

審議結果報告書

平成 19 年 11 月 7 日
医薬食品局審査管理課

[販 売 名] クレキサン皮下注キット 2000IU
[一 般 名] エノキサパリンナトリウム
[申 請 者] サノフィ・アベンティス株式会社
[申請年月日] 平成 18 年 3 月 17 日

[審 議 結 果]

平成 19 年 10 月 22 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 8 年とし、原体及び製剤ともに劇薬に該当するとされた。

審査報告書(p.17)＜審査の概要＞の項の「ヘパリンと質的に同様である可能性を完全には否定できないものの、硫酸プロタミンにより抗 Xa 活性の約半分程度中和できる等のメリットも考えられる。」を「ヘパリンと質的に同様である可能性を完全には否定できないものの、類薬であるフォンダパリヌクスと比較した場合には硫酸プロタミンにより抗 Xa 活性の約半分程度中和できる等のメリットも考えられる。」と訂正することとされた。

審査報告書

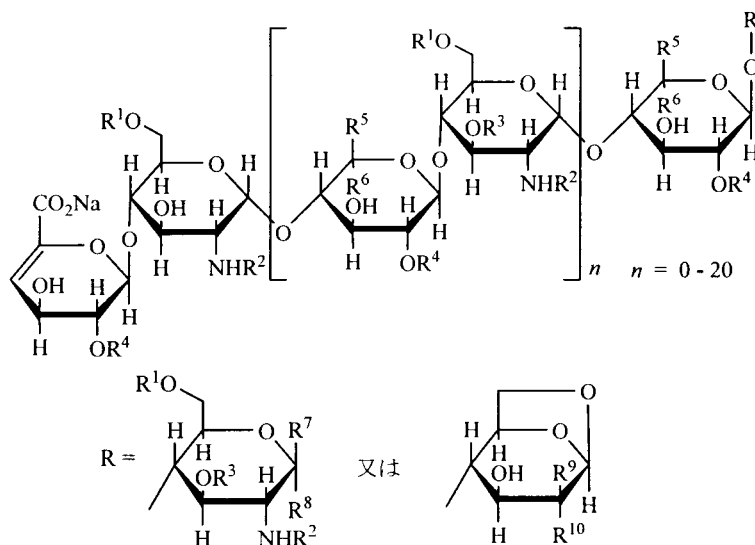
平成 19 年 10 月 12 日

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] クレキササン皮下注キット 2000IU
[一 般 名] エノキサパリンナトリウム
[申 請 者] サノフィ・アベンティス株式会社
[申請年月日] 平成 18 年 3 月 17 日
[剤型・含量] 注射剤：1 シリンジ中（0.2mL）、エノキサパリンナトリウムとして 2000IU（抗ファクター Xa 活性として）含有
[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]



R¹, R³, R⁴ = SO₃Na 又は H

R² = SO₃Na 又は COCH₃

R⁵ = CO₂Na, R⁶ = H 又は R⁵ = H, R⁶ = CO₂Na

R⁷ = H, R⁸ = OH 又は R⁷ = OH, R⁸ = H

R⁹ = H, R¹⁰ = NHSO₃Na 又は R⁹ = NHSO₃Na, R¹⁰ = H

分子式：該当せず

分子量：約4,500（3,800～5,000）

本質記載：（日本名）ブタ腸粘膜に由来するヘパリンベンジルエステルのアルカリ分解により得られた低分子量ヘパリンのナトリウム塩；質量平均分子量は約4,500で、その範囲は

3,800から5,000である；硫酸エステル化の度合いは2単糖当たり、約2である；
その構成成分の大部分は糖鎖の非還元末端に2-*O*-スルホ-4-エノピラノースウ
ロン酸構造を有し、還元末端に2-*N*,6-*O*-ジスルホ-D-グルコサミン構造を有する

(英 名) Sodium salt of a low-molecular weight heparin obtained by alkaline degradation of
heparin benzyl ester from porcine intestinal mucosa; the mass-average molecular mass
is about 4500, ranging between 3800 and 5000; the degree of sulfatation is about 2 per
disaccharidic unit; the majority of the components have a 2-*O*-sulfo-4-enopyranose
uronate structure at the non-reducing end and a 2-*N*,6-*O*-disulfo-D-glucosamine
structure at the reducing end of their chain

[特記事項] 優先審査
[審査担当部] 新薬審査第二部

審査結果

平成 19 年 10 月 12 日

[販 売 名] クレキサン皮下注キット 2000IU
[一 般 名] エノキサパリンナトリウム
[申 請 者] サノフィ・アベンティス株式会社
[申請年月日] 平成 18 年 3 月 17 日

[審査結果]

エノキサパリンナトリウム（以下、本薬）による静脈血栓塞栓症の発症抑制に関し、術後の静脈血栓塞栓症の発現リスクの高い、下肢整形外科手術（股関節全置換術、膝関節全置換術及び股関節骨折手術）施行患者を対象とした国内各臨床試験において、いずれの術式においても本薬 2,000IU 1 日 2 回投与による術後静脈血栓塞栓症の発症抑制効果は示されたと判断した。一方、本薬投与により出血等の副作用が懸念されるが、添付文書において、投与中は出血等の臨床症状を注意深く観察する必要があること、腎障害の程度により、本薬の投与を制限すべきであること、本薬の薬効のモニタリングに適した指標はないこと等については注意喚起されており、対象患者の選択も含め、本薬が適正に使用された場合には、承認の可否に影響するような重大な懸念は認められないと判断した。

