であり、申請者は、パラメータの値の低下・減少に抗体産生が関与していると考えしている。さらに 51 週の時点では、継続投与群の被験者の大部分でパラメータの変化がみられた。初回投与時に当該パラメータの明らかな低値を示した 8 例のうち 4 例 (No.2、18、21 及び 27) では上昇・増加が、また、2 例では低下・減少 (No.16 及び 19) がみられた。また、1 例 (No.10) では不変であった (No.23 は実施せず)。残りの 5 例では、上昇・増加したものが 2 例 (No.8 及び 12)、不変が 1 例 (No.6) 及び低下・減少が 1 例 (No.4) であった (No.15 は実施せず)。初回投与時に明らかな低値を示し、51 週時にパラメータ値の上昇・増加が認められた 4 例のうち 3 例は、第 II 相終了時ではいずれも抗体が陽性であったが、本試験 52 週時においては陰性となっており、申請者は、抗体陰性になったことによってパラメータ値の低下・減少が回復したものと考察している。

④英国における継続投与試験 (27 週までの途中結果) (TKT007 試験、添付資料ト-6)

英国第 II 相試験を終了した欧米人ファブリー病患者 15 例 (プラセボ又は本薬 0.2mg/kg を 2 週間に 1 回 12 回静脈内投与) を対象に、本薬 0.2mg/kg を 2 週間に 1 回静脈内投与を行っている継続投与試験において、継続投与試験初回投与時 (プラセボからの切り替え群では 1 回目、継続投与群では 13 回目投与) 及び 27 週投与時 (切り替え群では 14 回目、継続投与群では 26 回目投与) の投与後 24 時間までの血漿中薬物濃度が測定されている。切り替え群の初回投与時における C_{max} 、 $AUC_{0-\infty}$ 、 $AUC_{0-\infty}$ 補正值及び $t_{1/2}$ はそれぞれ 4,115 U/mL、276,775 U·min/mL、0.46 及び 117 min であったが、27 週の時点でのパラメータに被験者間で変動がみられた。初回投与に比較して 2 例 (No.2 及び 13) で C_{max} 、 $AUC_{0-\infty}$ 及び $AUC_{0-\infty}$ 補正值の著明な低下・減少がみられた。このうち No.2 は抗体検査が陽性であったが、No.13 は陰性であった。継続投与群の初回投与では、同時期の切り替え群に比較して 2 例 (No.6 及び 15) で C_{max} 、 $AUC_{0-\infty}$ 及び $AUC_{0-\infty}$ 補正值の明らかな低値を示した。この 2 例は、いずれも第 II 相終了時では抗体が陽性であるが、他の 5 例はいずれも陰性であることから、申請者は、抗体産生とパラメータの減少には関連があると考察している。本試験 27 週時には、継続投与群の 5 例について測定が実施され、第 II 相終了時の抗体陽性及び陰性の判定は 27 週時においても変化はなかったが、初回投与時に薬物動態パラメータの低値を示した 2 例のうち 1 例 (No.15) では、上昇・増加する傾向が認められた。

⑤ドイツにおける女性患者を対象とした試験 (TKT014 試験、添付資料ト-7)

欧米人 (ドイツ) 女性ファブリー病患者 15 例を対象に、本薬 0.2mg/kg を 2 週間に 1 回、40 分間で静脈内投与したとき、初回投与時における C_{max} 、 $AUC_{0-\infty}$ 、 $AUC_{0-\infty}$ 補正值及び $t_{1/2}$ の平均値はそれぞれ 5,014 U/mL、336,736 U·min/mL、0.51 及び 89 min であった。

⑥本邦における成績と海外における成績の比較 (添付資料ト-1、4、6、7)

国内第 II 相試験と海外 3 試験 (米国継続試験、英国継続試験及びドイツ女性対象試験) における初回投与時の血漿中薬物動態パラメータを比較したとき、 C_{max} 及び $AUC_{0-\infty}$ は、国内第 II 相試験及びドイツ女性対象試験で米国継続試験及び英国継続試験と比較して高い傾向が認められたが、申請者は、 $AUC_{0-\infty}$ 補正值の値には大きな差は認められなかったことから日本人と欧米人では本薬の薬物動態に大きな差はないと判断している。また、 $t_{1/2}$ の平均値は国内第 II 相試験が最も小さい値に算出されたが、申請者は、この違いは本邦と海外において血漿中 α GAL 活性の測定下限値

が異なることにより生じたものであると考察している。

⑦異なる施設で製造された製剤の比較（追へ-2）

健康成人男性 40 例を対象に C*製剤及び D*製剤について 2×2 クロスオーバー試験を実施した結果、 AUC_{last} 補正值及び C_{max} /投与活性（以下、 C_{max} 補正值）の比（D*製剤/C*製剤）の幾何平均は 0.90（90%信頼区間：[0.88, 0.93]）及び 1.01（90%信頼区間：[0.99, 1.04]）であり、90%信頼区間は生物学的同等性試験の基準を満たした。

2) 機構における審査の概略

機構は主として以下の点について審査を行った。

(1) 本薬の体内動態の性差について

機構は、雌雄ラットに本薬を単回静脈内投与した際に、 C_{max} 及び $AUC_{0-tlast}$ に性差が認められたことについて申請者に考察を求めた。

申請者は以下のように回答した。13 週間反復静脈内投与した際の薬物動態パラメータも含めて、 $AUC_{0-tlast}$ について同一投与量及び同一測定週毎に雌雄ラットで比較したとき、雄/雌の比は 0.68～1.6 倍の範囲であり、若干のばらつきは認められたものの、一定の傾向はなく、本質的な雌雄差がある可能性は低いと考えられる。一方、 C_{max} について同一投与量及び同一測定週毎に雌雄ラットで比較すると、雄/雌の比は 0.22～2.6 倍の範囲であり、ばらつきも大きく、投与量及び測定週により大きな差が認められる場合があったが、性差に関する一定の傾向は認められなかった。 C_{max} は投与後 5 分及び 10 分の血清中 α GAL 活性値から投与直後の値として外挿して算出しており、実測値の個体差が増幅されることから、個体差及び計算上の要因によるところが大きく、本質的な性差が存在する可能性は小さいと考えられる。

機構は本回答を妥当と判断した。

(2) 本薬との薬物相互作用について

機構は、 α GAL 活性阻害作用を有する薬物と本薬との相互作用について申請者に説明を求めた。これに対し申請者は以下のように回答した。

EU の添付文書の「使用上の注意・薬物相互作用」には、「クロロキン、アミオダロン、ベノキン、ゲンタマイシンは細胞内 α GAL 活性を阻害するので併用してはならない。」と記載されている。該当する 4 薬剤のうち、 α GAL 活性を阻害すると報告されているのはクロロキンのみであり（*Experimental Cell Research*, 1981;136: 327-333）、アミオダロンとベノキンはファブリー病でみられる眼科的所見と同様の症状が現れること（*Arch. Ophthalmol.*,1981;99: 257-261, *Int. Ophthalmol.*,1981;4 (1-2): 67-76, *Annals of Ophthalmology*,1984;16 (8): 762-766, *Can. J. Ophthalmol.*, 1982; 17(3): 96-99, *Arch. Ophthalmol.*, 1983;101(1): 64-68）、ゲンタマイシンは尿中に α GAL が排泄されることが報告されている（*Schweiz Med. Wochenschr.* 108(40): 1541-1545; 1978）。しかし、EU 当局より、クロロキン以外の薬剤についても α GAL 活性を阻害する可能性を排除できないとして 4 薬剤の記載を勧告された。一方、アミオダロンに関しては α GAL 活性を阻害しないことが報告されており（*JAMA* 249(16): 2177-2178; 1983）、また、この他本邦において医薬品として承認され現在使用されている薬剤で α GAL 活性を阻害すると報告

されている薬剤は見出せなかった。したがって本邦の添付文書には α GAL 活性を阻害する薬剤に関する記載は不要としたが、添付文書への記載の必要性を判断するため α GAL 活性を阻害し、臨床的に影響する薬剤に関しては今後も調査を継続する。

機構は、海外における相互作用に関する注意喚起等を参考に、本邦の添付文書（案）を見直す必要があると考える。

(3) 人種間における薬物動態の比較について

機構は、 $AUC_{0-\infty}$ を投与活性で割った値（ $AUC_{0-\infty}$ 補正值）を比較に用いる理由及び日本人と欧米人の薬物動態の差について申請者に説明を求めた。

申請者は以下のように回答した。本薬は酵素製剤であり、製剤ロットごとに α GAL の 1mg あたりの酵素活性が異なるため、海外データとの比較にあたり投与活性による $AUC_{0-\infty}$ を補正した値を用いることが適切と考えられる。また、日本人と欧米人の初回投与時における薬物動態パラメータの差については、国内及び海外で実施された臨床試験における本薬の酵素活性が試験毎に異なるため、 $AUC_{0-\infty}$ 補正值及び C_{max} 補正值を求め、各試験の成績について比較したとき、国内第Ⅱ相試験、英国継続投与試験及びドイツ女性試験における両パラメータはほぼ同様であったことから、日本人と欧米人の間に大きな差はないと考えられた（機構注釈：英国継続投与試験における薬物動態パラメータは、国内第Ⅱ相試験及びドイツ女性試験の成績よりも低い傾向がみられる）。一方、米国継続試験では他の試験に比較して低下する傾向を示したが、原因の一つとして少数例のために個体差による偏りが考えられたが、明確な原因は分からなかった。

国内第Ⅱ相試験、米国継続投与試験及び英国継続投与試験における反復投与時の薬物動態パラメータの変動の程度差について、 C_{max} 補正值変動（初回投与－複数回投与）及び $AUC_{0-\infty}$ 補正值変動（初回投与－複数回投与）により検討したとき、国内第Ⅱ相試験及び英国継続試験における $AUC_{0-\infty}$ 補正值及び C_{max} 補正值の変動はほぼ同様であった。米国継続試験では他の試験に比較して低い値の範囲に分布したが、当該試験では他の 2 試験の約 2 倍の投与回数後の測定であったことが偏りの原因の一つである可能性はあると考えるが、原因は不明である。また、抗体の産生により $AUC_{0-\infty}$ 及び C_{max} が影響を受けて減少する傾向があることから、被験者ごとに IgG 抗体価と $AUC_{0-\infty}$ 補正值または C_{max} 補正值について検討を行ったが、全体として一定の関係はみられなかったため、抗体価の違いによる分布の偏りを説明することは出来なかった。しかしながら、ほぼ同一の投与回数で検討された国内第Ⅱ相試験及び英国継続試験における $AUC_{0-\infty}$ 補正值及び C_{max} 補正值の分布はほぼ同様であったことから日本人と欧米人の間に大きな差はないと考える。

機構は、各試験における初回投与時の C_{max} 、 $AUC_{0-\infty}$ 及び $AUC_{0-\infty}$ 補正值の値は大きな差はないとされているが、国内第Ⅱ相試験及びドイツ女性対象試験におけるパラメータ値が米国継続投与試験及び英国継続投与試験よりも高めとなる傾向がみられることから、この差について体格に関連する背景因子等を踏まえた説明を申請者に求めた。

申請者は以下のように回答した。体格に関連する背景因子である体重及び体表面積と当該の各試験の初回投与時における C_{max} 、 $AUC_{0-\infty}$ 及び $AUC_{0-\infty}$ 補正值の関係について検討したとき、体重の平均値が高い試験、または体表面積の平均値が高い試験ほど薬物動態パラメータ値の平均値が低い傾向がみられた。しかし、薬物動態パラメータ値と体重、または薬物動態パラメータ値と体表面積の間に一定の関係がみられなかった。したがって、体重の違い、体表面積の違いにより、国内第Ⅱ相試験及びドイツ女性対象試験におけるパラメータ値が米国継続投与試験及び英国継続

投与試験よりも高めとなる傾向を説明することは困難であると述べた。

機構は、各試験における症例数が少なかったことから、人種間における薬物動態パラメータ値の差についての説明が出来なかったものとする。

ト．臨床試験の試験成績に関する資料

1) 提出された臨床試験成績の概要

本邦における第Ⅱ相試験 (D3101002、ト-1)・継続投与試験 (D3101003、追ト-1)、米国における第Ⅰ相臨床試験 (TKT001、ト-2)・第Ⅱ相臨床試験 (TKT003、ト-3)・継続投与試験 (TKT006、ト-4)、英国における第Ⅱ相臨床試験 (TKT005、ト-5)・継続投与試験 (TKT007、ト-6 及び追ト-2)、ドイツにおける女性患者を対象とした臨床試験 (TKT014、ト-7) の 8 試験が評価資料として提出された。

(1) 本邦における第Ⅱ相試験 (D3101002) 添付資料ト-1

本薬の有効性と安全性を検討する目的で、18 歳以上の日本人男性ファブリー病患者 12 例を対象としたオープン (非盲検非対照) 試験が 20 年 月 から 20 年 月 まで実施された (薬物動態についてはへ項を参照)。

本試験における用法・用量は、米国及び英国における第Ⅱ相臨床試験 (TKT003、TKT005) と同様に、本薬 0.2mg/kg を、2 週間に 1 回の頻度で 12 回 (22 週間) 静脈内投与 (投与時間も海外と同様に 40 分間) とされた。

本試験に登録された 12 例全例に治験薬が投与されたが、そのうち 1 例 (No.11) について、4 回目投与中に投与時反応が発現し、治験責任医師の判断で試験が中止された。この被験者は 4 回目投与を完了しなかったことから、治験実施計画書の規定 (有効性解析対象は治験薬を 4 回以上投与された症例) に従い有効性解析対象から除外され、11 例が有効性解析対象とされた。安全性については治験薬が投与された 12 例全例が解析対象とされた。

