

審議結果報告書

平成 19 年 9 月 18 日
医薬食品局審査管理課

[販 売 名] レベミル注、同注フレックスペン
[一 般 名] インスリン デテミル (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 17 年 11 月 25 日

[審 議 結 果]

平成 19 年 8 月 29 日に開催された医薬品第一部会において、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及び特定生物由来製品に該当せず、再審査期間は 8 年とし、原体及び製剤ともに劇薬に該当するとされた。

医療事故防止の観点から、販売名を「レベミル注、同注フレックスペン」から「レベミル注 300、同注 300 フレックスペン」に変更することとした。

審査報告書

平成 19 年 8 月 10 日

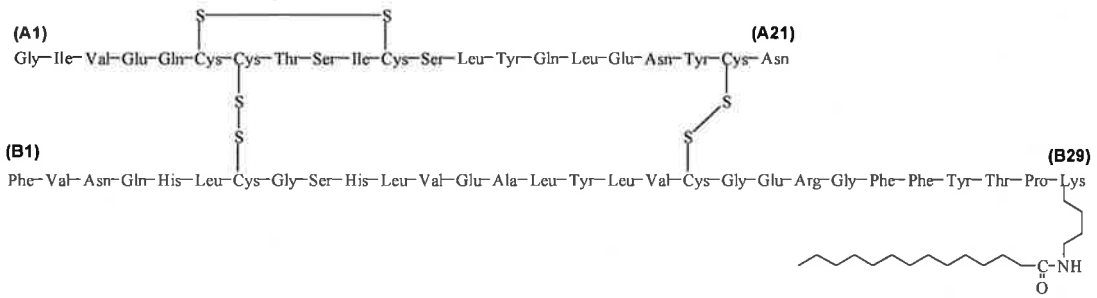
独立行政法人医薬品医療機器総合機構

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]	レベミル注 300 ¹⁾ 、レベミル注 300 フレックスペン ²⁾
[一 般 名]	インスリン デテミル (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 17 年 11 月 25 日
[剤型・含量]	1 カートリッジ中 ¹⁾ 又は 1 筒中 ²⁾ にインスリン デテミル (遺伝子組換え) を 300 単位含有する注射剤
[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]	
構造式	別紙
化学名	
(日本名)	ヒトインスリン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前駆体から得られるヒトインスリン誘導体で、B 鎖 30 位のトレオニン残基が欠損し、B 鎖 29 位のリジン残基の ε アミノ基をミリストイル化した 50 個のアミノ酸残基からなる修飾ポリペプチド (C ₂₆₇ H ₄₀₂ N ₆₄ O ₇₆ S ₆ ; 分子量: 5916.82)
(英 名)	Modified polypeptide (C ₂₆₇ H ₄₀₂ N ₆₄ O ₇₆ S ₆ ; molecular weight: 5916.82) consisting of 50 amino acid residues, which is a human insulin analogue myristoylated to the ε-amino group of lysine residue at position 29 of B chain, lacking threonine at position 30 of B chain obtained from a human insulin precursor produced in a recombinant cell by expression of a chemically synthesized human insulin precursor gene.
[特記事項]	なし
[審査担当部]	新薬審査第四部

(別紙)



インスリン デテミル (遺伝子組換え) の構造式

審査結果

平成 19 年 8 月 10 日

[販 売 名] レベミル注 300、レベミル注 300 フレックスペン
[一 般 名] インスリン デテミル（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 17 年 11 月 25 日
[特 記 事 項] なし
[審 査 結 果]

提出された資料から、インスリン療法が適応となる糖尿病に対する本剤の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、国内で実施された NPH ヒトインスリン対照第Ⅲ相試験の成績等から示されたと判断する。また、安全性については、既承認類薬である NPH ヒトインスリンと違いはないものと考えているが、本剤投与による注射部位反応、アナフィラキシー反応、抗体産生、低血糖、前治療 Basal インスリンから本剤へ切替える際の用量調節等に注意が必要で、長期投与時の安全性も含めて製造販売後に引き続き検討する必要があると考える。さらに、腎機能障害患者や肝機能障害患者等へ本剤を投与する場合には慎重な対応が必要と考える。

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・効果及び用法・用量で承認して差し支えないと判断した。

【効能・効果】 インスリン療法が適応となる糖尿病

【用法・用量】

[販 売 名] レベミル注 300

通常、成人では、初期は 1 日 1 回 4～20 単位を専用のインスリン注入器を用いて皮下注射する。注射時刻は夕食前又は就寝前のいずれでもよいが、毎日一定とする。他のインスリン製剤との併用において、投与回数を 1 日 2 回にする場合は朝食前及び夕食前、又は朝食前及び就寝前に投与する。投与量は患者の症状及び検査所見に応じて適宜増減する。なお、他のインスリン製剤の投与量を含めた維持量は、通常 1 日 4～80 単位である。但し、必要により上記用量を超えて使用することがある。

[販 売 名] レベミル注 300 フレックスペン

通常、成人では、初期は 1 日 1 回 4～20 単位を皮下注射する。注射時刻は夕食前又は就寝前のいずれでもよいが、毎日一定とする。他のインスリン製剤との併用において、投与回数を 1 日 2 回にする場合は朝食前及び夕食前、又は朝食前及び就寝前に投与する。投与量は患者の症状及び検査所見に応じて適宜増減する。なお、他のインスリン製剤の投与量を含めた維持量は、通常 1 日 4～80 単位である。但し、必要により上記用量を超

えて使用することがある。

審査報告 (1)

平成 19 年 6 月 29 日

I. 申請品目

[販 売 名]	レベミル注 ¹⁾ 、レベミル注フレックスペン ²⁾
[一 般 名]	インスリン デテミル (遺伝子組換え)
[申 請 者 名]	ノボ ノルディスク ファーマ株式会社
[申請年月日]	平成 17 年 11 月 25 日
[剤型・含量]	1 カートリッジ中 ¹⁾ 又は 1 筒中 ²⁾ にインスリン デテミル (遺伝子組換え) を 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]	1) 本剤は、平坦な作用動態を示す持続型溶解インスリンアナログ製剤である。

毎食前投与する超速効型又は速効型インスリン製剤と併用する場合

通常、成人では、初期は 1 回 4~20 単位を専用のインスリン注入器を用いて 1 日 1 回夕食前又は就寝前に皮下注射する。症状及び検査所見に応じて投与量及び投与回数を適宜増減する。超速効型又は速効型インスリン製剤の投与量を含めた維持量は 1 日 4~80 単位とするが、必要に応じ上記用量を超えて使用することがある。投与回数を 1 日 2 回にする場合は朝食前及び、夕食前又は就寝前に投与する。

経口血糖降下薬による治療を受けている 2 型糖尿病患者に投与する場合

通常、成人では、1 日 1 回 4~20 単位を専用のインスリン注入器を用いて夕食前又は就寝前に皮下注射する。投与量は症状及び検査所見に応じて適宜増減する。

2) 本剤は、平坦な作用動態を示す持続型溶解インスリンアナログ製剤である。

毎食前投与する超速効型又は速効型インスリン製剤と併用する場合

通常、成人では、初期は 1 回 4~20 単位を 1 日 1 回夕食前又は就寝前に皮下注射する。症状及び検査所見に応じて投与量及び投与回数を適宜増減する。超速効型又は速効型インスリン製剤の投与量を含めた維持量は 1 日 4~80 単位とするが、必要に応じ上記用量を超えて使用することがある。投与回数を 1 日 2 回にする場合は朝食前及び、夕食前又は就寝前に投与する。

経口血糖降下薬による治療を受けている 2 型糖尿病患者に投与する場合

通常、成人では、1 日 1 回 4~20 単位を夕食前又は就寝前に皮下注射する。投与量は症状及び検査所見に応じて適宜増減する。

[特記事項] なし

II. 提出された資料の概要及び審査の概略

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（機構）からの照会事項に対する申請者の回答の概略は、以下のようであった。

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

レベミル注（本剤）は、有効成分として遺伝子組換え技術により製造されたヒトインスリンアナログであるインスリン デテミル（遺伝子組換え）（本薬）を含有する注射用製剤である。

本薬は、ヒトインスリンの B 鎖 30 位のトレオニン残基が欠失し、B 鎖 29 位のリジン残基がミリスチン酸によりアシル化された構造を有している。本剤は、従来ヒトインスリン製剤と同様に亜鉛及びフェノールを含有し、本薬はこれらの存在下で主に 6 量体として存在している。脂肪酸側鎖は 6 量体の凝集に関与するとされており、本薬投与後、皮下組織では 6 量体から単量体への解離が遅延するとされている。さらに、単量体は皮下組織に存在するアルブミンの脂肪酸結合部位と結合することで血中への移行が遅延し、血中においてもアルブミンと結合するため、筋及び脂肪組織への分布が緩徐になることから、本剤は、作用の持続時間が長く著明なピークを示さないことを期待して開発された。また、本剤は溶解型のインスリン製剤であるため、投与前の攪拌・再懸濁を必要とせず、投与ごとの薬剤量の均一性が保たれることから、再懸濁を必要とする製剤より吸収の変動が小さいとされている。

海外においては、2003 年 11 月にスイスで承認されたのを始めに、2007 年 5 月 1 日現在、米国及び EU を含む世界 82 カ国にて承認され、46 カ国において販売されている。

2. 品質に関する資料

<提出された資料の概略>

本薬は、遺伝子組換え技術を用いて酵母菌 (*Saccharomyces cerevisiae*) により生産されるヒトインスリンアナログで、その製造工程は、精製工程の前までは既承認であるヒトインスリン（遺伝子組換え）と同一である。今般、有効成分として本薬を 1 mL あたり 100 単位含有する無色透明な水性注射液を 3 mL のカートリッジに充てんした「レベミル注」及びレベミル注に医療機器であるインスリンペン型注入器（フレックスペン）を組み合わせるキット製品とした「レベミル注フレックスペン」が申請された。なお、両製剤の剤型分類は異なるが、処方及び一次包装は同一である。

(1) 原薬

1) 製造

本薬は、ノボ ノルディスク社（デンマーク）で製造され、製造工程は、培養工程（工程 1）、回収工程（工程 2～工程 3）及び精製工程（工程 4～工程 5）からなる。培養工程及び回収工程は既承認のヒトインスリン製剤と同じであり、培養に用いられる酵母菌（マスターセルバンク＜MCB＞及びワーキングセルバンク＜WCB＞）、回収工程で得られるインスリン前駆体は同一である。MCB 及び WCB の特性解析試験としては、微生物学的純度、生菌数、インスリン前駆体陽性表現型、インスリン前駆体産生能、発現プラスミドの制限酵素マップ及びたん白質パターンが設定されている。MCB については、[redacted]リーダー・インスリン前駆体をコードする領域の DNA 塩基配列及びプラスミド保持率についても検討されている。

本薬製造の精製工程は、ステージ 1（工程 4：[redacted]プロテアーゼ [redacted]による開裂、工程 5：Z1 逆相高速液体クロマトグラフィー（RP-HPLC）、工程 6：Z2 RP-HPLC、工程 7：[redacted]結晶化）、ステージ 2（工程 8：[redacted]結晶化）、ステージ 3（工程 9：[redacted]化、工程 10：Z3 陰イオン交換クロマトグラフィー、工程 11：Z4 RP-HPLC、工程 12：Z5 RP-HPLC、工程 13：沈殿及び単離）及びステージ 4（工程 14：[redacted]結晶化及び乾燥）からなる。

ヒトインスリン製造時と同様に、採取した培養液より、陽イオン交換クロマトグラフィー操作等の後、結晶化した粗精製ヒトインスリン前駆体を得る。これを水に溶解し、エタノールを添加した後、溶媒（[redacted]エタノール、精製水）と混合後、[redacted]により開裂する。RP-HPLC を用いて不純物（工程 4 では主に DesB30 インスリンの [redacted]工程 5 では主に一本鎖の DesB30 インスリン）を減らした後、[redacted]結晶を生成し（ステージ 1）、その後、[redacted]の大部分を除去し、溶解しやすく安定な [redacted]結晶を得る（工程 6：重要中間体、ステージ 2）。これを [redacted]及び水の混液に溶かし、DesB30 インスリン [redacted]g あたり [redacted]を [redacted]g の比率で正確に添加して [redacted]化 [redacted]を行う（工程 7）。工程 8 において、陰イオン交換クロマトグラフィーを用いて [redacted]化 DesB30 インスリン、[redacted]化体、[redacted]化体及び [redacted]化体の量を減少させるとともに [redacted]化試薬を除去する。さらに、RP-HPLC を用いて不純物（工程 9 では主にインスリンデテミルの [redacted]、工程 10 では残存するインスリンデテミル由来不純物）を除去した後、沈殿物を単離する（工程 11：重要中間体、ステージ 3）。これを溶媒（エタノール、精製水）に懸濁後、[redacted]化剤を加えて結晶化し、洗浄、乾燥して原薬を得る（ステージ 4）。なお、再加工については、工程 12 において、乾燥重量及び生菌数がそれぞれ規格に適合しないときに行うことができるとされている。

開発過程において、一本鎖インスリンデテミル前駆体を用いる製造工程 A、ヒトインスリン前駆体を用いる製造工程 B 及び製造工程 B と最終結晶化工程のみが異なる製造工程 C が検討された。申請製剤は、製造工程 C により製造される。製造工程 A は前臨床試験、第 I 相臨床試験及び第 II 相臨床試験で用いた製剤の原薬製造に用いられ、製造工程 C は主に第 III 相臨床試験で用いた製剤の原薬製造に用いられた。なお、製造工程 B は分析試験用の一次標準物質の製造のみに用いられた。パイロットスケールの製造工程 C（No. [redacted]）で製造されたロットを

† 品質に関する資料の項において、[redacted]プロテアーゼを [redacted]と略す

用いて製造された一次標準物質の一次構造は、エレクトロスプレーイオン化（脱離イオン化）質量分析（EM-MS）、アミノ酸配列、アミノ酸分析及びペプチドマッピングにより検討され、理論値と一致することが確認された。また、パイロットスケールの製造工程 A（No. ■■■■■）及びパイロットスケールの製造工程 B/C（No. ■■■■■）で製造されたロットから製造された一次標準物質の遠紫外円二色性スペクトルはよく一致した。また、No. ■■■■■ 及び No. ■■■■■ について、RP-HPLC により疎水性、等電点電気泳動により pI、SDS-PAGE により移動速度を測定した結果、同一の物理化学的性質を有することが確認された。以上の結果から、製造工程 A 及び製造工程 C で製造されたインスリンデテミルは、構造及び物理化学的性質が同等であることが確認されたと申請者は説明している。また、■■■■■ nmol/mL 製剤と ■■■■■ nmol/mL 製剤、及び ■■■■■ nmol/mL 製剤と ■■■■■ nmol/mL 製剤との間の生物学的同等性については、健常者に同容量（即ち、非等モル用量）を注射し、用量で調節した $AUC_{0\sim\infty}$ に基づき確認されている。

2) WCB の切替え

現行のセル・バンクの増殖用及び保存用培地にカナダ及び米国産ウシ由来原料を含むペプトンが用いられていることから、平成 15 年厚生労働省告示第 210 号「生物由来原料基準」に適合させるため植物由来のペプトンへの切替えが進められており、審査の過程でセル・バンク切替えに係る追加資料が提出された。

新旧 WCB の同等性／同質性について、①細胞の生育特性（生育曲線）、②新旧 WCB の特性解析（微生物学的純度、生菌数、インスリン前駆体陽性表現型、インスリン前駆体産生能、発現プラスミドの制限酵素マッピング<サザンブロット法>及びたん白質パターン<二次元ポリアクリルアミドゲル電気泳動>）、③通常の製造条件及び通常の製造条件を超えて培養した細胞特性（培養時間、微生物学的純度、インスリン前駆体の濃度、コロニーの同定、発現プラスミドの制限酵素マッピング<サザンブロット法>、生菌数、発現カセットの DNA フラグメント塩基配列、プラスミドコピー数、プラスミド保持率及び生成物の確認試験）、④培養液の工程内管理試験（微生物学的純度、インスリン前駆体の濃度、コロニーの同定及び発現プラスミドの制限酵素マッピング<サザンブロット法>）及び回収工程より得られたインスリン前駆体の品質特性（インスリン前駆体の純度、宿主由来たん白質（HCP）、■■■■■ 化インスリン前駆体及び ■■■■■ 化インスリン前駆体）の比較により評価された。その結果、いずれにおいても新旧 WCB には差は認められず、植物由来ペプトンを WCB の作製に使用できることが確認されたと申請者は説明している。

なお、新 WCB は、保存培地にウシ由来ペプトンを含む MCB より作製されるが、MCB の保存培地についても 20■■■ 年から 20■■■ 年に植物由来ペプトンを用いた培地に切替えることが予定されている。

3) 重要工程及び重要中間体の管理

審査の過程で、精製工程におけるクロマトグラフィーの工程（工程 ■■■、■■■ 及び ■■■～■■■）、アシル化（工程 ■■■）、沈殿及び単離（工程 ■■■）、■■■■■ 結晶の精製及び乾燥工程（工程 ■■■）が重要工

程とされた。また、審査の過程で、[] 結晶（工程 []）及び沈殿（工程 []）が重要中間体と位置づけられ、それぞれ以下の表に示す項目により管理されている。

重要中間体の管理

		管理項目
工程 []	[] 結晶	宿主由来たん白の量、生菌数、[] DesB30 インスリン、ヒトインスリン前駆体、DesB30 インスリン、[] 体、[] DesB30 インスリン、[] DesB30 インスリン
工程 []	沈殿	[] DesB30 インスリン、[] DesB30 インスリン、酸化型インスリンデテミル、インスリンデテミル [] 体

4) 特性

本薬は、白色の結晶性粉末であり、その他、一般特性として溶解度、溶解度の pH 依存性、水溶液の pH、UV 吸収スペクトル、吸湿性及び生物活性について検討されている。本薬は、吸湿性が高いため、取扱いの際には周囲の相対湿度管理が必要である。生物活性については、遊離脂肪細胞を用いた ³H グルコース取り込みによる *in vitro* 測定法が確立されており、生物活性と高速液体クロマトグラフィー（HPLC）定量間の相関性が示されている。

特性解析として、構造解析（アミノ酸配列、アミノ酸組成、ペプチドマッピング、遠紫外円二色性スペクトル及び X 線結晶構造解析）、物理化学的性質（EM-MS、SDS-PAGE、等電点電気泳動及び RP-HPLC）及び生物活性が試験項目として設定され、検討された。アミノ酸配列、アミノ酸組成及びペプチドマッピングの結果、一次構造は理論値と一致していた。また、遠紫外円二色性スペクトルによりペプチドアミド発色団に起因するたん白質の二次構造が確認された。さらに、X 線結晶構造解析の結果から、本薬は結晶状態で六量体を形成し、隣接する六量体間に脂肪酸鎖が位置しているとされた。また、等電点電気泳動の結果、ヒトインスリンの pI は [] であるのに対し、インスリンデテミルの pI は [] であり、RP-HPLC の結果、ヒトインスリンと比較して相対保持時間が延長していることが確認された。

生物活性については、本薬のラット及びマウスの血糖降下作用がヒトインスリンより低いことから、*in vitro* の定量法（遊離脂肪細胞定量法<FFC 定量法>）が確立され、活性測定に用いられている。FFC 定量法は、本薬が脂肪細胞を刺激し、用量依存的にグルコースをトリグリセリドに取り込む作用を原理とする。本薬の開発段階において、安定性試験及び出荷試験に FFC 定量法及び HPLC 定量法が実施されており、本薬の規格として、HPLC 定量値に対する生物活性の比（比活性）が設定されている。苛酷条件（酸/アルカリ、光、熱、還元条件、機械的ストレス<9> 安定性の項参照）で保存し劣化させた試料を用いた結果から、原薬及び製剤とも FFC 定量法による生物活性値と HPLC 定量値には密接な相関関係があることが示され、原薬及び製剤の生物活性は、HPLC 法による定量値から十分に予測できると申請者は説明している。

5) 不純物

原薬中の目的物質由来不純物（[] DesB30 インスリン、[] DesB30 インスリン、インスリンデテミル []、酸化型インスリンデテミル、その他の関連不純物及び高分子たん白質）、目的物質関連物質（[] インスリンデテミル、B3 脱アミドインスリンデテミル）、その他の不純物（ヒトインスリン前駆体、[] DesB30 インスリン、[]

■■■■、DesB30 インスリン、DesB30 インスリンの■■■■化及び■■■■化体) 及び精製工程中で検出されたその他の不純物について検討された。

本薬の製造工程においては多くの目的物質由来不純物が同定されているが、原薬に検出されるものは少数で量も僅かであると申請者は説明している。培養工程、■■■■開裂及び■■■■化工で生成する目的物質由来不純物は、工程内管理値及び原薬出荷規格により管理されている。

また、原薬中の製造工程由来不純物として、HCP、DNA、培地成分、■■■■、■■■■、■■■■■■■■■■及び■■■■■■■■■■、エタノール、エンドトキシンについて検討された。その結果、パイロットスケール及び実生産スケールでの製造工程において、製造工程由来不純物及び外来混入物質は一貫して分析法の定量限界未満にまで除去されることが確認されたと申請者は説明している。

6) 原薬の管理

原薬の規格及び試験方法として、性状、確認試験（ペプチドマッピング及び液体クロマトグラフ法）、純度試験（関連不純物及び高分子たん白質）、乾燥減量試験、エンドトキシン試験、微生物限度試験法、比活性（FFC 定量法及び HPLC 定量法）及び定量法が設定されている。なお、開発時には、フェノール、塩化物、■■■■、窒素含量及び HPLC 含量と窒素含量の比が規格に含まれていたが、フェノール、塩化物、■■■■及び HPLC 含量と窒素含量の比については恒常性が保たれていること、また、窒素含量については、一定であるとともに、HPLC 法による定量値との相関性が確認されたことから、申請規格には設定されていない。

7) 標準物質

一次標準物質（PRM）は、原薬を用いて製造され、二次標準物質（SRM）の確認試験の対照として、また SRM 中のインスリンデテミル含量を測定するための対照として用いられる。規格として、特性解析（アミノ酸配列及び分子量）、純度（関連不純物及び高分子たん白質）、均一性（各バイアルのピーク面積/mg の相対標準偏差（RSD））、含量（含量及び平均含量の 95%信頼区間）が試験項目として設定されている。-18℃以下で保存され、ロット■■■■の有効期間は暫定的に■■カ月（■■年間）と設定されている。なお、当該ロットについては安定性試験が継続中であり、「関連不純物」及び「高分子たん白質」がモニターされている。PRM の更新ロットは、出荷規格に適合する原薬を用いて製造され、PRM の規格に適合することが確認される。更新ロットについて安定性試験が実施され、「関連不純物」及び「高分子たん白質」が規格に適合することが確認される。

SRM の主な用途は、インスリンデテミル原薬及び製剤の確認試験の対照、また、インスリンデテミル原薬及び製剤中の定量法（インスリンデテミル含量測定）の対照である。処方化された SRM は無色澄明の液体である。インスリンデテミル製剤の処方と比較して、*m*-クレゾールがフェノールに置き換えられ、マンニトール及びリン酸水素二ナトリウム・二水和物は用いられていない。また、濃度は、■■■■nmol/mL とされている。製造時規格として、確認試験、性状、pH、フェノール、総亜鉛、純度（関連不純物及び高分子たん白質）、均一性（各バイアルのピーク面積の RSD）、含量測定（PRM を標準とした SRM の含量及び平均含量の 95 %信頼区間）

が設定され、有効期間内規格としては純度（関連不純物及び高分子たん白質）が設定されている。SRM は、室温、暗所で解凍して使用され、解凍した二次標準物質は冷蔵保存で3日間は安定とされている。SRM は-18℃以下で保存することとされ、前回ロット（XXXXXXXXXX）で得られた安定性試験成績より、ロット XXXXXXXXXX の有効期間は暫定的に36カ月とされている。当該ロットの安定性試験は継続中であり、「関連不純物」及び「高分子たん白質」がモニターされている。SRM の更新時には、製造時規格に適合することが確認される。

8) 容器及び施栓系

本薬は、高密度ポリエチレン製容器（XX L又はXX L、栓付）に保存される。気密性を維持するため、高密度ポリエチレン製の栓にはゴム製シールリングが入れられている。なお、ゴム製リングは本品とは接しない。

容器・施栓系の完全性について試験され、その結果から、当該容器・施栓系は気密性に優れ、本薬のほか、他の原薬の長期保存に適するものと考えられると申請者は説明している。さらに、適合性試験も実施されており、容器と通常の約XX倍の接触面積で加速条件により本薬を保存した結果、異物に相当するピークは検出されていない。

9) 安定性

実生産スケールの原薬3ロットについて、安定性試験が実施された。容器は実生産原薬の保存用（XX～XX L）と同じ材質の容器（25 mL）が用いられた。栓はポリエチレンの代わりにポリプロピレン製栓が用いられ、また、シールリングは用いられていない。検体は暗所で垂直に保存され、長期保存試験（-18±2℃及び-30±5℃/60カ月）及び加速試験（5±3℃/12カ月、25±2℃/4カ月）の4条件で実施された。加速試験は申請時にいずれも終了していたが、長期保存試験については、申請時には36カ月までの試験成績が提出され、審査の過程で60カ月までの試験成績が提出された。試験項目として、性状、確認試験（ペプチドマッピング）、関連不純物、高分子たん白質、乾燥減量試験、比活性、定量法及び生菌数が設定された。その結果、-18±2℃及び-30±5℃で60カ月間保存した場合、いずれの結果も規格の範囲内であった。5±3℃で12カ月間保存した場合、測定値はいずれも規格の範囲内であったが、高分子たん白質では測定のみ増加の範囲内での増加が認められた。また、25±2℃で4週間保存した場合においても、いずれの項目も規格の範囲内であったが、関連不純物及び高分子たん白質で測定のみ増加の範囲内での増加が認められた。

長期保存試験（-18±2℃及び-30±5℃）については、パイロットスケールの原薬3ロットについても実施されている。試験方法は、原薬の規格及び試験方法が準用された。HPLC 定量法と生物活性の相関性を調べるために、保存開始時、12カ月及び60カ月後に生物活性が測定され、その結果、-18±2℃と-30±5℃保存では同様の傾向を示し、いずれの結果も規格の範囲内であった。

苛酷試験として、原薬については、光暴露試験（120万 lux.hr）が実施された。なお、製剤の苛酷試験として、酸分解試験、塩基分解試験、熱分解試験、光暴露試験、機械ストレス試験、還元試験が実施されており、それぞれの保存条件下で1～4週間処理された試料が RP-HPLC、

イオン交換高速液体クロマトグラフィー (IEC-HPLC) 及びゲルろ過高速液体クロマトグラフィー (GPC-HPLC) により分析された。その結果から、これら分析法により、本薬分解物、二量体又は多量体の分離が可能であることが確認されている。原薬の光暴露では、主ピークの低下 (処理前の ■.■ %) が認められ、原薬は、光により劣化し易く不安定であると判断された。また、劣化検体の FFC 定量法による生物活性値、HPLC 定量法による含量の比から、HPLC 定量法により原薬及び製剤の生物活性が予測可能であることが確認された。

