

審議結果報告書

平成 21 年 9 月 8 日
医薬食品局審査管理課

[販 売 名] ベネフィクス静注用 250、同静注用 500、同静注用 1000
及び同静注用 2000
[一 般 名] ノナコグアルファ（遺伝子組換え）
[申 請 者] ワイス株式会社
[申請年月日] 平成 20 年 10 月 31 日

[審 議 結 果]

平成 21 年 8 月 31 日に開催された医薬品第二部会において、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上程することとされた。

なお、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毒薬又は劇薬に該当しないとされた。

[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、本剤を使用した全症例を対象とした使用成績調査を実施することにより、本剤使用患者の背景情報を把握するとともに、本剤の安全性及び有効性に関するデータを早期に収集し、本剤の適正使用に必要な措置を講じること。

審査報告書

平成 21 年 8 月 20 日
独立行政法人 医薬品医療機器総合機構

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

記

[販 売 名] ベネフィクス静注用 250、同 500、同 1000、同 2000

[一 般 名] ノナコグアルファ（遺伝子組換え）

[申 請 者] ワイス株式会社

[申請年月日] 平成 20 年 10 月 31 日

[剤型・含量] 1 バイアル中、ノナコグアルファ（遺伝子組換え）を 250 国際単位、同 500 国際単位、同 1,000 国際単位、同 2,000 国際単位含有する用時溶解注射剤。添付溶解液で溶解したときに 1mL あたりノナコグアルファ（遺伝子組換え）を 50 国際単位、同 100 国際単位、同 200 国際単位、同 400 国際単位含む。

[申請区分] 医療用医薬品（1）新有効成分含有医薬品

[化学構造]

分子式： $C_{2053}H_{3114}N_{558}O_{665}S_{25}$

分子量：約 55,000

構造式：別紙 1 及び別紙 2 のとおり

化学名又は本質：

（日本名）ヒト血液凝固第 IX 因子の Ala 148 対立遺伝子をコードする cDNA と PACE プロテアーゼ cDNA の 2 種の発現プラスミドを組み込んだチャイニーズハムスターの卵巣細胞で産生される 415 個のアミノ酸残基（ $C_{2053}H_{3114}N_{558}O_{665}S_{25}$ ，分子量：47,053.70）からなる糖たん白質（分子量：約 55,000）

（英 名）glycoprotein (molecular weight; ca. 55,000) consisting of 415 amino acid residues ($C_{2053}H_{3114}N_{558}O_{665}S_{25}$; molecular weight; ca. 47,000), produced in Chinese Hamster ovary cells transfected by two expression vectors, one containing a cDNA sequence encoding Ala 148 allelic form of human coagulation factor IX, and the other containing a cDNA sequence encoding PACE-SOL.

[特記事項] 希少疾病用医薬品

[審査担当部] 生物系審査第一部

[アミノ酸配列]

Tyr Asn Ser Gly Lys Leu Glu Glu Phe Val Gln Gly Asn Leu Glu Arg Glu Cys Met Glu	20
Glu Lys Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Val Phe Glu Asn Thr Glu Arg Thr Thr Glu	40
Phe Trp Lys Gln Tyr Val Asp Gly Asp Gln Cys Glu <u>Ser</u> Asn Pro Cys Leu Asn Gly Gly	60
<u>Ser</u> Cys Lys Asp Asp Ile Asn Ser Tyr Glu Cys Trp Cys Pro Phe Gly Phe Glu Gly Lys	80
Asn Cys Glu Leu Asp Val Thr Cys Asn Ile Lys Asn Gly Arg Cys Glu Gln Phe Cys Lys	100
Asn Ser Ala Asp Asn Lys Val Val Cys Ser Cys Thr Glu Gly Tyr Arg Leu Ala Glu Asn	120
Gln Lys Ser Cys Glu Pro Ala Val Pro Phe Pro Cys Gly Arg Val Ser Val Ser Gln Thr	140
Ser Lys Leu Thr Arg Ala Glu Ala Val Phe Pro Asp Val Asp Tyr Val <u>Asn</u> Ser <u>Thr</u> Glu	160
Ala Glu Thr Ile Leu Asp <u>Asn</u> Ile <u>Thr</u> Gln Ser <u>Thr</u> Gln Ser Phe Asn Asp Phe Thr Arg	180
Val Val Gly Gly Glu Asp Ala Lys Pro Gly Gln Phe Pro Trp Gln Val Val Leu Asn Gly	200
Lys Val Asp Ala Phe Cys Gly Gly Ser Ile Val Asn Glu Lys Trp Ile Val Thr Ala Ala	220
His Cys Val Glu Thr Gly Val Lys Ile Thr Val Val Ala Gly Glu His Asn Ile Glu Glu	240
Thr Glu His Thr Glu Gln Lys Arg Asn Val Ile Arg Ile Ile Pro His His Asn Tyr Asn	260
Ala Ala Ile Asn Lys Tyr Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Glu Leu Asp Glu Pro Leu Val	280
Leu Asn Ser Tyr Val Thr Pro Ile Cys Ile Ala Asp Lys Glu Tyr Thr Asn Ile Phe Leu	300
Lys Phe Gly Ser Gly Tyr Val Ser Gly Trp Gly Arg Val Phe His Lys Gly Arg Ser Ala	320
Leu Val Leu Gln Tyr Leu Arg Val Pro Leu Val Asp Arg Ala Thr Cys Leu Arg Ser Thr	340
Lys Phe Thr Ile Tyr Asn Asn Met Phe Cys Ala Gly Phe His Glu Gly Gly Arg Asp Ser	360
Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Val Thr Glu Val Glu Gly Thr Ser Phe Leu Thr	380
Gly Ile Ile Ser Trp Gly Glu Glu Cys Ala Met Lys Gly Lys Tyr Gly Ile Tyr Thr Lys	400
Val Ser Arg Tyr Val Asn Trp Ile Lys Glu Lys Thr Lys Leu Thr	

— :ジスルフィド結合

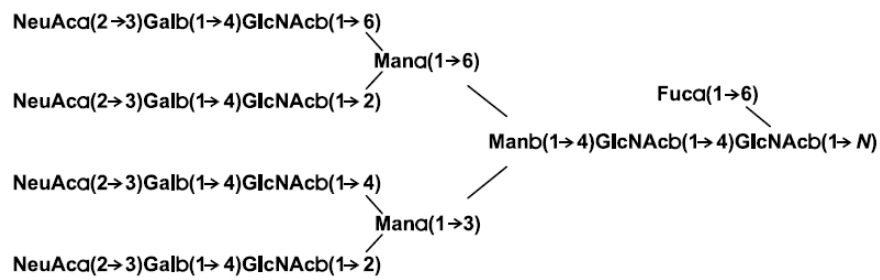
囲み線 : N-結合型糖鎖結合部位

下線 : O-結合型糖鎖結合部位

[推定糖鎖構造]

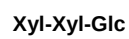
N-結合型糖鎖

Asn¹⁵⁷ 及び Asn¹⁶⁷



O-結合型糖鎖

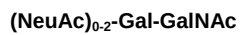
Ser⁵³



Ser⁶¹



Thr¹⁵⁹、Thr¹⁶⁹ 及び Thr¹⁷²



審査結果

平成 21 年 8 月 20 日

〔販 売 名〕 ベネフィクス静注用 250、同 500、同 1000、同 2000
〔一 般 名〕 ノナコグアルファ（遺伝子組換え）
〔申 請 者〕 ワイス株式会社
〔申請年月日〕 平成 20 年 10 月 31 日
〔剤型・含量〕 1 バイアル中、ノナコグアルファ（遺伝子組換え）を 250 国際単位、同 500 国際単位、同 1,000 国際単位、同 2,000 国際単位含有する用時溶解注射剤。添付溶解液で溶解したときに 1mL あたりノナコグアルファ（遺伝子組換え）を 50 国際単位、同 100 国際単位、同 200 国際単位、同 400 国際単位含む。

審査結果

提出された資料から、本品は、「血友病 B（先天性血液凝固第 IX 因子欠乏症）患者における出血傾向の抑制」の効能・効果に対して、有効性及び安全性が認められると判断した。ただし、国内での治験症例は極めて限られていることから、本剤を使用した全症例を対象とした製造販売後調査を実施することが必要と判断した。

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

〔効能・効果〕

血友病 B（先天性血液凝固第 IX 因子欠乏症）患者における出血傾向の抑制

〔用法・用量〕

本剤は製剤に添付された溶解液を全量用いて溶解し、数分かけて緩徐に静脈内に注射する。初回用量は通常、本剤 50 国際単位/kg とするが、患者の状態に応じて適宜増減できる。なお、次回以降は患者の状態、血液凝固第 IX 因子の上昇値〔（国際単位/dL）/（国際単位/kg）〕に応じて適宜増減する。

〔承認条件〕

国内での治験症例が極めて限られていることから、製造販売後、一定数の症例に係るデータが集積されるまでの間は、本剤を使用した全症例を対象とした使用成績調査を実施することにより、本剤使用患者の背景情報を把握するとともに、本剤の安全性及び有効性に関するデータを早期に収集し、本剤の適正使用に必要な措置を講じること。

審査報告 (1)

平成 21 年 7 月 22 日

I. 申請品目

〔販 売 名〕	ベネフィクス静注用キット 250、同 500、同 1000、同 2000
〔一 般 名〕	ノナコグアルファ（遺伝子組換え）
〔申 請 者 名〕	ワイス株式会社
〔申請年月日〕	平成 20 年 10 月 31 日
〔剤型・含量〕	1 バイアル中、ノナコグアルファ（遺伝子組換え）を 250 国際単位、同 500 国際単位、同 1,000 国際単位、同 2,000 国際単位含有する用時溶解注射剤。添付溶解液で溶解したときに 1mL あたりノナコグアルファ（遺伝子組換え）を 50 国際単位、同 100 国際単位、同 200 国際単位、同 400 国際単位含む。
〔申請時効能・効果〕	血液凝固第 IX 因子欠乏患者の出血傾向を抑制する。
〔申請時用法・用量〕	本剤は製剤に添付された溶解液を全量用いて溶解し、数分かけて緩徐に静脈内に注射する。初回用量は通常、本剤 75 国際単位/kg を投与するが、この初回用量は適宜増減できる。なお、次回以降は患者の状態、体重、血液凝固第 IX 因子の上昇値〔国際単位/dL／（国際単位/kg）〕に応じて適宜増減する。
〔特 記 事 項〕	希少疾病用医薬品

II. 提出された資料の概略及び医薬品医療機器総合機構における審査の概略

本申請において、申請者が提出した資料及び独立行政法人医薬品医療機器総合機構（以下、機構）からの照会事項に対する申請者の回答の概略は、下記のとおりである。

1. 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

1.1 本薬の概要

血友病 B は、血液凝固第 IX 因子（以下、FIX）の量的あるいは質的異常に伴う血漿中 FIX 活性の低下によって生じる先天性出血疾患で、X 連鎖劣性遺伝形式を示す。本邦における血友病 B の有病率は、男性 10 万人あたり約 1 人と推定されており（*Semin Thromb Hemost* 26: 29-32, 2000）、世界血友病連合が 2006 年に実施した調査では、本邦の血友病 B 患者数は 891 人と報告されている（*Annual Report 2007, World Federation of Hemophilia*）。血友病 B の出血症状は、深部組織から滲み出るような出血を特徴とし、出血部位の大部分は皮下血腫、関節内出血及び筋肉内出血である。臨床的重症度は FIX 活性と相関し、活性 1% 未満は重症型、1～5% は中等症、5～40% は軽症と分類されている（三輪血液病学第 3 版 文光堂, 2006）。

血友病 B における治療の基本は、出血時に可及的速やかに必要量の FIX 製剤を投与する補充療法である。現在、本邦で使用可能な FIX 製剤としては、乾燥濃縮人血液凝固第 IX 因子製剤（クリスマシン[®]M 及びノバクト[®]M）と乾燥人血液凝固第 IX 因子複合体製剤（PPSB[®]-HT「ニチャク」）が存在する。これらの製剤はヒト血漿を原材料とすることから、生物由来原料基準に規定されるスクリーニング検査及び製造工程中でウイルス不活化／除去処理が行われているが、ヒト血漿に由来する既知又は未知の病原体の理論的な感染リスクを完全には否定できない。一方、今回申請されたベネフィクス[®]は、遺伝子組換え技術によりチ

ヤイニーズハムスター卵巣（以下、CHO）細胞で産生され、製造工程において細胞株以外の動物由来原材料を使用しないことから、ヒト血漿由来の病原体感染リスクは排除されている。

1.2 開発の経緯等

ベネフィクス®は1990年代より米国 Genetics Institute 社（以下、GI 社）により研究開発が開始され、米国では1996年に米国食品医薬品局（以下、FDA）から希少疾病用医薬品の指定を受け、海外臨床試験の中間報告書に基づき1997年2月に承認され、欧州でも欧州医薬品審査庁（以下、EMA）から特例制度の適用を受け1997年8月に承認された。本邦では1996年4月に希少疾病用医薬品の指定を受けた後、1999年10月～1999年12月に日本人患者3例を対象とした国内第Ⅰ／Ⅱ相試験（C9623-21-JP 試験、以下、JP 試験）が実施され、海外臨床試験成績（C9407-21 試験、C9408-21 試験、C9417-21 試験及び C9418-21 試験）と併せて1999年12月に承認申請された。しかしながら、2000～2001年に EMA が実施した査察において、海外臨床試験に GCP 上の問題が指摘されたことから、当時の医薬品医療機器審査センター（以下、審査センター）は審査を一時中断した。審査センターは、EMA から指摘を受けた GCP 上の問題が解決されるまでは、海外臨床試験成績を評価資料に用いることは不適切であり、JP 試験のみで有効性及び安全性を評価することは困難であることから、GI 社に対して追加臨床試験を実施するよう求めた。GI 社及び国内開発を引き継いだ米国ワイス社は、審査センターとの協議の結果、国内での追加臨床試験を実施する旨の回答書を提出したものの、[] との [] により米国ワイス社単独での開発継続が困難となったとして、2001年12月に承認申請を下げた。なお、JP 試験に参加した3例の日本人患者に対しては、JP 試験終了から約8年間、継続調査（3090A1-303-JP、以下、303-JP）としてベネフィクス®が提供された。

米国及び欧州では、当該臨床試験に GCP 上の問題が指摘された後も、当時集積されていた市販後データ等をもとにリスク・ベネフィットが考量された結果、ベネフィクス®の製造販売は継続されることとなった。しかしながら、EMA は、ベネフィクス®の有効性及び安全性に関する情報、特に FIX インヒビターやアレルギー様徴候の発現率等の情報が不十分であることから、新規患者に対する重点調査や副作用報告を求めるとともに、小児患者を対象とした試験（3090A1-301-WW 試験、以下、301 試験）及び治療歴のある患者（PTP：Previously treated patients）を対象とした試験（3090A1-302-WW 試験、以下、302 試験）の追加実施を求め、それぞれ国際共同治験として2002年10月～2002年12月、2003年10月～2003年12月に実施された。これらの試験は、米国では IND（Investigational New Drug）下で実施され、FDA からは定期的なモニタリング結果の報告が求められた。さらに、EMA は、自発報告等でまれに投与チューブ又はシリンジ内で赤血球凝集が認められたことから、これに対する改善措置を求めた。処方変更検討の結果、添付溶解液を注射用水から0.234%塩化ナトリウム溶液に変更することで赤血球凝集の低減化が可能であることが判明し、2003年10月～2003年12月に処方変更前後の製剤について薬物動態の同等性を検討する試験（3090A1-304-WW 試験、以下、304 試験）が実施された。処方変更後の製剤は、米国では2007年3月、欧州では2007年7月に承認されている。

米国ワイス社の日本法人であるワイス株式会社（以下、申請者）は、欧州における301試験、302試験及び304試験の成績を取得した後、本邦での開発を再開するため、2004年12月に機構との対面助言（医薬品申請前相談）を実施した。機構は、臨床上の検討課題（用法・用量及び臨床パッケージの妥当性等）について指摘を行うとともに、血友病 B 治療の

選択肢のひとつとして社会的にも早期承認が望まれることに鑑み、助言内容を踏まえ、速やかに申請を行うよう求めた。申請者は、これを受けて 2008 年 10 月にベネフィクス®の承認申請を行った。

ベネフィクス®は、1997 年 2 月に米国で承認されて以来、2009 年 7 月現在、48 か国で承認されている。

2. 品質に関する資料

<提出された資料の概略>

ノナコグアルファ（遺伝子組換え）（以下、rFIX）は、ヒト FIX の Ala¹⁴⁸ 対立遺伝子¹をコードする cDNA 及び Paired basic amino acid cleaving enzyme（以下、PACE）プロテアーゼの可溶性の変異体（以下、PACE-SOL）遺伝子をコードする cDNA を導入した CHO 細胞で産生される 415 個のアミノ酸残基（C₂₀₅₃H₃₁₁₄N₅₅₈O₆₆₅S₂₅、分子量：47,053.70Da）からなる糖タンパク質（分子量：約 55,000Da）である。

なお、FIX の前駆体である preproFIX は、シグナルペプチド配列、プロペプチド配列、 γ -カルボキシグルタミン酸（以下、Gla）ドメイン、2 個の上皮細胞増殖因子（以下、EGF）様ドメイン、活性化ペプチド（以下、AP）ドメイン及びセリンプロテアーゼドメインから構成され、シグナルペプチドが遊離して proFIX が生じ、さらにプロペプチドが遊離することによって成熟型の FIX が生じる。PACE プロテアーゼは CHO 細胞で発現させた proFIX のプロセッシング効率を向上させると報告されている（*J Biol Chem* **268**: 8458-65, 1993）。血液凝固系において、FIX は活性化血液凝固第 XI 因子（以下、FXIa）又は活性化血液凝固第 VII 因子（以下、FVIIa）／組織因子複合体によって切断され、AP 及び活性化血液凝固第 IX 因子（以下、FIXa）を生じる。

1) 原薬の製造方法

(1) 遺伝子発現構成体の構築及びセルバンクの調製

preproFIX 遺伝子の FIX プロモーター領域から N 末端側コドン 10 までを含む配列をヒトゲノム DNA 断片から、コドン 11 から 3'側非翻訳領域までを含む配列をヒト肝 cDNA ライブラリー及びヒト XXXXY 染色体ゲノムライブラリーからクローニングし、これらを連結して FIX プロモーター領域、5'側及び 3'側非翻訳領域の一部を除去した上で、ジヒドロ葉酸還元酵素遺伝子コード領域を含む発現ベクター pMT2 に挿入することにより、rFIX 発現用遺伝子発現構成体 pMT2-IX が作製された。また、ヒト肝 cDNA ライブラリー由来のヒト PACE cDNA から部位特異的突然変異導入法により PACE-SOL のコード配列を構築し、ヒトアデノシンデアミナーゼ遺伝子コード領域を含む発現ベクター pEA に挿入して、PACE-SOL 発現用遺伝子発現構成体 pEA-PACE-SOL が作製された。pMT2-IX をエレクトロポレーション法により CHO 細胞（DUKX-B11）に導入し、メトトレキサート（以下、MTX）存在下で細胞株 6/13B.1 が選択された。6/13B.1 に、pEA-PACE-SOL をエレクトロポレーション法により導入し、2'-デオキシコフォマイシン存在下で、十分な量の rFIX 及び PACE-SOL を産生する細胞株 B.1.AA α .1F（以下、FIX.1F）が選択された。FIX.1F を無血清培地に馴化させ、マスターセルバンク（以下、MCB）が調製され、MCB からワーキングセルバンク（以下、WCB）が調製された。

¹ ヒト血漿由来血液凝固第 IX 因子（以下、pdFIX）の 148 位のアミノ酸には Ala 又は Thr の 2 型が存在するが、両者の物理的・化学的性質の差異は報告されていない。

(2) セルバンクの性質及び管理

MCB、WCB 及び生産培養終了時の細胞（以下、EOP）について、表 2-1 に示す特性解析が行われ、MCB から起算して累積細胞倍加数が 10⁶ までの細胞の遺伝的安定性が確認された。また、表 2-2 に示す純度試験が行われ、MCB 及び EOP の電子顕微鏡観察において非感染性の A 型及び C 型レトロウイルス様粒子が観察されたことを除き、実施された試験項目の範囲でウイルスの混入がないことが確認された。

表 2-1 セルバンク等における特性解析試験一覧

試験項目			試験方法	結果		
				MCB	WCB	EOP
形態学的特徴			光学顕微鏡	CHO DUKX-B11 細胞由来で、懸濁培養に馴化した細胞において認められるものと同様の形態であった	MCBの結果と同じ	MCBの結果と同じ
増殖速度				約 1.5 × 10 ⁴ /時間	約 1.5 × 10 ⁴ /時間	約 1.5 × 10 ⁴ /時間
目的物質 産生能	rFIX	活性を有する rFIX	凝固一段法	約 1.5 × 10 ⁴ mU/10 ⁶ 個/日	約 1.5 × 10 ⁴ mU/10 ⁶ 個/日	約 1.5 × 10 ⁴ mU/10 ⁶ 個/日
		総 rFIX	ELISA ^b	約 1.5 × 10 ⁴ μg/10 ⁶ 個/日	約 1.5 × 10 ⁴ μg/10 ⁶ 個/日	約 1.5 × 10 ⁴ μg/10 ⁶ 個/日
	PACE-SOL		ウェスタンブロット法	単一のポリペプチドとして発現していた	MCBの結果と同じ	MCBの結果と同じ
動物種の確認			アイソザイム分析及び免疫蛍光法	チャイニーズハムスター由来であった	NT	MCBの結果と同じ
rFIX の RNA 分析			ノーザンブロット法	予想される rFIX 転写産物が認められた	MCBの結果と同じ	MCBの結果と同じ
PACE-SOL の RNA 分析			ノーザンブロット法	予想される PACE-SOL 転写産物が認められた	MCBの結果と同じ	MCBの結果と同じ
rFIX 遺伝子のコピー数			サザンブロット法	約 1.5 コピー/細胞	NT	MCBの結果と同等
PACE-SOL 遺伝子のコピー数			サザンブロット法	約 1.5 コピー/細胞	NT	MCBの結果と同等
組み込まれた rFIX 遺伝子発現構成体の挿入と欠失			サザンブロット法	rFIX のコード領域において挿入又は欠失は認められなかった	MCBの結果と同じ	MCBの結果と同じ
組み込まれた PACE-SOL 遺伝子発現構成体の挿入と欠失			サザンブロット法	PACE-SOL のコード領域において挿入又は欠失は認められなかった	MCBの結果と同じ	MCBの結果と同じ
rFIX をコードする配列の組み込み部位数			サザンブロット法	1 染色体中に複数の rFIX 遺伝子のコピーが組み込まれていた	MCBの結果と同じ	MCBの結果と同じ
rFIX をコードする配列の解析			DNA 塩基配列分析	pMT2-IX プラスミドのものと一致した	NT	MCBの結果と同じ

NT：実施せず

^a：U：単位

^b：ELISA：酵素免疫測定法

表 2-2 セルバンク等における純度試験一覧

試験項目		結果		
		MCB	WCB	EOP
マイコプラズマ試験		陰性	陰性	陰性
無菌試験		細菌及び真菌の発育を認めなかった	細菌及び真菌の発育を認めなかった	細菌及び真菌の発育を認めなかった
外来性ウイルス試験	<i>in vitro</i> ウイルス試験 ^a	陰性	陰性	陰性
	<i>in vitro</i> ウシウイルス試験 ^b	陰性	NT	陰性
	<i>in vitro</i> ブタパルボウイルス試験 ^c	陰性	NT	陰性
	<i>in vivo</i> ウイルス試験 ^d	陰性	NT	陰性
	マウス抗体産生試験	陰性	NT	陰性
	ハムスター抗体産生試験	陰性	NT	陰性
レトロウイルス確認試験	レトロウイルス共培養試験 ^e	陰性	NT	陰性
	電子顕微鏡観察	A 型及び C 型レトロウイルス様粒子を認めた	NT	A 型及び C 型レトロウイルス様粒子を認めた

NT：実施せず^a

^a：MCB 及び EOP における指標細胞：ヒト肺二倍体細胞、アフリカミドリザル腎臓細胞、CHO 細胞、ウシ鼻甲介細胞及びマウス繊維芽細胞、WCB における指標細胞：ヒト肺二倍体細胞、アフリカミドリザル腎臓細胞、CHO 細胞並びにマウス繊維芽細胞又は SV-40 転換ヒト新生児腎細胞

^b：ウイルス：ウシウイルス性下痢ウイルス、伝染性鼻気管炎ウイルス、ウシアデノウイルスタイプ 3、ウシパルボウイルス及びパラインフルエンザウイルスタイプ 3、接種細胞：ウシ鼻甲介細胞

^c：ウイルス：ブタパルボウイルス（PPV）、接種細胞：ブタ辜丸細胞

^d：接種動物：成熟又は乳のみマウス、モルモット並びに発育鶏卵

^e：共培養細胞：Mus dunni 細胞及びヒト HT-1080 細胞、ウイルス検出方法：S⁺L⁻フォーカス形成試験（ネコ S⁺L⁻細胞（PG-4）を使用）及び逆転写酵素活性試験

MCB 及び WCB は、施設において℃以下で保存され、保存中の安定性は、増殖速度及び目的物質産生能について年ごとに試験を行うことで確認される。

MCB の更新予定はなく、WCB は、残存本数がバイアルとなった時点で、現行の WCB と同様の方法で MCB から調製される。更新時には、無菌試験、マイコプラズマ試験、外来性ウイルス試験（ヒト肺二倍体細胞、アフリカミドリザル腎臓細胞、CHO 細胞及び SV-40 転換ヒト新生児腎細胞を指標細胞として用いた *in vitro* ウイルス試験）、細胞生存率、増殖速度及び目的物質産生能について試験を行い、適格性を確認する。

(3) 製造工程

rFIX の製造工程は以下のとおりである。

細胞培養工程

WCB の解凍及び初期種培養

培養装置：フラスコ又は培養バッグ

培地：MTX 含有培地

MTX 不含培地（累積細胞倍加数が約 10 になった時点から）

■ L バイオリアクター種培養

培養装置：■ L バイオリアクター

培地：バイオリアクター培養培地

■ L バイオリアクター生産培養（重要中間体）

培養装置：■ L バイオリアクター

培地：バイオリアクター培養培地

工程内管理試験

細胞生存率
微生物限度

工程内管理試験

細胞生存率
微生物限度

工程内管理試験

細胞生存率
微生物限度
マイコプラズマ
外来性ウイルス

ハーベスト工程

細胞の分離ろ過

フィルター：精密ろ過フィルター（孔径 ■ µm）

濃縮／緩衝液交換（1 回目）

フィルター：限外ろ過膜（分画分子量 ■ kDa）

精製工程

陰イオン交換クロマトグラフィー

カラム：■

陽イオン交換クロマトグラフィー

カラム：■

■ クロマトグラフィー

カラム：■ 樹脂

■ クロマトグラフィー

カラム：■ 樹脂

ウイルス除去ろ過

フィルター：フィルターB* （孔径 ■ nm）

工程内管理試験

フィルター完全性

濃縮／緩衝液交換（2 回目）

フィルター：限外ろ過膜（分画分子量 ■ kDa）

最終ろ過・凍結

フィルター：無菌ろ過フィルター（孔径 ■ µm）

■ : 重要工程

開発当初の製造工程について、実生産又は実験室スケールでプロセスバリデーションが実施された。なお、製造工程の変更時には再バリデーションが行われ、変更された製造工程の頑健性が確認されている。

細胞培養工程において、実験室スケールで、各操作パラメータが細胞増殖能、PACE-SOLの発現及び rFIX の γ -カルボキシル化に及ぼす影響について検討がなされ、適切な工程管理値が設定された。また、精製工程においても、各操作パラメータが評価され、適切な工程管理値が設定された。

不純物の除去能が、実生産又は実験室スケールで検討され、宿主細胞由来不純物（宿主細胞由来タンパク質（以下、HCP）、宿主細胞由来 DNA、PACE-SOL 及び proFIX）、培地由来不純物（ポリビニルアルコール（以下、PVA）、MTX、遺伝子組換えヒトインスリン、ビタミン K₁、ヒドロコルチゾン、プトレシン及びセレン）及び精製工程由来物（エンドトキシン、イミダゾール、銅イオン及びエチレンジアミン四酢酸二ナトリウム（以下、EDTA））が恒常的に十分除去されることが確認された。

カラム樹脂及びフィルターの使用回数限度、前処理方法及び洗浄方法が、実生産スケールで検討され、陰イオン交換カラムは 回、陽イオン交換カラムは 回、カラムは 回、カラムは 回、細胞の分離ろ過工程で使用される精密ろ過フィルターは 回、濃縮／緩衝液交換（1 回目）工程及び濃縮／緩衝液交換（2 回目）で使用される限外ろ過膜はそれぞれ 回及び 回使用可能であること、並びに前処理及び洗浄方法が適切であることが確認された。

製造工程で使用するフィルター、容器等の用具について、溶出物試験が実施され、不揮発性残留物量に特段の問題がないことが確認された。

工程中間体の保存条件が、実生産スケールで検討され、ハーベスト工程液は℃で時間まで、陰イオン交換カラム溶出液プールは℃で時間まで、陽イオン交換カラム溶出液プールは℃で時間まで、カラム溶出液プールは℃で時間まで、カラム溶出液プールは℃で時間まで、カラム溶出液プールは℃で時間まで、ウイルス除去ろ過液プールは℃で時間まで、限外ろ過・透析ろ過濃縮液プールは℃で時間まで安定であることが確認された。

(4) 外来性感染物質の安全性評価

rFIX の製造工程では、宿主細胞である CHO 細胞以外の動物由来原材料は使用されていない。なお、細胞培養工程において酵母由来の遺伝子組換えヒトインスリンが使用されているが、その製造工程で動物由来原材料は使用されていない。

MCB、WCB 及び EOP について純度試験が実施され、マイコプラズマ、細菌、酵母、真菌及びウイルスの混入を認めないことが確認されている（「2 品質に関する資料、＜提出された資料の概略＞、1) 原薬の製造方法、（2）セルバンクの性質及び管理」の項参照）。また、L バイオリアクター培養液において、マイコプラズマ試験及び外来性ウイルス試験が工程内管理試験として設定されている。

精製工程におけるウイルスクリアランス能を確認するため、表 2-3 に示すウイルスクリアランス試験が実施された。

表 2-3 ウイルスクリアランス試験結果

	BPV ^a	Reo-3 ^b	A-MuLV ^c	PI-3 ^d	HSV ^e
陰イオン交換クロマトグラフィー工程	5.42	5.45	6.11	3.04	4.49
クロマトグラフィー工程	2.19	0.15 ^f	NT	1.65	3.92

ウイルス除去ろ過工程（フィルターA＊）	4.86	5.86	>5.66	>5.57	>5.55
総クリアランス指数	12.5	11.3	>11.8	>10.3	>14.0

NT：実施せず

＊：ウシバクウイルス、^b：レオウィルスタイプ 3、^c：両種指向性マウス白血病ウイルス、^d：パラインフルエンザウイルスタイプ 3、^e：ヒト単純ヘルペスウイルス、^f：加算せず

なお、開発段階で、ウイルス除去ろ過フィルターが フィルターA＊ から フィルターB＊に変更されたため（「2 品質に関する資料、＜提出された資料の概略＞、1）原薬の製造方法、（5）製造工程の開発の経緯（同等性／同質性）」の項参照）、ウイルス除去ろ過工程のウイルスクリアランス能が再評価された（表 2-4）。

表 2-4 ウイルス除去ろ過工程のフィルターの変更に伴うウイルスクリアランス試験結果

	MMV ^a	BPV	Reo-3	A-MuLV	PI-3	PRV ^b	HSV
フィルターA＊	NT	4.4	>5.8	>5.4	5.4	NT	>5.4
フィルターB＊	>6.27	NT	>7.09	>6.38	NT	>5.37	NT

NT：実施せず

^a：マウスマイニョットウイルス、^b：仮性狂犬病ウイルス

以上の結果から、いずれのモデルウイルスも精製工程（陰イオン交換クロマトグラフィー、XXXXXXXXXXクロマトグラフィー及びウイルス除去ろ過工程）で十分に除去されることが示された。

（5）製造工程の開発の経緯（同等性／同質性）

rFIX の製造工程の開発において、表 2-5 に示す変更が行われた。

表 2-5 製造工程の開発の経緯

	工程	変更目的	変更点
①	精製工程	純度の改善	・ XXXXXXXXXX クロマトグラフィー工程の追加 ・ 陰イオン交換クロマトグラフィー工程洗浄液及び溶出液の伝導率の変更 ・ XXXXXXXXXX クロマトグラフィー工程溶出液の XXXXXXXXXX 濃度の変更
②	細胞培養工程	rFIX 産生能の向上	・ XXXXXXXXXX 濃度の変更（XXXXXXXXXX μg/L→XXXXXXXXXX μg/L）
	細胞培養工程	rFIX 産生能の向上	・ XXXXXXXXXX 濃度の変更（XXXXXXXXXX μg/L→XXXXXXXXXX μg/L）
③	精製工程	精製工程の性能、頑健性及び製造処理能力の向上	・ ウイルス除去ろ過工程の追加 ・ 陰イオン交換カラムの高さの変更 ・ XXXXXXXXXX カラム樹脂層の形状の変更 ・ 濃縮／緩衝液交換（2 回目）工程の限外ろ過膜の変更（XXXXXXXXXX kDa→XXXXXXXXXX kDa）
	細胞培養工程	スケールアップ	・ XXXXXXXXXX L バイオリクター生産培養のバイオリクター数の変更（XXXXXXXXXX 基→XXXXXXXXXX 基）
④	精製工程	スケールアップ	・ 陽イオン交換カラム、XXXXXXXXXX カラム及び XXXXXXXXXX カラム樹脂の容積の変更 ・ ウイルス除去ろ過工程のろ過フィルター及び濃縮／緩衝液交換（2 回目）工程の限外ろ過膜の面積の変更
⑤	細胞培養工程	rFIX 産生能及び細胞培養工程の頑健性の向上	・ XXXXXXXXXX L バイオリクター種培養及び XXXXXXXXXX L バイオリクター生産培養の培地組成の変更（XXXXXXXXXX、XXXXXXXXXX 及び XXXXXXXXXX の変更、並びに XXXXXXXXXX の追加）

	精製工程	rFIX 産生能の向上への対応	- ウイルス除去ろ過工程のろ過前の希釈操作の追加（前工程液の rFIX 濃度が $\blacksquare$ ng/mL 以上の場合） - ウイルス除去ろ過工程のろ過フィルターの $\blacksquare$ 枚同時使用（総投入量が $\blacksquare$ L を超える場合）
⑥	細胞培養工程	安定供給	遺伝子組換えヒトインスリンの変更（大腸菌由来→酵母由来）
⑦	細胞培養工程	安全性の向上	WCB の解凍及び初期種培養の容器の変更（ガラス製スピナーフラスコ→$\blacksquare$ 製ディスポーザブル三角フラスコ及び $\blacksquare$ 製ディスポーザブル培養バッグ）
	精製工程	供給中止への対応	濃縮／緩衝液交換（2 回目）工程の限外ろ過膜の変更（$\blacksquare$ 分画分子量 $\blacksquare$ kDa）→$\blacksquare$ 分画分子量 $\blacksquare$ kDa）
⑧	ハーベスト工程	ステップ収率の改善	濃縮／緩衝液交換（1 回目）工程の限外ろ過膜の変更（$\blacksquare$ 分画分子量 $\blacksquare$ kDa）→$\blacksquare$（分画分子量 $\blacksquare$ kDa）
	精製工程	供給中止への対応	- ウイルス除去ろ過工程のろ過フィルターの変更（フィルター-A*（孔径 $\blacksquare$ nm）→フィルター-B*（孔径 $\blacksquare$ nm）） - フィルター変更に伴う、ウイルス除去ろ過工程のろ過前の希釈操作及びろ過フィルターの $\blacksquare$ 枚同時使用の中止