被験者は全 12 例男性であり、年齢は 28.5 ± 7.9 (歳) (平均値 \pm SD)、 α GAL 活性 (健常人の基準値下限に対する%) は、 $4.8 \pm 2.6\%$ であった。活性絶対値については、1 例は血漿中活性で 0.20 nmol/hr/mL (基準値 $10.0 \sim 30.0$)、残り 11 例は白血球中活性で、内 7 例が外部検査機関で測定され $0.90 \sim 3.30$ nmol/hr/mg protein (基準値 $49.8 \sim 116.4$) であり、4 例は 3 つの医療機関にて測定され $0.16 \sim 3.20$ nmol/hr/mg protein (基準値 $19.7 \sim 38.0$, $21.2 \sim 53.1$, $30.8 \sim 39.6$) であった。また、本疾患に伴う疼痛の鎮痛剤である抗てんかん薬は 1 例を除いて全例が服用していた。

有効性については、血漿中 CTH 濃度・尿沈渣中 CTH 量・抗てんかん薬等非服用下での疼痛が主要評価項目とされた。血漿中 CTH 濃度については、投与前値から 23 週間にかけて有効性解析対象の全 11 例で低下し、平均値についても統計学的に有意な低下が認められた ($13.9 \pm 5.7 \rightarrow 6.8 \pm 2.2$ (nmol/mL) (平均値 \pm SD、以下同)、 $p=0.001$; Wilcoxon の符号付順位和検定、以下同)。また、尿沈渣中 CTH 量については、11 例中 10 例で減少し、平均値についても有意な減少が認められた ($3217.2 \pm 1804.9 \rightarrow 1714.3 \pm 1525.4$ (nmol/g クレアチニン)、 $p=0.002$)。次に、鎮痛目的の抗てんかん薬等非服用下における BPI [簡易疼痛調査用紙(縮小版)] 項目 3 (最強の痛み、0 から 10 の 11 段階) については、統計学的な有意差は認められなかったが、11 例中 7 例で改善した ($6.6 \pm 2.2 \rightarrow 5.5 \pm 2.3$ (ユニット)、 $p=0.25$)。

副次評価項目について、疼痛重症度は、11 例中 9 例でスコアが低下し 22 または 23 (22/23)

週後の投与前値からの変化量は -1.4 ± 1.9 と、統計学的に有意な改善が認められた ($p=0.031$; Wilcoxon の符号付順位和検定、以下同)。また、疼痛による生活妨害度は 11 例中 8 例で低下し、22/23 週後の投与前値からの変化量は -2.2 ± 2.5 と、有意な改善が認められた ($p=0.024$)。

心 MRI で測定した左室心筋重量は、心 MRI 解析対象 6 例中 5 例で維持あるいは減少したが、有意差は認められなかった (211.97 ± 101.59 (投与前値) $\rightarrow 203.59 \pm 116.00$ g (23 週後)、 $p=0.438$)。また、クレアチニンクリアランスは、投与前後で変化が認められなかった (11 例、 102.15 ± 22.57 (投与前値) $\rightarrow 102.52 \pm 33.00$ mL/min (23 週後)、 $p=0.831$)。腎組織病理検査では、3 例 (4 例が対象とされたが、1 例は糸球体数が規定に達せず除外) 中 2 例で正常糸球体の割合が増加あるいは維持された。また、腎組織中 CTH 量は 4 例で 491.42 ± 297.14 (投与前値) $\rightarrow 339.42 \pm 149.60$ nmol/mg protein (23 週後) と変化した。

抗 α GAL IgG 抗体は 2 例が 8 週後に陽性となったが、その後抗体価は低下し陰性化した。抗体が陽性となった 2 例のうち 1 例で投与時反応が発現したが、他の 1 例では投与時反応は発現せず、投与時反応との関連は不明であった。また、血清中抗 α GAL IgE 抗体は全例陰性であった。

安全性については、治験薬が投与された 12 例全例に有害事象が認められた。そのうち因果関係の否定できない有害事象 (副作用) は、12 例中 9 例 (75.0%) に 26 種類が認められた。主なものは、発熱、倦怠 (感)、四肢疼痛、悪寒、呼吸困難及びクレアチンフォスフォキナーゼ上昇であった。重篤な有害事象として 12 例中 1 例 (No.11) に、投与中のアレルギー反応 (呼吸困難、膨疹及びそう痒 (症)) が認められ、投与中止後ステロイド剤の処置により消失したが、経過観察のため入院した。治験は中止され、因果関係は「関連あり」と判定された。上記のアレルギー反応発現例以外に、膨疹、そう痒 (症) などの投与時反応が 2 例で発現したが、抗ヒスタミン剤の前処置により投与継続可能であった。

臨床検査値は、実施医療機関における基準値からの逸脱が散見されたが、異常変動ありと判定されたものは、好酸球増多 1 例、血清 GOT 上昇 1 例、 γ -GTP 上昇 1 例、LDH 上昇 1 例、尿たんぱくの増加 2 例及びクレアチンフォスフォキナーゼ上昇 2 例であった。クレアチンフォスフォキナーゼの上昇については、1 例は過度な運動による可能性、他の 1 例は筋肉由来であることが示唆された。なお、 γ -GTP 上昇 1 例及び尿たんぱくの増加 2 例については、治験薬との因果関係はないと判断された。

(2) 本邦における継続投与試験 (D3101003) 添付資料追ト-1

本邦における第 II 相臨床試験 (D3101002) を終了した被験者を対象として、長期投与における安全性と有効性を検討することを目的に、第 II 相試験と同一の投与方法で 26 回投与 (約 1 年間) の継続投与試験が実施された。なお、さらに本試験を終了した被験者を対象として、本試験と同一の投与方法で 52 回投与 (約 2 年間) の再継続投与試験を実施中である。

本継続試験においては、第 II 相臨床試験における投与及び 23 週後の検査を完了した 11 例のうち、本治験では治験参加に同意した 9 例に治験薬が投与された。このうち、1 例 (No.6) は被験者の都合により治験の継続が困難となり、治験薬の 4 回目投与後に中止した。この被験者は、治験実施計画書の規定 (有効性解析対象は本治験において治験薬を 6 回以上投与された症例) に従い有効性解析対象から除外し、残り 8 例が有効性解析対象とされた。安全性解析対象例は治験薬が投与された 9 例全例とされた。また、第 II 相臨床試験で実施された被験者で、本治験で同意が得られた場合に行う心 MRI は 5 例で実施された。

有効性について、血漿中 CTH 濃度は、第Ⅱ相試験終了時 7.4 ± 2.3 (nmol/mL) (n=8、平均値 \pm SD、以下同)、継続 51 週後における変化量は、 -0.1 ± 0.8 (nmol/mL) であり、尿沈渣中 CTH 量は、第Ⅱ相試験終了時 2175.8 ± 1553.8 (nmol/g クレアチニン)、継続 51 週後における変化量は -571.2 ± 1089.4 (nmol/g クレアチニン) であった。抗てんかん薬等非服用下における BPI による疼痛の生活妨害度の平均値は第Ⅱ相試験終了時 3.04 ± 1.65 であり、継続 51 週後の第Ⅱ相試験終了時からの変化量は -0.34 ± 1.78 であった。心 MRI における左室心筋重量の平均値は第Ⅱ相試験終了時 223.79 ± 117.30 g (n=5) であり、継続 51 週後の第Ⅱ相試験終了時からの変化量は 38.68 ± 113.54 g であった。クレアチニークリアランスの平均値は第Ⅱ相試験終了時 96.75 ± 35.07 mL/min (n=8) であり、継続 51 週後の第Ⅱ相試験終了時からの変化量は 2.34 ± 15.84 mL/min であった。

安全性については、治験薬が投与された 9 例全例に有害事象が認められた。そのうち因果関係の否定できない有害事象（副作用）は 9 例中 6 例（66.7%）に 11 種類が認められ、発熱、熱感、悪寒、倦怠（感）が各 2 例に、血中クレアチニン上昇、胸部圧迫感、微熱、下腿浮腫、口渇、耳鳴、顔面皮疹が各 1 例に認められた。副作用の重症度は 1 種類（血中クレアチニン上昇）が中等度で、その他は軽度であった。これらのうち、第Ⅱ相臨床試験ではみられず、本試験で認められた副作用は、血中クレアチニン上昇、微熱、耳鳴及び顔面皮疹であり、各 1 例の発現であった。

投与時反応は、3 例に認められた。1 例目では、第Ⅱ相臨床試験において投与時反応が発現したが（7、8、10、11 回目に一時的な軽度の胸部圧迫感または呼吸困難の発現）、抗ヒスタミン剤の前処置を実施した 12 回目投与では投与時反応が発現しなかったため、本試験においても継続して同前処置を実施していたが、7 回目及び 8 回目投与時に胸部圧迫感が発現した。9 回目投与以降抗ヒスタミン剤と副腎皮質ホルモンの前処置を実施したところ、10 回目投与時以降は発現しなかった。2 例目では、本治験の初回投与時に悪寒、発熱が発現し抗ヒスタミン剤と副腎皮質ホルモンの前処置に強力ネオミノファーゲンシーを追加し、投与時間を 60 分として試験を継続したが、5、13、18 回目投与時にも悪寒、発熱が発現した。しかし、いずれも軽度であり、他の投与時には認められず、試験を完了した。3 例目では、2 回目及び 4 回目投与時に悪寒、発熱が発現した。最終的に抗ヒスタミン剤と副腎皮質ホルモンの前処置に加え、投与方法を一旦中断後再投与する方法に変更した後投与時反応は発現しなかった。なお、投与時反応が発現した 3 例の血清中抗 α GALIgE 抗体はいずれも陰性で、IgG 抗体は 3 例中 2 例が陽性であった。

継続投与 12 週後、26 週後、38 週後及び 51 週後の血清サンプルを用いて測定した血清中抗 α GALIgG 抗体は、2 例が陽性となった。1 例は、第Ⅱ相臨床試験の投与 8 週後に陽性となり、終了時には陰性となったが、本試験の 12 週後に再度陽性となった。他の 1 例は、第Ⅱ相臨床試験の 8 週後に陽性となったが、終了時には陰性であった。本試験の 12 週後で再度陽性となったが、26 週後以降はいずれも陰性であった。この 2 例では、いずれも投与時反応が発現した。

臨床検査値の基準値からの逸脱のうち、異常変動ありと判定されたものは、好酸球上昇 1 例、クレアチニン上昇 1 例、アルブミン低下 1 例、尿たんぱく異常 1 例であった。好酸球上昇は偶発的感冒によるもの、アルブミン低下及び尿たんぱく異常は原疾患によるもので、いずれも因果関係は否定された。クレアチニン上昇については、経時的に上昇し、因果関係は不明と判断された。

(3) 米国における第Ⅰ相臨床試験 (TKT001) 添付資料ト-2

18 歳以上の欧米人男性ファブリー病患者 10 例を対象に、遺伝子組換え法によって製造した α

GALの5用量(各2例、0.007、0.014、0.028、0.056及び0.110 mg/kg)の単回静脈内投与試験が実施された(薬物動態についてはへ項を参照)。

薬力学的効果については、投与前及び投与後44時間の肝生検検体において肝臓中CTHが 7.86 ± 6.85 から 5.46 ± 4.36 (nmol/mgたんぱく)(平均値 \pm SD、以下同)に減少した($p < 0.05$; Wilcoxonの符号付き順位和検定、以下同)。投与前及び投与28日後における24時間尿の沈渣中CTH量は 1555 ± 590 から 964 ± 475 (nmol/gクレアチニン)に減少した($p < 0.01$)。また、血漿中CTH濃度は、投与前後で変化は認められなかった。

安全性について、総数18件の有害事象が9例の被験者で認められたが、発現頻度と投与量には関係はみられなかった。発現頻度が高かったものとしては、注射部反応(肝生検に伴う穿刺部位の反応)(3例)、疼痛(2例)、頭痛(2例)及び発熱(2例)があった。腎結石(1例)及び咽頭炎・肺うっ血(1例)を除き、すべての有害事象は試験終了までに消失した。

重篤な有害事象に関しては、発熱が1件認められた。本被験者は、投与28日後に歯科医により治療を受けた後、発熱して1晩入院した。発現時にアモキシリンを予防的に服用していたことから、これによる過敏反応と考えられ、治験薬との関連性は「関連なし」と判断された。投与28日後までの検査において、いずれの被験者においても抗 α GAL抗体は検出されなかった。また、本試験中に死亡した症例は認められなかった。

(4) 米国における第II相臨床試験(TKT003)添付資料ト-3

18歳以上の男性ファブリー病患者26例(本薬投与群14例、プラセボ投与群12例)を対象とした、無作為化プラセボ対照二重盲検試験が19■■年■■月から19■■年■■月まで実施された。

本試験の用法・用量は本薬を0.2mg/kgあるいはプラセボを2週間に1回の頻度で12回(22週間)静脈内投与とされた。なお、投与時間は当初20分間であったが、投与時反応が発現したため、途中から40分間に変更された。

プラセボ群の一例(No.20)が21週時の投与後に同意を撤回した以外、他の症例は全例本試験を完了した。本試験においては、すべての症例を有効性及び安全性の解析対象とした。年齢は本薬群、プラセボ群それぞれ 34.0 ± 2.2 、 34.4 ± 2.2 (歳)(平均値 \pm SE、以下同)であった。血漿中CTH濃度(nmol/mL)は本薬群 12.14 ± 0.907 、プラセボ群 10.96 ± 1.087 であった。 α GAL活性は血漿中、白血球中とも収集されていない。ファブリー病の神経疼痛の鎮痛目的での抗てんかん薬等の服用は、プラセボ群ではすべての被験者が服用しているのに対し、本薬群では4例(29%)の被験者が服用していなかった。最強の痛みについては、抗てんかん薬服用下、非服用下のいずれにおいても、本薬群に比べプラセボ群で高いスコアであった(服用下本薬群 4.2 ± 0.54 、プラセボ群 6.3 ± 0.74)。同様に、生活妨害度及び疼痛重症度についても、本薬群に比べプラセボ群で高かった。

