

衛研発第3235号

平成15年7月24日

厚生労働省医薬食品局長 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等に係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] ノボラピッド 30 ミックス注、ノボラピッド 30 ミックス注 フレック
スペン

[一 般 名] インスリン アスパルト (遺伝子組換え)

[申 請 者] ノボ ノルディスク ファーマ株式会社

[申請年月日] 平成 14 年 5 月 15 日

[申請区分] 1・(6)(7) 新用量医薬品、剤型追加医薬品

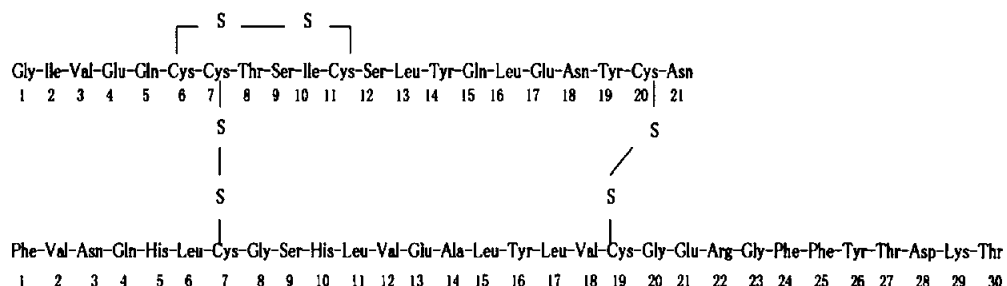
[化学構造式]

本 質 :

(日本名) : ヒトインスリン誘導体の前駆体の化学合成遺伝子の発現によって組換え体中で産生されるヒトインスリン誘導体の前駆体から得られる B 鎖 28 位のプロリン残基をアスパラギン酸に置換したヒトインスリン誘導体で、51 個のアミノ酸残基 ($C_{256}H_{381}N_{65}O_{79}S_6$; 分子量 : 5825.54) からなるポリペプチド

(英 名) : Polypeptide consisting of 51 amino acid residues ($C_{256}H_{381}N_{65}O_{79}S_6$; molecular weight:5825.54), which is a human insulin analogue with substitution for proline at position 28 of B chain by aspartic acid, obtained from a human insulin derivative precursor produced in a recombinant cell by expression of a chemically synthesized human insulin derivative precursor gene

構造式 :



[特記事項] なし

[審査担当部] 審査第一部

審査結果

平成 15 年 7 月 24 日作成

[販 売 名] ノボラピッド 30 ミックス注、ノボラピッド 30 ミックス注 フレック
スペン
[一 般 名] インスリン アスパルト (遺伝子組換え)
[申 請 者] ノボ ノルディスク ファーマ株式会社
[申請年月日] 平成 14 年 5 月 15 日

[審査結果]

有効性

中間型混合ヒトインスリン製剤 (3:7) の 1 日 2 回 (朝食前及び夕食前) 投与により治療中の 2 型糖尿病患者 (428 例) を対象とした 3:1 無作為割り付け非盲検並行群間比較試験において、baseline 時及び 24 週時の HbA_{1c} (平均値±SD) は本剤群で 7.47±1.11%及び 7.32±0.98%、中間型混合ヒトインスリン製剤 (3:7) 群で 7.33±1.06%及び 7.13±0.93%であり、24 週時における平均の差(本剤群-対照群)の点推定値 0.1%の 95%信頼区間が[-0.04、0.25]と、95%信頼区間の上限が非劣性の許容限界とした 0.6%未満であることから、対照群に対する本剤の非劣性が検証された。

安全性

因果関係が否定できない重篤な有害事象として、本剤群の 1 例にめまいが認められた。その他の因果関係が否定できない主な有害事象は両群共に低血糖であり、重大な低血糖及び重大でない低血糖共に発現頻度に両群で差を認めなかった。

また、アレルギー反応に関連する可能性のある有害事象は、本剤群で 30 例 (9.3%)、対照群で 15 例 (14.0%) に認められ、本剤群の 1 例では、アスパルト-ヒトインスリン交叉抗体価の上昇との関連が疑われた。

総合評価

医薬品医療機器審査センターにおける審査の結果、以下の効能・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する。

【効能・効果】

インスリン療法が適応となる糖尿病

【用法・用量】

ノボラピッド 30 ミックス注

本剤は、超速効型インスリンアナログと中間型インスリンアナログを 3:7 の割合で含有す

る混合製剤である。

通常、成人では、初期は1回4～20単位を1日2回、朝食直前と夕食直前に専用のインスリン注入器を用いて皮下注射する。なお、1日1回投与のときは朝食直前に皮下注射する。

投与量は症状及び検査所見に応じて適宜増減するが、維持量は通常1日4～80単位である。

ノボラピッド30ミックス注 フレックスペン

本剤は、超速効型インスリンアナログと中間型インスリンアナログを3:7の割合で含有する混合製剤である。

通常、成人では、初期は1回4～20単位を1日2回、朝食直前と夕食直前に皮下注射する。なお、1日1回投与のときは朝食直前に皮下注射する。

投与量は症状及び検査所見に応じて適宜増減するが、維持量は通常1日4～80単位である。

平成 15 年 6 月 30 日

審査報告 (1)