また、製造販売後に、腎機能を始めとする患者背景と本薬の有効性及び安全性の関係等に関する情報収集が必要であると判断した。

以上、医薬品医療機器総合機構における審査の結果、本申請品目は、下記の効能・効果、用法・用量のもとで承認して差し支えないと判断した。

[効能・効果] 下記の下肢整形外科手術施行患者における静脈血栓塞栓症の発症抑制

股関節全置換術、膝関節全置換術、股関節骨折手術

[用法・用量] 通常、エノキサパリンナトリウムとして 1 回 2000IU を、原則として 12 時間毎に 1 日 2 回連日皮下注射する。

審査報告（１）

平成 19 年 9 月 14 日

I. 申請品目

- [販 売 名] クレキササン皮下注キット 2000IU
[一 般 名] エノキサパリンナトリウム
[申請者名] サノフィ・アベンティス株式会社
[申請年月日] 平成 18 年 3 月 17 日
[剤型・含量] 注射剤：1 シリンジ中（0.2mL）、エノキサパリンナトリウムとして 2000IU（抗ファクターXa 活性として）含有
[申請時効能・効果] 術後の静脈血栓塞栓症の予防
[申請時用法・用量] 通常、エノキサパリンナトリウムとして 1 回 2000IU を、原則として 12 時間毎に 1 日 2 回連日皮下注射する。
[特記事項] 優先審査

II. 提出された資料の概略及び医薬品医療機器総合機構における審査の概要

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（以下、機構）からの照会事項に対する申請者の回答の概略は、下記のようなものであった。

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

エノキサパリンナトリウム（以下、本薬）は、ファルマンデュストリ社（フランス）により創製され、サノフィ・アベンティス社（フランス）で開発された硫酸基を多く含むグルコサミノグリカンであり、ブタ由来の未分画ヘパリン（以下、ヘパリン）のベンジルエステルを解重合した平均分子量約4,500の低分子量ヘパリンである。本薬は、アンチトロンビンⅢ（以下、ATⅢ）の活性化血液凝固第X因子（以下、Xa）阻害活性（以下、抗Xa活性）とトロンビン（以下、Ⅱa）阻害活性（以下、抗Ⅱa活性）を増強する抗凝固薬である。本薬は、ヘパリンと比較して、分子量5,000を超える分画が少ないため、抗Ⅱa活性に比べて抗Xa活性が相対的に高い。

本薬は、静脈血栓塞栓症（Venous Thromboembolism：以下、VTE）の発症抑制関連では、欧州では、フランスにおいて、1987年に「特に整形外科手術及び一般外科手術」におけるVTEの予防に関する適応で承認されたのを始めとして、その他の国においても承認された。その後、フランスでは、1998年に「中リスクまたは高リスク手術」、1999年に「急性内科疾患で安静状態の患者」におけるVTEの予防に関しても追加承認され、その他の国もこれに準じた承認状況となっている。一方、米国では、1993年に「股関節置換術施行患者」、1995年に「膝関節置換術施行患者」、1997年に「血栓塞栓合併症のリスクのある腹部外科手術施行患者」、1998年に「股関節置換術施行患者（退院後）」、2000年に「急性疾患で動くことを制限され血栓塞栓合併症のリスクのある内科患者」における肺塞栓症（Pulmonary Embolism：以下、PE）を引き起こす可能性がある深部静脈血栓症（Deep Vein Thrombosis：以下、DVT）の予防に関する適応で承認された。

本邦においては、本薬は、サノフィ・アベンティス株式会社により開発され、今般、国内臨床試験成績に基づき、「術後の静脈血栓塞栓症の予防」を予定効能・効果として製造販売承認申請された。

なお、2004年8月に、日本血栓止血学会等から低分子量ヘパリン及び類似薬剤の早期承認を求める要望書が提出されている。

2. 物理的・化学的性質並びに規格及び試験方法に関する資料

<提出された資料の概略>

本薬は、ブタ腸粘膜に由来するヘパリンベンジルエステルのアルカリ分解によって得られるヘパリンの解重合物のナトリウム塩である。平均分子量は約4,500、その範囲は3,800～5,000であり、硫酸エステル化の度合いは二糖単位あたり約2である。

なお、本薬に特定の分子式はなく、以下に示す二糖の繰り返し構造をとる。

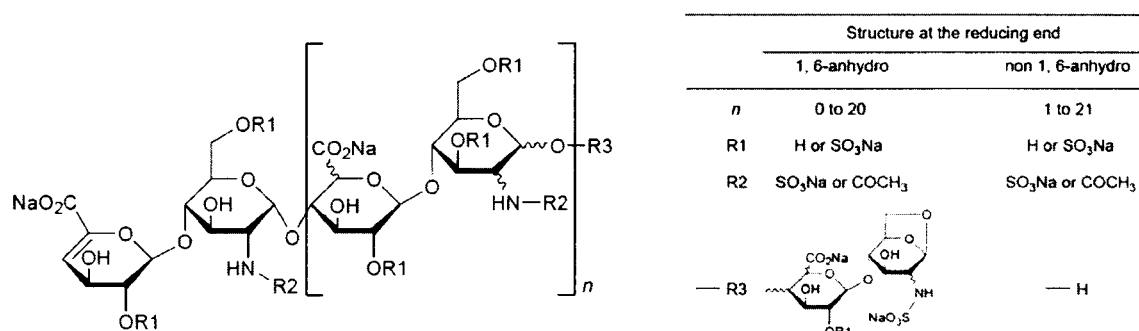


図1 本薬の構造模式図

(1) 原薬

1) 製造工程

本薬の出発材料は、健康な食用ブタ腸粘膜由来のヘパリンナトリウムであり、その管理項目及び管理値は、表1のとおりである。

表1 ヘパリンナトリウムの管理項目及び管理値

管理項目		管理値
外観		■
色		■色
確認試験	■	■
	■	■
■ (■%)		■ (※1)
■ (■%)		■～■
■及び■		■nm ■以下 ■nm ■以下
■		■～■% (■)
■		■ppm 以下
■		■%以下
■		■～■%
含量 (■)		■ヘパリン国際単位/mg 以上