有効性について、主要評価項目である抗てんかん薬非服用下でのBPI項目3(最強の痛み)のスコアの低下は、本薬群 6.2 ± 0.46 (投与前)(平均値 \pm SE、以下同) $\rightarrow 4.3 \pm 0.73$ (23/24週後)、プラセボ群 $7.3 \pm 0.63 \rightarrow 6.8 \pm 0.64$ であり、スコアの変化のAUCは、本薬群 22.4 ± 9.37 、プラセボ群 1.0 ± 13.49 と統計学的な有意差は認められなかった($p = 0.195$; 2標本t検定)。

二次評価項目である抗てんかん薬非服用下でのBPIによる疼痛重症度[BPIにおける項目3~6(最強の痛み、最弱の痛み、平均の痛み、現在の痛み)の平均値]について、23/24週後の投与前値からの変化については、本薬群 -1.1 ± 0.32 、プラセボ群 -0.7 ± 0.60 であった($p = 0.015$; 反復

測定分散分析、 $p=0.402$ ；投与前値を共変量とした共分散分析（事後解析）。また、抗てんかん薬非服用下での BPI による疼痛の生活妨害度 [項目 9A~G（生活全般、気分、歩行機能、通常の歩行、他人との関係、睡眠、生活での喜びのそれぞれが痛みによりどれだけ妨げられたか）の平均値] の 23/24 週後の投与前値からの変化は、本薬群 -1.1 ± 0.49 、プラセボ群 -0.6 ± 0.55 とプラセボ群に比べ経時的なスコアの低下が大きかった ($p=0.051$ ；反復測定分散分析、 $p=0.215$ ；投与前値を共変量とした共分散分析（事後解析）)。抗てんかん薬等の服用を中止することができた期間は、本薬群では治験期間のほぼ半分の期間に相当する 93.5 日であるのに対し、プラセボ群では 25.4 日であり、有意差が認められた ($p=0.013$ 、2 標本 t 検定)。

プラセボ群においては $19.7\text{mL}/\text{min}$ のクレアチニンクリアランスの低下が認められた（投与前 $107.3\pm 12.22\text{ mL}/\text{min}$ 、24 週後の変化 -19.7 ± 9.09 ）が、本薬群ではほとんど変化がなかった（投与前 $103.1\pm 7.64\text{ mL}/\text{min}$ 、24 週後の変化 -0.1 ± 5.87 ）。

腎組織病理検査にて正常糸球体の割合は、本薬群で 8.2%の増加があったのに対し、プラセボ群では 15.9%減少しており、群間に有意差が認められた ($p=0.012$ ；投与前値を共変量とした共分散分析、以下同)。メサンギウム肥厚糸球体の割合は、本薬群で 12.5%の減少、プラセボ群で 16.5%の増加となり、群間に有意差が認められた ($p=0.010$)。

尿沈渣中 CTH は 24 週後においては、プラセボ群が 228.8 (nmol/g クレアチニン) 増加したのに対し、本薬群では 749.3 (nmol/g クレアチニン) 減少した。腎生検サンプルによる腎組織中 CTH 量の変化において、群間に差は認められなかった。各評価時期における血漿中 CTH 濃度は、プラセボ群では変化が少ないのに対し、本薬群では $5.8\sim 6.6\text{nmol}/\text{mL}$ の低下が認められた（本薬群投与前 $12.141\pm 0.907\text{ nmol}/\text{mL}$ 、24 週後の変化 -6.953 ± 0.779 、プラセボ群それぞれ 10.962 ± 1.087 、 -0.576 ± 0.659 ）。反復測定分散分析の結果、投与群と時間の交互作用が有意であったため ($p<0.001$)、評価時期ごとに比較を行った。その結果、血漿中 CTH 濃度の変化量はいずれの評価時期においても有意差が認められた ($p<0.005$ ；一元配置分散分析)。心 MRI 法においては、左室心筋重量の変化に有意差は認められなかった（本薬群 $226.1\pm 17.41\rightarrow 23$ 週後 $229.6\pm 16.97\text{g}$ 、プラセボ群 $211.8\pm 12.5\rightarrow 215.9\pm 11.20$ 、 $p=0.930$ ；投与前値を共変量とした共分散分析）。

安全性について、死亡例あるいは有害事象の発現により試験を中止した例はなかった。

本薬投与群で発現した治験薬との関連性が否定できない有害事象のうち、最も発現例数が多かったのは、アレルギー反応（6 例）であり、続いて悪寒（5 例）、さらに発熱、めまい、紅斑性発疹、潮紅（いずれも 3 例）の順であった。本薬投与群における重篤な有害事象は 7 件であった。これらのうち本薬と関連性あり、あるいは否定できないと判断されたものは、投与時反応（アレルギー反応）2 件及び投与後の発熱 1 件の計 3 件であり、いずれも入院あるいは入院の延長が必要であった。

本薬投与群 14 例中 8 例において 4 回目以降の投与時あるいは投与終了直後に、悪寒、顔面潮紅、末梢性浮腫などの投与時反応が発現した。これらの症状は、バイタルサインの変化を伴わず、投与の中断あるいは副腎皮質ホルモン及び抗ヒスタミン剤の投与で症状は消失した。投与時反応の発現により実施計画書が改訂されて、治験薬の投与時間が 20 分から 40 分に延長され、この反応が起こった被験者に対しては、予防措置として、投与に際し副腎皮質ホルモン及び抗ヒスタミン剤を前処置することとした。これにより、6 例では発現が抑えられた。残る 2 例（No.16 及び 18）では、前処置を行っても再発を防止できなかったが、本薬の投与を 1~5 分間投与後一

且中断し、約 5 分後に再開する投与方法で再発なく投与を終了することが可能であった。これにより、それ以降の投与は問題なく完了することができた。

本薬投与群の 14 例中 9 例で免疫沈降法において抗 α GAL 抗体が陽性となった。なお、ELISA 法により IgE 抗体が陽性となった例はみられなかった。抗体産生と投与時反応の発現には明確な関係は認められなかった。臨床検査値の異常変動は全例でみられたが、本薬との関連が否定できない異常変動はなかった。

(5) 継続投与試験 (TKT006) 添付資料ト-4

本薬の長期投与における安全性及び有効性の検討を目的として、第 II 相臨床試験 (TKT003) を終了した本薬投与群の被験者 14 例 (継続投与群) 及びプラセボ投与群の被験者 12 例中 11 例 (切り替え群) (計 25 例) に対し、本薬を第 II 相臨床試験と同様の投与方法 (投与時間は 40 分間) で 26 回 (50 週間) 投与する継続投与試験を実施した。

有効性について、主要評価項目は、左室心筋重量、糸球体ろ過率 (GFR) 及び疼痛とされた。心 MRI により測定した左室心筋重量は、終了時において第 II 相臨床試験終了時に比較して有意に減少し、心肥大の改善効果がみられた (52 週後の第 II 相試験終了時からの変化、継続投与群 -21.7 ± 4.70 、切り替え群 -27.7 ± 10.06 、それぞれ $p < 0.001$ 、 $p = 0.023$; 対応のある t 検定)。また、第 II 相臨床試験の 24 週間の本薬投与時期に GFR の有意な低下がみられたが、さらに 52 週間までの 1 年間の本薬の投与では、GFR は 1.9 mL/min の上昇であり安定していた (継続投与群 (平均値 \pm SE); 投与前 81.0 ± 6.39 (mL/min)、第 II 相終了時 72.2 ± 4.31 、52 週後 74.1 ± 6.80 、切り替え群; 投与前 98.0 ± 10.80 、第 II 相終了時 78.2 ± 7.65 、52 週後 95.4 ± 10.76)。疼痛-BPI 項目 3 (最強の痛み) については第 II 相臨床試験において 1.9 ユニットの有意な疼痛軽減が認められたが、継続投与群において継続投与試験に入っても引き続き疼痛の軽減効果が持続し、計 18 ヶ月間の投与を行った 52 週後では有意ではなかったが、投与前に比べ 1.2 ユニットの疼痛スコアの低下がみられた。一方、切り替え群では、本薬を投与されて以降、27 週後から有意な改善が認められ、計 1 年間の投与を行った 52 週後では、第 II 相臨床試験終了時に比較して平均で 2.5 ユニットの有意な低下が認められた。

安全性について、本試験中に死亡した症例はなかった。

継続投与試験で新たに発現した重篤な有害事象は、8 例 (11 件) であったが、いずれも治験薬との関連性はないと判断された。新たに発現した投与時反応は、切り替え群の 11 例中 2 例のみであった。治験薬との関連性が否定できない有害事象のうち、最も発現例数が多かったのは、多汗 (16 例) であり、続いて潮紅 (11 例)、運動過多 (10 例)、悪寒 (9 例)、発熱 (6 例)、背部痛 (5 例) 及び熱不耐性 (5 例) であり、他は 5 例未満の発現であった。有害事象により中止となった例はなく、全例が試験を完了した。

(6) 英国における第 II 相臨床試験 (TKT005) 添付資料ト-5

左室肥大を有する 18 歳以上の男性ファブリー病患者 15 例 (本薬投与群 7 例、プラセボ投与群 8 例) を対象とした、無作為化プラセボ対照二重盲検試験が 19 年 月 から 20 年 月 まで実施された。

本試験の用法・用量は、本薬を 0.2 mg/kg あるいはプラセボを 2 週間に 1 回の頻度で 12 回 (22 週間) 静脈内投与とされた。なお、投与時間は、米国における第 II 相臨床試験において投与時間

が 20 分間の場合に投与時反応が認められたため、40 分間とされた。

主要評価項目である心臓中 CTH 量（心生検検体）は、本薬投与群で減少した（投与前値 0.712 ± 0.179 、24 週後の変化量 -0.132 ± 0.164 、(nmol/ μ g protein) 平均値 \pm SE) のに対し、プラセボ群では増加（投与前値 0.581 ± 0.075 、24 週後の変化量 0.053 ± 0.084 、(nmol/ μ g protein)）が認められたが、両群に有意差は認められなかった（ $p=0.423$ ；投与前値を共変量とした共分散分析）。

心 MRI により測定した左室心筋重量の 24 週後の変化量は（平均値 \pm SE）、プラセボ投与群で増加したが（ 21.82 ± 5.90 g）、本薬投与群では減少し（ -11.48 ± 11.16 g）、両群間で有意差が認められた（ $p=0.041$ ；投与前値を共変量とした共分散分析）。

GFR の変化量（24 週後の投与前値からの変化量）は、本薬群 25.4 ± 6.39 mL/min、プラセボ群 14.3 ± 8.40 mL/min に有意差は認められなかった（ $p=0.344$ ；投与前値を共変量とした共分散分析）。また、血漿中 CTH 濃度の変化は群間に有意差が認められ、プラセボ群では血漿中 CTH レベルにほとんど変化がなかったが（ -0.55 ± 0.35 nmol/mL）、本薬群では 6 ヶ月間で 6.22 nmol/mL の低下が認められた（ $p<0.001$ ；投与前値を共変量とした共分散分析）。

安全性について、重篤な有害事象が本薬群の 1 例（No.9）で発現したが、治験薬との関連性はないと判断された。死亡例あるいは有害事象の発現により試験を中止した症例はなかった。

投与時反応は認められず、また、他の有害事象においても問題になるものはみられなかった。有害事象の重症度は、両群ともほとんどが軽度又は中等度であった。当初の投与時間が 20 分間であった米国第 II 相臨床試験と異なり、本試験では投与時間を 40 分間としたことにより投与時反応が抑制されたものと考えられた。抗体については、本薬投与群 7 例中 2 例で免疫沈降法において抗 α GAL 抗体が陽性であったが、ELISA 法により IgE 抗体が陽性となった例はみられなかった。

(7) 継続投与試験 (TKT007) 添付資料ト-6、追ト-2

本薬の長期投与における安全性及び有効性の検討を目的として、第 II 相臨床試験 (TKT005) を終了した本薬群の被験者 7 例（継続投与群）及びプラセボ群の被験者 8 例（切り替え群）の計 15 例に、本薬 0.2 mg/kg を 2 週間に 1 回、40 分間で静脈内投与する継続投与試験（54 回、106 週間）が実施された。

本試験において、107 週後までに 5 例が試験を中止したが、この内 3 例が被験者の都合、1 例が未来院及び 1 例が死亡によるものであった。したがって、27 週後まで投与された 13 例が有効性解析対象、全 15 例が安全性解析対象とされた。

有効性について、主要評価項目である血漿中 CTH 濃度について、切り替え群では、第 II 相臨床試験終了時 12.78 ± 1.67 nmol/mL ($n=8$)（平均値 \pm SE）に比較して、継続投与試験 27 週後で第 II 相臨床試験終了時から -7.30 ± 1.10 nmol/mL の有意な変化（ $p<0.001$ ；対応のある t 検定）がみられ、その後、2 年間の投与終了時（107 週後 ($n=7$) -4.51 ± 1.48 nmol/mL）まで低下が持続した。また、継続投与群においては、第 II 相試験投与前値 12.59 ± 1.65 nmol/mL ($n=7$) と比して第 II 相臨床試験終了時に -6.22 ± 1.05 nmol/mL の有意な低下がみられ、継続投与試験の 27 週後においても有意な低下（ -7.52 ± 1.55 nmol/mL）が維持された（ $p=0.008$ ）。その後、継続投与試験 107 週後 -5.48 ± 2.73 nmol/mL ($n=3$) と低下が維持される傾向を認めた。

