

衛研発 第 2085 号
平成 13 年 2 月 2 日

厚生労働省医薬局長 殿

国立医薬品食品衛生研究所長

審査報告書

承認申請のあった別記の医薬品にかかる医薬品医療機器審査センターでの審査の結果を以下の通り報告する。

記

販売名 トラフェルミン原液、フィブラストスプレー250、同 500

一般名 トラフェルミン（遺伝子組換え）

申請者名 科研製薬株式会社

申請年月日 平成 8 年 6 月 28 日

薬効分類名 269（その他の外皮用薬）

申請区分 新有効成分含有医薬品 1 - (1)

化学構造式

分子式 $C_{764}H_{1201}N_{217}O_{219}S_6$ （65%以上）及び $C_{761}H_{1196}N_{216}O_{218}S_6$ （35%以下）

分子量 17122.67 及び 17051.59

構造式 R-Gly-Ser-Ile-Thr-Thr-Leu-Pro-Ala-Leu-Pro-Glu-Asp-Gly-Gly-Ser-Gly-Ala-Phe-Pro-Pro-Gly-His-Phe-Lys-Asp-Pro-Lys-Arg-Leu-Tyr-Cys-Lys-Asn-Gly-Gly-Phe-Phe-Leu-Arg-Ile-His-Pro-Asp-Gly-Arg-Val-Asp-Gly-Val-Arg-Glu-Lys-Ser-Asp-Pro-His-Ile-Lys-Leu-Gln-Leu-Gln-Ala-Glu-Glu-Arg-Gly-Val-Val-Ser-Ile-Lys-Gly-Val-Cys-Ala-Asn-Arg-Tyr-Leu-Ala-Met-Lys-Glu-Asp-Gly-Arg-Leu-Leu-Ala-Ser-Lys-Cys-Val-Thr-Asp-Glu-Cys-Phe-Phe-Phe-Glu-Arg-Leu-Glu-Ser-Asn-Asn-Tyr-Asn-Thr-Tyr-Arg-Ser-Arg-Lys-Tyr-Thr-Ser-Trp-Tyr-Val-Ala-Leu-Lys-Arg-Thr-Gly-Gln-Tyr-Lys-Leu-Gly-Ser-Lys-Thr-Gly-Pro-Gly-Gln-Lys-Ala-Ile-Leu-Phe-Leu-Pro-Met-Ser-Ala-Lys-Ser

R = Ala-Ala（65%以上） R = Ala（35%以下）

化学名

（日本名）ヒト由来の塩基性線維芽細胞成長因子ゲノム遺伝子の発現により組換え体で産生される 154 個（ $C_{764}H_{1201}N_{217}O_{219}S_6$ ；分子量：17,122.67）及び 153 個（ $C_{761}H_{1196}N_{216}O_{218}S_6$ ；分子量：17,051.59）のアミノ酸残基からなるたん白質（N 末端；Ala-Ala：65%以上、Ala：35%以下）

（英名）protein consisting of 154 amino acid residues ($C_{764}H_{1201}N_{217}O_{219}S_6$ ；molecular weight：17,122.67) and 153 amino acid residues ($C_{761}H_{1196}N_{216}O_{218}S_6$ ；molecular weight：17,051.59), produced in a recombinant cell by expression of a human basic fibroblast growth factor genomic gene (N-terminal；Ala-Ala：more than 65%, Ala：not more than 35%)

特記事項 なし

審査担当部 審査第一部

審査結果

平成 13 年 2 月 2 日作成

販売名 トラフェルミン原液、フィブラストスプレー250、同 500
一般名 トラフェルミン（遺伝子組換え）
申請者名 科研製薬株式会社
申請年月日 平成 8 年 6 月 28 日

審査結果

有効性について

後期第 相用量設定試験の結果が 0.01%を頂点とするベル型を示したことより、この濃度における第 相二重盲検によらない比較対照試験が行われ、白糖・ポビドンヨード配合剤との同等性が示された。また、事後解析ではあるが、本剤は最終全般改善度及び有用度においては対照薬に比して有意に優れるという結果であった。なお、対照薬である白糖・ポビドンヨード配合剤は承認時に実施された比較対照試験でソルコセリル軟膏（幼牛血液抽出物軟膏）に有用性で優れる結果が得られている。

安全性について

成長因子に由来する腫瘍発生を初めとした懸念すべき有害事象は、本申請に関する試験の範囲ではみられていない。しかしながら、本剤が血管内皮細胞、線維芽細胞に対する増殖因子であり、悪性腫瘍発生・進展の危険因子になる可能性が否定できないことから、添付文書において十分な注意喚起が行われた。なお、審査センターは、本剤の安全性を確認するための市販後調査を十分に実施する必要があると考える。

以上、医薬品医療機器審査センターにおける審査の結果、本品目は以下の効能・効果、用法・用量で承認して差し支えないと判断する。なお、以下の条件を付すことが適当であると判断した。

効能・効果 褥瘡、皮膚潰瘍（熱傷潰瘍、下腿潰瘍）

用法・用量 添付溶解液 1 mL あたりトラフェルミン（遺伝子組換え）として 0.1mg を用時溶解し、潰瘍面を清拭後、本剤専用の噴霧器を用い、1 日 1 回、潰瘍の最大径が 6cm 以内の場合は、潰瘍面から約 5cm 離して 5 噴霧（トラフェルミン（遺伝子組換え）として 30 μ g）する。潰瘍の最大径が 6cm を超える場合は、薬剤が同一潰瘍面に 5 噴霧されるよう、潰瘍面から約 5cm 離して同様の操作を繰り返す。

[承認条件]

1. 使用実態下における本薬の安全性・有効性並びに投与終了後の悪性腫瘍等、異常所見の発現について可能な限り本薬投与終了後の患者を対象に、3 年間の追跡調査を行うこと。
2. 本薬の臨床における腎機能（糸球体機能・尿細管機能）への影響について検討し、速やかにその結果を報告すること。

審査報告(1)

平成 12 年 8 月 8 日

1 . 品目の概要

[販 売 名]	トラフェルミン原液、フィブラストスプレー-250、同 500
[一 般 名]	トラフェルミン(遺伝子組換え)
[申 請 者]	科研製薬株式会社
[申請年月日]	平成 8 年 6 月 28 日
[剤形・含量]	スプレー剤 [1 バイアル(232.76mg) 中トラフェルミン(遺伝子組換え)として 0.25mg(30 万国内標準単位)(フィブラストスプレー-250)及び 1 バイアル(465.5mg) 中トラフェルミン(遺伝子組換え)として 0.5mg(60 万国内標準単位)(フィブラストスプレー-500) を含む。]
[申請時の効能・効果]	褥瘡、皮膚潰瘍(熱傷潰瘍、糖尿病性潰瘍、下腿潰瘍)
[申請時の用法・用量]	添付溶解液 1mL あたりトラフェルミン(遺伝子組換え)として 100 µg を用時溶解し、潰瘍面を清拭後、噴霧口の先端を潰瘍面から約 5cm の距離に置き、1 日 1 回、一度に 5 回潰瘍部位に均一に噴霧する。この操作により直系約 6cm の円形状に薬剤が噴霧される。潰瘍面の最大径が 6cm を超える場合は、重ならないように同様の操作を繰り返し、潰瘍部位に均一に薬剤を噴霧する。周辺皮膚に付着した薬剤は脱脂綿等で拭き取り、潰瘍部位をガーゼ等で保護する。
[特記事項]	なし

2 . 提出された資料の概略及び審査センターにおける審査の概要

[本品目については審査センターにおける審査の他、多くの部分については新医薬品第一調査会(平成 10 年 5 月 11 日、平成 10 年 5 月 25 日、平成 11 年 9 月 27 日及び平成 11 年 10 月 12 日開催)で審議されている。]

