

## 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〕 エラブレース点滴静注液 6mg  
〔一 般 名〕 イデュルスルファーゼ（遺伝子組換え）  
〔申 請 者〕 ジェンザイム・ジャパン株式会社  
〔申請年月日〕 平成 19 年 1 月 31 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に該当し、再審査期間は 10 年とし、原体及び製剤ともに劇薬に該当するとされた。

日本人での投与経験が極めて限られていることから、製造販売後、一定数の症例に係るデータが集積されるまでの間は、全症例を対象に使用成績調査を実施することにより、本剤使用患者の背景情報を把握するとともに、本剤の安全性及び有効性に関するデータを早期に収集し、本剤の適正使用に必要な措置を講じるため、全例調査を行うことを承認条件とした。

## 審査報告書

平成 19 年 8 月 21 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]   | エラブレース点滴静注液 6 m g                                                                                                                                                                                                                                                 |
| [一 般 名]   | イデュルスルファーゼ（遺伝子組換え）                                                                                                                                                                                                                                                |
| [申 請 者]   | ジェンザイム・ジャパン株式会社                                                                                                                                                                                                                                                   |
| [申請年月日]   | 平成 19 年 1 月 31 日                                                                                                                                                                                                                                                  |
| [剤型・含量]   | 1 パリアル中にイデュルスルファーゼ（遺伝子組換え）を 6.0 mg 含有する点滴静注用注射剤                                                                                                                                                                                                                   |
| [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）     | ヒトイズロン酸-2-スルファターゼをコードする cDNA を導入したヒト繊維肉腫細胞 HT1080 から産生される 525 個のアミノ酸残基（ $C_{2689}H_{4051}N_{699}O_{793}S_{13}$ ；分子量：59,274.99）からなる糖タンパク質（分子量：約 76,000）                                                                                                            |
| （英 名）     | Glycoprotein (molecular weight: ca. 76,000) consisting of 525 amino acid residues ( $C_{2689}H_{4051}N_{699}O_{793}S_{13}$ ; molecular weight: 59,274.99), produced in HT1080 human fibrosarcoma cells transfected with cDNA encoding human iduronate-2-sulfatase |
| [特 記 事 項] | 希少疾病用医薬品                                                                                                                                                                                                                                                          |
| [審査担当部]   | 新薬審査第四部                                                                                                                                                                                                                                                           |

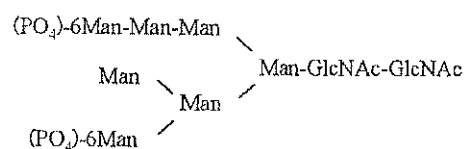
## アミノ酸配列

Ser-Glu-Thr-Gln-Ala-Asn<sup>\*1</sup>-Ser-Thr-Thr-Asp-Ala-Leu-Asn-Val-Leu-Leu-Ile-Ile-Val-Asp-  
 Asp-Leu-Arg-Pro-Ser-Leu-Gly-Cys-Tyr-Gly-Asp-Lys-Leu-Val-Arg-Ser-Pro-Asn-Ile-Asp-  
 Gln-Leu-Ala-Ser-His-Ser-Leu-Leu-Phe-Gln-Asn-Ala-Phe-Ala-Gln-Gln-Ala-Val-Cys<sup>\*2</sup>-Ala-  
 Pro-Ser-Arg-Val-Ser-Phe-Leu-Thr-Gly-Arg-Arg-Pro-Asp-Thr-Thr-Arg-Leu-Tyr-Asp-Phe-  
 Asn-Ser-Tyr-Trp-Arg-Val-His-Ala-Gly-Asn<sup>90</sup><sup>\*1</sup>-Phe-Ser-Thr-Ile-Pro-Gln-Tyr-Phe-Lys-Glu-  
 Asn-Gly-Tyr-Val-Thr-Met-Ser-Val-Gly-Lys-Val-Phe-His-Pro-Gly-Ile-Ser-Ser-Asn<sup>119</sup><sup>\*1</sup>-His-  
 Thr-Asp-Asp-Ser-Pro-Tyr-Ser-Trp-Ser-Phe-Pro-Pro-Tyr-His-Pro-Ser-Ser-Glu-Lys-Tyr-  
 Glu-Asn-Thr-Lys-Thr-Cys-Arg-Gly-Pro-Asp-Gly-Glu-Leu-His-Ala-Asn-Leu-Leu-Cys-Pro-  
 Val-Asp-Val-Leu-Asp-Val-Pro-Glu-Gly-Thr-Leu-Pro-Asp-Lys-Gln-Ser-Thr-Glu-Gln-Ala-  
 Ile-Gln-Leu-Leu-Glu-Lys-Met-Lys-Thr-Ser-Ala-Ser-Pro-Phe-Phe-Leu-Ala-Val-Gly-Tyr-  
 His-Lys-Pro-His-Ile-Pro-Phe-Arg-Tyr-Pro-Lys-Glu-Phe-Gln-Lys-Leu-Tyr-Pro-Leu-Glu-  
 Asn<sup>221</sup><sup>\*1</sup>-Ile-Thr-Leu-Ala-Pro-Asp-Pro-Glu-Val-Pro-Asp-Gly-Leu-Pro-Pro-Val-Ala-Tyr-Asn-  
 Pro-Trp-Met-Asp-Ile-Arg-Gln-Arg-Glu-Asp-Val-Gln-Ala-Leu-Asn<sup>255</sup><sup>\*1</sup>-Ile-Ser-Val-Pro-Tyr-  
 Gly-Pro-Ile-Pro-Val-Asp-Phe-Gln-Arg-Lys-Ile-Arg-Gln-Ser-Tyr-Phe-Ala-Ser-Val-Ser-  
 Tyr-Leu-Asp-Thr-Gln-Val-Gly-Arg-Leu-Leu-Ser-Ala-Leu-Asp-Asp-Leu-Gln-Leu-Ala-Asn<sup>300</sup><sup>\*1</sup>-  
 Ser-Thr-Ile-Ile-Ala-Phe-Thr-Ser-Asp-His-Gly-Trp-Ala-Leu-Gly-Glu-His-Gly-Glu-Trp-  
 Ala-Lys-Tyr-Ser-Asn-Phe-Asp-Val-Ala-Thr-His-Val-Pro-Leu-Ile-Phe-Tyr-Val-Pro-Gly-  
 Arg-Thr-Ala-Ser-Leu-Pro-Glu-Ala-Gly-Glu-Lys-Leu-Phe-Pro-Tyr-Leu-Asp-Pro-Phe-Asp-  
 Ser-Ala-Ser-Gln-Leu-Met-Glu-Pro-Gly-Arg-Gln-Ser-Met-Asp-Leu-Val-Glu-Leu-Val-Ser-  
 Leu-Phe-Pro-Thr-Leu-Ala-Gly-Leu-Ala-Gly-Leu-Gln-Val-Pro-Pro-Arg-Cys-Pro-Val-Pro-  
 Ser-Phe-His-Val-Glu-Leu-Cys-Arg-Glu-Gly-Lys-Asn-Leu-Leu-Lys-His-Phe-Arg-Phe-Arg-  
 Asp-Leu-Glu-Glu-Asp-Pro-Tyr-Leu-Pro-Gly-Asn-Pro-Arg-Glu-Leu-Ile-Ala-Tyr-Ser-Gln-  
 Tyr-Pro-Arg-Pro-Ser-Asp-Ile-Pro-Gln-Trp-Asn-Ser-Asp-Lys-Pro-Ser-Leu-Lys-Asp-Ile-  
 Lys-Ile-Met-Gly-Tyr-Ser-Ile-Arg-Thr-Ile-Asp-Tyr-Arg-Tyr-Thr-Val-Trp-Val-Gly-Phe-  
 Asn-Pro-Asp-Glu-Phe-Leu-Ala-Asn<sup>488</sup><sup>\*1</sup>-Phe-Ser-Asp-Ile-His-Ala-Gly-Glu-Leu-Tyr-Phe-Val-  
 Asp-Ser-Asp-Pro-Leu-Gln-Asp-His-Asn-Met-Tyr-Asn<sup>512</sup><sup>\*1</sup>-Asp-Ser-Gln-Gly-Gly-Asp-Leu-Phe-  
 Gln-Leu-Leu-Met-Pro

