

## ii) 目的物質由来不純物

目的物質由来不純物として、本薬の重合体及び分解物はそれぞれ、0.3 %未満及び0.2 %であることが確認された。

本薬の不活性型は、酵素活性の触媒部位であるCys-59のホルミルグリシンへの翻訳後修飾を受けていないが、活性型と同様の構造特性を有する。このため、精製工程で両者を分離することは不可能であるが、ホルミルグリシン比率を規格に設定することで管理可能である。

## iii) 製造工程由来不純物

宿主細胞由来不純物として、不純物AA\*及び不純物BB\* が、ウシ血清由来不純物として不純物CC\*、不純物DD\*及び不純物EE\* が、その他クロマトグラフィー充填剤として用いられている不純物FF\* が測定された。DNA量は1投与中900 pg未満であった。その他、測定項目の値は、定量限界値未満であり、不純物CC\*については定量限界値付近であった。

## 2) 規格及び試験方法

原薬の規格及び試験方法として、性状、確認試験（ペプチドマップ、ホルミルグリシン、糖鎖プロファイル）、pH、純度試験（不純物DD\*、不純物EE\*、不純物AA\*、不純物BB\*、

Idursulfase 純度 1 (SAX)、Idursulfase 純度 2 (SDS-PAGE (銀染色))、単量体、ポリソルベート 20、シアル酸含量、エンドトキシン、微生物限度試験、細胞内取り込み、力価（比活性）及び定量法（たん白質含量）が設定された。

## 3) 原薬の安定性

原薬の安定性試験は、Ⅱ/Ⅲ相スケール原薬3ロット、パイロットスケール2ロット及び実生産スケール原薬4ロットを用いて実施され、スモールサイズ（ $\square$  mL製蓋付き、 $\square$  mL PETGバイアルに $\square$  mL充てん）で保存した試料について、性状、ペプチドマップ、SEC-HPLC、SAX、SDS-PAGE（クマシー染色）、比活性、たん白質含量、pHが測定された。

苛酷試験（ $\square \pm \square^\circ\text{C}$ 、3カ月）では、 $\square$ カ月後に、SDS-PAGEにおいて約 $\square$  kDaのマイナーバンド強度の増大が認められ、ペプチドマップにおいても微量の新規ピークが認められたが、長期保存試験（ $-75 \pm 10^\circ\text{C}$ 、36カ月）では、保存期間中に顕著な変化は認められなかった。また、加速試験（ $\square \pm \square^\circ\text{C}$ 、 $\square$ カ月）では、SEC-HPLCの結果、単量体%に緩やかな減少が観察された。

長期保存試験の結果、Ⅱ/Ⅲ相臨床ロットについて36カ月安定であることが確認されたが、実生産スケールについては、24カ月までの安定性につき確認されていることから、原薬の有効期間は、 $-75 \pm 10^\circ\text{C}$ で保存するとき、24カ月は安定とされた。なお、長期保存試験は、計画に従い、36カ月まで継続実施中である。

### (3) 製剤

#### 1) 製剤設計

本剤は、有効成分イデュルスルファーズ（遺伝子組換え）を1バイアル（3.0 mL）中に6.0 mg含有する水性注射剤で、等張化剤として塩化ナトリウム（8.0 mg/mL）、緩衝剤としてリン酸二水素ナトリウム一水和物（2.25 mg/mL）及びリン酸水素ナトリウム七水和物（0.99 mg/mL）、

\* 新薬承認情報提供時に置き換えた。

としてポリソルベート 20 (0.22 mg/mL) が添加剤として使用され、溶剤は注射用水である。本剤 I バイアルあたりの容量は 3.0 mL とされているが、3.0 mL 採取できるよう、1 バイアルあたりの充填量は約 mL である。なお、I/II 相スケール製剤の製剤処方は、本薬濃度 mg/mL、pH、mmol/L リン酸緩衝液、mmol/L 塩化ナトリウム及び vol% ポリソルベート 20 であった。II/III 相スケール製剤の製剤処方は実生産製剤の申請処方と同一である。