イ . 起原又は発見の経緯及び外国における使用状況等に関する資料

トラフェルミンは遺伝子組換え技術により米国カリフォルニア・バイオテクノロジー社(現サイオス社)が大腸菌を用いて製造したヒト塩基性線維芽細胞成長因子(basic fibroblast growth factor、bFGF)である。

bFGF の発見は、1974 年 Gospodarowicz がウシ脳下垂体から線維芽細胞の増殖を著しく促進するたん白質を見出し、FGF(線維芽細胞成長因子)と命名したのに端を発する。1984 年になって、FGF には 2 つのたん白質、bFGF 及び酸性線維芽細胞成長因子(acidic fibroblast growth factor、aFGF)が存在することが明らかになった。1984 年にウシ脳下垂体の bFGF の全アミノ酸配列がわかり、1986 年にサイオス社がヒト bFGF の cDNA をクローニングした。bFGF は分子量約 17kDa の糖鎖をもたない一本鎖ポリペプチドで、ヘパリン親和性をもつことが知られている。

bFGF は *in vitro* において線維芽細胞の増殖を促進するのみならず、血管内皮細胞、血管

平滑筋や上皮細胞など創傷治癒に関わる種々の細胞に対し、FGF の受容体を介して遊走や増殖を促進する。このような細胞増殖を促進する成長因子は、bFGF のほかに、血小板由来促進因子 (PDGF) 上皮成長因子 (EGF)、インスリン様成長因子-I (IGF-I)、トランスフォーミング成長因子 (TGF- β) などが知られている。また bFGF は血管内皮成長因子 (VEGF) 同様、血管新生因子としての作用も有する。

申請者は、
、遺伝子組換えヒト bFGF についてサイオス社との間でライセンス契約を締結し、本邦
での開発販売権を取得し、難治性皮膚潰瘍、褥瘡などに対する創傷治癒薬として、非臨床試験及び臨床試験を行った。

ロ．物理的・化学的性質並びに規格及び試験方法等に関する資料

bFGF は、154 個のアミノ酸から構成される分子量約 17kDa の糖鎖を有しない一本鎖ポリペプチドである。

本薬は、遺伝子組換えによって得られた bFGF であり、154 個のアミノ酸からなるペプチドと N 末端アミノ酸が脱離した 153 個のアミノ酸から構成されるペプチドとの混合物である。本薬は、下記に示す方法で製造された。

即ち、

これを原体トラフェルミン原液とし、凍結保存した。

トラフェルミンの構造は、アミノ酸組成、末端アミノ酸、ペプチド分析、アミノ酸配列及び質量分析によって解析がなされ、ヒト bFGF の構造と同一であった。物理化学的性質

、免疫化学的性質、生物学的性質、pH 安定性及び強制劣化品の類縁物質が検討された。類縁物質として、

が推定された。

原薬の規格は、実測値を基に性状、確認試験
、pH、N-末端アミノ酸配列、ペプチドマッピング、純度試験

、発熱性物質試験及び定量が設定された。

製剤であるフィブラストスプレーは、トラフェルミン凍結乾燥品と、添付溶解剤及びス

プレー容器から構成される。トラフェルミン凍結乾燥品は、トラフェルミン原液と添加物溶液を混合した後、バイアルに充填し、凍結乾燥することにより製造される。トラフェルミン凍結乾燥品の規格は性状、確認試験、pH、純度試験、水分、含量均一性試験及び定量が設定されている。また、添付溶解液の規格としては、を含有するため、に準じた試験が設定されている。さらに、容器の規格として、規定された噴霧量からの偏差が定められている。

医薬品医療機器審査センター（以下審査センター）及び調査会は、トラフェルミン原液の含量規格が、国際標準品が存在するにもかかわらず、国内標準単位により標記されていたので、国際標準品に基づき含量規格を設定するように求めた。申請者は定量に使用した標準品の比活性を国際標準品の単位を基に確立し、原液の単位を1mL当たりの国際標準単位の標記に変更した。審査センター及び調査会はこの変更を妥当と判断した。トラフェルミン標準品の規格について、初回標準品について実施された試験及び結果の記述、初回標準品から次回標準品に更新するときの規格試験法の記載等が不備であったので、新しくを規格設定することも含め、標準品の規格試験法の見直しを指示した。申請者は指示を受けて、標準品の規格設定を大幅に見直し、審査センター及び調査会は改訂された標準品の規格を妥当と判断した。

審査センター及び調査会は、製造方法の記載に関して、プラスミド構築の過程、MCB及びWCBの初回作製時、保存時の試験等の記載、セルバンク更新の基準の記載が不備であったので、見直しを指示した。申請者は指示に従い製造方法欄の記載を整備し、審査センター及び調査会は適切に整備されたと判断した。

審査センター及び調査会は、トラフェルミン凍結乾燥品のたんぱく質量及び力価の規格が実測値に照らして幅広かったので、適切な規格値にするよう指示した。申請者は規格値を見直し、審査センター及び調査会は妥当に見直されたと判断した。

八．安定性に関する資料

トラフェルミン原液は、長期保存試験[-70℃、暗所、ポリプロピレン（PP）製気密容器、36カ月]、加速試験（-20℃、暗所、PP製気密容器、12カ月）において変化を認めなかった。また、苛酷試験（5℃あるいは10℃、暗所、PP製気密容器、4週間；室温、白色蛍光灯1,000Lux、無色ガラス密封容器、21日間；25℃、ケミカルランプ、無色ガラス密封容器、13日間）では沈殿物、重合体、等の生成が認められた。本薬は-70℃、遮光気密容器保存により3年間は安定であると考えられた。

トラフェルミン凍結乾燥品は、長期保存試験（15℃、暗所、無色ガラス密封容器、36カ月）加速試験（30℃、暗所、無色ガラス密封容器、12カ月）において安定であった。また、苛酷試験（40℃、16週間又は50℃、8週間、暗所、無色ガラス密封容器；室温、白色蛍光灯1,000Lux、無色ガラス密封容器、53日；25℃、ケミカルランプ、無色ガラス密封容器、56日間）において重合体等の生成を認めしたが、力価の低下は認められなかった。これらの結果より、トラフェルミン凍結乾燥品は冷所密封容器中で3年は安定であるとされた。

トラフェルミン凍結乾燥品を溶解後、気密容器中において5℃あるいは10℃で安定性試験を実施した結果から、トラフェルミン凍結乾燥品は溶解後、ガラス製及びPP製気密容器中10℃以下で保存することにより、2週間保存可能であろうと判断された。

二．急性毒性、亜急性毒性、慢性毒性、生殖発生毒性その他の毒性に関する資料

単回投与毒性試験は、ラット及びイヌを使用して検討されており、概略の致死量はラット経口及び皮下投与で73mg/kg以上、経皮投与で7.3mg/head以上、筋肉内投与で40mg/kg以上、静脈内投与で40mg/kg以上、イヌ皮下及び筋肉内投与で5mg/kg以上、経皮投与で3.36mg/kg以上と判断されている。

反復皮下投与毒性試験は、ラット、イヌ及びサルを使用して検討されており、皮下投与試験では投与部位の肥厚、赤血球数及び血清アルブミンの減少とIgGの増加、尿たん白排泄量の増加、組織学的に腎臓及び投与部位の細胞増殖と炎症反応等が観察され、これらの毒性所見は、本薬の間葉系細胞に対する増殖作用及びそれに付随した所見と、異種たん白である本薬の反復投与による抗体産生に起因していることが推察されている。無毒性量はラット1カ月皮下投与では40 µg/kg/日、イヌ1カ月皮下投与では30 µg/kg/日、ラット3カ月皮下投与では20 µg/kg/日、サル3カ月皮下投与では15 µg/kg/日と判断されている。一方、臨床適応経路である経皮投与により、ラットに1カ月間反復投与したところ、特記すべき毒性兆候は認められず、無毒性量は2,000 µg/kg/日と判断されている。サルを用いた6カ月皮下投与試験では長期間反復投与による新たな毒性兆候の発現は認められず、無毒性量は15 µg/kg/日と判断されている。ラットを用いた経皮投与による6カ月投与試験では本薬に起因すると考えられる毒性所見は認められず、無毒性量は2,000 µg/kg/日と判断されている。

生殖発生毒性試験は、ラット及びウサギを用いて皮下投与で実施されている。ラットを用いた妊娠前及び妊娠初期投与試験では親動物に反復投与毒性試験と同様の諸変化が観察されたのみで、胎児の発生に異常は認められなかった。胎児の器官形成期投与試験では、ラット、ウサギ共に催奇形性は認められなかった。ラットにおける周産期及び授乳期投与試験においても母動物に反復投与毒性試験と同様の諸変化が観察されたのみであった。以上の結果から無毒性量はラットの親動物の一般状態で30 µg/kg/日、生殖能で100 µg/kg/日、胎児で400 µg/kg/日及び出生児で120 µg/kg/日、ウサギの母動物及び胎児とも25 µg/kg/日と判断されている。