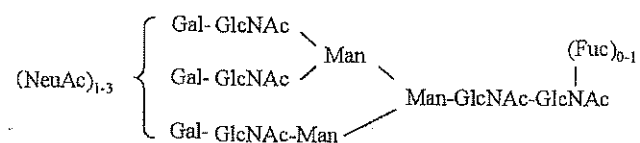
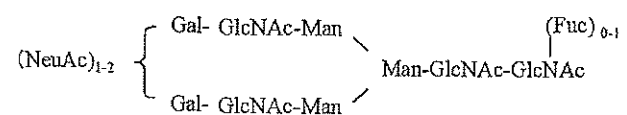
\*<sup>1</sup> 糖鎖結合部位    \*<sup>2</sup> ホルミルグリシン

## 推定主要糖鎖構造

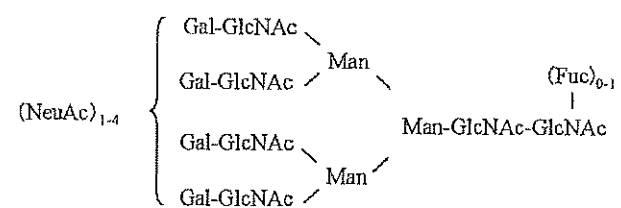
Asn221 &amp; Asn255



Asn90 &amp; Asn119



Asn6 , Asn300 , Asn488 &amp; Asn512



GlcNAc : N-アセチルグルコサミン  
 Fuc : フコース  
 NeuAc : N-アセチルノイラミン酸  
 Man : マンノース  
 Gal : ガラクトース  
 PO4 : リン酸基

## 審査結果

平成 19 年 8 月 21 日

[販 売 名] エラプレース点滴静注液 6 m g  
[一 般 名] イデュルスルファーゼ（遺伝子組換え）  
[申 請 者] ジェンザイム・ジャパン株式会社  
[申請年月日] 平成 19 年 1 月 31 日  
[特 記 事 項] 希少疾病用医薬品  
[審 査 結 果]

本剤のムコ多糖症Ⅱ型（MPSⅡ）に対する有効性については、本剤が希少疾病用医薬品に指定されており、対象疾患の患者数が極めて限られていることから、一定の限界はあるものの、TKT008 試験及び TKT024 試験（日本人患者 4 例を含む）において検討された尿中グリコサミノグリカン濃度の変化量及び 2 成分合成スコア（6 分間歩行試験の歩行距離及び％FVC のベースラインから 53 週時の変化量の順位和から構成される）等の成績から示唆されているものと考ええる。また、安全性については、提出された資料からは大きな問題はないものと考ええる。ただし、海外の治験症例数も多くないこと、国内での検討症例が、継続提供試験（TKT031NPU 試験）による 4 例及び倫理供給プログラムにおける医師主導による臨床研究（Japan Elaprase Treatment-Idursulfase 酵素補充療法）による 7 例の合計 11 例と極めて少ないことから、その評価には限界があるものと考ええる。特に、抗体産生が本剤の有効性及び安全性に及ぼす影響について現時点で不明確であること、infusion-related adverse reaction（IRAR）\*が多くの症例で認められているが、重篤な IRAR の頻度等に関する情報が少ないことから、本剤投与は原則として本疾患に精通した医師により行われ、必要に応じて抗ヒスタミン剤及び副腎皮質ホルモン剤の事前投与、投与速度の減速、一時的な投与中止等を行うことが必要であるものと考ええる。また、真のエンドポイントである生存期間の延長、抗体産生が本剤の有効性及び安全性に及ぼす影響等については、十分に検討されていないことから、製造販売後には本剤を投与した全症例を対象に安全性及び有効性に関する調査を行い、情報を集積した上で、本剤の適正使用に係る措置を講ずる必要があるものと考ええる。

