

審議結果報告書

平成 18 年 8 月 31 日
医薬食品局審査管理課

〔販 売 名〕 アドベイト 注射用 250、同 500、同 1000

〔一 般 名〕 ルリオクトコグ アルファ（遺伝子組換え）

〔申 請 者〕 バクスター株式会社

〔申請年月日〕 平成 16 年 9 月 17 日

〔審 議 結 果〕

平成 18 年 8 月 25 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報告することとされた。なお、本品目は生物由来製品に該当し、再審査期間は 6 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。

審査報告書

平成 18 年 8 月 8 日

独立行政法人 医薬品医療機器総合機構

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

記

- [販 売 名] アドベイト 注射用 250、同 500、同 1000
- [一 般 名] ルリオクトコグ アルファ(遺伝子組換え)
- [申 請 者] バクスター株式会社
- [申請年月日] 平成 16 年 9 月 17 日
- [申 請 区 分] 医療用医薬品 (1) 新有効成分含有医薬品
- [剤型・含量] 1 バイアル中、ルリオクトコグ アルファ(遺伝子組換え)を 250 単位、同 500 単位、同 1,000 単位含有し、添付溶解液で溶解したときに 1mL あたりルリオクトコグ アルファ(遺伝子組換え)を 50 単位、同 100 単位、同 200 単位含む用時溶解注射剤。

[化 学 構 造]

分子量: 約 310,000

構造式: 2,332 アミノ酸残基からなる前駆体たん白質から、B ドメインが限定分解された成熟型で、ヘテロダイマー構造(重鎖:200kDa、軽鎖:80kDa)を有する(下記、図 1 参照)

化学名: ルリオクトコグ アルファ(遺伝子組換え)
rurioctocog alfa (genetical recombination)

本質:

日本名: ヒト肝細胞の mRNA に由来するヒト第Ⅷ因子 cDNA の発現により、チャイニーズハムスター卵巣細胞で産生される 2,332 個のアミノ酸残基($C_{12257}H_{17863}N_{3220}O_{3552}S_{83}$; 分子量: 269,812.82)からなる糖たん白質(分子量: 300,000~350,000)

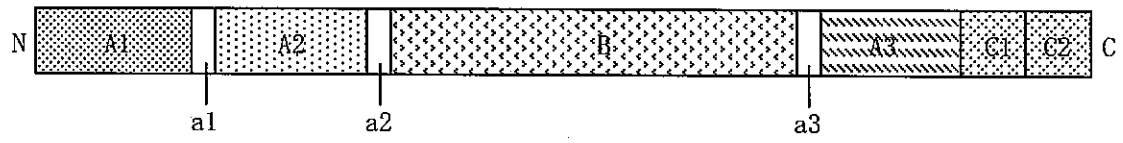
英名: glycoprotein (molecular weight: 300,000~350,000) consisting of 2,332 amino acid residues ($C_{12257}H_{17863}N_{3220}O_{3552}S_{83}$; molecular weight: 269,812.82), produced in Chinese hamster ovary cells by expression of a human factor VIII-cDNA derived from human liver-mRNA

[特 記 事 項] なし

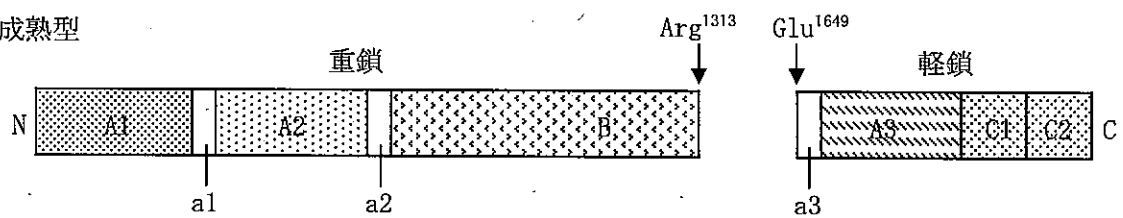
[審査担当部] 生物系審査部

図1 ルリオクトコグ アルファ (遺伝子組換え)の構造模式図

前駆体



成熟型



活性型



審査結果

平成 18 年 8 月 8 日

〔販売名〕 アドベイト 注射用 250、同 500、同 1000

〔一般名〕 ルリオクトコグ アルファ(遺伝子組換え)