1. 申請品目

[販売名]	ノボミックス 30 注 300、ノボミックス 30 注 300 フレックスペン
[一般名]	インスリン アスパルト (遺伝子組換え)
[申請者]	ノボ ノルディスク ファーマ 株式会社
[申請年月日]	平成 14 年 5 月 15 日
[剤型・含量]	1 カートリッジ中又は 1 パイアル中、インスリン アスパルト (遺伝子組換え) として 300 単位含有する注射剤
[申請時効能・効果]	インスリン療法が適応となる糖尿病
[申請時用法・用量]	<u>ノボミックス 30 注 300</u> 本剤は、超速効型インスリンアナログと中間型インスリンアナログを 3:7 の割合で含有する混合製剤である。 通常、成人では、初期は 1 回 4~20 単位を 1 日 2 回、朝食直前と夕食直前に専用のインスリン注入器を用いて皮下注射する。なお、1 日 1 回投与のときは朝食直前に皮下注射する。 投与量は症状及び検査所見に応じて適宜増減するが、維持量は通常 1 日 4~80 単位である。 <u>ノボミックス 30 注 300 フレックスペン</u> 本剤は、超速効型インスリンアナログと中間型インスリンアナログを 3:7 の割合で含有する混合製剤である。 通常、成人では、初期は 1 回 4~20 単位を 1 日 2 回、朝食直前と夕食直前に皮下注射する。なお、1 日 1 回投与のときは朝食直前に皮下注射する。 投与量は症状及び検査所見に応じて適宜増減するが、維持量は通常 1 日 4~80 単位である。
[特記事項]	なし

2. 審査の概要

イ. 起原又は発見の経緯及び開発の経緯に関する資料

本剤の有効成分であるインスリン アスパルト (遺伝子組換え) (以下、アスパルト) は、ヒトインスリン B 鎖 28 位のプロリン残基をアスパラギン酸に置換したインスリンアナログであり、二量体の会合面の対向する位置に、電気的に反発するようマイナスに帯電された

アミノ酸残基（アスパラギン酸）を存在させることにより単量体同士が反発し、二量体形成能を低下させ、結果的に六量体形成能も低い性質を有する。このため、製剤中では六量体を形成しているが、皮下注射後、六量体から急速に二量体及び単量体へと解離して速やかに血中に移行するとされている。その結果、既存のヒトインスリン製剤では、食後の血糖上昇に合わせるため食事 30 分前の投与を必要としていたのに対し、アスパルト製剤では食直前投与が可能となり、既存の速効型インスリン製剤に替わるものとして、本邦において 2001 年 10 月 2 日に超速効型製剤ノボラピッド注が承認されている。

生理的なインスリン分泌は、食事によって分泌される追加インスリン分泌と 1 日中一定量が分泌される基礎インスリン分泌よりなり、追加分泌を補充するために用いられるのが速効型インスリン製剤で、基礎分泌を補充するのが中間型インスリン製剤及び持続型インスリン製剤である。また、追加分泌と基礎分泌を同時に補うために開発されたのが中間型混合製剤である。本申請製剤は、アスパルトに硫酸プロタミンを加えて一部分を結晶化させ、可溶性の超速効型画分（アスパルト画分）と中間型画分（プロタミン結晶性アスパルト画分）を 3:7 の割合で含有する食直前投与が可能な中間型混合製剤であり、既存のヒトインスリン 30R 製剤に替わるものとしての位置付けになる。

なお、海外において、欧州では 2000 年 8 月 1 日に、米国では 2001 年 11 月 1 日に承認されたが、その後、処方及び製剤化工程の変更が行われ（本申請製剤）、欧州では 2002 年 1 月 28 日に、米国では 2002 年 6 月 26 日に承認事項一部変更が承認されている。

ロ. 物理的・化学的性質並びに規格及び試験方法に関する資料

1) 製剤について

本剤はアスパルトを有効成分とし、可溶性画分として 30%、プロタミンとの共結晶として 70%を含有する二相性水性懸濁製剤である。容量 3mL のカートリッジと注入器にセットしたキット製剤の 2 種類が申請されている。

開発の過程において 3 回の処方変更がなされ、その経緯が説明されている。国内の臨床試験は第三処方製剤を用いて実施されたが、その後生産性の向上を目的として処方及び製造工程の一部変更が行われている。第三処方製剤と申請製剤との違いは、

に関する製造工程の変更である。なお、第三処方製剤と申請処方製剤については生物学的同等性試験が実施されており（へ項「2」ヒトにおける薬物動態）、薬物動態学的に同等性が確認され、薬力学的にも有意差のないことが確認されている。

申請製剤の処方設計にあたり、亜鉛含量について、アスパルトの六量体あたり亜鉛イオン 個の範囲で、物理的・化学的安定性を有する製剤が得られたとして、規格値は亜鉛として $\sim \mu\text{g/mL}$ に設定されている。また、pH については、pH \sim では 状の 結晶が得られたこと、ブタによる薬理試験において pH 及び の製剤のは同等であったことから、pH の目標値を と設定したとしている。