MPSⅡは、希少疾病であり日本人患者数が非常に少ないこと、生命を脅かす疾患であること等から、第 10 回未承認薬使用問題検討会議（2006 年 10 月）において、日本人患者 4 名を含む海外臨床試験成績による可及的すみやかな承認申請を行うことが妥当であると判断されている。さらに、本疾患の既存治療法は対症療法や造血幹細胞移植等であり、患者において不足している酵素を本剤投与により補充することは、現時点で病態に即した唯一の治療法として待たれているところであり、本剤を承認する意義はあるものと考ええる。

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、以下に示す効能・

\* 本報告書及び申請資料では Infusion-related adverse reaction（IRAR）、添付文書では Infusion associated reaction（IAR）であり、同義に使用されている。

効果に関連する使用上の注意及び承認条件を付した上で、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】                      ムコ多糖症Ⅱ型

＜効能・効果に関連する使用上の注意＞

中枢神経系症状に対する有効性は認められていない。

【用法・用量】                      通常、イデュルスルファーゼ（遺伝子組換え）として、1回体重1 kg あたり 0.5 mg を週1回点滴静脈内投与する。

【承認条件】

日本人での投与経験が極めて限られていることから、製造販売後、一定数の症例に係るデータが集積されるまでの間は、全症例を対象に使用成績調査を実施することにより、本剤使用患者の背景情報を把握するとともに、本剤の安全性及び有効性に関するデータを早期に収集し、本剤の適正使用に必要な措置を講じること。

## 審査報告 (I)

平成 19 年 8 月 1 日

### I. 申請品目

|            |                                                                 |
|------------|-----------------------------------------------------------------|
| 〔販 売 名〕    | エラブレース点滴静注液 6 mg                                                |
| 〔一 般 名〕    | イデュルスルファーゼ（遺伝子組換え）                                              |
| 〔申 請 者 名〕  | ジェンザイム・ジャパン株式会社                                                 |
| 〔申請年月日〕    | 平成 19 年 1 月 31 日                                                |
| 〔剤型・含量〕    | 1 バイアル中にイデュルスルファーゼ（遺伝子組換え）を 6.0 mg 含有する点滴静注用注射剤                 |
| 〔申請時効能・効果〕 | ムコ多糖症Ⅱ型                                                         |
| 〔申請時用法・用量〕 | 通常、イデュルスルファーゼ（遺伝子組換え）として、1 回体重 1 kg あたり 0.5 mg を週 1 回点滴静脈内投与する。 |
| 〔特 記 事 項〕  | 希少疾病用医薬品                                                        |

### II. 提出された資料及び独立行政法人医薬品医療機器総合機構（以下、「機構」という。）における審査の概略

#### 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

ムコ多糖症Ⅱ型（MPSⅡ）は、ハンター病とも呼ばれる X 連鎖性劣性遺伝性の疾患であり、本疾患患者においては、グリコサミノグリカン（GAG）に属するヘパラン硫酸及びデルマタン硫酸の非還元末端 2-スルホ-イズロン酸の硫酸基を分解するリソソーム酵素であるイズロン酸-2-スルファターゼ（iduronate-2-sulfatase, I2S）が欠損又は酵素活性が低下していることにより、ヘパラン硫酸及びデルマタン硫酸が体内のリソソームに蓄積し、細胞腫脹、臓器肥大、細胞死、細胞破壊及びその他臓器機能障害が発現する。また、ほぼ全器官及び身体組織に GAG が進行性に蓄積するため、全身性機能不全を生ずる。その症状は、成長とともに進行し重症化するため、患者の寿命は短い。本疾患の発症率は、出生児 162,000 人に 1 人程度と推定されている。

MPSⅡの臨床症状は個人差が極めて大きく、初期の臨床像や、临床上、最も大きな問題となる機能障害を生じる器官、病態の進行は患者により様々である。その徴候又は症状は通常 2.5 ～4.5 歳で発現し、より重篤な臨床経過を辿ることが多いとされている。最も一般的な徴候及び症状は精神発達の遅延、舌の肥大、異常顔貌、難聴、歯列異常、拘束性肺疾患、肝脾腫大、心臓弁膜症、関節可動域の制限、骨格変形及び高度の低身長、重度の気道閉塞であり、さらに肺機能低下及び睡眠時無呼吸が引き起こされる。また、骨疾患、呼吸機能低下及び睡眠時無呼吸が合併し、時に心機能低下が加わると、慢性的な重度の持久力低下をきたし、若齢で完全な介護が必要となる。疾患の後期には GAG の持続的な蓄積により、進行性の機能不全を生ずる。中枢神経系の組織に GAG が蓄積した場合には、重度の精神発達遅延及び進行性の神経機能衰退が発現し、交通性水頭症及び頭蓋内圧の上昇によってさらに増悪することが多い。患者は、呼吸不全や心不全などにより、20～30 歳代で死亡するとされている。

MPSⅡの現在の主な治療法は対症療法であり、臨床症状の改善に焦点が置かれている。I2S

発現能を有するドナー細胞の供給法として、造血幹細胞移植（HSCT）が考えられているが、治療成績にばらつきがあり、危険性は高いとされている。また、長期的追跡調査の報告は少なく、通常の治療には推奨されない状況である。