各変更段階において、i) 原薬の規格試験に加え、必要に応じて、ii) 追加試験（FIXa 含量、銅イオン含量、HCP 含量、酵母由来タンパク質含量、proFIX 含量、CT ペプチド（アミノ酸残基 319～415 のペプチド断片）含量、DNA 含量、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法（以下、SDS-PAGE）（非還元））、iii) 特性解析（N 末端アミノ酸配列分析、C 末端アミノ酸配列分析、ペプチドマップの構造解析、硫酸化 Tyr¹⁵⁵、AP、FIXa 及び CT ペプチドの構造解析、タンパク質の高次構造解析（円二色性（以下、CD）スペクトル分析）、iv) 原薬の安定性試験（長期保存試験（ $\blacksquare \pm 10^\circ\text{C}$ ）、加速試験（ $\blacksquare \pm 5^\circ\text{C}$ ））が実施され、製法変更前後の原薬の同等性／同質性が確認された。なお、製法④から⑤への変更（ $\blacksquare$ L バイオリアクター種培養及び $\blacksquare$ L バイオリアクター生産培養の培地組成の変更）に際しては、これらの試験に加えて、原薬の苛酷試験（ $\blacksquare^\circ\text{C}$ での保存又は $\blacksquare$ の繰り返し）、製剤の規格試験及び追加試験（陰イオン交換クロマトグラフィー（以下、AEX-HPLC）、ペプチドマップ、糖鎖プロファイル、SDS-PAGE（非還元）及び逆相液体クロマトグラフィー（以下、RP-HPLC））、製剤の安定性試験（長期保存試験（ $5 \pm 3^\circ\text{C}$ ）、加速試験（ $\blacksquare^\circ\text{C}$ 及び $\blacksquare^\circ\text{C}$ ）並びにラットを用いた薬物動態試験（「3.2 薬物動態試験に関する資料、＜提出された資料の概略＞、7) その他の薬物動態試験、（1）生体内回収率に関する資料、viii）異なる細胞培養用培地で製造された rFIX 間での薬物動態比較」の項参照）が実施され、同等性／同質性が確認された。

2) 原薬

(1) 構造・組成

特性解析として、以下の試験が実施された。

①一次構造

ペプチドマップ、RP-HPLC、並びに N 末端及び C 末端アミノ酸配列分析により、rFIX の一次構造が決定され、予測された cDNA 配列（ヒト血漿由来血液凝固第 IX 因子（以下、pdFIX）の Ala¹⁴⁸型）と一致した。

②翻訳後修飾

i) γ -カルボキシル化

AEX-HPLC 及びアミノ酸分析により、rFIX には含量の多い順に 12、11 及び 10 個の Glu 残基が γ -カルボキシル化された 3 つのアイソフォーム (12、11 及び 10Gla アイソフォーム) が存在することが確認された。12 及び 11Gla アイソフォームは十分な *in vitro* 凝固活性を示したが、10Gla アイソフォームはわずかに低い凝固活性を示した。また、 γ -カルボキシル化された Glu 残基が 10 個未満と推定されるアイソフォームもわずかに認められた。なお、pdFIX では、Gla ドメインの 12 個の Glu 残基すべてが γ -カルボキシル化されている。

ペプチドマップ及びマトリックス支援レーザー脱離イオン化-飛行時間型質量分析 (以下、MALDI-TOF MS) により、rFIX の Gla ドメインの 12 個の Glu 残基のうち、 γ -カルボキシル化されていない Glu 残基は、11Gla アイソフォームでは Glu⁴⁰、10Gla アイソフォームでは Glu³⁶ 及び Glu⁴⁰ であることが確認された。

ii) N-結合同型糖鎖

FIX は AP ドメインに N-グリコシル化される可能性のある 2 つのアミノ酸残基 (Asn¹⁵⁷ 及び Asn¹⁶⁷) を有しており、陰イオン交換クロマトグラフィー-パルスドアンペロメトリー検出法により、rFIX で複合型の N-結合同型糖鎖の存在が確認された。MALDI-TOF MS 又はエレクトロスプレーイオン化質量分析 (以下、ESI-MS) /MALDI-TOF MS により、rFIX の N-結合同型糖鎖の主構造はフコース (以下、Fuc) を有する四シアル酸化 4 本鎖構造であることが確認された。pdFIX も主構造は Fuc を有する四シアル酸化 4 本鎖構造であり、糖鎖プロファイルは類似していたが、rFIX では認められない糖鎖化又は糖鎖構造の存在が示唆された。

iii) O-結合同型糖鎖

O-結合同型糖鎖の糖組成分析を行った結果、Fuc、キシロース (以下、Xyl)、ガラクトース (以下、Gal)、グルコース (以下、Glc)、N-アセチルグルコサミン (以下、GlcNAc) 及び N-アセチルノイラミン酸 (以下、NeuAc)、N-アセチルガラクトサミン (以下、GalNAc) が検出され、Glc、Fuc 及び GalNAc を介して結合する 3 種類の O-結合同型糖鎖の存在が示唆された。

ペプチドマップ及び MALDI-TOF MS から、EGF 様ドメインにおいて Xyl₂Glc 及び NeuAc-Gal-GlcNAc-Fuc がそれぞれ Ser⁵³、Ser⁶¹ に結合した質量数に相当するペプチドが観察され、2 種類の O-結合同型糖鎖の存在が示唆された。

また、rFIX を FXIa で活性化し生成した AP について、MALDI-TOF MS を行った結果、AP ドメインに 1~3 個の O-結合同型糖鎖が認められた。AP を酵素分解して得たペプチド断片の質量分析及び N 末端アミノ酸配列分析から、糖鎖の結合部位として Thr¹⁵⁹、Thr¹⁶⁹ 及び Thr¹⁷² が同定され、糖組成分析から、構造は典型的な (NeuAc)₀₋₂GalGalNAc 型であることが示唆された。

pdFIX についても同様の結果が得られたが、EGF 様ドメインの Ser⁵³ に、Xyl₂Glc に加えて XylGlc の存在が示唆された。

iv) その他の翻訳後修飾

ペプチドマップ及び MALDI-TOF MS により、EGF 様ドメインの Asp⁶⁴ の約 48% が β -ヒ

ドキシ化されていることが確認された。なお、pdFIX では約 37%であった。

ペプチドマップ、高速原子衝撃法質量分析及び N 末端アミノ酸配列分析により、EGF 様ドメインの Asn⁹²における脱アミド化が認められ、その割合は 2%以下であることが予測された。pdFIX の脱アミド体の割合は rFIX と同様であった。

AP ドメインの O-結合型糖鎖以外の翻訳後修飾として、MALDI-TOF MS により硫酸化が確認され、硫酸化部位は Tyr¹⁵⁵と推定された。pdFIX では、硫酸化部位は rFIX と同一と考えられたが、硫酸化の程度が高く、また、rFIX では認められていない Ser¹⁵⁸のリン酸化が認められた。

③高次構造

rFIX の高次構造についての試験として、ジスルフィド結合の同定、蛍光スペクトル分析、CD スペクトル分析及び超遠心分析が実施された。

- ・ rFIX を酵素分解して得られたペプチド断片について質量分析 (ESI-MS 又は MALDI-TOF MS) を行った結果、4 個のジスルフィド結合 (Cys¹⁸-Cys²³、Cys²⁰⁶-Cys²²²、Cys³³⁶-Cys³⁵⁰、Cys³⁶¹-Cys³⁸⁹) が確認され、7 個のジスルフィド結合 (Cys⁵¹-Cys⁶²、Cys⁵⁶-Cys⁷¹、Cys⁷³-Cys⁸²、Cys⁸⁸-Cys⁹⁹、Cys⁹⁵-Cys¹⁰⁹、Cys¹¹¹-Cys¹²⁴、Cys¹³²-Cys²⁸⁹) の存在が示唆された。いずれも pdFIX で予測されているジスルフィド結合と一致した (*Biochemistry* **24**: 3736-50, 1985)。
- ・ 蛍光スペクトルを測定した結果、カルシウムイオンの存在下でブルーシフトが認められ、カルシウムイオンの結合によるトリプトファン残基周辺の立体構造の変化が示唆された。pdFIX についても同様の結果が得られた。
- ・ 近紫外領域の CD スペクトルを測定した結果、カルシウムイオンの存在下で顕著なスペクトルの変化が認められ、カルシウムイオンの結合による三次構造の変化が示唆された。また、遠紫外領域について同様に測定した結果、カルシウム遊離型の rFIX は β -シート、 β -ターン及びランダムコイル構造を含み、 α -ヘリックスをほとんど含まないことが確認された。また、カルシウムイオンの存在下でレッドシフトが認められ、カルシウムイオンの結合によるヘリックス構造の形成が示唆された。pdFIX についても同様の結果が得られた。
- ・ 沈降速度法による超遠心分析を行った結果、カルシウムイオンの有無に関わらず、沈降定数は約 1.5S、拡散定数は約 $1.5 \times 10^{-7} \text{ cm}^2 \cdot \text{sec}^{-1}$ 、分子量は約 58kDa であり、pdFIX と同様であった。

④その他の物理的・化学的性質

MALDI-TOF MS の結果、rFIX の分子量は 55,290 Da であった。

等電点ゲル電気泳動 (以下、IEF) の結果、pI 4.3~4.9 の範囲に複数の主要バンドが認められた。pdFIX では、pI 4.3~4.7 の範囲であった。rFIX と pdFIX の泳動範囲の差異は、活性化されると小さくなったことから、AP ドメイン内の差異によると考えられている。

⑤in vitro 生物活性

凝固活性を凝固一段法により測定した結果、rFIX の比活性は約 240 国際単位 (以下、IU) /mg であり、pdFIX 製剤 (製品 B* ; 220 IU/mg) よりわずかに高く、rFIX で高分子量分子

種（以下、HMW）の割合が低い（rFIX：0.1～1.4%、pdFIX：10～20%）ことに起因すると考えられている。

（2）目的物質関連物質

SDS-PAGE により得られたバンドについて N 末端アミノ酸配列分析を行った結果、目的物質である成熟型の rFIX の他に種々の切断体が認められ、そのうち FIX α （FIXa 生成のためのペプチド切断部位 Arg¹⁴⁵ 及び Arg¹⁸⁰ のうち、Arg¹⁴⁵ のみで切断された断片）及び FIX $\alpha\alpha$ （FIXa 生成のためのペプチド切断部位のうち、Arg¹⁸⁰ のみで切断された断片）は目的物質関連物質とされた。

（3）不純物

①目的物質由来不純物

SDS-PAGE により得られるバンドのうち、FIX γ （アミノ酸残基 1～318 のペプチド断片）、CT ペプチド、活性化ペプチド重鎖（以下、APHC）、活性化ペプチド軽鎖（以下、APLC）、重鎖（以下、HC）、軽鎖（以下、LC）及び FIXa は目的物質由来不純物とされた。また、HMW も活性がないことから、目的物質由来不純物とされた。

②製造工程由来不純物

製造工程由来不純物として、宿主細胞由来不純物（HCP、宿主細胞由来 DNA、PACE-SOL 及び proFIX）、培地由来不純物（PVA、MTX、遺伝子組換えヒトインスリン、ビタミン K₁、ヒドロコルチゾン、プトレシン及びセレン）及び精製工程由来不純物（イミダゾール、銅イオン及び EDTA）があり、精製工程において恒常的に十分除去されることが確認されている（「2 品質に関する資料、＜提出された資料の概略＞、1）原薬の製造方法、（3）製造工程」の項参照）。

（4）分解経路及び分解生成物

rFIX の脱アミド化、酸化及び凝集化を検出する分析方法を検討するため、3 つの苛酷試験が実施された。①rFIX を [] 緩衝液中で []℃、[]時間保存したところ、N 末端領域（主に Asn²）の脱アミド化が認められた。なお、保存時間に伴い、凝固活性が低下したことから、脱アミド化は rFIX の活性に顕著に影響すると考えられた。②rFIX を []溶液中で保存したところ、Met¹⁹、Met³⁴⁸ 及び Met³⁹¹ の酸化が認められた。なお、Met 残基の []%以上が酸化されても、rFIX の凝固活性は []%保持されていたことから、酸化が rFIX の活性に及ぼす影響は小さいと考えられた。③製品B* 処方緩衝液（[]mmol/L []、[]mmol/L []、[]% []、pH []）中での凍結乾燥の繰り返し又は []緩衝液中での凍結乾燥及び保存（[]℃、[]か月）を行ったところ、原薬に含まれる HMW 含量の増加が認められた。なお、HMW は凝固活性をほとんど示さなかった。

①～③に加え、原薬もしくは製剤の保存期間中に実際に生じる可能性のある分解生成物の分析方法を検討するため、原薬を処方緩衝液中で []℃、[]週間保存した検体を用いて、特性解析（凝固活性、HMW（サイズ排除クロマトグラフィー、以下、SEC-HPLC）、SDS-PAGE（還元及び非還元）及び N 末端アミノ酸配列分析、ペプチドマップ、糖鎖プロファイル、IEF、並びに Gla（AEX-HPLC））を行ったところ、比活性の低下、切断体の増加、脱アミド体の生成、IEF における塩基性領域のバンドの増加、10、11Gla アイソフォームの増加及び 12Gla アイソフォームの減少が認められた。

以上の結果から、rFIX の劣化を最も高感度に検出できる分析方法は凝固活性測定法であり、脱アミド体及び酸化物はペプチドマップにより、HMW は SEC-HPLC により、SDS で解離しない HMW は SDS-PAGE（非還元）により、分子内切断は SDS-PAGE（還元及び非還元）により、Gla 量の変化は AEX-HPLC により検出できることが確認された。

(5) 原薬の規格及び試験方法

原薬の規格及び試験方法として、性状、確認試験（SDS-PAGE（還元）、ペプチドマップ、Gla（AEX-HPLC）、糖鎖プロファイル）、pH、純度試験（不純物 1（SDS-PAGE（還元））、不純物 2（RP-HPLC）、HMW（SEC-HPLC））、エンドトキシン、微生物限度試験及び定量法（凝固活性、比活性）が設定されている。

(6) 原薬の安定性

申請された製造方法（表 2-5 の⑧）及び変更前の製造方法（表 2-5 の⑦）により、実生産スケールで製造された原薬（それぞれ新製法原薬、旧製法原薬）を用いた長期保存試験（ $-80\pm 10^{\circ}\text{C}$ 、ポリテトラフルオロエチレン製ボトル、ポリプロピレン製スクリーキャップ）及び加速試験（ $-20\pm 5^{\circ}\text{C}$ 、同上）が実施された。測定項目は、性状、確認試験（SDS-PAGE（還元））、pH、純度試験（不純物 1（SDS-PAGE（還元））、不純物 2（RP-HPLC）、HMW（SEC-HPLC））及び定量法（凝固活性、比活性及び総タンパク質濃度）であった。旧製法原薬 3 ロットを用いた長期保存試験（48 か月）及び加速試験（12 か月）では、保存期間を通じていずれの測定項目にも顕著な変化は認められなかった。また、新製法原薬 4 ロットを用いた長期保存試験（18 か月）及び加速試験（12 か月又は 16 か月）でも、保存期間を通じていずれの測定項目にも顕著な変化は認められなかった。なお、新製法の原薬ロットを用いた長期保存試験は、48 か月まで実施される予定である。

以上の結果より、原薬の有効期間は、ポリテトラフルオロエチレン製ボトルを用いて $-80\pm 10^{\circ}\text{C}$ で保存するとき、36 か月とされた。

3) 製剤

(1) 製剤設計

本剤は、1 バイアルあたり有効成分として rFIX（250、500、1000 又は 2000 IU）、緩衝剤として L-ヒスチジン（6.20mg）、賦形剤としてグリシン（78.1mg）、安定剤として精製白糖（40.0mg）及びポリソルベート 80（0.22mg）、pH 調節剤として塩酸（適量）を含有する凍結乾燥注射剤である。また、添付溶解液として、シリンジに充てんされた 0.234% 塩化ナトリウム溶液が添付される。

なお、添付溶解液（5mL）は、塩化ナトリウムを 11.70mg、注射用水を適量含有し、0.1mL 過量充てんされている。

本剤の開発中、製剤処方が以下のとおり変更された（表 2-6 及び表 2-7）。

表 2-6 新旧製剤の比較（バイアルあたり）

	旧処方製剤			新処方製剤			
	250 単位	500 単位	1000 単位	250 単位	500 単位	1000 単位	2000 単位
rFIX (IU)	250	500	1000	250	500	1000	2000
L-ヒスチジン (mg)	3.88	7.75	15.5	6.20			
グリシン (mg)	48.8	97.6	195	78.1			
精製白糖 (mg)	25.0	50.0	100	40.0			

ポリソルベート 80 (mg)	0.14	0.27	0.54	0.22
塩酸 (pH 調節剤)	適量	適量	適量	適量

表 2-7 新旧製剤の比較 (再溶解後)

	旧処方製剤			新処方製剤			
	250 単位	500 単位	1000 単位	250 単位	500 単位	1000 単位	2000 単位
rFIX (IU/mL)	50	100	100	50	100	200	400
塩化ナトリウム (mmol/L)	0	0	0	40			
L-ヒスチジン (mmol/L)	5	10	10	8			
グリシン (mmol/L)	130	260	260	208			
精製白糖 (%)	0.5	1	1	0.8			
ポリソルベート 80 (%)	0.0025	0.005	0.005	0.004			
浸透圧 (mOsmol/L)	150	300	300	320			
pH	6.8	6.8	6.8	6.8			
総量 (mL)	5	5	10	5			

開発当初、本剤の添付溶解液は注射用水であったが（以下、旧処方製剤）、投与チューブ及びシリンジ内でまれにみられる赤血球凝集を防ぐため、再溶解後の溶液が等張となるように添付溶解液を 0.234% (40mmol/L) 塩化ナトリウム溶液に変更し、同時に、患者への投与量を減量するため、すべての含量において再溶解後の総量が 5mL、バイアルあたりの添加剤の含量が一定になるよう変更され（以下、新処方製剤）、2000 単位製剤が新たに開発された。なお、旧処方製剤と新処方製剤の薬物動態については 304 試験で検討されている（「4.2 臨床薬理に関する資料、＜提出された資料の概略＞、4) 治療歴のある中等症から重症血友病 B 患者における旧処方製剤及び新処方製剤の薬物動態を検討する無作為化二重盲検クロスオーバー比較試験並びに新処方製剤の安全性及び有効性を評価する非盲検試験」の項参照）。

(2) 製剤化工程

製剤の製造方法は、以下のとおりである。

添加剤（L-ヒスチジン、グリシン、精製白糖及びポリソルベート 80）を注射用水で溶解した後、pH を調整し、0.22 μ m フィルターでろ過する（希釈液調製工程）。原薬を解凍した後（原液融解工程）、希釈液を加えて力価を調製し（薬液調製工程）、0.22 μ m フィルターで無菌ろ過する（無菌ろ過工程）。ろ過液を滅菌済み無色ガラスバイアル（10mL）に充てんし、滅菌済み塩化ブチルゴム栓で半打栓する（充てん工程）。半打栓したバイアルを凍結乾燥し（凍結乾燥工程）、巻き締めを行い（巻き締め工程）、保管して試験を行う（保管・試験工程）。添付溶解液シリンジにバックストップアダプターを装着し、添付溶解液シリンジ及び薬剤バイアルにラベルを貼付し、薬剤バイアル、添付溶解液シリンジ及びプランジャーロッドを紙箱に包装する（包装工程）。包装した薬剤バイアル及び添付溶解液シリンジについて、保管及び試験を行う（保管・試験工程）。

製剤の製造工程における重要工程は、無菌ろ過工程及び凍結乾燥工程であり、工程内管理試験として、希釈液調製工程ではエンドトキシン、微生物限度及びフィルター完全性が、薬液調製工程では pH、凝固活性、エンドトキシン及び微生物限度が、無菌ろ過工程ではフィルター完全性が、充てん工程では充てん量が設定されている。

添付溶解液の製造方法は、以下のとおりである。

塩化ナトリウムを注射用水に溶解し、0.22 μ m フィルターでろ過する（溶解・ろ過工程）。ろ過液を再度 0.22 μ m フィルターでろ過した後、シリンジクローガーを装着したシリンジバレルに充てんし、プランジャーストッパーで栓をする（ろ過・充てん工程）。充てんしたシリンジをオートクレーブにて滅菌した後（滅菌工程）、保管及び試験を行う（保管・試験工程）。

添付溶解液の製造工程における重要工程は、滅菌工程であり、工程内管理試験として、溶解・ろ過工程では pH、微生物限度及びフィルター完全性が、ろ過・充てん工程では微生物限度、フィルター完全性、充てん液量及びストッパー位置が、滅菌工程ではストッパー位置が設定されている。

(3) 製剤の規格及び試験方法

製剤の規格及び試験方法として、性状、確認試験（SDS-PAGE（還元））、pH、純度試験（溶状、FIXa 否定試験（凝固活性測定）、不純物（RP-HPLC）、HMW（SEC-HPLC））、水分、エンドトキシン、不溶性異物、不溶性微粒子、無菌、溶解時間、定量法（凝固活性、比活性）が設定されている。

添付溶解液の規格及び試験方法として、性状、確認試験（塩化物定性反応、ナトリウム塩定性反応（日本薬局方及び米国薬局方）、pH、純度試験（鉄、重金属）、エンドトキシン、採取容量、不溶性異物、不溶性微粒子、無菌及び定量法（滴定法）が設定されている。

(4) 製剤の安定性

製剤の安定性試験には「生物薬品（バイオテクノロジー応用製品／生物起源由来製品）の安定性試験について」（平成 10 年 1 月 6 日付医薬審第 6 号）のブラケット法が適用された。250 単位製剤及び 2000 単位製剤について、実生産スケールで製造された 3 ロットを用いた長期保存試験（5 $\pm$ 3 $^{\circ}$ C、36 か月、密封透明ガラスバイアル）、加速試験①（30 $\pm$ 2 $^{\circ}$ C/75 $\pm$ 5%RH、36 か月、同上）、再溶解後の安定性試験（25 $^{\circ}$ C、3 時間、同上）及び温度サイクル試験（5 $\pm$ 3 $^{\circ}$ C（18 か月） $\rightarrow$ 30 $\pm$ 2 $^{\circ}$ C/75 $\pm$ 5%RH（6 か月）及び 5 $\pm$ 3 $^{\circ}$ C（30 か月） $\rightarrow$ 30 $\pm$ 2 $^{\circ}$ C/75 $\pm$ 5%RH（6 か月）、同上）、並びに 5 ロットを用いた加速試験②（40 $\pm$ 2 $^{\circ}$ C/75 $\pm$ 5%RH、6 か月、同上）が実施された。長期保存試験、加速試験及び温度サイクル試験の測定項目は、性状、確認試験（SDS-PAGE（還元））、pH、純度試験（溶状、FIXa 否定試験、HMW（SEC-HPLC））、水分、定量法（凝固活性、比活性、タンパク質濃度）、並びに容器及び施栓系の完全性試験（色素漏出試験）であり、再溶解後の安定性試験の測定項目は、性状（再溶解前）、pH、純度試験（溶状）及び定量法（凝固活性、比活性）であった。

長期保存試験及び再溶解後の安定性試験では、いずれの測定項目にも顕著な変化は認められなかった。加速試験①では水分の増加が認められ、加速試験②では凝固活性及び比活性の低下、並びに水分の増加が認められた。なお、旧処方の 250、500 及び 1000 単位製剤各 1 ロットを用いた光安定性試験（5 $^{\circ}$ C、3600 lx、4 週間、同上）が実施されており、250 及び 500 単位製剤において凝固活性の低下が認められている。

以上の結果より、製剤の有効期間は、遮光して 2 $\sim$ 8 $^{\circ}$ C で保存するとき、36 か月とされた。また、36 か月の有効期間中、一度だけであれば 6 か月までの室温保存が可能とされたが、室温保存の後、再び 2 $\sim$ 8 $^{\circ}$ C で保存してはならないとされた。また、溶解後の有効期間は 3 時間とされた。

添付溶解液の安定性試験として、実生産スケールで製造された1ロット及びパイロットスケールで製造された3ロットを用いた長期保存試験①（ $5\pm 3^{\circ}\text{C}$ 、36か月、密封透明ガラスシリンジ）及び長期保存試験②（ $30\pm 2^{\circ}\text{C}/65\pm 5\%\text{RH}$ 、36か月、同上）、パイロットスケールで製造された1ロットを用いた長期保存試験③（ $25\pm 2^{\circ}\text{C}/60\pm 5\%\text{RH}$ 、60か月、同上）、並びに実生産スケールで製造された3ロットを用いた加速試験（ $40\pm 2^{\circ}\text{C}/75\pm 5\%\text{RH}$ 、12か月、同上）が実施された。測定項目は、性状、確認試験（塩化物定性反応、ナトリウム塩定性反応（米国薬局方））、pH、純度試験（鉄、重金属）、エンドトキシン、不溶性微粒子、定量法（滴定法）、容器及び施栓系の完全性試験（色素漏出試験）、並びにシリンジの摺動性試験（初動抵抗及び摺動抵抗）であった。

長期保存及び加速試験において、測定項目に顕著な変化は認められず、添付溶解液の有効期間は、密封透明ガラスシリンジを用いて $2\sim 32^{\circ}\text{C}$ で保存するとき、36か月とされた。

4) 標準物質

標準物質は原薬ロットから選定され、 $\blacksquare\pm 10^{\circ}\text{C}$ で保存される。現行標準物質の規格及び試験方法として、性状、確認試験（SDS-PAGE（還元）、ペプチドマップ、Gla（AEX-HPLC）、糖鎖プロファイル）、pH、純度試験（不純物1（SDS-PAGE（還元））、不純物2（RP-HPLC）、HMW（SEC-HPLC）、FIXa 否定試験（凝固活性測定）、HCP 含量）、ポリソルベート 80、エンドトキシン、微生物限度試験及び定量法（凝固活性、比活性）、特性解析として、硫酸化 Tyr¹⁵⁵、AP 及び FIXa の構造解析、AP 及び FIXa の C 末端アミノ酸配列分析、並びに rFIX の一次構造解析が実施されている。今後新規に標準物質を作製する際には、原薬の規格及び試験方法に適合することを確認する他、特性解析（硫酸化 Tyr¹⁵⁵、AP 及び FIXa の構造解析、AP 及び FIXa の C 末端アミノ酸配列分析）が実施される予定である。

凝固活性測定用の標準物質として、WHO 国際標準品により力価を決定した正常プール血漿が用いられ、 $\blacksquare\pm 10^{\circ}\text{C}$ で保存される。

<機構における審査の概略>

1) rFIX の切断体の管理について

SDS-PAGE により検出される rFIX の切断体（FIX α 、FIX $\alpha\alpha$ 、FIX γ 、CT ペプチド、APHC、APLC、HC 及び LC）は、組成及び総量が pdFIX と類似していることから、凝固活性の有無にかかわらず、目的物質とみなされていた。また、FIXa 及び HMW についても同様の理由により、目的物質とみなされていた。

機構は、「生物薬品（バイオテクノロジー応用医薬品／生物起源由来医薬品）の規格及び試験方法の設定について」（平成 13 年 5 月 1 日付医薬審発第 571 号）を踏まえ、rFIX の切断体、FIXa 及び HMW を目的物質関連物質又は目的物質由来不純物に分類するよう求めた。

申請者は、以下のように説明した。

FIX γ 、FIXa 及び HMW の活性を個別に測定した結果、これらを目的物質由来不純物とする。その他の rFIX の切断体の原薬中の含量は少ないことから、個別に精製し、生物活性を評価することは困難であるが、文献報告又は分子種の構造に基づき、FIX α 及び FIX $\alpha\alpha$ を目的物質関連物質、CT ペプチド、APHC、APLC、HC、及び LC を目的物質由来不純物とする。

機構は、rFIX の切断体含量の変化は管理すべきであると考えるが、現在、その管理方法について、専門委員の意見も踏まえ、検討中である。

2) 原薬の凝固活性の規格の妥当性について

原薬の凝固活性の規格は「■■■■～■■■■IU/mL」と設定されていたが、原薬のロット分析において、凝固活性は■■■■～■■■■IU/mL とほぼ一定に保たれていたことから、機構は、規格値を再検討するよう求めた。

申請者は、以下のように説明した。

原薬の凝固活性の規格は、原薬を製造した結果に基づいた規格ではなく、製剤を製造するために必要な規格として設定された。本規格に適合する原薬ロットから、規格に適合する製剤を製造することが可能であることから、本規格は妥当と考える。また、製剤の工程内管理試験及び規格(凝固活性:表示された国際単位 of 80～125%、比活性:■■■■～■■■■IU/mg)において凝固活性及び比活性が確認される。以上より、原薬の規格値を再検討する必要はないと考える。

機構は、製剤の凝固活性及び比活性の規格に特段の問題がないこと、並びに本剤は凍結乾燥製剤であり、製剤化工程で凝固活性を調整することが可能と考えられることから、設定された規格により一定の品質の製剤を恒常的に製造することができると判断し、申請者の回答を了承した。

3) HCP の含量について

原薬中の HCP の含量は約■■■■ppm であり、現在の技術水準ではより低減することが可能と考えられた。

しかしながら、機構は、臨床試験において抗 CHO タンパク抗体とアレルギー性反応等の有害事象との関連性が示唆されていないこと(「4.3 臨床的有効性及び安全性に関する資料、＜機構における審査の概略＞、3) 安全性について、(7) 抗 CHO タンパク抗体について」の項参照)、海外において長期間の使用実績があることを踏まえ、HCP 含量を低減するために直ちに製造方法を変更する必要はないと考える。ただし、HCP に起因すると思われる安全性上の懸念が生じた際には、製造方法の変更を検討する必要があると考える。

4) 原薬の有効期間について

原薬の有効期間は、旧製法原薬の実保存期間及び温度における長期保存試験の結果に基づき、「-80±10℃で保存するとき、36 か月」とされている。機構は、旧製法から新製法への変更点が、濃縮／緩衝液交換(1回目)工程における限外ろ過膜の孔径の変更(分画分子量 30kDa→10kDa)及びウイルス除去ろ過工程におけるろ過フィルターの変更(孔径は変更なし)であり、原薬の安定性に大きな影響を及ぼすとは考え難いこと、製法変更前後の原薬の同等性／同質性が確認されていることから、旧製法原薬の長期保存試験結果に基づき有効期間を設定することは可能と判断した。なお、現在、新製法原薬を用いた安定性試験が継続中であるが、これまでに得られた試験結果(長期保存試験:18 か月、加速試験:12 か月又は16 か月)からは、旧製法原薬と新製法原薬の安定性に差異は認められていない。

3. 非臨床に関する資料

3.1 薬理に関する資料

＜提出された資料の概略＞

rFIX の効力を裏付ける試験として、*in vitro*における検討、*in vivo*における検討(正常

イヌ、血友病 B イヌ）及び血栓形成能の検討（ウサギ、イヌ）が実施されている。また、安全性薬理試験として、欧州における臨床試験で認められた赤血球凝集の低減化に関する検討が行われている。

1) 効力を裏付ける試験

(1) *in vitro* における検討 (PR-017-94 : 4.2.1.1-1)

rFIX の凝固活性を検討するため、4 匹の血友病 B イヌから採取した血漿に対し、rFIX を血漿中 FIX 活性が 5% から 150% になるような濃度で添加し、FIX 濃度は ELISA 法（定量限界：150ng/mL）、FIX 活性は凝固一段法（定量限界：1 IU/dL）を用いてそれぞれ測定した。その結果、rFIX を添加した量に依存して FIX 濃度及び FIX 活性の増加が認められ、rFIX が凝固欠損を補うことが示唆された。

(2) *in vivo* における検討

i) 正常イヌを用いた検討 (PRM-003-94 : 4.2.1.1-2)

正常ビーグル種の雄性イヌ 4 匹を用いて、rFIX 40 IU/kg を 1 日 1 回 28 日間反復静脈内投与した際の血液凝固系に及ぼす影響が検討された。対照として pdFIX（製品B*）が同用量、1 日 1 回 14 日間反復静脈内投与された。その結果、投与全例で食欲減退が認められ、投与 1 週目では特に顕著であった。また、rFIX 投与群の 1 匹及び pdFIX 投与群の 2 匹に、一過性の衰弱、頻脈、頻呼吸及び毛細血管再充満時間の延長が認められたが、いずれの症状も数分以内に回復し、処置を必要としなかった。これらの所見は投与 1 週目以降に発現し、抗 FIX 抗体を産生した個体においてのみ観察された。さらに、薬物動態の評価では、rFIX 投与後 28 日及び 34 日に実施した血漿中 FIX 濃度測定の結果、抗 FIX 抗体を産生した個体では血漿中 FIX 濃度の速やかな低下が認められた。血液凝固パラメータについては、rFIX 又は pdFIX 投与後の血小板数、プロトロンビン時間（以下、PT）及び部分トロンボプラスチン時間（以下、PTT）には投与前との差は認められず、血栓症の発症も認められなかった。以上の結果から、rFIX は pdFIX と同様に、血漿中 FIX 活性を正常値から 1.5 倍程度上昇させても忍容性を示し、正常動物の血液凝固系に影響を及ぼさないと判断されている。なお、本試験は、薬理試験、毒性試験及び薬物動態試験の立案のためのパイロット試験として実施された。

ii) 血友病 B イヌを用いた検討

① 単回投与時の血友病 B イヌの血液凝固系に対する影響 (P96055-21 : 4.2.1.1-3 及び PR-003-95 : 4.2.1.1-5)

血友病 B イヌ（雄 4 匹、雌 2 匹）に rFIX 及び pdFIX（製品B*）を 50 IU/kg クロスオーバー法により単回静脈内投与した際の生体内回収率、FIX 活性及び全血凝固時間（以下、WBCT）に対する作用について比較検討が行われた。生体内回収率（平均値±標準偏差）は、rFIX 29±8%、pdFIX 36±7% で rFIX が低かった。しかしながら、いずれの製剤においても血漿中 FIX 活性は同様の推移を示し、最大 FIX 活性は rFIX 0.33~0.52 IU/mL、pdFIX 0.26~0.46 IU/mL であった。また、WBCT についても、rFIX と pdFIX は同様の値を示した。これらの結果から、rFIX は pdFIX に比べて生体内回収率で低値を示したものの、血友病 B イヌの血液凝固系に対する効果はほぼ同様と判断されている。

また、雄性血友病 B イヌに rFIX 40 IU/kg（3 匹）、50 IU/kg（3 匹）、100 IU/kg（1 匹）、200 IU/kg（1 匹）を単回静脈内投与した際の FIX 活性が経時的に測定され、FIX 活性は投

与直後に最大値を示し、用量依存的な上昇が認められた。さらに、雌雄の血友病 B イヌ 3 匹（雄 2 匹、雌 1 匹）に対して、rFIX 50 IU/kg を単回投与した時の血漿中 rFIX 濃度と FIX 活性が測定され、両者は良好な相関性を有する（決定係数=0.744）と判断されている。

② rFIX アイソフォーム単回投与時の血友病 B イヌの血液凝固系に対する影響 (P96054-21 : 4.2.1.1-6)

血友病 B イヌを用いて rFIX アイソフォーム（11Gla 及び 12Gla）（「2. 品質に関する資料、＜提出された資料の概略＞、2）原薬、（1）構造・組成、②翻訳後修飾、i） γ -カルボキシ化」の項参照）間の FIX 活性が比較検討された。3 匹の血友病 B イヌ（雄 2 匹、雌 1 匹）に対しクロスオーバー法により 11Gla 及び 12Gla を 50 IU/kg ずつ単回静脈内投与し、血漿中 FIX 活性及び WBCT が測定された。その結果、血漿中 FIX 活性の最大値（平均値 $\pm$ 標準偏差）は 12Gla で 37.7 ± 10.4 IU/dL、11Gla で 42.9 ± 6.3 IU/dL であった。また、WBCT についても両アイソフォームともに投与後 15 分以内に明らかな短縮を示した。以上の結果から、11Gla 及び 12Gla は同様な血漿中 FIX 活性及び WBCT を示すものと判断されている。

③ 反復投与時の血友病 B イヌの血液凝固系に対する影響（PR-017-94 : 4.2.1.1-1 及び PR-003-95 : 4.2.1.1-5）

血友病 B イヌに rFIX を反復投与した際の FIX 活性及び血液凝固系に対する影響について検討が行われた。雄性血友病 B イヌ 3 匹に rFIX 40 IU/kg を 1 日 1 回 14 日間反復静脈内投与し、血漿中 FIX 活性、WBCT、活性化部分トロンボプラスチン時間（以下、aPTT）及び二次出血時間（以下、SBT）が測定された。その結果、1 日目の FIX 活性は投与後 15 分で 23.8 ± 2.6 IU/dL（平均値 $\pm$ 標準偏差、以下同様）で、7 日目の投与直前では 20.3 ± 2.0 IU/dL であったが、14 日目の投与直前及び投与後 15 分後の FIX 活性は検出限界未満であった。同様に、WBCT、aPTT も初回投与 15 分後にそれぞれ 10.3 ± 1.0 分、 63.7 ± 11.5 秒へと短縮し、7 日目まで短縮効果は認められたが、14 日目の投与 15 分後では WBCT は 40.5 ± 8.0 分、aPTT は 121.0 ± 20.7 秒であった。以上の結果から、rFIX 投与 7 日目までは rFIX の効果は維持されるが、それ以降は抗体産生によると思われる効果の減弱が認められたと判断されている。