製造方法は、
と混合し、
後
と混合して
を得る方法と説明されている。

臨床試験に用いられた第三処方製剤と申請製剤について、アスパルト・プロタミン共結晶の形状、不純物プロファイル及び製剤の安定性が比較検討されている。両者について、結晶の形状・大きさ及び結晶画分の割合、不純物含量、並びに 5、25 及び 37℃における安定性について差が認められないことを確認し、処方の変更により本剤の有効性及び安全性に影響を及ぼす可能性のある変化は認められなかったと説明している。

医薬品医療機器審査センター（以下、審査センター）が、アスパルト・プロタミン共結晶の物理的・化学的性質に関して尋ねたところ、申請者より、アスパルト・プロタミン共結晶及びヒトインスリン・プロタミン共結晶の粉末 X 線回折図を比較することにより、両者は同様の結晶構造を有すると考えたと説明された。

2) 製剤の規格及び試験方法について

製剤の規格及び試験方法として、性状、確認試験（酸に対する溶解性）、pH、純度試験（逆相高速液体クロマトグラフ法 (RP-HPLC)、ゲルろ過クロマトグラフ法）、溶解アスパルト、
含量、
及び
含量、エンドトキシン、無菌試験、
試験（
）並びに含量（RP-HPLC 法）が設定されている。

審査センターは、性状の項で認められている「綿状の浮遊物を認めることがある」について、また、結晶形状が物理的ストレスにより変化するとしているが、その物理的ストレスの内容と、変化した結晶の生物学的同等性が確認されているとしても品質の面からは保証されていないことから、この変化が性状における規定により確認できるかについて尋ねた。申請者は、綿状の浮遊物は共結晶の穏やかな集合体であり、均一な懸濁を困難にする凝集物や塊の生成を防ぐことから、本剤の再懸濁性のために好ましいものであると回答した。また、物理的ストレスとは 日のうち 時間は ℃で毎分 回転させ、 時間は ℃で静置保存することを 日間繰り返したものであると説明し、性状の項において結晶の長さや幅を規定することにより品質を保証できるとしている。結晶サイズの規格値については、既承認の
と同一の規格値としており、当該製剤についてこれまで結晶の長さや幅に起因する安全性及び有効性に関する問題は発生していないため、この経験に基づいて本規格値を設定したとしている。審査センターは性状に関する以上の回答を了承した。

審査センターは、pH について、製造工程の結晶化時に pH
では球形の結晶が形成するとされていたことから、製剤の規格値を pH
～
と設定したことの妥当性について尋ねた。

申請者は、次のように回答した。pH は
における
項目と
項目の 2 時点において管理しており、それぞれ設定根拠及び設定値は異なる。結晶形

態の変化に関与する pH は結晶化工程における pH であり、当該工程における pH の目標値は として、結晶化開始前及び結晶化終了時に許容限度を設定して管理している。一方、規格値の上限 は最終製品の実測値から設定したものであり、すでに生成している結晶が影響を受けない pH の許容上限値は pH 以上であることを確認していることから、規格値の上限を とすることは妥当であると考え、とした。審査センターは回答を了承した。

純度試験においては、RP-HPLC により B28isoAspIAsp (アスパルトの B 鎖 28 位のアスパラギンがイソアスパラギン酸に変化したもの)、デスアミド体及びその他の類縁物質の含量を定めている。

溶解アスパルトについて、審査センターは、設定された規格値が実測値及び精度から見て適切とは考えられず、また設定の根拠として欧州における承認申請時のデータに基づくとしていたため、その設定根拠について尋ねた。申請者が、欧州への承認申請データは第三処方方のパイロットスケールバッチに基づいて設定したものであると回答したことから、本申請処方の実測値に基づいて再度規格値を検討するよう求めたところ具体的なデータの提示とともに規格値の再設定がなされたことから、審査センターはこれを了承した。

亜鉛含量について、物理的・化学的に安定した量に設定したとの説明がなされていたため、審査センターはその具体的検討内容について尋ねた。申請者は、物理的安定性は苛酷な条件（℃ 日 時間回転を加える）に保存した検体に までの日数を測定することにより行い、化学的安定性は 及び 含量の経時変化を測定することにより行ったとした。第三処方剤の開発時に、 あたり ～ の を有する製剤を調製したところ、 ～ の範囲で 安定性が確認され、その後、申請製剤の処方検討にあたり、 を 当たり までしても第三処方剤と同等の物理的・化学的安定性が確保できることを確認したと説明した。さらに、ブタにおいて が 当たり 及び のアスパルト・プロタミン結晶製剤について皮下投与したときの投与部位からの消失挙動にも差が認められなかったとした。また、規格上限及び下限である 及び の範囲では、 の 製剤と同等の物理的・化学的安定性が認められ、規格値の範囲内での安定性が確認されている、と回答した。審査センターは回答を了承した。

防腐剤である 及び について、規格値設定の根拠として欧州における規格値に基づくとしていたため、審査センターはその設定根拠について尋ねた。申請者は、本申請と同処方への変更を欧州へ申請した時に欧州薬局方の保存効力試験を行って確認したものであるとした。この試験成績が日本薬局方の参考情報「保存効力試験」においても適合するものであるとの回答が得られたため、審査センターは回答を了承した。