以上の結果から、申請者は、原薬は、■±■°C～■±■°Cで保存するとき ■カ月間安定であるとしている。

(2) 製剤

1) 製剤及び処方

レベミル注は、有効成分としてインスリンデテミルを 1 mL 中 2400 nmol (100 単位) 含有する無色澄明な水性注射液である。有効成分の他、安定剤 (塩化ナトリウム及び酢酸亜鉛)、緩衝剤 (リン酸水素二ナトリウム・二水和物)、等張化剤 (D-マンニトール)、防腐剤 (フェノール及び *m*-クレゾール)、pH 調節剤 (塩酸 2 mol/L 及び水酸化ナトリウム 2 mol/L) 及び溶剤 (注射用水) を含有する。添加剤としては、ヒトインスリン製剤及びインスリンアスパルト (アナログ) 製剤で用いられている添加物が選択された。レベミル注の一次包装は、ノボ ノルディスク ファーマ社より既に上市されているヒトインスリン製剤及びアナログ製剤に用いられているものと共通の容量 3 mL のガラス製カートリッジであり、専用の注入器 (ノボペン) とともに用いることを意図して設計されている。また、レベミル注フレックスペンは、インスリンペン型医薬品注入器に 3 mL カートリッジを組み合わせたものであり、専用の注射針を用いる。1 単位刻みで最大 60 単位の用量が注入可能である。フレックスペンの性能は、医療用ペン型注入器の国際規格である ISO-11608-1 の医療用ペン型注入器 part 1 の要求に適合している。なお、ノボ ノルディスク ファーマ社より既に上市されているヒトインスリン製剤及びアナログ製剤に用いられているフレックスペンと同じものである。

2) 製剤開発

製剤開発において、処方の最適化は、化学的安定性 (分解生成物量より評価)、物理的安定性 (製剤の繊維化傾向により評価)、保存効力試験及びブタの薬物動態/薬力学試験データに基づいて行われた。なお、フェノール及び *m*-クレゾールについては、最終製剤に処方量が含まれるよう、■%の過量仕込みが行われる。また、本薬と速効型インスリンアスパルト及び速効型ヒトインスリンの混合投与試験が実施され、その結果、本薬は速効型インスリンアスパルト及びヒトインスリンと混合可能であると結論されている。

また、製剤と直接接触する部分である ■■■■■ ゴム製のプランジャー及びラミネートゴムディスクに用いられる ■■■■■ ゴムについては、製剤との適合性試験が実施されており、材質の安全性及び適合性、吸着及び溶出、溶液中の原薬の沈殿及び安定性について評価された。

3) 製造

レベミル注及びレベミル注フレックスペンの製造工程は、処方工程及び充てん工程（充てん工程及び容器・施栓系）からなり、**■**Lのロットサイズにて製造される。処方工程では、**■**、**■**及び使用前後の滅菌フィルターの完全性が管理され、充てん工程では、充てん量、栓の完全性、**■**が管理され、充てん後、カートリッジ内容物の不溶性異物検査が実施される。製剤の処方、充てん、検査、ラベリング、包装、組み立ては、ノボ ノルディスク社の**■**国内の**■**の施設及び**■**国内の施設で行われる。また、郡山工場（本邦）にて外観検査、日本語表示及び包装が行われる。製剤の品質管理については、デンマーク国内の複数の施設及び仏国内施設で行われ、郡山工場ではQC受け入れ検査が実施される。

なお、レベミル注フレックスペンの製造工程は、上市品のヒトインスリン製剤及びアナログ製剤のフレックスペンと同様であり、得られたカートリッジがフレックスペンに組み込まれる。

4) 不純物

製剤の製造時及び保存中に生成する目的物質関連物質及び目的物質由来不純物について検討された。

貯法条件で保存した際にイオン交換クロマトグラフィーで認められる主な分解生成物として、**■**インスリンデテミル<ピーク**■**>、B3脱アミドインスリンデテミル<ピーク**■**>及び**■**インスリンデテミル<ピーク**■**>が同定されている。他のインスリン製剤、インスリンアナログ製剤においても、同じアミノ酸の箇所での変化による同様の分解生成物を生じ、これらは加速条件ではより多く認められている。これらの主な分解生成物は、いずれもインスリンデテミルと同等の生物活性を示すことから目的物質関連物質とみなされ、製剤の定量値に含まれている。なお、これらのうち、本製剤の保存中に顕著に増加するのはB3脱アミドインスリンデテミルのみである。

製剤中に含まれる高分子たん白質（二量体及び多量体）及び関連不純物（構造未知の不純物で、製剤の定量法に使用するRP-HPLC法で溶出される未同定ピークの総和として測定される）は目的物質由来不純物とされ、製剤規格に設定されている。高分子たん白質、関連不純物とも、製剤保存中に増加が認められている。

5) 製剤の管理

本剤の規格及び試験方法として、性状、確認試験（RP-HPLC法）、pH、純度試験（B3脱アミドインスリンデテミル、関連不純物及び高分子たん白質）、凝固点降下、亜鉛含量、フェノール及び*m*-クレゾール、不溶性異物検査、不溶性微粒子試験、エンドトキシン試験、無菌試験、注入量精度（フレックスペン）及び定量法が設定されている。なお、**■**インスリンデテミル、ピーク**■**及びピーク**■**については安定性試験においてほぼ一定の値を示したことから、生物活性についてはHPLC含量との高い相関性が確認されたことから、また、保存効力試験についてはフェノール及び*m*-クレゾールの量が規格に設定されていることから、いずれも規格には設定されていない。

6) 安定性

①貯法及び有効期間に係る安定性試験

製剤の安定性について、以下のように検討された。

実生産スケールで製造したレベミル注3ロットが、5℃で36カ月間（長期保存試験）、25℃で12カ月間（加速試験）、37℃で3カ月間（苛酷試験）、横置きに遮光して保存され、性状、確認試験、定量法、ピーク■、B3 脱アミドインスリンデテミル（ピーク■）、ピーク■、関連不純物、二量体、多量体、高分子たん白質、pH、亜鉛、防腐剤の確認、フェノール、*m*-クレゾール及び生物活性が試験項目として検討された。

長期保存試験においては、凝固点降下、不溶性微粒子、無菌試験、エンドトキシン試験も試験項目とされた。その結果、■カ月時に、実生産スケール■ロットが■試験で不適合となったが、当該ロットについて■カ月時に再試験したところ適合であった。その他の試験項目については、いずれも規格の範囲内であったが、分解生成物及び関連不純物のわずかな増加が認められた。

加速試験では、ピーク■、B3 脱アミドインスリンデテミル、ピーク■、関連不純物、■量体、多量体及び高分子たん白質はいずれも経時的に増加し、高分子たん白質及び B3 脱アミドインスリンデテミルは、■カ月保存時に規格を逸脱した。

苛酷試験（■℃保存）では、■カ月保存時に、設定された試験項目のうち高分子たん白質及び B3 脱アミドインスリンデテミルが規格を逸脱した。

パイロットスケールで製造された3ロットが、5℃/成り行き湿度で36カ月間（長期保存試験）、横置き又は立てて遮光して保存された。試験項目として、上記の長期保存試験で実施された項目に加え、防腐剤の保存効力が設定された。また、1ロットが0℃及び-18℃以下で8日間（苛酷試験）横置きで保存され、性状、B3 脱アミドインスリンデテミル、関連不純物、高分子たん白質、定量法、pH、亜鉛、フェノール、*m*-クレゾールが試験項目とされた。

長期保存試験においては、インスリンデテミル含量のわずかな低下及び分解生成物量のわずかな増加が認められたが、いずれも申請規格の範囲であった。

苛酷試験では、-18℃保存8日時の検体で■が不適合になったが、その他の規格には適合した。なお、不適合の■は製剤の安定性には関係ないが、凍結中、本剤のプランジャーが元の位置からずれ、製品が無菌でないことが考えられた。

また、レベミル注（一次包装）及びレベミル注フレックスペン（二次包装）について、光安定性試験（■万 lux・hr の可視光<約 ■W・h/m² の近紫外光>）が実施されている。対照検体として、レベミル注を2層のアルミホイルで覆ったものが用いられた。その結果、一次包装品では、対照検体に比べ、インスリンデテミル含量の低下とピーク■、ピーク■、高分子たん白質及び関連不純物の増加が認められ、インスリンデテミル含量、高分子たん白質及び関連不純物は規格を逸脱した。一方、二次包装品では大きな変化は認められなかった。したがって、一次包装では光から本品を保護するのに十分ではないが、二次包装では十分な光保護作用を示すことが明らかとなったと申請者は説明した。

② 使用時安定性試験

レベミル注2ロットが、製造後3カ月、又は5℃で24カ月保存され、その後、30±2℃で42日間保存された。その間、毎日検体を回転させ、ゴム栓に■の針で針刺しが行われ（試験検体）、性状、定量法、B3脱アミドインスリンデテミル、関連不純物、高分子たん白質、pH、亜鉛含量、フェノール、*m*-クレゾール及び防腐剤の保存抗力が試験項目とされた。対照検体は、針刺しを行わない検体とされた。その結果、製造後3カ月の検体では、試験期間中、繊維化は認められず、試験検体と対照検体の化学的安定性は同等であり、カートリッジの回転、針刺しは本剤の使用時の物理的、化学的及び微生物的安定性に影響しないものと考えられた。5℃で24カ月保存した検体についても、試験期間中の繊維化は認められず、試験検体と対照検体の化学的安定性は同様であったが、一部のカートリッジに少量の不溶性異物が観察され、針刺しにより得られたゴム栓の断片と考えられた。

なお、製剤については、この他、苛酷試験として、酸分解試験、塩基分解試験、熱分解試験、光暴露試験、機械ストレス試験、還元試験が実施されている。その結果から、IEC-HPLC及びGPC-HPLCといった手法により、関連不純物、分解生成物、高分子たん白質などが分離可能であること、FFC定量法による生物活性値とHPLC定量値には密接な相関関係があることが確認されている（(1)原薬 9)安定性の項 参照）。

以上の試験成績より、本剤の有効期間は2~8℃保存で24カ月とされ、凍結は避けることとされた。

<審査の概略>

(1) 生物活性について

機構は、本剤の生物活性の評価に用いられたFFC定量法について、*in vivo*マウス血糖降下法同様、インスリンの生物活性を評価する測定法であるのか、期待される臨床効果との関係も含め説明を求めた。

申請者は以下のように回答した。本薬の生物活性については、*in vivo*マウス血糖降下法、*in vitro* FFC定量法及び臨床試験により評価されており、本薬の生物活性は、*in vivo*マウス血糖降下法ではヒトインスリンの約■.■%、*in vitro* FFC定量法では約■.■%、また、臨床試験（■試験）では■.■%であった。*in vivo*マウス血糖降下法と*in vitro* FFC定量法の測定値の比は■.■であり、*in vitro* FFC定量法のばらつきは*in vivo*マウス血糖降下法に比べて小さいことから、製造管理のために行う生物活性の測定により適しているものとする。また、本剤のマウス生物活性は臨床試験成績から求めたヒト生物活性の約■.■%であるが、この差は測定法の違いやレセプター及びアルブミン親和性に関する種差によるものと考えられる。第Ⅲ相臨床試験時では*in vitro* FFC定量値は一定して相対活性が約■%であり、*in vivo*マウス血糖降下法とともに臨床における本剤の生物力価を反映しているものとする。

機構は、本薬の生物活性を測定する方法として確立されたFFC定量法について、妥当な評価法であるとする。

(2) アシル鎖に係る規格の設定について

機構は、付加されるアシル鎖については、ヒト血清アルブミン（HSA）及びヒトインスリン受容体への親和性並びにブタに皮下投与した際の皮下からの消失速度を検討した結果選択されていることから（3. 非臨床に関する資料（i）薬理試験成績の概要〈審査の概略〉参照）、アシル鎖に変化を生じた場合に検出可能であるか申請者に説明を求めた。

申請者は、定量法の結果からアシル鎖の変化について間接的な示唆が得られること、アシル鎖に変化が生じた場合には、含量の低下と同時に関連不純物の増加が考えられるが、いずれも原薬の規格でモニターしている旨回答した。

機構は、回答を了承した。

(3) 使用時安定性試験で認められた薬液中へのゴム栓の混入について

機構は、使用時安定性試験において、連続■回の針刺しでゴムの断片が認められたことについて、使用実態を考慮し問題がないか申請者に説明を求めた。

申請者は以下のように回答した。実際の使用では、1カートリッジあたり■回の針刺しを想定している。本使用時安定性試験では、1週間あたり■回、■週間で計■回、カートリッジのゴム栓への針刺しを行った。週毎に同じ針を用いて■回の針刺しを行っているため、針先が鈍ることでゴム栓の断片が生じやすくなったと考える。実際の使用では毎回新しい針を用いるよう指導しており、そのような可能性は低くなるものとする。なお、現在流通している他のインスリン製剤でも同材質のゴム栓を使用しているが、薬液中にゴム栓が混入したことによるクレームは年間あたり1件未満である。

機構は、現在流通している他のインスリン製剤における針刺しの頻度及び回数と本剤で想定される頻度及び回数の相違について説明し、本剤におけるゴム栓への負荷につき考察するよう求めた。

申請者は、以下のように回答した。現在市販されている他のインスリン製剤として、超速効型インスリンアナログであるインスリンアスパルト、中間型混合インスリンアナログであるインスリンアスパルト Mix30 及び中間型ヒトインスリンである NPH ヒトインスリンを選択し、これらの臨床試験における投与量データより1カートリッジあたりの使用回数すなわち針刺し回数を推定し、本剤と比較した。インスリンアスパルトの国内第Ⅲ相比較試験（1型糖尿病患者に対する Basal-Bolus 療法、ANA/DCCD/054）終了時の投与量から、1カートリッジ（300単位）は■.■回で消費され、 $\frac{■.■}{■} = \frac{■.■}{■}$ 日分と算出された。さらに、2型糖尿病患者を対象としたインスリンアスパルトの国内市販後臨床試験（Basal-Bolus 療法、ANA-1472）では、1カートリッジは■.■回、■.■日分と算出された。インスリンアスパルト Mix30、NPH ヒトインスリン及び本剤についても同様に算出したところ、本剤におけるカートリッジのゴム栓への針刺し回数は、1型糖尿病患者に Basal-Bolus 療法の Basal インスリンとして用いられる場合には、NPH ヒトインスリンと同様であり、2型糖尿病患者に経口血糖降下剤と併用して使用する場合には1型糖尿病患者でより増えるものの、インスリンアスパルトの2型糖尿病患者への使用と同様であり、むしろ頻度は本剤の方が低いと考える。したがって、本剤で予想されるゴム栓への負荷は、既存の製剤で通常行われている範囲内であり、特に問題となるものではないと考える。

機構は、回答を了承した。

(4) 新 WCB への切替えについて

機構は、本邦においては植物由来ペプトンが用いられた新 WCB による製剤が供給される予定であることから、現行 WCB による原薬と新 WCB による原薬の不純物プロファイルを含めた品質特性の相違について説明を求めた。

申請者は以下のように回答した。新 WCB 及び従来の WCB から製造したインスリンデテミル原薬の品質を比較するために、それぞれの WCB から製造した原薬の連続した3ロットを用い、品質パラメータとして規格項目及び不純物プロファイルの項目を測定した。いずれのロットも測定結果は規格の範囲内であり2つのセル・バンクで製造したロット間において各項目の測定値は同等であった。新 WCB から製造したインスリンデテミル3ロットの不純物プロファイルは従来の WCB から製造した3ロットのものと高い類似性を有していた。新 WCB から製造したインスリンデテミルには新たな不純物は検出されなかった。したがって、新 WCB 及び従来の WCB から製造したインスリンデテミル原薬の品質は同等であると結論できる。

機構は、植物由来ペプトンが用いられた新 WCB による製剤の海外における使用状況について、申請者に尋ねた。

申請者は以下のように回答した。申請者は、現時点において、本剤及びヒトインスリンの原薬の新 WCB への切替えは既に行われたが、新 WCB を培養して製造された製剤はまだ海外の市場に提供されていないと説明した。

機構は、本邦において、承認時より新 WCB を用いて製造された製剤が流通することについて妥当であると考え。しかしながら、当該製剤についてはこれまでに使用実績がないことから、海外で報告されている安全性に係る情報と比較し、新たな有害事象の発現の有無などを含め、十分に注意を払うことが適切であると考え。

機構は、以上を踏まえ、これまでに海外で未使用の新 WCB による製剤が本邦において上市されることについて適切に対応することが望ましいと考えるとともに、原薬及び製剤について設定された規格及び試験方法、保存条件及び有効期間についてはいずれも妥当であると判断した。

3. 非臨床に関する資料

(i) 薬理試験成績の概要

<提出された資料の概略>

薬理試験は、本薬がヒトインスリンと同様の薬理作用を有することを確認することを目的として実施された。なお、*in vitro* 試験では溶解型ヒトインスリン、*in vivo* 試験については、静脈内投与では溶解型ヒトインスリン、皮下投与では NPH ヒトインスリン製剤又は NPH プタインスリン製剤が対照薬として使用された。本薬はアルブミンとの親和性が高いため、アルブミンを含んだ緩衝液又は培地を使用する場合には遊離型のデテミル濃度を求め、アルブミン結合の影響を除外した補正值が算出された。細胞系を用いた代謝能検討試験又は細胞増殖誘発能に関

する試験においても同様の補正が行われた。

(1) 効力を裏付ける試験

1) 受容体への結合活性 (4.2.1.1.1~3: Disc/IDet/01~03)

ヒト肝がん由来 HepG2 細胞を用い、本薬のヒトインスリン受容体及びヒト IGF-1 受容体に対する親和性について、¹²⁵I-ヒトインスリン及び ¹²⁵I-IGF-1 の結合を 50% 阻害する濃度から検討された。ヒトインスリン受容体及びヒト IGF-1 受容体に対するヒトインスリンの IC₅₀ 値を 100% としたとき、本薬の両受容体に対する相対親和性は、それぞれ 6.82±0.37% 及び 10.34±0.81% であり、本薬の両受容体に対する親和性はヒトインスリンより低かった。なお、本薬の脂肪酸側鎖はアルブミンと結合するため、緩衝液中のヒト血清アルブミン (HSA) との結合による影響を除外した補正値を算出したところ、本薬の両受容体に対する相対親和性はそれぞれ約 27% 及び 41% であった。以上より、申請者は、本薬のヒトインスリン受容体及びヒト IGF-1 受容体への親和性はヒトインスリンより低いことが示されたと説明している。なお、可溶性受容体を用いた結合試験においても、本薬のヒトインスリン受容体及びヒト IGF-1 に対する親和性はヒトインスリンより低いこと (相対親和性: 約 18% 及び 16%) が報告されている (2.6.2.8: Kurtzhals P *et al.*, *Diabetes* 2000; 49: 999-1005)。

本薬のヒトインスリン受容体からの解離について、ヒトインスリン受容体を過剰 (細胞あたり約 60,000 個) に発現させたチャイニーズハムスター卵巣由来 (CHO-hIR) 細胞を用い、ヒトインスリン受容体からの本薬の解離定数 (K_d) がヒトインスリンと比較された。その結果、本薬の K_d 値は 0.0913±0.0063 min⁻¹、ヒトインスリンの K_d 値は 0.0447±0.0023 min⁻¹ であり、本薬はヒトインスリンの約 2 倍の速度でヒトインスリン受容体から解離することが示唆された。

また、CHO-hIR 細胞を用いて本薬のヒトインスリン受容体チロシンキナーゼ (IRTK) 活性について検討され、ヒトインスリンに対する相対 IRTK 活性は 1.12 ± 0.37% と算出された。培地中の HSA との結合を補正した相対 IRTK 活性は 9.5% であり、本薬の IRTK 活性はヒトインスリンの約 1/10 であった。

2) *in vitro* 試験における生物活性 (4.2.1.1.4: Disc/IDet/04)

マウス精巣上体脂肪体から分離した遊離脂肪細胞における平均脂質合成活性化能を指標として、本薬とヒトインスリンの *in vitro* 生物活性が比較された。その結果、本薬の平均脂質合成活性化能は 1.8% であり、緩衝液中 HSA との結合を補正すると 29% であり、その効力はヒトインスリンより弱いことが示唆された。なお、本薬とインスリンの最大反応は同様であった。

3) *in vivo* 試験における生物活性 (4.2.1.1.5~7: Disc/IDet/09、05、06)

雄性ラットを用いたグルコースクランプ試験により、グルコース代謝能を指標として本薬とヒトインスリンの *in vivo* 生物活性が比較された。本薬又はヒトインスリンを 300 分間一定の速度で持続静注する一方で、血糖値を 6 mmol/L (正常値に相当) に維持するのに必要なグルコース注入量 (GIR) が測定された。その結果、本薬及びヒトインスリンは GIR を用量依存的に増加させ、本薬はヒトインスリンより 6.6 倍高用量を必要とした。

また、ブタを用いたグルコースクランプ法により、本剤及びNPHヒトインスリンの皮下投与後のGIR推移が検討された。無作為に割り付けられた5匹の雌性ブタに両薬剤それぞれ216 nmolが皮下投与され、正常血糖を24時間維持できるようにグルコースを持続注入した際のGIRが測定された。その結果、両薬剤の投与後24時間GIRは同程度であったが(本剤: 336 ± 167 g、NPHヒトインスリン: 347 ± 85 g)、最大GIRは本薬の方が低値を示した(本剤: 6.6 ± 2.2 mg/kg・分、NPHヒトインスリン: 9.9 ± 0.8 mg/kg・分)。さらに、最大効果到達時間について、本剤では 6.0 ± 2.2 h、NPHヒトインスリンでは 3.4 ± 0.2 hであった。このことから、申請者は、本剤は、ブタへの皮下投与時にNPHヒトインスリンと同程度の生物活性を有するが、その薬理作用プロファイルはより緩徐であることが示唆されたと説明している。なお、健全雄性雑種イヌを用いたグルコースクランプ法による試験においても、ヒトインスリン及び本薬が同程度の生物活性を示す(定常状態におけるGIR)を示すことが報告されている(Hamilton-Wessler M *et al.*, *Diabetologia* 1999; 42: 1254-1263)。

また、ストレプトゾトシン(STZ)誘発1型糖尿病モデルミニブタにおける、本剤及びNPHブタインスリン製剤の皮下投与時の薬学的パラメータが測定され糖代謝調節について比較された。NPHブタインスリンが2週間、引き続き本剤が4週間、さらにNPHブタインスリンが2週間、いずれも1日2回反復皮下投与され、投与量は、空腹時血糖が10~15 mmol/L(約180~270 mg/dL)になるよう個体ごとに設定され、試験期間を通じて一定量(24~66 nmol)が維持された。NPHブタインスリン投与期間中は本剤投与開始1週間前及び本剤投与終了2週間後、本剤投与期間中は投与開始第2週及び第4週に、血糖プロファイルが検討された。その結果、24時間血糖AUC(Mean \pm SE)について、本剤投与期間中の血糖値(171 ± 66 mmol/L・時)はNPHブタインスリン投与期間中(268 ± 97 mmol/L・時)より低値を示した。また、早朝空腹時血糖値についてもNPHブタインスリン群投与期間中と比較して本剤群投与期間中の方が低く低値を示したことから、申請者は、本剤はNPHブタインスリンより良好な糖代謝調節を示し、持続型の作用を有することが示唆されたと説明した。

4) その他の試験(4.2.1.1.8~13: KHP-702、ARS-06_1、HanT001、13264-072、ARS-03_1、KHP-302)

ヒトインスリン受容体アイソフォームとの結合性

インスリン受容体には、 α サブユニットのC末端における12のアミノ酸残基を有さない短型のIR-A及び残基を有する長型のIR-Bの2種類のアイソフォームが存在することが知られている。2種のアイソフォームでインスリンとの親和性が異なることが明らかとなっていることから、これらヒトインスリン受容体アイソフォームに対する本薬及びヒトインスリンの相対親和性について比較された。hIR-A及びhIR-Bのヒトインスリン受容体のどちらか一方を発現している仔ハムスター腎細胞(BHK細胞)から分離された形質膜を用いて結合試験が実施され、その結果、本薬のhIR-A及びhIR-Bに対する親和性(IC₅₀値: 8.9 nmol/L及び13 nmol/L)はヒトインスリン(1.1 nmol/L及び1.4 nmol/L)より低かった。なお、本薬及びヒトインスリンの両アイソフォームに対する親和性に違いはみられなかった。

in vitroでの生物活性

標的組織における本薬の糖代謝作用を検討するため、主要な末梢標的組織である骨格筋と脂肪組織のヒト細胞モデル（初代培養ヒト骨格筋筋芽細胞及び初代培養ヒト脂肪細胞）を用いた *in vitro* 比較試験が実施された。その結果、本薬は濃度依存的に糖取り込みを引き起こし、ヒトインスリンと比較して、最大反応は同程度であったが、その効力は弱かった。なお、ヒトインスリンに対する本薬の相対効力は、骨格筋筋芽細胞と脂肪細胞において差がないとされた。また、HSA の存在により、本薬の相対効力は低下することが示唆された。

培養標的細胞におけるヒトインスリンに対する相対効力

細胞系	培地中のHSA濃度 (%)	IDetの相対効力 ^{a)} (vs HI, %)	IDetの相対効力補正值 ^{b)} (vs HI, %)
ヒト骨格筋筋芽細胞	0.2	2.35 [1.35, 4.08]	9.5 [5.4, 16.4]
ヒト脂肪細胞	0.1	4.09 ± 0.36	10.3 ± 0.9
ヒト脂肪細胞	1	0.65 ± 0.06	10.6 ± 0.9

a) ヒトインスリンのEC₅₀値を本薬のEC₅₀値で除した値：Mean [95%信頼区間] 又はMean ± SE

b) 本薬と培地中のHSAとの結合を平衡定数 1×10^5 (mol/L)⁻¹で補正し算出

ラットインスリン受容体及びヒトインスリン受容体に対する結合及び活性化の比較

本薬の受容体結合及び *in vitro* 活性は、当初ヒトインスリン受容体を用いて検討されていたが、非臨床安全性試験ではラットが用いられたことから、ラットインスリン受容体を用いて本薬の受容体結合及び作用が測定され、ヒトインスリン受容体に対する結合及び活性化と比較された。ラットインスリン受容体においてもヒトインスリン受容体同様、短型 (rIR-A) 及び長型 (rIR-B) の 2 種類のアイソフォームが存在することから、どちらかのアイソフォームを発現している BHK 細胞から分離した原形質膜を用い、結合試験により本薬のラットインスリン受容体に対する親和性についてヒトインスリンと比較された。その結果、ヒトインスリンに対する本薬の相対親和性は、rIR-A において 6.7% (本薬の IC₅₀ 値: 31 nmol/L、ヒトインスリン: 2.1 nmol/L)、rIR-B において 7.1% (本薬: 41 nmol/L、ヒトインスリン: 3.0 nmol/L) であった。以上より、申請者は、ラットインスリン受容体の短型及び長型アイソフォームに対する結合特性は、ヒトインスリン受容体を用いた試験結果 (hIR-A: 本薬 8.9 nmol/L、ヒトインスリン 1.1 nmol/L、hIR-B: 本薬 13 nmol/L、ヒトインスリン 1.4 nmol/L) と同様に本薬とヒトインスリンでほとんど差がないことが示唆されたと説明している。

また、ラットにおける本薬の糖代謝作用を検討するため、主要な末梢標的組織である脂肪細胞のラット細胞モデル（初代培養ラット脂肪細胞）を用いて脂肪細胞への糖取り込みを指標に本薬の脂質合成能について検討された。その結果、本薬による最大反応はヒトインスリンと同程度であったが、その効力は弱く、培地中のアルブミンとの結合を補正した EC₅₀ 値の相対効力は約 8% であった。なお、ヒト脂肪細胞における相対効力は約 10% であったことから、申請者は、ヒトインスリンに対する本薬の相対効力はヒト脂肪細胞とラット脂肪細胞で差がないことが示されたと説明している。