安全性について、死亡 1 例を含め、5 例の被験者に重篤な有害事象が発現したが、いずれも治

験薬との関連性はないと判断された。死亡例 (No. 5、37 歳) は、第 II 相臨床試験においてプラセボ投与例であり、開始時点で軽度の腎不全を有していた。継続投与試験移行後に末期腎不全と診断されて腹膜透析を開始した。後に腎臓移植を受け、移植自体は成功したが、手術直後急激に状態が悪化して同日に死亡した。治験責任医師より死亡は術後合併症によるものであり、治験薬との関連性はないと判断された。その他の 4 例は尿路感染、投薬過誤、フレグモーネ、睾丸痛などであった。

切り替え群の 8 例のうち 1 例において投与時反応が発現した。発現した 1 例 (No. 11) は、23 週後に胸痛、咳及び潮紅、25 週後に潮紅、胸痛、咽頭部緊張及び咳を発現したが、バイタルサインに変化はなかった。27 週後は、副腎皮質ホルモンと抗ヒスタミン薬の前処置によって投与時反応は抑制され、以降のすべての投与でも前処置により抑制された。

全 15 例のうち、治験薬との関連性が否定できない有害事象 (副作用) が発現したのは 3 例 (No. 9、No. 11 及び No. 15) であり、No. 9 及び No. 15 では多汗がみられ、No. 11 では悪寒、咽頭部緊張、温度感覚変化、咳、胸痛、潮紅、発熱及び疲労がみられた。

試験期間全体の抗体産生について調べるため、投与 13、27、41、55、81 及び 107 週後に採取した血清を用いて、ELISA 法 (IgA、IgM、IgE 及び IgG 抗体) 及び中和活性測定法の 2 種の検査法により抗 α GAL 抗体検査を実施した。14 例の被験者のうち 6 例 (No.2、No.4、No.10、No.11、No.12 及び No.15) が ELISA 法及び中和活性測定法の 2 種の検査法のいずれかで抗体産生が陽性となった。ELISA 法及び中和活性測定法のいずれも陽性であったのは 2 例 (No. 2 及び No. 15) であった。ELISA 法のみで陽性であったのは 1 例 (No. 11) であった。中和活性測定法のみで陽性であったのは 3 例 (No. 4、No. 10 及び No. 12) であった。

No. 4 は 41 週後のみが、また、No. 12 は 81 週後のみが陽性であった。ELISA 法で陽性となった被験者のいずれにおいても、IgG 抗体のみが陽性であり、IgE 抗体は検出されなかった。

臨床検査値の異常変動が認められた例があったが、いずれも本薬との関連性は否定され、多くが原疾患によるものと判断された。

(8) ドイツにおける女性患者を対象とした臨床試験 (TKT014) 添付資料ト-7

女性ファブリー病患者に対する本薬の反復投与した時の有効性及び安全性を検討することを目的として、18 歳以上の女性ファブリー病患者 15 例に対し、本薬 0.2mg/kg を 2 週間に 1 回、40 分間で静脈内投与した。試験期間中にドイツで承認され、各被験者は承認後投与を終了した (機構注: 市販品の投与に移行したと考えられると申請者は回答しているが確認されていない) ことから、20 回以上本薬を投与された被験者は 8 例、14~18 回投与された被験者は 3 例、8~9 回投与された被験者は 4 例であった。

有効性について、尿沈渣中 CTH 量は (平均値 \pm SE)、投与前 399.6 ± 111.93 nmol/24hr (n=15) から 13 週後 246.1 ± 35.91 (n=15) へと減少傾向を示した (p=0.077; 対応のある t 検定、以下同)。血漿中 CTH 濃度は投与前 5.7 ± 0.91 から 13 週後 4.8 ± 0.55 nmol/mL へと減少した (p=0.029)。

安全性について、死亡 1 例を含め、3 例において重篤な有害事象が発現したが、いずれも本薬との関連性はなく、原疾患によるものであると判断された。

死亡例 (No.2、56 歳) は、ファブリー病に加え慢性閉塞性気道疾患 (以下、COPD)、COPD に伴う肺気腫、腎不全、喘息、眩暈、耳鳴、左耳難聴、頻拍性不整脈、大動脈弁狭窄 (症)、心筋症及び失神を伴う心房細動を合併していた。この被験者では、重篤な有害事象が 3 件 (心筋梗塞、

COPDの急性悪化及び脳塞栓症) 発現したが、このうち43週後の投与7日後にみられた脳塞栓症により痙攣及び心停止を生じ死亡した。治験責任医師により、この死亡は治験薬との関連性はなく、ファブリー病の末期症状であると判断された。有害事象は15例中14例に認められたが、そのうち治験薬との関連性が否定できない有害事象(副作用)は6例に11種類が認められた。有害事象の重症度はほとんどが軽度又は中等度であり、重度の有害事象は2例で報告された。1例(No.2)では重度の有害事象が5件発現し、最終的に脳塞栓症により死亡した。他の1症例(No.11)においては難聴が認められ、転帰は軽快であった。

なお、本試験では投与時反応は認められなかった。本試験の投与前、13週後、27週後及び41週後の血清サンプルによる検討では、抗体産生はみられなかった。

2) 機構における審査の概要

(1) 外国での使用状況

本薬は、ドイツ、フランスなどのEU加盟国(CPMPによる承認)、ノルウェー、アイスランドなどの合計34カ国(平成16年8月現在)で承認されており、効能・効果は「ファブリー病(α -ガラクトシダーゼA欠乏)と確定診断された患者に対する長期酵素補充療法」、用法・用量は「アガルシダーゼアルファとして0.2mg/kgを2週間に1回、40分間で静脈内投与する」であり本申請と同様である。なおCPMPでは本薬と類薬のアガルシダーゼベータ(遺伝子組換え)と本薬は同時に審議され同時に承認(2001年8月3日)されている。

機構は本薬とアガルシダーゼベータ(遺伝子組換え)の欧州における使い分けについて申請者に尋ねた。

申請者は以下のように回答した。詳細な情報は得られていないものの、点滴時間の違い(本薬で40分間、アガルシダーゼベータ(遺伝子組換え)では体重60kgで4時間以上)、IgG抗体産生頻度の違い(本薬の国内臨床試験では2/12例、アガルシダーゼベータ(遺伝子組換え)では11/13例)から、本薬を希望する患者もあると考える。具体例としては、欧州で平成16年3月12日現在までに少なくとも8例の患者が副作用、患者の希望などにより、アガルシダーゼベータ(遺伝子組換え)から本薬に切り替えられている。

機構は、利便性等から本薬を希望する患者がいるかもしれないとの主張は理解するものの、欧州での本薬からアガルシダーゼベータ(遺伝子組換え)への逆の切り替え症例数、市場占有率などが明らかではなく、両薬の学会における評価も定まっていないことから、類薬との使い分けに関する情報は必ずしも十分ではないと考える。

また、米国における状況について、申請者は以下のように説明している。米国においては類薬のアガルシダーゼベータ(遺伝子組換え)が先に承認されており、同国のオフアンドラッグ法により、この7年間に同一の効能で、構造が類似していると考えられる薬物が承認を得るためには、既承認薬に対し「有効性が優り、安全性が同等以上である」、あるいは「有効性は同等であるが、安全性が優る」ことのいずれかを示すことを証明する必要があると規定されている。20■■年■■月■■日にFDAからTKT社に本薬とアガルシダーゼベータ(遺伝子組換え)が有効性と安全性の観点から異なる薬剤であることを示すためには、本薬とアガルシダーゼベータ(遺伝子組換え)を直接比較する臨床試験の実施が必要であるとの見解が示された。TKT社は、FDAの回答を検討した結果、ファブリー病が希少疾病であること、及び米国ではアガルシダーゼベータ(遺伝子組換え)が承認され使用されていることから、比較試験に必要な症例数を確保することは困難と考え、申請を

取り下げた。

(2) 対象疾患について

本薬の対象疾患であるファブリー病については、同じ対象疾患に対する同様の効能・効果により平成 16 年 1 月に承認されたアガルシダーゼベータ（遺伝子組換え）の審査の過程で既に述べている（アガルシダーゼベータ（遺伝子組換え）の審査報告書（平成 15 年 11 月 13 日付け衛研発第 3739 号「ファブラザイム点滴静注用 5mg、同 35mg 審査報告書」）参照）。

アガルシダーゼベータ（遺伝子組換え）においては血漿 α GAL 活性 1.5 nmol/hr/mL 未満又は白血球 α GAL 活性 < 4nmol/時/mg の患者を対象にしており、実際には組み入れ患者の殆どで測定限度以下であった。これに対し本薬では組み入れ基準に活性は明記されておらず、結果的に組み入れられた患者は第 II 相試験（D3101002）では健常人の基準値下限に対して $4.8 \pm 2.6\%$ であったことが示された。両薬の試験では測定機関が異なり、一般に代理基質による酵素活性測定系では低活性付近での測定の精度に問題が生じることが多いため、両試験における対象患者を一概に比較することは困難と考える。しかしながら、本邦における第 II 相試験（D3101002）での α GAL 活性絶対値も上記のアガルシダーゼベータ（遺伝子組換え）の組み入れ基準範囲を逸脱しておらず、臨床的症状などで明らかなファブリー病の患者のみが組み入れられているため、同等の重症度を示し、酵素欠損の程度なども同様の患者群が組み入れられたと判断した。

(3) 海外試験成績と国内試験成績の比較可能性について

機構は、海外臨床試験成績を評価する上で、海外試験成績と国内試験成績の比較可能性について、申請者に見解を求めた。

申請者は以下のように回答した。ファブリー病は α GAL 活性の欠損あるいは低下により、全身の組織に CTH を主としたスフィンゴ糖脂質が蓄積することによって発症する。病因並びに病態は、本邦及び海外の患者で同様であり、欠損あるいは低下した α GAL を補充する目的で本薬を投与した場合、本邦でも海外と同様な治療効果が期待できるものと考えられる。なお、同じリソソーム病であるゴーシェ病の酵素補充療法剤では本邦と海外の患者で成績が同様であることが確認されており、このことから本薬の本邦における治療効果が期待されると考えられる。

本疾患は希少疾病のため患者数が極めて少ないことから、可能な限り海外臨床成績と比較ができるように、薬物動態を含めて米国第 II 相臨床試験とほぼ同様の方法で本邦第 II 相臨床試験を実施した。

機構は、本疾患が単一の酵素活性欠損により引き起こされる機序の比較的明らかな疾患であり、国内試験がプラセボ群を設定しておらず、プラセボに対する治療効果の大きさを国内外で比較することはできないものの、本薬による血漿中 CTH 濃度低下傾向などが国内外で同様に認められたこと、特定の酵素欠損が原因であり民族的要因が影響し難い病態であることなどから、国内の症例において海外の症例と同様の効果が認められることが推測され、申請者の回答を妥当なものと判断した。

(4) 評価項目の妥当性について

希少疾病であるファブリー病を対象とする臨床試験の評価項目として何が最適であるのかはコンセンサスが得られていない。類薬のアガルシダーゼベータ では pivotal trial において腎生検組

織中の GL-3 (CTH) 減少が主要評価項目とされた。本申請では下記のように種々の項目が主要評価項目とされた(第 I 相試験 (TKT001) 及び一般臨床試験 (TKT014) は省略)。

- ト-1 尿沈渣中 CTH 量、血漿中 CTH 濃度、抗てんかん薬等非服用下での疼痛
- ト-3 抗てんかん薬等非服用下での疼痛
- ト-4 左室心筋重量 (心 MRI)、糸球体ろ過率 (GFR)、疼痛
- ト-5 心臓中 CTH 量
- ト-6 血漿中 CTH 濃度

機構は、この内 pivotal trial である米国第 II 相臨床試験 (TKT003) の疼痛、及び国内第 II 相臨床試験 (D3101002) の尿沈渣中 CTH 量 (米国第 II 相臨床試験 (TKT003) の副次評価項目でもある)、血漿中 CTH 濃度、疼痛が本申請の審査には重要と考えられ、これらの主要評価項目としての妥当性について尋ねた。

①疼痛について

申請者は以下のように回答した。抗てんかん薬等断薬時の疼痛 (BPI 項目 3) について、ファブリー病に起因する疼痛は、神経系に CTH が蓄積し、背側根神経節等が障害されることにより起こると考え、若年より発症し、極めて大きな苦痛をもたらして患者の QOL を低下させる。この疼痛には、通常の鎮痛剤は効果がなく、テグレトール等の抗てんかん薬等が使用されている。したがって、疼痛はファブリー病の主要症状の一つと位置付けられると考えられることから設定した。

機構は、疼痛の軽減は予後に直接関わるものではないが、QOL の改善に寄与するため臨床上意義の大きいエンドポイントとして妥当と考えられるため、機構はこの回答を了承した。

また、BPI (Brief pain inventory) の疼痛評価としての妥当性を尋ねたところ、申請者は以下のように回答した。BPI は、米国において英語版の評価が行われた後、少なくとも 7 ヶ国語に翻訳され、各国で使用されている。日本語版 BPI も、癌患者の疼痛の評価により評価が行われている (J. Pain Symptom Manage. 1998 ; 16:364-373)。本方法は、米国において 20 例の癌患者において同一被験者での繰り返し評価 (平均間隔 1.9 日) が実施され、再現性が高いことから信頼できるものであると考えられる (Pain.1983 ; 17:197-210)。また、リウマチ患者 91 例による繰り返し評価における再現性を検討した結果、BPI 項目 3 等の 11 段階評価の信頼性は、Visual Analogue Scale (VAS) と比較して同等以上であることが報告されている (J. Rheumatol.1990; 17:1022-1024.)。以上のことから、BPI によって疼痛の重症度を再現性よく評価することは可能であると考えられる。