## 2) 製剤化工程

凍結原薬を融解後、PVDF フィルター (孔径  $\mu\text{m}$ ) で無菌ろ過した後、ガラスバイアルに充填する。その後、ゴム栓を打栓し、アルミニウムクリップで巻き締めしてバイアルを密封する。ゴム栓は、洗浄及び発熱物質除去処理されており、ガラスバイアルは、日本薬局方 注射剤用ガラス容器試験法に適合する。

無菌ろ過工程及び充填工程が重要工程とされ、工程内管理試験として、無菌ろ過工程では、フィルター使用のフィルター完全性試験、ろ過原薬に対する微生物限度試験、ろ過原薬に対する無菌試験が設定されている。また、充填工程では、充填容量検査、全数外観試験、確認試験 (ウェスタンブロッティング)、 (吸光度)、浸透圧試験、ペプチドマップ、ホルミルグリシン、糖鎖構造確認試験、Idursulfase 純度 1 (SAX)、還元及び非還元 SDS-PAGE (クマシー染色) が設定されている。

## 3) 規格及び試験方法

製剤の規格及び試験方法として、性状、pH、単量体試験、エンドトキシン、採取容量、不溶性微粒子試験、無菌試験、力価 (比活性) 及び定量法 (たん白質含量) が設定されている。

## 4) 製剤の安定性

製剤の安定性試験は、II/III 相スケール 3 ロット、パイロットスケール 2 ロット及び実生産スケール 4 ロットを用いて実施され、性状、ペプチドマップ、SEC-HPLC、イオン交換 HPLC、SDS-PAGE (クマシー染色)、比活性、糖鎖構造、たん白質含量、色素浸漬試験、pH について検討された。なお、評価されたロット及び測定項目は、色素浸漬試験を除いて製剤に関する安定性各試験で共通である。

長期保存試験 ( $5\pm 3^{\circ}\text{C}$ ) において、SDS-PAGE、イオン交換 HPLC 及びペプチドマップ試験では、いずれの試料も保存期間中、変化は認められなかった。また、性状、pH 及び比活性についても、保存期間を通じて、顕著な変化は認められなかった。SEC-HPLC で、経時的に本薬単量体含量の比率が徐々に減少し、本薬単量体より高分子の成分 (分 SEC ピーク) が、経時的に増大したが、約 1 % 程度までであった。現在までに II/III 相臨床ロットで 36 カ月、パイロットスケール 2 ロットで少なくとも 24 カ月、実生産スケール 4 ロットで 18 カ月まで安定であることが確認されている。

加速試験 ( $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ 、6 カ月) では、長期保存試験 (SEC-HPLC) で観察された、分 SEC ピークの形成が、更に早く進行した。また、SDS-PAGE で観察される約 kDa のマイナーバンドの強度が増大した (6 カ月で % 以下)。さらに、ペプチドマップでも微量の新規ピークが認めら

光安定性については、可視光線及び近紫外線を直接バイアルに照射したとき、ラベル貼付及び非貼付ともにSDS-PAGE（クマシー染色）及び比活性に若干の変化が認められ、ペプチドマップでは新規ピークが出現した。しかし、2次包装資材中に保存した場合は、いずれの試験項目においても顕著な変化は認められなかったことから、2次包装資材中で保管することにより、本剤への光の影響は阻止されるとしている。

### 本剤使用時の安定性について

以上を踏まえ、希釈後の溶液は $5 \pm 3^{\circ}\text{C}$ で保存し、調製時から投与完了まで24時間を超えてはならないとされた。

現行標準物質（LN001\*）は、実生産スケール工程で製造された原薬ロットLN020\*について標準物質への適合を確認後分注し、-75±10℃で保存されたものである。標準物質の規格試験として、性状、確認試験（ペプチドマップ）、純度試験（糖鎖プロファイル、不純物DD\*、不純物EE\*、不純物AA\*、不純物BB\*（イムノブロッティング）、Idursulfase純度1（SAX）、Idursulfase純度2（SDS-PAGE（銀染色））、単量体、ポリソルベート20、シアル酸含量、エンドトキシン、微生物限度試験、細胞内取り込み）、比活性（蛍光測定法）、たん白質含量、遊離チオール含量、浸透圧試験及び構造特性解析（MALDI-TOF MS、アミノ酸分析、N末端配列）が設定されている。また、LN001\*が標準物質として認定された後に、原薬規格試験として追加導入された試験（ホルミルグリシン、不純物BB\*（ELISA）及び比活性（イオンクロマトグラフィー））についても、規格への適合が確認された。