インスリン受容体親和性における種差について

本薬のインスリン受容体結合の種差を比較するため、ヒト、ラット、ブタ及びイヌの肝細胞

形質膜を用い、本薬とヒトインスリンの各種インスリン受容体に対する親和性について比較された。その結果、ヒト、ラット、ブタ及びイヌインスリン受容体における本薬の親和性 (IC₅₀ 値) は、それぞれ 28 nmol/L、105 nmol/L、8.50 nmol/L 及び 35 nmol/L であり、いずれの種においてもヒトインスリン (IC₅₀ 値 : 1.45 nmol/L、6.93 nmol/L、0.99 nmol/L 及び 4.24 nmol/L) より低値を示した。これらより算出されたヒト及びラットインスリン受容体における本薬のヒトインスリンに対する相対親和性の補正值 (15%及び20%) は、ブタ及びイヌインスリン受容体における相対親和性の補正值 (35%及び36%) よりも低かった。

以上より申請者は、本薬はヒトインスリンと同様の薬理学的プロファイルを示すが、その効力はヒトインスリンの 1/4~1/5 程度であることを説明した。この点について、本薬の B29 位に付加された脂肪酸側鎖は受容体認識部位の一部である B24~B26 位残基に近接しており、インスリン受容体との結合を妨げていることによると説明された。

5) 代謝物の生物活性

in vitro 代謝を検討した試験 (4.2.2.4.5: ██████████4179) において、本薬の代謝経路の第 1 段階は B 鎖の Phe^{B24}-Phe^{B25} 及び Phe^{B25}-Tyr^{B26} アミノ酸残基の開裂であり、この開裂による代謝物は本薬及びヒトインスリンともに A¹⁻²¹-B¹⁻²⁴ 及び A¹⁻²¹-B¹⁻²⁵ であることが明らかとなった (詳細は薬物動態の項を参照)。ウシインスリン及びブタインスリンにおけるこれらの代謝物については、インスリン受容体に結合するが、その生物学的活性は未変化体インスリンより弱いことが報告されている (脂質合成能を指標として各未変化体に対し、A¹⁻²¹-B¹⁻²⁴ : 19.9 ± 1.5% 及び A¹⁻²¹-B¹⁻²⁵ : 19.9 ± 0.3%, mean ± SE) (Cockram CS *et al.*, *Diabetologia* 1987; 30: 733-738)。

(2) 副次的薬理試験 (4.2.1.2.1~2: NOV270、NOV270F)

受容体及びそのサブタイプ合計 64 種類について受容体結合試験が実施され、本薬の P2Y 受容体に対する親和性が認められた (IC₅₀ 値 : 0.7 µmol/L)。しかしながら、摘出モルモット盲腸紐標本において (P2Y 受容体が局在)、本薬 (30 µmol/L) はほとんど影響を及ぼさなかったことから、いずれの受容体に対しても活性はないものと説明された。

(3) 安全性薬理試験 (4.2.1.3.1~15: ██████████0578、██████████0580、██████████0033、██████████0034、██████████0040、██████████0041、██████████0039、██████████0035、██████████0577、██████████0038、██████████0579、██████████3039、██████████0030、██████████0031、██████████0032)

ラット及びイヌを用いた循環器系試験、これに関連した行動及び器官機能試験に関する試験が実施された。なお、臨床推奨用量の 15~25 倍に相当すると推測される投与量が設定された。

一般症状及び行動 (Irwin 試験、マウス、1.8~180 nmol/kg、s.c.)、中枢神経系に及ぼす影響として、自発運動量 (マウス、1.8~180 nmol/kg、s.c.)、麻酔作用 (ヘキソバルビタール及びエタノール誘発睡眠 : マウス、1.8~180 nmol/kg、s.c.)、痙攣及び抗痙攣作用 (ペンチレンテトラゾール誘発痙攣 : マウス、1.8~180 nmol/kg、s.c.)、鎮痛作用 (酢酸 Writhing 試験 : マウス、1.8~180 nmol/kg、s.c.)、体温 (ラット、1.8~180 nmol/kg、s.c.) が検討された。自律神経系に及ぼ

す影響としてモルモット摘出回腸縦走筋標本における張力、ヒスタミン及びアセチルコリンによる収縮への影響(0.1~100 nmol/L)、呼吸・循環器系に及ぼす影響として、血圧、心拍数、ECG、血液ガス、呼吸数、一回換気量、分時換気量(ラット:1.8~180 nmol/kg、s.c.、イヌ:0.18~18 nmol/kg、s.c.)、hERG チャンネルを発現させた HEK293 細胞における hERG テール電流に及ぼす影響(1 μmol/L)が検討された。また、消化器系に及ぼす影響として炭末輸送能(マウス、1.8~180 nmol/kg、s.c.)、腎機能に及ぼす影響として尿検査(ラット、1.8~180 nmol/kg、s.c.)が実施された。その結果、麻酔ラットにおいて、180 nmol/kg で血圧の上昇がみられ、この所見は血糖値低下に対するストレス性の反応と考えられた。麻酔イヌにおいては、18 nmol/kg で血糖値低下によると考えられる血圧の低下が認められた。その他、低血糖によっておこると予想された影響として、ヒトにおける臨床推定用量を超える用量で自発運動の低下及び尿量の増加がみられた。安全性薬理試験で使用された用量は、臨床試験で用いられた用量範囲以上であり、その他、いずれも特記すべき事項はないものと判断した。

(4) 薬力学的薬物相互作用

インスリンの薬物相互作用については既知であり、本薬の活性はヒトインスリンと比べて弱いものの類似した薬理作用を示すことから、薬物相互作用に関する試験は実施されていない。

<審査の概略>

(1) 作用持続性について

申請者は、本薬について、ヒトインスリンの生物活性を維持しつつ、持続型の血糖降下プロファイルを有するように設計されたヒトインスリンアナログであり、持続型の作用は、脂肪酸側鎖を付加することで皮下投与部位及び血中のアルブミンと結合し、投与部位からの吸収及び標的組織への分布が緩徐となるために発現すると説明した。

機構は、作用の持続性と関連し、付加するアシル鎖としてミリストイル基を選択した理由について、薬理的観点から説明するよう求めた。

申請者は、以下のように回答した。各種アシル鎖を付加させたインスリンアナログを作成し、HSA 及びヒトインスリン受容体への親和性並びにブタへ皮下投与したときの皮下からの消失速度について検討した。その結果、N^{6B29}-tetradecanoyl des-(B30)HI (本薬) のヒトインスリン受容体への親和性は、ヒトインスリンの 46%であったが、他のアシル鎖を付加したインスリンアナログに比較して HSA に対する親和性は高かった。また、ブタへ皮下投与後の皮下からの消失速度は、検討された中では最も遅い(50%消失速度=14.3±2.2 時間)ことが確認された(下表: Markussen J *et al.*, *Diabetologia* 1996; 39: 281-288)。

インスリンアナログのHSA及びヒトインスリン受容体に対する
結合及びブタ皮下投与後の皮下からの消失

インスリンアナログ	HSA に対する 相対親和性	可溶性ヒトインスリン受 容体に対する相対親和性	ブタにおける皮下からの消失		
			T50%(h)	c.v. (%)	n
ヒトインスリン	0	1.00	2		
NεB29-tetradecanoyl des-(B30)HI (本薬)	1.00	0.46	14.3	15	32
NαB1-tetradecanoyl des-(B30)HI	0.26	0.48	n.d.		
NεB29-decanoyl HI	0.063	0.76	5.1	10	5
NεB29-tetradecanoyl HI	0.58	0.41	11.9	7	4
NεB29-decanoyl des-(B30)HI	0.12	0.76	5.6	21	6
NεB29-undecanoyl des-(B30)HI	0.27	n.d.	6.9	23	6
NεB29-dodecanoyl des-(B30)HI	0.42	0.54	10.5	21	12
NεB29-tridecanoyl des-(B30)HI	0.71	n.d.	12.9	12	6
NεB29-hexadecanoyl des-(B30)HI	0.69	0.19	12.4	23	5
NPH ヒトインスリン	—	—	10.5	41	44

n.d. : 検出されず

これらの結果から、より緩徐な薬理作用プロファイルを示すことが期待されたミリストイル基を選択した。

機構は、提出された試験成績では各アナログの血糖低下の持続性は比較検討されておらず、本薬の持続性に関して薬理学的な観点から明確に示されたとは言い難いと考え、アルブミンとの結合親和性が高いこと、アルブミンとの結合により持続性が高まる可能性があることについて、申請者の回答を了承した。

(2) 受容体親和性と活性との関係について

機構は、アルブミンとの結合を考慮した補正後における本薬のヒトインスリン受容体親和性及び脂質合成活性化作用は、ヒトインスリンと比較して約30%であったのに対し、IRTK活性試験では9.5%と低くなっている理由について申請者に説明を求めた。

申請者は、以下の4つの要因が考えられる旨を説明した。

- ① 受容体結合試験は、リガンドの競合的結合を18時間にわたり検討し、脂質合成活性化試験は、2時間の累積値により評価した。一方、IRTK活性試験は30分間の刺激後に細胞から分離した受容体による基質のリン酸化反応を測定した。受容体結合試験及び脂質合成活性化試験では定常状態及び累積値の評価を行ったのに対し、IRTK活性試験では短時間で評価した。
- ② 3種類の試験は、インスリン作用のそれぞれ異なった段階における効力を測定している。
- ③ インスリン製剤処置に対する最大反応は処置前値と比べ、脂質合成活性化試験では12~16倍の値を示すが、IRTK活性試験では3~4倍であった。2試験間で感度に差があること、脂質合成活性化試験ではより再現性が良好であることから、試験間でED₅₀値の比(相対効力)に差が生じた。
- ④ 受容体結合試験ではHepG2細胞、脂質合成活性化試験ではラット初代培養脂肪細胞、IRTK活性試験ではCHO細胞と、それぞれ異なる細胞系を使用した。

以上のことから、試験系の違いにより、ヒトインスリン受容体親和性及び脂質合成活性化作用と比較して、IRTK活性が低くなったものと考え。

機構は、回答を了承した。

(ii) 薬物動態試験成績の概要

<提出された資料の概略>

マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びブタにおける吸収、分布、代謝及び排泄、並びに薬物相互作用及びトキシコキネティクスに関する試験成績などが提出された。

血漿及び血清中デテミル濃度は、血漿タンパク結合型及び遊離型の総和としてデテミル特異的酵素免疫吸着測定法 (ELISA 法、定量下限: 25 pmol/L) により測定された。放射標識化合物を用いた試験における生体試料中放射能濃度測定は、 ^{14}C については液体シンチレーションカウンタ (定量下限: 30 dpm 又はバックグラウンド値の 2 倍)、 ^{125}I についてはガンマカウンタ (定量下限: 30 dpm 又はバックグラウンド値の 2 倍) 及び定量的オートラジオグラフィ (定量下限: 本薬 0.06 pmol eq./g、ヒトインスリン 0.07 pmol eq./g) で測定された。 ^3H 標識化合物を用いた代謝物の同定には液体クロマトグラフィに連結した液体シンチレーションカウンタ (検出限界: シグナル/ノイズ (S/N) 比 3) が使用された。非臨床薬物動態試験 (トキシコキネティクス試験は除く) では、デテミル濃度 600 nmol/mL の製剤が使用された。なお、薬物動態パラメータは、特に記載のない限り平均値又は平均値 \pm 標準偏差で示されている。

(1) 吸収 (4.2.2.2)

1) 単回投与

① マウス単回投与試験

マウス (雌雄各 2~3 匹/時点/群) に本薬 18 nmol/kg を単回皮下投与したとき、デテミルの最高濃度到達時間 (t_{\max}) は雌雄ともに 0.75 時間、最高血漿中濃度 (C_{\max}) は雄及び雌でそれぞれ 8.7 及び 12.9 nmol/L であった。血漿中濃度 - 時間曲線下面積 ($\text{AUC}_{0-\infty}$) はそれぞれ 28.3 及び 35.5 nmol \cdot h/L、消失半減期 ($t_{1/2}$) は 1.53 及び 1.45 時間であった。一方、本薬 9 nmol/kg を単回静脈内投与したとき、 $\text{AUC}_{0-\infty}$ は雄及び雌でそれぞれ 27.3 及び 29.6 nmol \cdot h/L、 $t_{1/2}$ は 0.52 及び 0.55 時間、分布容積 (V_z) は 0.25 及び 0.24 L/kg であった。皮下投与後のバイオアベイラビリティ (BA) は雄及び雌でそれぞれ 52 及び 60 % と算出された。薬物動態に性差は認められなかった (4.2.2.2.1: ■■■0024)。

② ラット単回投与試験

ラット (雌雄各 3 匹/時点/群) に本薬 6 nmol/kg を単回皮下投与したとき、 t_{\max} は雄及び雌でそれぞれ 1.0 及び 0.5 時間、 C_{\max} は 3.3 及び 4.9 nmol/L であった。 $\text{AUC}_{0-\infty}$ はそれぞれ 6.7 及び 7.2 nmol \cdot h/L、 $t_{1/2}$ は 1.0 及び 0.77 時間であった。一方、本薬を雄に 3 nmol/kg 及び雌に 1.2 nmol/kg を単回静脈内投与したとき、 $\text{AUC}_{0-\infty}$ はそれぞれ 7.2 及び 2.9 nmol \cdot h/L、 $t_{1/2}$ は 0.23 及び 0.20 時間、 V_z は 0.14 及び 0.12 L/kg であった。皮下投与後の BA は 47 及び 50 % と算出された。薬物動態に性差は認められなかった (4.2.2.2.3: ■■■0474)。

ラット (雌雄各 3 匹/時点/群) に本薬 (^{125}I 標識体) 6 nmol/kg を単回皮下投与したとき、雌雄ともに 0.5 時間で C_{\max} (雌雄ともに 3.5 nmol/L) に達した。 $\text{AUC}_{0-\infty}$ は 7.6 及び 9.4 nmol \cdot h/L、 $t_{1/2}$ は 0.86 及び 0.94 時間であった。一方、同一用量を単回静脈内投与したとき、デテミルの $\text{AUC}_{0-\infty}$ は雄及び雌でそれぞれ 12.5 及び 14.2 nmol \cdot h/L、 $t_{1/2}$ は 0.68 及び 0.70 時間、 V_z は 0.47 及び 0.43 L/kg であった。皮下投与後の BA は 61 及び 66 % と算出された。薬物動態に性差は認められなかつ

た (4.2.2.2.2: ■■■0177)。また、血漿中の放射能濃度を追加解析したとき、単回皮下投与後の $AUC_{0-\infty}$ は雄及び雌でそれぞれ 178.8 及び 180.0 nmol·h/L、単回静脈内投与後の $AUC_{0-\infty}$ は 273.6 及び 263.4 nmol·h/L であり、皮下投与後の BA は 65 及び 68 % と算出された (4.2.2.2.2: ■■■0326)。

③ ウサギ単回投与試験

妊娠 (第 6 日目) ウサギ (6 匹/群) に本薬 225、450 及び 900 nmol/kg を単回皮下投与したとき、 C_{max} はそれぞれ 224.2 ± 81.0 、 530.7 ± 143.6 及び 979.8 ± 371.2 nmol/L、 AUC_{0-24h} は 1.7 ± 0.5 、 5.2 ± 1.4 及び 9.7 ± 2.6 $\mu\text{mol}\cdot\text{h/L}$ であり、 C_{max} 及び AUC_{0-24h} は投与量に比例して増加した。なお、 $t_{1/2}$ (調和平均) は 2.8、2.6 及び 3.3 時間であった (4.2.2.2.5: ■■■0141)。

④ イヌ単回投与試験

イヌ (雌雄各 3 匹) に本薬 1.2、2.4 及び 3.6 nmol/kg を交叉比較法にて単回皮下投与したとき、 t_{max} は雄で 1.67~4.33 時間、雌で 1.75~2.25 時間、 C_{max} は雄のそれぞれの用量で 1.2 ± 0.9 、 1.8 ± 0.5 及び 1.6 ± 0.4 nmol/L、雌で 1.1 ± 0.6 、 2.9 ± 0.8 及び 3.1 ± 2.0 nmol/L であった。 $AUC_{0-\infty}$ は雄でそれぞれ 5.3 ± 2.3 、 10.6 ± 2.2 及び 9.8 ± 1.6 nmol·h/L、雌でそれぞれ 4.7 ± 1.7 、 11.3 ± 0.4 及び 11.9 ± 0.8 nmol·h/L、 $t_{1/2}$ (調和平均) は雄で 2.24~2.63 時間、雌で 1.29~1.44 時間であった。本薬 2.4 及び 3.6 nmol/kg 皮下投与時では、雌の方が雄と比較して、 C_{max} は高く、 $t_{1/2}$ は短縮した。一方、本薬 0.3、0.6 及び 0.9 nmol/kg を交叉比較法にて単回静脈内投与したとき、 $AUC_{0-\infty}$ は雄でそれぞれ 2.4 ± 0.5 、 6.9 ± 1.2 及び 11.7 ± 1.2 nmol·h/L、雌でそれぞれ 1.4 ± 0.4 、 4.9 ± 0.6 及び 8.9 ± 0.4 nmol·h/L、 $t_{1/2}$ (調和平均) は雄で 0.61~0.77 時間、雌で 0.73~0.94 時間、 V_z は雄で 0.08~0.13 L/kg、雌で 0.15~0.28 L/kg であった。静脈内投与時では薬物動態に性差は認められなかった。皮下投与後の BA は雄でそれぞれ 57 ± 28 、 38 ± 8 及び 21 ± 0 %、雌でそれぞれ 85 ± 18 、 58 ± 6 及び 34 ± 3 % と算出された。なお、本試験では皮下投与の際、本薬は希釈されず、Novo Pen[®] が使用された (4.2.2.2.7: ■■■0271)。

⑤ ブタ単回投与試験

ブタ (雌 8 匹) に本薬 4.8 nmol/kg (グリセロール及びマンニトール処方製剤) が交叉比較法にて単回皮下投与され、デテミルの薬物動態に及ぼす等張化剤の影響が検討された。 t_{max} はグリセロール及びマンニトール処方製剤でそれぞれ 1.1 ± 1.6 及び 0.6 ± 0.2 時間、 C_{max} は 3.5 ± 2.7 及び 4.2 ± 2.4 nmol/L であった。 $AUC_{0-\infty}$ はそれぞれ 18.7 ± 3.7 及び 21.4 ± 1.6 nmol·h/L、 $t_{1/2}$ (調和平均) は 5.5 及び 4.9 時間、 V_z/f は 2.2 ± 0.8 及び 1.6 ± 0.3 L/kg であった。グリセロール処方製剤とマンニトール処方製剤との間に有意差が認められたのは V_z/f のみであった。一方、グリセロール処方製剤 2.4 nmol/kg を単回静脈内投与したとき、 $AUC_{0-\infty}$ は 17.6 ± 4.2 nmol·h/L、 $t_{1/2}$ (調和平均) は 2.2 時間、 V_z は 0.5 ± 0.1 L/kg であった。皮下投与時における BA はグリセロール処方製剤で 57 ± 22 %、マンニトール処方製剤で 65 ± 18 % と算出された (4.2.2.2.13: ■■■2095)。

2) 反復投与

① ラット反復投与試験

ラット (雌雄各 6 匹/群) に本薬 30、96 及び 300 nmol/kg を 1 日 1 回 4 週間反復皮下投与したとき、初回投与後の AUC_{0-6h} は雄で 13.4、33.5 及び 61.5 nmol·h/L、雌で 16.0、45.2 及び 84.3 nmol·h/L であった。20 日目投与後では雄で 23.4、43.7 及び 125.2 nmol·h/L、雌で 14.9、43.3 及び 208.6

nmol·h/L であった。C_{max} 及び AUC_{0-6h} は 20 日目の雌の 300 nmol/kg 投与群を除いて投与量に比例して増加した。初回投与後及び 20 日目投与後の AUC_{0-6h} から算出した蓄積比は、雄で 1.74、1.31 及び 2.04、雌で 0.93、0.96 及び 2.48 であり、300 nmol/kg 投与群では軽度の蓄積がみられ、雄より雌においてその傾向は強かった (4.2.2.2.4: 0129)。

ラット (雌雄各 6 匹/群) に本薬 30、96 及び 300 nmol/kg を 1 日 1 回 3 カ月間反復皮下投与したとき、初回投与後の AUC_{0-6h} は雄で 18.5、53.5 及び 122.3 nmol·h/L、雌で 21.2、50.9 及び 103.1 nmol·h/L であった。85 日目投与後では雄で 28.6、108.1 及び 248.4 nmol·h/L、雌で 41.7、133.7 及び 384.1 nmol·h/L であった。C_{max} 及び AUC_{0-6h} は投与量に比例して増加した。初回投与後及び 85 日目投与後の AUC_{0-6h} から算出した蓄積比は、雄で 1.5、2.0 及び 2.0、雌で 2.0、2.6 及び 3.7 であり、300 nmol/kg 投与群では軽度の蓄積が認められ、その傾向は雄より雌において強かった (4.2.2.2.5: 0194)。

ラット (雌雄各 6 匹/群) に本薬 30、96 及び 300 nmol/kg を 1 日 1 回 6 カ月間反復皮下投与したとき、170 日目投与後の AUC_{0-6h} は雄で 14.9、32.7 及び 96.2 nmol·h/L、雌で 32.2、82.6 及び 289.0 nmol·h/L であった。C_{max} 及び AUC_{0-6h} は投与量に比例して増加した。t_{max} は 170 日目において雄の 30 nmol/kg 及び雌の 300 nmol/kg で 3 時間であったことを除いて、すべて 1 時間であった。なお、初回投与後の血清中濃度は測定されておらず、蓄積性は検討していない (4.2.2.2.6: 0225)。

② イヌ反復投与試験

イヌ (雌雄各 4 匹/群) に本薬 3、6 及び 9 nmol/kg を 1 日 1 回 4 週間反復皮下投与したとき、初回投与後の AUC_{0-24h} は雄で 9.0 ± 1.0、17.6 ± 1.3 及び 28.2 ± 3.4 nmol·h/L、雌で 9.6 ± 1.8、14.4 ± 4.3 及び 26.7 ± 2.9 nmol·h/L、27 日目投与後では雄で 7.7 ± 1.5、19.8 ± 5.9 及び 29.2 ± 6.1 nmol·h/L、雌で 10.2 ± 1.3、20.2 ± 5.5 及び 31.0 ± 4.6 nmol·h/L であった。C_{max} 及び AUC_{0-24h} は投与量に比例して増加した。t_{max} は雌雄ともに 1~2 時間であった。初回投与後及び 27 日目投与後の AUC_{0-24h} から算出した蓄積比は、雄で 0.9、1.1 及び 1.0、雌で 1.1、1.4 及び 1.2 であり、雌雄ともに反復投与による蓄積はみられず、薬物動態に性差は認められなかった (4.2.2.2.8: 0272)。

イヌ (雌雄各 4 匹/群) に本薬 1.8、3.6 及び 7.2 nmol/kg を 1 日 1 回 3 カ月間反復皮下投与したとき、初回投与後の AUC_{0-24h} は雄で 7.4 ± 1.2、11.5 ± 6.1 及び 31.3 ± 4.7 nmol·h/L、雌で 6.7 ± 0.9、13.7 ± 1.4 及び 31.1 ± 5.5 nmol·h/L、90 日目投与後では雄で 8.4 ± 2.1、13.2 ± 2.6 及び 31.8 ± 7.8 nmol·h/L、雌で 5.9 ± 1.4、14.9 ± 1.8 及び 32.5 ± 4.7 nmol·h/L であった。C_{max} 及び AUC_{0-24h} は投与量に比例して増加した。t_{max} は大半で 2 時間であった。初回投与後及び 90 日目投与後の AUC_{0-24h} から算出した蓄積比は、雄で 1.1、1.7 及び 1.0、雌で 0.9、1.1 及び 1.1 であり、雌雄ともに反復投与による蓄積はみられず、薬物動態に性差は認められなかった (4.2.3.2.5: 0007)。

イヌ (雌雄各 4 匹/群) に本薬 1.8、3.6 及び 7.2 nmol/kg を 1 日 1 回 6 カ月間反復皮下投与したとき、初回投与後の AUC_{0-24h} は雄で 4.1 ± 0.7、11.7 ± 2.9 及び 38.8 ± 29.2 nmol·h/L、雌で 5.3 ± 0.6、12.1 ± 2.0 及び 28.9 ± 5.5 nmol·h/L、176 日目投与後では雄で 4.7 ± 0.9、13.4 ± 4.3 及び 35.3 ± 15.3 nmol·h/L、雌で 5.7 ± 3.3、9.6 ± 3.1 及び 40.1 ± 3.9 nmol·h/L であった。C_{max} 及び AUC_{0-24h} は投与量に比例して増加した。t_{max} は大半で 1~2 時間であった。初回投与後及び 176 日目投与後の AUC_{0-24h} から算出した蓄積比は、雄で 1.2、1.1 及び 0.9、雌で 1.1、0.8 及び 1.4 であり、雌雄と

もに反復投与による蓄積はみられず、薬物動態に性差は認められなかった (4.2.2.2.10: 0224)。

イヌ (雌雄各 4 匹/群) に本薬 1.8、3.6 及び 7.2 nmol/kg を 1 日 1 回 12 カ月間反復皮下投与したとき、初回投与後の $AUC_{0-\infty}$ は雄で 6.4 ± 0.9 、 13.7 ± 3.2 及び 24.9 ± 4.7 nmol·h/L、雌で 5.4 ± 0.8 、 11.4 ± 2.2 及び 24.1 ± 9.4 nmol·h/L、363 日目投与後では雄で 11.3 ± 2.8 、 27.2 ± 6.4 及び 46.4 ± 3.1 nmol·h/L、雌で 9.3 ± 2.3 、 19.2 ± 3.1 及び 31.8 ± 22.7 nmol·h/L であった。 C_{max} 及び $AUC_{0-\infty}$ は投与量に比例して増加した。 t_{max} は大半で 2 時間であった。初回投与後及び 363 日目投与後の $AUC_{0-\infty}$ から算出した蓄積比は、雄で 1.8、2.0 及び 1.9、雌で 1.2、1.7 及び 1.5 であり、雌雄ともに反復投与による僅かな蓄積がみられた。薬物動態に性差は認められなかった (4.2.2.2.11: 0052)。

(2) 分布 (4.2.2.3)

1) 定量的組織内分布試験

① ^{125}I 標識体を用いた検討

白色ラット (雌雄各 3 匹/時点/群) に本薬 (^{125}I 標識体) 6 及び 6,000 nmol/kg を単回皮下投与したとき、組織中放射能濃度はほとんどの組織で投与後 2 又は 4 時間に最高値に達し、投与量に比例して増加した。投与後 4 時間までの放射能濃度が血漿中より高く推移した主な組織は甲状腺、褐色脂肪及び胃であり、放射能の分布様式に性差は認められなかった (4.2.2.3.1, 4.2.2.2.2: 0497)。

妊娠白色ラット (3 匹/時点/群) に本薬 (^{125}I 標識体) 6 及び 6,000 nmol/kg を単回皮下投与したとき、放射能の組織分布は雄性白色ラット及び非妊娠白色ラットと同様であった。乳汁中放射能濃度は投与 4 時間以降において血漿中濃度の 8.3~54.7 倍であった。胎児及び羊水中放射能濃度は血漿中より低く、乳腺中では投与後 24 時間以降において血漿中と同等又はそれ以上であった (4.2.2.2.2: 0497)。