抗原性試験は、モルモットを用いて検討され、本薬の免疫原性が確認されたが、その作用は陽性対照物質のヒトアルブミンを上回るものではなかったとの結果が得られている。

遺伝毒性試験は、細菌を用いた復帰突然変異試験、哺乳類の培養細胞を用いた染色体異常試験及びマウスを用いた小核試験が実施され、哺乳類の培養細胞を用いた染色体異常試験において、本薬の高濃度(0.44mg/mL)添加で構造異常を示す細胞が増加したが、その他の試験ではいずれも陰性の結果が得られている。

依存性試験は、実施されていない。

長期がん原性試験は、本薬に変異原性がないと考えられること、一般毒性試験において前がん状態を示唆するような組織変化が見られなかったこと、皮膚発がんプロモーション試験の結果、発がんプロモーション作用及び既知のプロモーターの効果を促進する作用が認められなかったことから実施されていない。

皮膚感作性、光毒性、光感作性及び発熱性は認められず、局所刺激性も観察されていない。強制劣化品においては劣化に起因した毒性変化は認められず、抗原性も正常品と同等の結果が得られている。

審査センター及び調査会は申請者に対し長期がん原性試験を実施しなかった理由について再度検討を求め、がん原性試験の実施が不可能であれば、それに代わる試験の実施を求めた。申請者より、がん原性試験の実施は抗体産生に伴う腎病変のため実施不可能と判断され、追加試験の実施により、本薬がイニシエーション、プロモーション及びコプロモーション作用を有しないこと、正常細胞をトランスフォームさせる可能性は低いこと等が示

され、長期がん原性試験を実施しなかった妥当性は示されているとの回答を得ている。この回答に対し審査センター及び調査会は検討中である。

審査センター及び調査会は上記事項に関連して、ICRマウス皮膚発がんプロモーション試験では本薬投与群の5%群に乳頭腫が発生しているため、これとbFGFの作用との関連の考察を求めた。申請者より、乳頭腫の発生には用量相関性が認められず、イニシエーターとして用いた7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) 単独でも約5%の頻度で腫瘍を形成することが文献的に示され、本薬投与との関連性は少ないと考えるとの回答が得られた。この回答に対し審査センター及び調査会は検討中である。

また審査センター及び調査会は、各種ヒト皮膚がん由来細胞にbFGF受容体が発現しているかどうか、またそれらにbFGFが増殖促進作用を示すかどうかについて調査を求めた。申請者より、調査した全ての皮膚がん由来細胞にbFGF受容体の発現が認められ、一部にbFGF添加による増殖促進が認められたが、その作用は弱いものと推察され、本薬の臨床使用に重大な問題となる可能性は少ないと考える。しかし本薬ががん組織に何らかの影響を及ぼすことを完全には否定し得ないため、使用上の注意に投与部位に悪性腫瘍のある患者には禁忌とすること、及びその他の注意に、動物を用いた長期がん原性試験が未実施であり、細胞増殖活性を有し、悪性腫瘍発生の危険要因である可能性があることから本薬を漫然と投与しないことを記載するとの回答が得られた。この回答に対し審査センター及び調査会は検討中である。

さらに、審査センター及び調査会は、bFGFには、線維芽細胞以外にも、全身の様々な細胞への作用が知られていることを踏まえbFGFの受容体を有する臓器への慢性的な影響について説明を求めた。申請者は、本薬を局所投与した場合、活性体としての血中移行が低いこと、吸収されたとしても血管内皮に局在し、かつ速やかに代謝を受けて不活性化されること、並びに1ヵ月反復静脈内投与時にも特記すべき増殖性の病変が見られないことから、その危険性は低いものと判断したと回答した。この回答に対し審査センター及び調査会は検討中である。

審査センター及び調査会は、遺伝毒性試験のうち、哺乳類培養細胞を用いた染色体異常試験において認められた陽性結果が本薬の直接的な影響ではないとしているが、その理由について説明を求めた。申請者は、被験物質添加により浸透圧が上昇したような場合、被験物質そのものの作用よりも浸透圧の影響によって染色体異常が誘発されることが知られていることから(Ishidate M. *et al.*: Food Chem. Toxic., **22**, 623, 1984)、本薬の染色体異常試験で最高用量添加群のみに認められた構造異常は、培養液が高浸透圧になったことに起因する反応であり、本薬の直接作用ではないと考えられるとの回答が得られ、審査センター及び調査会はこれを了承した。

ホ．薬理作用に関する資料

本薬は、線維芽細胞 (BHK-21cell) に対し、0.1ng/mLから濃度依存的に増殖促進作用を示し、最大活性発現濃度は約10ng/mLであった。その際、受容体結合性を検討した結果、高親和性 (Kd値: 17.2pM) 及び低親和性 (Kd値: 111pM) の2種類の結合が確認された。また、本薬は、血管内皮細胞 (ACE cell) に対し、濃度依存的に血管新生に関連する生物活性を示し、増殖促進作用の最大活性発現濃度は約3ng/mLであり、遊走促進作用は1 ng/mL以上で発現し、プラスミノーゲンアクチベーター産生作用の最大活性発現濃度は約10ng/mL、管腔形成促進作用の最大作用濃度は約3ng/mLであった。その際、受容体結合性を検討した結果、高親和性 (Kd値: 21.4pM) 及び低親和性 (Kd値: 5200pM) の2種類の

結合が確認された。

ラットのペーパーディスク法 (0.3 ~ 30 μg /ディスク) 及びマウスのコットンペレット法 (2 μg を1日1回5日間ペレット内に注入し21日間観察) において、本薬は肉芽乾燥重量、たん白質量、hydroxyproline量及びDNA量を増加させた。創傷治癒障害モデルであるプレドニゾン処置、ドキシソルピシン処置、X線照射の各ラットペーパーディスク法 (1 μg /ディスク) 及び遺伝的糖尿病 (db/db) マウスコットンペレット法 (2 μg を1日1回5日間ペレット内に注入し21日間観察) においても各測定パラメータの低下を回復させた。

また、ウサギの角膜でのマイクロポケット法 (0.25 ~ 1 μg /ペレット)、健常マウス並びにdb/dbマウスの皮膚全層欠損創モデル (10 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 滴下) 及びラットのペーパーディスク法 (1 μg /ディスク) において血管新生作用が確認された。

さらに、db/dbマウスの皮膚全層欠損創モデルにおいて、1 ~ 100 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 滴下で創部の滲出液量を増加させ、TGF を発現する炎症性細胞の浸潤を促進した。

本薬の各創傷モデルでの治癒効果 (創傷面積の縮小) を検討した結果、db/dbマウス (1 ~ 10 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$)、肥満マウス (ob/ob) マウス (1 μg ~ 10 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$) 及びステロイド前処置マウス (10 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$) での皮膚全層欠損創モデル、db/dbマウスでの黄色ブドウ球菌感染創 (1 ~ 10 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ を1日1回4日間)、db/dbマウス (1 ~ 10 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$) 及び栄養不良ラット (0.01 ~ 1 $\mu\text{g}/0.78\text{cm}^2$) での 度熱傷創モデル、並びにdb/dbマウスでの褥瘡モデル (1 ~ 10 $\mu\text{g}/0.75\text{cm}^2$) において創の縮小作用が示された。また、肝障害ラットでの皮膚切開傷モデルにおいて、0.1 ~ 1 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ で縫合部位の開裂張力を増加させた。

db/dbマウスの皮膚全層欠損創モデルでの創傷面積縮小作用を指標として有効用量の検討を行った結果、単回投与では1 μg から10 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ で用量依存的な治癒促進を示し、10 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ で最大に達し30 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 以上では10 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ と同じ効果であった。また、1、5及び10 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ の週2回又は連日投与では1 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 連日投与が最も効果的であった。一方、連続投与 (7日間) では最大効果は0.1から1 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ にみられ、10 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 以上では効果が減弱した。また、1 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ の投与量で用法の比較をすると、単回投与より複数回の連日投与が明らかに優れた効果を示し、損傷直後でも数日間経過後の創傷に投与しても同様に治癒を促進した。さらに、消毒薬との併用 (塩化ベンゼトニウム、塩化ベンザルコニウム、グルコン酸クロルヘキシジン、ポビドンヨード) でも本薬の作用への影響は見られなかった。

db/dbマウスの皮膚全層欠損創モデルを用いて既存薬との作用を比較した結果、本薬 (1 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、10日間連投) 及びブクラデシンナトリウム (375 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、10日間連投) で明らかな創傷面積縮小効果が示されたが、塩化リゾチーム (2,500 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、10日間連投) では肉芽形成の促進作用のみ、白糖 / ポビドンヨード配合剤 (35,000 / 1500 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、10日間連投) では滲出液量の増加のみが確認された。本薬の作用強度はいずれのパラメータでも他の薬物の作用より強力であった。