※1: ■及び
■に従う。

製造工程は、以下の5工程からなる。

工程1 () の) :

それぞれ別に に した、ヘパリンナトリウム kg に対し kg を混和して得られた () を する。

工程2 () の) :

を に溶解し、 を加えて を調節した後、 を kg あたり L 加えて混和し、反応終了後、 中に注ぎ、得られた () を する。

工程3 () の) :

と、 の を に し、これを 中に注ぎ、得られた () を する。

工程4 () の) :

を に し、 kg あたり、 kg の を した と混和して反応させた後、pH ± に調整する。これに、 を %w/v となるよう添加し、さらに pH ± に調整後、 を添加して、得られた () を する。

工程5 () の) :

を に し、pH ± に調整後、 し、 に kg あたり を L の割合で添加し、 する。 後、 を %w/v となるよう添加し、pH ± に調整後、 を添加して得られた を再度 に して し、 を した後、 によりエノキサパリンナトリウムを得る。

工程 及び が重要工程とされた。また、工程 の生成物である 及び工程 の生成物である が重要中間体とされ、以下の管理項目及び管理値が設定された (表2、3)。

表2 の管理項目と管理値

管理項目	管理値
(% 溶液)	~
確認試験 ()	
	%以下
	%以下
含量 (法)	~ %

表3 の管理項目と管理値

管理項目	管理値
	~
確認試験 (法)	
	%以下 (~ °C、 時間)
(法)	: ~ % ()
	: %以下 ()

各工程の管理項目は、表4のとおりである。

表4 エノキサパリンナトリウム製造工程における工程管理項目一覧

工程	管理項目
工程1	時間 (■±■分間)、温度 (■±■℃)
工程2	時間 (■±■時間)、温度 (■±■℃)、温度 (■±■℃)
工程3	温度 (■±■℃)
工程4	kgあたりの重量 (■±■kg)、時間 (■±■分間)、温度 (■±■℃)
工程5	温度 (■±■℃)

2) 外来性感染性物質の安全性評価

原薬の製造工程におけるウイルス安全性について、4つのモデルウイルス(表5)を用いて、3工程が評価された(表6)。また、出発材料のヘパリンナトリウムは、4社より供給されており、モデルウイルス(仮性狂犬病ウイルス、ウシ下痢症ウイルス、脳心筋炎ウイルス、ブタパルボウイルス等)を用いたウイルスクリアランス試験の結果、ウイルスクリアランス指数■～■log以上とされた(「2.<審査の概略>(I) 出発物質について」参照)。

表5 原薬製造工程のウイルスクリアランス試験に用いたモデルウイルス

ウイルス名	科	ゲノム	エンベロープ
ワクシニアウイルス (Vaccinia)	ボックスウイルス	DNA	有
ウシ下痢症ウイルス (BVDV)	フラビウイルス	RNA	有
マウス微小ウイルス (MVM)	パルボウイルス	DNA	無
脳心筋炎ウイルス (EMCV)	ピコルナウイルス	RNA	無

表6 原薬製造工程におけるウイルスクリアランス試験結果

工程	ウイルスクリアランス指数 (log)			
	エンベロープ有		エンベロープ無	
	DNA ゲノム	RNA ゲノム	DNA ゲノム	RNA ゲノム
	Vaccinia	BVDV	MVM	EMCV
第■工程	>■	>■	■	■
第■工程	>■	>■	■	>■
第■工程	>■	>■	>■	>■
総ウイルスクリアランス指数	>12.1	>11.8	>7.9	>10.4

3) 特性

原薬の化学構造は、紫外吸収スペクトル、赤外吸収スペクトル、¹³C-核磁気共鳴スペクトルにより、二糖(L-イズロン酸 2-硫酸及び N-スルホ-D-グルコサミン 6-硫酸)を主な繰り返し構成単位とした糖鎖であり、還元末端には N-スルホ-D-グルコサミン 6-硫酸が、非還元末端には 4,5-不飽和ヘキサロン酸 2-硫酸が存在すること、また、イズロン酸 2 位水酸基への硫酸基の置換率は■%以上、D-グルコサミン 2 位アミノ基への硫酸基の置換率及び 6 位水酸基への硫酸基の置換率は、いずれも■%以上であることが確認された。さらに、イオン交換クロマトグラフ法により、還元末端に 1,6-アンヒドロ体構造を有することが確認された。

物理的・化学的性質として、性状、溶解性、吸湿性、融点、解離定数 (pKa)、pH、旋光度、平均分子量、分子量分布及び定量法 (1mg あたりの抗 Xa 活性及び抗 IIa 活性、抗 IIa 活性に対する抗 Xa 活性の比 (以下、抗 Xa 活性/抗 IIa 活性)) が検討された。検討されたロットの平均分子量は ■■■~■■■、分子量分布は ■■■未滿が ■■■%、■■■~■■■が ■■■%、■■■超が ■■■%であった。本薬は、ATIII と複合体を形成して Xa 及び IIa 阻害活性を示し、比活性は、抗 Xa 活性が ■■■国際低分子量ヘパリン単位 (以下、IU) /mg、抗 IIa 活性は約 ■■■IU/mg であり、抗 Xa 活性/抗 IIa 活性は ■■■であった。

