

の室内再現精度からみてもばらつきは大きかった。この原因は、原薬の製造毎に濃度調整を行っていないためと考えられる。

製剤の安定性試験においても、比活性及び力価試験でロット間に差を認めた。これらのばらつきの原因は不明であったが、用いられたロットは開発初期のパイロットスケールで製造された製剤であったことから、開発初期における品質のばらつきによるものであることが考えられた。その後、ロット間のばらつきを改善するため濃度調整工程の希釈操作に変更を加えており、その結果、製剤含量は、従前の $91.2 \pm 8.3\%$ (平均値 $\pm$ SD、32 ロットの成績) から $101.1 \pm 6.5\%$ (平均値 $\pm$ SD、33 ロットの成績) に改善されたことを確認している。

機構は、加速試験における本剤の経時的な力価低下の原因について申請者の見解を求めた。

申請者は、以下のように回答した。

本剤における力価低下の原因として、一般にたん白質製剤の力価低下の原因として考えられる①凝集体生成、②酸化体生成、③脱アミド体生成、④切断体生成及び⑤立体変化を候補に挙げた。FVIII製剤の力価低下の原因としては、遊離システイン残基の修飾及びアミノ酸機能部位の修飾が報告されている (Int J Pharm, 259:1-15, 2003) が、これらの修飾も⑤立体変化として評価した。

①凝集体生成については、加速試験の力価低下と凝集体の増減率に関連性は認められず、②酸化体生成、③脱アミド体生成、④切断体及び⑤立体変化については、先に述べたように、生成している可能性は低い (「2.-2)-(1)-③ 目的物質由来不純物の規格設定の必要性について」を参照)。ただし、⑤立体変化には、モノクローナル抗体や vWF との結合率で評価できない変化も想定されることから、立体変化のすべてを否定することはできない。本薬の特性試験の円偏光二色性スペクトル分析では、加熱に伴い円偏光二色性シグナルが変化する事象を認めており、この変化は分子内の β シートが増加することによるものと推定され、加速試験条件の熱により、立体変化を生じている可能性が示唆される。

機構は、これを了承した。

機構は、従来品のリコネイトから安定剤であるヒト血清アルブミンを除いた処方としているため、安定性については劣る結果となっているものの、貯法温度を室温から $2 \sim 8^{\circ}\text{C}$ に変更することで、2年の有効期間を設定することが可能と考える。なお、リコネイトを含めた同種同効薬の貯法及び有効期間を表 2-4 に示す。

表 2-4 FVIII製剤の貯法及び有効期間

由来	培養細胞由来(遺伝子組換え)		ヒト血漿由来	
一般的名称	ルリオクトコグ アルファ (遺伝子組換え)		オクトコグ アルファ (遺伝子組換え)	乾燥濃縮人血液凝固 第Ⅷ因子
販売名	本剤	リコネイト		
会社名	バクスター(株)			
貯法	凍結を避け、2～8℃ で保存すること。	凍結を避け、室温(1 ～30℃)で保存する こと。	凍結を避け、2～8℃(冷 蔵庫)で保存すること。	凍結を避けて10℃ 以下で保存するこ と。
有効期間	2年	3年	2年	2年 (国家検定合格后)

本剤は、リコネイト製剤と同様に在宅自己注射療法(家庭療法)として、就学又は就業中あるいは外出時に患者自身が薬剤を持ち運ぶ場合が想定されるが、リコネイト製剤の貯蔵方法(室温保存)と異なり、2～8℃での保存が必要なため、保冷バッグ等の使用等、薬剤保管における煩雑さが増加すると考えられる。患者のQOLの向上を目的に、室温保存可能な期間を確認することを目的として、本剤の室温保存での安定性が検討され、審査の過程で追加提出された。

実生産スケールで製造された製剤につき、凍結を避けて2～8℃で■か月間保存した製剤(各■ロット)を用いて、保存条件を25℃±2℃/60%RH±5%RHに変更して、■か月後まで規格項目が測定された。その結果、性状、確認試験、pH、浸透圧比、凝集体量、質量偏差試験、エンドトキシン試験、無菌試験、発熱性物質試験、異常毒性否定試験、注射剤の不溶性異物検査及び注射剤の不溶性微粒子試験については、すべてのロットで規格に適合し、経時的変化の傾向も認められなかった。水分、再調製時間、比活性及び力価試験については、いくつかのロットで経時的な増減傾向が認められたものの、すべてのロットで規格に適合した。