エラブレース点滴静注液 6 mg（以下、本剤）は、有効成分としてヒト I2S と同じアミノ酸配列を有するイデュルスルファーゼ（遺伝子組換え）（以下、本薬）を含有する点滴静注用注射剤であり、米国において、Trans Karyotic Therapies, Inc.（マサチューセッツ州、TKT 社）、現 Shire Human Genetic Therapies, Inc.（英国、Shire HGT 社）により、MPSⅡ治療薬として開発された。2001 年 11 月 28 日に米国で、また、2001 年 12 月 11 日に EU で希少疾病用医薬品に指定されている。その後、米国で 2004 年 7 月 14 日に優先承認審査薬に指定され、2006 年 7 月 24 日に承認されたのを始め、2007 年 7 月現在、EU、スイス及びカナダで承認されている。

今般、申請者は、日本人患者数が非常に少なく、当該疾患が生命を脅かす疾患であり、可及的速やかな保険適用が望まれることから、2006 年 10 月 27 日に開催された第 10 回未承認薬使用問題検討会議において、日本人患者 4 名を含む海外臨床試験成績による承認申請を行うことが倫理上妥当であるとする検討結果が示されたこと、2006 年 12 月に希少疾病用医薬品に指定されたことを踏まえ、2007 年 1 月、MPSⅡに対する治療薬として製造販売承認申請を行った。なお、欧米諸国では Shire HGT 社が製造・販売し、本邦ではジェンザイム・ジャパン株式会社が輸入及び販売を行うこととされている。

## 2. 品質に関する資料

### <提出された資料の概略>

本薬は、ヒト Iduronate-2-sulfatase (I2S) をコードする cDNA を遺伝子導入したヒト線維肉腫細胞（HT1080 細胞株）で産生される 525 個のアミノ酸（ $C_{2689}H_{4051}N_{699}O_{793}S_{13}$ 、59,274.99Da）からなる糖たん白質（約 76,000Da）である。シングルペプチドの 8 カ所（Asn-6、Asn-90、Asn-119、Asn-221、Asn-255、Asn-300、Asn-488、Asn-512）に N 結合型糖鎖（高マンノース型、複合型又は混成型）を有しており、マンノース-6-リン酸（M6P）は Asn-221 及び Asn-255 に認められる。また、6 個の Cys 残基のうち、Cys-146 と Cys-159 及び Cys-397 と Cys-407 がジスルフィド結合し、Cys-28 及び Cys-59 はフリーであるが、Cys-59 の一部はホルミルグリシン型である。

### （1）原薬の製造方法

#### 1) セルバンクシステムの構築

I2S の cDNA は、ヒト XXXXXXXXXX cDNA ライブラリーからクローニングされた。これを、XXXXXXXXXX cDNA XXXXXXXXXX を除去した XXXXXXXXXX に組み入れることにより、ヒト I2S 発現ベクター（XXXXXXXXXX）が構築された。XXXXXXXXXX は、エレクトロポレーション法により HT1080 細胞株に導入され、XXXXXXXXXX（XXXXXXXXXX）を用いた選択を経て、形質転換細胞（XXXXXXXXXX）が樹立された。これよりマスターセルバンク（MCB）が調製され、また、この MCB からワーキングセルバンク（WCB）が調製された。

#### 2) セルバンクの性質及び管理

研究用セルバンク（RCB）、MCB、WCB 及び生産培養終了後細胞（EPC）について特性解析及び純度試験が行われている。

RCB、MCB、WCB 及び EPC の特性解析として、ゲノム DNA（サザンブロットハイブリダイゼーション）、I2S 遺伝子コピー数（サザンブロットハイブリダイゼーション）、I2S cDNA 配列（XXXXXXXXXX）、I2S mRNA 解析（ノザンブロットティング）、ヒト細胞同定、XXXXXXXXXX細胞株同定、Idursulfase 活性、生育能について検討がなされた。サザンブロットハイブリダイゼーションの結果、RCB のゲノム DNA より、発現プラスミドもしくは内在性 I2S 遺伝子に由来すると思われる予期されたバンドが検出され、MCB、WCB 及び EPC のそのパターンは RCB と同じであり、RCB の I2S 遺伝子コピー数は約 XXXX コピーであった。MCB、WCB 及び EPC の I2S cDNA 配列は遺伝子導入した I2S cDNA と同一であり、MCB の I2S mRNA を解析した結果、予想される位置に単一のバンドが検出された。MCB、WCB 及び EPC のアイソザイム分析の結果、いずれもヒト細胞であり、また、細胞株同定の結果、XXXXXXXXXX細胞株であることが確認された。Idursulfase 活性は EPC で、生育能は MCB 及び WCB でのみ評価された。

MCB、WCB 及び EPC の純度試験として、無菌試験、マイコプラズマ否定試験（培養法、DNA 染色法）、レトロウイルス（定量的透過電顕法、生成物増強逆転写酵素法（PERT）、ヒト細胞との共培養）、外来性感感染性物質 *in vitro* 試験（MRC-5、Vero、HeLa 及び HT1080 細胞株に接種）、外来性感感染性物質 *in vivo* 試験（授乳マウス、モルモット及び胚含有鶏卵に接種）が実施され、EPC については、微生物限度試験も実施された。また、MCB では、ウシウイルス（ウシ由来ウイルス<sup>\*1</sup>）、ブタウイルス（ブタ由来ウイルス<sup>\*2</sup>、ブタパルボウイルス（PPV））、ヒトウイルス（ヒトアデノ関連ウイルス、ヒトアデノウイルス、エプスタイン-バーウイルス、A 型肝炎、B 型肝炎、C 型肝炎、ヒトサイトメガロウイルス、ヒトヘルペスウイルス-6、-7、-8、ヒト免疫不全ウイルス、HIV-1、-2、ヒト乳頭腫ウイルス、ヒトパルボウイルス B19、ヒト T 細胞白血病ウイルス I 型及び II 型）、サルウイルス（サル免疫不全ウイルス、サルスプマウイルス（泡沫状）、リスザルレトロウイルス、サル T 細胞白血病ウイルス）について、WCB では、ウシウイルス（ウシ由来ウイルス<sup>\*1</sup>）について、EPC でウシウイルス（ウシ由来ウイルス<sup>\*1</sup>、ウシポリオーマウイルス）、ブタウイルス（ブタ由来ウイルス<sup>\*2</sup>）について、いずれも試験を行った範囲で検出可能な感染性物質に汚染されていないことが確認されている。