原薬の分解経路として、■■■基及び■■■基の加水分解が考えられ、これにより ■■■化が認められた。また、この加水分解によって生じる ■■■イオンが pH を低下させると推察された。原薬は、固体状態及び水溶液中において、熱に対しては不安定であるが、光に対しては安定であった。なお、不純物として、重金属、残留溶媒 (■■■及び■■■)、■■■、ベンジルアルコールがみられた。

4) 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 (硫酸プロタミンによる沈殿反応、紫外吸収スペクトル、平均分子量及び分子量分布、抗 Xa 活性/抗 IIa 活性)、吸光度、pH、純度試験 (溶状、重金属、残留溶媒 (■■■及び■■■)、■■■、総窒素、ナトリウム、ベンジルアルコール、硫酸イオン/カルボン酸イオンのモル比)、乾燥減量、エンドトキシン、微生物限度及び定量法 (1mg あたりの抗 Xa 活性) が設定された。

5) 安定性

原薬の安定性試験として、長期保存試験 (25°C/60%RH/36 ヶ月)、中間的試験 (30°C/60%RH/12 ヶ月)、苛酷試験 (温度: ■■■°C/■■■ ヶ月、■■■°C/■■■ ヶ月、湿度: ■■■°C/■■■%RH/■■■ ヶ月、光: ■■■lx・hr・■■■W・hr/m²/■■■時間) が実施された。長期保存試験及び中間的試験は、■■■ポリエチレン袋の■■■に原薬、■■■を入れて密閉し、さらに ■■■に密閉して実施された。全ての試験において、性状 (外観)、溶状、pH、平均分子量及び分子量分布、抗 Xa 活性、遊離硫酸が測定項目とされ、長期保存試験及び中間的試験では、さらに紫外吸収スペクトル、吸光度、乾燥減量、抗 Xa 活性/抗 IIa 活性についても検討された。

その結果、苛酷試験 (温度) では、経時的に外観及び溶状の色調変化が認められ、苛酷試験 (湿度) では、■■■ヵ月後に吸湿により液状となったが、長期保存試験、中間的試験及び苛酷試験 (光) では品質に明確な変化は認められなかった。

以上から、原薬の有効期間は、上記保存容器において、25°C 以下、3 年と設定された。

(2) 製剤

1) 製剤設計

クレキサン皮下注キット 2000IU (以下、本剤) は、本薬を ■■■mg/mL となるよう注射用水に溶解し、1 シリンジあたり 2,000IU 充填したプレフィルドシリンジ製剤である。等張化剤等は含まず、溶液の浸透圧比は等張、pH は約 ■■■である。なお、本薬 1mg は約 ■■■IU に相当する。

第Ⅰ相試験の単回投与及び反復投与試験では、100mg/mL のアンプル製剤（本薬含有量 100mg）、生物学的同等性試験では、50 又は 100mg/mL のプレフィルドシリンジ製剤（同 20mg）、後期第Ⅱ相/第Ⅲ相臨床試験では、50 又は 100mg/mL のプレフィルドシリンジ製剤（同 20 又は 40mg）、追加臨床試験では、100mg/mL のプレフィルドシリンジ製剤（同 20mg）が用いられた。

2) 製造工程

■に■を通気した■（■ppm 以下）に、原薬を■mg/mL となるように溶解し、必要に応じてさらに■を通気し、溶解液の■を行う。溶解液を■カートリッジフィルター（孔径：■μm）でろ過（■工程）後、再度、■で■カートリッジフィルター（孔径：■μm）でろ過し、硬質ガラスシリンジに■（■工程）した後、■を装着する。■工程並びに■工程が重要工程とされ、工程内管理試験として、それぞれ■の■と■（■cfu/■mL 以下）、及び■の■と採取容量保証のための■測定が規定された。

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、確認試験（硫酸プロタミンによる沈殿反応、紫外吸収スペクトル、ナトリウム塩の定性反応、抗 Xa 活性/抗 IIa 活性）、pH、純度試験、製剤試験（エンドトキシン、採取容量、不溶性異物、不溶性微粒子、無菌試験）及び定量法（抗 Xa 活性）が設定された。

4) 安定性

製剤の安定性試験として、一次包装品（プレフィルドシリンジ製剤）を用いて、長期保存試験（25℃/60%RH/24 ヶ月）、加速試験（40℃/75%RH/6 ヶ月）、中間的試験（30℃/60%RH/12 ヶ月）、苛酷試験（光：■lx・hr・■W・hr/m²/■時間）が実施され、全ての試験において、性状、純度、pH、遊離硫酸、定量法及び抗 Xa 活性/抗 IIa 活性が測定された。また、長期保存試験及び中間的試験では、採取容量、平均分子量及び分子量分布並びに不溶性微粒子も測定され、さらに、長期保存試験では、エンドトキシン試験及び無菌試験も測定項目とされた。

加速試験で、■ヶ月で色調の変化と pH の低下が認められたものの、長期保存試験及び中間的試験では、色調の変化及び pH の低下はわずかであり、他の測定項目には明らかな変化は認められず安定であった。また、苛酷試験（光安定性試験）で、品質に明確な変化が認められなかったことから、製剤の有効期間は、室温で2年間とされた。