### ＜審査の概略＞

機構は、重要工程の工程内管理試験の項目について、例えば、XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX工程である疎水性カラムクロマトグラフィー工程においてSDS-PAGEが設定されているが、SDS-PAGEではシアル酸の有無を確認することは出来ないと考えられることから、SDS-PAGEを設定した

17

理由、また、工程ごとに管理試験を設定しなかった理由について説明を求めた。

申請者は、以下のように説明した。疎水性カラムクロマトグラフィー工程の工程内管理試験のSDS-PAGEは、目的物質由来関連物質である██████████ldursulfaseの検出を目的としており、本薬のシアル化の程度は評価していない。本薬のシアル化の度合いについては原薬規格試験（シアル酸含量）で管理している。██████████ldursulfaseの██████████の程度については、原薬の精製工程の工程内管理試験として各カラム工程に紫外吸光度測定法（A280）による総たん白質含量及び総たん白質回収率試験を設定することで、クロマトグラフィーカラムの一貫した処理能力を担保している。さらに、工程操作に関する管理手順を適切に規定、実践しており、工程由来不純物の確実な除去をはじめとする工程の頑健性は、バリデーション試験により実証済みである。加えて、本剤の精製工程は連続工程として実施され、いずれの工程も██████████を想定していないため、各工程の目的に基づいた、より特異的な工程内管理試験の付加価値は低く、新たな工程内管理試験の実施により、精製工程の██████████時間が延長されると、例えば本薬の██████████が進行する等、品質に悪影響を及ぼす可能性が否定できない。以上より、工程の目的に基づいた、新たな工程内管理試験の設置の必要性は低いと考える。なお、不純物CC\*、不純物EE\*等の血清由来不純物及び不純物BB\* はバリデーション試験により、適切に除去されることが実証済みであり、原薬規格試験においても管理される。

機構は、本剤の製造工程について適切にバリデーションが行われ、本剤の有効性及び安全性に係る評価項目については、規格及び試験方法で評価しているとされたことから、以上の回答を了承した。

## （2）特性解析について

機構は、本剤の特性解析（生物学的性質）について、基質特異性等が不明であったことから、その試験成績を示すよう求めた。

申請者は、比活性試験の基質である██████████（██████████）における本薬の作用部位について検討し、██████████上の2-硫酸エステル結合であることを特定したことを説明した。また、酵素速度論（分子活性）について、第Ⅱ/Ⅲ相スケール製剤及び市販スケール製剤それぞれ10ロットの $K_m$ 平均値は約██████████mMであり、ターンオーバー率（ $K_{cat}$ ）の平均値は約██████████min<sup>-1</sup>であったことが説明されたが、試験方法等や各ロットの試験成績等の詳細については現在確認中である。

## （3）糖鎖と生物活性の関係について

機構は、リン酸化糖鎖とシアル糖鎖が本剤の活性に重要であるにもかかわらず、SAXで分画した各グループ間の比活性に顕著な差が認められなかった理由、また本薬はM6P受容体を介して細胞内に取り込まれるとされているにもかかわらず、本薬の細胞内取込みに重要と考えられるM6P量を測定していない理由について説明を求めた。

申請者は、以下のように説明した。通常、糖鎖のリン酸化（M6P）やシアル化は、細胞内取り込みや、薬物動態には影響するが、酵素活性そのものには影響しない。そのため、分画試験間で比活性に顕著な差は認められないと考えた。なお、分画試験間でリン酸化状態に若干の相