WCB の更新は、現行のセルバンク（XXXXXXXXXX）と同様の調製法、規格及び試験方法に準じる。セルバンクの保存中の品質確認として、XXXX年ごとに MCB 及び WCB の生存率及び増殖能を評価し、加えて XXXX年ごとに MCB の cDNA 塩基配列を評価する。なお、MCB XXXXバイアルから XXXX年間の製造を賄う WCB の製造が可能であり、MCB の保存は、危険分散のために XXXXカ所の施設に保存している。MCB の更新をする予定はなく、更新方法は規定されていない。

### 3) 培養工程

<sup>\*1</sup> ウシ由来ウイルス（9CFR Part 113.53 に従い評価した。評価ウイルス：ウシウイルス性下痢症ウイルス（BVDV）、ウシパルボウイルス（BPV）、ウシアデノウイルス（BAV）、ウシブルータングウイルス（BTV）、ウシ呼吸器合胞体ウイルス（BRSV）、レオウイルス（Reo3）、狂犬病ウイルス）

<sup>\*2</sup> ブタ由来ウイルス（9CFR Part 113.53 に従い評価した。評価可能ウイルス：ブタエンテロウイルス、仮性狂犬病ウイルス（PRV）、ブタ伝染性胃腸炎ウイルス（TGE）、水泡性口内炎ウイルス（VSV）、ワクシニアウイルス、レオウイルス、アデノウイルス、コクサッキー B ウイルス）

WCB バイアルを融解後、増殖培養液 ( g/L DMEM 培地、 g/L 重炭酸ナトリウム、 % ウシ血清) で種培養及び拡大培養を行う。拡大培養工程では、 L ローラーボトルの本数を 段階で増加させる。

生産培養では、増殖培養液を除去したのち生産培養液 ( g/L DMEM/ 培地、 g/L 重炭酸ナトリウム、 % ウシ血清) を添加し、 L ローラーボトル最大 本で ～ 日間培養して、その培養液を回収する (ハーベスト液)。生産培養液添加及びハーベスト液の回収は、最大で 回行う。ハーベスト液は、孔径  $\mu\text{m}$  でろ過後、分画分子量 kDa で限外ろ過し濃縮した後 (ハーベスト工程)、ポリエチレンバックに収集し、未精製原薬とする。なお、未精製原薬の有効期間は、 $\pm$  で ヵ月とされた (凍結工程)。

重要工程は、種培養工程、拡大培養工程、生産培養工程及びハーベスト工程とされた。工程内管理試験として、種培養工程では、 バイアルに対し細胞数試験及び生存率が、細胞懸濁液に対しローラーボトルあたりの が設定されている。拡大培養工程では、 に対し外観試験が、細胞懸濁液に対し細胞数試験が設定され、生産培養工程では、増殖培養液 のローラーボトルに対し外観試験が設定されている。ハーベスト工程では、ハーベスト液 ローラーボトルに対し外観試験及び ローラーボトル数が、ハーベスト液に対し微生物限度試験及び Idursulfase 活性測定が、ハーベスト工程最終日ハーベスト液に対しマイコプラズマ否定試験、逆転写酵素活性試験、ウシ由来ウイルス\*1 否定試験及び *in vitro* 外来性感感染性物質試験 (細胞変性効果、赤血球吸着、赤血球凝集)、 に対してフィルター完全性試験が設定され、 の未精製原薬に対し Idursulfase 活性及び微生物限度試験が設定されている。

培養工程のプロセス評価として、連続した ロットの各培養ステップにおいて、細胞生存率、総細胞数及び微生物汚染の有無について評価がなされている。生産培養工程では、ハーベスト液について、マイコプラズマ及びウイルス (ウシ由来ウイルス\*1、*in vitro* 外来性ウイルス及び逆転写酵素活性) 汚染が無いことが確認されている。また、ハーベスト工程のプロセス評価として、未精製原薬について、Idursulfase 活性、微生物限度試験、 の Idursulfase 活性及びたん白質濃度の評価がなされている。

#### 4) 精製工程

凍結した未精製原薬を  $\pm$  °C で融解し、プールする。 mol/L 酢酸ナトリウム (pH ) で pH  $\pm$  に調整しろ過した後、 mol/L 塩化ナトリウムを添加する (最終濃度 : mol/L)。これを イオン交換カラム、 カラム、アフィニティーカラムで順次精製し、その回収液を分画分子量 kDa の限外ろ過・ダイアフィルトレーションにより濃縮後ろ過する。これを イオン交換カラム、疎水性カラムで精製後、pH を 以上に調整し、限外ろ過 (分画分子量 kDa) により濃縮後、ろ過する。さらに、サイズ排除 (SEC) カラムで精製し、ろ過後、孔径 nm のウイルス除去フィルターに通液し、リン酸ナトリウム緩衝液 ( mol/L リン酸ナトリウム、 mol/L 、pH ) でたん白質濃度を ～ mg/mL に希釈したのち、 % ポリソルベート 20 を添加 (最終濃度 vol%) し、ろ過したものを原薬とし、 製保管容器 ( L) に充填する。原薬は、 $-75 \pm 10^\circ\text{C}$