(3) 標準物質

原薬及び製剤の力価測定に関する標準物質として、日本公定書協会より供給された低分子量ヘパリン標準品が抗 Xa 活性及び抗 IIa 活性の測定に用いられた。

<審査の概略>

(1) 出発物質について

機構は、製造方法が異なる4社から供給されるヘパリンナトリウムを原材料とした場合の本薬品質への影響及び原材料に由来するウイルス等感染性因子に対する安全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。本薬原材料としたヘパリンナトリウムは、各供給元で製造方法が異なるものの、同一の管理基準に従って管理されていること（表1）、食用に適する健康なブタ腸粘膜から製造され、製造工程におけるウイルスクリアランス値は、少なくとも6.6以上であること（表7）、ブタ腸粘膜は生物由来原料基準 第4.3 動物由来原料基準に適合する原料であることから、これら4社から供給されるヘパリンナトリウムを本薬製造の出発物質とすることは妥当であると考えている。承認申請書の「成分及び分量又は本質」に、ヘパリンナトリウムの由来動物、生物由来原料基準への適格性確認及びウイルス等感染性因子に対する不活化・除去方法を記載する。

機構は、一定の受入れ規格により管理されたヘパリンナトリウムを原材料とすることについて、申請者の説明は妥当であると判断した。また、原薬の製造工程におけるウイルスクリアランス試験結果から、製造工程において一定のウイルス等感染性因子不活化・除去が見込まれること、及び出発材料のヘパリンナトリウムの製造工程においても、ウイルス等感染性因子不活化・除去能が見込まれることから、現時点で原薬及び製剤のウイルス等感染性因子に対する安全性は担保されていると判断した。

表7 ヘパリンナトリウム各供給元におけるウイルスクリアランス試験結果

ヘパリンナトリウム供給元	ウイルスクリアランス値（ウイルス名）			
	エンベロープ有		エンベロープ無	
	DNA ゲノム	RNA ゲノム	DNA ゲノム	RNA ゲノム
■■■■社及び■■■■社	≥■■■■（PRV）	≥■■■■（BVDV）	≥■■■■（MVM）	≥■■■■（EMCV）
■■■■社	≥■■■■（PRV）	≥■■■■（TGEV） ≥■■■■（MuLV）	≥■■■■（PPV）	≥■■■■（Reo3） ≥■■■■（EMCV）
■■■■社	≥■■■■（PRV）	≥■■■■（Visna） ≥■■■■（BVDV）	≥■■■■（PPV）	≥■■■■（Polio）

PRV：仮性狂犬病ウイルス、BVDV：ウシ下痢症ウイルス、TGEV：ブタ伝染性胃腸炎ウイルス、MuLV：マウス白血病ウイルス、Visna：ビスナウイルス、MVM：マウス微小ウイルス、PPV：ブタパルボウイルス、EMCV：脳心筋炎ウイルス、Reo3：レオウイルス3型、Polio：ポリオウイルス

(2) 本質について

機構は、申請者が原薬の本質（構造、分子量等）を承認申請後に変更することとなった経緯及び原薬の本質を変更することにより、抗Xa活性、抗IIa活性を含めた本薬の薬理作用に及ぼす影響について説明を求めた。

申請者は、以下のように説明した。2006年3月の承認申請時には、医薬品名称調査会承認名（Japanese Accepted Names for Pharmaceuticals：以下、JAN）に登録されている化学構造（図2）を使用することが適切と考えていたが、2006年1月に欧州薬局方において、原薬の構造式が1,6-アンヒドロ体を含む構造式（図1）に変更されたこと及び平均分子量範囲が3,500～5,500から3,800～5,000に変更されたことを踏まえ、本申請においてもこれらを変更することが適切と考えた。なお、欧州医薬品審査庁（European Medicines Evaluation Agency：EMA）では2004年4月に、米国医薬品食品局（Food and Drug Administration：FDA）では2004年7月に、本薬の構造式及び平均分子量範囲の変更が承認されている。

新たに本薬の構造に含むことが適切と考えた 1,6-アンヒドロ体含量については、人工基質の限定分解を指標とした抗 Xa 活性及び抗 IIa 活性には影響しないが、XXXXXXXXXX (XXXXXXXXXX : XXXXXXXXXX) を用いた *in vitro* の試験において、1,6-アンヒドロ体含量依存的に組織因子経路インヒビター (Tissue Factor Pathway Inhibitor : 以下、TFPI) 遊離を亢進することが示された。また、本薬を用いた非臨床及び臨床試験において、TFPI を介した薬理作用を確認してはいないが、TFPI の血栓形成抑制作用や炎症に対する血管保護作用が報告されていることから (Drugs of the Future. 29: 751-766, 2004、Clin Appl Thromb Hemost. 11: 37-47, 2005)、本薬の 1,6-アンヒドロ体構造が、TFPI を介した抗凝固作用や抗炎症作用に寄与するものと推測した。以上から、本薬の構造式を図 1 のように変更し、1,6-アンヒドロ体含量を規格及び試験方法に規定し、XXXXXXXXXX ロットの実測値を踏まえ、規格値として設定することとした。