〔申請者〕 バクスター株式会社

〔申請年月日〕 平成 16 年 9 月 17 日

〔審査結果〕 提出された資料から本剤の血液凝固第Ⅷ因子欠乏患者に対する有効性及び安全性が示されたと判断する。

有効性については、本剤は既承認のリコネイトの製造工程及び添加剤からヒト・動物由来成分を除いて製造したものであり、治療歴のある血友病 A 患者を対象とした国内臨床試験(薬物動態及び止血効果)の成績等から、リコネイトとほぼ同程度の有効性を示すものと判断する。

安全性については、臨床的に問題になるような重篤な副作用は認められておらず十分忍容可能と判断する。

しかしながら、臨床試験において検討された症例数が少ないこと、小児及び治療歴のない血友病 A 患者での国内投与症例がないことから、製造販売後に一定数を対象とした調査を行い、さらに検討する必要があると判断する。

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

〔効能・効果〕

血液凝固第Ⅷ因子欠乏患者に対し、血漿中の血液凝固第Ⅷ因子を補い、その出血傾向を抑制する。

〔用法・用量〕

本剤を添付の溶解液 5mL で溶解し、緩徐に静脈内注射又は点滴注入する。なお、10mL/分を超えない速度で注入すること。用量は、通常、1 回体重 1kg 当たり 10～30 単位を投与するが、症状に応じて適宜増減する。

審査報告 (1)

平成 18 年 7 月 5 日

I. 品目の概要

- [販売名] アドベイト注射用 250、同 500、同 1000
- [一般名] ルリオクトコグ アルファ(遺伝子組換え)
- [申請者] バクスター株式会社
- [申請年月日] 平成 16 年 9 月 17 日
- [剤型・含量] 1 バイアル中、ルリオクトコグ アルファ(遺伝子組換え)を 250 単位、同 500 単位、同 1,000 単位含有し、添付溶解液で溶解したときに 1mL あたりルリオクトコグ アルファ(遺伝子組換え)を 50 単位、同 100 単位、同 200 単位含む用時溶解注射剤。
- [申請時効能・効果] 血液凝固第Ⅷ因子欠乏患者に対し、血漿中の血液凝固第Ⅷ因子を補い、その出血傾向を抑制する。
- [申請時用法・用量] 本剤を添付の溶解液 5mL で溶解し、緩徐に静脈内注射又は点滴注入する。なお、10mL/分を超えない速度で注入すること。用量は、通常、1 回体重 1kg 当たり 10～30 単位を投与するが、症状に応じて適宜増減する。
- [特記事項] なし

II. 提出された資料の概略及び医薬品医療機器総合機構(以下、機構)における審査の概要

1. 起源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

血液凝固第Ⅷ因子(FⅧ)は、主に肝臓で産生される分子量 300,000～350,000 の糖たん白質である。分泌の過程で FⅧは部分切断を受け、成熟 FⅧ(重鎖と軽鎖からなるヘテロダイマー)となって、血漿中では von Willebrand 因子(vWF)と複合体を形成して存在する。成熟 FⅧは出血部位において、活性化血液凝固第Ⅹ因子(FⅩa)又はトロンビンによって、限定分解を受け活性化される。活性化 FⅧ(FⅧa)は、Ca²⁺存在下、リン脂質膜上で活性化血液凝固第Ⅸ因子(FⅨa)と複合体(Xase)を形成し、これが FⅩの活性化を促進して、以降の血液凝固系を活性化し、止血が成立する。

FⅧ遺伝子は X 染色体上に存在し、先天性の出血性疾患(血友病 A)患者では FⅧ遺伝子変異により、血漿中 FⅧ活性が欠損又は低下する。血友病 A は X 染色体連鎖劣性遺伝であり、FⅨ遺伝子異常による血友病 B も含めた血友病全体では、本邦、海外ともに男子出生

約1万人に1人と言われている(血液・腫瘍科, 38:259-266, 1999, R Hoffman, EJ Benz, Jr, SJ Shattil, editors, HEMATOLOGY Basis Principles and Practice, Churchill Livingstone, 1991)。血友病の患者数は、平成16年度の全国調査では、血友病Aが3,938名、血友病Bが872名とされている(厚生労働省委託事業 血液凝固異常症全国調査, 平成16年度報告書, 財団法人エイズ予防財団)。また、血友病Aの重症度は、血漿中FVIII活性が正常の1%未満が重症、1~5%が中等症、5%以上が軽症と分類され、本邦における内訳は、平成13年度と同調査では重症52.7%、中等症26.9%、軽症20.4%と報告されている。