\*:新薬承認情報提供時に置き換えた。

違が認められたが、細胞内取り込みに影響を及ぼすものではなかった。また、分画試料間のシアル化の相違も微小なものであり、薬物動態には影響しないと予想される。また、M6P量を測定しなかった理由は、糖鎖構造確認試験で本薬の細胞内取り込みに重要な結合糖鎖から構成されるピーク群の面積を原薬の規格及び試験方法に規定しているからである。さらに、全ピークの標準物質に対する結合糖鎖を含むピーク群の相対面積も規定されている。一方、標準物質（LN001\*）のM6P含量は、その特性解析において、HPAE-PAD、キャピラリー電気泳動及び部位特異的糖鎖構造分析により解析されており、約～mol/molであることが確認されている。以上のことから、原薬のM6P含量は管理できると考える。

機構は、糖鎖と生物活性の関係について、以上の回答を了承した。

#### （４）ホルミルグリシン含有率について

機構は、ホルミルグリシン含有率が本剤の効果に大きな影響を与えるとされているので、ホルミルグリシン含量の異なる試料を用いてヒトに投与した場合、有害事象が認められなかったか、また有効性に差がなかったか説明を求めた。

申請者は、以下のように説明した。ホルミルグリシン含有率の規格値は～％であり、第Ⅱ/Ⅲ相試験には、ホルミルグリシン含量率が～％の製剤を使用した。現在までに製剤間の安全性又は有効性に差が認められたとの報告はない。

機構は、これまでの臨床試験で使用されたロットのホルミルグリシン含有率より規格値が高く設定されており、ホルミルグリシン含有率の高い製剤の安全性については不明であることから、規格値上限付近のロットにおいて臨床使用上問題が生じていないか説明を求めているところである。また、規格上限付近のロットの試験成績が無い場合には、これまでの製造実績から規格値を再検討するよう求めているところである。

#### （５）細胞内取込み試験の規格値について

機構は、細胞内取込み試験の規格において上限値が高く設定されていることから、高い細胞内取込み活性のロットを使用しても、安全性に問題は生じないか、これまでのヒトへの投与経験を踏まえ規格の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。臨床試験TKT024及びTKT024EXTで使用した製剤の原薬ロットの細胞内取込み活性は～％であったが、現在までロット間の有効性及び安全性に差が認められたとの報告はなく、申請規格は適切であると考えている。

機構は、細胞内取込み試験の規格値が～％であるのに対して、これまでの臨床試験に用いられたロットの値は～％であり、市販スケールにおいても最大～％であることから、規格値の上限の細胞内取込みを示す製剤を投与した時の安全性について説明し、必要があればこれまでの製造実績を踏まえ規格値を再検討するよう求めているところである。

#### （６）製剤の有効期間について

機構は、製剤の有効期間が $5\pm3^{\circ}\text{C}$ で24カ月とされていることについて、申請時には長期安定性試験としてはパイロットスケールの2ロットの24カ月目までの試験成績及び実生産スケール4

\*:新薬承認情報提供時に置き換えた。

ロットの18カ月目までの試験成績のみが提出されていたが、20●●年●●月現在、実生産スケール4ロットの24カ月目の試験成績が得られていることが判明したことから、提出するよう求めているところである。その結果を確認したうえで本剤の有効期間の妥当性を判断したい。

### 3. 非臨床に関する資料

#### (i) 薬理試験成績の概略

##### <提出された資料の概略>

#### (1) 作用機序

MPS II では、グリコサミノグリカン (GAG) であるヘパラン硫酸及びデルマタン硫酸が体内の細胞内リソソームに進行性の蓄積を示し、細胞腫脹、臓器肥大、細胞壊死、組織障害による機能不全が起こることが知られている。本薬の薬理作用はリソソームへの取り込みに依存するものと考えられる。本薬は、オリゴ糖鎖上のマンノース-6-リン酸 (M6P) 残基が細胞表面に存在する M6P 受容体に特異的に結合することにより細胞内に取り込まれ、その後、細胞内リソソームへ選択的に輸送される (Ghosh P. *et al.*, *Natl Rev Mol Cell Biol* 2003; 4: 202-12)。なお、本薬はシアル化されていることから、肝臓アシアロ糖たん白質受容体による取り込みは少ないものと考えられる。申請者は、本薬の静脈内投与による MPS II 患者の治療では、本酵素が細胞内リソソームに取り込まれ、蓄積した過量のデルマタン硫酸及びヘパラン硫酸を分解する旨説明している。