一般薬理試験においては、酢酸ライジング (1 mg/kg, s.c.) の抑制、自発脳波 (0.1mg/kg, s.c.) に対する脳波レベルの割合の変化、0.1mg/mLで非妊娠及び妊娠子宮の収縮に対し抑制あるいは抑制傾向、麻酔イヌ (0.01又は0.1mg/kg, i.v.) で呼吸数、心拍数の増加傾向と血圧降下及び大腿血流量の減少、モルモット摘出心房における0.1mg/mLでの収縮抑制傾向、ラットでの尿中Na⁺排泄の減少 (1 mg/kg, s.c.) が認められた。ただし、本薬の投与経路での血中移行はわずかであることから問題ないものと判断されている。一方、5 μg のラット足蹠皮下投与で浮腫を引き起こし、カラゲニン浮腫の増強が認められることから、目的の薬理作用である炎症促進作用が検証されている。

調査会は、本薬が創部の滲出液量を著しく増加させることから、体液の消失につながる

おそれがないか説明を求めた。これに対し、申請者は体液喪失は全身状態を悪化させ、体重を減少させるはずであるが、今回の実験での滲出液量増加では体重には影響がなかったとの結果が示された。また、潰瘍面積からヒトにおける滲出量を今回のマウスでの滲出量より推定すると最大でも16.5mL程度であり問題ないと考えられること、本モデルでは正常皮膚に創を作製するため滲出液量が多くなること、糖尿病マウスであるため過剰な摂水があり滲出液量が多くなった可能性があることが回答された。また、本モデルでは滲出液量が多くなることを示す参考文献が追加され、審査センター及び調査会はこの回答を了承した。

へ．吸収、分布、代謝、排泄に関する資料

本薬^[125I]標識体を、ラットに創面投与（50 μg/2cm²;200 μg/kgに相当）した場合、24時間までに投与放射能の24%が血中に移行した。しかし免疫活性体(抗bFGF抗体との反応体)としての血中移行率は4.2%であった。また創面投与において血中移行性に性差はなかった。また、イヌにおける皮下投与時（200 μg/kg）の免疫活性体の血中移行率は16%であった。ラット皮下に非標識体を7日間連日投与（200 μg/kg/日）した際、各投与1時間後の免疫活性体の濃度は、3日目で1日目の約2倍に達したが、5日目、7日目では逆に低下した。

ラットに本薬^[125I]標識体を静脈内投与した後、放射能は肝臓、腎臓、副腎、脾臓等に高く分布した。これらの組織では主として毛細血管周囲に分布し、ヘパリチナーゼ処理により顕著に結合が低下することより、細胞外基質中へパリン硫酸に結合していると思われた。ラット創面投与では、投与部位の主として線維芽細胞や血管内皮細胞に分布した。この分布もヘパリチナーゼ感受性であった。その後6時間までに投与された放射能の約半量が創傷部位に取り込まれ、24時間後では40%、7日後で17%に低下した。この間に体組織に移行した放射能は甲状腺では高かったが、肝臓、腎臓等の主要組織ではかなり低かった。ラットに14日間連日皮下投与すると投与局所にヘパリン結合性の放射能が検出され、その濃度は初回投与時の約3倍に上昇したが、体内臓器への蓄積は認められなかった。

周産期ラットに本薬^[125I]標識体を静脈内投与すると、胎盤には血清の2～20倍の放射能が確認されたが、胎児には分布が認められなかった。

また、本薬をラットに静脈内投与した際の血漿たん白結合率は約20%、血球移行率は約60%であった。

静脈内投与後のラットの肝臓、腎臓における代謝物として、未変化体とほぼ等しい分子量のB-1の他に低分子化を受けた3種（B-2～B-4）を検出した。これらはいずれもヘパリン結合性であったが、生物活性は分子量15,000以上のB-1、B-2のみに認められた。創面投与したラットの創傷部位ではB-1～B-4のほか、高分子化を受けた極少量のヘパリン結合性代謝物2種（生物活性不明）と、ヘパリン非結合性の低分子体3種を検出した。創傷部位では、ヘパリン非結合性の代謝物は1日以内に消失し、以降は主としてB1～B4が分布した。このうち生物活性体（B-1とB-2の和）としての分布率は投与後24時間で16%、7日後では3.5%であった。

ラットに静脈内投与した場合、7日後までに投与量の82%が尿中に、8%が糞中に排泄され、そのほとんどが低分子の分解物であった。創面投与したラットでも、体内移行量に対して同様な尿糞中排泄を確認した。また、ラットの排泄動態に性差はなく、イヌとの排泄パターンにも種差はなかった。ラット皮下に7日間連日投与した場合の尿、糞への累積排泄率は単回投与後7日間の累積排泄率にほぼ一致し、蓄積傾向はなかった。

授乳中のラットに静脈内投与すると、乳汁中の放射能は血清中濃度に対し最高時に9倍ま

で上昇した。しかし、乳汁中成分のゲル濾過分析結果はNa^{[125]I}を投与した場合での結果と差異は認められなかった。従って、乳汁中に観察された放射能は未変化体及び代謝物に由来する物ではないと判断した。

第 相試験において、健常男子志願者6例に0.1%の旧製剤(2mg/2mL/200cm²)を単回塗布し、0、4、16、20、24、28、40、48及び64時間後の血清及び連日7日間反復投与中の血清(各回投与1、4、22時間後に採血)における本薬濃度をELISA法にて測定した結果、単回投与、反復投与ともに全例について検出限界以下であった(定量限界:50pg/mL)。

第 相試験において、6例の皮膚潰瘍患者に0.01%製剤(30µg/0.3mL/30cm²/日)を連日15日間潰瘍面に噴霧後、投与1日目では0.5、1、3、6時間後、投与4、8、15日目においては投与0.5時間後に血清中濃度をELISA法で測定した。3例については全試料ともに定量限界以下であったが、残り3例では12~36pg/mLに相当する濃度が検出された。しかし、検出された3例ではいずれも本薬の投与前の試料においても検出されたこと、濃度推移が変則的であること、また、患者の潰瘍面積と検出例との関連はなく、むしろ潰瘍面積の大きな3例で全時点定量限界以下であったこと、さらには、文献において強皮症患者(検出された3例中1例が該当)、外傷性脳挫傷患者及び骨折患者等の血液においてもbFGFが検出されていること等から、ここで検出された物は内在性のbFGFであろうと推察されている。

調査会は、創傷部位における薬物組織内動態(貯留性、代謝・分解の時間推移)と薬効発現との関係について説明を求めた。これに対し、投与6時間まで約半量が投与局所に存在し、薬効発現に重要な線維芽細胞や血管内皮細胞に局在していることが示された。一方、本薬は量的には24時間後でも40%残存し、その6割は生物活性体として存在しているが、ミクロオートラジオグラフィでの結果より24時間後には切除面及び炎症性細胞に取りこまれた形で存在することが示された。これらは代謝され不活性化するか剥がれ落ちるので、24時間後の分布は生物学的に利用できる状態ではなく、1日1回連続投与が最も効果的であるとの結果を裏付けるものであると申請者より説明がなされ、これを調査会及び審査センターは了承した。

また調査会は、静脈内投与後に副腎への高い分布が見られることについて説明を求めた。これに対し、申請者からミクロオートラジオグラフィの結果より、洞様血管周囲の細胞外基質に分布が集中し、実質への移行はほとんど見られないこと、同様に有窓型毛細血管が発達した肝臓、腎臓、脾臓、脳下垂体及び骨髄でも高い放射能分布を示すことから、組織分布は血管壁の特性によるものであるとの回答がなされ、これを調査会及び審査センターは了承した。