血友病では、FVIII又はFIXの異常によって内因性凝固反応が進まなくなるため、関節内出血、筋肉内出血及び頭蓋内出血等の深部出血が多く認められる。特に関節内出血は血友病に最も多い症状で、乳児期の歩行開始と共に現れ、運動が活発になるにつれて膝関節出血が多くなってくる。この時期に出血を繰り返すと関節軟骨が破壊され、関節面が不正となり、関節を支える筋肉も弱くなるため更に出血し易くなるという悪循環に至り、結果として、関節変形、伸展・屈曲障害を来し、歩行困難となる(内科, 72:1112-1116, 1993)。しかし、近年、血友病の在宅自己注射療法の導入により、出血時の迅速な治療が行なわれるようになり、早期止血、関節内出血等による慢性障害発生の防止が可能となったことから、血友病性関節症の増悪は減少し、その結果、高度の恒久的機能障害は現在では高年齢者のみに認められている(福井弘 編 血液科学シリーズ(7)血友病―第VIII, IX因子およびvon Willebrand 因子の構造とその異常, 西村書店, 1993)。

血友病Aの治療においては、FVIIIの補充療法が基本である。治療薬としては、古くはヒト血漿由来の非加熱の乾燥人血液凝固第VIII因子製剤及び乾燥濃縮人血液凝固第VIII因子製剤が用いられていたが、ヒト免疫不全ウイルス、肝炎ウイルス等によるヒト血液由来感染症伝播の問題や不純物によるアナフィラキシーの危険性が存在した。これらの問題に対して、加熱処理、有機溶媒/界面活性剤処理、ナノフィルトレーション等のウイルス等感染性因子の除去・不活化工程の導入や精製方法の改良が行われ、危険性は相対的に減少した。しかしながら、ヒト血漿を原料として使用することによる感染症の潜在的なリスクは依然として存在すること、また、安定供給上の制約は払拭しがたいことから、これらを回避するために遺伝子組換え FVIII製剤の開発が行われ、1993年に本邦で初めてコージネイト(一般名: オクトコグ アルファ(遺伝子組換え))が承認された。同時期に、バクスター株式会社(申請者)も遺伝子組換え FVIII製剤の開発を進め、1996年にリコネイト(一般名: ルリオクトコグ アルファ(遺伝子組換え))承認を取得し、現在に至るまで販売を行なっている。しかしながら、リコネイトはヒト血清アルブミンを安定剤として含むこと、培養工程やモノクローナル抗体カラムの製造にウシ及びヒト由来たん白質が

使用されていることから、ヒト血液由来感染症や伝達性海綿状脳症伝播の潜在的リスクを排除できないため、細胞培養(セルバンク含む)、精製及び製剤化のいずれにおいてもヒト及び動物由来のたん白質を添加しない、遺伝子組換えFⅧ製剤(本剤)の開発を行った。

アドベイト(以下、本剤)の製造に際し、リコネイトのワーキングセルバンク(WCB)を元にヒト及び動物由来たん白質を含有しない培地に適した製造用細胞株が樹立され、これからヒト及び動物由来たん白質を含有しない培地で生産培養が行われた。また、精製工程にて使用するモノクローナル抗体もヒト及び動物由来たん白質を含有しない原料にて製造された。さらに、これまでの安定剤として用いられてきたヒト血清アルブミンに替えて、トレハロース、トロメタモール、グルタチオン、ポリソルベート 80 等を用いた製剤化の開発が行われた。なお、グルタチオンについては、既承認医薬品の有効成分として使用されているものの、添加剤としての使用前例がないため、新添加物としての承認審査も同時に行われた。

申請者は、品質並びに薬理、薬物動態及び毒性プロファイルに関して本剤とリコネイトの類似性が確認できたと判断し、今般、国内及び海外で実施された臨床試験成績と併せて、本申請がなされたものである。なお、本申請においては、国内臨床試験成績は有効性及び安全性の評価資料とし、海外主要試験(海外第Ⅱ/Ⅲ相試験)は安全性のみ評価資料として審査を行い、他の海外臨床試験成績については、有効性及び安全性の参考資料として位置付けられた。

平成 18 年 5 月現在、本剤は米国、欧州連合(EU)諸国、スイス等 30 か国で承認されている。

2. 品質に関する資料

1) 提出された資料の概略

ルリオクトコグ アルファ(遺伝子組換え)は、ヒト肝細胞の mRNA に由来するヒト血液凝固第Ⅷ因子(ヒト FⅧ) cDNA を遺伝子導入したチャイニーズハムスター卵巢細胞株(CHO 細胞株)で産生される 2,332 個のアミノ酸残基($C_{12257}H_{17863}N_{3220}O_{3552}S_{83}$;分子量: 269,812.82)からなる糖たん白質(分子量: 300,000~350,000)である。FⅧの前駆体は、N 末端側から順に、A1 ドメイン(336 アミノ酸残基(aa))、a1 ドメイン(36aa)、A2 ドメイン(338aa)、a2 ドメイン(30aa)、B ドメイン(908aa)、a3 ドメイン(41aa)、A3 ドメイン(330aa)、C1 ドメイン(153aa)及び C2 ドメイン(160aa)から構成されている。前駆体の B ドメインが部分切断されることによって、200kDa の重鎖(H 鎖)と 80kDa の軽鎖(L 鎖)から構成される成熟型になる。アドベイト原薬(本薬)及び製剤は、この成熟型を主に含む。成熟型は、生体内でトロンビンによ