機構はこの回答を了承した。

②尿沈渣中 CTH 量、血漿中 CTH 濃度について

尿沈渣中 CTH 量、血漿中 CTH 濃度について、申請者は以下のように回答した。ファブリー病は、先天的な α GAL 活性の欠損あるいは低下により、全身の組織に CTH を中心としたスフィンゴ糖脂質が蓄積することによって発症する。ファブリー病患者に α GAL を投与すると、肝臓組織中 CTH 量、心臓組織中及び腎臓組織中 CTH 量の減少とともに血漿中 CTH 濃度が低下することが報告されている (Am. J. Hum. Genet. 2001; 68: 711-722.)。健康人よりも高濃度であることが報告されているファブリー病患者の血漿中 CTH 濃度 (FEBS Letters. 2002; 515:171-176.) は、全

身の組織における CTH の蓄積を反映すると考えられる。ファブリー病患者の尿沈渣にみられる細胞のうち、約 80%が剥離した腎尿細管細胞であり、これらの細胞のリソソームに CTH の存在が認められることから、尿沈渣中 CTH 量は、主に腎尿細管細胞に蓄積した CTH 量を示すと考えられ、腎臓中 CTH 量の指標の一つと考えられている(Am. J. Clin. Pathol. 1984; 82: 24-28)。したがって、尿沈渣中 CTH 量が減少することは、腎尿細管細胞中の CTH 蓄積の軽減を示唆しており、腎臓組織中 CTH 量減少の指標となり得ると考えられる。

機構は、尿沈渣、血漿中の CTH 変化が組織中の CTH 変化を示唆することは認めるものの、これらの指標で改善しているにも拘らず、生検では組織学的に悪化している症例も見受けられるため説明を求めた。

申請者は以下のように回答した。腎生検を実施した本邦及び米国第Ⅱ相臨床試験に関し、血漿中 CTH 濃度、腎組織中 CTH 量及び腎病理検査（正常糸球体の割合）の変化の関係を整理し、下表に示した。

本邦及び米国第Ⅱ相臨床試験における被検者ごとの血漿中、尿沈渣中及び腎組織中 CTH 量の変化と腎病理組織学的評価との関係（申請者作成、機構一部改変）

被験者番号	血漿中 CTH 濃度 (nmol/mL)	尿沈渣中 CTH 量 (nmol/g クレアチニン)	腎組織中 CTH 量 (nmol/mg たんぱく)	腎組織中 CTH 量 (nmol/mg 湿重量)	正常糸球体の割合 (%)
本邦第Ⅱ相臨床試験					
4	-17.3	149.67	107.0		—
6	-4.9	-2447.8	-159.4		19.4
8	-7.1	-1489.55	-609.3		2.0
12	-10.1	-2234.24	53.7		29.2
米国第Ⅱ相臨床試験（本薬群）					
2	-5.2	-1376.5		-13.5	1.0
4	-7.5	-422.0		-7.6	3.0
6	-6.2	-744.0		-12.5	22.0
8	-5.3	-1670.5		-4.1	9.0
10	-6.7	2035.5		-4.5	#
12	-3.1	-663.0		-3.6	17.0
15	-6.0	-1112.0		-7.8	17.0
19	-6.6	-551.5		-1.0	8.0
21	-6.0	-398.5		7.1	41.0
23	-6.4	803.0		-6.1	17.0
26	-6.7	-880.0			13.0
27	-5.8	-676.5		9.8	5.0

- ・ 本邦及び米国第Ⅱ相臨床試験において腎生検を実施した被験者について示した。
- ・ 血漿中 CTH 濃度、腎組織中 CTH 量及び正常糸球体の割合は、24 週後の投与前値からの変化量を示した。
- 一：糸球体数が腎組織病理検査計画書の規定を満たさなかったため解析不能
- #：投与前後も正常糸球体の割合が 0% であり、変化なし

網掛けは悪化方向の変化

表に示したように評価結果が符合しなかった症例が一部に存在する。理由の一つとして CTH 蓄積が軽減されたとしても、CTH の蓄積により、すでに本薬投与前から腎組織の不可逆的な障害が進行中の場合には、これを完全に阻止することは困難であったことが考えられる。しかしながら評価結果が符合する被験者の割合の方が高いことから、血漿中及び腎組織中 CTH 量の変化は、腎病理学評価と相互に関連する可能性が高く、腎組織障害の指標となり得ると考えられた。

機構は血漿中、尿沈渣中 CTH と腎組織中の CTH の変化が必ずしも一致しないこと、また、腎組織中 CTH が低下しても組織形態学的な改善に繋がらない場合があることに注意を払いつつも、全体としては本薬の有効性が示唆されていると判断し、この回答を了承した。

(5) 効能・効果について

機構は「ファブリー病に対する長期酵素補充療法」との申請時効能・効果について臨床試験の成績を反映させた内容となっているかどうかを検討し、必要に応じて効能・効果について再度検

討することを求めた。

申請者は以下のように回答した。臨床試験からは本薬がファブリー病の原因である CTH の蓄積を軽減することにより、死亡をもたらす腎機能障害及び心機能障害の進行が抑制されること、及び QOL を低下させる疼痛が改善されることが示唆された。このことから、本薬を長期投与することにより、ファブリー病において欠損あるいは低下した α GAL が補充され、ファブリー病に起因する臓器障害の進行の抑制、死亡時期の遅延及び QOL の向上が期待できることから、本効能・効果の設定は妥当性があるものと考えられた。

機構は、この回答内容を理解するものの、本薬が長期にわたって、欠損或いは非常に低下した酵素活性を補う目的で投与され、結果的に本疾病で問題となる臓器障害を予防することを期待して使われることから、効能・効果中に補充療法である旨を記載する必要はないと考える。更に、類薬であるアガルシダーゼベータ（遺伝子組換え）の効能・効果は単に「ファブリー病」とされており、同様の目的で使用されるものについて効果・効能に差異が認められるのは好ましくないことから、下記のような効能・効果が適当であると考えられる。

また、本薬の臨床試験において検証されたのは欠損或いは非常に低下した酵素活性を持つ古典的ファブリー病症例における有用性であり類薬であるアガルシダーゼベータ（遺伝子組換え）と同じであるため、いわゆる心ファブリー病症例については類薬と同様に取り扱うことが適当であると判断した。（アガルシダーゼベータ（遺伝子組換え）の公開版審査報告書（平成 15 年 11 月 13 日付け衛研発第 3739 号「ファブラザイム点滴静注用 5mg、同 35mg 審査報告書」、p35（1）対象疾患について、p39（3）亜型患者について、p45, 1）亜型ファブリー病について、2）心ファブリー病について の項参照）

【効能・効果】 ファブリー病

効能・効果に関連する使用上の注意

- (1) 本剤はファブリー病と確定診断された患者にのみ使用すること。
- (2) 心臓にのみ病変が認められる亜型のいわゆる心ファブリー病患者での安全性及び有効性は確立していない。

(6)用法・用量設定について

機構は、海外の用法・用量をもとに国内臨床試験を実施しているが、提出された資料からは用法・用量の設定の経緯及び根拠が不明確であることから、用法・用量の設定根拠について説明することを求めた。

申請者は以下のように回答した。第 I 相臨床試験では、最高用量 0.110mg/kg に対し、公比 1/2 で低用量側の 4 用量を設定した。最高用量である 0.110mg/kg（マウス単回投与毒性試験で薬物による影響が認められなかった最高用量 2.3mg/kg の約 1/20）は、他の酵素製剤の用量を参考に設定された。具体的には、たんぱく量として、酵素製剤である [] 及び [] の用量を参考とした。単回投与である米国第 I 相試験の用量を検討するにあたり、安全性の観点から、上記 2 剤の 1 回あたりの投与量で最も低い用量（0.1mg/kg）を参考に、最高用量を 0.110 mg/kg とした。本試験の結果、いずれの用量においても安全性に問題は認められなかった。また、0.007mg/kg～0.110mg/kg の範囲全体としては、投与前値と比較して本薬投与による有意な肝臓中蓄積 CTH 量の減少及び尿沈渣中 CTH 量の減少が認められた。第 I 相臨床試験の最高用量である 0.110mg/kg

において、安全性に問題が認められなかったことを踏まえ、目的とする臓器に対して本薬の分布量の増加が期待される第 I 相臨床試験の最高用量の約 2 倍である 0.2mg/kg が米国第 II 相臨床試験の用量として考えられた。0.2mg/kg の用量は、非臨床毒性試験におけるラット単回投与及びラット 3 ヶ月反復投与毒性試験（1 回/週）の無毒性量である 10mg/kg 及び 1.0mg/kg のそれぞれ 1/50 及び 1/5 である。一方、ファブリー病患者由来の線維芽細胞を用いた検討で、細胞内に取り込まれた α GAL 活性の細胞内半減期は 4 日と報告されており（Mayes JS, et al. Am. J. Hum. Genet. 1982 ; 34: 602-10）、さらに、米国第 I 相臨床試験での検討結果から、ヒトでの本薬の肝臓中半減期は 1 日以上と推定されていることから、間欠投与での効果が期待できると考えられた。これらの情報を基に検討した結果、ファブリー病と同じリソソーム病であるゴーシェ病の酵素補充療法剤であるイミグルセラゼが 2 週間に 1 回の投与（Grabowski G.A. et al. Ann. Intern. Med. 1995; 122: 33-39.）であることを考慮し、本薬についても患者への負担が考えられることから、2 週間に 1 回の投与頻度と設定した。

機構は、ヒトで本薬の用量設定試験を実施しておらず、提出された回答書からは本薬の用量設定根拠が明確になっているとは言い難いと考え、本薬の用法・用量の設定根拠（用法・用量の妥当性）について、申請者としての今後の方策等も含めて再度説明することを求めた。

申請者は以下のように回答した。海外及び本邦のいずれにおいても、申請用法・用量（0.2mg/kg を 2 週間に 1 回投与）以外の用法・用量で有効性及び安全性について検討していない。しかしながら、本用法・用量で実施した米国、英国、ドイツ及び本邦の臨床試験の成績から、ファブリー病に対する有効性が確認されるとともに、安全性にも大きな問題はなく、臨床的に有用なものと考えている。本薬の臨床推奨用法・用量の探索を行うことを目的として、米国 TKT 社は、ファブリー病患者における新たな用法・用量選択のための薬物動態並びに薬力学的試験（米国で実施予定）及び男性及び女性ファブリー病患者に対する 2 種類の用法・用量における無作為化比較試験（欧州で実施予定）を立案中である。申請者は、これらの試験の終了後に、その成績を基に申請用法・用量の妥当性について検討する予定である。

機構は、米国で TKT 社が承認取得を断念したことから、前者の米国での試験の実行可能性は低いと考える。また、本邦では既にアガルシダーゼベータ（遺伝子組換え）が承認されており、本邦におけるファブリー病患者数は少ないことに鑑み、本邦において市販後にアガルシダーゼベータ（遺伝子組換え）との比較対照試験等を実施し、本薬の申請用法・用量について検討することは非常に困難であると考えている。

一方、本薬の申請用法・用量について、用量設定試験を経ずに設定され、その用量が類薬であるアガルシダーゼベータ（遺伝子組換え）と比べて低用量である（アガルシダーゼベータ（遺伝子組換え）：隔週 1mg/kg に対し、本薬：隔週 0.2mg/kg）理由も明らかでないことから、臨床推奨用法・用量の妥当性について専門協議の議論を踏まえ、最終的に判断することとした。

(7)抗体産生について

機構は抗体産生が安全性及び有効性に与える影響について尋ねた。

申請者は以下のように回答した。

①安全性に関して

本邦第 II 相臨床試験及び米国第 II 相臨床試験で重篤な投与時反応発現例が認められ、最も留意

する必要がある副作用と考えられた。投与時反応の発現率は、本邦第Ⅱ相臨床試験（抗体陽性例で 1/2、陰性例で 2/10）、米国第Ⅱ相試験（陽性 7/9、陰性 1/5）及び米国継続投与試験・継続投与群（陽性 8/11、陰性 1/3）で、抗体陽性例では抗体陰性例よりも高かった。一方、米国継続投与試験・切り替え群（陽性 1/6、陰性 1/5）では、発現率は両者でほぼ同様であり、英国第Ⅱ相臨床試験（陽性 0/2、陰性 0/5）及び英国継続投与試験・継続投与群（陽性 0/3、陰性 0/2）ではいずれにおいても発現はみられなかった。また、英国継続投与試験・切り替え群（陽性 0/2、陰性 1/6）では、抗体陰性例で投与時反応が発現したが、抗体陽性例では認められなかった。以上から抗体の産生が投与時反応の発現に関係する可能性は否定できないが、抗体の産生の有無にかかわらず投与時反応が発現する可能性もあると考えられた。また、抗体陽性例において投与時反応が発現した例と投与時反応がみられなかった例の抗体価の指標に明確な違いは認められなかった。

機構は、抗体産生と投与時反応の因果関係について、少ない症例数で断定することは困難であると考えられる。他の機序に関する考察及び高い発現頻度の患者に対する前処置等の必要性について尋ねた。