有色ラット (雄 1 匹/時点) に本薬 (^{125}I 標識体) 6 nmol/kg を単回皮下投与したとき、放射能の組織分布は雄性白色ラット (投与後 168 時間まで測定) と同様であった。各組織中放射能濃度は投与後 96 時間まで血漿中と同等又はそれ以下で推移した。眼における放射能の消失は血漿中より緩徐であり、皮膚では投与後 336 及び 504 時間で血漿中より高値を示したが (1.9~9.3 倍)、放射能の組織分布は有色部と白色部で同様であった (4.2.2.2.2: 0497)。

② ^{14}C 標識体を用いた検討

白色ラット (雌雄各 3 匹/時点) に本薬 (^{14}C 標識体) 6,000 nmol/kg を単回皮下投与したとき、組織中放射能濃度はほとんどの組織で投与後 4 又は 24 時間に最高値に達した。放射能濃度が血漿中より高く推移した主な組織は投与後 4 時間までは褐色脂肪、腎臓、肝臓、肺、乳腺及び消化管 (大腸) 壁、投与後 24~96 時間では、副腎、脂肪 (白色及び褐色)、腎臓、肝臓、肺、乳腺、卵巣、脾臓、皮膚及び消化管壁であった。放射能は最終測定時点である投与後 168 時間でも測定可能であり、副腎、脂肪 (白色及び褐色)、乳腺、卵巣、皮膚、子宮及び消化管壁では血漿中 (61.8 ± 16.2 pmol eq./g) の 20 倍以上であった。組織中/血漿中放射能濃度比の高い組織では、 $[1-^{14}\text{C}]$ -tetradecanoyl acid 由来の放射能が脂肪酸又は β 酸化により生じた酢酸として生体成

分中に取り込まれたものと考察されている。なお、放射能の分布様式に性差は認められなかった (4.2.2.2.2: 0497)。

妊娠白色ラット (3 匹/時点) に本薬 (^{14}C 標識体) 6,000 nmol/kg を単回皮下投与したとき、放射能の組織分布は雄性白色ラット及び非妊娠白色ラットと同様であった。乳汁中放射能濃度は投与 4 時間以降において血漿中濃度の 4.5~9.7 倍であった。胎児中放射能濃度は血漿中より低く、羊水中では検出限界以下であった。放射能濃度が血漿中より高く推移した組織は投与後 4 時間までは腎臓及び肝臓のみであり、投与後 24~96 時間ではほとんどの組織で血漿中より高く、特に乳腺中では血漿中の 7.6~50.0 倍高値を示した (4.2.2.2.2: 0497)。

白色ラット (雄性 3 匹/時点) に本薬 (^{14}C 標識体) 600 nmol/kg/日 を 7 日間反復皮下投与したとき、最終投与後の組織中放射能濃度はほとんどの組織で投与後 2 又は 4 時間に最高値に達した。組織からの放射能の消失は緩徐であり、多くの組織で投与後 168 時間の放射能濃度は C_{\max} の 1/2 以上であった。組織中/血漿中放射能濃度比は経時的に上昇し、168 時間では腎周囲の脂肪で 138.5、投与部位で 122.1、大腸壁で 50.1 及び皮膚で 48.7、その他、多くの組織で 10 以上であった。組織中/血漿中放射能濃度比の高い組織では、 $[1-^{14}\text{C}]\text{-tetradecanoyl acid}$ 由来の放射能が脂肪酸又は酢酸として生体成分中に取り込まれたものとされている (4.2.2.3.2: 0249)。

2) 定量的全身オートラジオグラフィ

白色ラット (雌性 3 匹/時点/群) に本薬 (^{125}I 標識体) 又はヒトインスリン (^{125}I 標識体) 5 nmol/kg を単回静脈内投与し、定量的全身オートラジオグラフィを用いて放射能組織分布を比較した。本薬投与後の組織中放射能濃度は多くの組織でヒトインスリン投与後と比較して低く推移したものの、放射能組織分布は類似していた。本薬投与時において血漿、肝臓及び骨髄中の放射能濃度がヒトインスリン投与時より 1.8~6.1 倍高かった。一方、腎皮質 (特に外層) の放射能はヒトインスリンより本薬投与時において低かった (4.2.2.3.3: 3067)。

3) タンパク結合

本薬 (^{125}I 標識体) 0.06~600 nmol/L の濃度範囲において、*in vitro* における血漿タンパク結合率を測定したとき (平衡透析法)、雌雄マウスでは 96.0~97.9%、雌雄ラットでは 97.1~98.6%、雌雄イヌでは 97.7~99.0%、雌性ウサギでは 99.1~99.4% 及び雌性ブタでは 97.5~98.6% であった (4.2.2.3.4: 0176)。

(3) 代謝 (4.2.2.4)

雌雄のマウス、ラット、ウサギ、イヌ、ブタ及びサル由来の初代培養肝細胞に本薬 (^{14}C 標識体) 1 または 10 $\mu\text{mol/L}$ を添加し、4 及び 24 時間培養後の代謝物について検討した。24 時間培養後においてもそれぞれの代謝物濃度の割合は低く (概して 10% 以下)、構造を決定することはできなかったとされた (4.2.2.4.1: 0056)。

本薬 (^3H 標識体) 及びヒトインスリン (^3H 標識体) 20 μM にインスリン分解酵素と考えられている Cathepsin D (1 U/mL) を添加し、代謝様式が比較された。両者ともに B 鎖の $\text{Phe}^{\text{B}24}\text{-Phe}^{\text{B}25}$ 及び $\text{Phe}^{\text{B}25}\text{-Tyr}^{\text{B}26}$ アミノ酸残基の開裂に伴う最初の代謝物として $\text{A}^{1-21}\text{-B}^{1-24}$ 及び $\text{A}^{1-21}\text{-B}^{1-25}$ が検

出された。また、最初の代謝物がさらに代謝を受けたと考えられる2、3種類の代謝物が認められた。これらの結果から、申請者は、本薬とヒトインスリンの代謝様式は同一であると説明している(4.2.2.4.7: 4179)。

白色ラット(雌雄各3匹/群)に本薬(^{125}I 標識体)6及び6,000 nmol/kgを単回皮下投与したとき、投与後4時間では血漿中の主な放射能は遊離した ^{125}I であるとされた。尿中(投与後8~24時間)及び糞中(投与後24~48時間)では、 ^{125}I と同様の保持時間の短い(1~7分)成分が試料中総放射能の29.7~92.1%を占めた。また、白色ラット(雌雄各1匹/時点)に本薬(^{125}I 標識体)6,000 nmol/kgを単回皮下投与したとき、投与後24時間の雄の皮膚で27.8%の未変化体と同様の保持時間を示すピークが検出されたが、褐色脂肪、肝臓及び腎臓では最も早い測定時点(2~4時間後)においても未変化体と考えられる同様のピークは認められなかった。授乳期ラット(3匹/時点/群)に本薬(^{125}I 標識体)6及び6,000 nmol/kgを単回皮下投与したとき、乳汁中では保持時間の長い(56~58分)成分が多くみられた。また、血漿中と同様に遊離した ^{125}I であると考えられるピーク(13.2~38.3%)とともに、未変化体のピークも認められた(~8.3%)。一方、白色ラット(雌雄各3匹)に本薬(^{14}C 標識体)6,000 nmol/kgを単回皮下投与したとき、投与後4時間の血漿中放射能の $57.6 \pm 10.0\%$ は未変化体であると推察され、その他、高極性(保持時間1~7分)及び低極性(保持時間56~58分)の放射能成分がそれぞれ 10.7 ± 4.9 及び $14.8 \pm 1.7\%$ 認められた。投与後8~24時間の尿中には高極性の放射能が多く検出され、未変化体及び低極性の放射能成分は検出されなかった。投与後24時間までの糞中では、未変化体と同様の保持時間に未変化体以外の成分と考えられる放射能が約50%認められた。その他、高極性の放射能成分も検出された。白色ラット(雌雄各1匹/時点)及び妊娠ラット(1匹/時点)に本薬(^{14}C 標識体)6,000 nmol/kgを単回皮下投与したとき、腎臓及び肺(妊娠ラットは未検討)では投与後4時間で未変化体と同様の保持時間を有する放射能成分がそれぞれ約30及び50%を占め、その後減少した。肝臓では未変化体と同様の保持時間を有する放射能成分は約15%であった。投与後24時間の胎児では主要な代謝物が3つ認められ、1つは未変化体によるものと考えられた。授乳期ラット(3匹/時点)に本薬(^{14}C 標識体)6,000 nmol/kgを単回皮下投与したとき、投与後8時間の乳汁中では大部分の放射能は未変化体によるものと考えられた。なお、いずれの検討においても代謝様式に性差は認められていない(4.2.2.4.2, 4.2.2.2.2: 0497)。

白色ラット(雄性3匹/時点)に本薬(^{14}C 標識体)600 nmol/kg/日を7日間反復皮下投与したとき、未変化体と同様の保持時間を有する放射能成分が39%を占め、その後減少した。6日目投与後24時間の尿中には高極性の放射能が多く検出され、糞中では主に未変化体と同様の保持時間を有する放射能と高極性の放射能成分が検出された(4.2.2.4.3, 4.2.2.3.2: 0249)。

白色ラット(雌雄各3匹)に本薬(^{14}C 標識体)6,000 nmol/kgを単回皮下投与し、投与後4~8時間及び8~24時間の尿中の代謝物を同定した。尿中には主に3つの代謝物が検出され、最も多く検出された代謝物は Lys^{B29} に6つの炭素から成る脂肪酸が結合した断片であり、試料中総放射能の約50%(投与量の10~15%)を占めた。その他の2つの代謝物は投与量の約5%であったが、構造は同定されていない(4.2.2.4.5: 1234)。

イヌ(雌雄各3匹/群)に本薬(^{125}I 標識体)1.2及び9 nmol/kgを単回皮下投与したとき、1.2

nmol/kg 投与後 4 時間及び 9 nmol/kg 投与後 8 時間における血漿中には未変化体は検出されず、保持時間の短い (1~7 分) ピークのみが認められた。また、投与後 24 時間までの尿中においても同様であった。一方、イヌ (雌雄各 3 匹) に本薬 (^{14}C 標識体) 9 nmol/kg を単回皮下投与したとき、投与後 4 時間の血漿中では、未変化体と同様の保持時間を有する放射能の割合は雄で 9.2% 及び雌で 15.6% であり、投与後 24 時間では減少した。投与後 6~24 時間の尿中には未変化体と同様の保持時間を有する放射能は認められず、保持時間の短いピークが多く認められた。なお、代謝様式に性差は認められていない (4.2.2.4.4: ■■■0005)。

白色ラット (雌雄各 5 匹/群) に本薬 6 及び 300 nmol/kg/日を 1 日 1 回 7 日間反復皮下投与したとき、6 nmol/kg/日投与後では、雌雄ともに肝チトクローム P450 (1A1/1A2, 2A1, 2B1, 2C11, 3A) に対する影響は認められなかった。300 nmol/kg/日投与後では、雄において CYP2C11 の軽度の減少 (0.7 倍) 及び CYP 総濃度の軽度の増加 (1.2 倍) が認められたが、これらの生物学的な影響は低いとされた。なお、本試験では 6 nmol/kg/日の実投与量は 4.2 nmol/kg/日であった (4.2.2.4.8: ■■■0040)。

ヒトインスリンは CYP2E1 mRNA 発現を抑制することが知られているため、本薬とヒトインスリンの CYP2E1 に対する影響を比較した。ラット肝細胞に本薬又はヒトインスリン 0.01~1,000 nmol/L を添加し 72 時間培養したとき、本薬及びヒトインスリンともに濃度依存的に CYP2E1 活性を抑制したが、ヒトインスリンの方がより低い濃度で活性を低下させた (4.2.2.4.9: ■■■4124)。

(4) 排泄 (4.2.2.5)

白色ラット (雌雄各 3 匹/群) に本薬 (^{125}I 標識体) 6 及び 6,000 nmol/kg を単回皮下投与したとき、回収された放射能のほとんどが尿中に排泄され、この放射能は遊離した ^{125}I によるものと考えられた。また、一部糞中にも排泄された。一方、白色ラット (雌雄各 3 匹) に本薬 (^{14}C 標識体) 6,000 nmol/kg を単回皮下投与したとき、投与後 168 時間までに投与量の 77.8% の放射能が回収され、呼気中 (おそらく CO_2 として) 23.7%、尿中に 25.7% 及び糞中に 10.5% の放射能が排泄され、その他残屍中から 17.9% が回収された (4.2.2.5.1, 4.2.2.2.2: ■■■0497)。

白色ラット (雄性 3 匹) に本薬 (^{14}C 標識体) 600 nmol/kg/日を 7 日間反復皮下投与したとき、最終投与後 168 時間までに投与量の 97.8% の放射能が回収され、呼気中に 52.9%、尿中に 13.3% 及び糞中に 11.2% の放射能が排泄され、その他残屍中から 20.3% が回収された (4.2.2.5.2, 4.2.2.3.2: ■■■0249)。

イヌ (雌雄各 3 匹/群) に本薬 (^{125}I 標識体) 1.2 及び 9 nmol/kg を単回皮下投与したとき、回収された放射能の多くは尿中に排泄され、一部糞中にも排泄された。一方、イヌ (雌雄各 1 匹) に本薬 (^{14}C 標識体) 9 nmol/kg を単回皮下投与したとき、投与後 168 時間までに投与量の 95.9% の放射能が回収され、呼気中に 32.4%、尿中に 19.1% 及び糞中に 7.0% の放射能が排泄され、その他残屍中から 36.7% が回収された (4.2.2.5.3, 4.2.2.4.2: ■■■0005)。

授乳期ラット (3 匹/時点/群) に本薬 (^{125}I 標識体) 6 及び 6,000 nmol/kg、並びに本薬 (^{14}C 標識体) 6,000 nmol/kg を単回皮下投与したとき、投与 4 時間以降の乳汁中では血漿中と比較して ^{125}I 標識体投与時で 8.3~54.7 倍、 ^{14}C 標識体投与時で 4.5~9.7 倍高い放射能が検出された

(4.2.2.5.1, 4.2.2.2.2: 0497)。

(5) 薬物動態学的薬物相互作用 (4.2.2.6)

本申請に際して、新たな試験は実施されていない。

(6) その他の薬物動態試験 (4.2.2.7)

本薬は長鎖脂肪酸部位を介して血清アルブミンと結合すると考えられているため、本薬の薬物動態に対する血中遊離脂肪酸の影響について検討した。ブタに本薬 (^{125}I 標識体) 12 nmol を単回静脈内 (雌性 4 匹) 又は単回皮下投与 (雌性 6 匹) したとき、遊離脂肪酸は高濃度 (1.6~2.1 mmol/L) においても静脈内投与時の血漿中及び皮下投与時の投与部位における放射能濃度に影響を及ぼさなかった (4.2.2.7.1: Disc/Idet/10)。

<審査の概略>

(1) インスリン抗体発現による薬物動態への影響について

機構は、本薬投与時の抗体 (抗デテミル特異抗体、抗デテミル-ヒトインスリン交叉抗体など) 発現による本薬の薬物動態への影響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。イヌの 12 カ月間反復投与毒性試験 (0052/0242) において、抗体価 (本薬の ^{125}I 標識体に対する結合率) と C_{max} 及び $\text{AUC}_{0-\infty}$ との関係について検討したところ、両者に特定の関係は認められなかった。また、本薬に関する国内外の臨床試験において各種インスリン抗体の産生と薬物動態との関連について検討した試験はないが、現在開発中の吸入インスリン製剤 (Novo Nordisk, AERx iDMS) の試験成績、並びにインスリンアスパルト及び他の吸入インスリン製剤 (Pfizer, Exubera) に関する公表文献 (Chen JW *et al.*, *Eur J Endocrinol* 2005; 153: 907-913, Heise T *et al.*, *Diabetes Care* 2005; 28: 2161-2169) において、抗体産生と薬物動態又は薬力学的作用との関係について検討されており、抗体価の上昇に関して臨床的に意味のある影響は認められていないことから、本薬についても同様に抗体産生と薬物動態との間に特定の関係はないと考える。

機構は、抗体の発現や抗体価の変化により血漿中遊離型濃度の増減をきたし、結果として血糖値の変化をもたらす可能性があることについては注意が必要であると考え。なお、抗体発現の影響については、臨床試験における有効性及び安全性成績を踏まえて判断することが妥当であると考え (「4. 臨床に関する資料 (iii) 有効性及び安全性試験成績の概要」参照)。

(iii) 毒性試験成績の概要

<提出された資料の概略>

(1) 単回投与毒性試験 (4.2.3.1.1~4, 4.2.3.7.7.3: 0426、0427、0424、0425、0177)

マウス単回皮下投与試験においては 0、375、1,500、6,000 及び 24,000 nmol/kg が投与され、6,000 nmol/kg の雄 1/5 例及び雌 2/5 例、24,000 nmol/kg の雄 3/5 例及び雌 2/5 例が死亡した。眼瞼下垂、自発運動低下、興奮性/失調性歩行及び投与部位の創傷が認められた。概略の致死量は

6,000 nmol/kg と判断された。

マウス単回静脈内投与試験においては0、375、750、1,500、3,000、6,000及び12,000 nmol/kgが投与され、3,000 nmol/kgの雄2/5例及び雌1/5例が死亡した。振戦、眼球突出、自発運動低下、呼吸抑制、尾・足の青色化、興奮性歩行、眼瞼下垂及び立毛が認められた。概略の致死量は3,000 nmol/kgと判断された。

ラット単回皮下投与試験においては0、375、1,500、6,000及び24,000 nmol/kgが投与され、死亡は認められず、自発運動低下、眼瞼下垂、興奮性歩行及び投与部位の創傷が認められた。概略の致死量は24000 nmol/kg以上と判断された。

ラット単回静脈内投与試験においては0、375、1,500、6,000、12,000及び24,000 nmol/kgが投与され、12,000 nmol/kgの雄3/5例及び雌1/5例、24,000 nmol/kgの雄5/5例及び雌5/5例が死亡した。振戦、自発運動低下、痙攣、尾・足の青色化、呼吸抑制、眼瞼下垂、立毛、跳躍、ヘッドドロップ及び失調性歩行が認められた。概略の致死量は12,000 nmol/kgと判断された。

非げっ歯類における単回投与毒性試験は実施されていないが、イヌにおける最大耐量設定試験が実施され、3、6、12及び24 nmol/kg 漸増用量で皮下投与、15 nmol/kg 固定用量で皮下投与したところ、自発運動低下、失調性歩行、鎮静及び反応性低下が認められた。概略の致死量は24 nmol/kg以上と判断された。

(2) 反復投与毒性試験

反復投与毒性試験は、ラット4週間皮下投与試験、ラット13週間皮下投与試験、ラット26週間皮下投与試験、イヌ4週間皮下投与試験、イヌ13週間皮下投与試験、イヌ26週間皮下投与試験、イヌ52週間皮下投与試験が実施された。これらの試験のうち、ほとんどの試験で抗デテミル抗体が検出されたが、本薬の曝露量及び血糖降下作用に影響は認められなかった。本薬又はヒトインスリン投与により、血糖降下が認められ、これらの試験の対照群を含めたほぼ全ての群で、投与部位の出血などの所見が認められた。

1) ラット4週間皮下投与試験 (4.2.3.2.1: ████████0175)

0、30、96及び300 nmol/kg/day 投与したところ、96 nmol/kg/day 以上でマグネシウムの減少及び肝重量の減少が、300 nmol/kg/day で摂餌量の増加が認められた。これらの所見は、薬理作用によるものと考えられている。無毒性量は300 nmol/kg/day と判断された。

2) ラット13週間皮下投与試験 (4.2.3.2.2: ████████0006)

0、30、96及び300 nmol/kg/day、陽性対照 (NPH ヒトインスリン 144→120→72 nmol/kg/day) 投与したところ、陽性対照の雄1/20例及び雌2/20例が低血糖により死亡したため、投与量が減量された。96 nmol/kg/day 以上で血清尿素の減少及び血糖値の増加が、300 nmol/kg/day で投与部位の創傷、びらんが認められ、マグネシウム、アルブミン、総タンパク質、トリグリセリドの減少及び肝重量の減少が認められた。これらの所見は、陽性対照群でも認められており、薬理作用によるものと考えられた。無毒性量は300 nmol/kg/day と判断された。

3) ラット26週間皮下投与試験 (4.2.3.2.3: ████████0243)

0、30、96及び300 nmol/kg/day、陽性対照 (NPH ヒトインスリン 72 nmol/kg/day) 投与したところ、96 nmol/kg/day 以上で肝重量の減少が、300 nmol/kg/day で投与部位の創傷が認められた。

また、トリグリセリド及び α_2 -グロブリンの減少（雌雄）、総タンパク、アルブミン及びコレステロールの減少、血糖値の増加（雄）が、 β -グロブリンの減少（雌）が認められたが、これらの所見は、陽性対照群でも認められており、薬理作用によるものと考えられた。無毒性量は 300 nmol/kg/day と判断された。

4) イヌ 4 週間皮下投与試験 (4.2.3.2.4: ■■■■0423)

0、3、6、9 nmol/kg/day 投与したところ、9 nmol/kg/day 雄で低血糖症状、体重減少、脂肪細胞の漿液性萎縮、骨髄の細胞密度低下、胸腺萎縮が認められた。これらの所見は、薬理作用によるものと考えられた。無毒性量は 9 nmol/kg/day と判断された。

5) イヌ 13 週間皮下投与試験 (4.2.3.2.5: ■■■■0007)

0、1.8、3.6、7.2 nmol/kg/day、陽性対照（NPH ヒトインスリン 7.2 nmol/kg/day）投与したところ、血糖値の低下、抗デテミル抗体検出、投与部位の出血等の変化以外の所見は認められなかった。無毒性量は 7.2 nmol/kg/day と判断された。

6) イヌ 26 週間皮下投与試験 (4.2.3.2.6: ■■■■0241)

0、1.8、3.6、7.2 nmol/kg/day、陽性対照（NPH ヒトインスリン 7.2 nmol/kg/day）投与したところ、3.6 nmol/kg/day 以上で副腎重量の増加が認められた。無毒性量は 1.8 nmol/kg/day と判断された。

7) イヌ 52 週間皮下投与試験 (4.2.3.2.7: ■■■■0242)

0、1.8、3.6、7.2 nmol/kg/day、陽性対照（NPH ヒトインスリン 7.2 nmol/kg/day）投与したところ、血糖値の低下、抗デテミル抗体検出、投与部位の出血等の変化以外の所見は認められず、無毒性量は 7.2 nmol/kg/day と判断された。

(3) 遺伝毒性試験 (4.2.3.3.1, 2: ■■■■0002、■■■■0004、4.2.3.3.2: ■■■■0003)

細菌を用いた復帰突然変異試験、ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験、マウス骨髄細胞を用いた小核試験が実施され、遺伝毒性は認められなかった。

(4) がん原性試験

がん原性試験は実施されていない。がん原性については、ヒトインスリン受容体及びヒト IGF-1 受容体に対する結合特性に関する試験、*in vitro* 細胞増殖誘発能試験、ラットの 13 及び 26 週間反復投与毒性試験における乳腺及び肝臓の細胞増殖活性検討試験（retrospective 試験）、ラットの 4 及び 26 週間増殖活性検討試験（prospective 試験）の成績によって評価され、本薬の細胞増殖活性はヒトインスリンと同程度であり、がん原性のリスクが既存のヒトインスリン製剤を超える可能性は低いと考えられた。

1) ヒトインスリン受容体及びヒト IGF-1 受容体に対する結合特性に関する試験 (4.2.1.1.1, 2: Disc/IDet/01、Disc/IDet/02)

可溶化されたヒトインスリン受容体及びヒト IGF-1 受容体に対する本薬の親和性はヒトインスリンの 18% 及び 16%、ヒト肝がん HepG2 細胞上の各受容体に対しては約 27% 及び 41% であり、また、ヒトインスリン受容体を過剰発現させた CHO-hIR 細胞における受容体からの解離速度はヒトインスリンの約 2 倍であった。ヒトインスリン受容体及びヒト IGF-1 受容体に対す

る親和性はヒトインスリンよりも低く、またヒトインスリン受容体に結合してもヒトインスリンよりも早く解離すると考えられた。

2) *in vitro* 細胞増殖誘発能試験 (4.2.3.7.7.1, 2, 5, 6: Disc/IDet/07、Disc/IDet/08、██████0014、██████101003-001)

CHO-K1 細胞における細胞増殖誘発能はヒトインスリンの 9 %、ヒト骨肉腫細胞 (Saos/B10 細胞) では 11 %、ヒト乳癌線維芽細胞 (MCF-7 細胞) では 14.6 %、ヒトインスリン受容体を過剰に発現させた L6 筋原細胞 (L6-hiR 細胞) では 24.8 %であり、*in vitro* での細胞増殖誘発能はヒトインスリンよりも弱いと考えられた。

3) Retrospective 試験 (4.2.3.4.3.1, : ██████1305)

in vivo での細胞増殖への影響を検討するため、ラット 26 週間反復皮下投与毒性試験で得られた標本を用いて増殖性細胞核抗原 (PCNA) 染色を行い、乳腺の細胞増殖について retrospective に検討された (██████1305 試験)。溶媒対照群との間に有意な差は認められなかったが、本薬投与群のうちの 1 例で高値を示す動物がみられ、明確な結論が得られなかったことから、さらに 2 つの retrospective 試験が実施された。同試験で得られた標本の乳腺及び肝臓について PCNA 及び核内増殖関連抗原 (Ki-67) 染色を行い、ラベリングインデックス (LI) が算出された (██████3175 試験)。また、ラット 13 週間反復投与毒性試験についても同様に検討された (██████3174)。その結果、██████3174 試験では、本薬投与群の乳腺では溶媒対照群よりも高い LI が示されたが、██████3175 試験では、溶媒対照群との間に差異は認められなかった。

4) Prospective 試験 (4.2.3.4.3.2: ██████3181)

Retrospective 試験では、陽性対照群が設定されていないことなどから、新たに、ラットを用いた 4 及び 26 週間増殖活性検討試験が追加実施された。IAspB10、速効型ヒトインスリン、NPH ヒトインスリンを比較対照、エストロゲンとプロゲステロンの併用を陽性対照とし、細胞増殖マーカーとして PCNA、Ki-67 に加えて Bromodeoxyuridine (BrdU) 染色を行い、LI が算出された。本薬は雌性ラットの乳腺細胞に対し細胞増殖作用を有することが確認され、その作用はヒトインスリンと同程度であった。

(5) 生殖毒性試験

ラット受胎能及び胚・胎児発生に関する試験、ウサギ胚・胎児発生に関する試験、ラット出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験が、いずれも皮下投与で行われた。これらの試験で、本薬又はヒトインスリン投与により、血糖降下が認められている。

1) ラット受胎能及び胚・胎児発生に関する試験 (4.2.3.5.1: ██████0122)

0、30、150、300 nmol/kg/day、陽性対照 (NPH ヒトインスリン 75nmol/kg/day) 投与したところ、親動物において、陽性対照群の雌 2/24 例が低血糖により死亡した。胎児において 150 nmol/kg/day 以上の群で小眼・小眼球症が認められ、陽性対照でも同様の所見が認められたことから、母動物の低血糖による二次的影響と考えられた。無毒性量は雌雄親動物の一般毒性及び生殖能に関する無毒性量は 300 nmol/kg/day、胎児の無毒性量は 30 nmol/kg/day と判断された。