フレックスペンについては注入量精度試験が設定されていたが、

における投与量の規格幅（ ～ ）について、安全性の面から問題なく設定されているか、説明するよう求めた。申請者は、本規格は ISO11608-1 (Pen injector for medical use)

を参考として設定したとし、 の 及び の を
繰り返し操作することにより を保証するものであるが、
を考慮して当該 ISO 規格より狭く設定している、と回答した。審査センター
は、実測データも確認した上で、回答を了承した。

本剤では生物活性が規格として設定されていないが、安定性試験において一部の試料で生物活性が HPLC による定量値より低値を示していたことから、HPLC による定量値と生物活性との相関性について、劣化試料における相関性も含めて説明するよう求めた。申請者は、開発段階での安定性試験における生物学的定量法による含量と HPLC 定量法による含量について両者の比をとったところ、均等な分散であり、特定の傾向が認められなかったことから、両者の相関は良好であると判断し、本剤について HPLC のみを定量法として設定することで問題はないと考えると回答した。審査センターは回答を了承した。

ハ. 安定性に関する資料

本剤について、長期保存試験 ($5\pm 3^{\circ}\text{C}$ 、24 カ月)、加速試験 ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$ 、12 カ月) 及び苛酷試験 ($37\pm 2^{\circ}\text{C}$ 、3 カ月) が実施されている。また、第三処方製剤を用いて実施された凍結及び光照射に対する試験が参考資料として提出されている。

長期保存試験においては、経時的に B28isoAspIAsp 及び高分子タンパク質がごくわずかに増加し、溶解アスパルトがわずかに減少する傾向が認められたほかは、明白な傾向を示す変化は認められなかった。なお、本試験は カ月まで継続中である。

加速試験では、性状の試験において、6 カ月及び 12 カ月保存の各 1 検体で、わずかな堆積物及び小さな塊がそれぞれ認められた。当該各保存期間でさらに 7 検体ずつを試験したところ、6 カ月ではそのうちの 2 検体に小さな塊を、また 12 カ月ではそのうちの 4 検体に塊及び堆積物を認めた。また、経時的に B28isoAspIAsp の顕著な増加並びにデスアミド、その他の類縁物質及び高分子たん白質の増加が認められ、溶解アスパルト及び含量の減少も認められた。含量はわずかに減少した。その他の測定項目においては明白な傾向を示す変化は認められなかった。

苛酷試験においては、性状の試験において、1 カ月保存のすべてのバッチ及び 2 カ月保存の 1 バッチで小さな塊が認められた。経時的に B28isoAspIAsp、デスアミド、その他の類縁物質及び高分子たん白質はいずれも著しく増加し、含量が減少した。溶解アスパルトは 1 カ月保存で減少が認められたがその後減少は認められなかった。含量はわずかに減少した。その他の測定項目においては明白な傾向を示す変化は認められなかった。

第三処方製剤について実施された凍結及び光の影響については、凍結保存では内容物の体積が増加しカートリッジのゴムピストンが移動するという現象が認められ、曝光保存では、類縁物質の著しい増加が認められた。

以上の試験結果より、申請者は、長期保存試験において大きな変化を示した測定項目はなく、 $5\pm 3^{\circ}\text{C}$ における本剤の安定性は良好であるとし、また加速試験及び苛酷試験におけ

る性状の不適合については、本剤の使用期間中の保存状態を模倣した使用時安定性試験において性状の不適合が認められなかったことから、長期間高温下に完全な静置状態に置かれたことが原因と推察され、この結果が直接本剤の安全性及び有効性に影響を及ぼすものではないとしている。本剤は密封容器中、遮光して2～8℃に保存するとき、少なくとも24カ月間は安定であるとした。

審査センターは、本剤の貯法及び有効期間の設定について妥当と判断した。また、本剤の使用開始後は冷蔵保存されないことから、使用時安定性試験の成績を提出するよう求め、使用開始後の安定性に関する医療機関及び患者に対する情報提供の方法について尋ねた。申請者は、使用時安定性試験成績を追加資料として提出し、 $^{\circ}\text{C}$ で投与及び運搬操作や $^{\circ}\text{C}$ 操作を加えて実施した使用時安定性試験により、 $^{\circ}\text{C}$ 日間の安定性を確認していると説明した。また、使用開始後の使用期間として1カ月を設定するとし、添付文書には「使用中は冷蔵庫に入れず、室温に保管し、4週間以内に使用すること。」と記載すると回答した。

審査センターは、回答を了承した。

二. 毒性に関する資料

本剤の有効成分であるアスパルトは、平成13年10月2日輸入承認を取得しており、毒性に関する評価はすでに終了しているとして、本申請にあたっては本剤及びその強制劣化品（ $^{\circ}\text{C}$ 、 $^{\circ}\text{C}$ 月間保存）の単回投与試験、局所刺激性試験、抗体産生能試験のみが提出されている。