申請者は以下のように回答した。臨床試験で認められた投与時反応は、初回投与では認められず複数回の投与で発現するが、投与中又は投与終了直後にみられること、この臨床症状として潮紅、膨疹、悪寒、呼吸困難（息苦しさ）等が発現したことなどから、Ⅰ型アレルギーとの関連が疑われる。一方、IgE、IgA、IgM 抗体の発現がみられないこと、血清トリプターゼ活性の上昇が認められないこと、血圧などのバイタルサインに異常がみられないこと、そして抗ヒスタミン薬及び副腎皮質ホルモン剤による投与速度の減少により一旦中断しても投与再開が可能であったことなどから、抗体の関与するⅠ型アレルギー反応であるとは考えにくく、その発現機序については明らかではない。

投与時間を 20 分から 40 分間に変更した以降に実施した本邦第Ⅱ相、米国継続（切り替え群）、英国第Ⅱ相及び継続、並びにドイツ女性対象試験の結果をあわせると、本薬投与による投与時反応は 53 例中 6 例（11.3%）に発現した。本邦の臨床試験においては、3 例に発現したが、1 例は無処置で消失し、他の 2 例は投与中断と抗ヒスタミン薬及び副腎皮質ホルモン剤処置により回復し、対処可能であった。治験責任医師の判断により投与中止に至った 1 例を除き、他の 2 例では抗ヒスタミン薬による前処置によって投与継続が可能であった。一方、海外では、前処置あるいは前処置と投与方法の変更により投与継続が可能であった。

以上から、申請用法・用量での本薬投与による投与時反応発現のリスクと、前処置による患者への負担を考慮すると、前処置は最初の投与から実施するよりもむしろ、投与時反応が発現した投与回以降に、投与を継続した時に実施することが妥当であると考えられる。このことから、本薬の添付文書（案）「使用上の注意」において、以下のような注意喚起を行っている。

「使用上の注意 1.重要な基本的注意

本剤の投与中又は投与後 1 時間以内に **infusion reaction** があらわれることがある。主な症状は悪寒と顔面潮紅であり、頭痛、呼吸困難、腹痛、嘔気、胸痛、そう痒、浮腫、蕁麻疹等のアレルギー反応を伴うこともある。**Infusion reaction** は、通常本剤による治療開始 2~4 ヶ月で発現する。本剤投与中に重度の **infusion reaction** があらわれた場合には、投与を中断し、必要に応じて適切な処置（抗ヒスタミン剤、副腎皮質ホルモン剤投与等）を行う。経過をみながら投与再開を考慮すること。前投薬（抗ヒスタミン剤、副腎皮質ホルモン剤を本剤投与 1~3 時間前に投与）

等の処置を行うことにより、本剤の infusion reaction は軽減される。(前投薬等の処置を行っても infusion reaction が軽減しない例において、同処置を実施した上で本剤を 1~5 分間投与して中断し、約 5 分後に投与を再開することにより infusion reaction は軽減され、投与継続が可能であった。)」

これに対し機構は以下のように考える。類薬のアガルシダーゼベータ（遺伝子組換え）では本邦における第Ⅱ相試験で 85%に IgG 抗体が陽性（ファブラザイム点滴静注用 5mg、ファブラザイム点滴静注用 35mg 審査報告書 p4）、投与時反応が 10/13 例で認められたのに比べて、本薬では先の回答のように抗体陽性率及び投与時反応発現率とも低かった。特に投与時間が延長されて以降は 10%程度の投与時反応しか発生しておらず、安全性に関しては上記の使用上の注意（案）による注意喚起により、対処可能であると判断する。

②有効性に関して

申請者は以下のように回答した。抗体を産生した被験者の薬物動態は影響を受け、 C_{max} 並びに $AUC_{0-\infty}$ の減少など、薬物動態パラメータが変化する可能性があると考えられた。また、この変化は、抗体価が高いほど大きいものと考えられた。(下図、右の 2 図参照)

抗体の産生は本薬による尿沈渣中 CTH 量の減少効果を減弱させることが示唆された(下図参照)が、血漿中 CTH 濃度の低下、疼痛スコアの減少に及ぼす明確な影響は認められなかった。

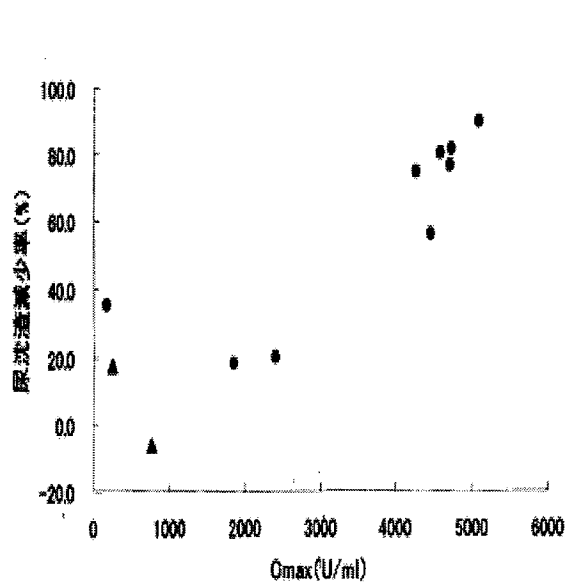


図 1 本邦第Ⅱ相臨床試験における尿沈渣中 CTH 量減少率と C_{max} の関係 (申請者作成)

尿沈渣中 CTH 減少率 (%) = (投与前 - 23 週後) / 投与前 × 100

● : 抗体陰性 ▲ : 抗体陽性

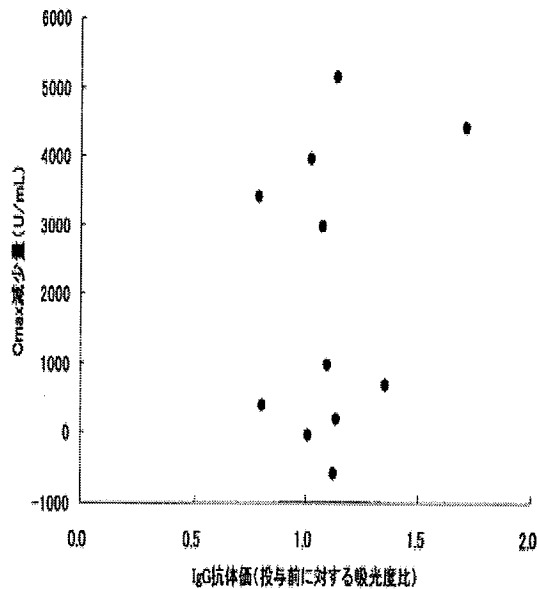
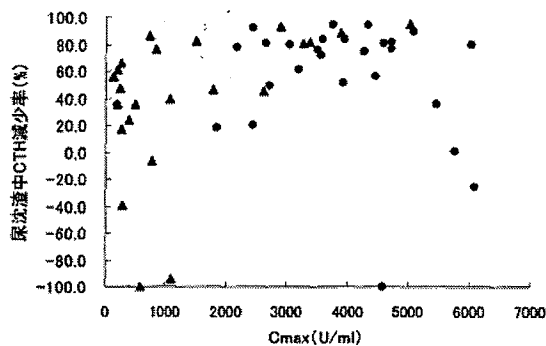


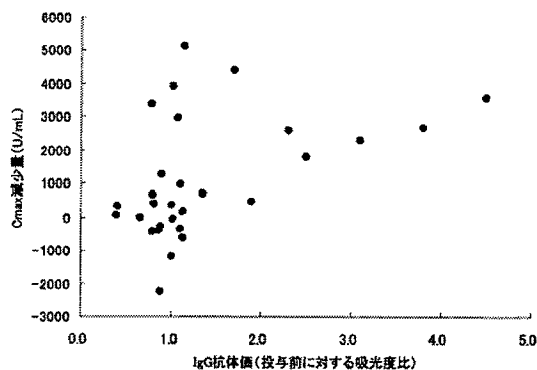
図 1 本邦第Ⅱ相臨床試験における抗体産生と C_{max} 減少量の関係 (申請者作成)



本邦、米国及び英国臨床試験における尿沈渣中 CTH 減少率
と Cmax の関係

米国と英国では、第Ⅱ相と継続投与で症例が重複するため
それぞれの被験者の最終時点に表示した。

●：抗体陰性 ▲：抗体陽性



本邦第Ⅱ相、米国並びに英国継続投与試験・切り
替え群における IgG 抗体価と Cmax 減少量

機構は、以下のように考える。前掲の四つの図から、本薬においては抗体産生が C_{max} 等を低下させ、その結果、有効性を減弱させる可能性があることが示唆された。本薬においては全体の約半数の症例では(36/71例)抗体が陰性であり、もしこのような症例において抗体が出現した場合、有効性に与える影響が懸念される。全体としては、抗体が陰性である症例の成績が抗体陽性症例の低い有効性をマスクしている可能性もあり、全体の成績の解釈にも影響を与えかねない。類薬のアガルシダーゼベータ(遺伝子組換え)では約85%にIgG抗体が出現しているにも拘らず腎生検組織におけるGL-3の除去効果が検証され、抗体の存在は有効性に明らかな影響を与えないとされている。評価項目や方法等も異なるため一概に比較することは困難であるが、見かけ上の用量がアガルシダーゼベータ(遺伝子組換え)では1mg/kg/2週間と本薬の5倍であることについて、この差異が関連している可能性も考えられる。機構は、ファブリー病の病変は基本的に腎機能障害など不可逆的なものであることから、本薬投与中に抗体が出現し、血中濃度が低下したような症例には漫然と本薬を投与するのではなく、類薬への変更を考慮する等の方策を取ることが望ましいと考える。この点について申請者に見解を求めた。

申請者は以下のように回答した。本薬の投与により抗体が産生した患者の31%は尿沈渣中CTH量の減少効果の減弱はみられず、必ずしも抗体の影響を受けるわけではないと考えられた。さらに、尿沈渣中CTH量の減少効果が減弱した患者においても、本薬の投与を継続することにより71%の患者で抗体価が低下または抗体が消失して効果の回復が認められた。また、24%の患者で抗体価は不変または上昇したが、効果の回復が認められ、一方、効果の回復が認められなかった患者は6%のみであった。したがって、抗体を産生した患者において必ずしも効果の減弱が起こるわけではなく、抗体の影響を受けない患者も少なくないと考えられること、及び抗体を産生し、効果の減弱がみられた患者においても投与を継続することにより多くの場合効果の回復が期待できると考えられることから、本薬の投与継続の妥当性を判断するには、抗体産生を指標とするよりも本薬の効果の減弱及び投与継続による効果の回復を指標とする方が適切と考えられる。上記の内容を踏まえ、使用上の注意(案)を下記のように変更する。

【改訂後】(下線部：追加箇所)

6. その他の注意

本剤の投与により、アガルシダーゼアルファ（遺伝子組換え）に対する IgG 抗体が産生され、効果が減弱した例が報告されている。これらの大部分では、本剤の投与を継続することにより効果が回復したが、回復がみられない例もあった。本剤投与中に、疼痛の悪化など効果の減弱がみられた患者で、投与を継続しても効果が回復しない場合は投与を中止し、他の治療法に切り替えることを考慮すること。

【改訂前】

記載なし

機構は、添付文書中に抗体産生による効果減弱について、注意喚起を行うことは妥当であるもの、投与を継続して効果が回復するのを待つことが適当であるかどうか、アガルシダーゼベータ（遺伝子組換え）との使い分けにもかかわることから、専門協議の議論を踏まえ判断することとした。

(8)小児への投与について

機構は、対象疾患の性質に鑑み、本薬が小児に投与されることが考えられるものの、申請資料中の臨床試験では 18 歳以上の症例のみにて評価されているため、申請者の見解を求めた。

申請者は以下のように回答した。ファブリー病疾患の患者は早期から CTH の蓄積が始まっていると考えられ、ファブリー病の病因及び本薬の作用機序を考慮すると、可能な限り早期の投与開始が望ましいと考えられる。一方、本疾患の顕著な臨床症状の一つである疼痛は、多くが小児科年齢である学童期から現れ、早い場合にはたんぱく尿など腎機能障害の兆候も同時期に出現し、まれに腎機能障害が急速に進行する患者もみられる。したがって、医師や保護者の指導のもと、本薬のリスクとベネフィット等を考慮した上で、本薬の学童期における投与開始が必要と判断されるケースもあり得ると考えられる。

本薬の添付文書(案)の「使用上の注意」の項において、小児等への使用経験が少ないため「低出生体重児、新生児、乳児、幼児又は小児に対する安全性は確立していない」と注意喚起しているが、小児に対し使用禁忌とはしていない。今後は市販後調査を通じて、小児科年齢の患者における本薬の安全性情報を蓄積する予定である。

なお、現在、欧州では本薬長期投与による有効性と安全性を調査するために、患者登録システムである Fabry Outcome Survey (以下、FOS) が運営されている。FOS には、2003 年 5 月現在、欧州の 11 カ国 36 医療機関が参加し、市販後の本薬投与患者並びに非投与患者あわせて 400 例近くが登録され、この中で 18 歳以下の患者は 2003 年 1 月現在 35 名 (17 例が本薬投与患者で 6~18 歳。用法用量は 19 歳以上の患者と同じ 0.2mg/kg/2 週間) であり、本薬長期投与時の有効性と安全性が調査されている。

2003 年 5 月 6 日現在までに、5 症例に 16 件の有害事象が報告されている。4 症例は投与時反応(1 件、3 件、3 件、8 件)、1 症例(患者登録番号 XXXXXXXXXX) は腎機能低下であり、いずれも因果関係を否定できないとされている。腎機能低下の症例については、無償提供での初回投与直後の投与当日に測定した GFR の測定値(データは報告されず) から腎機能低下が報告された。しかしながら、本患者では投与前、3、6、12 カ月後の GFR は何れも 99~104 mL/min の正常範囲