#### (2) 効力を裏付ける試験

##### 1) 本薬の細胞内取り込み

本薬の細胞内取り込みについて、ヒト線維芽細胞を用いて酵素免疫測定法 (ELISA) により検討された。培地に本薬添加後、経時的に細胞総抽出液を調製し、抽出液中の本薬含量を定量した。その結果、本薬の細胞内取り込みは約●●時間後には飽和状態に達することが明らかとなった。また、飽和状態での本薬の取り込み量 (～●●ng/mL 又は ●●～●●ng/mg 細胞抽出液) は、GAG クリアランス試験 (後述) での用量反応曲線の EC<sub>50</sub> 値 (●●～●●ng/mL) をはるかに超えており、GAG クリアランス効果の点でも十分な量であった。また、M6P を培地に添加すると、本薬の細胞内取り込みが>●●%阻害されたことから、本薬の細胞内取り込みは M6P 受容体を介することが確認された。

##### 2) ●●●●線維芽細胞の GAG クリアランス

本薬の細胞内での活性について、●●●●患者由来の線維芽細胞 (●●●●線維芽細胞) に蓄積した GAG のクリアランス能として測定された。<sup>35</sup>S-硫酸添加培地で●●●●線維芽細胞を培養し、細胞内の蓄積 GAG を <sup>35</sup>S 標識する。その後、本薬を培地に添加し、細胞の <sup>35</sup>S 放射活性を測定することにより、細胞内に取り込まれた本薬の GAG クリアランス能を定量化した。その結果、原薬ロットの用量反応曲線の EC<sub>50</sub> は ●●ng/mL であり、培地に M6P を添加することにより、細胞内からの GAG クリアランスは完全に抑制された。

### 3) IKO マウスにおける本薬の薬理作用の予備的評価

MPS II は X 連鎖性劣性遺伝性の疾患であることから、以下の動物を用いた薬理試験は雄性動物で実施された。MPS II の病態モデルとして開発された I2S ノックアウト (IKO) マウスは、被毛粗剛及び散発的脱毛、並びに後肢関節の可動性の抑制 (関節強直) を伴う脊柱後湾、四肢及び指の肥厚、骨格障害等を示し、GAG 濃度上昇が尿及び全身の組織で認められ、広範な細胞空胞化が病理組織学的検査で認められている。投与経路は、特に記載のない限り静脈内投与により実施された。

IKO マウス及び野生型 (WT) マウス (2 匹/群) に溶媒又は 5 mg/kg の本薬を週 1 回 4 週間投与したところ、IKO マウスの本薬投与群では、初回投与後より尿中 GAG 濃度は著しく低下し、試験期間中、低値が持続した。WT マウスでは、溶媒群或いは本薬群いずれも、試験期間中、低値が持続した。一方、IKO マウスの溶媒投与群では尿中 GAG 濃度の顕著な変化は認められなかった。また、本薬を 4 週間投与した IKO マウスの肝臓 GAG 濃度は、IKO マウス溶媒投与群で検出された GAG 濃度の約 19 % であり、WT マウス (IKO マウス溶媒群の肝臓 GAG 濃度の 12 %) と同様に低値を示した。さらに、病理組織学的検査により、IKO マウス本薬投与群では IKO マウス溶媒群と比較して肝臓、腎臓、心臓、皮膚及び脾臓の GAG 濃度の著しい減少が認められたが、WT マウスでは変化は認められなかった。脳内 GAG 濃度については、WT 及び IKO マウスとも変化は認められなかった。

IKO マウスに本薬 0.1、0.5、2.5 mg/kg 又は溶媒 (3 匹/群)、WT マウスに本薬 2.5 mg/kg (3 匹) 又は溶媒 (2 匹) を週 1 回、5 週間投与し、尿中 GAG 濃度を測定したところ、本薬 0.5 又は 2.5 mg/kg 投与群では、投与期間中を通じて尿中 GAG 濃度の著しい低下が認められ、本薬投与終了後、数週間は IKO マウス溶媒投与群の尿中 GAG 濃度ベースラインより低値を示した。