1) 提出された資料の概略

(1) 単回投与毒性試験

4～5週齢の Sprague-Daley 系ラットの雌雄各5匹/群に、本剤の強制劣化品（Batch No. $^{\circ}\text{C}$ ）62.5、125、250、500、1,000及び2,000単位/kgが単回皮下投与された。また、比較対照として本剤の2,000単位/kgが同様に単回皮下投与された。いずれの群においても死亡例はみられず、一般状態については、本剤強制劣化品の1,000及び2,000単位/kg投与群並びに本剤の2,000単位/kg投与群の雌雄で自発運動の低下が認められた。さらに、本剤強制劣化品の2,000単位/kg投与群の雌雄で立毛、雌1例に眼瞼下垂が認められた。これらの変化はいずれも投与後30分以内に観察され、投与後2時間で症状は消失した。体重について、本剤の2,000単位/kg投与群の雌で、観察期間終了時（14日後）における対照群との比較において、増加量の低下がみられた。その他、剖検で特記すべき変化は認められなかった。本試験でみられた変化は、アスパルトの薬理作用による低血糖に起因するものと考えられ、いずれの変化もアスパルトのラット単回皮下投与毒性試験で認められ、本剤強制劣化品及び本剤投与による新たな変化ではないと結論されている。

概略の致死量は本剤強制劣化品及び本剤ともに2,000単位/kg以上と判断されている。

(2) 局所刺激性試験

雌性ブタ 12 匹の背部皮下に本剤、ヒトインスリン 30R 混合製剤（速効型画分：中間型画分=3:7。以下、BHI30）及び中間型ヒトインスリン製剤（以下、NPH）が 20 単位/200 μ L/site、並びに本剤溶媒及び生理食塩液（対照群）が 200 μ L/site、それぞれ単回投与された。

病理組織学的検査では、本剤投与部位で細胞浸潤及び結晶性物質がみられたが、その頻度及び程度は、BHI30 及び NPH 投与部位とほぼ同等であった。これらのヒトインスリン製剤は長年の臨床使用実績があり投与部位刺激性は問題となっていないことから、本剤の臨床使用時に投与部位刺激性が問題となる可能性は低いと結論されている。

(3) 抗体産生能に関する試験

本剤及び本剤強制劣化品（Batch No. ）の抗原性を、ヒトインスリンとアミノ酸配列の相同性が高いウサギを用いて、ブタイソフェンインスリン水性懸濁注射液（以下、ブタインスリン製剤）及びウシ結晶性インスリン亜鉛水性懸濁注射液（以下、ウシインスリン製剤）と抗体産生能について比較された。

5 カ月齢の New Zealand White 系ウサギ雌雄各 5 匹/群に、本剤、本剤強制劣化品、ブタインスリン製剤又はウシインスリン製剤とフロイント不完全アジュバントとの混合物 20 単位/mL が、それぞれ 1mL の投与量で週 2 回、14 週間、合計 28 回皮下投与された。投与前並びに投与開始後 15 日及びそれ以降は 14 日ごとに採血され、¹²⁵I で標識したアスパルト、ブタインスリン又はウシインスリンをトレーサーとし、得られた血清中の抗体との結合率が RIA 法で測定された（検出限界 1.996%）。

本剤投与群における抗体結合率の平均値は、投与全期間を通じてブタインスリン製剤投与群より高値傾向、ウシインスリン製剤投与群より低値傾向を示したが、試験期間を通じた動物ごとの平均結合率を比較したところ、本剤投与群とブタインスリン製剤投与群及びウシインスリン製剤投与群の間で有意な差は認められなかった。また、本剤投与群及び本剤強制劣化品投与群の間でも、動物ごとの平均結合率に有意な差は認められなかった。本剤のウサギにおける抗原性は、ウシインスリン製剤より低く、ブタインスリン製剤より高い傾向であったと結論されている。

3) 審査センターにおける審査内容

(1) 資料の構成について

審査センターは本申請における提出資料の構成について、その意義と妥当性を申請者に尋ねた。

申請者は以下の通り回答した。国内臨床試験開始時には本剤の有効成分であるアスパルト及び各添加物の毒性は既知であったが、国内臨床試験における安全性確保に有益である

と考え、先に行われていた海外臨床試験後に追加するかたちで混合製剤について局所刺激性、毒性プロファイル及び抗原性について検討を行った。局所刺激性については、本剤に特異的な投与部位局所刺激性の有無を確認する目的で、NPH 及び BHI30 と比較した。毒性プロファイルについては、本剤の特異的な毒性作用の有無と本剤強制劣化品との比較を目的とした。また、抗原性については、本剤と本剤強制劣化品のウサギにおける抗体産生能をブタインスリン製剤とウシインスリン製剤と比較することを目的として実施し、これらにより資料を構成した。

審査センターは、本剤について臨床使用が豊富なアスパルト、ブタインスリン製剤及びウシインスリン製剤と異なる新たな毒性は見いだせなかった。

(2) 比較対照群の設定について

審査センターはラット単回投与毒性試験では本剤の濃度が一用量でありアスパルト単剤（速効型成分のみを含有する製剤）及び BHI30 との比較が実施されていないこと、ブタ局所刺激試験では本剤強制劣化品及びアスパルト単剤との比較が実施されていないこと、並びにウサギの抗体産生能試験ではアスパルト単剤との比較が行われていないことについて、これらの比較試験を実施せずに本剤の安全性を担保した理由を説明するよう求めた。