2) ウサギ胚・胎児発生に関する試験 (4.2.3.5.2.2: ██████0301)

0、225、450、900 nmol/kg/day、陽性対照 (NPH ヒトインスリン 30 nmol/kg/day) 投与したと

ころ、900 nmol/kg/day 群の母動物 5/24 例、陽性対照群の母動物 1/24 例が低血糖により死亡した。450 nmol/kg/day 以上の群の母動物で妊娠 6～19 日の体重増加量の増加、妊娠 19～22 日の摂餌量の減少が、225 nmol/kg/day 以上の群の母動物で妊娠 14～18 日の摂餌量の増加が認められた。また、225 nmol/kg/day 以上の群の胎児で着床後死亡数の増加、早期胚・胎児死亡の増加、骨格変異、内臓異常（胆嚢の形態異常）が、900 nmol/kg/day 群の胎児で生存胎児数の減少、同腹児重量の減少、内臓異常（胆嚢の小型化）が認められ、これらの所見は、陽性対照でも同様に認められており、母動物の低血糖による二次的影響と考えられた。無毒性量は母動物の一般毒性 450 nmol/kg/day、生殖能 225 nmol/kg/day 未満、胎児 225 nmol/kg/day 未満と判断された。

3) ラット出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験 (4.2.3.5.3: 0123)

0、30、150、300 nmol/kg/day、陽性対照 (NPH ヒトインスリン 75 nmol/kg/day) 投与したところ、150 nmol/kg/day 群の 2/24 例、300 nmol/kg/day 群及び陽性対照群の各 5/24 例が低血糖により死亡又は切迫殺された。30 nmol/kg/day 以上の群及び陽性対照群で母動物の哺育期間中の体重増加量の減少、摂餌量の増加が認められた。その他には母動物、出生児 F₁、F₂ とも投与に関連した所見は認められなかった。母動物での摂餌量の増加、体重増加量の減少は本薬の薬理作用によるものと考えられることから、無毒性量は母動物の一般毒性について 30 nmol/kg/day、生殖能 300 nmol/kg/day、出生児 300 nmol/kg/day と判断された。

(6) 局所刺激性試験 (4.2.3.6.1, 2: 0106、0162)

1,200 及び 2,400 nmol/mL 製剤の皮下投与時の局所反応について、ブタを用いて NPH ヒトインスリン及び生理食塩水と病理組織学的に比較・検討された。両製剤ともに投与部位で認められた変化は生理食塩水と差はなく、NPH ヒトインスリンによる反応よりもおおむね軽度であった。また、1,200 及び 2,400nmol/mL 製剤の比較で差は認められなかった。以上のことから、臨床使用時に NPH ヒトインスリン以上に問題となる可能性は低いと考えられた。

(7) 免疫毒性試験 (4.2.3.7.1: 0479)

ウサギにおける本薬の免疫原性検討試験が実施され、本薬の免疫原性はウシインスリン及びブタインスリンを超えるものではないと考えられた。ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験における採血試料の抗デテミル抗体を測定したところ、抗体産生がデテミルの体内曝露に及ぼす影響はほとんどないものと考えられた。

(8) 不純物に関する検討 (4.2.3.7.6: 0163)

製造から 15 カ月間 2～8℃で保管した本薬及び 12 カ月間 2～8℃で保管した後、さらに 3 カ月間 37℃で劣化させた長期保存品を用い、ラット 4 週間反復皮下投与試験を実施したところ、長期保存品投与群と本薬投与群の所見に差は認められず、使用期限内に生じる不純物に毒性物質は含まれていないものと考えられた。

<審査の概略>

(1) がん原性について

機構は、本薬のがん原性の評価に用いられた *in vitro* 試験の妥当性について説明を求めた。

申請者は、以下のように回答した。ヒトインスリンは弱い細胞増殖誘発作用を有するが、インスリンアナログは構造的な変化により作用が亢進する可能性があり、そのメカニズムとして IGF-1 受容体親和性の増強やインスリン受容体-リガンド複合体の半減期、すなわちインスリンシグナル持続時間が関与していると考えられる。また、一般的に細胞増殖誘発作用の亢進が発がん性の増大を来すと考えられることから、インスリン及びインスリンアナログ評価に汎用されている細胞株を用いて細胞増殖誘発能試験を実施した。

機構は、インスリン受容体及び IGF-1 受容体の他に、インスリンアナログの細胞増殖作用への関与が疑われる受容体について説明を求めた。

申請者は、以下のように回答した。インスリン受容体と IGF-1 受容体の両者とも、最も多く報告されているのはホモダイマー受容体であるが、両者のハイブリッド受容体も細胞表面に存在している。このハイブリッド受容体は IGF-1 受容体と類似する結合特性を有しており、インスリンよりも IGF-1 に反応することが示されていることから、インスリンアナログによる細胞増殖への関与は限定的なものとする。また、IGF-2 は構造的にインスリン及び IGF-1 と類似しているが、IGF-2 受容体は IGF-1 受容体又はインスリン受容体と構造的に類似性を示さず、さらにインスリンと結合しないことから、インスリンのシグナル伝達には関与していないと考える。

機構は、本薬のがん原性の評価に用いた *in vivo* 試験において、乳腺及び肝臓のみについて細胞増殖活性を検討したことの妥当性について説明を求めた。

申請者は、以下のように回答した。インスリン受容体及び IGF-1 受容体は全身の臓器／組織に普遍的に発現し、心臓、筋肉、脂肪、腎臓、脳、肺、脾臓、肝臓などの組織では著明なインスリン及び IGF-1 のリガンド結合が認められている。インスリン受容体及び IGF-1 受容体は乳腺上皮でも発現し、インスリン及び IGF-1 は乳腺の発達及び機能に重要な役割を果たしている。本薬はヒトインスリンと同様にインスリン受容体及び IGF-1 受容体以外の受容体には結合しないことから、がん原性の評価にあたってはインスリン受容体又は IGF-1 受容体への刺激に感受性を示すと考えられる組織を選択する必要がある。乳腺については、当該試験に供した SD ラットは乳腺腫瘍好発系であり、さらに同系統のラットを用いた IAspB10 等のインスリンアナログの長期反復投与試験で乳腺腫瘍発生頻度が増加することが示されている。また、ヒト乳がんにはインスリン及び IGF-1 の反応系が関与していると考えられ、ヒト乳がん組織でインスリン受容体又は IGF-1 受容体が過剰発現することも明らかにされている。一方、肝臓は細胞あたりのインスリン受容体が非常に多い組織であり、インスリン受容体を介する増殖シグナルに感受性を示すと考えられる。細胞増殖マーカーを用いた *in vivo* 増殖活性試験で有用な結果を得るためには、最終的に細胞増殖を起こす傾向のある組織を選択することが重要であり、乳腺及び肝臓はこれに相当すると考える。

機構は、Retrospective 試験のラット 26 週間反復投与毒性試験における細胞増殖活性化の検討 (■1305 試験) において、PCNA 陽性細胞数が極めて高値を示す個体が認められたことにつ

いて、説明を求めた。

申請者は以下のように回答した。当該個体において、10 視野中の陽性細胞数から計算された半定量的スコアは、群平均と比べ 14 倍程度だったのに対し、同じ反復投与毒性試験の同じ個体のサンプルを計測した 3175 試験の 1000 細胞計測による LI では、PCNA は 3.3 倍、Ki-67 は 6.5 倍であった。群平均の 3~6 倍の高値が、通常の生物学的変動として起こりうるか否かを評価するため、溶媒対照群の最高値を示した動物の値を群平均と比較したところ、およそ 2~6 倍高値であった。このため、当該個体で認められた高値は、偶発的なものである可能性が考えられた。このような細胞増殖活性の高値が偶発的に生じた理由は不明であるが、当該個体は異常な発情休止期にあったことが明らかにされており、ホルモンバランスが不均衡な状態であった可能性が示唆される。

機構は、2 年間投与ががん原性試験の代替として、*in vivo* 及び *in vitro* での様々な検討がなされており、インスリン受容体及び IGF-1 受容体を介した本薬のがん原性について、ある程度の検討がなされていると考える。これらの検討結果から、本薬の細胞増殖活性はヒトインスリンと同程度であり、がん原性のリスクが既存のヒトインスリン製剤を超える可能性は低いと推察した申請者の見解は妥当と考える。

(2) 生殖毒性について

機構は、生殖発生毒性試験において、胎児に異常及び変異が認められたことを本薬の薬理作用による低血糖によるものと結論づけていることについて、本薬の直接的な影響は考えられないか、説明を求めた。

申請者は以下のように回答した。ラット受胎能及び胚・胎児発生に関する試験 (4.2.3.5.1: 0122) において小眼球症が、ウサギ胚・胎児発生に関する試験 (4.2.3.5.2.2: 0301) において胆嚢の形態異常、骨格変異が認められたが、同様の所見が NPH ヒトインスリン投与群でも認められていることから、本薬の直接的な影響ではなく、低血糖に関連するものと考えられた。

機構は、これらの所見が臨床投与で問題とならないか、申請者に説明を求めた。

申請者は以下のように回答した。妊娠中、周産期及び授乳期には、インスリンの需要量が変化しやすいため、厳格な血糖コントロールのため、慎重投与が要求される。このため、血糖が正常に管理される限りにおいて、本薬が NPH ヒトインスリン及び既存のインスリンアナログを超えるリスクを有する可能性は低いものとする。

機構は、これらの回答を了承した。なお、妊婦に対する投与については、厳格な血糖コントロールが必要であるとする (「4. 臨床に関する資料 (iii) 有効性及び安全性試験成績の概要」の項参照)。

4. 臨床に関する資料

(i) 生物薬剤学及び関連する分析法の概要

<提出された資料の概略>

BA に関する資料として海外で実施された 3 試験 (5.3.1.1.1~2: NN304-1451、NN304-1028、

5.3.1.2.3: NN304-1320) 及び含有濃度の異なる製剤間の生物学的同等性に関する資料として海外で実施された 2 試験 (5.3.1.2.1, 2: NN304-1055, NN304-1309) の結果が提出された。血漿及び血清中デテミル濃度は、デテミル特異的酵素免疫吸着測定法 (ELISA 法、定量下限: 25 pmol/L) を用いて遊離型とアルブミン結合型の総和として測定された。各種抗インスリン抗体 (デテミル特異抗体、インスリンアスパルト特異抗体、デテミルーインスリンアスパルト交叉抗体、ヒトインスリン特異抗体及びデテミルーヒトインスリン交叉抗体) はラジオイムノアッセイ (RIA) 法で測定された。臨床試験においては特に記載のない限り市販予定製剤である 2400 nmol/mL 製剤が使用され、1 単位 = 24 nmol として表されている。また、薬物動態パラメータは、特に記載のない限り平均値又は平均値±標準偏差で示されている。

(1) バイオアベイラビリティ (BA)

外国人健康成人 28 例 (薬物動態評価例数: 男性 12~13 例、女性 13~14 例) を対象として、本薬 0.5 単位/kg を腹部、大腿部又は上腕三角筋部に単回皮下投与、及び本薬 0.025 単位/kg を単回静脈内投与し、注射部位の相違による皮下投与後の吸収の程度及び本薬の BA を交叉比較法にて検討した。腹部、大腿部及び上腕三角筋部に単回皮下投与後の $AUC_{0-\infty}$ はそれぞれ 3.2 ± 0.5 、 3.0 ± 0.5 及び 3.2 ± 0.5 nmol·min/mL であり、大腿部への投与後では腹部及び上腕三角筋部と比較して有意に低かった。一方、静脈内投与後の $AUC_{0-\infty}$ は 0.2 ± 0.04 nmol·min/mL であった。 $AUC_{0-\infty}$ から算出した腹部、大腿部及び上腕三角筋部への投与後の BA はそれぞれ 64、59 及び 65 % であった (5.3.1.1.2: NN304-1451 (参考))。

外国人健康成人 16 例 (薬物動態評価例数: 男性 12 例、女性 4 例) を対象として、本薬 0.375 単位/kg を単回皮下投与 (大腿部) 及び単回筋肉内投与 (大腿部)、並びに本薬 0.025 単位/kg を単回静脈内投与し、本薬の BA を交叉比較法にて検討した。皮下投与、筋肉内投与及び静脈内投与後の $AUC_{0-\infty}$ はそれぞれ 2.1 ± 0.4 、 2.3 ± 0.4 及び 0.1 ± 0.04 nmol·min/mL であり、 $AUC_{0-\infty}$ から算出した皮下投与後の BA は 64 % であった。筋肉内投与後では皮下投与後と比較して吸収が速やかで、BA もより高かった。(5.3.1.2.3: NN304-1320 (参考))。

外国人健康成人男性 19 例 (薬物動態評価例数: 15~16 例) を対象として、本薬 600 nmol/mL 製剤 0.05 単位/kg (1.2 nmol/kg) を単回皮下投与 (腹部) 及び本薬 0.0025 (0.06 nmol/kg) 単位/kg を単回静脈内投与し、本薬の BA を交叉比較法にて検討した。皮下投与及び静脈内投与後の $AUC_{0-\infty}$ はそれぞれ 0.3 ± 0.08 及び 0.02 ± 0.005 nmol·min/mL であり、 $AUC_{0-\infty}$ から算出した皮下投与後の BA (両投与経路の成績を有し、かつ外れ値 1 例を除いた 14 例の成績による) は 72 % であった (5.3.1.1.1: NN304-1028 (参考))。

(2) 生物学的同等性

提示された海外の生物学的同等性試験は米国及び欧州の生物学的同等性試験ガイドラインに準拠しており、日本のガイドラインにおける同等性基準を必ずしも満たしていない。また、製剤中のインスリン濃度上昇に伴い、吸収速度が遅延し C_{max} が低下することから、生物学的同等性は AUC のみで評価されている。

外国人健康成人男性 16 例 (薬物動態評価例数: 男性 7 例、女性 8 例) を対象として、本薬 600

nmol/mL 製剤 0.05 単位/kg (1.2 nmol/kg) 及び 1,200 nmol/mL 製剤 0.1 単位/kg (2.4 nmol/kg) を単回皮下投与 (大腿部) し、両製剤の生物学的同等性を交叉比較法にて検討した。600 nmol/mL 製剤及び 1,200 nmol/mL 製剤投与後の $AUC_{0-\infty}$ (投与量補正) はそれぞれ 328 ± 52 及び 315 ± 50 kg·min/L であり、両製剤の比 (1,200 nmol/mL 製剤/600 nmol/mL 製剤) と 90 %信頼区間は、0.96 [0.91, 1.01] と同等性基準の範囲内であった。一方、 C_{max} (投与量補正) の比と 90 %信頼区間は、0.81 [0.68, 0.97] と同等性基準の範囲外であった (5.3.1.2.1: NN304-1055 (参考))。

外国人健康成人男性 24 例 (薬物動態評価例数: 男性 12 例、女性 12 例) を対象として、本薬 1,200 nmol/mL 製剤 0.375 単位/kg (9 nmol/kg) 並びに 2,400 nmol/mL 製剤 0.375 及び 0.75 単位/kg (9 及び 18 nmol/kg) を単回皮下投与 (大腿部) し、両製剤の生物学的同等性を交叉比較法にて検討した。同モル用量 (9 nmol/kg) の 1,200 nmol/mL 製剤及び 2,400 nmol/mL 製剤投与後の $AUC_{0-\infty}$ はそれぞれ 2.6 ± 0.5 及び 2.6 ± 0.6 nmol·min/mL であり、両製剤の比 (2,400 nmol/mL 製剤/1,200 nmol/mL 製剤) と 90 %信頼区間は、1.00 [0.93, 1.07] と同等性基準の範囲内であった。一方、 C_{max} の比と 90 %信頼区間は、0.82 [0.72, 0.94] と同等性基準の範囲外であった。また、同容量 (投与液量) 1,200 nmol/mL 製剤及び 2,400 nmol/mL 製剤投与後の $AUC_{0-\infty}$ (投与量補正) はそれぞれ 287 ± 50 及び 275 ± 46 kg·min/L であり、両製剤の比と 90 %信頼区間は、0.96 [0.89, 1.03] と同等性基準の範囲内であった。 C_{max} (投与量補正) の比と 90 %信頼区間は 0.81、[0.71, 0.93] と同等性基準の範囲外であった (5.3.1.2.2: NN304-1309 (参考))。

なお、本申請データパッケージは、市販予定製剤である 2,400 nmol/mL 製剤を使用した 7 試験が主要な評価試料として構成されており、製剤間の生物学的同等性が本薬の評価に大きく影響することはないと考えられている。

(ii) 臨床薬理の概要

<提出された資料の概略>

評価資料として、海外で日本人を含む健康成人を対象に実施された第 I 相試験 3 試験 (5.3.3.1.3: NN304-1340、5.3.4.1.1, 2: NN304-1410、NN304-1438) 及び日本で 1 型糖尿病患者を対象に実施された第 I 相試験 1 試験 (5.3.4.2.2: NN304-1475) の結果が提出された。また、日本で 600 nmol/mL 製剤を用いて実施された第 I 相試験 2 試験 (5.3.3.1.1: NN304/DCD/003/J、5.3.3.1.2: NN304/DCD/007/J) の結果が提出された。その他、ヒト生体試料を用いた *in vitro* 試験も提出された。参考資料として、海外の糖尿病患者を対象に実施された臨床薬理試験 (5.3.4.2.5: NN304-1338、5.3.4.2.3: NN304-1446、5.3.4.2.6: NN304-1538)、特別な集団に関する試験 (5.3.2.1.4: NN304-1481、5.3.3.3.1~4: NN304-1135、NN304-1136、NN304-1154、NN304-1222) などが提出された。薬物動態パラメータは、特に記載のない限り平均値又は平均値±標準偏差で示されている。

(1) ヒト生体試料における試験成績

外国人健康成人 (男女各 2 例) から得た血漿に本薬 (125 I 標識体) 60~60,000 pmol/L を添加し、*in vitro* における血漿タンパク結合率を平衡透析法にて測定したとき、結合率は男性で 98.4~99.3 % 及び女性で 97.7~99.3 % であった (5.3.2.1.5: XXXXXXXXXX0174)。

HSA (50 mg/mL) 及び α_1 -糖タンパク (1 mg/mL) に本薬 (^{125}I 標識体) 2.4 nmol/L を添加し、*in vitro* における血漿タンパク結合率を平衡透析法にて測定したとき、結合率は血清アルブミンで 99.0 ± 0.3 及び α_1 -糖タンパクで $44.7 \pm 2.5\%$ であったことから、血漿中では主にアルブミンと結合していると考えられている (5.3.2.1.6: ■■■1090)。

外国人健康成人 (男女各 2 例) から得た血漿及び全血に本薬 2,400 pmol/L 又はヒトインスリン 600 pmol/L を添加し、*in vitro* における赤血球結合率を測定したとき、結合率は本薬で 17 ± 10 及びヒトインスリンで $15 \pm 14\%$ と同程度であった。また、血漿中及び全血中における安定性を比較したとき、血漿中においては、培養開始時に対する 7 時間後の未変化体率は本薬で $66 \pm 7\%$ 及びヒトインスリンで $93 \pm 15\%$ 、同様に、全血中においては、本薬で $82 \pm 18\%$ 及びヒトインスリンで $73 \pm 4\%$ であった (5.3.2.3.1: ■■■1334)。

外国人健康成人 (男女各 2 例) から得た血漿に本薬 (^{125}I 標識体) 600 pmol/L を添加し、*in vitro* における血漿タンパク結合に対する高血漿タンパク結合性薬物の影響について検討した。ワルファリン (10 $\mu\text{g/mL}$)、フロセミド (0.2 $\mu\text{g/mL}$)、トルブタミド (100 $\mu\text{g/mL}$)、ジアゼパム (1 $\mu\text{g/mL}$)、グリベンクラミド (1 $\mu\text{g/mL}$)、ニカルジピン (0.35 $\mu\text{g/mL}$)、レパグリニド (1 $\mu\text{g/mL}$)、アセチルサリチル酸 (1 $\mu\text{g/mL}$) 及びバルプロ酸 (0.2 $\mu\text{g/mL}$) のいずれの薬物添加後も本薬の血漿タンパク結合に有意な影響はみられなかった (5.3.2.1.7: ■■■0260)。

外国人健康成人 (男女各 2 例) から得た血漿に本薬 (^{125}I 標識体) 600 pmol/L を添加し、*in vitro* における血漿タンパク結合に対するミスチリン酸及びパルミチン酸 (0.29 mmol/L、試料中総非エステル化脂肪酸濃度 < 0.4 mmol/L) の影響について検討したとき、いずれも本薬の血漿タンパク結合に有意な影響はみられず、ミスチリン酸及びパルミチン酸による競合的な阻害は認められなかった (5.3.2.1.8: ■■■0175)。

初代培養ヒト肝細胞に本薬 (^{14}C 標識体) 1 又は 10 $\mu\text{mol/L}$ を添加し、4 及び 24 時間培養後の代謝物について検討した。24 時間培養後においても未変化体の割合は約 90% であり、代謝物濃度の割合は非常に低かった (5.3.2.3.2: ■■■0056)。

ヒト肝細胞に本薬又はヒトインスリン 0.01~1,000 nmol/L を添加し、72 時間培養後の CYP2E1 活性について検討した。本薬及びヒトインスリンともに濃度依存的に CYP2E1 活性を抑制したが、ヒトインスリンの方がより低濃度で活性を低下させた (5.3.2.2: ■■■4124)。

(2) 健康成人における検討

1) 市販予定製剤を用いた検討

日本人健康成人 20 例及び外国人健康成人 16 例 (薬物動態評価例数: 日本人男性 10~11 例、女性 5~8 例、外国人男性 11~12 例、女性 4 例) を対象として、本薬 0.1875、0.375 及び 0.75 単位/kg を単回皮下投与 (大腿部) し、薬物動態を漸増法にて検討した。AUC_{0-30h} は、日本人ではそれぞれの用量で 1.0、2.2 及び 4.4 nmol・min/mL、外国人では 1.0、2.5 及び 4.8 nmol・min/mL であり、いずれの人種においても投与量と AUC_{0-30h} の間に線形性がみられた。また C_{max} は、日本人ではそれぞれ 1.9、3.4 及び 6.2 pmol/mL、外国人では 2.0、4.6 及び 7.1 pmol/mL であった。t_{max} は、日本人では 4.5~6.9 時間、外国人では 5.4~6.2 時間であり、いずれの人種でも投与量の増加に伴って延長した。t_{1/2} は、日本人では 6.0~7.0 時間、外国人では 5.4~6.1 時間であった

(5.3.3.1.3: NN304-1340)。

日本人健康成人及び外国人健康成人それぞれ 14 例（薬物動態評価例数：日本人及び外国人男女各 7 例）を対象として、本薬 0.375 単位/kg (9 nmol/kg) 及び NPH ヒトインスリン (NPH) 0.3 単位/kg (1.8 nmol/kg) を単回皮下投与（大腿部）し、薬力学的作用及び薬物動態を交叉比較法にて検討した。本薬投与後の AUC_{0-32h} は、日本人及び外国人でそれぞれ 2.5 及び 2.0 nmol・min/mL、 C_{max} はそれぞれ 3.7 及び 2.8 pmol/mL であり、いずれのパラメータも日本人で有意に高値であった。 t_{max} は日本人及び外国人ともに 6.4 時間、 $t_{1/2}$ （調和平均）はそれぞれ 5.0 及び 6.2 時間であった。一方、NPH 投与後では、日本人と外国人の薬物動態に違いは認められなかった。また、24 時間グルコースクランプの GIR 推移をもとに血糖降下作用を評価しところ、本薬投与後及び NPH 投与後ともに、GIR は日本人の方が外国人よりやや高値で推移したが、 $AUC_{GIR, 0-24h}$ に有意差は認められなかった (5.3.4.1.1: NN304-1410)。

日本人健康成人 40 例（薬物動態評価例数：本薬男性 11 例、女性 9 例、インスリングラルギン男性 14 例、女性 6 例）を対象として、本薬 0.4 単位/kg (9.6 nmol/kg) 及びインスリングラルギン 0.4 単位/kg (2.4 nmol/kg) を休薬期間をにおいて計 4 回皮下投与（大腿部）し、薬力学的作用及び薬物動態プロファイルの被験者内変動及び被験者間変動を並行群間にて検討した。 AUC_{0-24h} の被験者内の変動係数は本薬及びインスリングラルギンでそれぞれ 12 及び 111 %、 C_{max} の被験者内の変動係数はそれぞれ 13 及び 99 %であった。一方、 AUC_{0-24h} の被験者間の変動係数は本薬及びインスリングラルギンでそれぞれ 17 及び 70 %、 C_{max} の被験者間の変動係数はそれぞれ 16 及び 50 %であった。いずれのパラメータも被験者内及び被験者間の変動係数は本薬投与後で有意に低値であった。なお、本試験では、血漿中インスリングラルギン濃度がすべて又は一部の測定日において定量下限値未満で推移した事例もみられており、これらが解析結果に影響していると推察されている。また、24 時間グルコースクランプにて得た GIR 推移は、本薬及びインスリングラルギン投与でほぼ同様であった。GIR 推移より算出した GIR_{max} 、 $AUC_{GIR, 0-12h}$ 及び $AUC_{GIR, 0-24h}$ について、被験者内及び被験者間の変動係数を比較したところ、本薬投与による変動係数は、インスリングラルギンと同様又は小さい傾向にあったが、いずれも有意差は認められなかった (5.3.4.1.2: NN304-1438)。

2) 600 nmol/mL 製剤を用いた検討

日本人健康成人男性（目標症例数 12 例、薬物動態評価例数：各群 6 例）を対象に、本薬 600 nmol/mL 製剤の安全性、薬物動態及び薬理作用を検討するために、無作為化非盲検単回投与試験が実施された。用法・用量は、絶食時に A 群（本薬 0.0125 及び 0.05 単位/kg : 0.3 及び 1.2 nmol/kg）、B 群（本薬 0.025 及び 0.1 単位/kg : 0.6 及び 2.4 nmol/kg）を順次、2 週間以上の休薬期間をにおいて増量し、単回皮下投与と設定された。 AUC_{0-24h} は、本薬 0.0125、0.025、0.05 及び 0.1 単位/kg それぞれの用量で 1.8 ± 0.2 、 3.6 ± 0.6 、 6.7 ± 0.9 及び 12.8 ± 1.3 pmol・hr/mL、 C_{max} はそれぞれ 0.3 ± 0.1 、 0.5 ± 0.1 、 0.8 ± 0.3 及び 1.5 ± 0.1 pmol/mL であり、投与量と AUC_{0-24h} 及び C_{max} の間に線形性がみられた。また、 t_{max} はそれぞれ 3.3 ± 0.7 、 2.8 ± 0.7 、 4.1 ± 1.0 及び 4.0 ± 0.6 時間、 $t_{1/2}$ はそれぞれ 3.0 ± 0.5 、 3.2 ± 0.7 、 3.7 ± 0.7 及び 3.8 ± 0.5 時間であった (5.3.3.1.1: NN304/DCD/003/J)。

日本人健康成人男性（目標症例数 18 例）を対象に、本薬（600 nmol/mL 製剤）の薬物動態、安全性及び薬理作用を検討するため、プラセボ対照単盲検試験が実施された。用量・用法は、2