また、rFIX と pdFIX の比較検討のため、血友病 B イヌ（雄 2 匹、雌 4 匹）に対して rFIX 50 IU/kg 又は pdFIX（製品 B*）50 IU/kg を 1 日 1 回 14 日間反復静脈内投与し、FIX 活性、WBCT、aPTT 及び SBT が測定された。先の検討で 7 日目以降に効果の減弱が認められたことから、5 日目までの測定値を用いて rFIX と pdFIX との比較が行われた。

その結果、初回投与及び 5 日目の投与 15 分後における血漿中 FIX 活性は、rFIX で 0.38 ± 0.12 IU/mL 及び 0.84 ± 0.07 IU/mL、pdFIX で 0.70 ± 0.11 IU/mL 及び 1.49 ± 0.35 IU/mL であった。一方、各個体における WBCT、aPTT 及び SBT の範囲は、rFIX で 7.5～11.0 分、41.3～73.8 秒及び 0.5～3.0 分、pdFIX で 6.0～8.0 分、49.5～58.2 秒及び 0.5～4.0 分であった。単回投与試験で rFIX の生体内回収率は pdFIX より低い値を示したが、以上の結果より、両製剤の投与による血漿中 FIX 活性はいずれも正常イヌの止血に要する最小 FIX 活性（0.05 IU/mL）を上回っていたことから、rFIX においても pdFIX と同じ止血効果が得られるものと判断されている。

(3) 血栓形成能の検討

i) ウサギうっ血性血栓症モデル（10 分間遅延）を用いた検討（PR-016-94ver2：4.2.1.1-7 及び PR-011-95ver2：4.2.1.1-8）

高度に精製された FIX 製剤では、プロトロンビン複合体濃縮製剤（以下、PCC 製剤）に比べ血栓形成能のリスクは低下しているものの、そのリスクは完全には排除できない。rFIX の非特異的な血栓形成のリスクを評価するため、ウサギを用いた Wessler のうっ血性血栓症モデル（*J Appl Physiol* 14: 943-46, 1959）により、rFIX と PCC 製剤（製品A*）との比較試験、及び rFIX と 2 種の pdFIX（製品B* 及び 製品C*）との比較試験が実施された。PCC 製剤との比較試験では、雄性ウサギ（各群 6 匹）に対して rFIX は 50、150 及び 500 IU/kg、製品A* は 15 及び 50 IU/kg が投与された。pdFIX との比較試験では、雄性ウサギ（各群 10 匹）に対していずれの製剤も 1000 IU/kg が投与された。

PCC 製剤との比較において、rFIX 150 IU/kg 投与群で 6 匹中 1 匹に血栓形成が認められたが、他の投与量（50 及び 500 IU/kg）ではいずれも血栓形成は認められず、PT、PTT、血小板数及びフィブリノゲン濃度に変化は認められなかった。用量依存性がなく、血液凝固系パラメータにも変動がないことから、rFIX 150 IU/kg における血栓形成の原因は不明とされている。一方、製品A* では投与 12 匹中 7 匹（15 IU/kg 投与群で 6 匹中 2 匹、50 IU/kg 投与群で 6 匹中 5 匹）で凝血塊が観察された。また、pdFIX との比較において、製品B* 投与群では 10 匹中 3 匹、製品C* 投与群では 10 匹中 2 匹に凝血塊が認められた。以上の結果から、rFIX の血栓形成リスクは、PCC 製剤の製品A* より少なく、pdFIX である製品B* 及び 製品C* と同等以下と考えられている。

ii) ウサギうっ血性血栓症モデル（30 秒間遅延）を用いた検討（P98035-21：4.2.1.1-9）

Wessler のうっ血性血栓症モデルの変法（*Thromb Haemost* 73: 675-9, 1995）を用いて、rFIX の異なる 3 ロット（0715E01、0706A01 及び 0725M01）における血栓形成能が比較検討された。3 群のウサギ（各群 6 匹）に対して各ロット 200 IU/kg が投与され、血行停止から 10 分及び 20 分後の血栓形成能が評価された。血栓形成は、0（完全な液状の血液）、1～3（スコアが高いほど大きなフィブリン塊）、4（静脈内で完全に固形化した血栓）のスコア化により評価された。その結果、ロット間のばらつきはあるものの血栓形成能を示し、10 分間の血行停止に比べ 20 分間の血行停止でより多くの血栓形成が認められたと判断されている。

iii) イヌを用いた血栓形成能の検討（P98008-21：4.2.1.1-10）

rFIX の異なるロット間の血栓形成能を比較するため、正常イヌを用いた検討が行われた。5 群の雄性ビーグル犬（各群 5 匹）に対し、200 IU/kg の rFIX3 ロット（4725M01、4706A01 及び 4715L01）、PCC 製剤（製品A*）200 IU/kg 又は生理食塩液を投与し、血小板数、PT、PTT、フィブリノゲン、フィブリン分解産物及びフィブリノペプチド A の測定が行われた。製品A* 投与では、生理食塩液投与群との群間比較及び PCC 製剤群内における投与前値との比較で、PT を除くすべての項目に有意な変化が認められた。一方、rFIX 投与では、1 ロット（4725M01）の 2 測定時点で血小板数の有意な減少が認められ、他の 1 ロット（4706A01）の 3 測定時点でフィブリノペプチド A の有意な上昇が認められているが、その他の項目に有意な変化は認められなかった。以上の結果から、rFIX 投与では PCC 製剤のような消費性凝固障害発症を示唆する所見は認められないと判断されている。

2) 副次的薬理試験

副次的薬理試験は実施されていない。

3) 安全性薬理試験

安全性薬理試験は、実施された毒性試験の観察項目に安全性薬理試験に該当する項目が含まれていること、rFIX が血友病 B 患者に対する補充療法として用いられるタンパク質製剤であることから実施不要と判断され、赤血球凝集に関する検討以外の安全性薬理試験は実施されていない。

(1) 赤血球凝集に関する検討 (RPT-49975 : 4.2.1.3-1、RPT-50365 : 4.2.1.3-2 及び RPT-49972 : 4.2.1.3-3)

旧処方製剤を用いた臨床試験において、投与チューブ及びシリンジ内で赤血球凝集が認められたことから、処方変更が行われており（「2 品質に関する資料、＜提出された資料の概略＞、3) 製剤 (1) 製剤設計」の項参照）、当該処方変更が赤血球凝集を低減化するか検討が行われた。

12 名の健康成人男性から採取した血液を用いて、赤血球沈降速度（以下、赤沈値）を指標とした赤血球凝集能が検討された。rFIX を FIX 濃度が 55 IU/mL 又は 440 IU/mL となるように、36、40 又は 44mmol/L の塩化ナトリウム溶液で溶解した。また、陰性対照として生理食塩液（154mmol/L 塩化ナトリウム溶液）が用いられた。その結果、rFIX の濃度にかかわらず赤沈値は陰性対照（生理食塩液：1.2±0.4mm/60min（平均値±標準偏差））と大きな差はなく（rFIX：約 0.8～1.6mm/60min）、赤血球凝集能を示さなかった。

また、赤血球凝集が本剤の有効成分である rFIX によって生じる可能性を否定するため、旧処方製剤を、注射用水、40mmol/L 又は 77mmol/L 塩化ナトリウム溶液に溶解した際の赤血球凝集能が評価された。その結果、旧処方製剤を注射用水に溶解した場合は赤血球凝集を示したが（赤沈値 141～160mm/60min）、40 又は 77mmol/L 塩化ナトリウム溶液で溶解した場合には赤血球凝集を示さなかった（赤沈値 1～3mm/60min）。以上の結果から、臨床試験で認められた赤血球凝集は本剤のイオン強度に応じた事象であり、本剤の有効成分である rFIX に起因するものではないと判断された。

＜機構における審査の概略＞

1) 生体内回収率と血液凝固活性について

機構は、血友病 B イヌにおける単回及び反復静脈内投与試験で、本剤と pdFIX 間で生体内回収率の差異が認められていることについて、FIX の構造的及び機能的な観点から説明するよう求めたところ、申請者は以下のように回答した。

rFIX 及び pdFIX には種々の異性体（高分子量分子種（以下、HMW）、シアリル化、グルタミン酸残基の γ -カルボキシル化、硫酸化、リン酸化及び N-グリコシル化）が存在することから、これらの翻訳後修飾が血漿中 FIX 濃度に与える影響について検討した。その結果、HMW、シアリル化及びグルタミン酸残基の γ -カルボキシル化は生体内回収率に大きな影響を与えないことが示された。

一方、リン酸化及び硫酸化の差異が血漿中 FIX 濃度に及ぼす影響を評価するため、rFIX、rFIX の硫酸化体（分取した rFIX の硫酸化画分）、pdFIX 又は pdFIX の脱リン酸化体を 200 μ g/kg の用量でラットに静脈内投与したところ、rFIX の硫酸化体の最高血漿中 FIX 濃度（以下、 C_{max} ）は rFIX の濃度と比較して高く、pdFIX と同等の濃度を示した。また、pdFIX の脱リン

酸化体の $C_{\max}$ は pdFIX と比較して低値を示したことから、リン酸化及び硫酸化が生体内回収率に影響することが示唆された。また、*N*-グリコシル化の有無が血漿中 FIX 濃度に及ぼす影響を評価したところ、rFIX の *N*-脱グリコシル化体又は pdFIX の *N*-脱グリコシル化体をラットに静脈内投与した後の $C_{\max}$ は同等であり、rFIX 及び pdFIX の血漿中 FIX 濃度の中間に位置したことから、活性化ペプチドの *N*-グリコシル化も FIX の生体内回収率に影響することが示された。

以上の検討結果から、生体内回収率の異なる理由を明確には説明できないものの、活性化ペプチドの翻訳後修飾（硫酸化、リン酸化及び *N*-グリコシル化）が生体内回収率に何らかの影響を及ぼしている可能性が考えられる。

機構は、以下の点を確認した。

- ・ 硫酸化の程度は rFIX で約 25%、rFIX 硫酸化体で約 100%、リン酸化の程度は rFIX で約 0%、pdFIX で約 100%、pdFIX 脱リン酸化体で約 0%である。
- ・ rFIX と pdFIX では生体内回収率に差異が認められるものの、生体内回収率に影響を与えと思われる異性体含量については、規格試験及び製造工程の管理により一定以下に保たれている。
- ・ 血液凝固に関する *in vitro* 及び *in vivo* における検討結果において、本剤による FIX 活性の上昇や WBCT の短縮が認められており、本剤が pdFIX と同様に血液凝固活性を有することは明らかである。

したがって、機構は、ヒトに投与した場合も pdFIX 製剤に比べ本剤の生体内回収率は低い（「4.2 臨床薬理に関する資料、＜機構における審査の概略＞、2）rFIX と pdFIX の薬物動態の違いについて」の項参照）ものの、本剤の臨床試験結果を踏まえ用量が設定されていること及び pdFIX との生体内回収率の差異について情報提供することから、臨床使用に対する影響はないと考える。

3.2 薬物動態試験に関する資料

＜提出された資料の概略＞

マウス、ラット及びイヌにおける吸収に関する試験、ラットにおける分布に関する試験、タンパク結合試験、rFIX の生体内回収率に関する検討、細胞培養用培地組成が異なる rFIX 間での薬物動態比較試験並びに異なる処方製剤間での薬物動態比較試験に関する結果が提出された。

1) 関連する分析法の概要

生体試料中の血漿中 FIX 濃度及び投与液中の FIX 濃度は、ELISA 法により測定され、 ^{125}I 標識化合物を用いた試験における試料中放射活性は、ガンマーカウンターを用いて測定された。また、ラット及びイヌの血清中抗 FIX 抗体は、ELISA 法により測定された。

2) 吸収

(1) 単回投与試験

i) マウス単回投与試験（54823 Appendix15 : 4.2.3.2-1）

CD-1 系マウス（雄、採血時点で各群 3 匹）に本剤 500、1000 又は 2500 IU/kg を単回腹腔内投与した際の血漿中 FIX 濃度を測定したところ、血漿中薬物動態パラメータは表 3-1 のとおりであった。なお、100 IU/kg を投与した際には rFIX は検出できなかった。

表 3-1 マウス単回腹腔内投与時の血漿中薬物動態パラメータ (平均値)

投与量 (IU/kg)	C _{max} (ng/mL)	V _{1/F} (mL/kg)	t _{1/2λ1} (hr)	t _{1/2λ2} (hr)	AUC _{0-∞} (ng·hr/mL)	CL/F (mL/hr/kg)
500	433	3967	0.46	9.70	6786	283
1000	1802	1920	1.20	8.27	23918	161
2500	5041	1145	2.11	4.15	50256	191

V_{1/F}: 見かけの中央コンパートメント分布容積、t_{1/2λ1}: 吸収半減期、t_{1/2λ2}: 消失半減期、AUC_{0-∞}: 無限大時間まで外挿して求めた血液濃度-時間曲線下面積、CL/F: 見かけのクリアランス

ii) ラット単回投与試験 (PS-011-94: 4.2.2.2-2)

SD 系ラット (雌雄、採血時点で各群 4 匹) に ¹²⁵I-rFIX (¹²⁵I-rFIX 6 IU/kg と rFIX 194 IU/kg の混合物) 又は rFIX を麻酔下にて (36mg/kg ケタミン及び 4mg/kg キシラジン (筋注)) 200 IU/kg 単回静脈内投与した際の血漿中 ¹²⁵I-rFIX 濃度及び rFIX 濃度 (ELISA 法) を測定したところ、薬物動態パラメータは表 3-2 のとおりであり、測定法の違いによる差は認められなかった。また、rFIX 200 IU/kg の単回投与において血漿中薬物動態パラメータ (表 3-2) に性差は認められなかった。

表 3-2 ラットにおける ¹²⁵I-rFIX 又は rFIX 200 IU/kg 単回静脈内投与後の血漿中薬物動態パラメータ (平均値±標準偏差)

	C _{max} (ng/mL)	t _{1/2} (hr)	t _{1/2 elim} (hr)	CL (mL/hr/kg)	V ₁ (mL/kg)	V _{ss} (mL/kg)	AUC _{0-∞} (ng·hr/mL)
¹²⁵ I-rFIX	11623±995	0.17±0.16	3.10±1.60	29.33±8.86	76.34±22.00	116.02±38.00	33112±9471
rFIX	12130±2803	0.10±0.06	2.88±0.82	23.32±5.42	65.12±15.55	92.93±29.86	32877±6719
雄性	10725±2640	0.10±0.05	3.14±0.92	20.36±4.48	63.02±19.06	91.50±39.62	30557±7014
雌性	13535±2190	0.11±0.08	2.63±0.61	26.27±4.62	67.21±10.57	94.36±14.49	35196±5507

t_{1/2}: 消失相での消失半減期、t_{1/2 elim}: 分布相での消失半減期、CL: クリアランス、V₁: 中央コンパートメント分布容積、V_{ss}: 定常状態での分布容積

なお、¹²⁵I-rFIX 単回投与後の血漿中及び血液中放射能推移を検討したところ、同様な推移を示したことから、本剤は血球移行性がないとされている。

iii) イヌ単回投与試験

① 血中濃度推移及び性差の検討 (TK 試験) (PS-014-94: 4.2.2.2-3)

ビーグル犬 (雌雄各 16 匹) に rFIX50、100 及び 200 IU/kg を 14 日間反復静脈内投与した際の初回投与後の血漿中薬物動態パラメータは表 3-3 のとおりであり、3 用量間で AUC_{0-∞} 及び C_{max} は線形性を示し、その他のパラメータに差は認められなかった。また、200 IU/kg の初回投与後において血漿中薬物動態パラメータに雌雄差は認められなかった。

表 3-3 イヌにおける本剤単回静脈内投与後の血漿中薬物動態パラメータ (平均値±標準偏差)

投与量 (IU/kg)	C _{max} (ng/kg)	t _{1/2} (hr)	t _{1/2 elim} (hr)	CL (mL/hr/kg)	V ₁ (mL/kg)	V _{ss} (mL/kg)	AUC _{0-∞} (ng·hr/mL)
50 (n=6) *	1651±313	1.6±1.7	15.8±8.6	12.4±2.2	129.8±30.7	215±35.3	17128±3064
100 (n=6) *	3045±592	1.6±2.4	10.9±2.5	12.5±2.0	125.8±36.0	185.3±30.0	33905±5640
200 (n=10) *	6554±963	0.7±0.6	11.2±2.5	14.3±2.0	120.6±19.3	214.2±35.3	58643±7676
雄	6026±572	0.5±0.3	10.7±2.2	15.5±1.6	128.7±13.6	228.7±40.4	53941±5075
雌	7081±985	0.9±0.7	11.7±2.7	13.2±1.5	112.5±20.8	199.6±20.9	63345±6918

*: 雌雄を合算した値

② pdFIX との薬物動態の比較 (PR-003-94: 4.2.1.1-2)

ビーグル犬 (雄) に rFIX (5 匹) 又は pdFIX (製品 B*) (3 匹) を 100 IU/kg 単回静脈内投与したところ、rFIX 及び pdFIX 投与後はいずれも 2 相性に消失し、血漿中薬物動態パ

ラメータ（平均値±標準偏差）は、 C_{max} がそれぞれ $4199 \pm 164 \text{ ng/mL}$ (rFIX) 及び $4538 \pm 206 \text{ ng/mL}$ (pdFIX)、 $t_{1/2}$ がそれぞれ $13.2 \pm 1.6 \text{ hr}$ (rFIX) 及び $13.3 \pm 1.6 \text{ hr}$ (pdFIX) であり、類似していた。

③血漿中 FIX 濃度と FIX 活性との相関 (PR-003-95 : 4.2.1.1-5)

血友病 B イヌ（雄 2 匹、雌 4 匹）に rFIX（3 匹）又は pdFIX（製品 B*）（3 匹）を 50 IU/kg 14 日間反復投与した試験（「3.2 薬物動態試験に関する資料、＜提出された資料の概略＞、2）吸収、（2）反復投与、iii）血友病 B イヌ反復投与試験」の項参照）において、rFIX 投与群の投与 1 日目に得られた血漿中 FIX 濃度及び FIX 活性のすべての値を用い、血漿中 FIX 活性と rFIX 濃度との相関性を検討した。なお、血漿中 FIX 活性は凝固一段法により検討した。

rFIX 静脈内投与後の血漿中 FIX 活性と血漿中濃度との相関を一次回帰分析した結果、決定係数は 0.744 であった。

(2) 反復投与

i) ラットにおける 28 日間静脈内投与試験 (PRM-003-94 : 4.2.1.1-2)

SD 系ラット（雄 12 匹、各採血時点で 3～4 匹）に rFIX 50 IU/kg を麻酔下にて（ 36 mg/kg ケタミン及び 4 mg/kg キシラジン（筋注）又はイソフルラン混合酸素（吸入））1 日 1 回 28 日間反復静脈内投与したとき、rFIX は 2 相性に消失し、投与 1 日目の投与 0.5 分後の血漿中濃度（平均値、以下同様）は 2597 ng/mL 、 $AUC_{0-\infty}$ は $8157 \text{ ng} \cdot \text{hr/mL}$ 、CL は 30.6 mL/kr/kg 、 V_{ss} は 182.6 mL/kg 、 V_1 は 96.3 mL/kg 、 $t_{1/2}$ は 5 時間であった。なお、投与 28 日目の血漿中薬物動態パラメータは投与後 90 分までの採血しか行われなかったことから、算出できなかった。また、12 匹中 1 匹において、投与 21 日及び 28 日目に抗 FIX 抗体発現が認められた。

ii) 健常イヌ反復投与試験

①14 日間静脈内投与試験 (TK 試験) (PS-014-94 : 4.2.2.2-3)

ビーグル犬（雌雄各 16 匹）に rFIX 50、100 及び 200 IU/kg を 1 日 1 回 14 日間反復静脈内投与したとき、各投与群の投与 7 日目の $t_{1/2dis}$ 及び $t_{1/2elim}$ は投与 1 日目における値と同様であった。なお、抗 rFIX 抗体の発現が投与 7 日目に 22 匹中 1 匹、投与 14 日目に 22 匹中 16 匹に認められた。

②28 日間静脈内投与試験 (PRM-003-94 : 4.2.1.1-2)

ビーグル犬（雄 4 匹）に rFIX 40 IU/kg を 1 日 1 回 28 日間反復静脈内投与し、その後 34 日目に再投与した際の血漿中薬物動態パラメータは表 3-4 のとおりであった。また、投与 21 日目までに 4 匹中 3 匹において抗体発現が認められた。

表 3-4 イヌ反復投与時の血漿中薬物動態パラメータ

Day	n	C_0^a (ng/mL)	AUC (ng·hr/mL)	$t_{1/2}$ (hr)	CL (mL/hr/kg)	V_{ss} (mL/kg)	V_1 (mL/kg)
1 (平均値±標準偏差)	4	1617 ± 316	15850 ± 1425	12.9 ± 1.4	12.9 ± 1.2	227 ± 31	138 ± 21
28 (実測値)	1 ^b	2250	28905	17.7	6.9	159	95.2
34 (実測値)	1 ^b	2360	15535	11.6	12.9	191	85.1

^a: 0 時間における濃度、^b: 抗体発現を認めなかった動物

iii) 血友病 B イヌ反復投与試験 (PR-003-95 : 4.2.1.1-5)

血友病 B イヌ (雄 2 匹、雌 4 匹) に rFIX 又は pdFIX (製品 B*) を 50 IU/kg、1 日 1 回 14 日間反復静脈内投与したときの血漿中薬物動態パラメータは表 3-5 のとおりであり、初回投与後の rFIX 及び pdFIX はいずれも 2 相性に消失したが、pdFIX の血漿中濃度は rFIX より幾分高く推移した。また、投与 14 日目では rFIX 群の 3 匹中 2 匹及び pdFIX 群の 3 匹中 3 匹に抗 FIX 抗体が検出され、投与 28 日目では全例 (6 匹中 6 匹) に検出された。

表 3-5 血友病 B イヌにおける反復静脈内投与時の血漿中薬物動態パラメータ (平均値±標準偏差)

	Day	C _{max} (ng/mL)	t _{1/2dis} (hr)	t _{1/2elim} (hr)	CL (mL/hr/kg)	V ₁ (mL/kg)	V _{ss} (mL/kg)	AUC _{0-∞} (ng·hr/mL)
rFIX	1	1520.0±149.7	1.52±1.76	22.5±6.0	8.3±1.7	133.3±28.7	242.3±60.6	25917±5993
pdFIX	1	1873.3±75.9	2.77±1.01	23.0±5.0	7.3±1.1	143.9±9.7	221.6±54.7	36944±5297
rFIX	5	2520.0±163.9	1.10±0.62	21.4±7.1	4.0±1.4	84.4±3.0	109.7±12.8	57073±16214
pdFIX	5	3750.0±57.2	1.04±0.66	25.1±10.6	3.9±0.9	68.4±6.3	122.5±20.9	76844±22891

3) 分布

(1) 定量的組織内分布試験

i) ラットにおける組織分布試験 (PS-012-94 : 4.2.2.3-1)

SD 系ラット (雌、各時点 3 匹) に麻酔下にて (36mg/kg ケタミン及び 4mg/kg キシラジン (筋注)) ¹²⁵I-rFIX 0.84mg/kg (204 IU/kg) を単回静脈内投与し、血液、血漿、大腿骨、骨髓、脳、脂肪、心臓、肺、腎臓、副腎、肝臓、筋肉、卵巣、子宮、皮膚、脾臓、甲状腺、リンパ節、胃、大腸、小腸及び死骸の放射能を測定し、組織分布を検討した。また、血液、血漿、骨髓、脳、死骸、腎臓、肝臓、肺、筋肉及び脾臓について、トリクロロ酢酸 (以下、TCA) 沈殿画分の放射能を測定した。

投与 5 分後には、血漿中に投与量の 66% の放射能が、肝臓に 32% が分布した。腎臓では投与 60 分後に最高濃度を示し、投与量の 7% が分布したが、24 時間後には 1% に低下した。脾臓、肺及び副腎への分布は、それぞれ 15 分、180 分及び 15 分後に最高濃度を示し、その割合はそれぞれ 3%、1% 及び 0.8% で、24 時間後にはそれぞれ 0.2%、0.4% 及び 0.1% であった。投与 24 時間後に検出された放射能は全組織で投与量の 16%、血漿中で 3% であり、広範な代謝、排泄が行われたことを示しているが、心臓、腎臓、副腎、肝臓、肺及び脾臓から得た TCA 沈殿画分より回収された放射能の割合は平均 72% であり、24 時間後においても ¹²⁵I-rFIX は完全には代謝されていないことが示唆されている。

ii) ラット組織分布における rFIX と pdFIX との比較試験 (P96025-21 : 4.2.2.3-2)

SD 系ラット (雄、各時点 5 匹) に、麻酔下にて (36mg/kg ケタミン及び 4mg/kg キシラジン (筋注)) ¹²⁵I-rFIX 又は ¹²⁵I-pdFIX (製品 B*) を 1×10⁶cpm 単回静脈内投与し、投与後に採血を行うとともに、採血後直ちにヘパリン 25 単位含有リン酸緩衝液 (Ca²⁺ 及び Mg²⁺ 非存在下) 灌流後、肝臓、脾臓、腎臓、肺、心臓、大動脈及び尾を摘出し、各組織の放射能を測定した。

¹²⁵I-rFIX 及び ¹²⁵I-pdFIX の静脈内投与 1 分後に、それぞれ投与量の 44.4±5.5% 及び 49.5±4.7% (平均値±標準偏差、以下同様) が血漿中に分布した。また、両薬物間の C_{max} (投与 1 分後) の差は 12.5% であった。また、投与 1 分後の肝臓への分布はそれぞれ 40.1±6.3% 及び 27.0±7.4% であった。

iii) 胎盤通過試験

本申請において、胎盤通過試験は実施されていない。

(2) タンパク結合 (P96049-21 : 4.2.2.3-3)

rFIX 又は pdFIX と既知の血漿 FIX 抑制タンパク質 (アンチトロンビンⅢ (以下、ATIII)、アルファ-1-アンチトリプシン (以下、A1AT) 及びアルファ-2-マクログロブリン (以下、A2M)) との不可逆的相互作用を Silver Stain Analysis 及び Protein Immunoblot Analysis を用いて検討した。また、FIX 欠乏ヒト血漿タンパク質との結合能を ^{125}I -rFIX 及び ^{125}I -pdFIX (製品B*) を用いてサイズ排除クロマトグラフィーにより評価した。

rFIX 又は pdFIX と ATIII、A1AT 及び A2M との不可逆的な相互作用は検出されなかった。一方、活性化 rFIX 及び活性化 pdFIX はヘパリン存在下で ATIII と同程度に結合した。さらに、サイズ排除クロマトグラフィーにおける ^{125}I -rFIX 及び ^{125}I -pdFIX の溶出パターンに、FIX 欠乏ヒト血漿の存在の有無による影響は認められなかった。

4) 代謝 (4.2.2.4)

本申請において、代謝に関する試験は実施されていない。

5) 排泄 (4.2.2.5)

本申請において、排泄に関する試験 (乳汁中排泄試験を含む) は実施されていない。

6) 薬物動態学的薬物相互作用 (4.2.2.6)

本申請において、動物での薬物動態学的薬物相互作用に関する検討は実施されていない。

7) その他の薬物動態試験

(1) 生体内回収率に関する検討

i) pdFIX との比較 (P96070-21 : 4.2.2.7-1)

SD 系ラットを用いて申請者が過去に実施した検討の中から、投与量がいずれも $200\mu\text{g}/\text{kg}$ である試験を用い、rFIX 及び pdFIX (製品B*) 投与 1 分後の生体内回収率について検討したところ、投与 1 分後の血漿中 FIX 濃度 (平均値 $\pm$ 標準偏差) は pdFIX 及び rFIX でそれぞれ $2985\pm 689\text{ng}/\text{mL}$ 及び $2078\pm 531\text{ng}/\text{mL}$ であり、rFIX の生体内回収率は pdFIX の約 70% であった。

ii) ロット間比較 (P96045-21 : 4.2.2.7-2)

SD 系ラット (雌、各群 20 匹) に麻酔下 ($36\text{mg}/\text{kg}$ ケタミン及び $4\text{mg}/\text{kg}$ キシラジン (筋注)) で rFIX 8 ロットを $200\mu\text{g}/\text{kg}$ 静脈内投与したときの、投与 1 分後の血漿中 FIX 濃度 (平均値 $\pm$ 標準偏差) の範囲は $1521\pm 320\sim 2559\pm 1445\text{ng}/\text{mL}$ であり、比較ロット 7 品の血漿中 FIX 濃度の平均値は、動物試験の大部分で使用されたロットである 0715H01 の $2\times$ 標準偏差内であった。

iii) 高分子量分子種の影響

rFIX と pdFIX とでは HMW の含有量に差が認められることから (rFIX : $<2\%$ 、pdFIX : $10\sim 20\%$)、生体内回収率に及ぼす HMW の影響をラット及び血友病 B イヌにおいて検討した。

①ラットにおける検討 (P96036-21 : 4.2.2.7-3)

SD 系ラット (雌、20 匹) に rFIX、pdFIX (製品B*)、rFIX+20%HMW (pdFIX の HMW を 20% 添加した rFIX) 及び pdFIX モノマー (HMW を除いた pdFIX) を 200µg/kg 静脈内投与したときの C_{max} は表 3-6 のとおりであり、rFIX 及び 20%HMW 投与群の C_{max} はほぼ同様であった。また、pdFIX 及び pdFIX モノマー投与時の C_{max} に変化はなかった。

表 3-6 ラットにおける rFIX 及び pdFIX 200µg/kg 静脈内投与後の C_{max} に及ぼす HMW の影響

被検物質	例数	C_{max} (平均値±標準偏差) ng/mL	群間差 (%) 及び有意差	
			rFIX ^a	pdFIX ^b
rFIX	20	2551±523	—	-29% [#]
pdFIX	18	3577±760	40% [#]	—
rFIX+20%HMW	18	2612±497	2% ^{NS}	—
pdFIX モノマー	18	3210±515	26% [#]	-10% ^{NS}

^a: rFIX に対する各被検物質の群間差 (%) 及び検定結果、^b: pdFIX に対する各被検物質の群間差 (%) 及び検定結果、[#]: SNK (Student-Newman-Keuls) 検定 ($p<0.05$) で有意差あり、NS: 有意差なし

②イヌにおける検討 (P96001-21 : 4.2.2.7-4)

血友病 B イヌ (雄 3 匹、雌 1 匹) に、rFIX (比活性 300 IU/mg) 又は HMW pdFIX (比活性 11 IU/mg) (機構注: pdFIX (製品B*) から得られる高分子画分) を 200µg/kg 静脈内投与 (初回投与) し、その 10 分後に rFIX 200µg/kg を静脈内投与 (二次投与) したときの血漿中 FIX 濃度を測定した。本試験はクロスオーバー法を用いた。

rFIX 又は HMW pdFIX 静注後、rFIX を二次投与した際の C_{max} (平均値±標準偏差) はそれぞれ 1132.0±40.5ng/mL 及び 1030.8±208ng/dL であり、HMW pdFIX の存在による C_{max} への影響は認められなかったとされた。

iv) シアル酸化の差の影響 (P96028-21 : 4.2.2.7-5)

SD 系ラット (雌各群 4 匹) に麻酔下 (36mg/kg ケタミン及び 4mg/kg キシラジン (筋注)) で rFIX、pdFIX (製品B*)、FT1-rFIX、FT2-rFIX 又は RCA Bound-rFIX を 200µg/kg 静脈内投与し、血漿中 FIX 濃度を測定した。なお、FT1-rFIX、FT2-rFIX 及び RCA Bound-rFIX はそれぞれ RCA (Ricinus communis agglutinin I) カラムを用いた際、すぐに溶出される画分 (FT1-rFIX)、FT1-rFIX の次に溶出される画分 (FT2-rFIX) 及びカラムに結合する画分 (RCA Bound-rFIX) であり、この順でシアル酸化の程度が高く、FT1-rFIX、FT2-rFIX 及び RCA Bound-rFIX の rFIX 中での組成比率はそれぞれ 81%、9%及び 10%であった。

rFIX、pdFIX 及び rFIX 分画物静脈内投与後の C_{max} は表 3-7 のとおりであった。

表 3-7 ラットにおける rFIX 及び pdFIX 200µg/kg 静脈内投与後の C_{max} (シアル酸化の影響)

被検物質	例数	C_{max} (平均値±標準偏差) ng/mL	群間差 (%)	
			rFIX ^a	pdFIX ^b
rFIX	4	1696±58	—	-29
pdFIX	4	2383±501	41	—
FT1-rFIX	4	1774±442	5	-26
FT2-rFIX	4	1698±179	0	-29
RCA Bound rFIX	4	1051±108	-38	-56

^a: rFIX に対する各被検物質の群間差 (%)、^b: pdFIX に対する各被検物質の群間差 (%)

v) グルタミン酸の γ -カルボキシル化の影響 (P96046-21 : 4.2.2.7-6)

生体内回収率に及ぼすグルタミン酸の γ -カルボキシル化の影響を検討するため、SD 系ラット（雌、20 匹）に麻酔下（36mg/kg ケタミン及び 4mg/kg キシラジン（筋注））で rFIX、pdFIX（製品B*）及び rFIX のアイソフォーム（10Gla-rFIX、11Gla-rFIX 及び 12Gla-rFIX）を 200 μ g/kg 静脈内投与したところ、血漿中 FIX 濃度は表 3-8 のとおりであった。

表 3-8 ラットにおける rFIX 及び rFIX 分画物 200 μ g/kg 静脈内投与後の C_{max}
(カルボキシル化の影響)

被検物質	例数	C_{max} (平均値 $\pm$ 標準偏差) ng/mL	群間差 (%) 及び有意差	
			rFIX ^a	pdFIX ^b
rFIX	20	2144 $\pm$ 382	—	—24 [#]
pdFIX	15	2836 $\pm$ 466	32 [#]	—
10Gla-rFIX	18	2157 $\pm$ 276	1 ^{NS}	—
11Gla-rFIX	16	2211 $\pm$ 474	3 ^{NS}	—
12Gla-rFIX	17	2093 $\pm$ 392	—2 ^{NS}	—

^a: rFIX に対する各被検物質の群間差 (%) 及び検定結果、^b: pdFIX に対する各被検物質の群間差 (%) 及び検定結果、#: SNK (Student-Newman-Keuls) 検定 ($p<0.05$) で有意差あり NS: 有意差なし

vi) 活性化ペプチドドメインの硫酸化及びリン酸化の影響 (P96046-21 : 4.2.2.7-6)

pdFIX は活性化ペプチドドメインの Tyr¹⁵⁵ が 90%以上硫酸化されているが、rFIX では約 25%である。また、pdFIX は Ser¹⁵⁸ が高度にリン酸化されているが、rFIX ではリン酸化されていない。そこで、生体内回収率に及ぼす硫酸化及びリン酸化の影響を検討するため、rFIX の硫酸化画分（12Gla+Sulfate rFIX）及び pdFIX の脱リン酸化体（de-phos pdFIX）を使用して、以下の検討を行った。

SD 系ラット（雌、15～20 匹）に、rFIX、pdFIX（製品B*）、12Gla-Sulfate rFIX 及び de-phos pdFIX を麻酔下にて（36mg/kg ケタミン及び 4mg/kg キシラジン（筋注））200 μ g/kg 静脈内投与した際の C_{max} は表 3-9 のとおりであり、12Gla+Sulfate rFIX 群の血漿中 FIX 濃度は pdFIX 群と同程度となった。一方、de-phos pdFIX 群では pdFIX 群に比べ低下した。

表 3-9 ラットにおける 12Gla+Sulfate rFIX 及び de-phos pdFIX 200 μ g/kg 静脈内投与後の C_{max}
(活性化ペプチドドメインの硫酸化とリン酸化の影響)

被検物質	例数	C_{max} (平均値 $\pm$ 標準偏差) ng/mL	群間差 (%) 及び有意差	
			rFIX ^a	pdFIX ^b
rFIX	20	2144 $\pm$ 382	—	—24 [#]
pdFIX	15	2836 $\pm$ 466	32 [#]	—
12Gla+Sulfate rFIX ^a	20	2692 $\pm$ 443	26 [#]	—5 ^{NS}
de-phos pdFIX ^b	18	2329 $\pm$ 454	9 ^{NS}	—18 [#]