さらに調査会はbFGFが全身の様々な細胞への作用が知られていることから、本薬の1日投与量、薬物動態、血中濃度等から全身的な慢性的影響について説明するよう求めた。これに対し、申請者から本薬の局所投与では活性体としての血中移行が低いこと、吸収されたとしても血管内皮周囲に局在し速やかに代謝され不活性化すること、1カ月反復静脈内投与時でも特筆すべき増殖性病変が見られないことから危険性は低いとの回答がなされている。これに対し、調査会は1カ月反復静脈内投与で認められた腎重量増加に関して追加説明を求めたところ、これはヒト型たん白に対する抗体産生増加に伴う糸球体腎炎に見られる病変であり、ヒトにおいてはこの抗体産生は考えられず問題ないとの説明が申請者からなされ、調査会及び審査センターはこれを了承した。

ト．臨床試験の試験成績に関する資料

提出された臨床試験成績

第 相試験は、健常成人の正常皮膚及び角層剥離皮膚を対象とした皮膚安全性試験を実施した。その結果、本薬 0.02 ~ 0.2% 製剤は生理食塩水と同程度の刺激性であった。他に本薬 0.01% のパッチテストが行われたが、角層剥離皮膚刺激性は白糖・ポビドンヨード配合剤よりも低く、生理食塩水と同程度であった。また、健常成人の背部正常皮膚 (200cm²) に対する本薬 0.1% の単回及び反復投与試験が行われ、その結果、血清中に本薬は検出されず、7 日間の反復投与で本薬に対する抗体は認められなかった。しかし、反復投与を施行した 6 例中 3 例に、投与開始 7 日目以降 GOT、GPT の上昇が認められ、これは 16 日目には正常に回復した。

前期第 相試験として各種皮膚潰瘍患者を対象に本薬 0.05% の連日又は週 2 回、4 週間投与試験及び本薬 0.1% の週 2 回 4 週間投与試験が実施された。対象としては、「形成外科領域の褥瘡、熱傷潰瘍及び血管障害性潰瘍患者 32 例に 0.05% 製剤の連日又は週 2 回投与」、「皮膚科領域の褥瘡、熱傷潰瘍及び血管障害性潰瘍患者 24 例に 0.05% 製剤の連日又は週 2 回投与」並びに「皮膚科領域の褥瘡、熱傷潰瘍及び血管障害性潰瘍患者 18 例に 0.1% 製剤の週 2 回投与」を行った。投与期間は、既存薬の臨床試験が主に 4 ~ 8 週間投与で実施されていたこと及び本薬は非臨床試験での成績から短期間の薬効評価が可能と考えられたことから 4 週間に設定された。用量は、動物の単回投与試験での至適用量が 1 µg/cm² (0.01%) ~ 10 µg/cm² (0.1%) の範囲内と推定されたこと並びに米国の臨床試験が 1 µg/cm² (0.01%)、5 µg/cm² (0.05%) 及び 10 µg/cm² (0.1%) で行われていたことから、0.05% 及び 0.1% に設定された。その結果、改善率(「中等度改善」以上の割合)は、0.05% 連日投与群で 70.8% (17/24)、0.05% 週 2 回投与群で 82.8% (24/29)、0.1% 週 2 回投与群で 94.4% (17/18) であった。副作用は 0.05% の週 2 回投与群に「滲出液の増多及びそれに伴う疼痛」が 1 例認められたのみであった。

後期第 相試験は各種皮膚潰瘍患者に対し二重盲検比較試験により実施された。用量は 0.001%、0.01%、0.05%、0.1% の実薬 4 群で 1 日 1 回連日投与で実施された。その結果、改善率(「改善」以上の割合)は 0.001% 群で 68.6% (48/70)、0.01% 群で 81.1% (60/74)、0.05% 群 70.1% (47/67) 及び 0.1% 群で 60.3% (47/78) であり、0.01% 群を頂点とするベル型用量反応曲線を示した。また、0.01% 群は 0.1% 群に比し有意に優れていた (Tukey-Kramer 型多重比較、p = 0.016)。疾患別においても褥瘡、血管障害性潰瘍及びその他の潰瘍で 0.01% 群を頂点とするベル型用量反応曲線が認められた。副作用は 332 例中 5 例 (1.5%) に認められたが、いずれも刺激感、疼痛などの局所症状であった。臨床検査値異常変動は 0.001% 群で 3 例 4 件、0.01% 群で 8 例 12 件、0.05% 群で 4 例 6 件、0.1% 群で 6 例 10 件であった。主なものは GOT 上昇 4 件、GPT 上昇 6 件であった。

第 相比較試験は、本薬 0.01% 製剤に対し、白糖・ポビドンヨード配合剤を対照薬として、褥瘡、皮膚潰瘍(熱傷潰瘍及び下腿潰瘍)症例を対象に、無作為電話登録法により 4 週間投与で実施された。その結果、213 例に薬剤が投与され、改善率は本薬群が 89.4% (93/104)、白糖・ポビドンヨード配合剤投与群 (S 群) が 70.1% (68/97) であった。また、両群間の改善率の差の 90% 信頼区間の下限は -10% を上回っており、いずれの疾患においても本薬群と S 群との同等性が示された。また、治癒率は本薬群 34.6% (36/104)、S 群 27.2% (28/103) であった。副作用は S 群に 4 件認められたが重篤なものでなく、本薬群には認められなかった。有用率は本薬群で 89.4% (93/104)、S 群は 68.0% (68/100) であり、有用率の差の 90% 信頼区間の下限は -10% を上回っており、本薬群と S 群との同等性が示された。臨床検査値異常変動は本薬群で 7 例 8 件に出現したのに対し、S 群で 11 例 20 件に出現した。特に本薬群で多く出現している異常値は認められなかった。事後的な解析

であるが、優位性の検定では、潰瘍所見における肉芽形成、肉芽の色調及び壊死性物質の付着の改善度、潰瘍の深さの縮小率、最終全般改善度及び有用度において、本薬群は S 群に比して有意に優れていた (Wilcoxon の順位和検定、最終全般改善度 : $p = 0.030$ 、有用度 : $p = 0.008$)。

第 相一般臨床試験としては、12 週間投与試験、糖尿病性潰瘍に対する試験及び血中濃度測定試験が行われた。

12 週間投与試験では褥瘡及び皮膚潰瘍 (熱傷潰瘍、下腿潰瘍及び糖尿病性潰瘍) に対する本薬 0.01% の安全性及び有用性の検討と併せて本薬への抗体産生についても検討された。総投与例数 59 例の中、不適格とされた 4 例と途中中止の 1 例を除く 54 例で有効性は評価され、改善率は 94.9% (51/54) であり、12 週間投与による効果の減弱は認められなかった。また 57 例で抗体の検査が行われたが、抗体の産生は認められなかった。

糖尿病性潰瘍に対する試験は本薬 0.01% の 4 週間投与による安全性、有用性を検討された。総投与数 19 例中 3 例は血清クレアチニン値が 3.0mg/dL 以上であったため不適格症例として扱われ、安全性のみ採用とされた。その結果、潰瘍面積が 50% 以上縮小した症例の割合及び改善率は 80% (12/15) であった。副作用及び臨床検査値異常変動はみられなかった。

血中濃度測定試験は皮膚潰瘍 6 例を対象に行われた。その結果 3 例で bFGF の 12 ~ 36pg/mL に相当する濃度が検出されたが、これらの症例では投与前の血清でも bFGF の 18 ~ 29pg/mL に相当する濃度が検出されたこと及び血清中に検出された症例とその潰瘍の大きさに関連が認められなかったことから、ここで検出されたものは内在性の bFGF と判断された。

審査センターは、糖尿病性潰瘍を対象とした臨床試験について、比較試験を行わずオープン試験で評価し、糖尿病性潰瘍を申請効能に含めた理由について尋ねた。申請者は本邦の糖尿病性潰瘍の患者数は比較的少なく、実際後期第 相臨床試験でも 338 例中 15 例と少なかったことから、比較試験を断念しオープン試験としたと回答した。また、本薬での改善率は、既存薬が 6 ~ 8 週間投与で得ている改善率と遜色ないことから申請効能・効果に含めたことを回答した。しかしながら、審査センターは比較試験で対象疾患として評価していないことを指摘したところ、申請者は今回の効能・効果申請から糖尿病性潰瘍を除くとの回答が得られた。審査センターはこの回答を妥当と判断し、了承した。