申請者は以下の通り回答した。単回投与毒性試験での用量は、以前実施されたアスパルト単剤の単回皮下投与試験において 4,000 単位/kg 投与においても血糖降下作用に起因する変化以外の毒性変化は認められなかったことから、本剤の技術的に投与可能最大量のみで行った。一方、規格値を大幅に上回る分解生成物を含んだ強制劣化品については、毒性プロファイルにおける量との関係を把握する目的で投与量を細かく設定した。さらにアスパルト単剤及び BHI30 の単回皮下投与による変化は薬理作用に起因する血糖降下作用のみと考えられることより、比較対照薬を設定せずとも本剤の特異的な毒性把握は可能であると考えた。また、ブタ局所刺激性試験では、NPH 及び BHI30 投与群との比較により、プロタミンの影響を含めた本剤全体の局所刺激性は評価可能と考え、アスパルト単剤群及び強制劣化品群を設定しなかった。ウサギ抗体産生能試験では、次の理由によりヒトにおける抗体産生能が把握されているブタインスリン製剤及びウシインスリン製剤を比較対象とした。ウサギインスリンはヒトインスリンとアミノ酸配列が類似しており、それぞれブタインスリンと比較したときは B30 位に、ウシインスリンと比較したときは A8、A10 及び B30 位に置換が認められる。したがって、ブタインスリン製剤及びウシインスリン製剤に対するウサギの抗体産生反応は、ヒトにおける反応と比較的類似していると考えられ、実際にブタインスリン製剤に対するウサギの抗体産生反応は比較的弱く、ウシインスリン製剤に対する抗体産生反応は比較的強いという結果が得られている。アスパルトはヒトインスリンと B28 位のアミノ酸配列が 1 カ所異なるのみであるが、ウサギインスリンとは 2 カ所異なり、本剤のウサギにおける抗体産生反応はヒトに投与した場合よりも強く発現する可能性が考えられる。しかしながら、ウサギにおける抗体産生能がよく知られ、また長年の臨

床使用経験からヒトにおける抗体産生能が把握されているブタインスリン製剤及びウシインスリン製剤と比較することにより、本剤及び本剤強制劣化品の抗体産生能を考察することが有益であると考えた。さらに、本剤はプロタミンを含有することの他はアスパルト単剤とほぼ同じであることから、本剤投与によりプロタミンの影響を含めた製剤の抗原性の評価が可能であると考え、アスパルト単剤投与群を設定しなかった。

審査センターは、今回実施された試験について、対照とされた他のインスリン製剤と比較したときの成績から本剤の毒性はある程度推測可能と考えるが、本来であれば、プロタミンを含有しないアスパルト単剤と比較し、どのような差異があるかを確認するべきであったと考える。

(3) 毒性のまとめ

以上より、審査センターは提出された資料からは本剤での新たな毒性を見いだすことはできなかった。

ホ. 薬理に関する資料

本剤の有効成分であるアスパルトは既承認成分であり、その薬理作用は既に確認されているが、本申請においては、中間型混合製剤としての薬理学的特性を確認するため、中間型混合ヒトインスリン製剤 BHI30（速効型画分：中間型画分=3:7）との効力比較及び薬理作用の発現とその持続性について検討した結果が提出された。

ヒトインスリン製剤との比較について、ブタに本剤及び BHI30 の 0.15 単位/kg を 1 週間間隔で単回皮下投与し、血糖降下作用をクロスオーバー法により比較したところ、本剤の血糖降下作用は BHI30 より速やかに発現し、注射後 20～105 分で BHI30 と比べて有意に低い血漿中グルコース濃度を示した。

速効型画分の比率を変えた製剤について、ブタを用いて血糖降下作用が比較された。アスパルト単剤（速効型成分のみを含有する製剤）、PC-IAsp（プロタミン結晶性アスパルトのみを含有する製剤）並びに両者の混合製剤であるアスパルト混合 30（本剤、速効型：中間型=3:7）、アスパルト混合 50（速効型：中間型=5:5）及びアスパルト混合 70（速効型：中間型=7:3）の 0.15 単位/kg を 1 週間間隔で単回皮下投与し、クロスオーバー法により比較したところ、いずれのアスパルト混合製剤もアスパルト単剤と同様に速やかな血糖降下作用を発現し、速効型画分の比率が高くなるほど強い血糖降下作用を発現する傾向が認められたとされた。また、アスパルト混合製剤の血糖降下作用は投与後 120 分頃から減弱したが、本剤及びアスパルト混合 50 投与後の血漿中グルコース濃度は、投与後 360 分においても投与前より低値を示し、製剤中の速効型画分の比率が低くなるほど血糖降下作用はより持続する傾向があるとされた。