申請者は、保存温度25℃±2℃で試験が実施されているものの、加速試験(30℃±2℃)の成績も考え合わせると、長期保存後に保存温度を室温(30℃以下)に変えた場合でも3か月間の安定性は見込めると判断していると述べた。

機構は、生物薬品の安定性試験については通知(平成10年1月6日付 医薬審第6号)にあるように実保存温度かつ実保存時間で実施されることが原則であるため、この判断の妥当性については専門協議を踏まえ判断することとした。

(4) ウイルスクリアランスの評価について

機構は、本剤とリコネイトの製造工程が有するウイルススクリアランス能の比較考察を申請者に求めた。

申請者は、本剤とリコネイトの従来の製造工程におけるウイルスクリアランス工程評価の一覧表(表 2-5)を示して、以下のように述べた。

本剤の製造においては、リコネイトの製造方法でウイルスクリアランス能が評価された3種類の精製工程(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及び陰イオン交換クロマトグラフィー工程)に加え、ウイルス不活化工程として有機溶剤/界面活性剤処理工程を追加しており、通知(平成13年11月26日医薬審発第1552号)の要件に適合している。また、本剤は、細胞培養工程にヒト及び動物由来たん白質を含まないことから、外来性ウイルスに対する安全性はより高められている。以上から、本剤の製造方法は現在の技術水準に適合しており、そのウイルスクリアランス能は十分であると判断している。

表 2-5 本剤とリコネイトのウイルスクリアランス工程評価一覧

工程	本剤					リコネイト		
	X-MuLV	BVDV	PRV	REO-3	MMV	X-MuLV	BVDV	MMV
イムノアフィニティークロマトグラフィー								
陽イオン交換クロマトグラフィー								
有機溶剤/界面活性剤処理								
陰イオン交換クロマトグラフィー								
総クリアランス指数	13.7以上	7.0以上	6.8以上	6.8以上	3.7	8.6	8.8	3.9

() は1に満たないため、総クリアランス指数の計算に換算されていない。

機構は、工程に追加された有機溶剤/界面活性剤処理はエンベロープを持たないウイルスに対する効果はあまり期待できず、表 2-5 に示されているとおり、今回モデルウイルスとして選択された MMV のようなエンベロープ無しの DNA ウイルスに対して製造工程全体が有するウイルスクリアランス能は本剤とリコネイトで同等であると考ええる。しかしながら、エンベロープを有するウイルスに対しては有効性が期待でき、ウイルスクリアランス能はリコネイトに比し向上していると判断する。

機構は、ウイルスクリアランス試験において、エンベロープ無しの DNA ウイルスに対する総クリアランス指数が 3.7 と低値であったことから、本剤の製造工程はこの種のウイルスに対して安全性を担保するのに十分と言えるのか、まだ評価されていない工程の再評価を含めて、申請者の見解を求めた。

申請者は、以下のように回答した。

本剤は、ウイルス安全性について十分に検討された CHO 細胞により製造されること、MCB 構築時及び原薬製造時の細胞培養工程においてウイルス試験を実施し、MCB 及び培養上清にウイルスの混入を認めないことを確認していること、原薬製造時の細胞培養工程において外来性ウイルス混入のリスクを伴うヒト及び動物由来たん白質を使用していないことから、ウイルス混入リスクは極めて低く、エンベロープ無しのウイルスについても、十分なウイルス安全性を有すると考え、工程の再評価は必要ないと判断した。

機構は、エンベロープ無しの DNA ウイルスは、熱処理や 15nm や 20nm といった孔径の小さなウイルス除去膜処理が有効であるとの報告はあるが、①熱処理については安定性試験で示されたように本薬及び本剤が熱に対して不安定であること、②ウイルス除去膜処理は本薬のような高分子たん白質に対しては高次構造の変化による活性低下や収率低下等の点から適用することが困難であるケースが知られていることから、新たな工程を追加することは困難であり、また血漿分画製剤においてもこの種のウイルスに対して推奨されるウイルスクリアランスの明確な基準が示されておらず、現段階でウイルス安全性に関し必要とされる対応はとられているものと判断する。