で保存する。なお、本剤の製造には[ ]は想定されていない。

重要工程は、[ ]イオン交換カラム工程、[ ]カラム工程、アフィニティーカラム工程、[ ]イオン交換カラム工程、疎水性カラム工程、SEC カラム工程、ウイルス除去工程及びその後の濃度調整、[ ] %ポリソルベート 20 添加工程並びに原薬充填工程とされた。工程内管理試験として、陰イオン交換カラム工程では、総たん白質回収率、総たん白質含量、Idursulfase 活性、微生物限度試験及びエンドトキシンが設定されている。[ ]カラム工程では、総たん白質回収率、総たん白質含量及び微生物限度試験が設定されている。アフィニティーカラム工程では、総たん白質回収率、総たん白質含量及び微生物限度試験が、[ ]イオン交換カラム工程では、総たん白質回収率、総たん白質含量及び微生物限度試験が、疎水性カラム工程では、総たん白質回収率、総たん白質含量及び SDS-PAGE（銀染色）が、SEC カラム工程では、総たん白質回収率、[ ]量、微生物限度試験及びエンドトキシンが、ウイルス除去フィルター（孔径 [ ] nm）通液及び原薬調製の工程では、総たん白質回収率、総たん白質含量及びフィルター完全性試験が、原薬の充填工程では、フィルター完全性試験及び Idursulfase 活性回収率が設定されている。

また、カラム樹脂の寿命及び再使用バリデーションについて、たん白質回収率を基に検討がなされ、[ ]イオン交換カラム樹脂、[ ]カラム樹脂、アフィニティーカラム樹脂、[ ]イオン交換カラム樹脂、疎水性カラム樹脂及び SEC カラム樹脂の再使用回数上限が定められた。[ ]回目の再使用カラムを用いて製造した原薬は、規格に適合した。さらに、新規及び使用済み樹脂間で、ウイルスクリアランス効率に顕著な差は認められていない（5）外来性感染性物質の安全性評価の項参照）。

精製工程のプロセス評価として、連続した原薬 [ ]ロットにおいて、①精製工程のバリデーション、②中間体の微生物学的完全性に関するバリデーション及び③原薬充填工程のバリデーションについて、以下のような評価がなされている。

①全工程で不純物CC\*、不純物EE\*、不純物DD\*、不純物AA\*、不純物BB\*

が評価され、各カラム工程（[ ]イオン交換カラム、[ ]カラム、アフィニティーカラム、[ ]イオン交換カラム、疎水性カラム、SEC カラム）についてたん白質回収率及びそれらのカラム回収液について回収液量が評価された。さらに、精製工程中間体について、[ ]±[ ]℃及び [ ]±[ ]℃保存条件下での、力価、純度、含量及びその他の品質特性を評価することにより、中間体の安定性保持可能時間が定められた。

②[ ]イオン交換カラム溶出液、[ ]作用カラム溶出液、アフィニティーカラム回収流出液、[ ]イオン交換カラム回収流出液、疎水性カラム溶出回収液及び SEC カラム溶出回収液を [ ]±[ ]℃で [ ]日間保存して微生物限度試験を行ったところ、微生物は検出されなかった。

③原薬充填工程のプロセス評価として、充填後原薬の総たん白質含量及び [ ]濃度の均一性を評価したところ、充填開始時の試料中の [ ]濃度が、原薬規格試験の規格値より [ ]値であり、ろ過フィルターに吸着した可能性が考えられたことから、フィルターを事前に洗浄して検証した。その結果を踏まえ、原薬のろ過前に [ ]緩衝液によるフィルターの事前洗浄を実施することとされた。

\*:新薬承認情報提供時に置き換えた。

## 5) 外来性感感染性物質の安全性評価

生物由来原材料として、MCB 及び WCB 調製時にウシ胎児血清 (FBS) (米国) を、生産培養細胞培養工程にウシ血清 (ニュージーランド) を使用している。FBS は使用前に 56℃、30 分間処理し、ウシ血清は供給元でγ線照射されている。

細胞剥離のためにブタ膵臓由来トリプシン (MCB 及び WCB 調製時は米国、カナダ又はデンマーク産、生産培養 (種培養及び拡大培養) 時は米国又はカナダ産) が使用されているが、いずれも生物由来原料基準に適合しており、乳糖と混合後、25 kGy 以上のγ線照射が行われる。

精製工程のウイルスクリアランス能は、ICH ガイドライン Q5A (平成 12 年 2 月 22 日医薬審第 329 号「ヒト又は動物細胞株を用いて製造されるバイオテクノロジー応用医薬品のウイルス安全性評価」について) に従い、スパイクしたウイルスの力価を測定することにより、表に示す 3 工程が評価された。また、カラムクロマトグラフィー工程では、新規及び使用済み樹脂でのウイルスクリアランス能が評価された。

以上、可能な限りウイルスフリーが確認されたセルバンク及び原材料を使用していること並びに原薬精製工程のウイルスクリアランス効率から、最終製剤がウイルスに汚染されるリスクは極めて低いとされた。

表 実生産原薬精製工程ウイルスクリアランス効率 (Log<sub>10</sub>)

|                         |               | Log <sub>10</sub> クリアランス (±95 %信頼区間) |      |                 |     |                 |
|-------------------------|---------------|--------------------------------------|------|-----------------|-----|-----------------|
|                         |               | A-MuLV                               | BVDV | PPV             | PRV | Reo3            |
| イオン相互作用カラム              | 新規樹脂          | ND                                   | ND   | ND              | ND  | ND <sup>a</sup> |
|                         | 使用済み樹脂 (サイクル) | ND                                   | ND   | ND              | ND  | ND <sup>a</sup> |
| 疎水性カラム                  | 新規樹脂          | ND                                   | ND   | ND <sup>a</sup> | ND  | ND              |
|                         | 使用済み樹脂 (サイクル) | ND                                   | ND   | ND <sup>a</sup> | ND  | ND              |
| ウイルス除去フィルター             | 初回試験          | ND                                   | ND   | ND              | ND  | ND              |
| 累積クリアランス効率 <sup>a</sup> |               | >12                                  | 10   | >5.5            | >10 | >11             |

ND：試験を実施せず

A-MuLV：両指向性マウス白血病ウイルス、BVDV：ウシウイルス性下痢症ウイルス、PPV：ブタパルボウイルス、PRV：仮性狂犬病ウイルス、Reo3：レオウイルス