^a: rFIX に対する各被検物質の群間差 (%) 及び検定結果、^b: pdFIX に対する各被検物質の群間差 (%) 及び検定結果、#: SNK (Student-Newman-Keuls) 検定 ($p<0.05$) で有意差あり NS: 有意差なし

vii) 活性化ペプチドドメインの *N*-グリコシル化の影響 (P96046-21 : 4.2.2.7-6)

rFIX 及び pdFIX はその活性化ペプチドドメインの ¹⁵⁷Asn 及び ¹⁶⁷Asn における *N*-グリコシル化型糖鎖のフコースの量及び局在化に違いが存在するため、活性化ペプチドドメインの *N*-グリコシル化が生体内回収率に及ぼす影響を検討した。なお、検討には rFIX 及び pdFIX を PNGase によって脱グリコシル化した de-*N*-rFIX 及び de-*N*-pdFIX を用いた。

SD 系ラット（雌、15～20 匹）に麻酔下で rFIX、pdFIX（製品B*）、de-*N*-rFIX 又は de-*N*-pdFIX を麻酔下にて（36mg/kg ケタミン及び 4mg/kg キシラジン（筋注））200 μ g/kg 静脈内投与し、 C_{max} を測定した結果は表 3-10 のとおりであり、活性化ペプチド中の *N*-グリコシル化型糖鎖が生体内回収率に影響を及ぼしている可能性が示唆された。

表 3-10 ラットにおける de-N-rFIX 及び de-N-pdFIX 200µg/kg 静脈内投与後の C_{max}
(活性化ペプチドドメインの N-グリコシル化の影響)

被検物質	例数	C _{max} (平均値±標準偏差) ng/mL	群間差%及び有意差	
			rFIX ^a	pdFIX ^b
rFIX	20	2144±382	—	—24 [#]
pdFIX	15	2836±466	32 [#]	—
de-N-rFIX	18	2504±426	17 [#]	—12 ^{NS}
de-N-pdFIX	17	2630±456	23 [#]	—7 ^{NS}

^a: rFIX に対する各被検物質の群間差 (%) 及び検定結果、^b: pdFIX に対する各被検物質の群間差 (%) 及び検定結果、#: SNK (Student-Newman-Keuls) 検定 (p<0.05) で有意差あり NS: 有意差なし

viii) 異なる細胞培養用培地で製造された rFIX 間での薬物動態比較

細胞の rFIX 生産能を増強させるため、開発当初の培地（オリジナルメディア）から組成変更した培地（強化メディア）への変更が行われたことから（「2.品質に関する資料、＜提出された資料の概略＞、1）原薬の製造方法、（5）製造工程の開発の経緯（同等性／同質性）」の項参照）、両培地によって製造された rFIX（それぞれオリジナルメディア rFIX 及び強化メディア rFIX とする）の薬物動態について比較検討を行った。

①薬物動態比較 (1) (RPT-50227 : 4.2.2.7-7)

SD 系ラット（雄、各群 18～19 匹）にオリジナルメディア rFIX 及び強化メディア rFIX 0.78mg/kg を単回静脈内投与し、投与後 5 分の血漿中 FIX 濃度 (C_{5min}) を測定した結果、オリジナルメディア rFIX 群及び強化メディア rFIX 群の実質投与量補正後の C_{5min} (平均値±標準偏差) はそれぞれ 7867±2139ng/mL 及び 7637±1677ng/mL であり、類似していた。

②薬物動態比較 (2) (RPT-52713 : 4.2.2.7-8)

SD 系ラット（雄、24 匹）にオリジナルメディア rFIX 及び強化メディア rFIX 0.714mg/kg を単回静脈内投与したときの各群の薬物動態パラメータは表 3-11 のとおりであった。

表 3-11 ラットにおけるオリジナルメディア rFIX 及び強化メディア rFIX 0.714mg/kg 静脈内投与後の
血漿中薬物動態パラメータ（実質投与濃度補正）（平均値±標準偏差）

	C _{5min} (ng/mL)	AUC ₀₋₂₄ (ng・hr/mL)	AUC _{0-∞} (ng・hr/mL)	t _{1/2} (hr)
オリジナルメディア rFIX	8077±1698	28144±5218	28802±5310	5.5±0.4
強化メディア rFIX	7200±1110	27303±3288	28050±3362	5.7±0.5

n=24

また、薬物動態パラメータの幾何平均値比 [90%信頼区間] は表 3-12 のとおりであった。

表 3-12 オリジナルメディア rFIX に対する強化メディア rFIX の平均値比
(実質投与量補正)

薬物動態パラメータ	幾何平均値比 (%) [90%信頼区間]
C _{5min}	90 [83, 98]
AUC ₀₋₂₈	98 [91, 105]
AUC _{0-∞}	98 [91, 106]
t _{1/2}	104 [100, 108]

ix) 異なる処方製剤間での薬物動態比較

旧処方製剤を用いた臨床試験において、投与チューブ及びシリンジ内で赤血球凝集が認められ、処方変更が行われていることから（「2 品質に関する資料、＜提出された資料の概略＞、3）製剤（1）製剤設計」の項参照）、両処方製剤の血漿中 FIX 濃度の比較が行われ

た。

①麻酔下ラットでの検討 (RPT-49615 : 4.2.2.7-9)

SD 系ラット (雄、20 匹) に旧処方製剤、新処方製剤及び pdFIX を麻酔下 (105mg/kg ケタミン及び 9mg/kg キシラジン (筋注)) で 0.72mg/kg 単回静脈内投与したときの C_{5min} (平均値±標準偏差) は、それぞれ $4481 \pm 1689 \text{ ng/mL}$ 、 $4613 \pm 1224 \text{ ng/mL}$ 及び $3628 \pm 1135 \text{ ng/mL}$ であった。この結果は、pdFIX の血漿中 FIX 濃度が rFIX より高いというこれまでの知見に矛盾するものであるとされている。

②無麻酔下ラットでの検討 (RPT-49906 : 4.2.2.7-10)

SD 系ラット (雄、18 匹) に旧処方製剤、新処方製剤及び pdFIX を無麻酔下で 0.72mg/kg、単回静脈内投与したときの C_{5min} (平均値±標準偏差) はそれぞれ $5118 \pm 1150 \text{ ng/mL}$ 、 $4130 \pm 820 \text{ ng/mL}$ 及び $9536 \pm 1303 \text{ ng/mL}$ であった。

<機構における審査の概略>

1) 生体内回収率について

申請者は、本剤の生体内回収率が pdFIX に比べ低いことについて、以下のように考察している。

非臨床薬物動態試験において、本剤の生体内回収率は、単回、反復投与時とも pdFIX の約 70% となった。ラット組織分布における本剤と pdFIX との比較試験では、本剤の投与 1 分後の肝臓への取り込み量が pdFIX よりも多かったことから、肝臓への分布の差異が本剤の低い生体内回収率に関与していることを示唆するものと考ええる。

また、本剤の構造的及び機能的観点からは、FIX の活性化ペプチド領域の修飾、特に硫酸化又はリン酸化の程度が低い場合、生体内回収率が低くなることが明らかとなった (「3.1 薬理に関する資料、<機構における審査の概略>、1) 生体内回収率と血液凝固活性について」の項参照)。これは、本剤の硫酸化とリン酸化の程度が共に pdFIX よりも低いことに矛盾しない。また、XXXXXXXXXX 及び XXXXXXXXXX を用いた検討では、投与後の血漿中 FIX 濃度が類似し、糖鎖構造の相違が生体内回収率に影響を及ぼすことが示唆された。以上より、FIX の活性化ペプチド領域の翻訳後修飾の程度の差が、生体内回収率の差に複合的に影響していると考えられた。なお、rFIX のシアル酸化の程度が生体内回収率に与える影響を検討したところ、シアル酸化の程度が高いと生体内回収率が低くなる傾向が認められたが、高シアル酸化分子種の存在比率が 10% 以下と低く、本剤と pdFIX の薬物動態の違いを説明できるものではなかった。また、N 末端に存在するグルタミン酸の γ -カルボキシル化の影響を検討したが、有意な差は認められなかった。

機構は、「3.1 薬理に関する資料、<機構における審査の概略>、生体内回収率と血液凝固活性について」の項でも示したように、ヒトに投与した場合も pdFIX 製剤に比べ本剤の生体内回収率は低い (「4.2 臨床薬理に関する資料、<機構における審査の概略>、2) rFIX と pdFIX の薬物動態の違いについて」の項参照) もの、本剤の臨床試験結果を踏まえて用量が設定されていること及び pdFIX との生体内回収率の差異について情報提供することから、臨床使用に対する影響はないと考える。

2) 細胞培養用培地及び製剤処方の変更について

申請者は、細胞培養用培地及び製剤処方の変更が本剤の薬物動態に与える影響について、

以下のように考察している。

異なる細胞培養用培地で製造された FIX の薬物動態について、ラットを用いて検討したところ、両者の C_{5min} 、 AUC_{0-24} 、 $AUC_{0-\infty}$ 及び $t_{1/2}$ はいずれも類似していた。一方、処方変更による影響を、無麻酔下ラットを用いて確認したところ、両処方間で有意差を認めた (ANOVA、 $p \leq 0.05$)。新処方製剤と旧処方製剤に対する差は -19% と小さく、血友病 B 患者を対象に実施した 304 試験では、両処方製剤が生物学的に同等であることが示されたことから、これらの変更は本剤の薬物動態に影響を与えないと判断した。

機構は、以上の説明を了承した。

3) 麻酔が薬物動態に与える影響について

機構は、異なる処方製剤間での薬物動態比較において、麻酔が本剤の薬物動態に影響を与えたことが示唆されたことから、麻酔下で行われている他の薬物動態試験についても影響を考慮する必要はないか、申請者に尋ねた。

申請者は、以下のように説明した。

麻酔下ラットにおける検討では、pdFIX の血漿中濃度は rFIX より低く、これまでに得られた pdFIX の血漿中濃度は rFIX よりも高いという結果と矛盾する結果が得られた。これは、麻酔薬が直接 FIX の薬物動態に影響を及ぼしたのではなく、高用量の麻酔薬 (105mg/kg ケタミン及び 9mg/kg キシラジン (筋注)) の作用による著名な血圧低下や血流量の低下により、採血手技が困難になったため、データのばらつきが生じたと考えられる。事実、本試験では C_{5min} を得るための採血時間にばらつきが生じた。なお、麻酔を用いた他の試験では、用量も少なく (36mg/kg ケタミン及び 4mg/kg キシラジン (筋注) 又はイソフルラン混合酸素 (吸入))、採血手技への影響は見られなかったことから、これらの試験では麻酔による薬物動態への影響を考慮しなくてもよいと考える。

機構は、以上の説明を了承した。

3.3 毒性試験に関する資料

<提出された資料の概略>

本剤の毒性試験として、単回投与毒性試験、反復投与毒性試験及び遺伝毒性試験成績が提出された。なお、旧処方製剤を用いた臨床試験において、投与チューブ及びシリンジ内で赤血球凝集が認められたことから、処方変更が行われている (「2 品質に関する資料、<提出された資料の概略>、3) 製剤 (1) 製剤設計」の項参照)。毒性試験は旧処方製剤を用いて実施されているが、ラット反復投与毒性試験のみ新処方製剤を用いて追加試験が実施され、旧処方製剤との比較が行われている。

1) 単回投与毒性試験 (P0795002 : 4.2.3.1-1 及び 54823 : 4.2.3.2-1)

雄性的 ICR 系 (0~50 IU/匹) 及び雌雄の CD-1 系マウス (0~2500 IU/kg) を用い、単回腹腔内投与毒性試験が実施された。ICR 系マウスでは、50 IU/匹群の 1 匹が死亡し、20 IU/匹群以上で眼内出血等の急性の眼所見が認められた。CD-1 系雌雄マウスでは、500 IU/kg 以上の群で死亡例が認められ、死亡例で認められた主な所見は、自発運動低下、後肢の運動失調、あえぎ呼吸、立毛、体温低下及び痙攣であった。死因は本剤の直接作用による血栓症及びそれに伴う二次的変化と推察された。概略の致死量は ICR 系雄性マウスで 2500 IU/kg、CD-1 系雌雄マウスで 500 IU/kg と判断されている。

2) 反復投与毒性試験

マウス（7日間腹腔内投与）、ラット（4週間静脈内投与）及びイヌ（14日間静脈内投与）を用いた反復投与毒性試験が実施された。マウスでは血栓症及び消費性凝固性障害に関連した所見が、イヌでは抗体産生に関連すると推察される好酸球増加及び活動性低下を含む一般症状所見が認められた。ラットでは本剤投与に関連した一般症状の変化は認められなかった。無毒性量はマウスで 100 IU/kg/日、ラットで 200 IU/kg/日以上、イヌで 200 IU/kg/日と判断されている。また、ラットに旧処方製剤又は新処方製剤を同量投与した結果、毒性所見に差異はなかったとされている。

(1) マウスにおける 7 日間腹腔内投与試験（54823 : 4.2.3.2-1 及び P96056-21 : 4.2.2.2-1）

CD-1 系マウス（雌雄各 32 匹/群）に 0（対照）、100、500、1000 及び 2500 IU/kg/日を 7 日間反復皮下投与した結果、500、1000 及び 2500 IU/kg/日において、それぞれ 10 匹、17 匹及び 22 匹の死亡例が認められ、また 500 IU/kg/日以上で、体重増加抑制及び摂餌量の低下が観察された。500 IU/kg/日以上で、剖検、病理組織学的及び血液学的検査により認められた毒性所見は、いずれもマウスに高用量の pdFIX を投与したときに報告されている所見と同様であり（*Dev Biol Stand* **67**:149-55, 1987、*Dev Biol Stand* **44**:185-8, 1979）、ヒト FIX に対するマウスの過剰な薬理作用を反映したものと考えられている。すなわち、得られた毒性所見である両眼又は片眼の球後出血に関連した眼球突出又は消失、用量依存的な可逆性の血小板数低下及びフィブリノゲンの増加、並びに眼、心臓、肝臓、肺等の臓器出血及び変性／壊死、さらに脾臓及び肝臓における代償性再生性の髄外造血亢進及び骨髓の赤血球増生については、いずれも本剤の薬理作用の過剰発現である血栓症及び消費性凝固阻害に関連したものと考えられている。なお、アラニンアミノトランスフェラーゼ（以下、ALT）の上昇、総ビリルビン量の増加が認められているが、これらはいずれも本剤の肝臓に対する直接的な影響とは考えられず、血栓症及び出血による二次的変化としての虚血による肝変性及び壊死、あるいは内部出血に起因したものであると考えられている。同様に、血中尿素窒素（以下、BUN）の増加は本剤の腎臓に対する直接影響によるものではなく、脱水による二次的変化と推察されている。また、脾臓の腫大は髄外造血亢進に、胸腺リンパ組織萎縮は全身性ストレスに対するコルチコステロイド放出に関係するものと考えられている。無毒性量は 100 IU/kg/日と判断されている。

(2) ラットにおける 4 週間投与試験（54595 : 4.2.3.2-2、P96032-21 : 4.2.3.2-3、RPT-48652 : 4.2.3.2-4 及び RPT-49265 : 4.2.3.2-5）

SD ラット（旧処方製剤、新処方製剤とも雌雄各 10 匹/群）に 0（対照）、50、100 及び 200 IU/kg/日を 4 週間静脈内投与した結果、旧処方製剤及び新処方製剤とも被験物質投与に起因した死亡及び一般症状は観察されず、また、剖検、病理組織学的及び血液生化学的検査でも異常は認められなかった。なお、旧処方製剤及び新処方製剤とも 200 IU/kg/日投与群の一部（旧処方製剤：2 匹、新処方製剤：2 匹）で抗体産生が認められたものの、血漿中 FIX 濃度に影響を及ぼす程ではなかった。

本試験では、旧処方製剤及び新処方製剤とも 200 IU/kg/日において局所刺激性が検討されている。その結果、旧処方では投与部位に血管周囲炎、出血あるいは血栓症が、また、新処方では投与部位に線維索性炎、出血、混合細胞型炎症あるいは投与手技による外傷が認められたものの、当該所見はいずれも投与手技に関連するものであり、対照群と発現率に群間差は認められず、その程度も軽度であることから、局所刺激性はないものと判断され

ている。また、旧処方製剤及び新処方製剤とも無毒性量は 200 IU/kg/日以上と判断されている。

(3) イヌにおける 2 週間投与試験 (53865 : 4.2.3.2-6 及び PS-014-94 : 4.2.2.2-3)

ビーグル犬 (雌雄各 3 匹/群) に 50、100 及び 200 IU/kg/日を 14 日間静脈内投与した結果、50 IU/kg/日の数匹に鼻口部・眼の腫脹及び軽度の後肢の腫脹が観察され、100 IU/kg/日以上の数匹でケージ内の泡沫物並びに活動性低下、腹臥位、流涎、筋緊張低下、後肢撤去反射の消失、後肢の腫脹、眼脂、体温上昇及び歯肉の蒼白化が認められた。骨髓検査では、用量依存的な好酸球の増加が観察され、2 週間の休薬後に回復した。投与 1、7 及び 14 日目に血漿中 FIX 濃度を測定したところ、 C_{max} 及び $AUC_{0-\infty}$ とも投与濃度に応じた増加を示した。全投与群 22 匹中 18 匹で抗 FIX 抗体が検出されており、この抗体産生により、投与 14 日目の C_{max} 及び $AUC_{0-\infty}$ 値に変化が認められた。骨髓における好酸球増加は、rFIX に対する IgE の反応、もしくは抗 FIX 抗体の産生に関連するものと推察されている。認められた所見に関連する病理組織学的変化がなかったことから、無毒性量は 200 IU/kg/日と判断されている。本試験において、抗体産生及びそれに伴う軽度のアナフィラキシー反応が認められたことから、より長期の反復投与毒性試験は実施されなかった。

3) 遺伝毒性試験 (16662-0-422R : 4.2.3.3.1-1 及び 17347-0-449CO : 4.2.3.3.1-2)

遺伝毒性試験として、細菌を用いた復帰突然変異試験、ヒトリンパ球を用いた染色体異常試験が実施され、いずれの試験でも陰性と判断されている。また、本剤は pdFIX に類似したタンパク質製剤であり、*in vitro* 遺伝毒性試験において陰性であることから、*in vivo* 遺伝毒性試験は実施されていない。

4) がん原性試験

「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」について (平成 12 年 2 月 22 日付医薬審第 326 号) (以下、ICH-S6) を踏まえ、本剤は pdFIX と構造的にも薬力学的にも類似していることから、がん原性試験は実施されていない。

5) 生殖発生毒性試験

反復投与毒性試験では生殖器に毒性所見は認められていない。また、本剤の適応となる血友病 B 患者はほぼ男性に限られ、本剤は pdFIX と構造的に類似していること、及び pdFIX については海外において豊富な臨床使用実績があることから、生殖発生毒性試験は実施されていない。

6) 局所刺激性試験

独立した局所刺激性試験は実施していないが、単回及び反復投与毒性試験における投与部位の剖検及び病理組織学的検査の結果から、新処方製剤を臨床使用するにあたり、局所刺激性に問題はないと判断されている。

<機構における審査の概略>

1) ラットにおける反復投与毒性試験の試験期間について

機構は、本剤は長期にわたり使用されることから、本剤が蓄積されないことを根拠として、試験期間を 4 週間としたことは適切でないと考え、本剤の安全性評価がラット 4 週間

反復投与試験で可能と考えた理由について説明を求めた。

申請者は、①当該試験においては、抗 FIX 抗体の発現が高用量群（200 IU/kg/日）で複数匹に認められている。投与期間が長期に及ぶ場合、さらに多くのラットで抗 FIX 抗体が発現する可能性があることから、投与期間の延長については限界があるとの見解を示した。その上で、本剤は ②FIX 欠乏患者への補充療法という位置付けにあること、③海外での使用実績が豊富であること、④同効薬である pdFIX が、臨床で広く使用されていることに鑑み、4 週間による安全性評価は妥当であると説明した。

機構は、①の説明について、抗体の発現による血漿中 FIX 濃度の低下及びそれに伴う薬理作用の低下等が確認されていないことから、ICH-S6 に準拠すると、投与期間を 4 週間で十分とする理由になりえないものと考ええる。しかしながら、②～④の説明より、総合的に判断し申請者の回答を了承した。

2) ラット反復投与毒性試験における旧処方製剤及び新処方製剤の毒性プロファイルの比較について

旧処方製剤と新処方製剤についての毒性プロファイルの比較がなされた結果、これら処方間には毒性所見に差異はないとされていることについて、機構は、当該試験結果では両製剤とも最高投与量が無毒性量となっているため、両製剤間の毒性プロファイルが解明されているとは言えないと考える。しかしながら、添付溶解液の塩濃度の変更により大幅な毒性プロファイルの変化が生じるとは考え難いことから、旧処方製剤を用いた毒性試験成績をもって新処方製剤の毒性プロファイルを判断することは可能と考えた。

4.臨床試験に関する資料

4.1 生物薬剤学及び関連する分析法に関する資料

<提出された資料の概略>

JP 試験、301 試験、302 試験及び 304 試験において、FIX 活性は aPTT の凝固一段法により測定され、測定範囲は正常値の 1%～100%、定量限界は正常値の 1%であった。また、これらの試験において、FIX インヒビターの測定は改変 Bethesda 法を用い、検出限界は JP 試験では 0.4 BU であり、301 試験、302 試験及び 304 試験では 0.6 BU であった。

抗 FIX 抗体及び CHO タンパク質に対する抗体は ELISA 法により測定された。

4.2 臨床薬理に関する資料

<提出された資料の概略>

本申請に際して、国内第 I / II 相試験 1 試験（JP 試験：5.3.5.2-1）及び海外第 III 相試験 3 試験（301 試験：5.3.5.2-2、302 試験：5.3.5.2-3、304 試験：5.3.1.2-1）が評価資料として提出された。

なお、本項においては欧米で初回承認を取得した本剤を「旧処方製剤」、処方変更を行った本剤を「新処方製剤」と記載する（「2. 品質に関する資料、<提出された資料の概略>、3) 製剤、(1) 製剤設計」の項参照）。

1) 血友病 B 患者に対する rFIX の第 I / II 相試験（試験番号：C9623-21-JP、資料 5.3.5.2-1、公表文献：なし、実施期間：19■年■月～19■年■月）

治療歴のある重症（FIX 活性が 1IU/dL 未満）又は中等症（FIX 活性が 1～5 IU/dL）の日

本人血友病 B 患者を対象に、旧処方製剤の出血時治療に対する有効性及び安全性、並びに各患者における薬物動態を評価することを目的とした非盲検非対照試験が実施された。

薬物動態の解析対象とされた 3 例に旧処方製剤 50 IU/kg を単回静脈内投与したときの薬物動態パラメータは表 4-1 のとおりであった。

表 4-1 日本人患者における FIX 活性薬物動態パラメータ（平均値±標準偏差（範囲））

測定時期	生体内回収率 (%)	K 値 ([IU/dL] / [IU/kg])	t _{1/2} (hr)	AUC _{0-∞} (IU·hr/dL)
初回投与時	28.1±4.7 (23.3~32.7)	0.62±0.11 (0.52~0.73)	20.19±6.77 (13.56~27.09)	421.56±77.06 (358.77~507.55)
6 か月時	27.3±4.4 (24.3~32.4)	0.61±0.10 (0.54~0.72)	17.27±0.85 (16.60~18.23)	454.91±71.00 (413.14~536.89)

K 値：FIX 活性上昇値（本剤 1 IU あたりの最大活性増加量）

2) 6 歳未満の重症血友病 B 小児患者における旧処方製剤の安全性及び有効性を評価する非盲検試験（試験番号：3090A1-301-WW、資料 5.3.5.2-2、公表文献：なし、実施期間：20 年 月～20 年 月）

治療歴の有無を問わず、6 歳未満の外国人重症血友病 B 患者（FIX 活性≤1%）を対象に、旧処方製剤の有効性及び安全性を検討することを目的とした第Ⅲ相非盲検非対照試験が実施された。

薬物動態の評価は、旧処方製剤 75 IU/kg を単回静脈内投与し、投与後 15～30 分における生体内回収率、並びに投与後 4 及び 24 時間の血漿中 FIX 活性を測定した。初回投与時、1、3、6、9 か月時及び最終観察時の薬物動態の評価対象はそれぞれ 25、24、22、8、2 及び 23 例であった。なお、2 例の患者を治験実施計画書違反により薬物動態の検討から除外した。また、各薬物動態評価時点においては、ウォッシュアウト期間が 4 日間未満で投与前の FIX 活性が 1% を超過していた患者を対象から除外した（visit3：2 例、visit4：1 例、visit999：2 例）。また、投与後 0.5 時間の FIX 活性値が欠測であった患者についても、欠測時のデータを薬物動態検討から除外した（visit1：1 例、visit999：1 例）。

ノンコンパートメント解析により K 値、生体内回収率、t_{1/2}、C_{max}、AUC_{0-t} を算出し、NONMEM 法を用いた 2-コンパートメントモデル解析により AUC_{0-∞}、CL、β相における消失半減期（以下、t_{1/2β}）を算出した結果、薬物動態パラメータは表 4-2 のとおりであった。

表 4-2 重症血友病 B 小児患者における旧処方製剤の薬物動態パラメータ（平均値±標準偏差）

	Visit2 (n=23)	Visit3 (n=21)	Visit4 (n=20)	Visit5 (n=6)	Visit6 (n=1)	Visit999 (n=20)
C _{max} (IU/dL)	43.0±6.9 ^a	41.3±7.9	43.2±5.6 ^c	43.2±13.8	56.4	45.9±7.1 ^c
K 値 ([IU/dL] / [IU/kg])	0.57±0.09 ^a	0.55±0.11	0.58±0.07 ^c	0.58±0.18	0.75	0.61±0.10 ^c
生体内回収率 (%)	31.5±5.4 ^a	30.3±5.9	31.2±4.1 ^c	31.1±9.8	37.8	33.0±5.2 ^c
t _{1/2} (hr)	11.0±2.2 ^b	ND	ND	13.4±3.1	ND	11.4±1.7 ^d
AUC _{0-∞} (IU·hr/dL)	566±102	ND	ND	625±46	ND	615±122
CL (mL/hr/kg)	13.8±3.2	ND	ND	12.1±0.9	ND	12.6±2.0

^a：n=22、^b：n=21、^c：n=19、^d：n=17、ND：測定なし

注：visit2 は試験 1 日目、visit3 は 1 か月時、visit4 は 3 か月時、visit5 は 6 か月時、visit6 は 9 か月時、visit999 は最終来院時（早期中止例以外は 12 か月時）

3) 治療歴のある血友病 B 患者における旧処方製剤の安全性及び有効性を評価する非盲検試験（試験番号：3090A1-302-WW、資料 5.3.5.2-3、公表文献：なし、実施期間：20 年 月～20 年 月）

治療歴のある（FIX 製剤の曝露日数 150 日以上）中等症から重症の外国人血友病 B 患者（FIX 活性≤2%）を対象に、旧処方製剤の安全性及び有効性を検討することを目的とした非盲検非対照試験が実施された。

本試験には 23 例が組み入れられたが、最終来院時の薬物動態解析が実施できたのは 18 例であり、このうち 1 例はウォッシュアウト期間が不十分であったことから、初回投与時との薬物動態の比較解析からは除外した。薬物動態の評価は、旧処方製剤 75 IU/kg を 10 分かけて静脈内投与し、ノンコンパートメントモデル解析により、FIX 活性プロファイルを評価した。

初回投与時及び最終来院時の各薬物動態パラメータは表 4-3 のとおりであった。

表 4-3 初回投与時及び最終投与時の薬物動態パラメータ

	$C_{\max}$ (IU/dL)	AUC_{0-t} (IU·hr/dL)	$t_{1/2}$ (hr)	$AUC_{0-\infty}$ (IU·hr/dL)	K 値 ([IU/dL]/[IU/kg])	生体内回収率 (%)
初回投与時						
平均値±標準偏差	60.2±10.6	944±177	24.6±5.8	1061±201	0.803±0.142	37.8±7.7
範囲	40.0～81.5	692～1285	15.4～33.3	821～1445	0.533～1.086	26.3～50.9
最終投与時						
平均値±標準偏差	61.9±12.6	965±220	22.5±4.7	1070±257	0.825±0.168	38.9±7.5
範囲	38.0～82.1	605～1493	17.6～33.4	676～1698	0.507～1.095	24.8～50.1
最小二乗幾何平均値比 (LS-mean 比 (%)) ^a 及びその 90% 信頼区間						
LS-mean 比 (%)	102.2	101.3	—	99.8	102.2	103.1
90% 信頼区間	[95.2, 109.7]	[95.3, 107.8]	—	[93.6, 106.3]	[95.2, 109.7]	[95.8, 111.0]

^a: 最終投与時の初回投与時に対する LS-mean 比 (%)

4) 治療歴のある中等症又は重症血友病 B 患者における旧処方製剤及び新処方製剤の薬物動態を検討する無作為化二重盲検クロスオーバー比較試験並びに新処方製剤の安全性及び有効性を評価する非盲検試験 (試験番号: 3090A1-304-WW、資料 5.3.1.2-1、公表文献: *Haemophilia* 13: 233-43, 2007、実施期間: 2004 年 1 月～2005 年 9 月)

治療歴のある (FIX 製剤の曝露日数 150 日以上) 中等症又は重症 (FIX 活性 ≤ 2%) の海外血友病 B 患者を対象に、旧処方製剤と新処方製剤の薬物動態の比較を目的とした試験第 1 期 (無作為化二重盲検クロスオーバー) 並びに治療期投与、予防投与²、手術期投与における新処方製剤の有効性及び安全性の検討を目的とした試験第 2 期 (非盲検非対照) からなる国際共同試験が実施された。

試験第 1 期では、旧処方製剤又は新処方製剤を 10 分間かけて 75 IU/kg 単回静脈内投与した時の薬物動態を検討することを目的とした無作為化二重盲検クロスオーバー比較を実施し、各投与間にはウォッシュアウト期間を 5 日以上設けた。試験第 2 期では、初回投与から 6 か月時に試験第 1 期に投与したものと同一ロットの新処方製剤を 75 IU/kg 投与し、薬物動態の評価を行った。なお、薬物動態の評価はノンコンパートメントモデル解析法を用い、血漿中 FIX 活性薬物動態パラメータを推定した。

試験第 1 期には 34 例が組み入れられ、試験第 1 期での中止例 3 例を除く 31 例が試験第 2 期移行例とされた。さらに、試験第 2 期での中止例 6 例を除く 25 例が本試験を完了した。試験第 1 期に組み入れられた 34 例のうち、8 例 (試験実施計画書の逸脱 6 例、検体の不適切な保存 1 例及び患者からの要望 1 例) が薬物動態の解析対象から除外された。さらに、残る 26 例のうち、2 例は初回又は第 2 回の薬物動態検討時の検体の保存が不適切であったため、薬物動態の評価から除外した。また、6 か月時の薬物動態検討時に十分なウォッシュアウト期間がなく、投与前の FIX 活性が 2% を超えていた 2 例と、6 か月時の薬物動態検討前に試験を脱落した 1 例の計 3 例を、初回投与時と 6 か月時の比較から除外した。以上よ

² 定期補充療法と予備的補充療法を含む。定期補充療法とは長期間にわたり出血を予防するため、一定の間隔で投与を行う補充療法であり、申請資料では「定期的予防投与」としている。予備的補充療法とは運動、理学療法及び歯科治療等の予測できる身体的負担の前に行う、短期間の補充療法であり、申請者は「間歇的予防投与」としている。

り、薬物動態の検討は 24 例を対象に、初回投与時と 6 か月時の比較は 23 例を対象に実施した。

旧処方製剤又は新処方製剤の投与前と投与量補正後の血漿中 FIX 活性の推移（平均値±標準誤差）は図 4-1 に、薬物動態パラメータは表 4-4 に示したとおりであり、旧処方製剤と新処方製剤の薬物動態パラメータの比の 90%信頼区間は予め規定した同等性の許容域（80～125%）の範囲内であった。

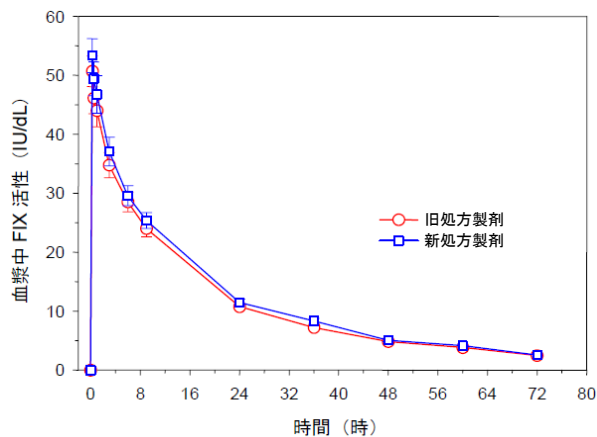


図 4-1 旧処方製剤及び新処方製剤の血漿中 FIX 活性推移（平均値±標準誤差）

表 4-4 旧処方製剤及び新処方製剤の薬物動態パラメータ

	C_{max} (IU/dL)	AUC_{0-t} (IU·hr/dL)	$t_{1/2}$ (hr)	$AUC_{0-\infty}$ (IU·hr/dL)	K 値 ([IU/dL]/[IU/kg])	生体内回収率 (%)
旧処方製剤						
平均値±標準偏差	51.2±13.6	791.8±192.2	23.4±5.2	880.0±219.6	0.683±0.182	32.5±8.4
範囲	33.0～88.0	500.0～1345.8	16.2～41.1	525.9～1494.4	0.440～1.173	20.5～50.6
新処方製剤						
平均値±標準偏差	54.5±15.0	851.2±214.5	22.4±5.3	939.6±237.4	0.726±0.200	34.5±9.3
範囲	29.0～93.0	513.0～1458.5	12.5～34.5	542.7～1596.3	0.387～1.240	18.0～53.5
最小二乗幾何平均値比 (LS-mean 比 (%)) ^a 及びその 90%信頼区間						
LS-mean 比 (%)	105.7	106.9	—	106.5	105.7	105.7
90%信頼区間	[101.5,110.0]	[103.1,110.9]	—	[102.1,111.1]	[101.5,110.0]	[101.5, 110.0]

^a: 新処方製剤の旧処方製剤に対する LS-mean 比 (%)

また、初回投与時と投与 6 か月時の血漿中 FIX 活性の推移（平均値±標準誤差）は図 4-2 に、薬物動態パラメータは表 4-5 に示したとおりであり、これらは、予め規定した同等性の許容域（80～125%）の範囲内であった。

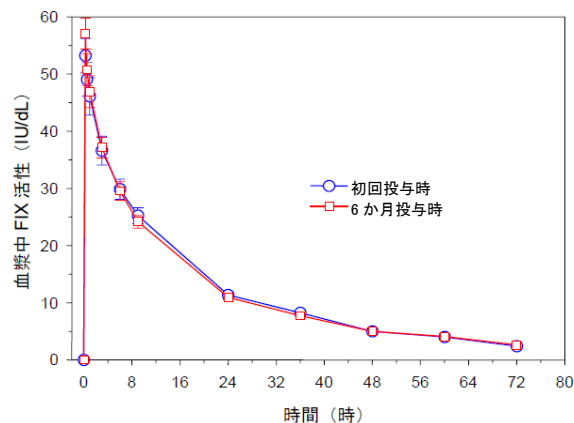


図 4-2 初回投与時及び 6 か月投与時の血漿中 FIX 活性推移 (平均値±標準誤差)

表 4-5 初回投与時及び 6 か月時の薬物動態パラメータ

	C_{max} (IU/dL)	AUC_{0-t} (IU·hr/dL)	$t_{1/2}$ (hr)	$AUC_{0-\infty}$ (IU·hr/dL)	K 値 ([IU/dL]/[IU/kg])	生体内回収率 (%)
初回投与時						
平均値±標準偏差	54.0±15.2	842.6±224.8	21.9±5.3	926.6±247.3	0.720±0.203	34.3±9.1
範囲	29.0~93.0	513.0~1458.5	12.5~34.5	542.7~1596.3	0.387~1.240	18.0~53.5
6 か月時						
平均値±標準偏差	57.3±13.2	824.2±176.6	23.8±6.5	922.9±205.0	0.764±0.176	36.8±8.7
範囲	33.0~82.0	509.5~1162.9	15.4~48.3	582.9~1311.1	0.440~1.093	20.7~55.1
最小二乗幾何平均値比 (LS-mean 比 (%)) ^a 及びその 90%信頼区間						
LS-mean 比 (%)	107.2	98.9	—	100.5	107.2	108.2
90%信頼区間	[100.0,114.9]	[92.8,105.4]	—	[93.5,107.9]	[100.0,114.9]	[100.7,116.3]