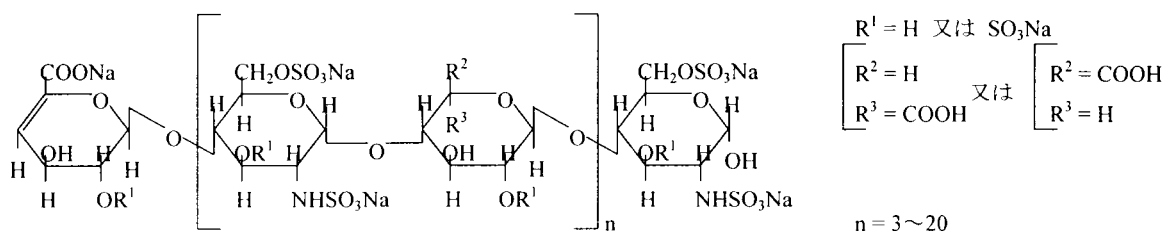


図 2 承認申請時エノキサパリンナトリウムの構造式

機構は、以上の説明を受け、JAN の登録内容について、速やかに変更申請するよう申請者を指導した。また、承認申請時に、欧州及び米国において、既に構造式及び平均分子量範囲が変更されていたにもかかわらず、申請者が、その事実を全く記載しないまま、承認申請した点について、本剤の本質に係る情報の反映が不適切であったと判断し、当該関連情報の収集及び記載を適性化するよう指導した。

また、本薬が *in vitro* において TFPI の遊離亢進作用を有し、さらに、TFPI に血栓形成抑制作用や血管保護作用があるとの報告があるとはいえ、現時点において、本薬による TFPI 遊離亢進作用を介した抗凝固作用や抗炎症作用を裏付ける臨床試験成績はなく、当該抗凝固作用及び抗炎症作用に臨床的な意義があるか否か結論づけることは出来ないと機構は考えているが、申請者がそれらの作用が本薬の薬効に寄与していると推察し、1,6-アンヒドロ体含量を規格及び試験方法に規定することに特段の問題はないと考える。

(3) 安定性について

機構は、原薬の苛酷試験において、外観、色調の変化がわずかに認められたものの、他の安定性試験（長期保存試験、中間的試験、光安定性試験）では、品質に明確な変化が認められなかったこと、また、製剤の加速試験において、色調及び pH のわずかな変化が認められたものの、他の安定性試験（長期保存試験、中間的試験、光安定性試験）において、品質に明確な変化は認められなかったことから、原薬の有効期間及び製剤の有効期間をそれぞれ、25℃、3 年間及び室温、2 年間とすることに特段の問題はないと判断した。

以上より、機構は、原薬及び製剤の物性及び品質の解析は適正になされており、規格及び試験方法も品質の恒常性を図る上で適切に設定されていると判断した。なお、承認申請時時には、一部の規格値に関する設定根拠及び原薬製造方法の工程管理項目が十分に説明されていなかったが、審査の過程において根拠が示されたことから、適切に記載するよう指導した。

3. 非臨床に関する資料

(i) 薬理試験成績の概要

本薬を含む低分子量ヘパリン及びヘパリンの表示単位については、低分子量ヘパリン標準品（第一次低分子量ヘパリン国際標準品、国立衛生試験所（現、国立医薬品食品衛生研究所）提供低分子量ヘパリン国際標準品又は申請者のエノキサパリンナトリウム標準品）を用いて測定した抗Xa活性に基づく国際単位（IU）又は、ヘパリン標準品を用いて測定した抗Xa活性に基づくヘパリン単位（U）を用いた。上記のいずれの単位にも変換できない場合は、重量単位で表示した。

<提出された資料の概要>

(1) 効力を裏付ける試験

1) 作用機序

①ATⅢに対する親和性に関する検討（*in vitro*）（添付資料4.2.1-1）

ヒトATⅢ 0.5 μ Mを飽和させるのに必要な本薬濃度から、本薬1mgあたりのATⅢ結合部位含有量（以下、BS）を求め、さらにBSと分子量から算出した本薬のATⅢ高親和性物質の含有率は14%であった。また、分子量に基づき本薬を8分画したとき、すべての分画にATⅢとの親和性物質を含有するが（含有率：1～61%）、高親和性部位は分子量の大きな分画に含まれることが示された。

②ヒト血漿における抗Xa活性、抗Ⅱa活性及び活性化トロンボプラスチン時間（以下、aPTT）に対する影響（*in vitro*）（添付資料4.2.1-2）

健康成人プール血漿に本薬0.15～1.2IU/mL（1.45～11.6 μ g/mLに相当）を添加後、合成発色基質を用いた比色法により抗Xa活性及び抗Ⅱa活性を測定し、それぞれの1次回帰直線スロープ比を抗Xa/抗Ⅱa活性比とした。本薬の抗Xa/抗Ⅱa活性比は4.88であり（ヘパリンでは1（Br Haematol. 82: 406-13, 1992他））、類薬の低分子量ヘパリン、パルナパリンナトリウム（2.57）、ダルテパリンナトリウム（2.34）及びレビパリンナトリウム（3.81）より高値を示した。また、健康成人プール血漿に本薬0.15、0.3、0.6及び1.2IU/mLを添加したときのaPTT延長作用は、いずれの濃度においても、同用量のこれら低分子量ヘパリン及びヘパリンより弱かった。

2) 血栓モデルに対する作用

①ウサギ深部静脈血栓モデルに対する抗血栓作用（添付資料4.2.1-3）

絶食下のニュージーランド白色種ウサギ（雄性、2.5～3.0kg、各群n=9）に本薬350、700及び1,400IU/kg（3.39、6.77及び13.54mg/kgに相当）、ヘパリン700及び1,400U/kg又は生理食塩水を単回皮下投与した3時間後、腹部大静脈に絹糸を含むシャントを挿入して、静脈血栓を形成させ、血流が完全に消失するまでの時間（以下、閉塞時間）を測定した。また、被験薬投与前及び投与3時間後の血漿中抗Xa活性及びaPTTを測定した。本薬は、用量依存的に閉塞時間を延長させ、700及び1,400IU/kg群における延長は統計学的に有意であり（p