Step [各 9 例 (本薬群 6 例、プラセボ群 3 例)] に分け、Step 1 (本薬 0.05 単位/kg 又はプラセボ)、Step 2 (本薬 0.1 単位/kg 又はプラセボ) を 1 日 1 回、5 日間反復皮下投与 (投与第 1 日目と第 5 日目は絶食下で投与) と設定された。0.05 単位/kg/日投与後の AUC_{0-24h} は 1 及び 5 日目でそれぞれ 7.3 ± 1.1 及び 8.1 ± 1.1 pmol·hr/mL、0.1 単位/kg/日投与後ではそれぞれ 14.2 ± 1.4 及び 15.4 ± 1.6 pmol·hr/mL であった。また、0.05 単位/kg/日投与後の C_{max} は 1 及び 5 日目でそれぞれ 0.9 ± 0.2 及び 1.1 ± 0.3 pmol/mL、0.1 単位/kg/日投与後ではそれぞれ 1.8 ± 0.1 及び 2.0 ± 0.3 pmol/mL であった。 AUC_{0-24h} 及び C_{max} は投与量に伴って増加した。 AUC の比 (5 日目 AUC_{0-24h} /1 日目 $AUC_{0-\infty}$) を用いて反復投与による本薬の蓄積性について検討したとき、投与群 (0.05 及び 0.1 単位/kg/日) 並びに投与日 (1 及び 5 日目) の交互作用を含めた解析では 0.1 単位/kg/日投与時に蓄積性が認められたものの、群の交互作用を含めない追加解析及び本薬のトラフ濃度からは蓄積性は認められなかった。0.05 単位/kg/日投与後の t_{max} は 1 及び 5 日目でそれぞれ 3.1 ± 0.5 及び 3.7 ± 0.8 時間、0.1 単位/kg/日投与後ではそれぞれ 3.6 ± 0.9 及び 3.2 ± 0.9 時間であった。0.05 単位/kg/日投与後の $t_{1/2}$ は 1 及び 5 日目でそれぞれ 4.6 ± 1.2 及び 4.0 ± 0.6 時間、0.1 単位/kg/日投与後ではそれぞれ 3.9 ± 0.5 及び 3.5 ± 0.5 時間であった (5.3.3.1.2: NN304/DCD/007/J)。

(3) 患者における検討

日本人成人 1 型糖尿病患者 24 例 (薬物動態評価例数: 男性 9 例、女性 14 例) を対象に、本薬 (2400 nmol/mL 製剤) と NPH の薬力学的作用及び薬物動態を検討するために、無作為化非盲検 2×2 期交叉比較試験が実施された。用法・用量は、本薬 0.3 単位/kg (7.2 nmol/kg) 又は NPH (600 nmol/mL 製剤) 0.3 単位/kg (1.8 nmol/kg) を 4~28 日間の休薬期間において、腹部に単回皮下投与とすると設定された。本剤投与後の $AUC_{0-\infty}$ は 2.3 ± 0.4 nmol·min/mL、 C_{max} は 3.3 ± 0.8 pmol/mL、 t_{max} は 5.2 ± 1.5 時間、 $t_{1/2}$ は 5.4 ± 1.4 時間であった。NPH 投与後の C_{max} は 0.2 ± 0.1 pmol/mL、 t_{max} は 2.1 ± 1.3 時間、 $t_{1/2}$ は 9.1 ± 5.3 時間であった。NPH に関するその他のパラメータについては未計画又は評価困難であった。本薬投与後では NPH と比較して t_{max} は延長し、変動係数 (CV %) で評価した薬物動態パラメータの被験者間変動は本薬投与後の方が小さかった。薬力学的作用の検討として、24 時間グルコースクランプの GIR 推移をもとに血糖降下作用を評価したところ、同用量の本薬及び NPH 投与時の $AUC_{GIR, 0-24h}$ (1247 及び 1129 mg/kg) 及び GIR_{max} (2.1 及び 2.0 mg/kg/min) はほぼ同じ値を示したが、 t_{GIRmax} は本薬 (中央値 410 min) 投与後の方が NPH (同 175 min) より有意に長かった。また、血糖降下作用プロファイルを示す指標として、本薬又は NPH 投与後の $AUC_{GIR, 0-5h}/AUC_{GIR, 0-24h}$ の比 (本薬/NPH) を評価したところ、比の推定値と 95% C.I. は 0.760 [0.622; 0.927] であり、本薬投与後の $AUC_{GIR, 0-5h}/AUC_{GIR, 0-24h}$ は NPH より有意に小さかった (5.3.4.2.2: NN304-1475)。

外国人成人 1 型糖尿病患者 12 例 (薬物動態評価例数: 本薬男性 7 例、女性 5 例、NPH 男性 7 例、女性 4 例) を対象に、本薬 0.1、0.2、0.4、0.8 及び 1.6 単位/kg、並びに NPH 0.3 単位/kg (1.8 nmol/kg) が単回皮下投与 (大腿部) され、薬物動態及び薬力学的作用が交叉比較法にて検討された。本薬投与後の $AUC_{0-\infty}$ はそれぞれの用量で 1.2 ± 1.1 、 1.7 ± 0.9 、 3.7 ± 1.8 、 6.7 ± 2.7 及び 14.2 ± 6.2 nmol·min/mL、 C_{max} はそれぞれ 1.4 ± 0.9 、 2.9 ± 1.9 、 4.4 ± 1.8 、 7.3 ± 2.8 及び 16.5 ± 9.3 pmol/mL であり、投与量と $AUC_{0-\infty}$ 及び C_{max} の間に線形性がみられた。 t_{max} は 5.1 ± 2.1 、 6.1 ± 2.6 、 6.8 ± 1.3 、

6.9 ± 1.8 及び 6.2 ± 1.8 時間であった。t_{1/2} は 7.8 ± 8.9、5.5 ± 2.4、6.2 ± 2.1、6.8 ± 2.3 及び 10.4 ± 9.6 時間であった。一方、NPH 投与後の AUC_{0-∞} は 0.2 ± 0.3 nmol・min/mL、C_{max} は 0.2 ± 0.2 pmol/mL、t_{max} は 5.5 ± 4.8 時間であった。また、薬力学的作用の検討として、24 時間グルコースクランプの GIR 推移をもとに血糖降下作用を評価したところ、0.1～1.6 単位/kg の本薬投与による AUC_{GIR, 0-24h} 及び GIR_{max} は用量に伴い上昇した (5.3.4.2.5: NN304-1338 (参考))。

外国人成人 1 型糖尿病患者 25 例 (薬物動態評価例数: 男性 18 例、女性 5～6 例) を対象に、被験者ごとに決定した本薬の固定用量 (中央値 0.37 単位/kg/日、最小 0.18～最大 0.6 単位/kg/日) を 1 日 2 回 (半量ずつ) 7～14 日間反復皮下投与 (大腿部) され、反復投与時の薬力学的作用及び薬物動態が検討された。初回投与日の AUC_{0-12h} 及び AUC_{12-24h} はそれぞれ 0.8 ± 0.3 及び 1.2 ± 0.6 nmol・min/mL、定常状態の AUC_{0-12h} 及び AUC_{12-24h} はそれぞれ 1.2 ± 0.6 及び 1.2 ± 0.7 nmol・min/mL であった。また、初回投与日の 1 及び 2 回目投与後のトラフ値はそれぞれ 0.9 ± 0.5 及び 1.3 ± 0.8 pmol/mL、定常状態の 1 及び 2 回目後のトラフ値はそれぞれ 1.2 ± 1.0 及び 1.3 ± 0.9 pmol/mL であった。これらの結果から本薬は初回投与日の 2 回目投与以後には定常状態に達し、反復投与による蓄積性はないものと考えられている。また、初回投与日及び反復投与最終日に、24 時間グルコースクランプの GIR 推移をもとに血糖降下作用を評価したところ、初回投与日の GIR は、1 回目及び 2 回目の本薬投与を経て経時的に上昇し、2 回目の投与後 12 時間付近では定常状態の GIR と同程度に達した (5.3.4.2.3: NN304-1446 (参考))。

外国人成人 2 型糖尿病患者 15 例 (薬物動態評価例数: 男性 12 例、女性 3 例、各用量 7～8 例) を対象に、本薬 0.2、0.4、0.8 及び 1.6 単位/kg、並びに NPH 0.2、0.4、0.8 及び 1.6 単位/kg (1.2～9.6 nmol/kg) が単回皮下投与 (大腿部) され (各被験者に対し、本薬及び NPH を 2 用量ずつ投与)、薬物動態を交叉比較法にて検討された。本薬投与後の AUC_{0-24h} はそれぞれの用量で 1.1 ± 0.2、2.5 ± 0.5、5.4 ± 0.6 及び 10.4 ± 2.0 nmol・min/mL、C_{max} はそれぞれ 1.5 ± 0.6、2.7 ± 0.6、5.8 ± 0.9 及び 11.6 ± 3.1 pmol/mL であり、投与量と AUC_{0-24h} 及び C_{max} の間に線形性がみられた。t_{max} は 6.6 ± 2.5、8.0 ± 2.7、8.2 ± 2.8 及び 8.3 ± 2.1 時間、t_{1/2} は 11.2 ± 5.0、9.4 ± 6.7、13.1 ± 7.2 及び 15.7 ± 11.1 時間であった。一方、NPH 投与後の AUC_{0-24h} はそれぞれの用量で 0.1 ± 0.1、0.3 ± 0.1、0.3 ± 0.1 及び 0.5 ± 0.2 nmol・min/mL、C_{max} はそれぞれ 0.1 ± 0.1、0.3 ± 0.1、0.3 ± 0.1 及び 0.5 ± 0.2 pmol/mL であり、NPH 投与後では投与量と AUC_{0-24h} 及び C_{max} の間に線形性はみられなかった。t_{max} は 3.6 ± 3.2、7.8 ± 4.2、7.6 ± 6.1 及び 8.9 ± 4.2 であった (5.3.4.2.6: NN304-1538 (参考))。

(4) 特別な集団における検討

外国人の腎機能障害を有する成人男性 22 例及び健康成人男性 6 例 (薬物動態評価例数: 各群 4～6 例) を対象に、本薬 600 nmol/mL 製剤 0.05 単位/kg (1.2 nmol/kg) が単回 (要透析群は 2 回) 皮下投与 (腹部) され、腎機能障害の薬物動態への影響について検討された。腎機能障害の程度はクレアチンクリアランス (CL_{cr}) に基づき、正常群 (CL_{cr} > 80 mL/min)、軽度群 (CL_{cr} 51～80 mL/min)、中等度群 (CL_{cr} 30～50 mL/min)、重度群 (CL_{cr} < 30 mL/min) 及び要透析群に分けられた。正常群の軽度群、中等度群、重度群及び要透析群 (非透析中評価) に対する AUC_{0-∞} (幾何平均) の比はそれぞれ 0.92、1.09、1.05 及び 0.92 であり、他のパラメータ (C_{max}、t_{max}、t_{1/2}、MRT) を含め、本薬の薬物動態に対する腎機能障害の影響はなかったとされている。また、

要透析群の透析中の評価では、動脈血中と静脈血中の本薬濃度に差がないことから、透析による本薬の消失はほとんどなかったとされている (5.3.3.3.1: NN304-1135 (参考))。

外国人の肝機能障害を有する成人男性 18 例及び健康成人男性 6 例 (薬物動態評価例数: 各群 6 例) を対象に、本薬 600 nmol/mL 製剤 0.05 単位/kg (1.2 nmol/kg) が単回皮下投与 (腹部) され、肝機能障害の薬物動態への影響について検討された。肝機能障害の程度は Child Pugh 分類に基づき、正常群、軽度群 (Child Pugh A)、中等度群 (Child Pugh B) 及び重度群 (Child Pugh C) に分けられた。正常群の軽度群、中等度群及び重度群に対する $AUC_{0-\infty}$ (幾何平均) の比はそれぞれ 1.22、1.39 及び 1.58 であり、 $AUC_{0-\infty}$ は肝機能の悪化に伴い低下した。また、見かけのクリアランス (CL/F) は肝機能の悪化に伴い増加した。他のパラメータ (C_{max} 、 t_{max} 、 $t_{1/2}$ 、MRT) には群間に有意差は認められなかった (5.3.3.3.2: NN304-1136 (参考))。

外国人の若年 (18~40 歳) 12 例及び高齢健常者 (70 歳以上) 12 例 (薬物動態評価例数: 各群男女各 6 例) を対象に、本薬 600 nmol/mL 製剤 0.05 単位/kg (1.2 nmol/kg) が単回皮下投与 (大腿部) され、高齢者における薬物動態及び薬物動態の性差について検討された。高齢者における血清中濃度は、若年者と比較して高く推移した。この差は C_{max} 以降で大きく、特に、高齢女性で顕著であった。 $AUC_{0-\infty}$ に対する年齢と性別の交互作用を検討したとき、統計学的に有意であった (有意水準 10%)。高齢女性の $AUC_{0-\infty}$ は若年女性より 35% 高く、有意差が認められた。一方、高齢男性の $AUC_{0-\infty}$ は若年男性より 17% 高かったものの、有意差は認められなかった。なお、年齢別の比較では若年者及び高齢者ともに男女間の $AUC_{0-\infty}$ に有意差は認められなかった。高齢者では若年者と比較して C_{max} は高く、 t_{max} はやや延長したが有意ではなく、 $t_{1/2}$ 及び MRT を含めて、年齢別及び性別の比較において有意差は認められなかった (5.3.3.3.3: NN304-1154 (参考))

外国人小児 (6~12 歳) 13 例、青年 (13~17 歳) 10 例及び成人 1 型糖尿病患者 11 例 (薬物動態評価例数: 各群男性 4~6 例、女性 3~5 例) を対象に、本薬 0.5 単位/kg 及び NPH0.5 単位/kg (3 nmol/kg) が単回皮下投与 (大腿部) され、薬物動態における年齢の影響について検討された。本薬投与後において、小児及び青年の成人に対する $AUC_{0-\infty}$ (幾何平均) の比はそれぞれ 1.02 及び 0.89、 C_{max} (幾何平均) の比はそれぞれ 1.24 及び 1.02 であり有意差は認められなかった。その他、 $t_{1/2}$ 及び MRT は成人で長く、 t_{max} は小児で短かった。体重補正した CL/F に差はなかった。一方、NPH 投与後では、 AUC_{0-24h} 及び C_{max} は年齢の低い群ほど高値を示したものの、小児と成人間でのみ有意差が認められた。なお、 AUC_{0-24h} 及び C_{max} の被験者間の変動係数はすべての群で本薬の方が NPH より小さかった (5.3.3.3.4: NN304-1222 (参考))。

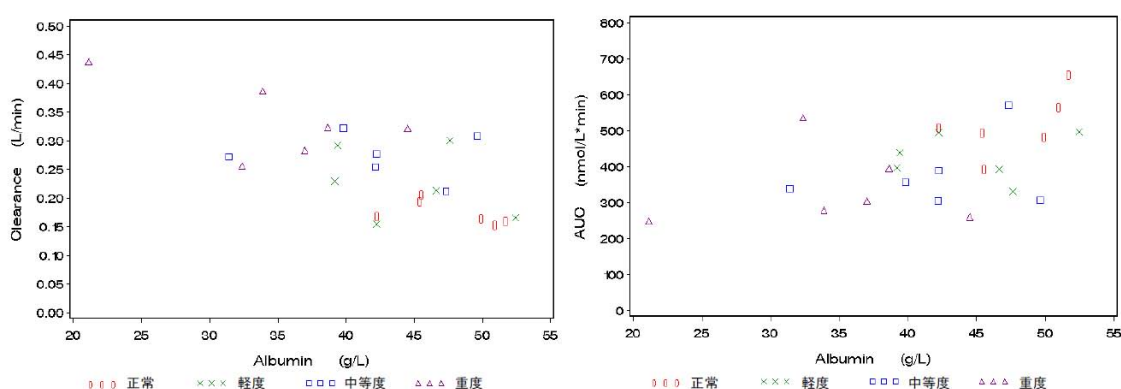
<審査の概略>

(1) アルブミン濃度の低下による薬物動態及び安全性への影響について

機構は、本薬が血中アルブミンと高率に結合することに関して、アルブミン濃度の低下による本薬の遊離体濃度の変化と安全性への影響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。血中デテミル濃度は全ての臨床試験において遊離型及び血漿タンパク結合型の総和として測定し、遊離型濃度を直接測定した試験はない。肝機能障害を有する成人男性及び健康成人男性を対象とした海外臨床試験 (5.3.3.3.2: NN304-1136 試験 (参

考))では、被験者のアルブミン値は約 20~55 g/L であり、この範囲においてアルブミン値の低下に伴い CL/F は有意に増加し (相関係数-0.425、 $p=0.011$)、 $AUC_{0-\infty}$ は有意に低下 (相関係数 0.399、 $p=0.026$) した (下図参照)。この原因として、低アルブミン値を示した被験者では、本薬が遊離型として存在する比率は高いが、遊離型は体内で速やかに代謝されるため、正常又は正常に近いアルブミン値を示す被験者と比べて CL/F が増加し、 $AUC_{0-\infty}$ が低下したものと推測している。しかしながら、一般的にアルブミン値が低値を示す代表的な病態としては、重篤な肝機能障害、重篤な腎機能障害及び大量の失血が考えられるが、重篤な肝機能障害や腎機能障害は通常緩徐に進行する病態であること、及び本薬は他のインスリン製剤と同様に、頻回に血糖値をモニタリングしつつ投与量を調節することから、アルブミン値の大幅な低下に伴う薬物動態の変化が、実際の臨床使用にあたり問題となる可能性は非常に低いと考えている。



機構は、海外の臨床試験成績、市販後の報告等において低アルブミン患者における安全性について説明を求めた。

申請者は、以下のように回答した。海外の検証的な臨床試験では、問題となる肝機能障害や腎機能障害を有する被験者は組み入れていないため、極端な低アルブミン値を示す患者に関するデータはない。また、市販後においても、極端な低アルブミン値を示す患者における有害事象の自発報告は受けていない。

機構は、本薬の遊離型濃度に関するデータやアルブミン濃度の量的及び時間的变化と総デテミル濃度との関係を示すデータがないため、アルブミンの遊離型濃度への影響について詳細に検討することはできないものとする。現在のところアルブミン濃度の低下に起因すると思われる安全性上の問題はみられていないと考えるが、肝臓又は腎臓に障害を有する患者等に使用する場合には慎重に投与するべきであり、製造販売後に情報を集積していく必要があるものとする。なお、「重篤な肝又は腎機能障害」及び「手術、外傷、感染症によりインスリン需要の変動が激しい患者」に対する投与については、添付文書の「使用上の注意」の項で注意喚起することとされている。

(iii) 有効性及び安全性試験成績の概要

<提出された資料の概要>

評価資料として、第 I 相試験 6 試験 (NN304-1340、NN304-1410、NN304-1438、NN304-1475、NN304/DCD/003/J、NN304/DCD/007/J)、第 III 相試験 3 試験 (NN304-1476、NN304-1477、NN304-

1604)の成績が提出された。また、参考資料として前期第Ⅱ相試験1試験、海外第Ⅰ相臨床薬理試験21試験、第Ⅲ相試験12試験及び長期試験1試験の合計34試験の成績が提出された。

(1) 第Ⅰ相試験

1) 健康成人(日本人)対象単回投与試験(5.3.3.1.1: NN304/DCD/003/J<1996年8月~10月>)

日本人健康成人男性(目標症例数12例、各群6例)を対象に、本薬(600 nmol/mL製剤)の安全性、薬物動態及び薬理作用を検討するために、無作為化非盲検単回投与試験が実施された。用法・用量は、絶食時にA群(本薬0.0125及び0.05単位/kg)、B群(本薬0.025及び0.1単位/kg)を順次、2週間以上の休薬期間をおいて増量し、単回皮下投与と設定された(薬物動態は「(ii)臨床薬理の概要」の項参照)。

総投与症例数12例(延べ24例)全例が安全性解析対象であり、全例が本試験を完了した。

有害事象(臨床検査値異常変動を含む)は、0.1単位/kg群1例に頭痛が認められ、因果関係は「多分関連あり」とされたが、軽度で処置を要することなく自然に消失している。その他、バイタルサイン及び臨床検査については、臨床的に問題となる所見は認められなかった。

以上より申請者は、本薬0.1単位/kgまでの用量を絶食下单回投与したときの安全性に問題は認められなかったと説明した。

2) 健康成人(日本人)対象反復投与試験(5.3.3.1.2: NN304/DCD/007/J<1997年2月~4月>)

日本人健康成人男性(目標症例数18例)を対象に、本薬(600 nmol/mL製剤)の薬物動態、安全性及び薬理作用を検討するため、プラセボ対照単盲検試験が実施された。用量・用法は、2 Step[各9例(本薬群6例、プラセボ群3例)]に分け、Step 1(本薬0.05単位/kg又はプラセボ)、Step 2(本薬0.1単位/kg又はプラセボ)を1日1回、5日間反復皮下投与(投与第1日目と第5日目は絶食下で投与)と設定された(薬物動態は「(ii)臨床薬理の概要」の項参照)。

総投与症例数18例全例が安全性解析対象であり、全例が本試験を完了した。

有害事象(臨床検査値異常変動を含む)は、認められなかった。その他、バイタルサイン及び臨床検査については、臨床的に問題となる所見は認められず、抗デテミル抗体は全例で陰性であった。

以上より申請者は、本薬0.05及び0.1単位/kgを5日間反復投与した時の安全性に問題は認められなかったと説明した。

3) 健康成人(日本人及びCaucasian)対象単回投与試験(5.3.3.1.3: NN304-1340<2001年5月~10月>)

米国において、健康成人(目標症例数30例、米国在住の日本人15例及びCaucasian 15例)を対象に、本薬(2,400 nmol/mL製剤)の薬物動態を検討するため、非盲検単回投与試験が実施された。用法・用量は、同一症例に本薬0.1875単位/kgから順に0.375及び0.75単位/kgを4日以上休薬期間をおいて、それぞれ大腿部に単回皮下投与すると設定された(薬物動態は「(ii)臨床薬理の概要」の項参照)。

総投与症例数36例（日本人20例及びCaucasian 16例）の全例が安全性評価対象であり、全例が本試験を完了した。

有害事象（臨床検査値異常変動を含む）は、日本人60.0%（12/20例）、Caucasian 87.5%（14/16例）に認められたが、死亡例及び重篤な有害事象は認められなかった。因果関係を否定できない有害事象（副作用）は、日本人2例（0.1875単位/kg群1例、0.75単位/kg群1例）、Caucasian 11例（0.1875単位/kg群7例、0.375単位/kg群7例及び0.75単位/kg群5例）に認められ、主な（3例以上）事象は、頭痛10例（日本人1例、Caucasian 9例）、めまい8例（日本人1例、Caucasian 7例）、振戦3例（日本人1例、Caucasian 2例）であった。

低血糖症状は、日本人7例20件（0.1875単位/kg群1例1件、0.375単位/kg群2例3件及び0.75単位/kg群6例16件）、Caucasian 11例49件（0.1875単位/kg群3例6件、0.375単位/kg群7例13件及び0.75単位/kg群9例30件）に認められ、日本人よりもCaucasianで多く、また用量増加に伴い発現頻度は増加した。その他、バイタルサイン、心電図及び臨床検査値については、臨床的に問題となる所見は認められなかった。

以上より申請者は、本薬0.1875～0.75単位/kgは良好な忍容性を示したと説明した。

4) 健康成人（日本人及び Caucasian）対象薬力学的試験（5.3.4.1.1: NN304-1410<2001年4月～8月>）

ドイツにおいて、健康成人（目標症例数 28 例、日本人 14 例及び Caucasian 14 例）を対象に、本薬（2,400 nmol/mL 製剤）及び NPH の薬力学的作用及び薬物動態を検討するため、無作為化非盲検 2×2 期交叉比較試験が実施された。用法・用量は、本薬 0.375 単位/kg 又は NPH（600 nmol/mL 製剤）0.3 単位/kg を 2～48 日間の休薬期間において、それぞれ大腿部に単回皮下投与すると設定された（薬物動態は「(ii) 臨床薬理の概要」の項参照）。

総投与症例数 28 例（日本人 14 例及び Caucasian 14 例）の全例が安全性評価対象であり、全例が本試験を完了した。

有害事象（臨床検査値異常変動を含む）は、日本人では認められず、Caucasianで3例（本薬群2例〔頭痛、AST/ALT上昇〕、NPH群1例〔便秘〕）に認められたが、いずれも因果関係は否定されている。また、死亡例及び重篤な有害事象は認められなかった。その他、バイタルサイン等を含め臨床的に問題となる所見は認められなかった。

以上より申請者は、本薬0.375単位/kgは良好な忍容性を示したと説明した。

5) 健康成人（日本人）対象薬力学的試験（5.3.4.1.2: NN304-1438<2004年5月～10月>）

ドイツにおいて、日本人健康成人（目標症例数 40 例、各群 20 例）を対象に、本薬（2400 nmol/ml 製剤）とインスリングルルギンの薬力学的作用及び薬物動態を検討するために、無作為化二重盲検並行群間比較試験が実施された。用法・用量は、本薬 0.4 単位/kg 又はインスリングルルギン（600 nmol/mL 製剤）0.4 単位/kg を 5～21 日間の休薬期間において、計 4 回、大腿部に皮下投与すると設定された（薬物動態は「(ii) 臨床薬理の概要」の項参照）。

総投与症例数 40 例（本薬群 20 例、インスリングルルギン群 20 例）全例が安全性解析対象であり、投与後の同意撤回 2 例を除く 38 例（本薬群 18 例、インスリングルルギン群 20 例）が本

試験を完了した。

有害事象（臨床検査値異常変動を含む）は、本薬群 4 例、インスリンラゲリン群 1 例に認められたが、死亡例及び重篤な有害事象は認められなかった。副作用は、本薬群 3 例（紅斑/注射部位反応、頭痛/悪心、頭痛各 1 例）、インスリンラゲリン群 1 例（頭痛）認められた。その他、バイタルサイン、心電図及び臨床検査値については、臨床的に問題となる所見は認められなかった。

以上より申請者は、本薬0.4単位/kgは良好な忍容性を示したと説明した。

6) 日本人 1 型糖尿病患者対象薬力学試験 (5.3.4.2.2: NN304-1475<2002 年 8 月~2003 年 2 月>)

日本人 1 型糖尿病患者（目標症例数 24 例）を対象に、本薬（2400 nmol/mL 製剤）と NPH の薬力学的作用及び薬物動態を検討するために、無作為化非盲検 2×2 期交叉比較試験が実施された。用法・用量は、本薬 0.3 単位/kg 又は NPH（600 nmol/mL 製剤）0.3 単位/kg を 4~28 日間の休薬期間において、腹部に単回皮下投与とすると設定された（薬物動態は「(ii) 臨床薬理の概要」の項参照）。

総投与症例数 23 例全例が安全性評価対象であり、全例が本試験を完了した。

有害事象（臨床検査値異常変動を含む）は、本薬投与時に 1 例（鼻咽頭炎）認められたが、因果関係は否定されている。死亡例及び重篤な有害事象は認められなかった。その他、バイタルサイン、心電図及び臨床検査値については、臨床的に問題となる所見は認められなかった。

以上より申請者は、本薬 0.3 単位/kg は良好な忍容性を示したと説明した。

(2) 第Ⅲ相試験

1) Basal-Bolus療法施行中の1型及び2型糖尿病患者対象比較試験 (5.3.5.1.1.1: NN304-1476<2003年5月~2005年3月>)

Basal-Bolus 療法を行っている日本人 1 型及び 2 型糖尿病患者（目標症例数 357 例[†]、本薬群：NPH 群=2：1）を対象に、本薬（2400 nmol/mL 製剤）の有効性及び安全性を検討するため、NPH を対照とした無作為化非盲検並行群間比較試験が実施された。