^a: 6 か月時の初回投与時に対する LS-mean 比 (%)

<機構における審査の概略>

1) 日本人と外国人での薬物動態の違いについて

申請者は、日本人患者 3 例において、K 値及び AUC が海外患者よりも低い値であったことについて、以下のように考察している。

JP 試験において得られた日本人患者 3 例と、301 試験、302 試験及び 304 試験で得られた外国人患者 70 例での薬物動態パラメータは表 4-6 のとおりであり、日本人患者における本剤の平均 K 値は海外患者での値を統合した平均 K 値に類似していた。一方、日本人患者の平均生体内回収率は海外患者の平均値よりもやや低かったが、海外患者の FIX 活性には年齢依存的な変化が認められ、同年代の被験者の値に近かった。

表 4-6 初回投与時の生体内回収率及び $t_{1/2}$ (平均値±標準偏差)

患者集団 (治験実施計画書番号)	投与量 (IU/kg)	例数	年齢 (歳) ^a	生体内回収率 (%)	K 値 ([IU/dL]/[IU/kg])	$t_{1/2}$ (hr)
日本人 (JP 試験)	50	3	14	28.1±4.7	0.62±0.11	20.2±6.8
海外 (301 試験)	75	23	2	31.5±5.4	0.57±0.09	11.4±2.1 ^b
海外 (302 試験)	75	23	22	38.2±8.4	0.82±0.17	23.7±5.6
海外 (304 試験)	75	24	22	32.5±8.4	0.68±0.18	23.4±5.2
海外 (合計)						
全体	75	70	16	34.1±8.0	0.69±0.18	23.5±5.4 ^c
年齢別	75	33	≤15	32.7±7.3	0.61±0.15	19.8±3.6 ^c
	75	37	>15	35.3±8.5	0.76±0.18	24.5±5.4

^a: 中央値

^b: 通常の薬物動態評価より少ない検体採取ポイント (4 時間後及び 24 時間後) により算出した値

^c: n=47 (全体)、n=10 (15 歳以下) (検体採取回数が限られているため、301 試験の $t_{1/2}$ のデータは含めなかった)

また、母集団薬物動態解析（以下、PPK 解析）により、各種共変量が本剤の薬物動態に与える影響を検討した。人種については、301 試験、302 試験及び 304 試験に組み入れられた 70 例中 55 例（79%）が白人、10 例（14%）がアフリカ系アメリカ人、5 例（7%）がその他の人種・民族であったが、PPK 解析では本剤の CL に対する人種の影響は検出されなかった。また、CL と体重の相関性を検討したところ、相関係数は 0.89 であり、日本人患者個々の実測値は、外国人患者から得られた回帰直線の 95% 予測区間の範囲内であることが示された。

機構は、申請者も述べているように日本人での薬物動態情報は 3 例と限られていることから、日本人と外国人の薬物動態パラメータが類似していると結論することは困難であると考ええる。

2) rFIX と pdFIX の薬物動態の違いについて

rFIX と pdFIX の薬物動態の差異については、参考資料である C9407-21 試験（Segment 1）にて検討されている。

C9407-21 試験（Segment 1）は治療歴がある（FIX 製剤の曝露日数に関する規定なし）重症の外国人血友病 B 患者（FIX 活性 ≤ 1%）を対象に、本剤（旧処方製剤）の急性期投与の安全性及び薬物動態パラメータを pdFIX（製品 B*）と比較することを目的とした無作為化二重盲検クロスオーバー比較試験であり、11 例が薬物動態の解析対象症例となった。治療薬をそれぞれ 50 IU/kg 単回静脈内投与したときの薬物動態パラメータは表 4-7 のとおりであった。

表 4-7 本剤（旧処方製剤）及び pdFIX の薬物動態パラメータ（平均値 ± 標準偏差）

	K 値 ([IU/dL]/[IU/kg])	生体内回収率 (%)	AUC _{0-∞} (IU·hr/dL)	t _{1/2} (hr)	CL (mL/hr/kg)	V _{ss} (mL/kg)
本剤（旧処方製剤）	0.84 ± 0.30	37.8 ± 14.0	547.9 ± 91.6	18.10 ± 5.10	8.62 ± 1.7	215.4 ± 69.2
pdFIX	1.17 ± 0.26	52.6 ± 12.4	928.1 ± 191.1	17.66 ± 5.31	6.00 ± 1.43	137.4 ± 34.6

機構は、pdFIX との相違を整理した上で、薬物動態に基づく本剤の臨床的位置付けについて説明するよう求めた。

申請者は、以下のように回答した。

C9407-21 試験（Segment 1）の結果から、本剤の K 値と生体内回収率の平均は pdFIX に比べ 28% 低かったものの、半減期は類似していた。なお、同様の傾向は他の文献においても報告されている（*Thromb Haemost* 87: 431-5, 2002、*Transfusion* 42: 190-7, 2002）。一方、これらの試験では本剤及び pdFIX の K 値に大きな個体間変動が認められていることから、特に手術時や pdFIX 製剤から本剤への切り替え時、臨床効果が不十分である場合には、個々の患者における K 値の検討が重要である。

機構は、pdFIX 製剤に比べ本剤の生体内回収率は低いものの、本剤の臨床試験結果を踏まえ用量が設定されていること及び pdFIX との生体内回収率の差異について情報提供することから、臨床使用に対する影響はないと考える。なお、pdFIX との生体内回収率の差異について添付文書案にて情報提供されている。

4.3 臨床の有効性及び安全性に関する資料

<提出された資料の概略>

有効性及び安全性に関する評価資料として、国内第 I / II 相臨床試験 1 試験、海外第 III

相臨床試験 3 試験の計 4 試験の成績が提出された。また、参考資料として、国内継続調査と海外臨床試験 4 試験の成績が提出された（表 4-8）。

なお、本項においては欧米で初回承認を取得した本剤を「旧処方製剤」、処方変更を行った本剤を「新処方製剤」と記載する（「2. 品質に関する資料、＜提出された資料の概略＞、3）製剤、（1）製剤設計」の項参照）。

表4-8 臨床試験一覧表

資料区分	地域	資料番号	試験区分	試験番号	目的・試験デザイン	対象	症例数	用法・用量（IU）
評価	国内	5.3.5.2-1	第Ⅰ／Ⅱ相	C9623-21-JP	日本人での出血エピソードの治療における有効性及び安全性（非盲検非対照）	中等症から重症 PTP	3例	薬物動態試験（1日目、6か月時）：旧処方製剤50 IU/kg 治療的又は手術期投与：調節
	海外	5.3.5.2-2	第Ⅲ相	3090A1-301-WW	小児における有効性及び安全性（非盲検非対照）	重症PTP又は PUP（6歳未満）	25例	薬物動態試験：旧処方製剤75 IU/kg 治療的、予防又は手術期投与：調節
		5.3.5.2-3	第Ⅲ相	3090A1-302-WW	有効性及び安全性（非盲検非対照）	中等症から重症 PTP（12歳以上）	23例	薬物動態試験：旧処方製剤75 IU/kg 治療的、予防又は手術期投与：調節
		5.3.1.2-1	第Ⅲ相	3090A1-304-WW	処方変更前後の製剤間でのPK比較 新処方製剤の有効性及び安全性 第1期：薬物動態比較（無作為化二重盲検クロスオーバー） 第2期：6～12か月の新処方製剤投与（非盲検非対照）	中等症から重症 PTP（12歳以上）	第1期：34例 第2期：31例	第1期：新処方製剤又は旧処方製剤を1回75 IU/kg 第2期：出血時又は予防投与のいずれか、用量は調節
参考	海外	5.3.5.4-1 5.3.5.4-2 5.3.5.4-3（補遺） 5.3.5.4-4	第Ⅰ／Ⅱ相	C9407-21 Segment 1 Segment 2 Segment 3	Segment 1: 無作為化二重盲検クロスオーバーによる薬物動態比較 Segment 2: 治療的及び予防投与（非盲検非対照） Segment 3: 手術期投与における有効性及び安全性（非盲検非対照）	重症PTP	Segment 1：12例 Segment 2：12例 Segment 3：6例	Segment 1: 旧処方製剤50 IU/kg又はpdFIX製剤50 IU/kg Segment 2: 薬物動態検討50 IU/kg、治療的投与の用量は調節 Segment 3: 術前に急速静脈内投与、術中から術後は持続静注又はパルス補充療法、用量は調節
		5.3.5.4-2 5.3.5.4-3（補遺） 5.3.5.4-4	第Ⅰ／Ⅱ／Ⅲ相	C9408-21 Segment 1 Segment 2 Segment 3	Segment 1: 非盲検法による薬物動態検討（非盲検非対照） Segment 2: 治療的投与（非盲検非対照） Segment 3: 手術期投与における有効性及び安全性（非盲検非対照）	中等症から重症 PTP	Segment 1：45例 Segment 2：45例 Segment 3：12例	Segment 1: 旧処方製剤50 IU/kg Segment 2: 調節 Segment 3: 術前に急速静脈内投与、術中から術後は持続静注又はパルス補充療法、用量調節
		5.3.5.4-4	第Ⅱ／Ⅲ相	C9417-21	待機手術期の有効性及び安全性（非盲検非対照）	軽症、中等症及び重症PTP	10例	薬物動態検討: 旧処方製剤50 IU/kg 術前に急速静脈内投与、術中から術後は持続静注又はパルス補充療法、用量は調節
		5.3.5.4-5	第Ⅲ相	C9418-21	有効性及び安全性を検討（非盲検非対照）	中等症から重症 PUP	67例	初回投与は50 IU/kg 治療的投与及び定期投与は調節 手術期投与は急速静脈内又は持続静注投与、用量は調節
	国内	5.3.5.4-6	継続調査	3090A1-303-JP	JP試験からの継続投与（非盲検非対照）	中等症から重症 PTP	3例	治療的又は手術期投与、用量は調節

PUP：Previously Untreated Patients（治療歴のない患者）

1) 評価資料

(1) 血友病 B 患者に対する旧処方製剤の第Ⅰ／Ⅱ相試験（試験番号：C9623-21-JP、資料 5.3.5.2-1、公表文献：なし、実施期間：19■■年■■月～19■■年■■月）

本試験登録前に FIX 濃縮製剤を投与された累積日数が 20 日以上の治療歴のある重症（FIX 活性が 1 IU/dL 未満）から中等症（FIX 活性が 1～5 IU/dL）の血友病 B 患者を対象（目標症例数：3 例）に、旧処方製剤の出血時治療での有効性、安全性及び薬物動態の評価を目的とした多施設共同非盲検非対照試験が国内 2 施設で実施された。

本試験は、薬物動態試験期間（1 日目及び 6 か月時）と治療的投与期間から構成され、手術が必要となった症例においては手術期投与を行うこととした。

用法・用量は、薬物動態試験では、50 IU/kg を静脈内投与することとされた。また、治療

的投与及び手術期投与では、被験者の症状に応じた必要量（測定した FIX 活性、体重、出血又は手術の種類、バイアル力価及び治験責任医師等の判断やガイドライン（*Hematol Oncol Clin North Am* 7: 1269-80, 1993）により用量が決定された。なお、必要とされる血液凝固第 IX 因子量（IU）は、

体重（kg）×血液凝固第 IX 因子の目標増加量（%）×1.2（IU/kg）
で算出された。

有効性の主な評価項目は、治療的投与期間では出血治療における rFIX の治験担当医師及び被験者の評価とされ、表 4-9 に示す評価基準（4 段階評価）が用いられた。評価は各治験担当医師が行ったが、外来患者として旧処方製剤投与を継続する場合には被験者が効果を評価することとされた。

表 4-9 有効性の評価基準（4 段階評価）

非常に良好	満足できる効果。同様の出血又は処置において、他の FIX 製剤で得られる最も良い効果と同等でかつ同程度に迅速な改善。
良好	満足できる効果。同様の出血又は処置において、他の FIX 製剤でよくみられる効果と同等でかつ同程度に迅速な改善。
やや良好	満足できるとはいえない効果。同様の出血又は処置において、他の FIX 製剤でよくみられる効果より劣る。
無効	全く改善しない（出血の原因となる他の因子がない場合に、同一の出血に 2 回連続投与した後 24 時間以内に効果が得られない場合）。

出血時における投与の効果は、24 時間後に評価され、24 時間以内に追加投与が必要とされた場合には、追加投与前に評価し、出血に対する最終投与後の効果も評価することとされた。また、手術期投与では、術中及び術後の推定失血量によって評価することとされた。

本試験には、3 例が登録され、全例で薬物動態試験及び治療的投与が実施され、全例が有効性及び安全性の評価対象とされた。なお、手術症例はなかった。

有効性について、3 例における総出血エピソード数（新規）（機構注：新たな出血が認められた場合、その出血に対する初めての投与が行われた出血エピソードを「新規」とする）は 49 回であり、総投与回数は 67 回で、うち、24 時間後の評価がなされなかった 1 回（1 歳男性）を除く 66 回が評価対象とされた。旧処方製剤の投与ごと及び出血部位別の止血効果は表 4-10 のとおりであった。

表 4-10 出血エピソードに対する出血部位別の止血効果（有効率）

出血部位	投与回数	止血効果				有効率
		非常に良好	良好	やや良好	無効	
関節内出血	27	3	22	2	0	92.6% (25/27 回)
筋肉／軟部組織内出血	39	0	31	8	0	79.5% (31/39 回)
合計	66	3 (4.5%)	53 (80.3%)	10 (15.2%)	0 (0%)	84.8% (56/66 回)

有効率：良好以上であった投与エピソードの割合

また、出血部位別の出血エピソード数及び旧処方製剤の投与回数は表 4-11 のとおりであった。

表 4-11 出血部位別出血エピソード数（新規）及び旧処方製剤の投与回数

出血部位	出血エピソード数	各出血エピソードの治療に要した旧処方製剤の投与回数				
		1	2	3	4	5
関節内出血	23	19	4	0	0	0
筋肉／軟部組織内出血	26	17	6	2	0	1
合計	49	36 (73.5%)	10 (20.4%)	2 (4.1%)	0 (0.0%)	1 (2.0%)

なお、本試験における薬物動態の検討結果については「4.2 臨床薬理に関する資料、＜提出された資料の概略＞、1) 血友病 B 患者に対する旧処方製剤の第 I / II 相試験」の項を参照のこと。

安全性について、旧処方製剤投与例 3 例における計 73 回（薬物動態試験時：3 例×2 回、治療的投与時：各症例でそれぞれ 24 回、24 回及び 19 回）が評価対象とされた。

有害事象は 1/3 例（■歳男性）に 4 件（気管支喘息発作 2 件、マイコプラズマ肺炎及び上気道炎各 1 件）が発現したが、いずれも回復し、因果関係は否定された。

また、臨床検査値の異常については、1/3 例（■歳男性）に 4 件（好中球増多、リンパ球減少、単球増加及び貧血各 1 件）が認められ、因果関係はおそらく関連なしとされた。本試験中、抗 HIV-1 及び 2 抗体、肝炎検査並びに CD4 数検査について、変化は認められなかった。また、抗 FIX 抗体及び FIX インヒビターの発現は認められなかった。

死亡、重篤な有害事象、投与中止に至った有害事象は報告されなかった。

(2) 6 歳未満の重症血友病 B 小児患者における旧処方製剤の安全性及び有効性を評価する非盲検試験（試験番号：3090A1-301-WW、資料 5.3.5.2-2、公表文献：なし、実施期間：20■年■月～20■年■月）

試験前の治療歴を問わない 6 歳未満の重症血友病 B（FIX 活性 ≤ 1%）の小児患者を対象（目標症例数：完了例として 20 例以上）に、旧処方製剤の治療的投与、予防投与及び手術期投与の有効性及び安全性評価を目的とした国際共同非盲検非対照試験が海外 5 か国 19 施設で実施された。

用法・用量は、薬物動態試験では、75 IU/kg の静脈内投与とされた。治療的投与では、被験者の FIX 欠損の程度、体重、状態、年齢、生体内回収率、出血部位及び程度、バイアル力価並びに治験責任医師の判断により投与量が決定された。手術期投与では、治験責任医師が実施する手術に適切な用量を決定した。

必要とされる FIX 量 (IU) は、

$$\text{体重 (kg)} \times \text{FIX の目標上昇値 (\% 又は IU/dL)} \times \text{FIX 上昇値 (K 値) の逆数 (IU/dL あたりの IU/kg)}$$

で算出された。また、出血時の治療的投与及び手術期投与時に、本試験で用いた投与ガイドラインは表 4-12 のとおりである。

表 4-12 出血時及び手術期の投与ガイドライン

出血エピソードの程度		必要とされる循環 FIX 活性 (%) (IU/dL)	治療期間 (日数)
初期関節内出血、筋肉内出血又は口腔出血		20～40	1 日以上又は疼痛を指標とした出血エピソードの消失又は治癒が確認されるまでの期間に 24 時間ごとに投与を繰り返す
より広範囲の関節内出血、筋肉内出血又は血腫		30～60	3～4 日間疼痛及び急性障害が消失するまで 24 時間ごとに投与を繰り返す
生命を脅かす出血		60～100	生命を脅かす状態が消失するまで 8～24 時間ごとに投与を繰り返す
手術期投与	小手術（抜歯を含む）	30～60	治癒が確認されるまで 1 日以上 24 時間ごとに治療を繰り返す
	大手術	80～100 (術前及び術後)	創傷が十分治癒するまで治療を繰り返し、その後 FIX 活性を 30%～60% (IU/dL) に維持するために 7 日間以上治療を継続する

出典：EMA Core SPC for human plasma derived and recombinant coagulation factor IX products (CPMP/BPWG/1625/99, 20 Sep 2001)

予防投与に際しては、試験期間中に出血を反復する標的関節がみられた場合等、治験責任医師の判断で予防投与を開始又は継続しても良いとされ、投与を定期的（週 2～3 回）に行うこととされた。投与必要量は、個々の予測 FIX 半減期、回収率及び症状を考慮に入れて決定することとされた。

目標症例数は、欧州医薬品委員会（CPMP: Committee for Proprietary Medicinal Products）の Note for guidance on the clinical investigation of recombinant factor VIII and IX products（CPMP/BPWG/1561/99, 19 October 2000）や実施可能性、規制当局の助言を考慮に入れ、有効性、免疫原性及び安全性を評価するために少なくとも 20 例以上と設定された。また、FIX インヒビターの評価のために、FIX による治療前歴のない患者及び最小限の治療しか受けていない患者（minimally treated patients、以下、MTP）を少なくとも 6 例組み入れることが計画された。

有効性の主要評価項目は、出血エピソードごとの初回用量（IU/kg）及び投与回数、治験責任医師／被験者又は介護者による 4 段階有効性評価（著効、有効、やや有効、無効）（表 4-13）、手術期投与における手術時及び術後の治験責任医師による 5 段階総合評価（きわめて有用、有用、やや有用、有用でない、好ましくない）、全般評価としての治験責任医師による 5 段階総合評価（きわめて有用、有用、やや有用、有用でない、好ましくない）とされた。なお、治験責任医師による 5 段階総合評価は、患者日記、有害事象、臨床検査値、治療への反応性を総合的に判定することとされた。

表 4-13 治験責任医師／被験者又は介護者による 4 段階有効性評価

著効	劇的な効果。速やかに鎮痛が得られ、関節又は出血部位のサイズが明らかに減少。
有効	鎮痛又は出血部位のサイズ減少が遅れていたか又は止血のために追加の投与を要した。
やや有効	止血のために複数回の追加投与を要する効果又はわずかな反応が得られた。
無効	全く改善せず。

本試験には 25 例が登録され、全例が旧処方製剤の投与を 1 回以上受け、安全性評価対象とされた。そのうち、同意撤回の 1 例及び試験実施計画書違反の 1 例を除いた 23 例が試験を完了した。また、25 例のうち、必要とする FIX 曝露日数を満たしていなかった 3 例が除外され、22 例が有効性評価対象とされた。7 例が治療的投与で開始され、18 例が予防的投与で開始された。また、2 例が外科手術を施行された。治療歴については、PUP 1 例、MTP 6 例及び PTP 18 例であった。

有効性評価対象 22 例のうち、16 例で計 64 回の出血エピソード（自然出血：12 回、外傷性出血：52 回）が認められた。うち、20 件（31.3%）は治療的投与で、44 件（68.8%）は定期補充療法を受けていた 15 例で発現した。

投与回数及び投与量の結果は、表 4-14 のとおりであった。

表 4-14 投与回数及び投与量（有効性評価対象集団）

	投与目的 ^a				計
	薬物動態 (PK/生体内回収率)	治療的投与	予防投与	手術期投与	
被験者数	22	16	22	2	22
累積投与量 (IU)	112109.7	95940.0	825730.0	21522.0	1055301.7
累積投与量 (IU) (平均値±標準偏差)	5095.9±1196.0	5996.3±5909.1	37533.2±16425.8	10761.0±4976.6	47968.3±14927.9
累積投与回数 (回)	95	94	803 ^b	24 ^c	1016
1 回投与量 (IU/kg)	75.8±5.4	75.0±24.6	64.6±21.3	91.7±21.2	67.2±21.4

(平均値±標準偏差)					
1 例あたりの投与回数 (回) (平均値±標準偏差)	4.3±0.6	5.9±4.4	36.5±13.1	12.0±2.8	46.2±9.3
累積曝露日数 (日)	95	92	803	14	1004
1 例あたりの累積曝露日数 (日) (平均値±標準偏差)	4.3±0.6	5.8±4.2	36.5±13.1	7.0±0.0	45.6±9.9

^a: 1 例の被験者において複数の目的で 1 日に複数回投与された場合がある。また、ベネフィクス[®]市販製剤 (1 例、1 投与分) が含まれる。^b: 定期補充療法 (787 回) 及び予備的補充療法 (16 回) が含まれる。^c: 急速静脈内投与 (24 回) 及び持続投与 (0 回) が含まれる

有効性について、治療的投与における出血エピソード 64 回に対する初回投与時の評価は、55 回 (85.9%) が著効又は有効、7 回 (10.9%) がやや有効と判定され、無効と判定されたものはなかった。また、2 回 (3.1%) は評価が行われなかった (被験者又は介護者が有効性の評価の記録を行わなかった)。出血部位別の有効性評価結果は表 4-15、出血部位別投与回数は表 4-16、出血部位別初回用量は表 4-17 のとおりであった。

表 4-15 出血部位別 4 段階有効性評価結果 (出血回数 (%))

初回投与時の評価判定	出血部位					総出血回数
	関節内	軟部組織/筋肉内	その他の部位	多発性	不明	
著効	6 (37.5)	26 (59.1)	0 (0.0)	2 (100)	0 (0.0)	34
有効	7 (43.8)	13 (29.5)	1 (50.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	21
やや有効	3 (18.8)	4 (9.1)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	7
無効	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0
評価せず	0 (0.0)	1 (2.3)	1 (50.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2
計	16	44	2	2	0	64

表 4-16 出血部位別投与回数 (出血回数 (%))

出血部位	投与回数					総出血回数
	1 回	2 回	3 回	4 回	>4 回	
関節内	8 (50.0)	6 (37.5)	0 (0.0)	2 (12.5)	0 (0.0)	16
軟部組織/筋肉内	33 (75.0)	6 (13.6)	4 (9.1)	1 (2.3)	0 (0.0)	44
その他の部位	1 (50.0)	1 (50.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2
多発性	2 (100)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2
不明	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0
計	44 (68.8)	13 (20.3)	4 (6.3)	3 (4.7)	0 (0.0)	64

表 4-17 出血部位別初回用量 (IU/kg) (出血回数 (%))

出血部位	投与量						総出血回数
	≤30	30< ≤60	60< ≤90	90< ≤120	>120	不明	
関節内	0 (0.0)	12 (75.0)	2 (12.5)	2 (12.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	16
軟部組織/筋肉内	0 (0.0)	15 (34.1)	10 (22.7)	16 (36.4)	0 (0.0)	3 (6.8)	44
その他の部位	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (50.0)	1 (50.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2
多発性	0 (0.0)	2 (100)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2
不明	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0
計	0 (0.0)	29 (45.3)	13 (20.3)	19 (29.7)	0 (0.0)	3 (4.7)	64

手術期投与を受けた被験者は 2 例であり、それぞれ、皮下埋め込みポート術及び包皮切除術であった。これらの被験者における本剤の 1 回投与量 (累積投与回数: 24 回) の中央値は 97.1 IU/kg (範囲: 59.3~130.5 IU/kg) であった。

手術期投与においては、術中及び術後の本剤投与に対する 5 段階総合評価では、11/12 回 (97.1%) がきわめて有用、1/12 回 (8.3%) が有用であった。

有効性評価対象例のうち予防投与を受けた22例における本剤の累積投与量は825730.0 IUであり、累積曝露日数は803日であった。計803回の予防投与のうち787回は定期補充療法であり、16回は予備的補充療法であった。定期補充療法期間について、総投与期間は622.1週間、平均値は28.3週間（範囲：8.0～48.9週間）であり、15/22例で計44回（自然出血7回及び外傷性出血37回）の出血エピソードが認められた（0.303回/30日）。

また、治験責任医師による5段階総合評価（全般評価）の結果は表4-18のとおりであった。

表4-18 治験責任医師による5段階総合評価結果（全般評価）

visit	治験責任医師による5段階総合評価					計
	きわめて有用	有用	やや有用	有用でない	好ましくない	
1か月時	17 (81.0%)	4 (19.0%)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	21
3か月時	21 (87.5%)	3 (12.5%)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	24
6か月時	6 (85.7%)	1 (14.3%)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	7
9か月時	1 (100%)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1
予定外の来院	1 (100%)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1
最終来院	19 (86.4%)	3 (13.6%)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	22
計	65 (85.5%)	11 (14.5%)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	76

なお、本試験における薬物動態の検討結果については「4.2 臨床薬理に関する資料、＜提出された資料の概略＞、2) 6歳未満の重症血友病B小児患者における旧処方製剤の安全性及び有効性を評価する非盲検試験」の項を参照のこと。

安全性について、23/25例（92.0%）に有害事象が発現した。10%以上の症例に発現した有害事象は、発熱、感染（各14例、56.0%）、鼻炎（12例、48.0%）、咳嗽増加（10例、40.0%）、嘔吐（9例、36.0%）、事故による外傷（8例、32.0%）、発疹（6例、24.0%）、臨床検査異常、下痢、結膜炎、中耳炎（各3例、12.0%）であった。

本試験期間中、4/25例（16.0%）に治験薬との因果関係が否定できない有害事象（以下、副作用）が発現した。うち、複数例に発現した副作用は、臨床検査異常及び発疹各2例（8.0%）であった。

血友病関連事象（機構注：出血に関連する疼痛等の血友病の病状に関連する事象又は出血に直接関わる事象）は9/25例（36.0%）で発現し、複数例で発現した事象は、事故による外傷（3例、12.0%）、疼痛、血腫及び関節痛各2例（8.0%）であった。

重篤な有害事象は、生後■か月の重症PUP 1例に1件（FIXインヒビター発現）認められた。当該症例は、試験78日目（13回目の投与時）に、治験薬投与後約15分に軽度の咳嗽増加、中等度の蕁麻疹及び中等度の発疹を発現した。当該事象は、抗ヒスタミン薬の経口投与によって回復し、アレルギー様徴候と判定され、治験薬との因果関係ありと判断された。当該事象発現後の検査では、力価の低いFIXインヒビター（改変Bethesda法）が検出され、重篤な有害事象として報告され、治験薬との因果関係は否定されなかった。抗FIX抗体は、FIXインヒビター発現の1例を除き、PTP及びMTPを含めて陰性であった。

試験期間中、6/25例（24.0%）の被験者で抗CHOタンパク抗体が1回以上陽性を示した。うち5例はベースライン時から陽性、3/5例は一過性であり、2/5例は抗体価に変動はなかった。試験期間中に新たに抗CHOタンパク抗体を産生した1例は、その後の検査においても引き続き陽性であったが、この所見に関連した臨床徴候はみられなかった。

血栓形成性事象、死亡及び中止に至った有害事象は認められなかった。

(3) 治療歴のある血友病 B 患者における旧処方製剤の安全性及び有効性を評価する非盲検試験（試験番号：3090A1-302-WW、資料 5.3.5.2-3、公表文献：なし、実施期間：20 年 月～20 年 月）

12 歳以上の治療歴のある（FIX 製剤の曝露日数 150 日以上）中等症から重症（FIX 活性 ≤ 2%）の血友病 B 患者を対象（目標症例数：20 例）に、旧処方製剤による治療（治療的、予防及び手術期投与）が 6 か月以上行われたときの有効性及び安全性を評価することを目的とした国際共同非盲検非対照試験が海外 5 か国 14 施設で実施された。

用法・用量は、薬物動態試験では、75 IU/kg の静脈内投与とされた。標準治療では治療的投与、予防投与及び手術期投与のいずれにおいても、301 試験と同様に、Core SPC for human plasma derived and recombinant coagulation factor IX products（CPMP/BPWG/1625/99, 20 Sep 2001）の投与ガイドラインに準拠し、FIX 欠損の程度、体重、出血の場所及び程度、患者の状態、年齢、rFIX の回収率、バイアル力価、医師の裁量によって用量が決定された。外科的手術直前及び術中は医師の判断により急速静注又は持続投与とされた。

有効性の主要評価項目は、治療的投与における出血エピソードごとの旧処方製剤の初回用量（IU/kg）及び投与回数、予防投与における出血エピソードの発現回数及び種類（自然出血又は外傷性出血）、直前の投与から出血エピソード発現までの日数並びに 30 日あたりの出血エピソード発現率とされた。

本試験では、23 例が登録され、全例に少なくとも 1 回の投与がなされ、安全性評価対象とされた。治療的投与は 8 例、定期補充療法は 15 例で開始され、3 例が手術期投与を受けた。23 例のうち、必要とする旧処方製剤の曝露日数（6～12 か月の間に少なくとも 30 日投与）を満たしていない 2 例が除外され、21 例が有効性評価対象とされた。

投与回数及び投与量の結果は、表 4-19 のとおりであった。

表 4-19 投与回数及び投与量（有効性評価対象集団）

	投与目的 ^a				計 ^b
	薬物動態 (PK/生体内回収率)	治療的投与 ^b	予防投与 ^c	手術期投与 ^d	
被験者数	21	18	20	2	21
累積投与量 (IU)	218024.5	931880.0	2258750.0	392270.3	3800924.8
累積投与量 (IU) (平均値±標準偏差)	10382.1±5291.5	51771.1±50373.8	112937.5±73637.1	196135.2±17731.8	180996.4±90407.4
累積投与回数 (回)	38	241	686	116	1081
1 回投与量 (IU/kg) (平均値±標準偏差)	75.4±6.4	54.4±26.1	44.2±15.5	41.0±26.9	47.2±20.8
投与回数 (回) (平均値±標準偏差)	1.8±0.4	13.4±10.7	34.3±16.6	58.0±5.7	51.5±21.7
累積曝露日数 (日)	38	232	686	66	1022
累積曝露日数 (日) (平均値±標準偏差)	1.8±0.4	12.9±10.7	34.3±16.6	33.0±7.1	48.7±16.0

^a: 1 例の被験者において複数の目的で 1 日に複数回投与された場合がある。^b: ベネフィクス[®]市販製剤（2 例、8 投与分）及び 301 試験で使用された薬剤（1 例、1 投与分）が含まれる。^c: 定期補充療法（570 回）及び予備的補充療法（116 回）が含まれる。^d: 急速静脈内投与（54 回）及び持続投与（62 回）が含まれる。

有効性評価対象とされた 21 例のうち、出血時の治療的投与を受けた 18 例で計 103 回の出血エピソードが報告された（自然出血：54 回、外傷性出血：49 回）。うち、73 回（70.9%）は治療的投与例 9 例で発現し、30 回（29.1%）は定期補充療法例 13 例で発現した。出血部

位別投与回数は表 4-20、出血部位別初回用量は表 4-21 のとおりであった。

表 4-20 出血部位別投与回数（出血回数（％））

出血部位	投与回数					総出血回数
	1 回	2 回	3 回	4 回	>4 回	
関節内	39 (54.9)	20 (28.2)	3 (4.2)	4 (5.6)	5 (7.0)	71
軟部組織/筋肉内	14 (48.3)	8 (27.6)	0 (0.0)	3 (10.3)	4 (13.8)	29
その他の部位	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0
多発性	1 (33.3)	2 (66.7)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	3
不明	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0
計	54 (52.4)	30 (29.1)	3 (2.9)	7 (6.8)	9 (8.7)	103

表 4-21 出血部位別初回用量（IU/kg）（出血回数（％））

出血部位	投与量						総出血回数
	≤30	30< ≤60	60< ≤90	90< ≤120	>120	不明	
関節内	11 (15.5)	45 (63.4)	12 (16.9)	2 (2.8)	0 (0.0)	1 (1.4)	71
軟部組織/筋肉内	3 (10.3)	19 (65.5)	3 (10.3)	3 (10.3)	1 (3.4)	0 (0.0)	29
その他の部位	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0
多発性	1 (33.3)	2 (66.7)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	3
不明	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0
計	15 (14.6)	66 (64.1)	15 (14.6)	5 (4.9)	1 (1.0)	1 (1.0)	103

予防投与での有効性の評価結果について、定期補充療法期間に 8/15 例（53.3％）では自然出血エピソードは認められず、2/8 例では外傷性出血も認められなかった。定期補充療法期間について、総投与期間は 366.4 週間、平均値は 24.4 週（範囲：6.6～31.6 週間）であり、この間に 30 回の出血エピソードが認められた（0.351 回/30 日）。30 回の出血エピソードのうち 13 回は自然出血、17 回が外傷性出血であった。

定期補充療法期間中にみられた出血エピソードの多く（23/30 回、76.7％）は、直前の投与後 48 時間を超えた時点で発現した。直前の投与後 24 時間超 48 時間以内では 4 例に計 5 回（外傷性出血：4 回、自然出血：1 回）に、直前の投与後 24 時間以内では 2 例に計 2 回（いずれも外傷性出血）に、出血エピソードがみられた。

なお、本試験における薬物動態の検討結果については「4.2 臨床薬理に関する資料、＜提出された資料の概略＞、3) 治療歴のある血友病 B 患者における旧処方製剤の安全性及び有効性を評価する非盲検試験」の項を参照のこと。

安全性について、17/23 例（73.9％）に有害事象が発現し、10％以上の症例に発現した有害事象は、頭痛 6 例（26.1％）、腹痛 5 例（21.7％）、鼻炎 4 例（17.4％）、発熱、感染、疼痛、悪心各 3 例（13.0％）であった。

本試験期間中 4/23 例（17.4％）に副作用が発現し、複数例に発現した事象は、臨床検査異常、注射部位反応（各 2 例、8.7％）であった。

血友病関連事象は 12/23 例（52.2％）で発現し、複数例で発現した事象は、関節痛 8 例、（34.8％）、疼痛 6 例（26.1％）及び関節障害 2 例（8.7％）であった。

重篤な有害事象は、2 例 2 件（肺炎、関節障害）認められ、いずれも治験薬との関連なしと判断された。

FIX インヒビターの発現例は認められず、抗 FIX 抗体検査（ELISA 法）も全例で陰性であった。12/23 例（52.2％）が試験期間中に 1 回以上抗 CHO タンパク抗体陽性を示したが、多くの被験者（15/23 例、65.2％）で試験期間中、抗 CHO タンパク抗体の抗体価の変動はみられなかった。

中止に至った有害事象及び死亡は認められなかった。

(4) 治療歴のある中等症から重症血友病 B 患者における旧処方製剤及び新処方製剤の薬物動態を検討する無作為化二重盲検クロスオーバー比較試験並びに新処方製剤の有効性及び安全性を評価する非盲検試験（試験番号：3090A1-304-WW、資料 5.3.1.2-1、公表文献：Haemophilia 13: 233-43, 2007、実施期間：2004 年 1 月～2005 年 9 月）