<sup>a</sup>LRV<1 は、累積クリアランス効率の算出には使用しない。

太字の数値を累積クリアランス効率の算出に使用した。

## 6) 製造工程の開発の経緯 (同等性/同質性)

本剤は希少疾病用医薬品であるため、比較的小規模のスケールで開発されたが (Ⅰ/Ⅱ相スケール)、製品の需要拡大に対応するために、製造規模が計 3 回拡大された (Ⅱ/Ⅲ相スケール、実生産スケール)。

各スケールで製造した本薬について、製造工程間の同等性を検討するため、品質特性試験 (構造特性解析の他、Ⅱ/Ⅲ相スケール製造時の原薬の規格試験及び追加特性解析) 及び非臨床試験が実施され、Ⅱ/Ⅲ相及び実生産スケール工程間では、薬物動態学的パラメータに関する臨床的評価も併せて行なわれた。

I/II相スケールからII/III相スケールへの移行における主要な変更点は、①培養規模の拡大（ローラーボトルからローラーボトル）、②WCBの採用（セルバンクシステムの導入）、③増殖培養液に放射線照射ウシ血清の使用、④血清濃度の低下（%から%）であり、精製工程では、⑤イオン交換及びカラムのカラム容量の増大、⑥カラム工程と濃縮工程のの最適化、⑦原薬及び濃度の最適化及び⑧原薬温度の変更であった。

本薬の触媒活性に必須なホルミルグリシンの含有率は、II/III相スケールロットでは%であり、I/II相スケールロット（%）より高く、また、比活性は倍程度上昇していた。他の試験結果についてはI/II相スケールロットと同様であった。I/II相製剤及びII/III相原薬を使用したマウスでの本薬の組織分布又薬理学的性質（組織蓄積GAGクリアランス能）は同様であったことから、比活性の差異は、本薬の生体内作用には顕著な影響を及ぼさないとされた。その他の品質特性及び非臨床比較試験の結果、II/III相スケールへの製造変更は、本薬の安全性及び生物学的活性に関する品質特性には顕著な影響を及ぼさなかったと判断されている。

II/III相スケールから実生産スケールに移行する際の主要変更点は、①培養規模の拡大（ローラーボトルから最大ローラーボトル）及び②ハーベスト工程の工程の削除であり、精製工程では、③各カラムの増大及びカラム工程のの最適化、④中間体のにおける保持時間の、未精製原薬の℃での融解が可能な工程の変更、⑤原薬の及びへの工程（ $\mu\text{m}$ ）の追加であった。実生産スケールロットは、II/III相臨床試験用原薬と同様の構造特性、純度及び力価を有することが示された。II/III相及び実生産スケール間で製剤の製造工程に変更はなかったため、製剤の規格試験のみ評価された。また、長期保存試験、加速及び苛酷試験が実施され、結果よりII/III相及び実生産スケールロットは同等・同質であり、安定性プロファイルに変化が無いことが確認された。

## （2）原薬

### 1）構造・組成

特性解析として、一次構造（アミノ酸組成、N末端及びC末端の配列、ペプチドマップ）、二次及び三次構造（遊離チオール及びジスルフィド含量、CDスペクトル、示差走査熱量測定計（DSC））、他の生物物理学的特性（UVスペクトル、吸光係数）、糖鎖構造（シアル酸含量、M6P含量、単糖組成、高速陰イオン交換クロマトグラフィーパルスアンペロメトリー検出法（HPAEC-PAD）による糖鎖構造解析、部位特異的糖鎖構造）、電荷分布（等電点電気泳動、強陰イオン交換高速液体クロマトグラフィー（SAX））、分子量（SDS-PAGE（銀染色）、ウェスタンブロッティング、SEC-HPLC、マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間質量分析（MALDI-TOF MS）、超遠心分離）、生物活性（ホルミルグリシン比率及び比活性、ヒト線維芽細胞 細胞内取り込み、線維芽細胞GAGクリアランス）について検討された。また、切断型Idursulfase及び強制分解試験（凝集、酸化、脱アミド化、光分解、分解（pH、℃への暴露）、糖鎖構造安定性）についても検討されている。不純物としては、目的物質関連物質（切断型Idursulfase）、目的物質由来不純物（不活性型、その他の目的物質由来不純物）、工程由来不純物（宿主細胞由来不純物（不純物AA\*、不純物BB\*）、ウシ血清由来不純物（不純物CC\*、不純物DD\*

\*:新薬承認情報提供時に置き換えた。

、不純物EE\* ) 及び精製工程由来不純物 ( 不純物FF\* ) について検討された。

#### ① 一次構造

アミノ酸組成は、Ser及びThrは酸加水分解で部分分解されるため、理論値と実測値に差が生じたが、その他のアミノ酸のモル%は理論値と一致した。N末端アミノ酸配列について不均一性は認められず、予想される配列と一致しており、C末端アミノ酸配列については、■又は■アミノ酸欠損ペプチドは、いずれも完全長のC末端ペプチドの■%未満であった。また、ペプチドマップによりアミノ酸配列が確認された。

#### ② 二次及び三次構造

Cys6残基のうち4残基 (2組) がジスルフィド結合していること、また、Cys-28及びCys-59が遊離チオール基であることが確認された。Cys-59の一部はホルミルグリシン型であった。CDスペクトルより、 $\alpha$ -ヘリックス (■%)、 $\beta$ -シート/ $\beta$ -ターン (■%) 及びランダムコイル (■%) から構成されることが示唆された。また、熱変性プロファイルをDSCにより測定した結果、単一の融解温度 ( $T_m$ : ■±■°C) を示した。

#### ③ その他の生物物理学的特性

UVスペクトルは、■nm付近で最大吸収を示した。吸光係数は、■ (L/(g·cm)) であった。本薬のCys-59のホルミルグリシン比率は、■~■% (Ⅱ/Ⅲ相スケール臨床ロット) 及び■~■% (実生産スケールロット) であった。