IKO マウス (15 匹) に本薬 0.1 (4 匹)、0.25 (2 匹)、0.5 (3 匹) 又は 1.0 mg/kg (3 匹) あるいは溶媒 (3 匹)、WT マウス (4 匹) に溶媒を、それぞれ週 1 回 5 週間投与したところ、本薬 0.5 及び 1.0 mg/kg 投与群で著しい尿中 GAG 濃度の減少が認められ、本薬 2 回目又は 3 回目投与後には、WT マウスの GAG 濃度に近い値まで低下した。また、すべての用量 (0.1~1.0 mg/kg) で肝臓、脾臓及び心臓の組織内 GAG 濃度が IKO マウス溶媒群と比較して有意に低下した。腎臓では 1.0 mg/kg 群で IKO マウス溶媒群と比較して有意な低下が認められた。さらに、肝臓、心臓及び脾臓の GAG 濃度は WT マウスと同程度の濃度まで低下した。

### 4) IKO マウスにおける本薬の用法・用量の影響

IKO マウスに本薬 1.0 mg/kg 単回投与、月 1 回 (計 2 回) 投与、隔週 (計 4 回) 投与又は週 1 回 (計 8 回) 投与により、8 週間の投与期間における種々の投与回数による尿中及び組織内 GAG 濃度の減少について検討したところ、本薬の週 1 回又は隔週投与により、試験期間中において WT マウス (無処置) 群と同程度まで低下した。単回投与又は月 1 回投与群の尿中 GAG 濃度は 1 回の投与後に WT マウス (無処置) 群と同程度まで低下したが、投与から 4 週後には投与前の濃度まで増加し、月 1 回投与群の 2 回目の本薬投与 4 日後に尿中 GAG 濃度は WT マウスと同程度まで低下したが、投与 4 週後までには試験前の濃度まで増加した。また、8 週後にマウ

スを屠殺（本薬の最終投与日から屠殺日までの経過日数は異なる）し、組織内 GAG 濃度を測定したところ、すべての投与方法において IKO マウス溶媒群と比較して、肝臓、脾臓及び腎臓の組織内 GAG 濃度が有意に低下しており、心臓では週 1 回投与群でのみ有意な低下が認められた。検討したほぼすべての組織において、本薬の月 1 回投与は、週 1 回及び隔週投与より各組織内 GAG 濃度の減少効果が低い傾向が認められた。

IKO マウスに本薬 1.0 mg/kg を週 1 回又は隔週で、溶媒を隔週で 24 週間投与したところ、本薬投与群は両群とも 4 週間投与後から 24 週間の試験期間中、尿中 GAG 濃度は WT マウス（無処置）群と同程度まで低下した。また、検査したほとんどの組織において、12 及び 24 週時点において本薬の週 1 回及び隔週群の組織内 GAG 濃度は有意に低下した。さらに、IKO マウスにおいて本薬 24 週間投与後に溶媒対照群に比べて脾臓重量の減少はみられなかったが、肝臓重量は有意に減少した。

IKO マウスに本薬 0.15 又は 1.0 mg/kg を週 1 回、或いは溶媒を隔週で 5 週間投与した後、0.15 mg/kg を投与した群は 0.15 mg/kg を週 1 回、1.0 mg/kg を投与した群は 1.0 mg/kg を週 1 回又は月 1 回或いは 0.15 mg/kg を月 1 回、溶媒を投与した群は溶媒を隔週投与により、いずれの群も 24 週まで投与したところ、尿中 GAG 濃度は本薬 1.0 mg/kg 週 1 回投与により WT マウス（無処置群）と同程度まで減少した。他の本薬投与群の尿中 GAG 濃度は、全般的に IKO マウス溶媒投与群の値より低かったが、WT マウスより高値を示した。本薬 1.0 mg/kg、週 1 回投与の IKO マウス群では、IKO マウス溶媒投与群と比較して、肝臓、腎臓、心臓、肺及び脾臓の GAG 濃度が有意に低下し、本薬 0.15 及び 1.0 mg/kg、月 1 回投与では、肝臓及び脾臓で GAG 濃度が有意に低下したが、腎臓、肺及び心臓では維持されず GAG の再蓄積が認められた。肝臓重量はすべての IKO マウス本薬群で溶媒対照群と比較して有意に低かったが、脾臓重量には有意な変化は認められなかった。