内であり、詳細不明である。

機構は、小児における投与経験が非常に限られており、特に安全性については評価が不十分であるものの、現時点で特段注目すべき報告もなく、小児に対する投与を禁忌とはせずに市販後に情報を集積するとの回答を了承した。なお、小児に対する市販後の情報収集については、既承認薬との関係や情報収集の実施可能性等も含めて、専門協議の議論を踏まえて判断することとした。

⑨死亡及び重篤な有害事象について

英国継続及びドイツ女性を対象とした試験において各1例の死亡例が認められた。英国継続試験における死亡例は、英国第Ⅱ相試験においてプラセボ投与群であり、開始時点で軽度の腎不全を有していた。継続投与と試験移行後に末期腎不全と診断され、腎移植後に治験責任医師により術後合併症による死亡であり治験薬との関連性はないとされている。また、ドイツ女性試験においては、前述のように大動脈弁狭窄症、心筋症と心房細動を合併していた症例が脳塞栓症を起こして死亡したものであり、本薬の投与による影響は否定的である。治験担当医師も本薬との因果関係を否定しており、特に問題にならないと機構は判断する。

重篤な有害事象は、本邦では12例中2例(17%)に2件発現し、海外では65例中20例(31%)に36件が発現した。本邦及び海外あわせて本薬が投与された77例のうち、22例(29%)に38件の重篤な有害事象が発現した。重篤な副作用は、本邦で1例に1件及び海外(米国第Ⅱ相)で3例に各1件が発現し、本邦と海外の総計で4例(5%)に各1件が発現した。この4例のうち、本邦の1例及び米国第Ⅱ相試験で発現した3例のうち2例は、投与時反応であるアレルギー反応であった。米国の2例は、当初20分間で投与を実施しており、投与時反応が発現しやすい状況にあったと考えられる。いずれも抗ヒスタミン剤及びステロイド剤等の処置により症状は消失した。投与時反応以外の米国の1例は発熱であった。

機構は、重篤な有害事象についても問題となるものは投与時反応であると考え、この点に関しては前述のように、適宜前処置を施すことなどにより対処できると判断している。

3. 承認審査資料適合性調査結果

1) 適合性書面調査結果

医薬品副作用被害救済・研究振興調査機構により薬事法14条第4項後段に規定する書面による調査が実施されたが、治験実施計画書に基づく投与時間(40分)から逸脱している症例が複数見られ、これについて承認審査資料付録において省略している等の問題が見られたが、逸脱症例は輸液ポンプの送液誤差又はポンプの不調が原因である旨の回答がなされ、当該逸脱症例について総括報告書に追記することとされ、機構は承認審査資料に基づき審査を行うことについては支障ないものと判断した。

2) GCP 実地調査結果

医薬品副作用被害救済・研究振興調査機構において提出された資料に対してGCP実地調査が行われたが、提出された資料に基づき審査を実施することに支障はないと判断した。

4. 総合評価

機構は、提出された資料について以上のような審査を行った結果、以下の結論に達した。

有効性に関しては、本薬が希少疾病を対象としていることを考慮すると、血漿中及び尿沈渣中 CTH と腎組織中 CTH の変化が必ずしも一致せず、腎臓の組織形態学的な改善につながらない場合が認められたものの、全体として本薬の有効性は示唆されていると判断している。

安全性に関しては、留意する副作用として投与時反応が挙げられているが、使用上の注意において、投与時反応が認められる可能性があることを情報提供するとともに、重度の投与時反応が認められた場合には投与を中止し、投与再開に際しては抗ヒスタミン剤や副腎皮質ホルモン剤等を前投薬する旨を注意喚起することにより対処可能と判断した。

用法・用量については、国内第Ⅱ相試験及び海外第Ⅱ相試験において、本薬 0.2 mg/kg が 2 週間に 1 回静脈内投与され、ほぼ同様の有効性及び安全性が認められた。1 用量による臨床試験しか実施されていないため、本薬の臨床推奨用量が明確に検証されているとは言い難いものの、現時点では古典的ファブリー病症例に対して類薬 1 つしか市場にない現状に鑑み、申請用法・用量で本薬を承認し、市販後に本薬の臨床推奨用量を含めて、長期にわたる安全性及び有効性について、確認する必要があると判断する。

本薬の必要性、機構の判断の妥当性について、市販後調査の実施可能性も含めて、専門協議の議論を踏まえ、最終的に判断したい。

審査報告 (2)

平成 18 年 8 月 8 日作成

1. 申請品目

〔販売名〕	リプラガル点滴静注用 3.5mg (リプレガル点滴静注用 3.5mg に変更予定)
〔一般名〕	アガルシダーゼ アルファ (遺伝子組換え)
〔申請年月日〕	平成 14 年 11 月 11 日
〔申請者〕	住友製薬株式会社 (現 大日本住友製薬株式会社)

2. 審査内容

医薬品医療機器総合機構 (以下、機構) は、審査報告 (1) をもとに専門委員へ意見を求めた。委員との協議を踏まえた審査結果を報告する。なお、専門協議後、平成 16 年 2 月 18 日付け薬食発第 0218004 号医薬食品局長通知を受けて、本薬の培養工程で使用されるウシ血清が米国産の γ 線非照射仔ウシ血清からニュージーランド産又はオーストラリア産の γ 線照射仔ウシ血清に変更されることとなった。今般、これに伴い品質に関する資料及び安定性に関する資料が追加提出され、機構は審査を再開した。

また、販売名について、医療事故防止の観点から、類似名称を有する医薬品として取り違えが生じないように販売名を改める方向で検討し、販売名を「リプラガル点滴静注用 3.5mg」から「リプレガル点滴静注用 3.5mg」に改める旨、申請者より提案され、機構はこれを了承した。

ロ. 物理的・化学的性質並びに規格及び試験方法に関する資料

本薬の培養工程で使用されるウシ血清が米国産の γ 線非照射仔ウシ血清からニュージーランド産又はオーストラリア産の γ 線照射仔ウシ血清に変更されることとなり、これに伴い原薬の精製工程が一部変更された (E*製法及び原薬)。また、E*原薬の製造には、第二代 WCB が使用された。

第二代 WCB では、培養培地及び凍結保存培地の組成並びに細胞濃度について調製工程が若干初代から変更された。調製された第二代 WCB について管理試験が実施され、微生物及びウイルスに関する試験、細胞の性質に関する試験について許容基準に適合するとともに、細胞増殖性及び SMP-536 生産能について初代 WCB と同様であったことから、SMP-536 の製造に適切な細胞であると結論されている。

本薬製造の拡大培養及び生産培養工程で使用されていたウシ血清の上記切り替えに際し、ニュージーランド産又はオーストラリア産の γ 線照射仔ウシ血清を使用して製造された未精製バルク ■ロットについて細胞数、細胞生存率及び未加工バルクの酵素活性が米国産仔ウシ血清での実績と比較された結果、未加工バルクの単位容量あたりの酵素活性がやや低い傾向が認められたものの工程管理基準を満たしており、問題はないと判断されている。

また、 γ 線照射仔ウシ血清では γ 線照射の影響で分子量約 30kDa 付近の低分子量 BSA が増加しており、従来の精製工程では血清由来 BSA の除去が不完全となる可能性が小スケールでの検討から示唆されたことから、除去効率を高めるために精製工程の見直しが行われ、■カラム工

程の洗浄液量、■■■■カラムの洗浄液の■■■■、■■■■カラムの洗浄液の追加並びに溶出液の■■■■及び流速を変更した E*製法が確立された。

D*製法及び E*製法により製造された実生産スケールの原薬 1 ロットについて構造、物理的・化学的性質、免疫化学的性質、生物学的性質及び品質に関する検討が実施された。その結果、E*原薬ではグリカンマップ上でピークグループ G*（リン酸が■個結合した糖鎖）の含量（存在比）が D*標準品の■■■%と低い値を示したが（D*標準品では■■■■%に対して■■■■%）、そのほかは D*標準品と同様であった。

機構は、ピークグループ G*は本薬の細胞内への取り込みに必須のリン酸を含む糖鎖であることから、E*原薬のピークグループ G*含量が低いことについて、製法変更の影響か又は製造のバラツキによるものか、また本薬の有効性に対する影響について申請者に説明を求めた。

申請者は以下のように回答した。現時点では E*製法で製造したロット数が少なく、製造のバラツキがどの程度であるのかは不明であるが、WCB の切り替え及び血清の変更がピークグループ G*の含量に影響を与える可能性については、これまでに製法検討を行った種々の条件の組み合わせ（初代又は 2 代目 WCB、米国又はニュージーランド産血清、 γ 線照射の有無及び D*又は E*製法）が異なる■種類のロットについて、製造スケールの類似したロットの成績を比較したところ、血清原産国の変更が影響を与えた可能性は低く、WCB の切り替え、 γ 線照射及び精製工程の変更が影響を与えた可能性は否定できないと考えられた。しかしながら、ピークグループ G*は含量が少ないため、元々 TKT 社の規格でも他のピークより規格幅が広く（他のピークが■～■■■%であるのに対し■～■■■%）E*原薬においても規格の範囲内であったこと、主要なリン酸結合糖鎖であるピークグループ H*（リン酸が■個結合した糖鎖）とピークグループ G*を合計した E*原薬のリン酸結合糖鎖の含量は D*標準品と C*標準品の中間であったこと、E*原薬の各ピークグループの面積百分率はピークグループ G*も含め D*原薬及び C*原薬の実績又は平均値 \pm 3SD の変動の範囲内であったこと、また細胞内取り込み活性において E*原薬は D*標準品の■■■%であり同等であることが確認されていることから、ピークグループ G*の含量が D*標準品よりも低い傾向にあるものの、本薬の有効性には影響を与えないと判断している。

機構は、安全対策のために製法を若干変更した製剤が市販用製剤となることについて、品質面での検討結果から製法改良前後の原薬にほとんど差が認められないとする点は回答を了承するが、本薬については製造販売後に全例を登録した調査が予定されており、その中で有効性及び安全性に臨床試験とは異なる傾向が認められないかについても情報を収集し、製法の変更による影響がないことを確認しておく必要があると考える。

ハ. 安定性に関する資料

機構は、E*原薬及び当該原薬より製造された製剤の安定性に関する資料について提出を求めた。申請者は原薬について $-65\sim 85^{\circ}\text{C}$ 、12 カ月までの長期保存試験成績、及び $5\pm 3^{\circ}\text{C}$ 、6 カ月保存の加速試験成績を、製剤について $5\pm 3^{\circ}\text{C}$ 、9 カ月までの長期保存試験成績、及び $25\pm 2^{\circ}\text{C}/60\pm 5\%\text{RH}$ 、6 カ月保存の加速試験成績を提出した。長期保存試験成績について、提出された保存期間において品質の変化を示唆する傾向は認められておらず、加速試験成績においても変化は認められていない。長期保存試験は原薬では■■■カ月まで、製剤では■■■カ月まで継続される予定である。有効期間については、今後提出される資料を見て判断したい。

へ. 吸収、分布、代謝、排泄に関する資料

英国第Ⅱ相臨床試験を終了した欧米人男性ファブリー病患者 15 例（プラセボ又は本薬 0.2mg/kg を 2 週間に 1 回 12 回静脈内投与）を対象に、本薬 0.2mg/kg を 2 週間に 1 回 54 回静脈内投与した継続投与試験の結果が追加提出されている（追ト-2）。

27 週で C_{max} 、 $AUC_{0-\infty}$ 及び $AUC_{0-\infty}$ 補正值の著明な低下・減少がみられた 2 例（No.2、No.13）で、55 週後投与時（切り替え群では 28 回目、継続投与群では 40 回目投与）には、これらのパラメータが上昇・増加し回復がみられた。なお、2 例のうち 1 例は 27 週と同様に抗体検査は陽性であった。他の 6 例のうち 1 例（No.11）ではパラメータの回復はみられなかったが、5 例では回復が認められた。55 週の時点では 2 例のみ（No.3 及び 12）で血漿中濃度が測定され、1 例（No.3）では 27 週に比較してパラメータの低下・減少がみられたが、もう 1 例（No.12）では 27 週に比較して回復が認められた。また、抗体はいずれも陰性であった。

以上から、本薬を 1 年～1 年半投与した 10 例のうち全例で薬物動態パラメータの低下・減少がみられたが、8 例では投与を継続することにより回復が認められた。なお、抗体産生と薬物動態パラメータの低下・減少は必ずしも一致しなかったとされた。

ト. 臨床に関する資料

専門協議において、ファブリー病に対する既存治療薬として類薬であるアガルシダーゼ ベータ（遺伝子組換え）があるなかで、本薬の臨床推奨用量が類薬であるアガルシダーゼ ベータ（遺伝子組換え）より低用量であることから、本薬の有用性について再確認したところ、① 類薬であるアガルシダーゼ ベータ（遺伝子組換え）で強いアレルギー反応が出た患者、② 女性でかつ症状が軽い患者に対しては、本薬を投与する意義があるとの意見が出された。

(1) 効能・効果について

本薬は、類薬であるアガルシダーゼ ベータ（遺伝子組換え）（販売名：ファブラザイム点滴静注用 5mg、同 35mg）と同様の作用機序及び目的で使用されるものであり、臨床現場での混乱を避けるためにも、類薬と同様に効能・効果は「ファブリー病」とすることが適当であるとする機構の判断は、専門協議において支持された。これに基づき、申請者は効能・効果を「ファブリー病」に改めると回答し、機構はこれを了承した。