以上より、機構は、本剤の製造工程はウイルス等の感染性因子に対する安全性を十分担保しうると判断した。

(5) 抗ヒト FVIII 抗体の品質確保について

本薬の製造工程に用いられるイムノアフィニティーカラム担体の品質確保が本剤の品質確保において重要であると考えられたことから、機構は、抗体製造に用いられる動物由来原材料とそのウイルス安全性を含めた品質確保について尋ねた。

申請者は、以下のように回答した。

1987 年にセルバンク化した抗体製造用細胞 (MCB8860) 中の培地には 10% ウシ胎仔血清 (米国又はカナダ産) が使用されていたが、このハイブリドーマをヒト及び動物由来たん白質が含まれていない培地で培養しセルバンク化した (WCB-3)。MCB8860 及び WCB-3 についてそれぞれ特性解析試験及び純度試験 (無菌試験、マイコプラズマ否定試験、細胞変性試験、ウイルス試験 (■のみ)) を、未精製バルクにおいて純度試験 (無菌試験、マイコプラズマ否定試験、ウイルス試験) を実施して、抗ヒト FVIII マウス IgG の調製に問題のないことを確認した。

WCB-3 からヒト及び動物由来たん白質を含まない培地で培養した未精製バルクから、イムノアフィニティークロマトグラフィー工程、有機溶剤/界面活性剤処理工程、陽イオン交換クロマトグラフィー工程、陰イオン交換クロマトグラフィー工程、限外ろ過/透析処理工程、ろ過滅菌を経て、抗体は精製される。

精製後の抗体の規格については、性状、SDS-PAGE、等電点電気泳動、pH、サイズ排除液体クロマトグラフィー、たん白質濃度、FVIII結合能、エンドトキシン試験、発熱性物質試験、無菌試験、DNA 含量試験を行うこととしている。また、抗体を活性化した担体にカップリングして抗体カラムを作製するが、この抗体カラムの規格試験として、性状、pH、エンドトキシン、残量臭素(カップリング時の活性剤として使用)、微生物限度試験、担体 1mL 当たりのたん白質量、吸着能を実施して、品質の一定性を確保している。

なお、抗体の精製工程について、ウイルスクリアランス工程評価が実施されており、総ウイルスクリアランス指数は、異種指向性マウス白血病ウイルス(X-MuLV)で 17.6 以上、仮性狂犬病ウイルス(PRV)で 4.8、MMV で 4.1 であった。

機構は、抗体に由来するウイルスリスクについては、①抗体製造に用いられるセルバンクにおけるウイルス安全性の確認及び抗体製造工程においてウイルス不活化/除去工程が設定されていること、②本剤の製造工程においても、その抗体カラムが用いられるイムノアフィニティークロマトグラフィー工程以降に 3 種類の原理の異なるウイルス不活化/除去工程が設置されていること、③抗体カラムは繰り返し使用され、洗浄バリデーションが取られていること等から、特段問題がないと判断した。

(6) 新規添加物

本剤には 剤としてグルタチオンが含有されている。グルタチオンについては有効成分としての使用実績はあるが、添加物としての使用は新規である。

機構は、本添加物が局方収載品であることから、規格・試験方法及び安定性については担保されていると判断した。また、提出された資料から、本添加剤は本剤に使用される量の範囲内では薬理作用を示さず、安全性についても担保できると判断した。以上、機構は本剤における本添加物の使用において特段の問題はないと判断した。

本剤の品質については、提出された資料からみて、①従来のリコネイトと比較して、安定性の面から保存温度に違いがあることを除き、品質特性上の著しい違いは認められないこと、②臨床上的有効性と安全性を最低限担保しうるだけの品質管理がなされていると考えられること、③ヒト又は動物に由来するウイルスやプリオン等の感染性因子に関するリスクが低減するというベネフィットがあること等に鑑みて、承認において特段の問題はないと判断する。