審査センターは、混合製剤の薬効を確認するにあたって、300 分又は 360 分よりも長時間まで確認する必要はないか説明するよう求めた。

申請者は以下のように回答した。皮下構造がヒトと類似しているとされる正常ブタで検討しているが、インスリン製剤についてブタは吸収及び消失がヒトと比較して早いとされる。ブタにおけるアスパルトの薬物動態を考慮し、投与後 300 分又は 360 分までの血中グルコース濃度と血中アスパルト濃度について、血中アスパルトの吸収及び消失パターンと血糖降下作用（最大降下と持続性）の相関性を確認した。

審査センターは、回答を了承した。

へ. 吸収、分布、代謝、排泄に関する資料

アスパルトの吸収、分布、代謝、排泄に関する資料については、既承認のノボラピッド注申請時に審査を終了している。本申請においては、アスパルト中間型混合製剤の薬物動態に関する資料が追加された。

1) 動物における薬物動態

雌雄ラットに申請製剤（以下、本剤）1 及び 2 単位/匹（雄：約 3.1 単位/kg 及び約 6.1 単位/kg、雌：約 4.3 単位/kg 及び約 8.3 単位/kg）を単回皮下投与した時、血漿中アスパルト濃度推移は、雌雄とも投与後 15 分で最高濃度（ C_{max} ）に達し、半減期（ $t_{1/2}$ ）は 72～105 分であった。 $AUC_{0-360min}$ 及び C_{max} は雌雄ともに用量に比例して増加し、明確な性差は認められなかった。

雌ブタに 2 種類の本剤ロット（pH 及び : pH 規格値の上限及び下限）及び BHI30 をそれぞれ 0.15 単位/kg の用量で単回皮下投与した時、血漿中アスパルト濃度推移の最高濃度到達時間（ T_{max} ）は、本剤では 52 分（pH ）及び 66 分（pH ）であったのに対し、BHI30 では 231 分であり、初期消失相における $t_{1/2}$ は、本剤では 82 分（pH ）及び 93 分（pH ）であったのに対し、BHI30 では 174 分であった。血漿中未変化体濃度推移は、試験で用いた本剤 2 ロット間で明確な差は認められなかった。

雌ブタにアスパルト、アスパルト画分の比率を変えた各種中間型混合製剤（本剤、アスパルト混合 50 及びアスパルト混合 70）並びに中間型製剤（PC-IAsp）をそれぞれ 0.15 単位/kg の用量で単回皮下投与した時、血漿中アスパルト濃度推移の C_{max} はアスパルト画分の比率の増加に伴い上昇する傾向を示し、平均体内滞留時間（MRT）及び $t_{1/2}$ は逆に減少する傾向を示した。 T_{max} はアスパルト画分の比率に依存することなく各製剤において中央値で 25～45 分とほぼ一定の値を示した。アスパルトの $AUC_{0-360min}$ は他の 4 製剤に比べて高値を示したが、他の 4 種の製剤では類似していた。

2) ヒトにおける薬物動態

日本人健康成人男性 16 例を対象に、絶食下で 0.15 単位/kg の本剤及び BHI30 を単盲検、クロスオーバー法にて単回皮下投与した国内第 I 相試験（ANA/DCD/049 試験、評価資料ト-1）において、外因性血中インスリン濃度（ ΔIRI ）推移の T_{max} は、BHI30 では 101.6

分であったのに対し、本剤では 58.8 分であった。本剤及び BHI30 投与後の $AUC_{0-360min}$ はそれぞれ $4404.76 \mu U \cdot min/mL$ 及び $3542.80 \mu U \cdot min/mL$ 、 $AUC_{0-600min}$ はそれぞれ $5659.88 \mu U \cdot min/mL$ 及び $4934.58 \mu U \cdot min/mL$ であり、 $AUC_{0-360min}$ 比（本剤/BHI30）は 1.247、 $AUC_{0-600min}$ 比（本剤/BHI30）は 1.151 となり本剤で有意に大きかった。 C_{max} については、BHI30 で $16.2 \mu U/mL$ に対し本剤は $27.7 \mu U/mL$ であり、本剤で有意に高かった。消失過程においては、両製剤はほぼ同様の推移を示した。一方、血糖値の投与前値からの変動幅（ Δ 血糖値）で比較すると、投与後 360 分までの Δ 血糖値の T_{max} は、BHI30 では 196.9 分であったのに対し、本剤では 103.1 分であった。本剤及び BHI30 投与後の Δ 血糖値の $AUC_{0-360min}$ はそれぞれ $6843.67mg \cdot min/dL$ 及び $6163.44mg \cdot min/dL$ 、 $AUC_{0-600min}$ はそれぞれ $11939.92mg \cdot min/dL$ 及び $11214.69mg \cdot min/dL$ であり、 $AUC_{0-360min}$ 比（本剤/BHI30）は 1.090、 $AUC_{0-600min}$ 比（本剤/BHI30）は 1.043 であった。投与後 360 分までの Δ 血糖値の C_{max} は、BHI30 で $26.6mg/dL$ に対し本剤は $31.6mg/dL$ 、投与後 600 分までの Δ 血糖値の C_{max} は、BHI30 で $27.9mg/dL$ に対し本剤は $33.0mg/dL$ であり、本剤で有意に高かった。申請者は、投与後 360 分以降の血糖値の低下は、前夜からの絶食の影響と考察している。日本人 2 型糖尿病患者 10 例を対象に、絶食後、グルコースクランプ施行下にて本剤 0.3 単位/kg を単回皮下投与した国内臨床薬理試験 (BIAsp-1356 試験、評価資料ト-4) において、血中アスパルト濃度推移の T_{max} は 87.0 分、 $t_{1/2}$ は 179.8 分であり、 C_{max} は $387.9pmol/L$ 、 $AUC_{0-480min}$ は $78936.0pmol \cdot min/L$ であった。一方、移動平均により平滑化したグルコース注入速度 (GIR) の推移の T_{max} は 192.5 分、 $T_{GIR,1/2max (early)}$ は 328.7 分であり、 GIR_{max} は $11.018mg/kg/min$ 、 $AUC_{0-480min}$ は $2355.643mg/kg$ であった。