#### 5) IKO マウス新生児における薬理作用

新生児に本薬投与した場合の骨格形態への影響について検討された。新生児マウスでは静脈内投与が技術的に困難であることから、幼齢期のマウス（4 及び 11 日齢）には本薬 5 mg/kg が腹腔内投与され、4 週齢の時点で 1 mg/kg の静脈内投与に切り換えられた。当該試験では、本薬投与群の一部の新生児マウスに有害反応（歩行失調、呼吸困難及び体温低下）が反復投与後（腹腔内投与後に静脈内投与）に現れ、28 匹中 3 匹が、3～5 回の静脈内投与後に死亡した。予想に反する有害反応が認められたとして、本試験は中止された。

#### （3）副次的薬理試験

副次的薬理試験は実施されていない。

#### （4）安全性薬理試験

雄性カニクイザルに本薬 0、5、10 及び 20 mg/kg で点滴静脈内投与したところ、すべてのカニクイザルが試験終了日の 15 日目まで生存し、また全ての用量群で、投与と関連する体温、呼吸回数、心電図（心拍数を含む）、血圧及び動脈血酸素飽和度に対する影響は認められなかった。



#### <審査の概略>

##### (1) 本薬の中枢神経系に及ぼす影響について

機構は、本薬の中枢神経系に及ぼす影響について非臨床及び臨床の両面から考察するよう申請者に説明を求めた。

申請者は、以下のように回答した。Shire HGT 社により行われた非臨床の組織分布試験では、本薬の脳への分布はほとんど認められていないことから (TKT-110-99-010 報告書)、臨床試験では中枢神経系に対する効果は評価していない。外来性のリソソーム酵素が脳に十分取り込まれない理由は、これまで、同酵素が比較的大きいため、拡散が限られること、及び血液脳関門での M6P 受容体が不足しているため標的細胞への輸送が限られることであると考えられてきた。しかし、昨今のリソソーム蓄積症の動物モデルを用いた複数の試験から、これらの見解は打ち消されている。すなわち、MPSVII型マウスでは、遺伝子組換え  $\beta$ -グルクロニダーゼを静脈内投与した場合、生後 2 週間までは脳に取り込まれるが、その後は取り込まれなくなることが示されており (Vogler C *et al.*, *Pediatr Res* 1999; 45: 838-44)、加齢に伴い取り込まれる酵素量が減少する理由は、血液脳関門の成熟と M6P 受容体のダウンレギュレーションと考えられている。出生直後より連続 6 週間の  $\beta$ -グルクロニダーゼ点滴静脈内投与を受けた MPSVII型マウスでは、同型の未治療のマウスと比べて記憶、学習、聴覚に改善が認められた (O'Connor LH *et al.*, *J Clin Invest* 1998; 101: 1394-400)。その後、Vogler らは、トランスジェニック技術を利用して免疫寛容状態とした MPSVII型の成長したマウスに、高用量 (4~20 mg/kg) を数週間にわたって反復静脈内投与した場合に、酵素が脳に取り込まれたことを示した (Vogler C *et al.*, *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102: 14777-82)。酵素の取り込みに伴い、神経細胞、グリア細胞、髄膜細胞での蓄積量が減少した。 $\beta$ -グルクロニダーゼを効率よく脳に取り込ませるには、血液脳関門で M6P 受容体と酵素の結合を阻害するおそれのある抗体を減少させることに加え、用量を増加させることが必要であった。また、高用量の遺伝子組換え  $\alpha$ -L-イデロニダーゼを免疫寛容状態にした MPS I 型イヌに静脈内投与したところ、正常な脳に存在する量の 2 %が脳に取り込まれたことが報告されている (Dickson P *et al.*, Oral presentation at the International MPS and Related Disorders Meeting, 2006)。このときに投与された酵素量は、MPS I 型患者への承認用量の 4 倍であった。13 週間の投与により、GAG の脳内での総蓄積量を減少させたほか、ニューロン内の蓄積量も組織学的にほぼ通常レベルまで減少させることができた。一方、免疫寛容のないイヌに対して実施した試験では、脳への取り込みが軽微あるいは全くなく、組織学的な改善や脳内での GAG 総蓄積量の減少も認められなかった。以上より、脳への効率的な酵素の取り込みは酵素投与量と酵素に対する免疫反応の双方により左右されることが示唆され、免疫反応は酵素の血液脳関門通過を阻害することが予測された。