用法・用量は、Basal インスリンとして本薬又は NPH（600 nmol/mL 製剤）を 1 日 1 回就寝前又は 1 日 2 回朝食前及び就寝前に皮下投与することとされ（本薬の開始用量は前治療の Basal インスリン投与量の 70%、NPH は前治療と同量；投与回数は前治療と同じ）、投与期間は 48 週間と設定された。なお、Bolus インスリンはインスリンアスパルトを 1 日 3 回毎食前皮下投与とされた。

総投与症例数396例（本薬群263例〔1型196例、2型67例〕、NPH群133例〔1型98例、2型35例〕）全例が安全性解析対象集団であり、投与開始後1週間で転院により中止された1例を除く395例（本薬群262例〔1型195例、2型67例〕、NPH群133例〔1型98例、2型35例〕）が有効性のFAS (Full Analysis Set) 解析対象であった。なお、本試験における中止例は25例（本薬群15例、NPH群10

[†] 本試験における症例数は、1 型糖尿病患者において本薬群の NPH 群に対する HbA_{1c} の非劣性が検証できるように設定され、2 型糖尿病患者は、臨床経験を得るために設定されている。

例)であり、中止理由は有害事象5例(本薬群3例、NPH群2例)、妊娠2例(本薬群2例)、治療法の不遵守4例(本薬群3例、NPH群1例)及びその他14例(本薬群7例、NPH群7例)であった。

主要評価項目であるFASにおけるLOCF(Last observation carried forward)を用いた投与後48週のHbA_{1c}(%、平均値±標準偏差)は、1型糖尿病で本薬群7.33±1.03、NPH群7.30±1.00であり、群間差(本薬群-NPH群)と95%信頼区間は0.03%[-0.14, 0.21]であり(投与群を固定効果とし、ベースライン値を共変量とした分散分析、以下同)、信頼区間の上限が事前に設定した非劣性限界値0.4%を下回ったことから、本薬群のNPH群に対する非劣性が検証された。なお、2型糖尿病での投与後48週のHbA_{1c}(%)は、本薬群7.47±1.04、NPH群7.23±0.97であり、群間差と95%信頼区間は0.19%[-0.15, 0.52]であった。

投与後48週の7日間平均朝食前空腹時血糖値(mg/dL、平均値±標準偏差)は、1型糖尿病で本薬群145.66±41.61、NPH群158.62±42.87であり、群間差と95%信頼区間は-10.53[-19.81, -1.25]であり、本薬群はNPH群より有意に低かった。2型糖尿病では、本薬群148.00±37.45、NPH群149.64±42.33であり、群間差と95%信頼区間は-7.36[-22.38, 7.67]であった。投与後48週の7日間朝食前空腹時血糖値における被験者内変動(変動係数)は、1型糖尿病においても2型糖尿病においても、本薬群(1型36.5%、2型21.8%)でNPH群(1型40.0%、2型31.7%)より小さく、標準偏差の群間比較の結果、1型及び2型糖尿病のいずれにおいても、群間に有意差が認められた(ともにp<0.0001)。

投与後44週の1日総Basalインスリン投与量(単位/kg、平均値±標準偏差)は、1型糖尿病で本薬群0.2677±0.1519、NPH群0.3081±0.1323であり、群間差と95%信頼区間は-0.0417[-0.0628, -0.0206]であり、本薬群はNPH群より統計学的に有意に低かったが、1日総投与量及びBolusインスリン投与量では、両群間に差は認められなかった。2型糖尿病では、1日総投与量、Bolus及びBasalインスリン投与量のいずれにも両群間で差は認められなかった。

有害事象(臨床検査値異常変動を含む)は、1型糖尿病で本薬群88.3%(173/196例)、NPH群88.8%(87/98例)、2型糖尿病で本薬群91.0%(61/67例)、NPH群82.9%(29/35例)に認められたが、死亡例は認められなかった。重篤な有害事象は、1型糖尿病で本薬群13例、NPH群10例、2型糖尿病で本薬群4例、NPH群4例に認められ、主な事象は、低血糖症4例(本薬群3例、NPH群1例[いずれも1型])、肺炎4例(本薬群3例[うち1例は2型]、NPH群1例[1型])、脱水2例(本薬群2例[1型])、コントロール不良の糖尿病2例(本薬群2例[1型、2型各1例])、倦怠感2例(各群1例[いずれも1型])、低血糖昏睡及びアルコール中毒各2例(NPH群2例[1型])等であった。副作用(臨床検査値異常変動を含む)は、1型糖尿病で本薬群6.6%(13/196例)、NPH群5.1%(5/98例)、2型糖尿病で本薬群9.0%(6/67例)、NPH群8.6%(3/35例)に認められ、主な事象は、低血糖症3例(本薬群2例、NPH群1例[いずれも1型])、注射部位事象(肥厚/腫瘍)3例(本薬群2例、NPH群1例[いずれも1型])、低血糖昏睡2例(NPH群2例[1型])、糖尿病性網膜症2例(本薬群1例[1型]、NPH群1例[2型])、ALT増加及び血中アミラーゼ増加各2例(本薬群2例[1型、2型各1例])等であった。

維持期間(投与後4~48週)におけるすべての低血糖及び夜間低血糖は、下表のとおりであり、1型糖尿病での夜間低血糖において本薬群はNPH群より有意に低かった。

低血糖発現状況

	1 型糖尿病						2 型糖尿病					
	本薬群 (192 例)			NPH 群 (98 例)			本薬群 (66 例)			NPH 群 (35 例)		
全ての 低血糖	178 例	92.7%	8262 件	95 例	96.9%	4130 件	54 例	81.8%	882 件	27 例	77.1%	435 件
	50.85 件/人・年			51.53 件/人・年			15.57 件/人・年			15.31 件/人・年		
	0.96, [0.65, 1.40] *						1.02, [0.42, 2.45] * [#]					
夜間 低血糖	133 例	69.3%	1171 件	78 例	79.6%	868 件	25 例	37.9%	99 件	11 例	31.4%	56 件
	7.21 件/人・年			10.83 件/人・年			1.75 件/人・年			1.97 件/人・年		
	0.69, [0.47, 0.99] *						0.85, [0.26, 2.82] *					

*: 本薬群のNPH群に対する相対リスク（ハザード比）と95%信頼区間（Cox回帰モデルを拡張した γ -frailtyモデル（#: Poisson分布に基づく一般線形モデル）により算出）

抗体価について、1 型糖尿病におけるベースラインから投与後 49 週の抗デテミル特異抗体価（%BT）の変化量（中央値）は、本薬群 0.27、NPH 群-0.11 であり、本薬群で統計学的有意に高かった（ $p < 0.0001$: Wilcoxon の順位和検定）。抗インスリンアスパルト特異抗体及びデテミル-インスリンアスパルト交叉抗体では、両群間に差は認められなかった。また、2 型糖尿病においては、いずれも両群間に差は認められなかった。なお、抗体の変化量と HbA_{1c} 変化量との間に統計学的に有意な相関関係が、2 型糖尿病で本薬群のデテミル-インスリンアスパルト交叉抗体について認められた（Spearman の相関係数-0.491、 $p < 0.0001$ ）。また、本薬群の 1 型糖尿病において 1 日総 Basal インスリン投与量と交叉抗体の変化量との間に正の相関が認められたが（Spearman の順位相関係数 0.202、 $p = 0.0077$ ）、臨床的に大きな問題は認められなかった。

その他、バイタルサイン、臨床検査値、心電図及び眼底検査については、臨床的に問題となる所見は認められなかった。

以上より申請者は、本薬は Basal インスリンとして NPH と同様に使用できる薬剤である旨を説明した。

2) 2 型糖尿病患者対象の経口血糖降下剤併用比較試験 (5.3.5.1.1.2: NN304-1477<2004 年 2 月 ~2005 年 4 月>)

経口血糖降下剤[§]で効果不十分な日本人 2 型糖尿病患者（目標症例数 336 例、各群 168 例）を対象に、本薬（2400 nmol/mL 製剤）の有効性と安全性を検討するため、NPH を対照とした無作為化非盲検並行群間比較試験が実施された。

用法・用量は、本薬又は NPH（600 nmol/mL 製剤）を 1 日 1 回、就寝前に各症例の血糖コントロールで調節した用量（開始用量は、各症例の血糖値及び臨床所見に応じて 4~8 単位）を皮下投与することとされ、投与期間は 36 週間と設定された。

総投与症例数 363 例（本薬群 180 例、NPH 群 183 例）全例が安全性解析対象及び有効性の FAS 解析対象であった。なお、本試験における中止例は 31 例（本薬群 20 例、NPH 群 11 例）であり、中止理由は有害事象 13 例（本薬群 8 例、NPH 群 5 例）、治療法の不遵守 7 例（本薬群 6 例、NPH 群 1 例）及びその他 11 例（本薬群 6 例、NPH 群 5 例）であった。

主要評価項目である FAS における LOCF を用いた投与後 36 週の HbA_{1c}（%、平均値±標準偏差）は、本薬群 7.70±0.79、NPH 群 7.65±0.84 であり、群間差（本薬群-NPH 群）と 95% 信頼区間は 0.07 [-0.07, 0.21] であり（投与群及び入院の有無を固定効果とし、ベースライン値を共変量と

[§] スルホニル尿素 (SU) 剤単独、SU 剤+ビグアナイド系 (BG) 薬剤、SU 剤+ α -グルコシダーゼ阻害剤 (α -GI) 又は SU 剤+BG 薬剤+ α -GI

した分散分析)、信頼区間の上限が事前に設定した非劣性限界値0.4 %を下回ったことから、本薬群のNPH群に対する非劣性が検証された。

投与後32週のインスリン投与量(単位/kg、平均値±標準偏差)は、本薬群 0.1649 ± 0.0941 、NPH群 0.1387 ± 0.0853 であり、群間差と95%信頼区間は、 $0.0262 [0.0077, 0.0447]$ であり、本薬群で統計学的に有意に高かった。

有害事象(臨床検査値異常変動を含む)は、本薬群87.2%(157/180例)、NPH群88.5%(162/183例)に認められた。死亡例がNPH群1例(膵がん)認められたが、因果関係は否定されている。重篤な有害事象(死亡例を含む)は、本薬群11例(脳梗塞2例、肛門周囲潰瘍、イレウス、腎結石症、足骨折、急性心筋梗塞、脳出血、アナフィラキシー反応、膵がん、肺結核各1例)、NPH群8例(良性前立腺肥大症、処置後出血、腎盂腎炎、前立腺がん、膵がん/脳循環不全、带状疱疹/脳梗塞、尿管結石、イレウス各1例)に認められ、アナフィラキシー反応以外は全て因果関係が否定されている。副作用(臨床検査値異常変動を含む)は、本薬群10.6%(19/180例)、NPH群10.4%(19/183例)に認められ、主な事象(本薬群で2例以上)は、糖尿病性網膜症7例(本薬群2例、NPH群5例)、注射部位紅斑3例(本薬群2例、NPH群1例)、注射部位発疹(本薬群2例)であった。

すべての低血糖は、本薬群57.8%(104/180例)に538件(4.51件/人・年)、NPH群66.7%(122/183例)に795件(6.46件/人・年)認められ、本薬群のNPH群に対する相対リスク(ハザード比)と95%信頼区間は、 $0.71 [0.49, 1.02]$ であった(γ -frailtyモデルにより算出、以下同)。また、夜間低血糖は、本薬群24.4%(44/180例)に134件(1.12件/人・年)、NPH群34.4%(63/183例)に258件(2.10件/人・年)認められ、相対リスクと95%信頼区間は $0.60 [0.34, 1.05]$ であった。

抗体価について、ベースラインから投与後37週の抗体価(%B/T)の変化量(中央値)は、抗ヒトインスリン特異抗体(本薬群-0.005、NPH群0.015)では両群間に差は認められなかった。抗デテムル特異抗体(本薬群0.3、NPH群-0.04)及び抗デテムルーヒトインスリン交叉抗体(本薬群2.32、NPH群0.23)では、本薬群で統計学的に有意な上昇が認められたが(いずれも $p < 0.0001$: Wilcoxonの順位和検定)、抗体の上昇に伴いHbA_{1c}が悪化する傾向は認められなかった。また、抗体の変化量とインスリン投与量には正の相関関係が認められたが、臨床的に大きな問題は認められなかった。その他、バイタルサイン、臨床検査値、心電図及び眼底検査については、臨床的に問題となる所見は認められなかった。

以上より申請者は、本薬は経口血糖降下剤併用時にNPHと同様に使用できる薬剤である旨を説明した。

3) 小児1型糖尿病患者に対する非盲検並行群間比較試験(5.3.5.1.1.3: NN304-1604<2004年6月~2005年4月>)

Basal-Bolus療法を行っている7歳以上18歳未満の日本人小児1型糖尿病患者(目標症例数72例、本薬群48例、NPH群24例)を対象に、本薬(2400 nmol/mL製剤)の安全性を検討するため、NPH製剤を対照とした無作為化非盲検並行群間比較試験が実施された。

用法・用量は、Basalインスリンとして本薬又はNPH(600 nmol/mL製剤)を1日1回就寝前又は1日2回朝食前及び就寝前に皮下投与することとされ(本薬の開始用量は前治療のBasal

インスリン投与量の70%、NPHは前治療と同量;投与回数は前治療と同じ)、投与期間は24週間と設定された。なお、Bolusインスリンはインスリンアスパルト又は速効型ヒトインスリンを1日3回毎食前皮下投与とされた。

総投与症例数83例(本薬56例、NPH群27例)のうち、GCP不遵守症例1例(未登録の医師による治験の診療)を除く82例(本薬55例、NPH群27例)が安全性解析対象及び有効性のFAS解析対象であった。なお、本試験における中止例は本薬群1例であり、中止理由は治療法の不遵守(併用禁止薬の投与)であった。

投与後24週のHbA_{1c}(%、平均値±標準偏差)は、本薬群7.54±1.02、NPH群7.67±1.02であり、群間差と95%信頼区間は0.10[-0.24, 0.45]であった。

投与後20週の1日総Basalインスリン投与量(単位/kg、平均値±標準偏差)は、本薬群0.360±0.143、NPH群0.422±0.196であり、群間差と95%信頼区間は-0.077[-0.122, -0.032]であり、本薬群はNPH群より統計学的に有意に低かったが、1日総投与量及びBolusインスリン投与量については両群間で差は認められなかった。

有害事象(臨床検査値異常変動を含む)は、本薬群83.6%(46/55例)、NPH群85.2%(23/27例)に認められた。死亡は認められなかった。重篤な有害事象は、本薬群3例(低血糖症2例、糖尿病性ケトアシドーシス1例)、NPH群1例(糖尿病性ケトアシドーシス)に認められ、低血糖症1例(重度)以外は全て因果関係が否定されている。副作用(臨床検査値異常変動を含む)は、本薬群9.1%(5/55例)、NPH群3.7%(1/27例)認められたが、複数例で認められた事象はなかった。

低血糖は、投与開始初期(0~6週)で本薬群92.7%(51/55例)に744件(115.95件/人・年)、NPH群96.3%(26/27例)に350件(111.11件/人・年)、維持期(6~24週)で本薬群96.4%(53/55例)1877件(94.77件/人・年)、NPH群100.0%(27/27例)に851件(85.96件/人・年)であった。また、夜間の低血糖は、投与開始初期で本薬群54.5%(30/55例)に127件(19.79件/人・年)、NPH群66.7%(18/27例)に62件(19.68件/人・年)、維持期で本薬群70.9%(39/55例)に226件(11.41件/人・年)、NPH群81.5%(22/27例)に111件(11.21件/人・年)であり、いずれも両群で同様の発現頻度であった。

抗体価は、本試験で検討されていない。その他、バイタルサイン、臨床検査値、心電図及び眼底検査については、臨床的に問題となる所見は認められなかった。

以上より申請者は、本薬の安全性について、低血糖症状及び有害事象はNPH群と比較して問題となる違いは認められなかった旨を説明した。

<審査の概略>

(1) 臨床上の位置づけについて

機構は、インスリン製剤の中での本剤の臨床上の位置づけについて説明を求めた。

申請者は、以下のように説明した。本薬の対象患者はインスリン依存状態の糖尿病患者であり、多くの場合に速効型インスリンを毎食前に投与し、中間型又は持続型インスリンを1日1~2回投与するBasal-Bolus療法による治療が行われている。現在、Basalインスリンとして中間型インスリン製剤であるNPHが汎用されているが、NPHは懸濁製剤であり、投与部位からの

吸収に変動が大きいこと、作用持続時間が短く、その効果にはピークがあることが知られており、血糖コントロールが乱れやすいインスリン依存状態にある糖尿病患者においては、問題点として指摘されている（日本糖尿病学会編集、科学的根拠に基づく糖尿病診療ガイドライン、2004）。一方、本薬は、上記の NPH の問題点を改善し、作用動態もより平坦で、簡便かつ安全に厳格な血糖コントロールを行うことを目的に開発された、持続型溶解インスリンアナログ製剤である。国内臨床試験（NN304-1476）の結果から、HbA_{1c}を指標とした血糖コントロールについて本薬群と NPH 群で非劣性が検証された。さらに、本薬群の NPH 群に対する夜間低血糖の相対リスクは 0.69（1 型糖尿病）及び 0.85（2 型糖尿病）と、本薬群で低く、早朝空腹時血糖値及び個体内変動も本薬群で小さいことが確認されたことから、本剤に切替えることにより、QOL の改善や長期的に良好な血糖コントロール維持が期待できると考える。なお、カートリッジ製剤及びキット製剤を提供する予定であり、キット製剤の簡便性と投与精度及び投与前の再懸濁が不要なことから、注射手技の煩雑さは改善するものと考ええる。以上より、本薬は既存の NPH からの切替えを積極的に行って行く予定であるが、NPH は、国内において 20 年以上の使用経験があり、その安全性は十分に確立されていることから、本剤での安全性が確認されていない妊婦等の患者への使用など、NPH は不可欠なインスリン製剤であると考ええる。

機構は、本剤が溶解性インスリンであることから注射手技の煩雑さが改善される点は意義があるものと考えるが、提出された臨床試験では、同一の用法（1 日投与回数）で本薬と NPH の非劣性が検証されていることから、本薬は NPH と同様に Basal インスリンとして使用されるものと考ええる。

（2）2 型糖尿病について

1）Basal-Bolus 療法について

機構は、2 型糖尿病患者における Basal-Bolus 療法について、1 型糖尿病患者及び NPH とリスク・ベネフィットが異ならないか確認するよう求めた。

申請者は、以下のように説明した。Basal-Bolus 療法は、患者が必要とするインスリンを注射により補充する治療法であり、この点において 1 型と 2 型糖尿病に違いはない。国内試験（NN304-1476 試験）の 2 型糖尿病では本薬と NPH の差を明確に示すことができる症例数ではないが、HbA_{1c} 及び空腹時血糖値は両群間で同程度であった。また、試験終了時の 1 日あたりの平均 Basal インスリン投与量は、本薬群 17.13 単位/日、NPH 群 16.31 単位/日であり、両群間に統計学的な有意差が認められたが、その差は 1 単位未満であり、実臨床現場において投与量は血糖コントロールに応じて患者個々に調節することから、臨床的に意味のある差ではないと考える。さらに、維持期間の低血糖発現率は本薬群 81.8 %（54/66 例）、NPH 群 77.1 %（27/35 例）であり、1 人あたりの年間発現件数も本薬群 15.57 件/人・年、NPH 群 15.31 件/人・年と両群で等しかった（本薬の NPH に対する相対リスク（ハザード比）1.02）。低血糖の多く（両群とも約 90 %）は朝 6 時から夜 23 時までには発現しているが、2 型糖尿病患者では本薬群 90 %、NPH 群 80 %の症例が Basal インスリンを 1 日 1 回、就寝時に投与されていたことを考慮すると、主に毎食前に投与された速効型インスリンに起因した低血糖であったと考える。以上より、2 型糖尿病においても本薬と NPH で有効性及び安全性は同様であり、Basal-Bolus 療法に 1 型糖尿

病と2型糖尿病で違いはないと考える。1型糖尿病で確認された本薬の特徴（夜間低血糖発現率の低減、早朝空腹時血糖値の低下及び個人内変動が小さいこと）は明らかに示されていないものの、2型糖尿病においても期待できることであり、本薬を2型糖尿病患者のBasal-Bolus療法に用いることは妥当であると考ええる。

機構は、Basal-Bolus療法において、必要とするインスリンを補充するという点においては、1型糖尿病と2型糖尿病で違いはないとした申請者の説明は了承するが、NN304-1476試験（Basal-Bolus療法）における2型糖尿病患者の症例数は限られていたことから、製造販売後調査において、安全性及び有効性について確認する必要があると考える。

2) 経口血糖降下薬との併用について

機構は、NN304-1477試験（経口血糖降下剤との併用）においてNPH群より本薬群の投与量が有意に増加していることについて説明するよう求めた。

申請者は、以下のように説明した。スルホニル尿素（SU）剤を中心とした経口血糖降下剤による治療では十分な血糖コントロールを達成することができなくなった2型糖尿病患者に、中間型又は持続型インスリンを就寝時（又は夕食前）に投与することで、肝糖放出を抑制し、肝糖取り込みを増加させるとともに、夜間から早朝にかけての血糖をコントロールし、朝の空腹時血糖値を低下させ、1日の血糖プロファイルが改善されることが期待される。さらにβ細胞を休息させることでインスリン分泌能の改善又は更なる低下の抑制が期待できる治療法である。海外で実施した2型糖尿病患者を対象とした経口血糖降下剤との併用試験（NN304-1530試験）では、各患者と頻りにコンタクトをとり、血糖値に基づきBasalインスリン投与量を積極的に増量するよう設定しており、試験終了時の平均HbA_{1c}は両群ともに7%以下まで低下し（本薬群6.58%、NPH群6.46%）、試験終了時の平均投与量は、本薬群65.6単位/日、NPH群45.0単位/日と、NPH投与群に比し本薬群で高かった。本薬群で投与量が多かった原因は明らかではないが、欧米人の2型糖尿病患者では肥満が多く、インスリン抵抗性に基づく高インスリン血症を呈している患者が多かったと考えられること、本薬とNPHでは作用動態が異なる（本薬はNPHより緩徐に吸収され、平坦な作用プロファイルを示す）ことが考えられる。さらに、本試験は低血糖の危険性がない限り投与量を増量していくデザインであり、本薬のNPHに対する低血糖発現の相対リスクが0.53と本薬群で低かったことが影響している可能性も考えられる。投与するインスリン量が格段に少ないことを考慮すると（中央値：本薬群8.0単位/日、NPH群7.0単位/日）、NN304-1477試験における本薬とNPHの投与量の違いは、臨床的にはほとんど意味のない差であると考ええる。なお、インスリン投与量は患者個々に調節していくことから、大きな問題にはならないと考える。

機構は、国内臨床試験における本薬とNPHの投与量の差はわずかであり、臨床的に大きな違いはないとする申請者の説明は理解する。しかしながら、海外試験では本薬とNPHの投与量に差が生じており、その原因は明確になっていない。さらに、国内外で本薬の投与量が6倍程度異なっていたことについて、申請者はBMIやインスリン抵抗性の違いが考えられると説明していることから、国内においてもBMIが高値又はインスリン抵抗性が強い患者では、本薬はNPHより高用量を要する可能性も否定できないと考える。実臨床現場における本剤の使用状況（投

与量、患者背景等)等については、製造販売後において情報収集する必要があると考える。

(3) 用法・用量について

1) NPH ヒトインスリン (NPH) からの切替え用量について

機構は、Basal-Bolus 療法を対象とした国内 2 試験 (NN304-1476 及び NN304-1604 試験) では、本薬の開始用量を前治療の Basal インスリンの 70 %と設定して試験が実施されているが、本薬の用法・用量に関連する使用上の注意では「前治療に用いた中間型又は持効型インスリン製剤の 1 日投与量と同単位を目安」に投与するとした妥当性について説明を求めた。

申請者は、以下のように説明した。国内で最初に実施した臨床試験 (NN304-1476 試験) では、海外臨床試験成績に基づき、前治療の Basal インスリンと同単位から本薬の投与を開始すると設定したが、試験開始直後に得られた 4 例のうち本薬群の 3 例中 2 例において、55 mg/dL 以下の低い血糖値が散見されたことから、医学専門家及び治験調整医師等と相談し、より安全性に配慮したアプローチとして、本薬の開始用量を前治療の Basal インスリンの 70 %とするよう治験実施計画書を変更した。なお、小児 1 型糖尿病患者を対象とした臨床試験 (NN304-1604 試験) では、NN304-1476 試験及び海外で実施された小児 1 型糖尿病患者対象試験 (NN304-1379 試験) の結果を参考とし、同様に前治療の Basal インスリンの 70 %用量から投与を開始した。しかし、NN304-1476 試験成績から、① 本薬群の前治療期における NPH 投与量は、1 型糖尿病 16 単位/日及び 2 型糖尿病 12 単位/日、試験終了時の本薬の投与量は、それぞれ 16 単位/日及び 17 単位/日であったこと、② 試験終了時における本薬と NPH の投与量比 (本薬/NPH) は 1 型糖尿病患者で 0.87、2 型糖尿病患者では 1.09 であり、1 型糖尿病患者では NPH に比べて本薬でわずかに低いが、個体あたりの総投与量では 1~2 単位程度の差であり、臨床的に大きな相違ではないこと、③ Basal インスリンとして投与量が過剰であった場合に最も危惧されるのは夜間低血糖であるが、維持期間 (投与後 4~48 週) における夜間低血糖の発現率の本薬群の NPH 群に対する相対リスク減少率は 1 型糖尿病で約 30 %、2 型糖尿病で約 15 %であることから、本薬を前治療の Basal インスリンと同単位で切り替えても、夜間低血糖の発現リスクが前治療の Basal インスリン投与時に比べて高くなることはないと考ええる。

機構は、申請者が前治療の Basal インスリンと同単位で本薬に切替え可能と判断した根拠については、本薬による治療前と治療終了後で比較しており、切替え直後の低血糖等の安全性に関しては考慮されていないことから、十分な説明がなされていないと考える。さらに、前治療から同単位で本薬に切替えられた症例はほとんどないため、同単位で切替えた場合の低血糖の発現頻度や重篤度に関するデータは得られていないこと、インスリンは個々の患者で投与量を調節する薬剤であり、効果不十分で増量可能な状態であれば増量できること、NN304-1476 試験では、低血糖が出現した症例があったことを考慮し、安全性への配慮から本薬の切替え用量が前治療 Basal インスリンの 70 %として試験が実施されていること等から、本薬に切替える際には前治療 Basal インスリンの用量の 70 %から開始することが適切であると考ええる。切替え用量に関しては、専門協議の議論を踏まえ、最終的に判断したいと考える。