って切断され、B ドメイン及び a3 ドメインが除外され、H 鎖由来の A1-a1-A2-a2 ドメイン及び L 鎖由来の A3-C1-C2 ドメインが Ca^{2+} を介して会合するヘテロダイマー(活性化 FVIII (FVIIIa))となって、活性を発揮する。

(1) 製造方法

本剤は以下に示す方法で製造された。

① セルバンクシステム

本薬の種細胞株は、既承認のリコネイト製造用のワーキングセルバンク (WCB) から、ヒト及び動物由来たん白質を含まない培地での生育に適した細胞を選択することによって樹立された。従って宿主細胞、遺伝子発現構成体については、リコネイト製造用細胞株と違いはない。

なお、リコネイトのセルバンクは、以下のように作製されている。

ヒト胎児肝細胞由来の cDNA ライブラリーからヒト FVIII をコードする cDNA を取得し、マウスジヒドロ葉酸レダクターゼ (DHFR) 遺伝子を含む pBR322 由来のプラスミドベクターに挿入することにより、FVIII 発現用遺伝子発現構成体が作製された。また、ヒト臍帯静脈血管内皮細胞由来の cDNA ライブラリーから von Willebrand 因子 (vWF) をコードする cDNA を取得し、アデノシンデアミナーゼ (ADA) 遺伝子を含有する p91023 (B) 由来のプラスミドベクターに挿入することにより、vWF 発現用遺伝子発現構成体が作製された。さらに、マウス DHFR 遺伝子を pBR322 由来のプラスミドベクターに挿入することにより、エンハンサー欠如 DHFR 遺伝子発現構成体が作製された。これら 3 つの遺伝子発現構成体のうち、まず、FVIII 発現用遺伝子発現構成体及びエンハンサー欠如 DHFR 遺伝子発現構成体の 2 つを CHO 細胞由来の宿主 DUKX-B11 細胞に遺伝子導入し、MTX 含有選択培地で細胞を選択した後、さらに vWF 発現用遺伝子発現構成体を遺伝子導入し、ADA 選択培地で細胞が選択された。このようにして得られた種細胞株から、リコネイト製造用のマスターセルバンク (MCB) 及び WCB が調製された。

本薬のセルバンクシステムは、MCB 及び WCB からなり、本薬の MCB はリコネイトの WCB から樹立された種細胞株をヒト及び動物由来たん白質を含まない培地で培養して調製されている。WCB は、MCB をヒト及び動物由来たん白質を含まない培地で培養することにより調製されている。

MCB 及び WCB 作製時に、特性解析試験及びウイルス試験等の純度試験が実施されている。MCB の特性解析試験としては、DNA コピー数(サザンブロット法及び PCR 法)、挿入 DNA パターンの解析(サザンブロット法による制限酵素消化パターン解析)、DNA 塩基配列、発現たん白質(FVIII及びvWF)の解析、アイソザイム解析、形態学的特性、細胞倍加時

間、細胞生存率(参考値)が、WCB の特性解析試験としては、発現たん白質(FVIII及びvWF)の解析、アイソザイム解析、形態学的特性、細胞倍加時間が実施され、それぞれ判定基準に適合することが確認されている。また、MCB の純度試験としては、異種微生物混入試験(無菌試験)、マイコプラズマ否定試験、ウイルス試験(電子顕微鏡観察、逆転写酵素活性、*in vitro* 試験、*in vivo* 試験、マウス抗体産生試験、ハムスター抗体産生試験)が、WCB の純度試験としては、無菌試験、マイコプラズマ否定試験、ウイルス試験(*in vitro* 試験、*in vivo* 試験)が実施されており、CHO 細胞で存在の知られた内在性レトロウイルス様粒子を除いて、微生物やウイルスの混入は認められていない。