12 歳以上の治療歴のある（FIX 製剤の曝露日数 150 日以上）中等症から重症（FIX 活性 $\leq$ 2%）の血友病 B 患者を対象（目標症例数：20 例）に、欧米で初回承認を取得した旧処方製剤及び処方変更を行った新処方製剤を、それぞれ 10 分間で静脈内投与したときの 2 製剤の薬物動態の検討を目的とした試験第 1 期（無作為化二重盲検クロスオーバー）並びに治療期投与、予防投与、手術期投与における新処方製剤の有効性及び安全性の検討を目的とした試験第 2 期（非盲検非対照）からなる国際共同試験が海外 4 か国 13 施設で実施された。

用法・用量は、試験第 1 期では、旧処方製剤及び新処方製剤 75 IU/kg の静脈内投与とされた。試験第 2 期では新処方製剤を用い、標準治療では 301 試験と同様に、Core SPC for human plasma derived and recombinant coagulation factor IX products（CPMP/BPWG/1625/99, 20 September 2001）の投与ガイドラインに準拠し、FIX 欠損の程度、体重、出血の場所及び程度、患者の状態、年齢、rFIX の回収率、バイアル力価、医師の判断によって投与量が決定された。

予防投与では医師の判断により一定のスケジュール（通常 2～3 回）で新処方製剤が投与された。また、外科的手術直前及び術中、導入投与としての急速静脈内投与は可とされた。

有効性の主要評価項目は、治療的投与については各出血エピソードに対する初回用量（IU/kg）、各出血エピソードにおける 1 例あたりの投与回数、各治療的投与における治験責任医師／被験者／介護者による 4 段階有効性評価、予防投与については出血エピソード発現回数及び種類（自然出血又は外傷性出血）、直前の投与から出血エピソード発現までの日数、1 年あたりの出血エピソード発現率、手術期投与については手術時及び術後の治験責任医師による総合的な 5 段階総合評価、全般評価については治験責任医師による総合的な 5 段階総合評価とされ、301 試験と同じ評価方法が用いられた（「4.3 臨床的有效性及び安全性に関する資料、＜提出された資料の概略＞、1）評価資料、（2）6 歳未満の重症血友病 B 患者における旧処方製剤の安全性及び有効性を評価する非盲検試験」の項参照）。

本試験では、計 50 例がスクリーニングを受け、第 1 期に 34 例が組み入れられ治験薬の投与を受け、安全性解析対象とされた。中止例 3 例を除く 31 例が試験第 2 期に移行し、さらに中止例 6 例を除く 25 例が試験を完了した。中止理由は、試験実施計画書違反 6 例、患者の要望 2 例及び追跡不能 1 例であった。有効性評価対象 20 例が定期補充療法を受け、うち 15 例が治療的投与、1 例が手術期投与を受けた（機構注：試験期間中に同一症例が異なる投与法を受けている）。

投与回数及び投与量の結果は、表 4-22 のとおりであった。

表 4-22 投与回数及び投与量（有効性評価対象集団）

	投与目的 ^a				計
	PK 検討 ^b (PK/生体内回収率)	治療的投与	予防投与 ^c	手術期投与	
被験者数	20	15	20	1	20
累積投与量 (IU)	211997.1	628140.0	3120160.0	112460.0	4072757.1
累積投与量 (IU) (平均値±標準偏差)	10599.9±2495.6	41876.0±47277.1	156008.0±92374.9	112460.0 ^d	203637.9±90227.4

累積投与回数（回）	40	124	753	37	954
1 回投与量（IU/kg） （平均値±標準偏差）	75.0±0.1	77.9±32.3	60.4±28.2	35.7±10.8	62.3±28.9
投与回数（回） （平均値±標準偏差）	2.0±0.0	8.3±7.8	37.7±13.8	37.0 ^d	47.7±11.5
累積曝露日数（日）	40	124	753	21	937
累積曝露日数（日） （平均値±標準偏差）	2.0±0.0	8.3±7.8	37.7±13.8	21.0 ^d	46.9±9.9

^a：1 例の被験者において複数の目的で 1 日に複数回投与された場合がある。^b：新処方製剤投与例のみ。^c：定期補充療法（692 回）及び予備的補充療法（61 回）が含まれる。^d：平均値のみ算出した。

有効性評価対象 20 例のうち、出血時の治療的投与（新処方製剤）を受けた 15 例で計 95 回の出血エピソードが報告された（自然出血：39 回、外傷性出血：55 回、原因不明の出血：1 回）。うち、69 回（72.6%）は治療的投与を受けていた 6 例で発現し、26 回（27.4%）は定期補充療法を受けていた 11 例で発現した。

有効性の評価結果について、出血エピソード 95 回に対する初回投与時の評価では、著効又は有効が 81 回（85.3%）、やや有効が 12 回（12.6%）とされ、2 回は評価されなかった（被験者又は介護者が有効性の評価の記録を行わなかった）。出血部位別の有効性評価結果は表 4-23、出血部位別投与回数は表 4-24、出血部位別初回用量は表 4-25 のとおりであった。

表 4-23 出血部位別 4 段階有効性評価結果（出血回数（%））

初回投与時の 評価判定	出血部位					総出血回数
	関節内	軟部組織／筋肉内	その他の部位	多発性	不明	
著効	21 (43.8)	15 (41.7)	0 (0.0)	3 (30.0)	0 (0.0)	39
有効	20 (41.7)	16 (44.4)	0 (0.0)	6 (60.0)	0 (0.0)	42
やや有効	6 (12.5)	5 (13.9)	1 (100)	0 (0.0)	0 (0.0)	12
無効	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0
評価せず	1 (2.1)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 ^a (10.0)	0 (0.0)	2
計	48	36	1	10	0	95

^a：最初の出血時の治療的投与時に新処方製剤ではなく旧処方製剤の投与を受けた。

表 4-24 出血部位別投与回数（出血回数（%））

出血部位	投与回数					総出血回数
	1 回	2 回	3 回	4 回	>4 回	
関節内	40 (83.3)	4 (8.3)	3 (6.3)	1 (2.1)	0 (0.0)	48
軟部組織/筋肉内	29 (80.6)	5 (13.9)	1 (2.8)	0 (0.0)	1 (2.8)	36
その他の部位	1 (100)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1
多発性	7 (70.0)	2 (20.0)	0 (0.0)	1 (10.0)	0 (0.0)	10
不明	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0
計	77 (81.1)	11 (11.6)	4 (4.2)	2 (2.1)	1 (1.1)	95

表 4-25 出血部位別初回用量（IU/kg）（出血回数（%））

出血部位	投与量						総出血回数
	≤30	30< ≤60	60< ≤90	90< ≤120	>120	不明	
関節内	0 (0.0)	14 (29.2)	9 (18.8)	23 (47.9)	2 (4.2)	0 (0.0)	48
軟部組織/筋肉内	0 (0.0)	11 (30.6)	10 (27.8)	14 (38.9)	1 (2.8)	0 (0.0)	36
その他の部位	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (100)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1
多発性	0 (0.0)	5 (50.0)	3 (30.0)	1 (10.0)	0 (0.0)	1 (10.0)	10
不明	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0
計	0 (0.0)	30 (31.6)	23 (24.2)	38 (40.0)	3 (3.2)	1 (1.1)	95

新処方製剤による定期補充療法期間に 11/17 例（64.7%）で自然出血エピソードは認めら

れず、うち 6 例では外傷性出血も認められなかった。26 回の出血エピソードが新処方製剤の定期補充療法期間中に認められ、定期補充療法期間の総投与期間は 436.0 週間、平均値は 25.6 週間（範囲：9.3～40.0 週間）であった（3,109 回/年）。出血エピソード 26 回のうち 6 回は自然出血（0.718 回/年）、19 回が外傷性出血（2.272 回/年）であり、1 回は記録が残されず分類されなかった。

化膿性関節炎の既往を有する 1 例が、左膝洗浄術において手術期投与を受けた。手術期投与時の 5 段階総合評価は有用であった。

各来院時における治験責任医師による新処方製剤の 5 段階総合評価の結果は表 4-26 のとおりであった。

表 4-26 各来院時における治験責任医師による 5 段階総合評価結果（例数（％））

Visit ^a	治験責任医師による 5 段階総合評価					計
	きわめて有用	有用	やや有用	有用でない	好ましくない	
1 か月時	15 (75.0)	4 (20.0)	1 (5.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	20 (29.9)
3 か月時	16 (80.0)	4 (20.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	20 (29.9)
6 か月時	16 (80.0)	4 (20.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	20 (29.9)
9 か月時	6 (100)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	6 (9.0)
12 か月時	1 (100)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (1.5)
計	54 (80.6)	12 (17.9)	1 (1.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	67 (100)

^a：PK 試験当時は評価されず、手術期投与は除外された。

なお、本試験における薬物動態の検討結果については「4.2 臨床薬理に関する資料、＜提出された資料の概略＞、4) 治療歴のある中等症から重症血友病 B 患者における旧処方製剤及び新処方製剤の薬物動態を検討する無作為化二重盲検クロスオーバー比較試験並びに新処方製剤の安全性及び有効性を評価する非盲検試験」の項を参照のこと。

安全性について、23/34 例（67.6％）に有害事象が発現し、10％以上の症例で発現した有害事象は、頭痛 10 例（29.4％）、感染 8 例（23.5％）、発熱 6 例（17.6％）、咳嗽増加 5 例（14.7％）、悪心及び嘔吐各 4 例（11.8％）であった。

本試験期間中 3/34 例（8.8％）に 4 件（頭痛、浮動性眩暈、悪心、味覚倒錯）の副作用が発現した。

血友病関連事象は 6/34 例（17.6％）で発現し、複数例で発現した事象は、関節痛及び関節障害各 2 例（5.9％）であった。

重篤な有害事象は、2 例 2 件（蜂巣炎及び化膿性関節炎）認められ、いずれも治験薬との因果関係は否定された。

FIX インヒビター発現例は認められず、抗 FIX 抗体も全例で陰性であった。

抗 CHO タンパク抗体について、14/34 例（41.2％）が試験期間中に 1 回以上陽性を示した。

臨床上問題となるトロンビンアンチトロンビン III 複合体、D ダイマー又はプロトロンビンフラグメント 1+2 の変動はみられなかった。

中止に至った有害事象及び死亡は報告されなかった。

2) 参考資料

参考資料として提出された C9407-21 試験、C9408-21 試験及び C9417-21 試験は、EMA が実施した査察の結果、GCP 上の問題を指摘されたものである。また、303-JP は試験終了後、本剤が継続提供され、調査が行われた。

なお、参考資料については安全性の結果についてのみ記載した。また、事前に計画されたことが確認できなかったが、C9407-21 試験 (Segment 1 及び Segment 2) 及び C9408-21 試験 (Segment 1 及び Segment 2) の併合解析結果 (治療的投与及び予防投与)、並びに C9417-21 試験、C9407-21 試験 (Segment 3) 及び C9408-21 試験 (Segment 3) の併合解析結果 (手術期投与) が提出され、別項として記載した。

(1) 治療歴のある血友病 B 患者における旧処方製剤の第 I / II 相試験 (試験番号: C9407-21 試験、Segment 1: 資料 5.3.5.4-1、Segment 2: 資料 5.3.5.4-2、Segment 3: 資料 5.3.5.4-4、公表文献: *Blood* 98: 3600-6, 2001、実施期間: 1995 年 2 月～1999 年 12 月)

12 歳以上の FIX 製剤による治療歴 (FIX 製剤の曝露日数に関する規定なし) のある重症の血友病 B 患者 (FIX 活性 < 1%) を対象 (目標症例数: 12 例) に、旧処方製剤の急性期投与の安全性及び有効性、並びに旧処方製剤及び pdFIX 製剤の薬物動態の検討を目的とした多施設共同試験が米国 3 施設で実施された。

本試験は、Segment 1 (単回クロスオーバー投与による無作為化二重盲検薬物動態比較試験)、Segment 2 (治療的投与及び予防的投与における非盲検非対照試験) 及び Segment 3 (術中及び術後の出血治療における非盲検非対照試験) から構成された。

用法・用量は、Segment 1 では、1 日目に旧処方製剤又は pdFIX 製剤 50 IU/kg の静脈内投与とされ、7 日目に 1 日目で投与しなかった薬剤を 1 日目と同じ方法で投与することとされた。Segment 2 では、薬物動態の検討のため 1 日目及び 6 か月時に旧処方製剤 50 IU/kg が静脈内投与された。治療的投与では、FIX 活性、体重、出血の種類、バイアルの力価及び医師の判断により、投与量及び投与頻度が決定され、出血の治療又は予防を目的として旧処方製剤を静脈内に投与することとされた。Segment 3 では、投与量は、薬物動態検討で得られた成績を元に手術の特性等を考慮して治験責任医師が決定し、術前に急速静脈内投与、術中から術後は持続静注又はパルス補充療法を行うこととされた。

Segment 1 には 12 例が組み入れられ、割り付け後に治験薬が投与されなかった 1 例を除いた 11 例が試験を完了し、安全性評価対象とされた。

安全性について、Segment 1 では、有害事象は 8/11 例 (72.7%) に 22 件 (旧処方製剤投与時に 5 例 10 件、pdFIX 製剤投与時に 7 例 12 件) 認められた。複数例に発現した有害事象は、旧処方製剤群では味覚異常 (2 例)、pdFIX 製剤では鼻漏 (2 例) であった。副作用は、旧処方製剤投与時には 3 例に 5 件 (悪心、味覚異常 2 件、浮動性めまい、発熱)、pdFIX 製剤投与時には 2 例に 2 件 (味覚異常、頭痛) 報告された。

死亡、重篤な有害事象、中止に至った有害事象は報告されなかった。

また、C9407-21 試験 (Segment 1 及び Segment 2) と C9408-21 試験 (Segment 1 及び Segment 2) を併合した結果を別項として記す。また、C9407-21 試験 (Segment 3) については C9417-21 試験及び C9408-21 試験 (Segment 3) と併合した結果を別項として示す。

(2) 治療歴のある血友病 B 患者における旧処方製剤の有効性及び安全性評価試験 (試験番号: C9408-21 試験、Segment 1: 資料 5.3.5.4-2、Segment 2: 資料 5.3.5.4-2、Segment 3: 資料 5.3.5.4-4、公表文献: *Blood* 98: 3600-6, 2001、実施期間: 1995 年 2 月～1999 年 12 月)

FIX 製剤による治療歴のある重症 (FIX 活性 1 IU/dL 未満) 又は中等症 (FIX 活性 1 IU/dL 以上、5 IU/dL 以下) の血友病 B 患者 (過去 20 日以上 FIX 濃縮製剤の投与を受けており、このうち 5 日以上は試験開始 12 か月以内) を対象 (目標症例数: 32 例) に旧処方製剤を静脈内投与したときの安全性について、有害事象、臨床検査値及び特に FIX インhibiターの

発現を評価することを目的とした国際共同非盲検非対照試験が海外 6 か国 18 施設で実施された。

本試験は Segment 1（薬物動態検討）、Segment 2（治療的投与）及び Segment 3（手術期投与）から構成された。

用法・用量は、Segment 1 では、1 日目及び 6 か月時に旧処方製剤 50 IU/kg が静脈内投与された。Segment 2 では、投与量及び投与頻度は、FIX 活性、体重、出血の種類、バイアルの力価及び医師の判断により決定された。治療的投与では、投与開始後 1 か月及びそれ以降は 3 か月ごとに、定期補充療法では、投与開始の 6 か月間は毎月、それ以降は 3 か月ごとに、医師の判断により投与量が決定された。

本試験では 45 例が組み入れられ、全例が安全性評価対象とされた。

安全性について、C9408-21 試験（Segment 1 及び Segment 2）については C9407-21 試験（Segment 1 及び Segment 2）と併合した結果を別項として記す。また、C9408-21 試験（Segment 3）については C9407-21 試験（Segment 3）及び C9417-21 試験と併合した結果を別項として示す。

(3) 治療歴のある血友病 B 患者における待機手術期の旧処方製剤の有効性及び安全性評価試験（試験番号：C9417-21 試験、資料 5.3.5.4-4、公表文献：Haemophilia 8: 91-7, 2002、実施期間：19■■年■■月～19■■年■■月）

待機手術を予定しており、手術期に FIX の投与が必要な、FIX 製剤又は FIX を含有する血液製剤による治療歴がある重症（FIX 活性 1 IU/dL 未満）、中等症（FIX 活性 1～5 IU/dL）又は軽症（FIX 活性 5 IU/dL 超過）の血友病 B 患者を対象（目標症例数：10 例）に、旧処方製剤の術中、術後の止血管理における旧処方製剤の安全性評価を目的とした国際共同非盲検非対照試験が海外 4 か国 12 施設で実施された。

用法・用量は、薬物動態検討では、1 日目に、旧処方製剤 50 IU/kg を、10 分かけて静脈内に投与することとされた。手術期投与では、手術は薬物動態検討（1 日目）の 3～10 日後に行われ、術前に急速静脈内投与、術中から術後は持続静注又はパルス補充療法を行うこととされた。投与量は PK 検討で得られた成績を元に手術の特性等を考慮して治験責任医師が決定し、必要に応じて追加投与を実施することとされた。

本試験には 10 例が組み入れられ、全例が安全性評価対象とされた。

安全性について、C9408-21 試験（Segment 3）及び C9407-21 試験（Segment 3）と併合した結果を別項として示す。

(4) 治療歴のない重症又は中等症血友病 B 患者における rFIX の有効性及び安全性の検討試験（試験番号：C9418-21 試験、資料 5.3.5.4-5、公表文献：Blood 105: 518-25, 2005、実施期間：19■■年■■月～20■■年■■月）

治療歴のない重症（FIX 活性 1 IU/dL 未満）又は中等症（FIX 活性 1～3 IU/dL）の血友病 B 患者を対象（目標症例数：67 例）に、旧処方製剤の治療的投与、定期補充療法及び手術期投与における有効性及び安全性の検討を目的とした国際共同非盲検非対照試験が、海外 11 か国 41 施設で実施された。

本試験は試験フェーズ及び継続投与フェーズで構成され、試験フェーズでは治療的投与、定期補充療法及び手術期投与が行われ、試験フェーズを完了した被験者は継続投与フェーズに移行できることとされた。

用法・用量は、初回投与では 50 IU/kg を静脈内投与することとされた。ただし、初回投与

が出血エピソード治療のために行われる場合には、投与量は治験責任医師が決定することとされた。治療的投与及び定期補充療法では、ガイドライン（*Hematol Oncol Clin North Am* 7: 1269-80, 1993）に従って、FIX 活性、体重、出血の種類を基に治験責任医師が投与量を決定することとされた。手術期投与の場合には、予定している手術に適切な投与量を手術の種類、バイアル力価、FIX 活性、被験者の体重を考慮して治験責任医師が決定することとされた。

本試験には、67 例が組み入れられ、そのうち、少なくとも 1 回の投与を受けた 63 例が安全性評価対象とされた。投与目的は薬物動態検討 59 例、治療的投与 58 例、予防投与 43 例及び手術期投与 25 例であった。

安全性について、安全性評価対象 57/63 例（90.5%）に 1,575 件の有害事象が発現した。10%以上の症例に発現した有害事象は表 4-27 のとおりである。

表 4-27 10%以上の症例に発現した有害事象

事象名	症例数 (%)	事象名	症例数 (%)
全有害事象	57/63 例 (90.5%)	疼痛	14/63 例 (22.2%)
感染	45/63 例 (71.4%)	貧血	11/63 例 (17.5%)
発熱	34/63 例 (54.0%)	耳痛	11/63 例 (17.5%)
咳嗽増加	32/63 例 (50.8%)	腹痛	9/63 例 (14.3%)
中耳炎	27/63 例 (42.9%)	便秘	9/63 例 (14.3%)
鼻炎	25/63 例 (39.7%)	喘息	9/63 例 (14.3%)
下痢	19/63 例 (30.2%)	頭痛	8/63 例 (12.7%)
咽頭炎	18/63 例 (28.6%)	蕁麻疹	8/63 例 (12.7%)
発疹	18/63 例 (28.6%)	事故による外傷	7/63 例 (11.1%)
嘔吐	16/63 例 (25.4%)	食欲不振	7/63 例 (11.1%)
インフルエンザ症候群	16/63 例 (25.4%)	気管支炎	7/63 例 (11.1%)

副作用は、11/63 例に 18 件発現した。うち、複数例に発現した副作用は、蕁麻疹（3 例、4.8%）、感染（A 型肝炎抗体陽性例及びパルボウイルス B19 血清学的検査陽性例）（2 例、3.2%）、呼吸困難（2 例、3.2%）、第 IX 因子抑制（2 例、3.2%）であった。A 型肝炎抗体陽性例 1 例は試験途中に一時的に抗体陽性化した但、その他の肝機能検査等も正常であり、治験責任医師により偽陽性の可能性が高いとされたが、本剤との因果関係は否定されなかった。また、パルボウイルス B19 血清学的検査陽性例 1 例は無症候性であり、本剤との因果関係は否定されなかった。本試験では死亡例はなかった。重篤な有害事象は 18/63 例に 68 件認められた（表 4-28）。うち、因果関係を否定できなかったものは 4 件（第 IX 因子抑制 [FIX インヒビター発現] 2 件、呼吸困難 1 件及び悪寒 1 件）であった。

表 4-28 複数例に発現した重篤な有害事象

事象名	症例数 (%)	事象名	症例数 (%)
すべての重篤な有害事象	18/63 例 (28.6%)	悪寒	2/63 例 (3.2%)
発熱	4/63 例 (6.3%)	嘔吐	2/63 例 (3.2%)
感染	4/63 例 (6.3%)	第 IX 因子抑制	2/63 例 (3.2%)
カテーテル感染	3/63 例 (4.8%)	中耳炎	2/63 例 (3.2%)

(5) C9623-21-JP 試験の継続投与（試験番号：3090A1-303-JP、資料 5.3.5.4-6、公表文献：なし、実施期間：19■■年■■月～20■■年■■月）

JP 試験に参加した血友病 B 患者 3 例を対象として、治療的投与のための本剤の継続提供が国内 2 施設で行なわれた。

用法・用量は、FIX 活性、体重、出血及び治験責任医師の判断により投与量が決定された。

手術時投与では、治験責任医師と担当外科医が協議し、手術に必要な治験薬を投与することとされた。

組み入れられた 3 例が安全性評価対象とされた。

継続投与期間中、有害事象は 1 例に 4 件（血尿、鉄欠乏性貧血、腹痛 2 件）報告され、うち、腹痛 2 件が重篤な有害事象とされ、いずれも本剤との因果関係はなしとされた。

本試験では死亡及び中止に至った有害事象は認められなかった。

FIX インヒビターは、2 例に 3 回、軽度の上昇を認めたが、いずれもカットオフ値 (1.0 BU) 未満であり、有効性及び安全性に影響はないと報告された。

(6) 別項①：C9407-21 試験 (Segment 1 及び Segment 2) 並びに C9408-21 試験 (Segment 1 及び Segment 2) の安全性の併合結果 (資料 5.3.5.4-2)

重症 PTP を対象に治療的投与及び予防投与を実施した C9407-21 試験の Segment 2 並びに C9408-21 試験の Segment 1 及び Segment 2 の成績を統合して記載した。

安全性について、安全性評価対象は 56 例で、51/56 例 (91.1%) に 598 件の有害事象が発現した。10%以上の症例に発現した有害事象は表 4-29 のとおりである。

表 4-29 C9407-21 試験 (Segment 2) 及び C9408-21 試験 (Segment 1 及び Segment 2) における有害事象 (発現率 10%以上)

事象名	症例数 (%)	事象名	症例数 (%)
頭痛	26/56 例 (46.4%)	下痢	8/56 例 (14.3%)
感染	22/56 例 (39.3%)	浮動性めまい	6/56 例 (10.7%)
発熱	14/56 例 (25.0%)	咽頭炎	19/56 例 (33.9%)
インフルエンザ症候群	10/56 例 (17.9%)	鼻炎	18/56 例 (32.1%)
疼痛	7/56 例 (12.5%)	咳嗽増加	8/56 例 (14.3%)
腹痛	6/56 例 (10.7%)	副鼻腔炎	6/56 例 (10.7%)
悪心	12/56 例 (21.4%)	発疹	6/56 例 (10.7%)

副作用は 22 例に認められ、2 例以上に認められた事象は頭痛 6 例 (10.7%)、注射部位反応 5 例 (8.9%)、注射部位疼痛、悪心、浮動性めまい各 4 例 (7.1%)、発疹、味覚倒錯各 3 例 (5.3%) 及び発熱、鼻炎各 2 例 (3.6%) であった。4 例 4 件で重篤な有害事象が報告され、内訳は分節性腎梗塞、呼吸困難及び胸痛・ドレナージ機能不全による二次性の坐骨神経圧迫及び右膝関節形成術後の右膝関節浸出液各 1 件であった。死亡例は認められなかった。

臨床検査値の推移には臨床問題となる変動は認められず、ウイルス検査 (HIV-1 及び 2、A、B、C 型肝炎ウイルス) は A 型肝炎ウイルスワクチン接種後に抗体陽性となった 4 例を除き、抗体陽性化例は認められなかった。1/56 例に低力価の一過性の FIX インヒビターの発現が確認されたが、その後も出血エピソードに対する旧処方製剤の投与は継続され、軽度の胸部絞扼感が発現し、旧処方製剤との因果関係ありとされた。4/56 例にアレルギー反応の徴候又は症状が認められた。

(7) 別項②：C9407-21 試験 (Segment 2) 及び C9408-21 試験 (Segment 2) 補遺の安全性の併合結果 (資料 5.3.5.4-3)

C9407-21 試験及び C9408-21 試験終了後の継続投与が 10 医療機関で行われ、26 例の被験者が本剤の継続投与を受けた (C9407-21 試験：1 例、C9408-21 試験：25 例)。

安全性について、有害事象は 9/26 例に 23 件が認められ、2 例以上に認められた事象は、インフルエンザ症候群 3/26 例 (11.5%)、下痢、嘔吐及び咽頭炎各 2 例 (7.7%) であった。

副作用及び死亡例はなかった。2例で重篤な有害事象（複視及び右膝外側半月板断裂各1例）が報告された。

定期的な臨床検査の測定は実施されず、血液凝固能検査が実施された3例では、血友病B患者で一般にみられる異常値を示した。血液生化学的検査、血液学的検査及びウイルス検査（HIV-1及び2、A、B、C型肝炎ウイルス）は2例で1回のみ実施され、1例でALTの軽度上昇1件のみが認められた。FIXインヒビターの検査は9例行われ、いずれもFIXインヒビターは認められなかった。抗FIX抗体価の測定は各被験者で1回のみ行われ、結果はすべて陰性であった。

(8) 別項③：C9417-21 試験、C9407-21 試験（Segment 3）及び C9408-21 試験（Segment 3）の安全性の併合結果（資料 5.3.5.4-4）

手術期投与試験では28例で36回の手術期投与が実施され、内訳はC9417-21 試験10例、C9407-21 試験6例及びC9408-21 試験12例であった。C9417-21 試験完了後に1例がC9408-21 試験に移行した。

安全性について、有害事象は15/28例に77件が認められ、10%以上に認められた事象は、発熱及び感染各4例（14.3%）、頭痛、疼痛、静脈炎、悪心及び咽頭炎各3例（10.7%）であった。

副作用は3/28例に13件認められ、2件以上認められた事象は、頭痛1例3件、ほてり2例2件であった。3例で重篤な有害事象が報告され、右膝鏡視下滑膜切除術の右膝浸出液ドレナージ後の入院期間延長、特発性血小板減少症に合併する血小板減少症、及び右人工股関節置換術後のドレナージ機能不全による坐骨神経圧迫に対する減圧術施行による入院期間延長であり、いずれも本剤との因果関係は否定された。死亡例はなかった。

臨床検査値で臨床上問題となる変動は認められなかった。また、ウイルス検査（HIV-1及び2、A、B、C型肝炎ウイルス）では、抗体陽性化例は認められなかった。1例において手術前に一過性に低力価のFIXインヒビターが検出されたが、術中投与によるFIXインヒビターは認められず、その後もFIXインヒビターは検出されなかった。抗FIX抗体価の測定では2例が陽性であった。

<機構における審査の概略>

1) 今回提出された資料及び機構の審査方針について

(1) GCP 上の問題が指摘された試験について

欧米の承認申請に用いられたC9407-21/C9408-21 試験及びC9418-21 試験に対するEMAの査察においてGCP上の問題（薬剤管理、治験総括報告書の作成、文書管理、有害事象報告、検体の取扱い及びモニタリングに関する事項）が指摘されたことから、申請者は、指摘されたGCP上の問題に配慮した小児患者及びPTPを対象とした臨床試験を実施することをEMAに公約し、301 試験（小児患者）及び302 試験（PTP）が実施された（「1.2 開発の経緯等」の項参照）。なお、GCP上の問題点を指摘された3試験は参考資料として添付されている。

機構は、EMAよりGCP上の問題点を指摘された、C9407-21 試験、C9408-21 試験及びC9417-21 試験の信頼性に関する見解及びその後の社内体制に対する是正措置について説明を求め、申請者は以下のように回答した。

本剤は、EMAから特例制度の適用を受け1997年8月に承認されたが、承認申請に用いた当該3試験に関して、2011～2012年のGCP査察により問題点が指摘された。しかしなが

ら、①当該 3 試験の成績は市販開始当時に集積した臨床現場における本剤の使用データ及び製造販売後調査結果により支持されていること、②追加実施した 301 試験により低年齢小児における本剤の有効性及び安全性が確認され、302 試験により欧州の添付文書に記載されている PTP におけるデータが支持されたことから、GCP 上の問題が指摘された 3 試験で示された本剤の有効性及び安全性についても信頼できるものとする。また、社内体制に対する是正措置に関して、EMA による査察及び社内の監査では、薬剤出納記録及び薬剤の使用期限、データマネジメント及び CSR 作成、有害事象報告、文書管理、検体の取扱い及び分析、モニタリング並びに SOP に問題が認められたことを受け、臨床試験実施の基盤及び標準業務手順書（以下、SOP）を慎重に評価し、システムをより確実なものとする是正措置及び GCP 遵守を確保するための SOP を整備した。

申請者は GCP 上の問題が指摘された当該 3 試験で得られた結果は、追加臨床試験の結果等により支持され、当該 3 試験の有効性及び安全性の結果は信頼できる等の見解を述べているものの、機構は、GCP 上の問題が認められた試験結果を承認審査の評価資料として用いることは適切でなく、申請者の説明は事後的な解釈に過ぎないことから、当該 3 試験は安全性を中心とした情報に関する参考資料として扱うことが適切であるとする。

(2) 評価資料について

機構は、C9407-21/C9408-21 試験及び C9418-21 試験に対して GCP 上の問題が指摘されたことを踏まえて、今回提出された 301 試験、302 試験及び 304 試験における治験実施体制について説明を求め、申請者は以下のように回答した。

EMA による GCP 査察後、新たに臨床試験監視・管理のために改善した手順を導入し、301 試験、302 試験及び 304 試験に対しては所定の監査を実施した。また、最終的なデータ解析結果は、それぞれの試験が製造販売後に公約した責務を満たすに十分であると判断され、EMA に受理された。

機構は、評価資料として提出された追加の 3 試験については、本剤の有効性及び安全性の評価資料として差し支えないと判断した。

機構は、301 試験及び 302 試験において、治験薬以外に本剤の市販製剤や他の試験で使用された製剤の投与例があり、当該症例が評価対象から除外されなかったことについて説明を求め、申請者は以下のように回答した。

301 試験及び 302 試験では米国の市販製剤（バイアル）が使用され、治験用製剤と市販製剤で異なる点は製剤の表示のみであった。したがって、301 試験及び 302 試験で市販製剤を使用したこと、302 試験で 301 試験の治験用製剤を 1 回のみ使用したこと並びに 301 試験で 302 試験の治験用製剤を 1 回のみ使用したことは試験結果に影響を与えるものではないと考える。また、301 試験及び 302 試験の治験実施計画書では、「市販製剤は、緊急時（重篤な有害事象の治療時等）を除き使用してはならない。ただし、治験薬が直ちに入手できないときは、市販製剤が緊急時治療の唯一の手段である」と規定していたため、緊急時に市販製剤を使用することに取扱い上の問題はないと判断した。さらに、他の試験で使用された製剤の投与例については社内において協議を行い、その結果解析対象に含めることに問題はないと判断された。

機構は、治験薬と市販製剤間及び異なる試験の製剤間で品質上大きな差異はないと考えられ、有効性及び安全性の評価に影響を及ぼすとは考え難いこと、治験実施計画書で緊急時の対応として取り決められていたことから、申請者の回答を了承した。

2) 有効性について

(1) 評価資料における対象集団及び有効性判定基準について

評価資料として提出された各試験は、試験ごとに年齢、重症度等の選択・除外基準が異なっており、また、実際に組み入れられた患者における主な人口統計学的特性とその他のベースライン時の特性は表 4-30 のとおり相違が認められる。

表 4-30 評価資料における人口統計学的特性とその他のベースライン時の特性

試験名	患者数	重症度 (FIX 活性)	治療歴	FIX インヒビター	年齢 (歳)	日本人/日本人以外	体重 (kg)
JP 試験	3	≤5%	PTP	なし	1、1	日本人	1、1
301 試験	25	≤1%	PUP、PTP	なし	2 (0.6~4) ^a	白人: 18 例 (72%)	15 (8~20) ^a
302 試験	23	≤2%	PTP	なし	22 (12~59) ^a	白人: 21 例 (91%)	72 (44~173) ^a
304 試験	34	≤2%	PTP	なし	22 (12~61) ^a	白人: 24 例 (71%)	71 (47~114) ^a

^a: 中央値 (範囲)

また、評価資料では国内外で異なる主観的評価の判定基準が用いられていたことから、機構は、その理由及び国内外の判定基準の差異が海外試験成績を日本人に利用する際に与える影響について説明を求め、申請者は以下のように回答した。

出血エピソードに対する主観的評価の国内外の判定基準は表 4-31 のとおりである。

表 4-31 出血エピソードに対する主観的評価^aの判定基準の国内外比較

JP 試験	非常に良好	満足できる効果。同様の出血又は処置において、他の FIX 製剤で得られる最も良い効果と同等でかつ同程度に迅速な改善。
	良好	満足できる効果。同様の出血又は処置において、他の FIX 製剤でよくみられる効果と同等でかつ同程度に迅速な改善。
	やや良好	満足できるとはいえない効果。同様の出血又は処置において、他の FIX 製剤でよくみられる効果より劣る。
	無効	全く改善しない (出血の原因となる他の因子がない場合に、同一の出血に 2 回連続投与した後 24 時間以内に効果が得られない場合)。
301 試験、 302 試験 及び 304 試験	著効	劇的な効果。速やかに鎮痛が得られ、関節又は出血部位のサイズが明らかに減少。
	有効	鎮痛又は出血部位のサイズ減少に時間を要した又は止血のために追加の投与を要した。
	やや有効	止血のために複数回の追加投与を要する効果又はわずかな反応が得られた。
	無効	全く改善せず。

^a: 治験責任医師、被験者、又は介護者による評価

JP 試験は日本で最初の使用経験であるため、本剤の評価に際しては、被験者に対しこれまで使用した他の FIX 製剤の反応性と対比して評価するよう評価者に求めた。当該試験と同じ基準は、海外での開発当初の臨床試験 (C9407-21/C9408-21 試験: 参考資料) でも用いた。301 試験、302 試験及び 304 試験開始時には、本剤の上市後 5 年以上経過しており、これまでに本剤以外の FIX 製剤の投与経験がない被験者や FIX 製剤による投与経験のない被験者も含まれるため、これらの試験における有効性評価基準は、他の FIX 製剤の反応性との相対的な比較に基づいたものとはしなかった。

機構は、当該対象疾患の特性や患者数等も勘案すると、少数例ではあるが治療歴や年齢等が異なる集団において臨床試験を実施したことは一定の意義があると考ええる。ただし、試験ごとに患者背景や有効性評価基準等が異なることから、各試験間の有効性の単純な比較には留意が必要であると考ええる。

(2) 有効性の評価項目及び判定方法について

提出された評価資料において、有効性の評価項目のひとつとして出血エピソードに対す

る止血効果が設定されたが、その判定方法は治療に対する患者の反応を治験責任医師等が評価するため主観的なものであった。機構は、主観的評価による判定方法の妥当性について説明を求め、申請者は以下のように回答した。

血友病 B は先天性疾患であり、出血歴、頻繁に出血する関節の範囲が分かっていること、また、以前の止血管理に他剤を用いていることから、個体内での有効性の比較が可能と考えた。なお、手術期投与における有効性の評価項目についても、治験責任医師等、外科医、患者が様々な手術において手術時及び術後の有効性を評価するために、主観的なものとなる。