日本における第Ⅲ相試験開始後に、デンマークのノボ ノルディスク社において製剤中の亜鉛含量を減じた処方変更がなされている（申請製剤）。そこで、日本人健康成人男性 30 例を対象に、臨床試験使用製剤及び申請製剤間の生物学的同等性試験が実施されている（BIAsp-1445 試験、評価資料ヘ-4）。それぞれ 0.15 単位/kg を絶食下で単回皮下投与した時、主要評価項目である Δ IRI 推移の投与後 16 時間までの C_{max} 及び AUC において、同等性の基準を満たし、生物学的に同等と判断された。

審査センターは、第Ⅰ相試験における日本人健康成人でのデータと臨床薬理試験における日本人 2 型糖尿病患者でのデータを用いて、日本人健康成人と日本人 2 型糖尿病患者で本剤の PK/PD に違いがあるかどうか比較考察を求めた。

申請者は以下のように回答した。健常人を対象とした第Ⅰ相臨床試験はグルコースクランプを用いずに行われた試験であり、試験デザイン及び AUC の算出区間が異なることから厳密な比較はできないが、薬物動態パラメータについて、同一投与量及び単位に換算後の数値で比較すると、第Ⅰ相臨床試験及び臨床薬理試験における C_{max} は、それぞれ $332.4pmol/L$ 及び $387.9pmol/L$ と両試験で近い値を示した。 T_{max} については、健常人で 58.8 分、2 型糖尿病患者で 87 分と後者で若干大きな値となっていた。その原因は明らかではないが、臨床薬理試験では血中アスパルト濃度に変動がみられた被験者がおり、また、第Ⅰ相臨床

試験の被験者の年齢は 20～25 歳、臨床薬理試験の被験者の年齢は 34～73 歳と異なっていたことから、糖尿病患者や高齢者では皮下血流量の低下により皮下からの吸収が遅延すると考えられる。AUC については、第 I 相臨床試験で 600 分まで、臨床薬理試験で 480 分までと算出区間が異なるが、第 I 相臨床試験及び臨床薬理試験における AUC は、それぞれ 1,131.98pmol·hr/L 及び 1,315.6pmol·hr/L であり、大きな差はないものと考えられる。一方、薬力学的作用に関しては、第 I 相臨床試験では早朝空腹時に投与を行いグルコース補充を行わないデザインであり、一方、臨床薬理試験では血糖値を一定に保つためのグルコース注入量を観察しているため、直接の比較は行えないと考える。

審査センターは以上の回答を了承した。

ト. 臨床に関する資料

今回示されている「1 型糖尿病」及び「2 型糖尿病」とは 1999 年発行の日本糖尿病学会の病型分類であり、「インスリン依存型糖尿病」、「インスリン非依存型糖尿病」とは 1982 年の日本糖尿病学会の病型分類に基づき分類されている。

低血糖に関しては以下のように定義された。

重大な低血糖：

次のいずれかを要した意識低下を伴う低血糖症状

第三者による処置 かつ/又は グルカゴン投与あるいはグルコースの静脈内投与

重大でない低血糖：

発現時の血糖測定の有無及びその値にかかわらず、発現した発汗、空腹感、頭痛、嘔気、頭重感、動悸、めまい、振戦等の低血糖症状

2) 提出された臨床試験結果の概略

評価資料として、第 I 相試験 1 試験、第 II 相試験 1 試験及び第 III 相試験 1 試験、臨床薬理試験 1 試験の計 4 試験が提出された。

(1) 第 I 相臨床試験

① 健常成人男子における単回投与試験（評価資料ト-1）

健常成人男子(16 例)を対象に安全性、薬物動態及び薬力学的作用を検討する目的で BHI30（速効型ヒトインスリンと NPH インスリンを 3:7 の割合で混合したノボ ノルディスク社の中間型混合ヒトインスリン製剤）を対照薬とした単盲検、2 剤 2 期クロスオーバー法により絶食下单回投与試験（0.15 単位/kg を皮下投与）が実施された。安全性解析対象例は 16 例であった。

安全性では有害事象の発現は認められなかった。臨床検査、バイタルサイン及び身体所見に治験薬に起因すると考えられる変動及び臨床問題となる異常所見は認められなかった。なお、薬物動態及び薬力学的作用についてはへ項参照のこと。