(2) 心ファブリー病について

機構は、本薬の臨床試験では心臓への効果についても検討されているが、欠損或いは非常に低下した酵素活性を持つ古典的ファブリー病患者で心臓にも症状がみられる患者を対象としており、酵素活性の低下は認められるものの他臓器に臨床所見がみられない心ファブリー病に対する効果は確認されていないと考える。また、機構は、既承認類薬であるアガルシダーゼ ベータ（遺伝子組換え）と異なる取扱いをすることにより臨床現場を混乱させる恐れがあること、現時点では、心ファブリー病に対する有効性及び安全性を評価するための資料が十分ではないことから、類薬と同様に添付文書の効能・効果に関連する使用上の注意において心ファブリー病に対する安全性及び有効性は確立していない旨を記載し、注意喚起することが適当であり、製造販売後に心ファブリー病に対する安全性及び有効性を確認する必要があると判断した。

これに基づき、申請者の見解を求めたところ、以下のように改める旨が回答され、機構はこれを了承した。

【効能・効果】

ファブリー病

【効能・効果に関連する使用上の注意】

- (1) 本剤はファブリー病と確定診断された患者にのみ使用すること。
- (2) 心臓にのみ病変が認められる亜型のいわゆる心ファブリー病患者での安全性及び有効性は確立していない。

さらに機構は、心ファブリー病における安全性及び有効性を確認するために、心ファブリー病患者を対象とした製造販売後臨床試験の実施可能性について申請者の見解を示すように求めた。

申請者は、以下のように回答した。左室肥大を有するファブリー病患者を対象とした英国第Ⅱ相試験では本薬群 1/7 例（心臓中 CTH 減少、左室心筋重量減少又は維持、左室内径並びに心室中隔厚減少、左室拡張末期容量減少、心電図 QRS 時間短縮）、女性ファブリー病患者を対象としたドイツにおける臨床試験では 2/15 例（血漿中 CTH 量減少、左室心筋重量減少、心室中隔厚減少、左室後壁厚減少、心電図 QRS 時間短縮）が心ファブリー病患者であり、本薬の投与により心臓障害の改善がみられた。このことから、本薬が心ファブリー病患者の心臓障害に有効性を示すと考える。

しかしながら、本邦における臨床試験では心ファブリー病患者に対する検討がなされていないことから、製造販売後に、心ファブリー病に対する本薬の安全性及び有効性に関して更なる検討が必要であると考え。既承認類薬が存在すること、対象患者数及び必要症例数等から実施可能性を考慮すると、製造販売後臨床試験は困難であるため、心ファブリー病患者を対象とした特定使用成績調査（全症例対象）を実施することで、心ファブリー病患者に対する本薬の安全性及び有効性について確認する予定である。

機構は、心ファブリー病患者数は少ないとは言いきれないものの、罹患当初は心肥大のみで自覚症状がないため、確定診断時には病状が進行した症例、あるいは診断に至らない症例も多いことが予測されることから、治療される患者が少ない可能性があるとの専門委員の意見も踏まえ、全症例を対象とした特定使用成績調査を実施し、その中で確実に心ファブリー病に対する評価が可能となるような調査（期間、調査項目等）を設定するよう申請者に指導した。

(3) 用法・用量について

国内第Ⅱ相試験及び海外第Ⅱ相試験において投与された本薬の用量は 0.2 mg/kg であり、1 用量による臨床試験しか実施されていないため、本薬の臨床推奨用量が明確に検証されているとは言い難いが、本用量で国内外において有効性及び安全性が確認されていること、海外において市販後に用量検討のための臨床試験を実施中であること、古典的ファブリー病に対する薬剤が 1 つしか承認されていないことから、製造販売後に臨床推奨用量を確認することを前提に 0.2mg/kg を隔週投与することで止むを得ないものとする機構の考えは、専門協議において支持された。機構は、本薬の臨床推奨用量を設定するための臨床試験が本邦で実施されていないことから、製造

販売後において検討する必要があるか申請者の見解を求めた。

申請者は、以下のように回答した。米国 Shire Human Genetic Therapies 社 (旧 TKT 社) は、本薬の更なる至適用法・用量の探索を行うことを目的に、臨床試験 1 としてファブリー病患者における用法・用量検討のための薬物動態並びに薬力学試験 (オープン試験) を実施し、更に臨床試験 2 としてより長期で実施計画を検討中である。臨床試験 1 において、用法・用量として、投与群 1 : 0.1mg/kg、20 分、1 回/週、10 回 9 週 (総投与量 1.0mg/kg)、投与群 2 (申請用法・用量) : 0.2mg/kg、40 分、1 回/2 週、5 回 8 週 (総投与量 1.0mg/kg)、投与群 3 : 0.2mg/kg、40 分、1 回/週、10 回 9 週 (総投与量 2.0mg/kg)、投与群 4 : 0.4mg/kg、80 分、1 回/2 週、5 回 8 週 (総投与量 2.0mg/kg)、投与群 5 : 0.4mg/kg、80 分、1 回/週、10 回 9 週 (総投与量 4.0mg/kg) が設定され、血漿中 CTH 濃度を指標として海外での承認用法・用量 (本邦での申請用法・用量と同じ) の妥当性について検討された。その結果、投与群 2 の被験者における血漿中 CTH 濃度の低下は、投与群 1、3、4 及び 5 と同様であり、安全性においても大きな差はみられなかった。以上から、いずれの用法・用量においても薬力学及び安全性の観点から同様であった。なお、臨床試験 2 については、臨床試験 1 の成績に加え、有用性の観点からも用法・用量の妥当性について確認する予定である。海外臨床試験 1 の成績から、本邦での申請用法・用量は妥当であると考えられるが、臨床試験 2 の成績から新たな用法・用量が見出されたと判断された場合には、本邦において本薬が投与されている患者を対象に、新たな用法・用量に切り替えることにより、安全性評価を中心とした臨床試験を実施する予定である。代替用法・用量への切り替え前 (試験開始時) と試験終了時とで有効性の増強の有無等を評価することは可能と考えられ、この試験結果をもとに海外での臨床試験成績との整合性について考察を行う予定である。なお、この試験成績を含め総合的に検討した結果、必要と認められた場合は、用法・用量に関する一部変更申請を行う予定である。

機構は、回答を了承した。

なお、申請者は以下のように用法・用量を整備する旨回答し、機構はこれを了承した。

【用法・用量】 (変更前)

アガルシダーゼ アルファ (遺伝子組換え) として、0.2mg を 100mL の日局生理食塩液に希釈し、2 週間に 1 回、40 分以上かけて点滴静注する。

【用法・用量】 (変更後)

通常、アガルシダーゼ アルファ (遺伝子組換え) として、1 回体重 1 kg あたり 0.2mg を隔週、点滴静注する。

【用法・用量に関連する使用上の注意】 (変更後)

- (1) 投与速度 : 投与速度が速いと infusion related reaction が発現しやすいので、投与は 40 分以上かけて行うこと。
- (2) 希釈方法 : 患者の体重あたりで計算した本剤 [アガルシダーゼ アルファ (遺伝子組換え) として 1mg/mL の溶液] の必要量を用時にバイアルから採取し、100mL の日局生理食塩液に加えて希釈する。
- (3) 本剤は保存中に少量の微粒子を生じることがあるため、本剤投与時には 0.2 ミクロンのインラインフィルターを通して投与すること。

(4) 抗体産生及び投与時反応、効果が減弱した場合の対応について

本薬の投与により留意する必要がある副作用として投与時反応が挙げられているが、使用上の注意において、投与時反応が認められる可能性があることを情報提供するとともに、重度の投与時反応が認められた場合には投与を中止し、投与再開に際しては抗ヒスタミン剤や副腎皮質ホルモン剤等を前投薬する旨を注意喚起することにより対処可能であるとした機構の判断は、専門協議において支持された。

さらに機構は、先に申請者より提示された添付文書（案）において、投与時反応に関する注意喚起を警告欄にも記載するとともに、投与再開を考慮する際の基準やその方法等についても重要な基本的注意（審査報告(1)ト項参照）の中で情報提供しよう申請者に求めた。

申請者は、警告欄においても注意喚起するとともに、海外における臨床試験を参考に、重要な基本的注意を以下のように改めると回答し、機構はこれを了承した。

2. 重要な基本的注意

(2) 本剤の投与中又は投与終了後1時間以内に **infusion related reaction** があらわれることがある。主な症状は悪寒と顔面潮紅であり、頭痛、呼吸困難、腹痛、嘔気、胸痛、そう痒、浮腫、蕁麻疹等のアレルギー反応を伴うこともある。**Infusion related reaction** は、通常本剤による治療開始2~4カ月で発現する。本剤投与中に **infusion related reaction** があらわれた場合には、必要に応じて投与を中断し、適切な処置（抗ヒスタミン剤、副腎皮質ホルモン剤投与等）を行うこと。処置後は経過を観察し、投与再開に際しては以下を考慮すること。

- 1) **Infusion related reaction** が不変又は悪化した場合には、投与を再開しないこと。
Infusion related reaction に対する追加処置を考慮すること。
- 2) **Infusion related reaction** が軽快又は消失した場合、投与再開を考慮すること。再開の場合、必要に応じ、投与速度を中断前の1/2を目安として下げること。

(3) **Infusion related reaction** が発現した患者への次回投与に際しては、以下を考慮すること。

- 1) 前投薬（抗ヒスタミン剤、副腎皮質ホルモン剤等を本剤投与1~3時間前に投与）の処置を行うこと。
- 2) 前投薬等の処置を行っても **infusion related reaction** が軽減しない症例において、同処置を実施した上で本剤を1~5分間投与して中断し、約5分後に投与を再開することにより **infusion related reaction** が軽減された例がある。

なお、本薬においては抗体産生により本薬投与後の C_{max} 、AUC 等が低下し、その結果、有効性を減弱させる可能性があるとしていることから、機構は、抗体産生時の対策として本薬継続投与により効果の回復を待つだけでなく、類薬への切替えも考慮に入れて考察しよう申請者に説明を求めた。

申請者は、以下のように回答した。尿沈CTHの減少効果がIgG抗体の産生により減弱する症例が認められたが、ほとんどの場合は投与を継続することにより効果が回復した。しかしながら、回復しない症例も認められたことから、重要な基本的注意の項に以下のように記載することとし

た。

【6.その他の注意】(変更前)

本剤の投与により、アガルスダージェ アルファ (遺伝子組換え) に対する IgG 抗体が産生し、効果が減弱した例が報告されている。これらの大部分では、本剤の投与を継続することにより効果が回復したが、回復が見られない例もあった。本剤投与中に、疼痛の悪化などの効果の減弱がみられた患者で、投与を継続しても効果が回復しない場合は投与を中止し、他の治療法に切り替えることを考慮すること。

【2. 重要な基本的注意】(変更後)

- (4) 本剤の投与により、アガルスダージェ アルファ (遺伝子組換え) に対する IgG 抗体が産生し、効果が減弱した例が報告されている。これらの大部分では、本剤の投与を継続することにより効果が回復したが、回復が見られない例もあった。本剤投与中に、疼痛の悪化などの効果の減弱がみられた患者では他の治療法に切り替えることも考慮すること。【臨床成績】の項参照】

機構は、回答を了承した。

(5) 小児への投与について

国内臨床試験では 18 歳以上の症例で評価されており、小児ファブリー病患者では実施されていない。さらに、海外データを含めても小児ファブリー病患者への使用経験が少ないため、使用上の注意において、「低出生体重児、新生児、乳児、幼児又は小児に対する安全性及び有効性は確立していない」旨の注意喚起を行い、製造販売後調査において、小児に対する本薬の安全性及び有効性に関する情報を収集するという機構の判断は、専門協議で支持された。これに基づき、申請者は使用上の注意について、以下のように改めると回答した。また、製造販売後調査については、長期使用に関する特定使用成績調査の中で、安全性及び有効性について確認すると回答した (製造販売後調査の項参照)。

【4.小児への投与】(変更前)

低出生体重児、新生児、乳児、幼児又は小児に対する安全性は確立していない。【使用経験が少ない】

【4.小児への投与】(変更後)

低出生体重児、新生児、乳児、幼児又は小児に対する安全性及び有効性は確立していない。【使用経験が少ない】

機構は回答を了承した。

(6) 製造販売後調査について

提出された国内試験成績が極めて限られた症例によるものであることから、全投与症例を対象

とした製造販売後調査を実施し、小児及び本薬の用法・用量の確認も含めた長期使用時の安全性及び有効性に関する特定使用成績調査の実施が必要であるとする機構の判断は、専門委員に支持された。

これを受けて申請者は、製造販売後において、以下のような調査を実施する旨、回答した。小児も含めたファブリー病患者全例を対象として本剤の長期使用による安全性及び有効性を検討するために、病型等を含めた患者背景、体重や本剤投与状況等を含めた治療経過、心エコーや 12 誘導心電図等を含めた心機能、腎機能、脳血管障害、尿沈渣中 CTH、血漿中 CTH 濃度、IgG 抗体等を含めた臨床検査、及び疼痛等を含めた臨床症状などを調査項目とした、長期使用に関する特定使用成績調査を実施する。さらに、心ファブリー病患者全例に対する使用実態下での安全性及び有効性を検討するために、特定使用成績調査を実施する。

機構は、これを了承した。

3.総合評価

機構は、以上の審査の結果、下記のように効能・効果及び用法・用量を整備し、承認条件を付した上で、本薬を承認して差し支えないと判断する。本薬は希少疾病用医薬品であることから、再審査期間は 10 年とすることが適当であると判断する。

なお、本薬は生物由来製品に該当し、原体及び製剤ともに劇薬に該当すると判断する。

【効能・効果】

ファブリー病

【用法・用量】

通常、アガルシダーゼ アルファ（遺伝子組換え）として、1 回体重 1 kg あたり 0.2mg を隔週、点滴静注する。

【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収集し、本剤の適正使用に必要な措置を講じること。