機構は、血友病における止血管理に関する有効性の評価項目及び判定方法について客観的な指標は確立されているとは言えないことから、主観的な評価方法を用いたことはやむを得なかったものとする。補充療法としての本剤の有効性評価に際しては、出血部位別有効性評価の結果に加え、止血に要した投与回数等の結果を総合的に判断する方針とした。有効性評価項目及び判定方法の妥当性については、専門協議で議論したい。

(3) 出血時の治療的投与における有効性について

治療的投与に対する出血部位別有効性評価及び止血に要した出血部位別投与回数の結果は表 4-32 及び表 4-33 のとおりである。

表 4-32 治療的投与に対する出血部位別有効性評価^a

出血部位	試験名	例数 ^b	有効性評価、回数 (%)				
			著効／有効	やや有効	無効	評価せず ^c	計
関節内	301 試験 ^c	16	13 (81.3)	3 (18.8)	0 (0.0)	0 (0.0)	16
	302 試験 ^c	18	62 (87.3)	6 (8.5)	3 (4.2)	0 (0.0)	71
	304 試験 ^c	15	41 (85.4)	6 (12.5)	0 (0.0)	1 (2.1)	48
軟部組織／筋肉内	301 試験 ^c	16	39 (88.6)	4 (9.1)	0 (0.0)	1 (2.3)	44
	302 試験 ^c	18	23 (79.3)	5 (17.2)	0 (0.0)	1 (3.4)	29
	304 試験 ^c	15	31 (86.1)	5 (13.9)	0 (0.0)	0 (0.0)	36

出血部位	試験名	例数	有効性評価、回数 (%)				
			非常に良好	良好	やや良好	無効	計
関節内	JP 試験	3	25 (92.6)	2 (7.4)	0 (0.0)	0	27
軟部組織／筋肉内	JP 試験	3	31 (77.5)	8 (20.0)	0 (0.0)	1 (2.5)	40

^a：多発性又はその他の部位に発現した出血は本表に含めなかった

^b：治験実施計画書に適合した対象集団

^c：開始時に使用された最初の投与に対する評価

表 4-33 止血に要した出血部位別投与回数^a

出血部位	試験名	例数 ^b	投与回数、回数 (%)					
			1	2	3	4	>4	計
関節内	JP 試験	3	19 (82.6)	4 (17.4)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	23
	301 試験	16	8 (50.0)	6 (37.5)	0 (0.0)	2 (12.5)	0 (0.0)	16
	302 試験	18	39 (54.9)	20 (28.2)	3 (4.2)	4 (5.6)	5 (7.0)	71
	304 試験	15	40 (83.3)	4 (8.3)	3 (6.3)	1 (2.1)	0 (0.0)	48
軟部組織／筋肉内	JP 試験	3	17 (65.4)	6 (23.1)	2 (7.7)	0 (0.0)	1 (3.8)	26
	301 試験	16	33 (75.0)	6 (13.6)	4 (9.1)	1 (2.3)	0 (0.0)	44
	302 試験	18	14 (48.3)	8 (27.6)	0 (0.0)	3 (10.3)	4 (13.8)	29
	304 試験	15	29 (80.6)	5 (13.9)	1 (2.8)	0 (0.0)	1 (2.8)	36

^a：多発性又はその他の部位に発現した出血は本表に含めなかった

^b：治験実施計画書に適合した対象集団

301 試験では、無効症例はないにもかかわらず、追加投与（2 回以上の投与）が実施されていた。302 試験でも同様に、無効症例は 3 例にもかかわらず、47.6%（49/103 エピソード）に追加投与（2 回以上の投与）が実施されていた。機構は、有効以上の症例で追加投与が実施された症例について、追加投与がなされた理由及びその評価判定となった理由について説明を求めたところ、申請者は以下のように回答した。

301 試験では、有効性評価対象 22 例中 16 例に 64 回の出血エピソードがあり、著効例 2 エピソード、有効例 12 エピソードで追加投与が実施された。有効の基準は「鎮痛又は出血部位のサイズ減少に時間を要した又は止血のために追加の投与を要した」と定義されており、有効例 8 エピソードは当該基準に合致した。また、第 1 回目の投与により満足な反応が得られても、用心のため追加投与が実施される場合があり、著効例 2 エピソード及び有効例 4 エピソードが当該例と考えられる。

機構は、個別症例において臨床的な総合判断により追加投与が実施される場合があることは理解するものの、追加投与の実施基準を明確にしておくことも方策のひとつであったと考える。

機構は、出血時の治療的投与において各試験では著効／有効（非常に良好／良好）と判定されたエピソードが大部分を占めていること、止血に要した回数は多くが 1 又は 2 回であることに加え、血友病 B は FIX を補充しなければ止血が困難な疾患であること等を総合的に判断し、本剤の出血時の治療的投与における有効性は示されたものと判断した。

（4）定期補充療法における有効性について

申請者は本剤の定期補充療法における有効性について、以下のように説明している。

本剤の定期補充療法が実施された症例は、301 試験、302 試験及び 304 試験でそれぞれ 22 例、15 例及び 17 例の計 54 例であり、2 回／週の投与間隔で実施された症例はそれぞれ、12/22 例（54.5%）、12/15 例（80.0%）及び 10/17 例（58.8%）であった。臨床効果に関連して投与方法が変更された症例は 1 例（出血エピソード及び低い回収率のため、投与量を 42 IU/kg/回/週から 55 IU/kg/回/週に変更）のみであった。定期補充療法中に 39/54 例（72.2%）に計 100 回の出血エピソードが発現し、うち 18/54 例（33.3%）が自然出血であった。外傷性出血は 301 試験、302 試験及び 304 試験でそれぞれ 37/44 回（84.1%）、17/30 回（56.7%）及び 19/26 回（73.1%）であった。定期補充療法及び治療投与における 30 日あたりの出血回数の比較は表 4-34 のとおりである。

表 4-34 定期補充療法及び治療投与における 30 日あたりの出血回数の比較

試験名	定期補充療法（症例数）	治療投与
301 試験	0.303 回／30 日（22 例 ^a ）	1.279 回／30 日
302 試験	0.351 回／30 日（15 例 ^a ）	1.17 回／30 日
304 試験 ^b	0.259 回／30 日（17 例 ^a ）	1.820 回／30 日

^a：定期補充療法が処方された治験実施計画書に適合した対象集団

^b：定期補充療法及び治療投与における 1 年あたりの出血回数（3.109 回／年及び 21.843 回／年）を 365 日で除し、30 日乗じる事により、機構が算出した。

定期補充療法における直前の本剤投与から出血エピソード発現までの時間について、69/100 回（69.0%）は、出血エピソードの発現が直前の本剤投与から 48 時間以上経過した後であり、48 時間以内に発現した出血のうち 27/31 回（87.1%）が外傷性出血であった。

機構は、定期補充療法の実施例と非実施例の患者背景を比較し、その出血素因・出血傾

向の差異及び本剤投与前の両群の出血率の差異について説明を求めたところ、申請者は定期補充療法実施の有無で患者背景や本剤投与前の出血率について明確な違いはなく、また、一部の症例では一時期だけ定期補充療法を受けていた旨を説明した。

機構は、本剤の定期補充療法について、以下のように考える。本剤の定期補充療法と治療投与における 30 日あたりの出血回数の比較では、定期補充療法で低い傾向があるものの、当該結果は両投与方法を比較するよう計画された臨床試験で得られたものではないことから、探索的な結果に留まるものと考ええる。加えて、提出された評価資料では日本人における定期補充療法の成績は得られておらず、本邦での定期補充療法の有効性は明らかとなっていないと考える。

(5) 手術期投与における有効性について

評価資料において、手術期投与の有効性評価対象は、301 試験で 2 例、302 試験で 2 例及び 304 試験で 1 例の計 5 例であり、JP 試験では実施例はなかった。なお、301 試験、302 試験及び 304 試験における手術期投与時の用法・用量は表 4-35 のとおりである。

表 4-35 評価資料における手術期投与時の用法・用量

301 試験	治験責任医師が実施する手術に適切な本剤の投与量を決定した。また、必要に応じ、本剤の追加投与を実施してもよいこととした。本剤による手術期投与後、被験者は治験実施計画書のスケジュールに従い試験を継続した。 本剤の投与量は、術式ごとに治験責任医師が、治験実施医療機関で認められた方法に従い急速静脈内投与又は持続投与により投与した。
302 試験	治療的投与、予防投与及び手術期投与のいずれにおいても各被験者の FIX 補充療法のために必要な本剤の投与量を治験責任医師が決定した。 外科的手術直前及び術中は治験責任医師の判断により急速静脈内投与又は持続投与した。
304 試験	外科的手術直前及び術中、導入投与としての急速静脈内投与は可とした。術中、本剤（新処方製剤）を持続投与する場合は、術前の目標 FIX 活性値への早期到達を容易にするため持続投与前に急速静脈内導入投与を実施した。治験責任医師は、必要に応じ外科医と相談しながら各被験者及び手術方法に対する適正な目標 FIX 活性値を決定した。本剤（新処方製剤）の導入投与量は最初の薬物動態検討時に得られた生体内回収率、FIX 活性、体重及び手術の種類に基づいた。

その際、急速静脈内投与実施例は 3 例、持続投与実施例は 2 例であった。有効性評価から除外された症例を含む各症例の概要は以下のとおりである。

301 試験では 2 例が皮下埋め込みポート術及び包皮切除術を実施された。これらの被験者における本剤の 1 回投与量の中央値は 97.1 IU/kg（範囲：59.3～130.5 IU/kg）であった。術中及び術後の本剤の投与に対する 5 段階総合評価については、91.7%（12 回の評価中 11 回）がきわめて有用とされた。

302 試験では 3 例で右膝人工関節置換術、左膝関節置換術及び右膝関節形成術を実施されたが、曝露日数不足（30 日以上のところ 24 日で中止）のため、1 例（右膝関節形成術）が有効性評価から除外された。有効性評価対象の 2 例における本剤の 1 回投与量の中央値は 38.5 IU/kg（範囲：0.5～126.4 IU/kg）であった。術中及び術後における本剤の治療に対する 5 段階総合評価はいずれもきわめて有用とされた。

304 試験では、化膿性関節炎の既往を有する 1 例に左膝洗浄術が実施された。手術期投与の曝露日数は 21 日であり、2.9 週にわたり 1 回投与量（中央値）として 34.6 IU/kg（範囲：25.4～57.6 IU/kg）が計 37 回投与された。術後合併症は認められず、5 段階総合評価は有用とされた。

機構は、手術期投与を実施した症例は限られており、手術期投与における本剤の有効性は明確には示されていないものの、血友病 B の手術時は FIX を補充しなければ止血が困難

なことは明らかであり、いずれの症例も 5 段階総合評価は有用以上であることから、本剤の有効性は期待できるものと考ええる。ただし、日本人での手術期投与の使用経験は得られておらず、本邦での手術期投与の有効性は不明であることから、製造販売後に引き続き情報収集を行う必要があると考える。

以上の出血時の治療的投与、定期補充療法及び手術時投与における有効性評価の妥当性については専門協議において議論したい。

3) 安全性について

(1) 国内外における本剤の有害事象について

本剤の比較的多く認められた有害事象（10%以上の症例に発現した有害事象）は表 4-36 のとおりである。

表 4-36 比較的多く認められた有害事象（10%以上の症例に発現した有害事象）

	評価資料				参考資料			
	JP 試験	301 試験	302 試験	304 試験	303-JP	C9407-21/ C9408-21 試験	C9417-21 試験	C9418-21 試験
例数	3	25	23	34	3	56	28	63
腹痛	0 (0.0)	0 (0.0)	5 (21.7)	0 (0.0)	1 (33.3)	6 (10.7)	0 (0.0)	9 (14.3)
事故による外傷	0 (0.0)	8 (32.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	7 (11.1)
発熱	0 (0.0)	14 (56.0)	3 (13.0)	6 (17.6)	0 (0.0)	14 (25.0)	4 (14.3)	34 (54.0)
インフルエンザ症候群	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	10 (17.9)	0 (0.0)	16 (25.4)
頭痛	0 (0.0)	0 (0.0)	6 (26.1)	10 (29.4)	0 (0.0)	26 (46.4)	3 (10.7)	8 (12.7)
感染	0 (0.0)	14 (56.0)	3 (13.0)	8 (23.5)	0 (0.0)	22 (39.3)	4 (14.3)	45 (71.4)
臨床検査値異常	0 (0.0)	3 (12.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
疼痛	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (13.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	7 (12.5)	3 (10.7)	14 (22.2)
静脈炎	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (10.7)	0 (0.0)
食欲不振	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	7 (11.1)
便秘	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	9 (14.3)
下痢	0 (0.0)	3 (12.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	8 (14.3)	0 (0.0)	19 (30.2)
悪心	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (13.0)	4 (11.8)	0 (0.0)	12 (21.4)	3 (10.7)	0 (0.0)
嘔吐	0 (0.0)	9 (36.0)	0 (0.0)	4 (11.8)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	16 (25.4)
貧血	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (33.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	11 (17.5)
浮動性めまい	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	6 (10.7)	0 (0.0)	0 (0.0)
喘息	1 (33.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	9 (14.3)
気管支炎	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	7 (11.1)
咳嗽増加	0 (0.0)	10 (40.0)	0 (0.0)	5 (14.7)	0 (0.0)	8 (14.3)	0 (0.0)	32 (50.8)
肺炎	1 (33.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
咽頭炎	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	19 (33.9)	3 (10.7)	18 (28.6)
鼻炎	0 (0.0)	12 (48.0)	4 (17.4)	0 (0.0)	0 (0.0)	18 (32.1)	0 (0.0)	25 (39.7)
副鼻腔炎	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	6 (10.7)	0 (0.0)	0 (0.0)
上気道炎	1 (33.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
発疹	0 (0.0)	6 (24.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	6 (10.7)	0 (0.0)	18 (28.6)
蕁麻疹	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	8 (12.7)
水痘	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	6 (9.5)
結膜炎	0 (0.0)	3 (12.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
耳の障害 NEC	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	6 (9.5)
耳痛	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	11 (17.5)
中耳炎	0 (0.0)	3 (12.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	27 (42.9)
血尿	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (33.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)

例数 (%)

申請者は、本剤の安全性について以下のように説明している。

評価資料とした 4 試験において、日本人患者 3 例を含む計 85 例の患者に本剤投与が実施

され、10%以上の症例で認められた有害事象は、当該患者集団で予測されるものであり、ほとんどが軽度又は中等度であった。重篤な有害事象は、4/85 例に計 4 件発現し、内訳は蜂巣炎、化膿性関節炎、肺炎及び FIX インヒビター発現各 1 件であった。FIX インヒビター発現を除き、いずれも本剤との因果関係はなしと判定され、回復が得られた。また、当該 4 試験において、有害事象により本剤の投与を中止した被験者はなく、死亡例も報告されなかった。同様に、本剤の投与に関連する血栓形成性の事象、A 型、B 型及び C 型肝炎ウイルス並びに HIV-1 及び HIV-2 の感染は認められなかった。また、参考資料とした 5 試験において、日本人患者 3 例を含む計 131 例の患者に本剤投与が実施され、有害事象プロファイルは評価資料とされた 4 試験の結果と同様であった。重篤な有害事象は、24/131 例に 75 件が報告された。本剤に関連する重篤な有害事象は、FIX インヒビター発現 3 例 3 件、腎梗塞、呼吸困難及び悪寒各 1 件であった。投与中止に至った有害事象は 3/131 例 3 件が報告され、FIX インヒビター発現 2 件、中等度の低酸素症 1 件であった。試験実施中の死亡例は報告されなかった。日本人患者と外国人患者で安全性について明らかな差は認められず、日本人患者を含め本剤の有害事象は忍容可能であると考ええる。

機構は、臨床試験で認められた有害事象の種類、重症度、発現率等の情報から、本剤の有害事象は忍容可能であると判断するものの、日本人における投与経験は非常に限られていることから、製造販売後には有害事象の種類、重症度や発現率に関してさらに情報収集を行い、新たな情報が得られた場合には適切に医療現場に情報提供を行う必要があると考える。申請者は、臨床上重要で、血友病及びその治療条件に関連した事象として重点調査事象を設定しており、FIX インヒビター発現、アレルギー様徴候、血栓形成、薬効欠如及び赤血球凝集を挙げている。機構は、これら特徴的な有害事象には重篤例も発生しており注意が必要であることから以下に別項として検討し、その他に抗 CHO タンパク抗体についても加えて検討を行った。

(2) FIX インヒビターについて

評価資料とした 4 試験において合計 85 例の血友病 B 患者が本剤を 1 回以上投与され、FIX インヒビターの発現は、1/85 例（1.2%）に認められた。申請者は当該事象について、以下のように説明している。

当該症例は、301 試験に登録された PUP の生後■か月の男児であり、試験 78 日目（13 回目の投与）に、本剤投与後約 15 分に軽度の咳嗽増加、中等度の蕁麻疹及び中等度の発疹を発現した。抗ヒスタミン薬の経口投与によって回復し、治験責任医師によりアレルギー様徴候と判定された。アレルギー様徴候発現後の検査で、低力価の FIX インヒビターが検出（改変 Bethesda 法）されたことから、治験責任医師によって重篤な有害事象として報告された。FIX インヒビター発現時の IgG1、IgG2 及び IgG3 はいずれも陽性で、IgG4 及び IgE 抗 FIX 抗体（ELISA）は陰性であった。アレルギー様徴候及び FIX インヒビターの発現について、いずれも本剤との因果関係は否定されなかった。当該症例に対する本剤投与は継続して行われ、約 11 か月間で 32 回の本剤投与を受けたが、アレルギー様徴候の再発はなく、最終観察時の FIX インヒビター検査は陰性であったことから、この FIX インヒビター発現は一過性のものと考えられる。また、当該症例における本剤の投与は、FIX インヒビター発現にかかわらず十分な有効性及び安全性を示したと考える。

機構は、評価資料で得られている情報は非常に限られていることから、参考資料等の情報も含め、類薬と本剤における FIX インヒビター発現率を比較して説明するよう求め、申請者は以下のように回答した。

類薬である pdFIX 製剤では、FIX インヒビター発現率はおよそ 1～3%の範囲であることが示されているが、重症の患者では 3.8～9.0%、若年の PUP (異なる 3 試験でそれぞれ 0%、7%、33%) 又は最小限の治療しか受けていない MTP では FIX インヒビター発現率が高くなる可能性があることが報告されている (*Thromb Haemost* **67**: 600-2, 1992、*Thromb Haemost* **82**: 1247-9, 1999 等)。評価資料よりも大規模の PUP を対象とした C9418-21 試験 (参考資料) では、FIX インヒビター発現率は 2/63 例 (3.2%) であった。製造販売後の報告では承認取得から約11年間* に、本剤に関連する FIX インヒビター発現が計 37 件報告されている。また、本剤及び pdFIX 製剤投与におけるレトロスペクティブな製造販売後調査の結果は表 4-37 のとおりである。

表 4-37 製造販売後調査における FIX インヒビター発現率

実施計画書番号	合計例数	本剤	pdFIX
		例数 (%)	例数 (%)
3090A-101657	180	3/163 (1.8)	4/88 (4.6)
3090A-100938	234	3/165 (1.8)	11/160 (6.9)
合計	414	6/328 (1.8)	15/248 (6.1)

以上のとおり、本剤による FIX インヒビター発現リスクは pdFIX 製剤に比べ高くはないと考える。

機構は、症例数が限られていることから明確に結論することは困難であるものの、本剤による FIX インヒビター発現リスクが pdFIX 製剤に比べ高いという結果は得られていないと判断した。また、本剤での FIX インヒビターの発現が有効性及び安全性に与える影響並びに製造販売後の検討事項について説明を求め、申請者は以下のように回答した。

FIX インヒビターの存在により、有効性の低下、アレルギー様徴候や生体内回収率の低下が懸念され、投与量の増加、抗ヒスタミン薬等の前治療の必要性、代替治療として FVIIa 等によるバイパス療法が必要になる可能性がある。現在海外で実施している製造販売後安全性監視 (自発報告に基づく調査及び申請者による調査) 及び FIX インヒビターをモニタリングするリスク軽減計画は適切と考えており、本剤の製造販売後調査の重点調査事象として本邦でも FIX インヒビターの発現とアレルギー様徴候に関する情報の収集を計画している。

機構は、類薬である pdFIX 製剤と同様、本剤でも依然として FIX インヒビター発現リスクは存在し、有効性及び安全性に影響を与える恐れがあること、日本人患者での情報は非常に限られていることから、申請者が予定している FIX インヒビターの発現とアレルギー様徴候に関する情報の収集は重要であると考え (「4.3 臨床的有効性及び安全性に関する資料、＜機構における審査の概略＞、7) 製造販売後の検討事項について」の項参照)。なお、FIX インヒビターについては添付文書案の重要な基本的注意において情報提供され、注意喚起がなされている。

(3) アレルギー様徴候について

アレルギー様徴候は、本剤の投与後に発現する蕁麻疹、湿疹、発熱、喘鳴又は喘息の急性増悪等の症状とされ、免疫グロブリン濃度 (IgG、IgE) を含めた免疫反応マーカーが測定された。申請者は、本剤で認められたアレルギー様徴候について、以下のように説明している。

評価資料とした 4 試験において、2/85 例 (2.4%) に本剤の投与に関連するアレルギー様

徴候が認められた。301 試験では PUP の被験者 1/25 例 (4.0%) に中等度の発疹及び蕁麻疹を特徴とするアレルギー様徴候が報告され、発現後の検査の結果、FIX に対する抗体を含む複数の免疫応答マーカーが検出された (「4.3 臨床的有効性及び安全性に関する資料、<機構における資料の概略>、3) 安全性について、(2) FIX インヒビターについて」の項参照)。また、302 試験では PTP の被験者 1/23 例 (4.3%) に掻痒症を特徴とする軽度のアレルギー様徴候が 2 回報告されたが、発現の約 30 日後の検査ではいずれも免疫原性のマーカーは検出されなかった。各被験者は当該事象発現後も本剤が投与され、有効性及び安全性に問題は認められなかった。JP 試験及び 304 試験では報告例はなかった。また、参考資料とした試験では 9/131 例 (6.9%) にアレルギー様徴候が報告された。C9407-21/C9408-21 試験では、4/56 例 (7.1%) で報告され、内訳は、FIX インヒビター発現時の軽度の胸痛、軽度の蕁麻疹、中等度の戦慄及び中等度の低酸素症が各 1 例であった。事象後の免疫反応マーカーの測定では FIX インヒビターが認められた 1 例で抗 FIX IgG 抗体が検出されたものの、抗 FIX IgE 抗体は検出されなかった。C9418-21 試験では 5/63 例 (8.9%) にアレルギー様症状が認められ、FIX インヒビター発現時の中等度の蕁麻疹及び中等度の呼吸困難、FIX インヒビター発現時の高度の悪感、中等度の蕁麻疹及び軽度の発疹、軽度の喘息及び軽度の蕁麻疹、並びに高度の呼吸困難が各 1 例で認められた。FIX インヒビターの発現を認めた 2 例を除く 3 例では本剤の投与が継続された。また、海外製造販売後データでは 承認取得から約11年間*

に全身性のアレルギー様徴候と考えられる事象が 93 例に 94 件報告されており、うち 24 件は FIX インヒビター発現歴のある患者、20 件はアレルギー様徴候のある又は過去に pdFIX 製剤に対してアレルギー様徴候を示したことのある患者において報告された。申請者が実施した製造販売後のレトロスペクティブ調査では、クラスⅡ及びⅢのアレルギー様徴候発現率は、本剤群 7/328 例 (2.1%)、pdFIX 群 10/248 例 (4.0%) であり明らかな差は認められなかった。なお、FIX インヒビターを有する患者の 40%以上に FIX に対するアレルギーが現れるとの報告がある (Textbook of Hemophilia, 1st edition, Blackwell Publishing, 2005)。

機構は、本剤によるアレルギー様徴候について、海外では多くの投与実績があり、製造販売後調査でも pdFIX との差は認められていないこと、日本人においては 3 例であるものの長期継続投与試験が実施され、特段の問題は認められていないことから、忍容可能と考える。しかしながら、発現率は高くはないものの重篤な事象も認められていることから注意が必要であり、既存の pdFIX 製剤投与時も含めた FIX インヒビターの発現及び過敏症の既往歴等のアレルギー様徴候の危険因子を有する患者への本剤投与については、十分な情報提供と注意喚起がなされる必要があると考える。なお、これらについては添付文書案において情報提供及び注意喚起がなされている。

(4) 血栓形成について、

申請者は、本剤で認められた血栓形成の有害事象について、以下のように説明している。

評価資料とした 4 試験において、本剤の投与に関連する血栓形成の有害事象は発現しなかった。参考資料では 2/131 例に血栓形成の有害事象が認められた。C9407-21/C9408-21 試験では 1 例で、本剤の投与後 12 日目に腎梗塞が発現し高度と判定されたが回復し、本剤の投与中止には至らなかった。本剤との因果関係が不明と判定された。C9418-21 試験では本剤との因果関係なしと判定された軽度の血栓が認められた。また、海外製造販売後データでは 承認取得から約11年間* に、血栓形成と考えられる計 11 件の報告書が提出されたが、これらの報告では血栓静脈炎又は血栓症の危険因子がひとつ以上確認されている。

機構は、血栓形成は稀な有害事象であるものの、重篤になる可能性もあることから、特

に血栓静脈炎又は血栓症の既往を持つ患者での投与には注意が必要であると考え。なお、添付文書案では血栓塞栓合併症のリスクのある患者は慎重投与とされている。

(5) 薬効欠如について

申請者は、本剤で認められた薬効欠如について、以下のように説明している。

薬効欠如は、治療期投与では同一出血エピソードで24時間以内に2回連続「無効」となった場合、定期補充療法では定期投与48時間以内に破綻出血（外傷や不適切用量等を除く）した場合と定義される。評価資料とした4試験において、1/85例（1.2%）に薬効欠如が報告され、当該症例は304試験の6歳男性の重症患者（FIX 活性1%）で、75 IU/kg、週2回の定期補充療法が実施された。6回目の定期補充投与47.5時間後に血尿が発現した。血尿は、本剤5300 IU（84 IU/kg）と補液により治療され、4日後には改善した。4段階有効性評価は、「やや有効」であった。改善後43回の投与が継続され、試験を完了した。また、参考資料とした試験では2/131例（1.5%）に薬効欠如が報告され、いずれもC9418-21試験であった。いずれも出血エピソードに対する治療的投与2回で連続して「反応なし」と判定され、うち1例では治療反応が得られなかった時点でFIX インヒビター発現を認めた。また、海外製造販売後データでは承認取得から約11年間＊に、計91例が報告され、これらの報告書の過去の解析では概して投与量が適切ではなかったことが指摘されていた。このため、医療従事者に対して、患者の回復及び臨床効果を基準として患者ごとに投与量調節することの必要性を強調したところ、報告件数は19年以降減少している。薬効欠如の主な原因として、①出血の程度に見合った投与量が設定されていない場合、②患者固有の生体内回収率やK値が低い場合、及び③FIX インヒビターが出現した場合、に止血に必要なレベルのFIX 活性が得られないことが考えられる。

機構は、本剤の薬効欠如は稀な事象であるものの、当該事象が認められた場合には投与量の設定の再検討を行うこと及び必要に応じてFIX インヒビターの測定が行われることについて、医療情報を医療現場へ提供する必要があると考える。なお、薬効欠如について添付文書案の重要な基本的注意の項で情報提供されている。

(6) 赤血球凝集について

申請者は、本剤で認められた赤血球凝集について、以下のように説明している。

評価資料とした4試験においては5/85例（5.9%）、参考資料とした4試験では3/131例（2.3%）、海外製造販売後データでは承認取得から約11年間＊に計32件が報告されたが、臨床症状を伴わなかったことから、赤血球凝集は臨床上問題ない現象であると考えている。また、旧処方製剤を用いた臨床試験において、投与チューブ及びシリンジ内で赤血球凝集が認められたことから、赤血球凝集を低減するための処方変更を行っている。現行製剤では304試験での1例2件のみの報告で、製造販売後の臨床試験及び自発報告での報告はなかったことから、赤血球凝集の発現を最小限に抑えることが可能と考える。

機構は、赤血球凝集に伴う臨床症状は認められておらず、処方変更も行われていることから、申請者の説明は妥当と判断した。なお、赤血球凝集は、不適切な点滴手技で治療された際に、チューブ又はシリンジの底部の溶液中に血液の塊が観察されることを特徴とするが、添付文書案の適用上の注意の項において赤血球凝集及び赤血球凝集を避けるための投与手技について情報提供されている。

(7) 抗 CHO タンパク抗体について

申請者は、抗 CHO タンパク抗体について以下のように説明している。

本剤は CHO 細胞を用いて製造されているが、臨床現場では CHO 細胞を用いた多くのタンパク質製剤が問題なく使用されていたため、19■■～19■■年に開始した JP 試験及び参考資料の各試験では抗 CHO タンパク抗体の測定は実施しなかった。EMA から追加臨床試験等の実施を指示された際、アレルギー性反応と抗 CHO タンパク抗体発現との関連性をバリデートされた測定法を用いて評価することも指示されていたため、301 試験、302 試験及び 304 試験では抗 CHO タンパク抗体の検討を実施した。各試験での抗 CHO タンパク抗体陽性例は表 4-38 に示すとおりである。

表 4-38 抗 CHO タンパク抗体陽性例

試験名	臨床試験における本剤初回投与前陽性例		本剤投与後陽転例
	全症例	うち本剤未投与前例 ^c	
301 試験	6/25 例 (24.0%) ^a	2/4 例 (50.0%)	1/19 例 (5.3%)
302 試験	12/23 例 (52.2%) ^b	2/3 例 (66.6%)	0/11 例 (0%)
304 試験	12/34 例 (35.3%)	3/11 例 (27.3%)	2/22 例 (9.1%)

^a: 投与前の結果が曖昧な 1 例を含む

^b: 投与前の結果が陽性であり、投与後の測定を実施していない 2 例を含む

^c: 試験前 12 か月以内に本剤を投与されていない症例

臨床試験前 12 か月以内に本剤を投与されていない症例は 18 例のみであったため、本剤未投与の患者における陽性率に関する情報は限られるが、陽性率は 7/18 例 (38.9%) であった。本剤の臨床試験で用いた ELISA 法 (酵素免疫測定法) により、小児及び成人の正常血清検体を用いて検討した結果、正常例での陽性率は小児で 2.9～19%、成人で 38～56% と推定され、臨床試験参加時の初回投与前における陽性率と同様であった。また、臨床試験において本剤投与前に陰性で、試験期間中に陽性となった症例は 3/52 例 (5.8%) であった。

機構は、本剤投与と抗 CHO タンパク抗体発現との因果関係について説明を求め、申請者は以下のように回答した。

本剤の使用歴と臨床試験組み入れ時の抗 CHO タンパク抗体の有無に関連性は認められず、また、本剤の曝露量と抗 CHO タンパク抗体発現や抗体価の変動との間に関連性は認められていないことから、本剤投与と抗 CHO タンパク抗体発現との明確な因果関係は不明であると考えられる。

機構は、抗 CHO タンパク抗体発現の有無により安全性プロファイルが異ならないか説明を求め、申請者は以下のように回答した。

抗 CHO タンパク抗体発現の有無による有害事象の結果は表 4-39 のとおりであり、アレルギー性反応等の有害事象との関係は明らかではなかった。

表 4-39 抗 CHO タンパク抗体発現の有無における有害事象

抗 CHO タンパク抗体の検査結果	陰性 ^a	一過性 ^b	陽性 ^c
例数 ^d	48	17	13
アレルギー性反応	1 (2.1)	1 (6.3) ^e	0 (0.0)
重篤な有害事象	4 (8.3)	1 (6.3)	1 (7.1)
有害事象	38 (79.2%)	14 (82.4%)	11 (84.6%)
副作用	6 (12.5)	3 (17.6)	1 (7.7)

例数 (%)

^a: 試験期間中に反応性を示さなかった例

^b: 試験期間中に陽性及び陰性の両方の結果を示した例

^c: 試験期間中すべて陽性であった例

^d: ベースライン時及び本剤投与後に少なくとも 1 回以上抗 CHO タンパク抗体測定を実施した例

^e: 一過性の陽性とアレルギー性反応との経時的な相関は明確ではない

以上より、抗 CHO タンパク抗体の存在は臨床的に重要でなく、本剤の安全性は患者の抗 CHO タンパク抗体の有無に関わらないものと考ええる。したがって、製造販売後に抗 CHO タンパク抗体に関するデータ収集を行うことは予定していない。

機構は、現段階では抗 CHO タンパク抗体発現と本剤との因果関係は不明であるものの、有害事象との関連性も示唆されていないことから、申請者の回答を了承した。なお、ハムスタータンパク質に対し過敏症の既往歴のある患者への本剤投与については、添付文書案において注意喚起がなされている。

以上の安全性の重点調査事象（FIX インヒビター、アレルギー様徴候、血栓形成、薬効欠如、赤血球凝集）及びその他の事象（抗 CHO タンパク抗体）に対する注意喚起の必要性、その方法等については専門協議において議論したい。

4) 臨床的位置付けについて

機構は、他の FIX 製剤と比較した本剤の臨床的位置付けについて説明を求め、申請者は以下の旨を回答した。

参考資料とした C9407-21/C9408-21 試験では 11 例の PTP を対象に、本剤及び pdFIX 製剤（製品B*）の薬物動態の比較を行った。本剤の K 値及び生体内回収率の平均値は pdFIX 製剤に比べ 28%低かったが、両製剤の半減期は類似しており、本剤の生体内回収率が低いことは主に硫酸化及びリン酸化反応の翻訳後修飾の差異によるものと考えられた（*Thromb Haemost* 78: 261-5, 1997 等）。有効性について直接比較の報告はないものの、公表文献での検討ではクリスマシン[®]M 及び 製品B* と本剤で同様の有効性結果が報告されている（*血栓止血誌* 2: 302-10, 1991 等）。安全性については、米国添付文書等の調査において 製品B*

と本剤の副作用プロファイルは同様であったが、製品B* はヒト血漿に由来するため、ウイルス等の感染性病原体の伝播リスクがあることが記載されている。一方、本剤はハムスタータンパク質に対する過敏症に関し注意が要される。海外における製造販売後調査では、本剤と pdFIX 製剤間で FIX インヒビター発現率及びクラスⅡ及びⅢのアレルギー様徴候の発現率の差は示されていない（「4.3 臨床的有効性及び安全性に関する資料、＜機構における審査の概略＞、3) 安全性について、（2）FIX インヒビターについて及び（3）アレルギー様徴候について」の項参照）。よって、適切な用量調整を行うことにより本剤は pdFIX 製剤と同様の有効性を示し、pdFIX 製剤よりも感染症の懸念が少ない新規の FIX 補充療法の選択肢と位置付けることができると考える。

機構は、国際的な教科書やガイドラインの記述について、Harrison's Principles of Internal Medicine (17th edition, McGraw-Hill, 2008) では、1990 年代より遺伝子組み換え FIX 製剤が導入され、pdFIX 製剤よりも感染症のリスクがさらに低減された旨が記載されている。また、Guidelines for the Management of Hemophilia (World Federation of Hemophilia, 2005) では、FIX 製剤のひとつとして本剤が挙げられており、本剤の生体内回収率は少し低く（理由は不明確）、体重 1kg 当たり 1 単位の FIX を静脈内投与したときの、血漿中の FIX レベルは成人で約 0.8%、15 歳未満の小児では約 0.7%の上昇である旨の記載があった。加えて、以下に挙げる教科書、ガイドライン等でも FIX 濃縮製剤のひとつとして本剤が挙げられている。

- ・ Wintrobe's Clinical Hematology (12th edition, Lippincott Williams & Wilkins, a Wolters Kluwer Business, 2009)

- Guideline on the selection and use of therapeutic products to treat haemophilia and other hereditary bleeding disorders: a United Kingdom Haemophilia Center Doctors' Organisation (UKHCDO) guideline approved by the British Committee for Standards in Haematology (*Haemophilia* **14**: 671-84, 2008)
- The diagnosis and management of factor VIII and IX inhibitors: a guideline from the United Kingdom Haemophilia Centre Doctors Organization (*Brit J Haemat* **133**: 591-605, 2006)
- Registry of clotting factor concentrates (8th edition, World Federation of Hemophilia, 2008)