生産培養は、WCB から起算して 〇 日間、〇 世代培養となることから、これを超えて 〇 世代培養された細胞(CAL)について特性解析試験(DNA コピー数、挿入 DNA パターンの解析、DNA 塩基配列及びアイソザイム解析)が実施され、本細胞は遺伝的に安定であることが示されている。CAL における純度試験として、無菌試験、マイコプラズマ否定試験、ウイルス試験(電子顕微鏡観察、逆転写酵素活性、*in vitro* 試験、*in vivo* 試験)が実施され、MCB と同様の結果が得られている。

MCB 及び WCB の管理方法については、MCB は、〇 本調製されており、1 本の MCB から 〇 本の WCB の調製が可能であって(WCB として 〇 万本以上の本数が確保されている計算となる)、安全上 2 か所に分けて液体窒素中で保管している。MCB の安定性は、WCB 更新時に細胞生存率を測定し、確認することとされている。WCB については、当該 WCB の在庫を使い切ることが予想される 〇 年前に MCB より調製(更新)し、特性解析試験として形態学的特性、FVIII の発現、アイソザイム解析を、純度試験として無菌試験、マイコプラズマ否定試験、ウイルス試験(*in vitro* 試験、*in vivo* 試験)を実施して適格性を確認する。保存時には 〇 年に 〇 回、細胞生存率、無菌試験、FVIII の発現を確認することとされている。

② 培養方法

〇 又は 〇 アンプルの WCB から出発し、フラスコを用いた静置培養、ローラーボトルを用いた回転培養、バイオリアクターを用いた攪拌培養を順次行いスケールアップし、最終的に生産培養として連続培養装置を用いた攪拌連続培養によって 〇 日あたり 〇 L の培地供給量にて 〇 日間の培養を行う。一連の細胞培養工程は重要工程として設定されており、生産培養においては工程内管理試験としてマイコプラズマ否定試験、無菌試験及び *in vitro* ウイルス試験を実施することとされている。生産培養液は重要中間体とされている。その他、各工程において、工程管理のために 〇、〇、〇

■又は■、■又は■、■の操作管理項目が設定されている。
生産培養後、生産培養液をろ過、希釈、再ろ過して、以後の精製工程に移行する。

③ 精製方法

ろ液を、抗 FVIII抗体を担体に結合させたイムノアフィニティークロマトグラフィーを用いて精製する。この抗体は、抗 FVIIIマウス IgG 産生ハイブリドーマから産生されたもので、ハイブリドーマ WCB 製造用培地及び抗体生産用培地には、ヒト及び動物由来たん白質は含まれていない。イムノアフィニティークロマトグラフィーの溶出液を、陽イオン交換クロマトグラフィーを用いて精製する。陽イオン交換クロマトグラフィーの溶出液を ■～■℃に加温しながら攪拌後、ろ過し、有機溶剤/界面活性剤混合液を加えて、さらに攪拌することでウイルス不活化を行う。不活化後、ろ過、緩衝液交換、再ろ過した後、陰イオン交換クロマトグラフィーを用いて精製する。この溶出液を充填容器に充填したものを原薬とし、使用時まで-80℃以下で凍結保存する。

イムノアフィニティークロマトグラフィー工程、陽イオン交換クロマトグラフィー工程、■剤処理工程及び陰イオン交換クロマトグラフィー工程は、重要工程として設定されている。また、各クロマトグラフィー溶出液及び■処理工程液は重要中間体とされている。これらの精製工程では工程管理のための工程内管理試験が設定されている他、不純物の除去状況の評価及びウイルスクリアランスの評価(ウイルスクリアランス試験)が実施されている。工程由来不純物の除去状況の評価では、宿主細胞由来たん白質、vWF、マウス IgG、宿主細胞由来 DNA、有機溶剤/界面活性剤処理に用いられるトリ(n-ブチル)リン酸(TNBP)及びトリトン X-100 のそれぞれについて、■ロットでの除去指数及び本薬中の残留量の説明がされている。宿主細胞由来たん白質、vWF、マウス IgG 及び宿主細胞由来 DNA についてはリコネイトと同程度の残留量であり、TNBP 及びトリトン X-100 については毒性試験を踏まえて十分な安全域を持った規格値以下に、恒常的に管理されることが説明されている。

④ 製剤化

アドベイト製剤(アドベイト注射用 250、同 500、同 1000)(本剤)は、本薬を緩衝液で濃度調整し、■μmのフィルターで無菌ろ過後、無色のガラスバイアルに充填し、凍結乾燥した後、キャッピング、ラベリング及び包装することによって製造される。■工程、■工程、■工程及び■工程が重要工程と位置付けられている。なお、本剤には、添付溶解液として日局注射用水が添付される。