審査センターは、海外での臨床試験の状況について尋ねた。申請者は、

と述べた。

さらに審査センターは、本薬の皮膚潰瘍の治療における位置づけを説明するよう求めた。申請者は、褥瘡及び皮膚潰瘍治療剤は消毒剤、抗菌剤、壊死組織除去剤、肉芽形成促進剤及び創傷保護・表皮形成促進剤に大別されること、本薬は創傷の初期過程から治癒に至るまでほぼ全期間にわたって使用できるが、特に肉芽形成期以降の反応 (血管新生、肉芽形成及び表皮形成) を促進すると考えられることを述べた。しかし、本薬には直接的な抗菌作用はないため、本薬使用時の前処置として患部の清拭消毒を行い、感染や壊死組織がみられた場合には必要に応じ、抗生物質などの投与、壊死組織除去剤や近縁切除など適切な

処置を行った後に投与することが大切であると回答した。審査センターは、これらを使用上の注意に記載させた。さらに、使用上の注意で、4週間使用しても改善傾向が認められないときは他の療法等を考慮することを盛り込ませた。

審査センターは、第 相比較試験における対照薬の選定理由について尋ねた。申請者は、白糖・ポビドンヨード配合製剤は、褥瘡などの皮膚潰瘍に対して最も汎用されており、かつもっとも有用性の高い薬剤の1つとして評価されているために選択したと回答した。作用機序的にみると、白糖・ポビドンヨード配合製剤は、白糖の作用により、動物の創傷モデルで、新生血管及び線維芽細胞に富んだ膠原線維の再生を伴う発達した肉芽形成を認めること、KCB-1の創傷治癒促進作用は、血管内皮細胞の増殖を介した血管新生作用及び線維芽細胞増殖による肉芽形成の促進等であり、白糖・ポビドンヨード配合製剤と類似した作用を有しており、対照薬として適当と判断したと回答し、資料記載が整備された。

調査会では、本薬が扁平上皮癌に対して増殖作用を示すため、扁平上皮癌による潰瘍を禁忌にするよう指示し、申請者は使用上の注意を整備した。さらに調査会では、本薬が基本的に一部のヒト腫瘍細胞に対し細胞増殖促進作用があることから、癌患者には投与禁忌とするよう使用上の注意に盛り込むよう求めた。これに対し申請者は、投与部位に悪性腫瘍のある患者は禁忌とし、投与部位以外に悪性腫瘍のある患者には、原則禁忌とすることを回答した。投与部位以外に癌を有する患者に禁忌とせず原則禁忌とした理由に、健常成人及び潰瘍患者に対し本薬を創傷面へ投与しても血中移行は低いこと、また投与部位での代謝によりヘパリン結合性を失った生理活性をもたない分解物が主として血中に移行すること、さらに投与部位以外の悪性腫瘍患者で潰瘍、褥瘡を有する末期癌患者には、QOLの向上が期待できることを回答し、審査センターは了承した。

調査会では全般改善度の評価基準、表皮形成の判定基準、潰瘍の深さの測定についてどのように行ったのか尋ねた。申請者は、具体的な潰瘍縮小率による基準も検討したが、大きな潰瘍と小さな潰瘍が同じ縮小率を示した場合、正確な評価とならないという議論があったため、判定基準を示した上で、主治医判定と判定委員による判定を加え、主治医間での偏りを小さくすることとしたと回答した。また判定委員評価と主治医評価をクロス表にして、最終全般改善度の評価がほぼ一致していること、また一致していない場合の理由を回答した。新生表皮は、周囲の皮膚と比べて白っぽい色（淡いピンク色～銀白色）をしており、肉眼的観察により周辺皮膚と区別できること、肉眼的観察により5段階で判定する基準を設けたこと、表皮形成の判定についても判定委員が主治医の評価の妥当性を検討していることを述べた。潰瘍の深さは最深部をゾンデや滅菌ピンセットなどで測定したことを述べた。審査センター及び調査会はこれらの回答を了承した。

調査会では、後期第 相、第 相試験における褥瘡ステージ（筋膜まで達する潰瘍）及び（筋組織まで達する）の症例の改善度を示すよう求めた。申請者はこれに対しデータを示したが、ステージ、の症例は各群で3～7例と少なく、これらの症例に本薬0.01%が有用であるかについての判断はできないと審査センター及び調査会は判断した。

調査会は臨床検査値異常を示した症例についての詳細な検討を求めた。これに対し申請者は個別症例のデータを呈示し、重篤な異常値を呈した症例はみられなかったことを述べた。

調査会は前期第 相試験で週2回投与の方が成績がよいにも関わらず、後期第 相以降のプロトコールに反映されていない理由について説明を求めた。これに対し申請者は前期第 相試験で背景因子の不均衡について調べたところ潰瘍面積500mm²未満の小さな潰瘍、外傷性潰瘍や術後潰瘍などの比較的治りやすい潰瘍が、連日投与群より週2回投与群に多く、背景因子に偏りが認められたことを述べた。また前期第 相試験での本薬0.05%連日

投与群の改善率 70.8%が、当時の代表的な肉芽促進剤である塩化リゾチーム軟膏の有効率 59.1%より高く、連日投与でも十分に有効性が示せると判断したと述べた。さらに連日投与の方がコンプライアンスが良いこと、0.01%連日投与の方が 0.05%週 2 回投与より、総投与量を減らせること、さらに 0.05%週 2 回を選択した場合、実際の臨床現場では週 2 回投与よりも連日投与の方がより有効と考えて 0.05%を連日投与される懸念があることを回答した。

調査会では 12 週間連日投与試験で対照薬をおいていないが、この試験成績で長期投与の有用性を十分示せるとした根拠を求めた。申請者は、この 12 週間投与試験では、連用による薬効が減弱するなどのことがないか、また連用による新たな副作用の出現がないかを検討するために行ったものであると述べた。有効性については 12 週投与により改善率、治癒率は経時的に高まり、長期投与による効果の減弱は認められなかったこと、安全性については疼痛、潰瘍周囲の発赤が各 1 例みられたが、いずれも 4 週間投与試験で認められている副作用であり、新たに発生した副作用は認められなかったことを回答した。

調査会では本薬がサイトカイン製剤であることを踏まえ、第 Ⅲ 相試験で本薬治療後、ケロイド等の再生皮膚の過剰反応や皮膚の悪性腫瘍の発生の有無を確認しなかったことの原因を尋ねた。申請者は第 Ⅲ 相試験で実施した 297 例について、「ケロイド等の再生皮膚の過剰反応」及び「皮膚の悪性腫瘍の発生の有無」を新たに追跡調査した〔治験終了後に来院していないなどの理由で追跡調査ができなかった症例が 15 例（5.1%）、6 カ月以上フォローできた症例が 190 例（67.4%）〕。その結果、「ケロイド等の再生皮膚の過剰反応」は 10 例（3.5%）（本薬群 4 例、白糖・ポビドンヨード群 6 例）に認められたが、いずれの症例も外用ステロイド剤などの処置で症状が改善したこと、再生皮膚の過剰反応を認めた 10 例中 9 例が熱傷潰瘍であったことを回答した。皮膚の悪性腫瘍の発生についても第 Ⅲ 相試験で実施した 297 例中 282 例で調査し、本薬群、対照薬群ともに認められなかったことを回答した。さらに申請者は市販後重点的に悪性腫瘍の発生を調査することを回答し、審査センターは了承した。

調査会では本薬投与終了後の潰瘍の再発の有無について調査を求めた。申請者は、第 Ⅲ 相試験で実施した 297 例の中、治癒症例が 93 例（本薬群 63 例、白糖・ポビドンヨード群 30 例）あり、このうち 7 例が追跡調査できなかったが、残りの 86 例について調査できたこと、そのうち 7 例（本薬群 5 例、白糖・ポビドンヨード群 2 例）に再発が認められたが、いずれも原疾患の悪化やコントロール不良により引き起こされたものであると回答した。