以上より、機構は、本剤と pdFIX 製剤を比較した情報は限られているものの、本剤は海外において pdFIX 製剤と同様に FIX 製剤のひとつとして位置付けられていると判断した。また、本邦の pdFIX 製剤については、原材料及び製造工程中においてヒト血液に由来する感染症リスクを低減化する対応がなされているものの、当該リスクは完全には否定できないことから、遺伝子組換え製剤である本剤は、pdFIX 製剤に比べ、より感染症リスクの懸念が少ない薬剤であると考ええる。なお、pdFIX 製剤に比べ、本剤の生体内回収率は低いものの、本剤の臨床試験結果を踏まえ用量が設定されていること及び pdFIX との生体内回収率の差異について情報提供することから、臨床使用に対する影響はないと考える。

5) 効能・効果について

申請時の効能・効果は、「血液凝固第 IX 因子欠乏患者の出血傾向を抑制する。」とされていた。機構は、提出された臨床試験成績から血友病 B 患者の止血管理における本剤の有効性が示されていること、及び欧米の効能・効果では血友病 B（先天性血液凝固第 IX 因子欠乏症）患者を対象としていることを踏まえ、本剤の効能・効果を「血友病 B（先天性血液凝固第 IX 因子欠乏症）患者の出血傾向を抑制する。」とすることが適切と考える。また、以下の検討を行った結果、重症度別及び年齢別の設定をする必要はなく、PUP を効能・効果から除外する必要もないと判断した。なお、効能・効果の記載については専門協議での議論を踏まえて最終的に判断したい。

(1) 重症度別及び年齢別の設定について

国際血栓止血学会により、無治療時の FIX 活性として、正常値（1 IU/mL 又は活性 100%）の 1%未満を重症、中等度は 1～5%、軽度は 5%超～40%未満と定義されている（*Thromb Haemost* **85**: 560, 2001）が、提出された評価資料は、重症又は中等症の小児及び成人患者が対象とされていた。

機構は、「インヒビターのない血友病患者の急性出血、処置・手術における凝固因子補充療法のガイドライン」（日本血栓止血学会学術標準化委員会血友病部会）（*血栓止血誌* **19**: 510-9, 2008）では、血友病は頻回に補充療法を必要とする重症以外に中等症、軽症に分類され、中等症、軽症患者における急性出血の頻度は重症に比べれば低い、特に手術・処置における止血に必要な目標因子レベルはほぼ同一であり、多くの場合補充療法が必要であることから、軽症、中等症の場合はそれぞれの患者の治療前の因子レベルを考慮に入れて、目標因子レベルを設定することが望ましい旨の記載がなされている。

機構は、本剤の評価資料では一部の中等症及び軽症患者が含まれておらず、また、すべての年齢層において十分なデータが得られてはいないものの、本剤は既存の pdFIX 製剤と同様の位置付けを持つこと、重症又は中等症の患者における有効性及び安全性が確認され

ていること、本剤は専門医が個別の症例の臨床的状況を総合的に判断し、補充療法が必要とされる患者を選択することから、敢えて効能・効果や、効能・効果に関連する使用上の注意において重症度や年齢に関する設定を記載する必要性はないと判断した。

(2) PUP について

機構は、提出された評価資料では組み入れられたほとんどが PTP であったこと、日本人では PUP に対する投与例がないことから、PTP と PUP に対する本剤の有効性の差異及び海外の PUP の試験成績を日本人 PUP に利用できると判断する理由について説明を求め、申請者は以下のように回答した。

評価資料とした JP 試験、301 試験、302 試験及び 304 試験において、有効性を評価し得た PUP は 1 例（301 試験）のみであった。PUP 1 例のベースライン時の薬物動態パラメータは PTP の薬物動態パラメータの範囲内であった。当該症例において、8/9 出血エピソード（88.9%）が 2 回以内の投与で改善し、本剤投与に対する 4 段階有効性評価では 11/12 回（91.7%）で著効又は有効と判定された。また、定期補充療法実施中には出血エピソードは認められなかった。参考資料である C9418-21 試験では 58 例の PUP に対する本剤の有効性が評価され、897/997 出血エピソード（90.0%）が 2 回以内の投与で改善し、また、各出血エピソードにおける初回投与時の 4 段階有効性評価では、938/997 回の判定（94.1%）で著効又は有効と判定された。これらの PUP 患者における有効性の成績は日本人及び海外 PTP 患者と同様であることから、日本人 PUP 患者にも有効性が期待できる。安全性について、評価資料での PUP 1 例では FIX インヒビターの発現及び随伴するアレルギー様徴候が認められ、また、C9418-21 試験では、2/63 例（3.2%）に FIX インヒビター発現率が、5/63 例（7.9%）にアレルギー様徴候が認められた。これまで最小限の FIX 補充療法しか受けていない患者では免疫反応のリスクが高いことから、PUP において FIX インヒビターの発現及びアレルギー様徴候が認められたことは予想可能な結果であった。

機構は、血友病 B は先天性疾患であり、現時点で補充療法が唯一の対処療法であることから、PUP に対しても本剤の使用が十分予想されると考える。PUP に関する有効性及び安全性のデータは限られており、本邦での使用経験も得られていないものの、本剤は既存の pdFIX 製剤と同様の位置付けを持つこと、PUP と PTP で本剤の作用機序が異なることはないと考えられること、参考資料ではあるものの一定の有効性と安全性を示すデータが存在することから、PUP を敢えて効能・効果から除外する必要はないものと考ええる。ただし、PUP では FIX インヒビター発現及びアレルギー様徴候のリスクが高いと考えられることから、製造販売後には PUP 症例における特別調査を実施し、一定例数を収集する必要があると考える。

6) 用法・用量について

機構は、以下の検討を行い、用法・用量は、「本剤は製剤に添付された溶解液を全量用いて溶解し、数分かけて緩徐に静脈内に注射する。初回用量は通常、本剤 50 IU/kg を投与するが、この初回用量は適宜増減できる。なお、次回以降は患者の状態、体重、血液凝固第 IX 因子の上昇値 $[(\text{IU/dL})/(\text{IU/kg})]$ に応じて適宜増減する。」と設定することが適切であると判断した。また、以下の内容を用法・用量に関連する使用上の注意の項に記載することが適切であると考ええる。

(1) 初回用量の設定について

申請時の用法・用量は、「本剤は製剤に添付された溶解液を全量用いて溶解し、数分かけて緩徐に静脈内に注射する。初回用量は通常、本剤 75 国際単位/kg を投与するが、この初回用量は適宜増減できる。なお、次回以降は患者の状態、体重、血液凝固第 IX 因子の上昇値 [国際単位/dL/(国際単位/kg)] に応じて適宜増減する。」とされていた。また、JP 試験の 3 例における 1 回投与量を表 4-40 のとおりであった。

表 4-40 出血エピソードごとの 1 回投与量 (JP 試験)

出血部位	投与回数	1 回投与量 (IU/kg)		
		20 ≤ < 30	30 ≤ < 40	40 ≤ < 50
関節出血	27	22	0	5
筋肉/軟部組織出血	40	32	0	8
計 (全体に占める割合)	67 (100%)	54 (80.6%)	0 (0%)	13 (19.4%)

機構は、評価資料として日本人での投与経験がない 75 IU/kg を初回用量に設定した経緯について説明を求め、申請者は以下のように回答した。

本剤の必要量は個々の患者における K 値や出血の重症度により異なるが、用量を柔軟に変更する必要性を踏まえ、日本において K 値測定のための初回用量を設定することとした。301 試験、302 試験及び 304 試験において薬物動態検討に用いた用量 (75 IU/kg) 及び出血治療に用いた平均用量 (それぞれ、75.0、54.4 及び 77.9 IU/kg) に基づき、当初は 75 IU/kg と設定した。薬物動態の評価は JP 試験では 50 IU/kg、海外 301 試験、302 試験及び 304 試験では 75 IU/kg で実施されているが、日本人と海外の患者における薬物動態に差があるという証拠は示されていない。しかしながら、JP 試験における 1 回用量の範囲は 22.2~50 IU/kg であり、303-JP においても 50 IU/kg を超える投与は 1 例に短期間行われたのみである (最大 100 IU/kg、6 日間)。JP 試験においては最大 50 IU/kg の投与で出血エピソードの治療効果が認められ、また、K 値の検討においても 50 IU/kg が用いられ、安全性に大きな問題は認められていない。以上の再検討を行った結果、日本人患者に対する本剤の初回用法・用量として 50 IU/kg を推奨することが妥当と考えた。なお、海外における臨床試験及び製造販売後調査において、本剤の過量投与に関連する可能性のある有害事象は報告されていない。

301 試験、302 試験及び 304 試験では、30 IU/kg から 120 IU/kg までの投与量が出血治療時の初回用量として用いられており、出血部位別の初回用量はそれぞれ表 4-41、表 4-42 及び表 4-43 のとおりであった。

表 4-41 初回用量別の 4 段階有効性評価結果 (301 試験) (出血回数 (%))

初回投与時の評価判定	初回用量 (IU/kg)						総出血回数
	≤30	30< ≤60	60< ≤90	90< ≤120	>120	不明	
著効	0 (0.0)	15 (51.7)	6 (46.2)	12 (63.2)	0 (0.0)	1 (33.3)	34
有効	0 (0.0)	12 (41.4)	5 (38.5)	2 (10.5)	0 (0.0)	2 (66.7)	21
やや有効	0 (0.0)	2 (6.9)	1 (7.7)	4 (21.1)	0 (0.0)	0 (0.0)	7
無効	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0
評価せず	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (7.7)	1 (5.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	2
計	0	29	13	19	0	3	64

表 4-42 初回用量別の 4 段階有効性評価結果 (302 試験) (出血回数 (%))

初回投与時の評価判定	初回用量 (IU/kg)						総出血回数
	≤30	30< ≤60	60< ≤90	90< ≤120	>120	不明	
著効	8 (53.3)	30 (45.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (100)	0 (0.0)	39
有効	3 (20.0)	27 (40.9)	13 (86.7)	4 (80.0)	0 (0.0)	1 (100)	48

やや有効	3 (20.0)	7 (10.6)	1 (6.7)	1 (20.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	12
無効	1 (6.7)	1 (1.5)	1 (6.7)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	3
評価せず	0 (0.0)	1 (1.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1
計	15	66	15	5	1	1	103

表 4-43 初回用量別の 4 段階有効性評価結果 (304 試験) (出血回数 (%))

初回投与時の評価判定	初回用量 (IU/kg)						総出血回数
	≤30	30< ≤60	60< ≤90	90< ≤120	>120	不明	
著効	0 (0.0)	3 (10.0)	6 (26.1)	28 (73.7)	2 (66.7)	0 (0.0)	39
有効	0 (0.0)	25 (83.3)	12 (52.2)	5 (13.2)	0 (0.0)	0 (0.0)	42
やや有効	0 (0.0)	1 (3.3)	5 (21.7)	5 (13.2)	1 (33.3)	0 (0.0)	12
無効	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0
評価せず	0 (0.0)	1 (3.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 ^a (100)	2
計	0	30	23	38	3	1	95

^a: 1 例の被験者は最初の出血時の治療的投与時に新処方製剤ではなく旧処方製剤の投与を受けた。

機構は、301 試験、302 試験及び 304 試験における薬物動態検討に用いた用量は 75 IU/kg であり、治療的投与に用いた平均用量はそれぞれ、75.0、54.4 及び 77.9 IU/kg であるものの、海外試験でも 50 IU/kg を含む用量 (30<、≤60) で一定の有効性が確認されていること、JP 試験では 50 IU/kg で有効性及び安全性が示されていること、日本人患者での 50 IU/kg を超える投与は 1 例での限られた経験のみであることから、初回用量としては 50 IU/kg を設定することは差し支えないものと考えるが、専門協議での議論を踏まえて最終的に判断したい。

(2) K 値の設定について

生体内回収率及び K 値について、申請者は以下のように説明している。

本邦の既承認の類薬で添付文書中に患者個々の生体内回収率もしくは K 値に基づき投与量を決定することを記載している薬剤はないが、本邦のガイドラインである「インヒビターのない血友病患者の急性出血、処置・手術における凝固因子の補充療法のガイドライン」(日本血栓止血学会学術標準化委員会血友病部会)(*血栓止血誌* 19: 510-9, 2008)では、個々の症例の血漿中第 IX 因子レベルを確認し、以下の計算式を用いて調整することが推奨されている。

必要投与量 (単位) = 体重 (kg) × 目標ピークレベル (%) × [0.75~1]

本剤において以下の計算式を用法・用量に関連する使用上の注意として設定することとしており、上記ガイドラインと計算式の意味する内容は合致している。

必要な FIX 単位 = 体重 (kg) × FIX の目標上昇値 (%又は IU/dL) × FIX 上昇値 (K 値) の逆数 (IU/dL あたりの IU/kg)

また、本邦の専門医に聴取した結果、当該方法は既に臨床現場で実施しており、本剤の投与開始時に K 値を測定し、患者ごとに投与量設定を行うことは可能である旨の回答を得ている。

機構は、出血時と非出血時における生体内回収率あるいは K 値の差異について説明を求め、申請者は以下のように回答した。

参考資料とした C9418-21 試験において、出血時の K 値の中央値は 0.62 (IU/dL) / (IU/kg)

(範囲 0.29～2.08、4 例) であり、非出血時の中央値の 0.61 (IU/dL) / (IU/kg) (範囲 0.33～1.43、36 例) と大きな差は認められなかった。また、pdFIX 製剤に関しては出血状態等が生体内回収率に有意な影響を与えないとの報告がある (*Thromb Haemost* 73: 779-84, 1995)。

機構は、得られている情報は限られていることから、本剤の投与開始時に測定した生体内回収率もしくは K 値に基づき投与量を設定することが可能か、専門協議での議論を踏まえて最終的に判断したい。

(3) 投与速度について

機構は、数分かけて緩徐に静脈内投与するとされていることから、本剤の投与速度と有害事象との関係について説明を求め、申請者は以下のように回答した。

チアノーゼ、動悸又はその他の血液希釈・血液量過多に関連する症状を予防するための、本剤の投与速度の調節は不要であると考える。表示力価 250～2000 IU の 5mL バイアルを基準とすれば、通常の本剤の薬液量は 5～10mL となるが、投与方法により発現する可能性のある局所反応の有害事象頻度を少なくするため、又は本剤の投与に関連する副作用の発現率や重症度を低くするために、本剤の緩徐な投与を推奨している。注射部位反応及び注射部位疼痛はそれぞれ 9/213 例 (4.2%) 及び 5/213 例 (2.3%) に認められており、これらの患者に同様の反応が繰り返し発現したとの報告はないことから、薬剤の投与過程又は投与方法が局所的な副作用発現に関与しており、薬剤自体の関与ではないと考える。また、これら以外の本剤の投与に関連する副作用が本剤投与中に認められた場合には、副作用の消失又はその重症度を軽減するため、本剤の投与を中止又は投与速度を落とすことが推奨され、本剤の急速な投与はすべきでないと考える。

機構は、本剤投与に関連する副作用の重症度を低減化するために、当該設定を行うことは適切であると判断した。

(4) 持続注入投与について

機構は、提出された臨床試験成績では持続注入投与に関する情報が限られているため、本剤の持続注入投与に関する有効性及び安全性は確立していない旨を注意喚起する必要があると考えるが、専門協議での議論を踏まえて最終的に判断したい。

7) 製造販売後の検討事項について

申請者は、製造販売後の検討事項について、以下のように述べている。

製造販売後の一定期間、1) 未知の有害事象、2) 有害事象の発現状況、3) 安全性に影響を及ぼすと考えられる要因、4) 有効性等を把握することを目的とした中央登録方式による全例調査を実施する。FIX インヒビター発現率、薬効欠如、アレルギー様徴候及び血栓形成を重点調査事項とし、調査対象は PTP 及び PUP 合計 100 例、登録期間は 1 年間、症例観察期間は PTP で 1 年間、PUP で 2 年間とする。調査対象のうち 12 例については、FIX 上昇値の測定を行う。

機構は、本剤の国内臨床試験で検討された症例数は極めて限られており、本剤の初回用量の適切性、手術期投与や PUP に対する日本人症例での十分な情報が得られているとはいえないこと等から、製造販売後の一定期間は使用全例を対象とした調査を実施することが適切と考える。なお、調査方式、調査項目、調査期間、調査対象別の症例数等の製造販売後調査の詳細については、専門協議での議論を踏まえ最終的に判断したい。

Ⅲ. 承認審査資料適合性調査結果及び判断

1) 適合性書面調査結果に対する機構の判断

薬事法の規定に基づき承認申請書に添付すべき資料に対する書面適合性調査が、前回承認申請時には C9623-21-JP 試験に対して、今回申請時には 301 試験及び 302 試験に対して実施された。今回申請時の調査では米国ワイス社のサーバーに電子的に保管されている症例報告書等の資料に対しリモートアクセスにより実施した。いずれの調査においても、試験の信頼性又は結果の評価に影響を及ぼすと思われる事項は認められず、提出された資料に基づき審査を行うことについて支障はないものと機構は判断した。

2) GCP 実地調査結果に対する機構の判断

薬事法の規定に基づき承認申請資料に添付すべき資料(C9623-21-JP 試験)に対して GCP 実地調査が実施され、治験依頼者と治験実施医療機関との契約書の不備、治験薬の投与に関する症例報告書の不備、治験実施医療機関において治験薬の管理が適切に実施されていない事例等が認められたが、提出された承認申請資料に基づき審査を行うことに支障はないものと機構は判断した。

Ⅳ. 総合評価

提出された臨床試験成績から、血友病 B 患者の止血管理における本剤の有効性は示されているものと判断した。また、臨床試験において認められた FIX インヒビターやアレルギー様徴候等の有害事象には注意を要するものの、本剤の安全性についても忍容可能と判断した。

なお、本剤の製造工程では細胞株以外の動物由来原材料が使用されておらず、ヒト血液に由来する潜在的な感染性リスクの低減が見込まれること、さらに、海外では本剤が 1990 年代に導入され、pdFIX 製剤とともに血友病 B 患者の治療に広く使用されていることから、本剤を本邦における血友病 B 患者の治療選択肢のひとつとして医療現場に提供することは意義があるものと考ええる。

以上の検討内容を踏まえ、機構は、本剤を承認して差し支えないものと考えるが、専門協議での議論を踏まえて最終的に判断したいと考える。なお、専門協議では以下の点を中心に議論を行う。

- 1) 有効性について
- 2) 安全性について
- 3) 効能・効果について
- 4) 用法・用量について
- 5) 製造販売後調査について

以下に、現時点における効能・効果、用法・用量を記載する。

＜効能・効果＞

血友病 B（先天性血液凝固第 IX 因子欠乏症）患者の出血傾向を抑制する。

＜用法・用量＞

本剤は製剤に添付された溶解液を全量用いて溶解し、数分かけて緩徐に静脈内に注射する。初回用量は通常、本剤 50 国際単位/kg を投与するが、この初回用量は適宜増減できる。なお、次回以降は患者の状態、体重、血液凝固第 IX 因子の上昇値〔（国際単位/dL）／（国際単位/kg）〕に応じて適宜増減する。

審査報告 (2)

平成 21 年 8 月 20 日

I. 申請品目

〔販 売 名〕	ベネフィクス静注用 250、同 500、同 1000、同 2000
〔一 般 名〕	ノナコグアルファ（遺伝子組換え）
〔申 請 者 名〕	ワイス株式会社
〔申請年月日〕	平成 20 年 10 月 31 日

II. 審査内容

独立行政法人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。専門委員との協議の概要を以下に記す。

なお、本専門協議の専門委員からは、本申請品目について、平成 20 年 12 月 25 日付 20 達第 8 号「医薬品医療機器総合機構における専門協議等の実施に関する達」4（（2）を除く）又は 5（1）各項に該当しない旨の申し出がなされている。

1) 有効性について

①有効性の評価項目及び判定方法について

機構は、血友病における止血管理に関する有効性の評価項目及び判定方法について、現時点では客観的な指標は確立されていないことから、提出された評価資料において主観的な評価方法を用いたことはやむを得なかったものと考えた。したがって、出血時の治療的投与における本剤の有効性評価に際しては、出血部位別有効性評価の結果に加え、止血に要した投与回数等の結果を総合的に判断する方針とした。

専門委員より、JP 試験における有効性評価基準（4 段階評価）は、これまでに使用した他の FIX 製剤との比較となっており、具体的な止血効果を判定しにくいことは否めないが、301 試験、302 試験及び 304 試験の有効性評価基準では疼痛や腫脹等の評価指標が含まれていることから、これらの海外試験結果や止血に要した投与回数等の結果を総合的に判断して有効性評価を行うことは妥当であるとの意見が出され、上記の機構の方針は専門委員から支持された。

②有効性の評価結果について

機構は、提出された評価資料では、出血時の治療的投与において著効／有効（JP 試験においては非常に良好／良好）と判定されたエピソードが大部分を占めていること、止血に要した本剤の投与回数は多くが 1 又は 2 回であることに加え、血友病 B は FIX を補充しなければ止血が困難な疾患であること等を総合的に判断し、本剤の出血時の治療的投与における有効性は示されたものと判断した。

また、手術期投与については、実施した症例は限られており、本剤の有効性は明確には示されていないものの、血友病 B 患者の手術時には FIX を補充しなければ止血が困難なことは明らかであり、提出された評価資料ではいずれの症例も 5 段階総合評価は有用以上であることから、本剤の有効性は期待できるものと考えた。ただし、日本人での手術期投与の使用経験は得られておらず、本邦での手術期投与の有効性は不明であることから、製造販売後に引き続き情報収集を行う必要があると判断した。

一方、本剤の定期補充療法について、定期補充療法と治療的投与における 30 日あたりの出血回数の比較では、定期補充療法で低い傾向があるものの、当該結果は両投与方法を比

較するよう計画された臨床試験で得られたものではないことから、探索的な結果に留まるものと判断した。加えて、提出された評価資料では日本人における定期補充療法の成績は得られておらず、本邦での定期補充療法の有効性は検証されていないと判断した。

上記の機構の判断は専門委員から支持された。

2) 安全性について

機構は、提出された臨床試験で認められた有害事象の種類、重症度、発現率等の情報から、本剤の有害事象は忍容可能であると判断するものの、日本人における投与経験は非常に限られていることから、製造販売後には有害事象の種類、重症度や発現率等に関してさらに情報収集を行い、新たな情報が得られた場合には適切に医療現場に情報提供を行う必要があると判断した。特徴的な有害事象として、FIX インヒビター発現、アレルギー様徴候、血栓形成、薬効欠如及び赤血球凝集には適切な注意喚起が必要と判断したが、上記の機構の判断は専門委員より支持された。

また、専門委員より下記の意見が出された。血友病 B 患者における FIX 製剤に対するアレルギー症状は、FIX インヒビターに起因する可能性が高いと考えられており、PCC 製剤を含む FIX 製剤すべてにアレルギー症状やアナフィラキシー症状の発症リスクが存在する。したがって、適切な注意喚起を行うとともに、pdFIX 製剤に対する過敏症を有する患者に本剤を投与する際には、FIX インヒビターの検査を行い、必要に応じて遺伝子組換え活性型血液凝固第 VII 因子製剤の投与も考慮すべきである。

機構は、pdFIX 製剤に対する過敏症を有する患者について添付文書で適切に注意喚起を行うよう申請者に指示したところ、pdFIX 製剤に対する過敏症を有する患者に対しては慎重投与とされたことから、機構はこれを了承した。

機構は、現段階では本剤と抗 CHO タンパク抗体発現との因果関係は不明であり、抗 CHO タンパク抗体発現と有害事象との関連性も示唆されていないことから、抗 CHO タンパク抗体の存在は臨床的に問題となるものでなく、製造販売後に抗 CHO タンパク抗体に関するデータ収集を行うことは予定していないとの申請者の回答を了承した。また、本邦では遺伝子組換え血液凝固因子製剤を含む CHO 又は BHK 細胞に由来する遺伝子組換え医薬品で、ハムスタータンパク質に対する過敏症の既往歴のある患者に対して原則禁忌とされている製剤はないが、申請者は原則禁忌としていることから、機構は、当該設定の必要性について専門委員に意見を求めた。

専門委員からは、本剤では HCP の含量が多く、長期投与される薬剤であるため注意が必要であり、代替製剤が存在することから、ハムスタータンパク質に対する過敏症の既往歴のある患者については原則禁忌が望ましいとの意見が出された。

機構は、専門委員の意見を踏まえ、ハムスタータンパク質に対し過敏症の既往歴のある患者については、申請者案のとおり原則禁忌と設定することが適切と判断した。

3) 臨床的位置付けについて

機構は、本剤と pdFIX 製剤を比較した情報は限られているものの、本剤は海外において pdFIX 製剤と同様、FIX 製剤のひとつとして位置付けられていると理解している。また、本邦の pdFIX 製剤については、原材料及び製造工程中においてヒト血液に由来する感染症リスクを低減化する対応がなされているものの、当該リスクは完全には否定できないことから、遺伝子組換え製剤である本剤は、血友病 B 治療における選択肢として pdFIX 製剤と同

様の位置付けを有するとともに、pdFIX 製剤に比べ、より感染症のリスクが少ない薬剤であると考え。なお、本剤の生体内回収率は pdFIX 製剤より低いものの、本剤の用量は臨床試験成績を踏まえて設定されていること、pdFIX 製剤との生体内回収率の差異については添付文書上で情報提供されていることから、臨床使用において特段の問題はないと考えた。

上記の機構の判断は専門委員より支持された。

4) 効能・効果について

機構は、提出された臨床試験成績から、本剤の血友病 B 患者の止血管理における有効性が示されていること、欧米における本剤の効能・効果は血友病 B（先天性血液凝固第 IX 因子欠乏症）患者を対象とされていることを踏まえ、本剤の効能・効果を「血友病 B（先天性血液凝固第 IX 因子欠乏症）患者における出血傾向の抑制」とすることが適切と考えた。また、効能・効果において重症度や年齢に関する設定をする必要や PUP を対象から除外する必要はないと判断した。上記の機構の判断は専門委員より支持された。

5) 用法・用量について

機構は、用法・用量は、「本剤は製剤に添付された溶解液を全量用いて溶解し、数分かけて緩徐に静脈内に注射する。初回用量は通常、本剤 50 国際単位/kg を投与するが、この初回用量は適宜増減できる。なお、次回以降は患者の状態、血液凝固第 IX 因子の上昇値〔（国際単位/dL）／（国際単位/kg）〕に応じて適宜増減する。」と設定することが適切であると判断した。上記の機構の判断に対し、専門委員より下記の意見が出された。

- ・ 初回用量を出血の部位や重症度に応じて調節することもある。
- ・ FIX 製剤の生体内回収率については個人差が大きいので、原則、全例で生体内回収率を一度確認することを推奨すべきである。なお、生体内回収率の測定自体は比較的容易であるものの、検査を外部委託する場合には、結果が得られるまで時間を要する。
- ・ 持続注入は、外科手術時や観血的処置時にトラフ値を一定に保てるため不可欠な方法であるものの、十分な知識と経験を有する医師のもとで実施される必要があり、添付文書において安全性、有効性は確立していない旨を記載し、製造販売後に情報収集することが望ましい。
- ・ 本剤は自己注射される場合もあることから、投与速度について可能な限り具体的に示すことが望ましい。
- ・ FIX 活性をモニタリングできる施設は限られており、aPTT で代用する場合も多いことから、臨床現場の実情に合わせた記載にすることが望ましい。

機構は、用法・用量において初回用量の目安を示す必要性があり、JP 試験成績において 50 IU/kg で有効性・安全性が認められていること、初回用量は臨床症状、重症度や出血部位等の患者の状態に応じて適宜増減することが可能であることから、初回用量を 50 IU/kg と設定した上で、患者の状態に応じ、国内外の最新のガイドラインを参考にして調整する旨の注意喚起を行うことが適切と判断した。なお、初回用量は臨床症状、重症度や出血部位等の患者の状態に応じて適宜増減できることを明確にするため、用法・用量の項での記載を「患者の状態に応じて適宜増減できる」（下線部追加）に修正することとした。また、次回以降の用量については、用法・用量に関連する使用上の注意の項に示した計算式に基づき、各患者の状態や K 値（FIX 上昇値）に応じて適宜増減することが適切と判断した。

また、持続注入については、重要な基本的注意の項において、安全性、有効性は確立していないとした上で、血友病治療に十分な知識と経験を有する医師のもとで行う旨の注意

喚起を行うこと、本剤の投与速度については、提出された臨床試験成績を踏まえ可能な限り具体的な記載とすること、FIX 活性のモニタリングについては、用法・用量に関連する使用上の注意の項の記載を、aPTT で代用する場合も考慮した内容とする旨を申請者に指示し、申請者はこれを了解した。

6) 製造販売後の検討事項について

申請者は、製造販売後に、①未知の有害事象、②有害事象の発現状況、③安全性に影響を及ぼすと考えられる要因、④有効性等を把握することを目的として、中央登録方式による全例調査（登録期間 1 年）を実施し、PTP と PUP の情報を計 100 例収集すると説明した。また、重点調査事項として FIX インヒビター、アレルギー様徴候、血栓形成及び薬効の減弱（機構注：「薬効欠如」では調査内容が具体的に分かりにくいことから、適切な表現にすべきとの専門委員の指摘を踏まえ修正）を、調査項目として赤血球凝集の発現状況を検討するとともに、12 例を対象として、初回投与かつ非出血時に K 値を測定すると説明した。

機構は、本剤での治験症例は極めて限られていることから、製造販売後の一定期間は本剤を使用した全例を対象とした調査を実施することが適切と判断した。

上記の機構の判断は専門委員より支持された。

また、専門委員からは以下の意見が出された。

- ・日本人への投与経験が極めて限られていることから、全例調査は必須であり、一定数の症例に係るデータが蓄積されるまで数年をかけても収集することが望ましい。
- ・PUP について十分な症例を集めることが困難であることは理解するものの、出来る限り多くの情報を収集することが望ましい。
- ・K 値の測定については、非出血時に限定せず、また、可能な限り全例で行うことが望ましい。

機構は、専門委員からの意見を踏まえ、申請者に対して登録期間を 5 年間、目標調査症例数を 300 例（うち PUP 20 例）に変更する旨、K 値の測定については非出血時に限定せず可能な限り全例で行う旨を指示した。なお、現時点では登録可能な症例数の厳密な推定は困難であること、本邦における血友病 B 患者数は 891 人と報告されていること等を踏まえ、製造販売後の症例の集積収集状況や使用実態も考慮し、登録期間中の適切な時期に目標調査症例数等を再検討することも必要と判断した。また、製造販売後 2 年を目処に評価検討を行い、収集した情報を適切に医療現場に情報提供することが必要と判断した。

7) その他

① 販売名について

申請時における販売名は「ベネフィクス静注用キット 250」、「同 500」、「同 1000」及び「同 2000」であったが、「注射剤に溶解液等を組み合わせたキット製品等の取扱いについて」（昭和 61 年 3 月 12 日付薬審 2 第 98 号）を踏まえ検討した結果、本品目はキットに該当しないと判断されたことから、販売名は「ベネフィクス静注用 250」、「同 500」、「同 1000」及び「同 2000」に変更された。

② rFIX の切断体の管理について

機構は、rFIX の切断体含量が原薬及び製剤の規格に設定されていなかったこと及び rFIX の切断体の有効性及び安全性に及ぼす影響が不明であることから、これを管理するよう求めたところ、申請者は以下の旨を説明した。

SDS-PAGE では rFIX の切断体の定量に関して大きなばらつきが認められ、RP-HPLC では主ピーク中に rFIX の切断体が含まれると考えられることから、これらの試験は rFIX の切断体の定量に適切な試験法ではない。また、過去に製造された原薬ロットにおいて、rFIX の切断体のプロファイルに著明な変化は認められていない。しかしながら、rFIX の切断体含量を管理するため、①原薬の純度試験（不純物 1（SDS-PAGE（還元）））の申請時の規格「全バンド強度に対するノナコグアルファ関連物質以外のバンド強度の合計の割合を求めるとき、■%以下である。」を「全バンド強度に対する標準物質で同定された目的物質／目的物質関連物質／目的物質由来不純物以外のバンド強度の合計の割合を求めるとき、■%以下である。また、試料溶液及び標準溶液から得たゲルを比較するとき、標準物質で同定された目的物質由来不純物の泳動パターン及び染色強度は同様である。」に変更し、②原薬及び製剤の確認試験（SDS-PAGE（還元））並びに製剤の純度試験（不純物（RP-HPLC））で設定されている標準物質との比較において、泳動パターン又はクロマトグラムのプロファイルに変化を認めた場合には、更なる調査を行う。

機構は、申請者の回答を了承した。

8) 審査報告 (1) の訂正について

審査報告 (1) について、誤記や内容をより適切に表現するため、以下のとおり記載の一部を訂正する。なお、本記載内容の変更は、本剤の評価に影響しないと判断する。

頁	行	改訂前	改訂後
25	37 及び 38	血小板数の有意な減少が認められ、他の 1 ロット (4706A01) の 3 測定時点で	血小板数の有意な減少及び増加が認められ、他の 1 ロット (4715L01) の 3 測定時点で
40	16 及び 18	visit999	visit999 [最終来院時]
48	26	うち、20 件 (31.3%) は治療的投与で、44 件 (68.8%) は定期補充療法を受けていた 15 例で発現した。	うち、20 回 (31.3%) は治療的投与で、44 回 (68.8%) は定期補充療法を受けていた 15 例で発現した。
64	表 4-34	0.259 回/30 日 (17 例 ^a)	0.256 回/30 日 (17 例 ^a)
64	表 4-34	1.820 回/30 日	1.795 回/30 日
68	表 4-37	4/88 (4.6)	4/88 (4.5)
68	表 4-37	15/248 (6.1)	15/248 (6.0)
69	13	5/63 例 (8.9%)	5/63 例 (7.9%)
69	15	高度の悪感	高度の悪寒
70	28 及び 29	3/131 例 (2.3%)	2/131 例 (1.5%)

III. 総合評価

提出された臨床試験結果から、血友病 B 患者の止血管理における本剤の有効性は示されていると判断した。また、臨床試験において認められた FIX インヒビターやアレルギー様徴候等の有害事象には注意を要するものの、本剤の安全性についても忍容可能と判断した。ただし、国内での治験症例は極めて限られていることから、製造販売後に本剤を使用した全症例を対象とした製造販売後調査を実施する必要があると判断した。

なお、本剤の製造工程では CHO 細胞以外の動物由来原材料が使用されておらず、感染症リスクの低減が見込まれること、さらに、海外では本剤が 1990 年代に導入され、pdFIX 製剤とともに血友病 B 患者の治療に広く使用されていることから、本剤を血友病 B 治療における選択肢のひとつとして医療現場に提供することは意義があるものと考ええる。

以上の審査を踏まえ、機構は、効能・効果及び用法・用量を以下のように整備し、下記の承認条件を付した上で、本剤を承認して差し支えないと判断する。

本剤は新有効成分含有医薬品であり、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と判断する。また、本剤は生物由来製品に該当し、原体及び製剤は毒薬又は劇薬のいずれにも該当しないと判断する。

< 効能・効果 >

血友病 B（先天性血液凝固第 IX 因子欠乏症）患者における出血傾向の抑制

< 用法・用量 >

本剤は製剤に添付された溶解液を全量用いて溶解し、数分かけて緩徐に静脈内に注射する。初回用量は通常、本剤 50 国際単位/kg とするが、患者の状態に応じて適宜増減できる。また、次回以降は患者の状態、血液凝固第 IX 因子の上昇値 [(国際単位/dL) / (国際単位/kg)] に応じて適宜増減する。

< 承認条件 >

国内での治験症例が極めて限られていることから、製造販売後、一定数の症例に係るデータが集積されるまでの間は、本剤を使用した全症例を対象とした使用成績調査を実施することにより、本剤使用患者の背景情報を把握するとともに、本剤の安全性及び有効性に関するデータを早期に収集し、本剤の適正使用に必要な措置を講じること。

審査報告書 (2)

平成 21 年 9 月 8 日

独立行政法人医薬品医療機器総合機構

[販 売 名]	ベネフィクス静注用 250、同 500、同 1000、同 2000
[一 般 名]	ノナコグアルファ（遺伝子組換え）
[申 請 者 名]	ワイス株式会社
[申請年月日]	平成 20 年 10 月 31 日

[審 査 結 果]

審査報告書の作成と同時期に、薬事法の規定に基づき承認申請書に添付すべき資料（3090A1-301-WW 試験、3090A1-302-WW 試験）に対する GCP 実地調査が実施された。その結果、治験依頼者と一部の治験実施医療機関において、治験責任医師の変更手続きに係る不備（契約変更）等の事例が認められたが、提出された承認申請資料の信頼性に影響はないものと機構は判断した。