<0.01及び $p<0.0001$ ；Log-Rank検定、生理食塩液群との比較)、同用量のヘパリン群と同程度であった。本薬は、用量依存的に血漿中抗Xa活性を増加させ、すべての群における増加は有意であった ($p<0.0001$ ；Welch-t検定、生理食塩液群との比較)。700及び1,400IU/kg群における血漿中抗Xa活性は、同用量のヘパリン群より有意に高かった ($p<0.0002$ ；Welch-t検定)。両薬は、aPTTを延長させたが、本薬1,400IU/kg群によるaPTTの延長作用は同用量のヘパリンより有意に弱かった ($p=0.002$ ；Welch-t検定)。

②ウサギ頸静脈血栓モデルに対する抗血栓作用 (血栓形成誘発前投与) (添付資料4.2.1-4)

ニュージーランド白色種ウサギ (雌雄、2.2~3kg) に ^{125}I 標識フィブリンノーゲンを静脈内投与した後、本薬2.5、10及び20U/kg (0.03、0.125及び0.25mg/kgに相当)、ヘパリン2.5及び10U/kg又は生理食塩液を単回静脈内投与した。被験薬投与5分後に、ヒト脳由来トロンボプラスチンを静脈内投与し、その1分後に頸静脈を結紮して血栓を誘発・形成させた。結紮15分後に血栓に含まれる ^{125}I 標識フィブリン量から血栓量を算出した (各群 $n=8\sim18$)。本薬10、20U/kg投与群では、血栓量が生理食塩液投与群に比して有意に減少した ($p<0.05$ ；分散分析、Scheffe型多重比較)。2.5及び10U/kg投与群における本薬とヘパリンの作用に有意差は認められなかった。

③ウサギ頸静脈血栓モデルに対する抗血栓作用 (血栓形成誘発後投与) (添付資料4.2.1-5)

2cm間隔でクランプしたニュージーランド白色種ウサギ (雄性、2.8~3.5kg) の頸静脈の血管内皮細胞を70%アルコールで傷害して、10秒間血流を再開させた後、再度10分間クランプすることにより血栓形成を誘発させた。クランプを解除するとともに、本薬2.5及び5mg/kg又は生理食塩液を90分間隔で2回静脈内投与し、2回目の投与90分後に頸静脈のアルコール処理部分に付着した血栓量を評価した (各群 $n=7\sim10$)。本薬2.5及び5mg/kg群における血栓の肉眼的評価 (Wessler's Index：0~4のスコア) 及び重量は生理食塩液群より有意に低かった (Wessler's Index： $p<0.05$ ；Mann-Whitney検定、血栓重量： $p<0.05$ ；Student-t検定又はCochran-t検定)。さらに、本薬5mg/kgの初回静脈内投与前に、 ϵ -アミノカプロン酸500mg/kgを静脈内投与して線溶系を阻害した群では、Wessler's Index及び血栓重量は本薬5mg/kgの単独投与群より有意な高値が示された (Wessler's Index： $p<0.05$ ；Mann-Whitney検定、血栓重量： $p<0.05$ ；Student-t検定又はCochran-t検定)。

④ウサギ頸動静脈シャント血栓モデルに対する抗血栓作用 (添付資料4.2.1-4)

ニュージーランド白色種ウサギ (雌雄、2.2~3kg) に ^{51}Cr 標識血小板及び ^{125}I 標識フィブリンノーゲンを静脈内投与した後、本薬200及び400U/kg、ヘパリン200及び400U/kg又は生理食塩液を静脈内投与した。その3分後に頸動脈と頸静脈間にコラーゲンに浸した絹糸を充填したシャントを挿入して血栓を形成させた。10分間灌流後、絹糸上に沈着した血栓中の ^{51}Cr 及び ^{125}I の放射能を測定した (各群 $n=7\sim14$)。生理食塩液群と比較して、本薬400U/kg (5mg/kgに相当) 群のフィブリン沈着量は有意に少なかった ($p<0.05$ ；Kruskal-Wallis検定) が、血小板沈着数については減少傾向が示されたのみであった。ヘパリンについては、200及び400U/kg群で生理食塩液群と比較して、有意なフィブリン沈着量の減少がみられ ($p<0.05$ ；Kruskal-Wallis検定)、血小板沈着数には減少傾向が示された。また、本薬とヘパリン

のフィブリン沈着量、血小板沈着数に対する作用に有意差は認められなかった。

(2) 副次的薬理試験

1) ヒト血小板凝集能に対する影響 (*in vitro*) (添付資料4.2.1-6)

健康成人から多血小板血漿 (以下、PRP) を調製し、本薬0.06、0.6及び6IU/mL (0.58、5.8及び58 μ g/mLに相当)、ヘパリン0.06、0.6及び6U/mL又は生理食塩液を添加した3分後にアデノシン5'-二リン酸 (以下、ADP) 1~1.5 μ M又はコラーゲン0.5~2 μ g/mLを添加して、血小板凝集を6分間測定した (各群n=5)。本薬はADP誘発一次凝集能及びコラーゲン誘発二次凝集能に有意な影響を及ぼさなかった (分散分析、Dunnett-Hsu型多重比較、生理食塩液群との比較)。一方、ヘパリン0.6及び6 U/mLはADP誘発一次凝集を有意に亢進させ、同用量の本薬に比べても有意に亢進させていたが ($p < 0.05$; 分散分析)、コラーゲン誘発二次凝集に対しては、影響を及ぼさなかった。