#### ④ 糖鎖構造

Ⅱ/Ⅲ相スケール及び実生産スケール原薬のシアル酸含量は、約■~■ mol/mol Idursulfase、M6P含量は、■~■ mol/mol Idursulfaseと算出された。実生産スケール原薬の単糖組成の平均値は、GlcNAc、Man、Fuc、Gal、M6Pがそれぞれ、■ mol/mol Idursulfase、■ mol/mol Idursulfase、■ mol/mol Idursulfase、■ mol/mol Idursulfase、■ mol/mol Idursulfaseであった。

糖鎖構造について、本薬をPNGase F処理後HPAE-PADで溶出ピークを測定し、不純物DD\*

の糖鎖標準物質と比較したところ、本薬のN型結合型糖鎖は、中性、1電荷、2電荷、3電荷及び4電荷を有することが確認された。また、脱シアル化酵素処理により、1電荷及び3電荷を有するものは、それぞれモノシアル酸結合糖鎖及び単糖組成の異なるトリシアル酸結合糖鎖であることが確認された。2電荷は、ジシアル酸結合糖鎖であり、キャップ型リン酸基又は脱リン酸化酵素が作用し難い位置に1リン酸基を結合したモノ結合糖鎖を含むとされた。また、4電荷は、テトラシアル酸結合糖鎖であり、モノシアルルモノリン酸化糖鎖やジM6P結合糖鎖を含むとされた。

各Asn部位の糖鎖結合率はほぼ■%とされた。推定糖鎖構造は、Asn-6にテトラアンテナ複合型フコース結合 (■-4 Gal, 1-4 NeuAc)、Asn-90にバイ/トリアンテナ複合型フコース結合 (0-3 Gal, ■-3 NeuAc)、モノアンテナ混成型フコース結合又は未結合、Asn-119にモノ/バイ/トリ/■アンテナ複合型フコース結合又は未結合 (■-■ Gal, ■-■ NeuAc)、Asn-221にジM6P結合オリゴマンノース7、Asn-255に■%のジM6P結合オリゴマンノース7及び■%のモノリン酸結合モノアンテナ混成型フコース結合、Asn-300にテトラアンテナ複合型 (1-4 Gal, ■-4 NeuAc)、Asn-488にテトラアンテナ複合型フコース結合 (■-4 Gal, 1-4 NeuAc)、Asn-512にテトラアンテナ複合型フコース結合+■Da (未同定) ■であった。

\*:新薬承認情報提供時に置き換えた。

## ⑤ 荷電分布

IEFの結果、pI■■■■の範囲に複数のバンドからなるブロードなバンドパターンが認められたが、■■■■酵素及び■■■■酵素の共処理により、アイソフォームがほぼ消失したことから、糖鎖構造の多様性による電荷の差異であるとされた。SAXにより、最低■■種のピーク群が認められ、■■性から■■側へとピーク群の面積は減少し、後期では■■結合糖鎖の比率が高い傾向が見られた。しかし、各グループ群間で比活性に顕著な差は認められず、同様の細胞内取り込みを示したことから、同法で観察される電荷の違いは、本薬の生物活性に関しては、大きな影響を及ぼさないことが示唆された。

## ⑥ 分子量

SDS-PAGE（銀染色）及びウエスタンブロッティングでは、約■■～■■kDaに■■本の主バンドが認められた。また、SEC-HPLCを行ったのち■■■■光散乱法を行なった結果及びMALDI-TOF MSの結果から、本薬単量体の分子量は約■■kDaとされた。SEC-HPLC及び超速心分離により本薬重合体が検出されたが、その量は非常に低レベルであるとされた。

結合糖鎖の質量は、■■■■処理しMALDI-TOF MSで測定した結果、■■kDa以上であった。

## ⑦ 生物活性

本薬の酵素活性は、触媒部位であるCys-59のホルミルグリシンへの翻訳後修飾が必須であり、酵素活性とホルミルグリシン修飾には強い正の相関が認められた。

発色合成基質（■■■■）を用いた蛍光光度測定法、及び天然基質■■■■を用いた液体\*クロマトグラフィー法により求めた実生産スケール原薬（LN020\*）の比活性は、それぞれ■■U/mg（蛍光測定法）及び■■U/mg（液体\*クロマトグラフィー法）であり、この時の、ホルミルグリシンの割合は■■%であった。液体\*クロマトグラフィー法による比活性の方が、蛍光測定法より優れているため、規格及び試験方法では、イオンクロマトグラフィー法がIdursulfase活性測定法に適用された。

本薬は受容体を介して細胞内に取り込まれた後、リソソームに到達し、蓄積GAGを分解することから、ヒト線維芽細胞に取り込まれた本薬の量がELISA法により測定された。また、本薬の細胞内での活性については、■■患者由来の線維芽細胞（■■線維芽細胞）に蓄積したGAGのクリアランス能が測定された。（3. 非臨床に関する資料（i）薬理試験成績の概略 1）本薬の細胞内取り込み 及び 2）■■線維芽細胞のGAGクリアランス の項参照）

## ⑧ 不純物

### i) 目的物質関連物質

切断型Idursulfaseとして、SDS-PAGE上、約■■及び■■kDaにバンドが検出され、トリプシン様のプロテアーゼにより、Arg-■■とAsp-■■間で分解されることが示唆された。また、切断型IdursulfaseのSEC-HPLC溶出パターン及びCDスペクトルは、完全長Idursulfase（単量体）と同様のパターンを示したことから、溶液中では両分子は解離しないことが確認された。切断型Idursulfaseの活性及び細胞内への取り込みは、完全長Idursulfaseと差異はなく、また構造的にも完全長のそれと同様であった。なお、実生産製造では、工程は連続的に実施され、また必要な場合は、中間体は■■±■■℃で保存されるため、切断型はほとんど認められない（0.2 %未満）。

（「2. 品質に関する資料（1）原薬の製造方法 4）精製工程」の項参照）

\*:新薬承認情報提供時に置き換えた。