機構は、本薬が他の酵素と同様の機序により血液脳関門を通過する可能性、免疫寛容状態における効果を全面的に否定するものではないが、本薬に係る知見からの考察でないこと、血液脳関門を通過するのに必要とされる投与量については不明確であることから、本薬の中枢神経系に及ぼす影響についての詳細は不明確であり、本薬の中枢神経系への有効性について判断できるだけの情報が得られていないものとする。

## (2) IKO マウス新生児において認められた有害事象について

機構は、IKO マウス新生児の試験において歩行失調、呼吸困難、体温低下及び死亡が認められ、当該試験が中止されていることから、本剤の投与対象となりうる若齢患者における安全性について、申請者に考察し説明するよう求めた。

申請者は、以下のように回答した。当該試験においては、新生児マウス（4 日及び 11 日齢）への静脈内投与が技術的に困難であるため腹腔内投与とし、用量は 5 mg/kg 開始とした。この用量は、Shire HGT 社で実施された多くの IKO マウス試験の静脈内投与に用いられた用量の 5 倍であった。なお、動物が 4 週齢になった時点で、静脈内投与、用量 1 mg/kg に変更した。当該試験で認められた異常所見は、高用量を腹腔内投与したことから、薬剤の免疫系への暴露が多くなったことに起因しており、本薬に対する抗体産生が関与しているものと考ええる。また、本薬の静脈内投与については、IKO マウス及びカニクイザルに対し安全かつ忍容性があることが示されていることから、今般認められた有害事象には腹腔内投与が関与している可能性が推察された。さらに、臨床試験成績との関連に関して、米国で実施された臨床試験では、TKT024EXT 試験<sup>†</sup>で「運動失調」が 1 件、「呼吸困難」が多数報告されたが、若齢患者のみの発症ではなかったこと、また、軽度で定型的であり、死亡にも至っていないことから、これらの所見は、当該試験結果と関連性はないものと判断している。TKT024 試験<sup>\*</sup>では、患者 96 例中 72 例が登録時に■～■歳（うち■～■歳が 43 例）であり、小児に対する安全性についても検討されていると考えている。また、現在のところ米国で市販の本剤治療を受けている患者 167 例中 24 例が■歳未満であり、これらの小児患者集団には、出生直後に MPS II 疾患と特定された 2 例の乳児が含まれており、現時点において、安全性に関する異常所見等の問題は報告されていない。なお、■歳以下の患者 30 例に対する本剤の安全性及び有効性を評価する臨床試験を計画中であり、20■年■月以降に患者登録が開始される予定である。さらに、■歳未満の患者に対する本剤の安全性及び有効性については、市販後調査においても報告される予定である。

機構は、マウス新生児試験において認められた有害事象を、投与経路 (i.p.) に関連する異常所見であり、本薬に対する抗体産生に関連すると結論づけることについては、不明確な点も多く、根拠も十分でないと考える。しかしながら、臨床試験において 5 歳以上の幼児が含まれており、現在治療を受けている小児患者集団には乳児も含まれていること、さらに、5 歳以下の患者を対象とする臨床試験の実施が計画されていることから、若齢患者について、注意深く観察しつつ、本薬の投与対象患者とすることを否定するものではないと考える。

以上、機構は、本薬が M6P 受容体との特異的な結合を介して細胞内に取り込まれることが示され、モデル動物を用いた薬理試験において本薬投与により尿中及び組織内 GAG 濃度の減少が認められたことから、上述のように不明確な点も残されているが、本薬の有効性について期待できるものと考ええる。

## (ii) 薬物動態試験成績の概略

<sup>†</sup> 「4. 臨床に関する資料」参照