¹²⁵I 標識した本薬の静脈内全身投与試験により、肝臓、腎臓、副腎、脾臓に高い蓄積を認めたことから、調査会は腎毒性について尋ねた。これに対し申請者は本薬が蓄積した組織の毛細血管は「有窓型」あるいは「ジヌソイド状」の内皮構造を有しており、この細孔を通過して細胞外マトリックスのヘパラン硫酸に結合すること、腎臓においてはマイクロオートラジオグラムを拡大してみると多くの黒化粒子が基底膜近傍に存在すること、一方 epithelial cell と mesangial cell の細胞内には黒化粒子はわずかにしか観察されなかったと回答し、「血管内皮に集積した」との表現を、「血管内皮周囲の細胞外基質に集積した」に変更した。また、調査会は、腎重量が増加したが増殖性の病変がないとした詳細を求めたところ、申請者はヒト型のたん白である本薬の投与により抗体産生を生じ、糸球体腎炎を生じたため、本薬のもつ細胞増殖促進作用によるものでないと回答した。さらに調査会は、動物実験で腎障害がみられたことを临床上あるいは治療上の注意に反映させるか尋ねたところ、申請者は、動物でみられた腎障害は、抗体を介した糸球体腎炎のためであり、一方第 Ⅲ 相試験では抗体を測定した 57 例中、抗体が検出された症例はなかったこと、腎機

能に関連する臨床検査値異常は因果関係がどちらともいえないと判定された尿たん白異常が2例認められているが、BUN、クレアチニンには異常変動は認められなかったこと、以上のことから臨床の場で腎障害発現の可能性は低いと考えると回答した。審査センターはこれらの回答を妥当と判断した。

3. 医薬品機構による資料適合性調査報告及び審査センターの判断

1) 適合性書面調査結果に対する審査センターの判断

本品目に係る適合性書面調査は実施されていない。(平成8年6月28日申請)

2) GCP 実地調査結果に対する審査センターの判断

GCP 評価会議の結果、一部試験計画から逸脱している症例があったが GCP 不適合とはせず、審査センターとしては承認審査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判断する。

4. 審査センターとしての総合評価

褥瘡の治療薬として臨床の現場では白糖・ポピドンヨードが多用されているのが現状である。本薬による創傷治癒促進作用は、bFGF受容体に対する作用により、血管内皮細胞の増殖を介した血管新生作用及び線維芽細胞増殖による肉芽形成の促進等である。用量設定試験の結果が0.01%を頂点とするベル型を示したことより、この濃度における二重盲検によらない比較対照試験を行い、白糖・ポピドンヨード配合剤と同等性を示せたことにより、申請者は褥瘡・皮膚潰瘍(熱傷潰瘍、下腿潰瘍)に効能・効果があることを主張している。有用性については、臨床推奨用量を定めた後期第 相試験では対照群としてプラセボ投与群が設定されていないが、臨床推奨用量とした0.01%が0.1%より有意に優れていることを述べている。本薬がスプレー剤であるのに対し、対照薬は塗布剤であるので、バイアスの混入は避けられず、結果の判断には慎重を期するべきであるが、第 相比較試験で、本薬が対照薬の白糖・ポピドンヨードに対し同等性が示されており、事後解析であるが、最終全般改善度及び有用度において対照群に比して優位に優れるという結果も提出している。臨床における安全性については、成長因子に由来する腫瘍発生をはじめとした懸念すべき有害な事象は本申請に関する試験の範囲ではみられていない。しかしながら、本薬は細胞増殖因子であり、悪性腫瘍発生の危険因子の可能性があるにも係わらず、動物実験でその安全性が確認されていない。

以上のことより、本薬の承認の可否は専門協議の討論を踏まえた上で判断したい。

審査報告(2)

平成 13 年 2 月 2 日

[販売名] トラフェルミン原液、フィブラストスプレー250、同 500
[一般名] トラフェルミン(遺伝子組換え)
[申請年月日] 平成 8 年 6 月 28 日
[申請者] 科研製薬株式会社

1. 審査内容

審査センターは審査報告(1)をもとに専門に関わる委員へ意見を求めた。専門委員との協議を踏まえた審査結果を報告する。

(1) 非臨床試験

下記に示す第 2 回医薬品第一調査会指示事項の回答について協議が行われた。

1) 長期がん原性試験の実施について：

バイオ製剤であることから適切ながん原性試験の方法が見いだされず、実施されていないことから、添付文書にその旨を記載し、注意喚起することで臨床における安全使用に配慮するとの申請者の回答を、専門委員は基本的に了承した。しかしながら、皮膚発がんにおけるイニシエーション・プロモーション試験等で長期がん原性を担保するには不十分であると考えた。新たに申請者からヌードマウスを用いた長期がん原性試験計画の骨子が提出され、専門委員及び審査センターはこれを了承した。

専門委員からマウス皮下投与による皮膚発がんイニシエーション・プロモーション試験における bFGF 受容体のマウス・ヒト間相同性に関する考察を概要中に追記すること、さらに結果について事実即した表現に改めることとの指摘がなされた。申請者から、これら専門協議を踏まえた指摘に対し、適切に修正したとの回答が得られ、専門委員及び審査センターはこれを了承した。

2) ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験での陽性結果が、培養液の高浸透圧に起因する反応であり、本薬の直接的な影響ではないとする理由について：

専門委員より本回答中、氷点降下法によると実験に用いた本薬は高浸透圧であったとしているが、分子量が非常に大きい本薬に対して氷点降下法により正しい浸透圧が評価できているか疑問であるとの指摘がなされた。

申請者はこれらに対し、氷点降下法による浸透圧の測定は、本薬の場合には不適切と考えられるが、本試験における最高用量群の培地中塩化ナトリウムは 90.9mM に相当し、この群の培地が高浸透圧であったことは十分に推測される。また、文献的にも 120mM の塩化ナトリウムでは本試験と同様な分断型が認められる(Ishidate M.: Food Chem. Toxic., 22, 623, 1984)ことが報告されており、高濃度の塩化ナトリウムに基づく非生理的環境下での長時間培養に起因するものと推察したとの回答が得られ、専門委員及び審査センターはこれを了承した。

3) 反復投与毒性試験で認められた腎毒性について：

腎臓（糸球体）における本剤の局在性については、ミクロオートラジオグラムを拡大した写真が提出され、黒化銀粒子が基底膜近傍に集中し、メサンギウム細胞内にはわずかであることが確認されているとの回答を審査センターは了承した。腎重量の増加の原因を本剤の大量投与による抗体産生を介した糸球体腎炎に基づくもので、本剤のもつ細胞増殖促進作用に直接関連した所見ではないとする回答に関し、専門委員からその証明がなされておらず、補体染色等の方法により確認すること、さらに異種たん白投与による抗体産生のため種々の問題がマスクされている可能性があり、ラット型の KCB-1 を作製し腎毒性を調査することの指摘がなされた。

申請者からこれらの指摘に対し、ラット3ヵ月反復投与毒性試験の組織ブロックを用いた補体染色の結果が提出され、糸球体における免疫複合体の存在が示唆された。また今後早急に実施するヌードマウスを用いたがん原性試験においても腎臓所見を精査するとの回答が示され、専門委員及び審査センターは、これを了承した。

添付文書の「6.その他の注意」の項に腎臓への影響に関する記載を追記する旨の回答が得られ、専門委員及び審査センターは、これを了承した。以下に、添付文書内の当該箇所を記載する。

7.その他の注意

(2) 本剤を大量に反復皮下投与した動物実験(ラット：200 µg/kg 以上、イヌ：480 µg/kg、サル：45 µg/kg 以上)において、腎臓の炎症性病変ならびに尿蛋白及び尿中 *N*-アセチル-D-グルコサミニダーゼ(NAG)の上昇がみられたとの報告がある。

(2) 臨床試験

専門協議において 用量設定試験においてプラセボとの有意差が示されず、ベル型の用量反応曲線となったこと、第 相比較試験において対照薬と比較して全般的改善度で非劣性が示されているが剤型が異なることから盲検下試験でないこと、対照薬(白糖・ポビドンヨード配合製剤)の有効性のデータ根拠、癌患者に対する使用禁忌及び慎重投与、本剤の安全性長期追跡調査、本剤による腎機能障害について議論がなされた。