2) 夕食前投与について

機構は、国内臨床試験では夕食前投与の経験がないにも拘わらず、申請用法に夕食前投与を設定した妥当性について、申請者に説明を求めた。

申請者は、以下のように説明した。1型糖尿病患者を対象とした海外臨床試験（NN304-1447試験）において、本薬の朝食前-夕食前、朝食前-就寝前又はNPHの朝食前-就寝前の1日2回投与とインスリンアスパルトの毎食前投与によるBasal-Bolus療法を16週間実施し、血糖コントロール及び安全性を比較検討した結果、投与後16週間のHbA_{1c}値は（投与群、実施国を固定効果、ベースライン値を共変量とした分散分析による最小二乗平均値±標準誤差）、本薬朝食前-夕食前 $7.67 \pm 0.07\%$ 、本薬朝食前-就寝前 $7.65 \pm 0.07\%$ 、NPH朝食前-就寝前 $7.73 \pm 0.07\%$ であり、3群間で同程度であった。また、有害事象は、本薬朝食前-夕食前61.9%（86/139例）、本薬朝食前-就寝前64.4%（85/132例）、NPH朝食前-就寝前62.8%（81/129例）認められた。投与4週以降に発現した24時間低血糖（4週間は投与量調節期間）は、それぞれ73.0%（100/137例）、72.4%（92/127例）、79.4%（100/126例）、夜間低血糖は、それぞれ43.8%（60/137例）、49.2%（51/127例）、47.6%（60/126例）であり、安全性も3群間で同程度であった。本試験結果より、本薬は、朝食前及び夕食前、又は朝食前及び就寝前のいずれの投与時期でも投与が可能であり、安全性を低下させることなく患者の状態により投与時期を選択できることが示唆された。また、本薬はNPHより作用持続時間が長く、NPHに比べ夜間低血糖の発現率が低く、早朝の血糖上昇を抑えることから、夕食前投与にも適していると考ええる。

機構は、海外臨床試験の結果ではあるが、本薬の朝食前-夕食前と朝食前-就寝前投与で有効性及び安全性に大きな相違が認められていないこと、国内臨床試験（NN304-1476試験）は朝食前-就寝前投与で実施されているが、1型糖尿病患者で本薬はNPHより夜間低血糖の発現率が低かったことから、本邦においても本薬を夕食前に投与する用法を含めることに問題はないと考える。しかしながら、国内では本薬を夕食前に投与した経験がないことから、製造販売後調査の中で投与時間と低血糖発現及び早朝血糖値等との関係について検討する必要があると考える。

(4) 抗インスリン抗体について

機構は、抗インスリン抗体出現による本薬の有効性及び安全性に及ぼす影響について考察するよう求めた。

申請者は、以下のように説明した。国内第Ⅲ相試験2試験における抗体と投与量との関係は、下表のとおりであり、抗体の変化と投与量の関係について検討した結果、1型糖尿病患者において、抗デテミル-インスリンアスパルト交叉抗体の変化量と試験終了時の1日総Basalインスリン投与量の間には正の相関（Spearmanの順位相関係数0.202）がみられたが、1型及び2型糖尿病患者の抗デテミル特異抗体、抗インスリンアスパルト特異抗体及び2型糖尿病患者における抗デテミル-インスリンアスパルト交叉抗体の変化量とBasal又はBolusインスリン投与量の間には相関は認められなかった。また、抗デテミル特異抗体、抗インスリンアスパルト特異抗体は試験期間を通じてほとんど変化せず、抗デテミル-インスリンアスパルト交叉抗体は、ベースラインから試験終了時にかけて徐々に上昇したが、36週以降の上昇はわずかであった。

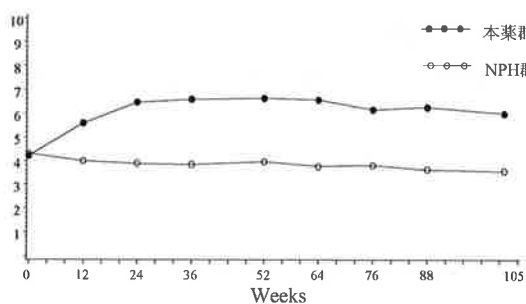
国内試験における抗インスリン抗体とインスリン投与量の変化

	抗体 (%B/T; 中央値)				平均投与量 (単位/kg)		
	抗体	ベースライン	終了時	変化量	インスリン	ベースライン	終了時
NN304-1476 1型糖尿病	本薬特異抗体	1.46	1.82	0.270	1日総 Basal インスリン	0.2701	0.2677
	IAsp 特異抗体	1.26	1.165	0.000	1日総インスリン	0.806	0.8202
	本薬-IAsp 交叉抗体	6.115	8.56	-0.045			
NN304-1476 2型糖尿病	本薬特異抗体	1.44	1.76	0.420	1日総 Basal インスリン	0.1981	0.2729
	IAsp 特異抗体	1.365	1.18	-0.135	1日総インスリン	0.5973	0.7082
	本薬-IAsp 交叉抗体	2.76	8.5	1.560			
NN304-1477 2型糖尿病	本薬特異抗体	1.56	1.81	0.300	1日総 Basal インスリン	-	0.1649
	HI 特異抗体	0.19	0.22	-0.005	1日総インスリン		
	本薬-HI 交叉抗体	-0.24	1.93	2.320			

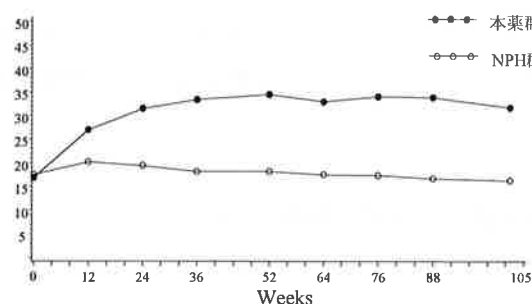
IAsp: インスリンアスパルト、HI: ヒトインスリン

抗体上昇と血糖コントロールとの関係について、抗体の変化量と HbA_{1c} 変化量の散布図を検討した結果、血糖コントロールはいずれの抗体の変化量とも関連しなかった。さらに、国内試験における抗デテミル特異抗体、抗デテミル-インスリンアスパルト交叉抗体及び抗デテミル-ヒトインスリン交叉抗体が、ベースラインから 20 %B/T 以上上昇した症例（抗体産生例）とそれ以外の症例（抗体非産生例）における安全性プロファイルを検討した結果、抗体産生/非産生例で安全性プロファイルに大きな相違は認められず、抗体産生例において特段問題となる有害事象及び低血糖の発現又は発現頻度の増加は認められなかった。以上より、確認された抗体価の上昇は、本薬の有効性及び安全性に影響を及ぼすものではないと考える。

また、海外で 1 型糖尿病 495 例を対象に本薬を 2 年間投与した海外臨床試験（NN304-1595）において、抗デテミル特異抗体及び交叉抗体は、最初の 1 年目には上昇し、2 年目からはほぼ一定の値を示したが、HbA_{1c} は試験期間を通じて減少し、本薬の投与量は増大する傾向を示したことから、抗体価と投与量の推移に明確な関係はないものとする。



本薬特異抗体 (%B/T) の推移、完了例



本薬-IAsp 交叉抗体 (%B/T) の推移、完了例

機構は、国内試験成績から検討された抗体の変化と投与量、HbA_{1c} との関係について、強い相関が認められておらず、さらに、海外試験成績では、本薬投与 1 年目以降、抗インスリン抗体はほぼ一定の値に維持されており、上昇し続ける懸念は少ないと考える。しかしながら、国内では本薬の 1 年を超えた抗体産生に関する情報がないことから、製造販売後調査において、抗体の発現状況等について確認していく必要があると考える。

(5) 安全性について

1) 低血糖について

機構は、低血糖の発現率を整理し、小児 1 型糖尿病患者を対象とした NN304-1604 試験で夜間及び午前 6:00～8:00 に、NN304-1476 試験の 2 型糖尿病で 1 型糖尿病に比して低血糖の発現が多い傾向がみられることについて、申請者に考察するように求めた。

申請者は、以下のように説明した。国内第Ⅲ相試験 3 試験において、低血糖の発現頻度は本薬群と NPH 群で同程度であり、夜間低血糖の発現頻度は本薬群で低かった（下表参照）。

国内臨床試験におけるすべての低血糖（24 時間）及び夜間低血糖の概要

	本薬			NPH			相対リスク、95% CI (本薬/NPH)
	N	n (%)	E	N	n (%)	E	
すべての低血糖							
1 型	192	178 (92.7)	8262	98	95 (96.9)	4130	0.96, [0.65, 1.40]
NN304-1476 試験	192	178 (92.7)	8262	98	95 (96.9)	4130	
NN304-1604 試験	55	53 (96.4)	1877	27	27 (100.0)	851	1.10, [0.43, 2.83]
2 型	180	104 (57.8)	538	183	122 (66.7)	795	0.71, [0.49, 1.02]
NN304-1476 試験	66	54 (81.8)	882	35	27 (77.1)	435	1.02, [0.42, 2.45]
NN304-1477 試験 [§]	180	104 (57.8)	538	183	122 (66.7)	795	0.71, [0.49, 1.02]
すべての夜間低血糖							
1 型	192	133 (69.3)	1171	98	78 (79.6)	868	0.69, [0.47, 0.99]
NN304-1476 試験	192	133 (69.3)	1171	98	78 (79.6)	868	
NN304-1604 試験	55	39 (70.9)	226	27	22 (81.5)	111	0.99, [0.53, 1.86]
2 型	180	44 (24.4)	134	183	63 (34.4)	258	0.60, [0.34, 1.05]
NN304-1476 試験	66	25 (37.9)	99	35	11 (31.4)	56	0.85, [0.26, 2.82]
NN304-1477 試験 [§]	180	44 (24.4)	134	183	63 (34.4)	258	0.60, [0.34, 1.05]

§: 経口血糖降下剤との併用試験（他の試験はすべて Basal-Bolus 療法）、N: 症例数、n: 低血糖発現例数、%: 低血糖発現率、E: 低血糖発現件数、Rate: 1 人あたりの年間発現件数（1 年を 360 日として算出）、相対リスクは γ -frailty モデルより算出

小児 1 型糖尿病患者を対象とした NN304-1604 試験において、維持期間（投与開始後 6 週以降）における症例 1 例あたりの 1 年間の発現件数に換算した発現率は、本薬群でやや高かった。Basal インスリン投与後に認められた低血糖については、本薬群で生化学的低血糖の発現率が高く、午前 6:00～10:00、特に午前 6:00～8:00 の時間帯に多く認められた。また、成人を対象とした NN304-1476 試験（1 型糖尿病患者）においても午前 6:00～8:00 の時間帯に多く低血糖が発現している傾向が認められた。NN304-1604 試験で生化学的低血糖の発現率が高かった原因を特定することはできなかったが、本薬の効果持続時間が NPH より長く、NPH 群に比し本薬群で早朝空腹時血糖値が低かったことが一因と考える。なお、低血糖を発現した被験者の割合等を総合的に勘案すると低血糖発現率が高い時間帯に違いはみられたが、その多くは重大なものではなく、患者自身で対処可能なものであり、低血糖発現状況に本薬群と NPH 群で大きな相違はないと考える。

なお、2 型糖尿病患者における低血糖の発現率は、本薬群 81.8%（54/66 例）、NPH 群 77.1%（27/35 例）であり、両群間の差は 1 例程度に相当すること、低血糖の年間発現件数は両群で等しく、推定した相対リスク（本薬/NPH）も 1.02 及び 95% 信頼区間 [0.42, 2.45] であったことから、臨床的に意味のある差ではないと考える。また、発現した低血糖の多くは朝 6 時から夜 23 時まで発現しており（本薬群約 89%、NPH 群約 87%）、2 型糖尿病患者では本薬群 90%、NPH 群 80% の症例が Basal インスリンを就寝時に投与していたことを考慮すると、発現した低血糖の多くは、主に毎食前に投与した速効型インスリンに起因するものと考えられる。

機構は、現時点までに得られている情報から、認められた低血糖のほとんどが重大なものではないとの申請者の説明は理解する。しかしながら、1 型糖尿病患者で特に午前 6:00～8:00 に低血糖が高く認められていたことから、医療従事者に適切な情報提供を行うとともに製造販売後調査において、低血糖発現状況やインスリン投与量等について確認する必要があると考える。

2) アナフィラキシー及びアレルギー反応について

機構は、本薬によるアナフィラキシー及びアレルギー反応の発現について説明するよう求めた。

申請者は以下のように説明した。国内第Ⅲ相試験 3 試験で認められたアレルギー反応に関連する有害事象の発現頻度は、下表のとおりであり、本薬群と NPH 群で同程度であった。

アレルギー反応に関連する有害事象の発現頻度				
	NN304-1476 (1型)	NN304-1604	NN304-1476 (2型)	NN304-1477
	n (%) E	n (%) E	n (%) E	n (%) E
本薬群	N=196 30 (15.3) 38	N=55 8 (14.5) 9	N=67 9 (13.4) 9	N=180 26 (14.4) 31
NPH 群	N=98 16 (16.3) 20	N=27 5 (18.5) 5	N=35 6 (17.1) 11	N=183 20 (10.9) 21

これらの有害事象のうち、NN304-1477 試験で認められた本薬群 4 件（湿疹、注射部位発疹、注射部位炎症、アナフィラキシー反応〔中等度〕）以外は、すべて軽度であった。また、本薬群 8 件（湿疹、そう痒症、浮腫〔NN304-1476 試験; 1 型糖尿病〕、注射部位紅斑〔NN304-1604 試験〕、注射部位紅斑 2 件、注射部位そう痒感、アナフィラキシー反応〔NN304-1477 試験〕）及び NPH 群 5 件（注射部位腫脹〔NN304-1604 試験〕、そう痒症、注射部位紅斑、注射部位そう痒感、注射部位反応〔NN304-1477 試験〕）の因果関係は否定されていない。また、2007 年 4 月 1 日までに完了したすべての臨床試験で報告されたアレルギー反応に関連する有害事象は、1 型糖尿病では、本薬群 4.0 % (120/3,023 例) 144 件、NPH 群 4.2 % (67/1,593 例) 79 件及びインスリン グラルギン群 3.0 % (9/303 例) 11 件、2 型糖尿病では、本薬群 4.2 % (91/2,142 例) 100 件、NPH 群 3.2 % (37/1,141 例) 41 件及びインスリン グラルギン群 6.8 % (27/396 例) 32 件に認められ、発現頻度はいずれも同程度であった。重篤な事象は、1 型糖尿病で本薬群 3 例（薬剤過敏症 2 例、過敏症 1 例）認められ、2 型糖尿病で本薬群 2 例（過敏症、ショック (SOC は Vascular Disorders) 各 1 例) 及びインスリン グラルギン群 2 例（過敏症、咽頭浮腫各 1 例）認められた。また、海外における市販後の安全性情報（自発報告：発売開始～2007 年 5 月）から、アナフィラキシー反応が 7 例報告されており、うち 6 例にアレルギーに関連する既往歴があり、さらに 5 例では他のインスリン製剤に対するアナフィラキシー反応又はそれを疑う症状が認められている。なお、EU の SPC (Summary of Product Characteristics) に基づきアナフィラキシー反応の発現状況を調査した結果、本薬及び NPH とともに <1/10,000 と報告されている。以上のことから、市販後の安全性情報に基づくアナフィラキシー反応の発現状況は、本薬と NPH で同様であると考ええる。

機構は、アレルギー反応に関連する有害事象は、国内外ともに NPH と同程度の発現頻度であったことは理解する。しかしながら、国内で本薬により中等度の事象が認められていることから、添付文書で注意喚起するとともに、製造販売後調査においてアナフィラキシー及びアレルギー反応の発現について確認し、医療現場への適切な情報提供を行う必要があると考える。

3) 注射部位反応について

機構は、海外における注射部位反応に起因する有害事象が NPH に比べて本薬群で多くみられ

たことから、その原因及び治療に及ぼす影響について説明するよう求めた。

申請者は、以下のように説明した。本薬投与後の注射部位反応が、NPH 投与後より多くみられた原因を特定するのは困難であるが、本薬の製剤濃度が高いこと（本薬: 2,400 nmol/mL、NPH: 600 nmol/mL）、本薬が注射部位に長く留まることの2点の可能性が考えられる。本薬における注射部位反応の発現頻度はNPH と比べやや高かったが、発現頻度は低いこと、注射部位反応のほとんどは軽度であること、他のインスリン製剤でもみられること、投与を中止することで消失することから、同一部位の中で注射場所を適切に変更する、皮膚を清潔に保つ、注射針等を適切に交換する等により軽減できると考える。なお、注射部位反応により中止した症例は、国内では NN304-1477 試験における本薬群 1 例（注射部位炎症）のみであり、海外臨床試験では 1 型糖尿病患者 5/2,332 例、2 型糖尿病患者 12/1,594 例と少なかった。

また、国内第Ⅲ相試験 3 試験において、注射部位反応を発現した症例のインスリン投与量及び血糖コントロール（HbA_{1c}）の推移を個別に検討したが、注射部位反応を発現した症例でインスリン投与量が高い傾向はみられず、HbA_{1c}の悪化も認められていない。

しかしながら、海外において2004年1月発売以降の自発報告による注射部位反応の発現率が、上昇していること（2005年4月30日; 0.00079 件/例×年から2005年11月22日; 0.00125 件/例×年）、本薬や他のインスリン製剤に対するⅢ型アレルギー/過敏症反応の報告（Darmon P *et al.*, *Diabetes Care* 2005; 28: 2980、Sokup A *et al.*, *Ginekol Pol* 2005; 76: 403-8）等から、2006年1月に Company Core Data Sheet が改訂されたことに伴い、本邦においても同様に注射部位反応について添付文書において注意喚起する予定である。

機構は、本薬による注射部位反応の発現頻度は高くはないが、発現した場合には患者の QOL やインスリン治療の忍容性低下につながり、糖尿病コントロールの悪化を招く可能性もあることから、添付文書において注意喚起するとして申請者の回答は妥当であると考え。なお、製造販売後調査の中で注射部位反応の詳細についても確認し、臨床現場に適切な情報提供を行っていく必要があるものとする。

4) 体重への影響について

機構は、本剤により体重減少が認められたことについて、他のインスリン製剤とも比較しながら説明するよう求めた。

申請者は、以下のように説明した。国内で実施された第Ⅲ相試験 2 試験における体重の変化は下表のとおりであり、NN304-1476 試験の 1 型糖尿病及び NN304-1477 試験では本薬群で NPH に比し有意に体重が減少し、その差は最大で約 1 kg であった。

国内第Ⅲ相試験 2 試験における体重の変化					
		ベースライン	終了時	群間差、95%信頼区間	
		平均値±標準偏差	最小2乗平均値±標準誤差		
NN304-1476	1型	本薬群 (n=196)	58.49±9.00	58.99±0.17	-0.92、[-1.51, -0.33]
		NPH 群 (n=98)	60.33±8.43	59.91±0.24	
	2型	本薬群 (n=67)	63.28±10.90	63.47±0.28	-0.82、[-1.76, 0.11]
		NPH 群 (n=35)	63.22±11.63	64.29±0.38	
NN304-1477	2型	本薬群 (n=180)	61.19±10.80	61.26±0.18	-0.38、[-0.74, -0.02]
		NPH 群 (n=183)	59.95±10.03	61.64±0.18	

インスリンにより、細胞へのグルコース取り込みや腎臓でのナトリウム取り込みが促進され、脂肪の蓄積や体液の貯留を介した体重増加につながると考えられるが、その作用の程度はインスリン製剤により異なる可能性がある。インスリンで知られている直接的、間接的な中枢神経系への作用による食欲制御やエネルギー消費に対する影響への違いが、体重減少が誘発された理由になり得ると考える。本薬と NPH で体重の推移に差がみられた理由として、夜間低血糖が減ったことによる補食の必要性の低下、中枢における食欲制御や体液貯留量への影響も可能性として考えられるが、非臨床試験における薬剤の分布・移行の面から NPH との違いは認められていない。以上より、本薬で確認された体重増加の抑制の程度はわずかであり、患者の健康を損なうものではないと考える。

機構は、統計学的に本薬群で NPH 群に比し有意な体重減少が認められているものの、その差はわずかであり、現時点では臨床的に問題となるものではなく、むしろその影響は不明確であると考えられる。したがって、本薬の特徴として体重増加抑制を挙げることは適当ではないと考える。

(6) 高齢者及び妊婦等への使用について

① 高齢者

機構は、NN304-1476 試験及び NN304-1477 試験の結果を参考に、低血糖プロファイルについて 65 歳以上の高齢者と 65 歳以下で異なる傾向がないか検討するよう求めた。

申請者は、以下のように説明した。国内第Ⅲ相試験 2 試験における年齢別の低血糖発現率は、下表のとおりであり、いずれの試験及び対象集団（1 型糖尿病患者及び 2 型糖尿病患者）においても、65 歳以上の高齢者と 65 歳未満の症例で低血糖発現率に大きな相違はみられず、低血糖の重症度に関しても、特に 65 歳未満と同様であった。

	本薬/65 歳未満				本薬/65 歳以上			
	N	n (%)	E	Rate	N	n (%)	E	Rate
すべての低血糖								
NN304-1476 試験 (1 型)	179	166 (92.7)	7715	50.95	13	12 (92.3)	550	49.54
NN304-1476 試験 (2 型)	49	39 (79.6)	730	17.29	17	15 (88.2)	152	10.55
NN304-1477 試験 ^a	119	60 (50.4)	345	4.37	61	44 (72.1)	193	4.78
夜間低血糖								
NN304-1476 試験 (1 型)	179	124 (69.3)	1123	7.42	13	9 (69.2)	48	4.32
NN304-1476 試験 (2 型)	49	19 (38.8)	72	1.71	17	6 (35.3)	27	1.87
NN304-1477 試験 ^a	119	24 (20.2)	98	1.24	61	20 (32.8)	36	0.89

しかしながら、一般に高齢者では生理機能が低下していることが多く、低血糖が起りやすいので、用量に留意し、定期的に検査を行うなど慎重に投与する旨を他のインスリン製剤と同様に、注意喚起する予定である。

② 妊婦への投与

申請者は、本薬の妊婦への投与について、国内において 20 年以上の使用経験があり、その安全性が確立されている NPH 製剤を使用することが適当であり、本薬では妊婦への投与などの安全性が確認されていない旨の注意喚起を行う予定であると説明している。

機構は、以上の申請者の回答を了承した。なお、製造販売後において高齢者等の安全性及び有効性に関し、情報収集を行う必要があると考える。

Ⅲ. 機構による承認申請書に添付すべき資料に係る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して書面による調査が実施され、その結果、大きな問題は認められなかったことから、機構は、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書に添付すべき資料（5.3.3.1、5.3.4.2 及び 5.3.5.1）に対して GCP 実地調査を実施した。その結果、副作用情報等が速やかに実施医療機関の長に提供されていない事例、原資料と症例報告書の不整合等に関するモニタリング手順書の不遵守（以上、治験依頼者）、一部の治験実施医療機関において治験実施計画書に規定された検査等の未実施等（以上、治験実施医療機関）が認められたが、大きな問題は認められなかったことから、機構は、提出された資料に基づき審査を行うことに支障はないものと判断した。

Ⅳ. 総合評価

提出された資料から、本薬のインスリン療法が適応となる糖尿病に対する有効性は示されていると判断する。また、安全性については、既承認類薬である NPH と違いはないものと考えているが、低血糖、注射部位反応、アナフィラキシー反応、抗体産生等を含めた長期使用時の安全性については、製造販売後調査において検討する必要があると考える。

専門協議での検討を踏まえて特に問題がないと判断できる場合には、本薬のインスリン療法が適応となる糖尿病に対する効能・効果を承認して差し支えないと考える。

審査報告 (2)

平成 19 年 8 月 10 日作成

1. 申請品目

〔販売名〕	レベミル注 300、レベミル注 300 フレックスペン
〔一般名〕	インスリン デテミル (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 17 年 11 月 25 日

2. 審査内容

専門協議における検討を踏まえ、医薬品医療機器総合機構（以下、機構）で以下の点について追加で検討し、必要な対応を行った。また、医療事故防止の観点から、販売名に有効成分の含量に関する情報を付するよう申請者に求めた結果、販売名が「レベミル注」及び「レベミル注フレックスペン」から「レベミル注 300」及び「レベミル注 300 フレックスペン」に改められた。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 19 年 5 月 8 日付け「医薬品医療機器総合機構専門委員の利益相反問題への当面の対応について」1.及び 2.(1)各項に該当しない旨の申し出がなされている。

(1) 前治療 Basal インスリンから本剤へ切替える際の用量について

機構は、前治療 Basal インスリンから本剤へ切替える際の用量については、NN304-1476 試験では安全性への配慮から前治療 Basal インスリン (NPH ヒトインスリン) の 70 %とされたが、通常、インスリン製剤は患者の血糖コントロール及び副作用 (低血糖を含む) 発現の状況に応じて用量調節するものと考えられていること等から、70 %と厳格に規定するよりも患者の状態に応じて 70 %程度を目安とすることが適切と判断し、添付文書においてその旨注意喚起するよう申請者に求めた。

申請者は、用法・用量に関連する使用上の注意の項に、国内の臨床試験では、中間型インスリン製剤から本剤に変更する際、前治療の 70 %用量より開始した旨を記載するとともに、臨床試験成績の項にも同様の記載をすると回答した。

機構は、申請者の回答を了承した。

(2) 製造販売後調査について

機構は、本剤投与による注射部位反応、アナフィラキシー反応、抗体産生、低血糖、前治療 Basal インスリンから本剤へ切替えたときの用量及び投与のタイミングとその安全性及び有効性、小児、高齢者、妊産婦、腎機能障害及び肝機能障害を有する患者、経口血糖降下薬との併用における安全性及び有効性について、製造販売後調査を実施して検討するよう求めた。

申請者は、以下のように回答した。予定症例数 2000 例、観察期間 52 週間の特定使用成績調査を実施し、重篤な副作用の発現率 (特に重大な低血糖)、注射部位反応、アナフィラキシー反

応に加えて、切替え時の投与量、投与時期と投与回数、経口血糖降下薬との併用症例について情報収集する。市販後の安全性監視活動の計画として、通常の自発報告として収集される有害事象等に関する情報を監視し、定期的に分析・評価を行うことで、投与開始から有害事象の発現までの期間等の情報及び長期投与に関する情報の把握が可能である。なお、特定使用成績調査で収集された情報の集計解析結果のみでなく、これらの自発報告による情報を含め総合的に判断し、何らかの懸念が生じた場合には、これを確認・検証するための調査等を別途計画して情報収集を行う予定である。

機構は、申請者の回答を了承した。

3. 総合評価

以上の審査を踏まえ、機構は、用法・用量の記載を整備した上で、以下の効能・効果及び用法・用量で本剤を承認して差し支えないと判断する。本剤の再審査期間は8年、本剤は生物由来製品及び特定生物由来製品に該当せず、原体及び製剤は劇薬に該当すると判断する。

【効能・効果】 インスリン療法が適応となる糖尿病

【用法・用量】

〔販売名〕 レベミル注 300

通常、成人では、初期は1日1回4～20単位を専用のインスリン注入器を用いて皮下注射する。注射時刻は夕食前又は就寝前のいずれでもよいが、毎日一定とする。他のインスリン製剤との併用において、投与回数を1日2回にする場合は朝食前及び夕食前、又は朝食前及び就寝前に投与する。投与量は患者の症状及び検査所見に応じて適宜増減する。なお、他のインスリン製剤の投与量を含めた維持量は、通常1日4～80単位である。但し、必要により上記用量を超えて使用することがある。

〔販売名〕 レベミル注 300 フレックスペン

通常、成人では、初期は1日1回4～20単位を皮下注射する。注射時刻は夕食前又は就寝前のいずれでもよいが、毎日一定とする。他のインスリン製剤との併用において、投与回数を1日2回にする場合は朝食前及び夕食前、又は朝食前及び就寝前に投与する。投与量は患者の症状及び検査所見に応じて適宜増減する。なお、他のインスリン製剤の投与量を含めた維持量は、通常1日4～80単位である。但し、必要により上記用量を超えて使用することがある。