については、ベル型の曲線については原因が明確ではないが、褥瘡局所のたん白分解酵素の活性化によって本剤が失活する可能性があるのではないかとの意見が専門委員より出された。

については、剤型が異なるために盲検ができないことはやむを得ないが、判定の偏りを避けるための工夫・努力はさらに必要であるとの意見が専門委員より出された。客観的測定値をさらに重視した解析や、改善の度合いの評価を盲検的に実施することは可能と審査センターは考えた。

については白糖・ポビドンヨード配合製剤の承認時データでは、対照薬ソルコセリル軟膏(幼牛血液抽出物軟膏)との比較試験が行われ、白糖・ポビドンヨード配合製剤が有用性で優れる結果が示されている。従って、本薬臨床試験時の対照薬、白糖・ポビドンヨード配合製剤の有効性は示されていると考えられるのではないかとの審査センターの判断は専門委員より支持された。

については添付文書に禁忌及び慎重投与として関連箇所を適切に修正することで審

査センターと専門委員の意見は一致した。申請者に指摘したところ、適切な修正がなされ、センターは了承した。以下に、添付文書内の当該箇所を記載する。

【禁忌（次の患者には投与しないこと）】

1. 投与部位に悪性腫瘍のある患者又はその既往歴のある患者
[本剤が細胞増殖作用を持つため]

【使用上の注意】

1. 慎重投与（次の患者には慎重に投与すること）
投与部位以外に悪性腫瘍のある患者又はその既往歴のある患者
[本剤の血中移行性は低い、細胞増殖作用を持つため（「重要な基本的注意」の項参照）。]
2. 重要な基本的注意
 - (1) 本剤の使用開始に際しては必ず問診等を行い悪性腫瘍又はその既往について考慮すること。
 - (2) 投与部位以外に悪性腫瘍のある患者又はその既往歴のある患者への適用にあたっては、*in vitro* 試験において一部のヒト腫瘍細胞に対して細胞増殖作用を示したとの報告があるので、治療上の有益性が危険性を上回ると判断される場合にのみ患者の状態を十分に観察しながら慎重に投与すること。またその際には、使用開始にあたり患者又はそれに代わり得る適切な者に本剤の有効性及び危険性について十分に説明した上で使用すること（「その他の注意」の項参照）。
 - (3) 悪性腫瘍による難治性潰瘍の可能性のある患者については、事前に生検等により投与部位に悪性腫瘍のないことを確認すること。
7. その他の注意
 - (1) 本剤はヒト型のたん白質であり、動物を用いた長期のがん原性試験は抗体産生により実施できなかったため、それに代わる動物試験として、中期がん原性試験等、各種試験を実施したが、本剤のがん原性を示唆する所見は認められなかった。しかし、動物を用いた長期のがん原性試験自体は実施されていないこと及び本剤は細胞増殖促進作用を有し、悪性腫瘍発生の危険要因の可能性のあることから、本剤を長期にわたって漫然と投与することがないように注意すること。

については、悪性腫瘍の発生について市販後調査として、組み入れ症例 3,000 例として、投与期間中の安全性・有効性調査のほか、投与終了後の状態について 3 年間の追跡調査期間（目標症例 1,000 例）を設定した市販後調査計画骨子が提出された。については、異種たん白であること、臨床試験において 2 例/729 例に蛋白尿が出現したこと、動物実験において腎臓の炎症性病変ならびに尿蛋白及び尿中 NAG の上昇が報告されていることなどから、添付文書の「その他の注意」に記載するとともに、市販後臨床試験として、褥瘡、熱傷潰瘍及び下腿潰瘍患者 30 例を対象として、本剤 4 週間投与時の腎機能（糸球体機能検査として、血清クレアチニン、BUN、尿蛋白など、尿細管機能検査として、血清電解質、尿検査など）を検討すると回答され、市販後臨床試験骨子案が提出された。審査センターは了承した。

臨床試験成績において、本剤は今日汎用されている対照薬白糖・ポビドンヨードに対し

て同等性が示され、最終全般改善度及び有用度においても対照薬に対し同等性が検証され、事後ではあるが有意に優れるとの結果が示されており、また、安全性については現在のところ懸念すべき有害事象はみられていない。しかしながら、本剤が血管内皮細胞、線維芽細胞に対する増殖因子であり、悪性腫瘍発生・進展の危険因子になる可能性が否定できないため、添付文書への適切な記載と十分な市販後調査が必須であるとの意見が専門委員より出された。

また、国内試験でプラセボ対照が置かれていないことについては、倫理的には実施が難しいのではないかとの意見が専門委員より出された。なお、安全性において肝機能異常は第 Ⅲ相試験以降問題となっていないので臨床上は大きな問題とはならないのではないかとの意見が出された。

以上の検討の結果、後期第 Ⅲ相試験及び第 Ⅲ相試験成績から本剤の有効性が認められ、安全性についても使用上の注意で注意喚起をすることにより注意深く用いるのであれば本薬の臨床使用を妨げるものではないと審査センターは判断した。なお、本剤の安全性を確認するための市販後調査を十分に実施することが必要であると考えている。

2. 添付文書について

審査センターは添付文書（案）に対し、以下の修正を求めた。

「効能・効果に関する使用上の注意」の記載を「使用上の注意」の「重要な基本的注意」に移すこと。

フィブラストスプレーの極量（1日最大使用量）と投与期間を明示する必要があるか検討すること。

6. 適用上の注意、(3) 投与部位、「眼科用に使用しないこと」とあるが、目に入った場合はどのような対応をとるとよいのか説明すること。

申請者から以下のような回答が得られた。

について、当該記載を「効能・効果に関連する使用上の注意」から「重要な基本的注意」に移し、以下のように変更する。

2. 重要な基本的注意

(6) 本剤は熱傷潰瘍を適用としている。新鮮熱傷に対しては本剤を使用せず、他の適切な療法を考慮すること。

について、臨床試験における投与実績から判断すると、本剤の極量（1日最大投与量）を設定する必要性及びその科学的根拠は乏しいと考えられるが、臨床現場では非常に広範囲な潰瘍に投与するケースあるいは多数の潰瘍に同時に投与するケースも生じること等を考慮し、「重要な基本的注意」に1日最大投与量を設定することとした。投与実績の中で重篤な副作用の発現した症例がないことから、臨床試験の最大投与量を1日最大投与量とする。また、投与期間に関しては本剤が漫然と投与されることがないように重要な基本的注意に記載がなされている。

2. 重要な基本的注意

(4) 1日投与量はトラフェルミン（遺伝子組換え）として1,000 µgを超えないこと。

(5) 本剤を約4週間投与しても潰瘍の大きさ（面積、深さ）又は症状（肉芽形成、肉芽の色調、表皮形成など）の改善傾向が認められない場合は外科的療法を考慮すること（「その他の注意」の項参照）。

について、トラフェルミンは水に対する溶解性が高いため、誤って目に入った場合は直ちに洗い流すことにより対処できる。

審査センターはこれらの回答が妥当であり、添付文書が適切に修正されていると判断した。

3. 審査報告(1)について

bFGF の cDNA はメチオニンから翻訳開始した場合、155 アミノ酸をコードすることから、審査報告(1) p6 ロ . 物理的・化学的性質並びに規格及び試験方法 の項の 1~2 行目を以下の通り修正する。

「bFGF はメチオニンから翻訳開始される場合 155 個のアミノ酸から構成される分子量 17kDa の糖鎖を有しない一本鎖ポリペプチドである。」

原薬の規格に設定されていた発熱性物質試験及び製剤の規格に設定されていた含量均一性試験はその設定意義が少ないため審査の過程において削除された。

4. 総合評価

以上のような検討を行った結果、審査センターは、以下の条件を付した上で承認して差し支えないと判断し、医薬品第一部会において審議されることが適当であると判断した。

なお、本剤は新有効成分含有医薬品であるので、再審査期間は 6 年が適当であると考えられる。また、原薬は劇薬に該当すると判断した。

[承認条件]

1. 使用実態下における本薬の安全性・有効性並びに投与終了後の悪性腫瘍等、異常所見の発現について可能な限り本薬投与終了後の患者を対象に、3 年間の追跡調査を行うこと。
2. 本薬の臨床における腎機能（糸球体機能・尿細管機能）への影響について検討し、速やかにその結果を報告すること。