2) ヒト血漿中凝固活性に対する硫酸プロタミンの影響 (*in vitro*) (添付資料4.2.1-7)

ヒト血漿において、本薬35.7 μ g/mL (抗IIa活性としてIU/mLに相当) の抗IIa活性は、ほぼ同重量の硫酸プロタミンで、10~30 μ g/mLのaPTT延長作用は約2倍重量の硫酸プロタミンで、それぞれ抑制された。なお、硫酸プロタミンは30 μ g/mL以上の用量では、aPTTを延長させ、本薬添加時にも非添加時よりaPTTを短縮しなかった。本薬1U/mL (8.7 μ g/mLに相当) の抗Xa活性は、5倍量の硫酸プロタミンを用いたとき60%抑制されたが、完全には抑制されなかった。一方、ヘパリン1U/mL (6.1 μ g/mLに相当) の抗Xa活性及び抗IIa活性は、それぞれ約1.6及び1.33倍重量の硫酸プロタミンにより抑制された。ヘパリン2及び2.89 μ g/mLによるaPTTの延長は、それぞれ約2倍重量の硫酸プロタミンの添加により抑制された。

3) ウサギの出血作用に対する硫酸プロタミンの影響 (添付資料4.2.1-8)

麻酔下のニュージーランド白色種ウサギ (雌雄、2.5~3.0kg) の一方の耳翼に、5箇所出血創を作製し、出血部位を37℃の蒸留水1L中に15分間浸し、蒸留水中のヘモグロビン (以下、Hb) 量から出血量を算出した。次に、本薬1,500IU/kg (13.3mg/kgに相当)、ヘパリン400U/kg又は生理食塩液を静脈内投与し、5分後に反対側の耳翼に同様に出血量を測定した (各群n $\geq$ 10)。本薬及びヘパリン投与により出血量は有意に増加した。また、本薬及びヘパリンを静脈内投与した2分後に、それぞれの薬物と等モル濃度の硫酸プロタミン (本薬65IU/kgに対して1mg/kg、ヘパリン200U/kgに対して1mg/kg) を静脈内投与すると、両薬による出血増加作用は完全に抑制された。また、本薬又はヘパリン投与後2分後に比し、抗Xa及び抗IIaのいずれの活性も時間経過とともに減少し、20分後ではいずれも約50%まで減少したが、本薬投与5及び20分後の抗Xaは、等モルの硫酸プロタミンによって、それぞれさらに約50%抑制され、抗IIa活性は、それぞれほぼ完全に抑制された。一方、ヘパリン投与5及び20分後の抗Xa及び抗IIa活性は、等モルの硫酸プロタミンによって、いずれもそれぞれさらに約50%抑制された。なお、ヒト血漿における検討と異なり、ヘパリン投与後の抗Xa及び抗IIa活性が、ヘパリン200U/kgに対して1mg/kgの硫酸プロタミンによって完全には抑制されず、約50%抑制と不十分であった理由は、硫酸プロタミンの用量が不足していたためと考えられた。

(3) 安全性薬理試験

本項において、検討された本薬の用量は、重量 (mg) を基準に実施されたが、いずれの検討で用いられた本薬も、臨床使用の規格 (1mg あたり 100IU) を上回っており、安全性の評価においては本薬 1mg を約 100IU と読み替えることに問題はないと考えられる。

1) 一般行動 (添付資料4.2.1-9)

マウスにおいて、本薬10mg/kg及びヘパリン1,000U/kgの単回皮下投与は、一般行動に影響を及ぼさなかった。

2) 中枢神経系に対する作用 (添付資料4.2.1-9~11)

マウスにおいて、本薬10mg/kg及びヘパリン1,000U/kgの単回皮下投与は、電気刺激誘発性痙攣、ペンテトラゾール誘発性痙攣、オキソトレモリン誘発振戦、筋緊張度、協調運動、体温及び正向反射に影響を及ぼさなかった。また、本薬9.4mg/kgの単回皮下投与は、痛覚閾値 (ホットプレート法、酢酸writhing法及びtail pinch法) に影響を及ぼさなかった。

ラットにおいて、本薬10mg/kg及びヘパリン1,000U/kgの単回皮下投与は、覚醒時皮質脳波に影響を及ぼさなかった。

3) 呼吸・循環器系に対する作用 (添付資料4.2.1-11)

ペントバルビタール麻酔下のイヌにおいて、本薬10mg/kg及びヘパリン1,000U/kgの単回静脈内投与 (10分間の持続投与) は、呼吸数、1回換気量、毎分換気量、動脈血圧、心拍数、心電図及び左室機能に影響を及ぼさなかった。

ウサギの摘出心臓標本において、本薬0.01、0.1及び1mg/mL並びにヘパリン1、10及び100U/mLの添加は、心拍数、心収縮力、心電図及び冠血流量に影響を及ぼさなかった。

4) 自律神経系及び平滑筋に対する作用 (添付資料4.2.1-10~13)

ペントバルビタール麻酔下のネコにおいて、本薬10mg/kg及びヘパリン1,000U/kgの単回静脈内投与 (10分間の持続投与) は、交感神経節前線維電気刺激及びアドレナリン動脈内投与による瞬膜収縮反応に影響を及ぼさなかった。

延髄穿刺した正常血圧ラットにおいて、本薬10mg/kg及びヘパリン1,000U/kgの単回静脈内投与は、交感神経電気刺激並びにノルアドレナリン、アンジオテンシンⅡ及び5-ヒドロキシトリプタミン静脈内投与による血圧上昇反応に影響を及ぼさなかった。

ペントバルビタール麻酔下のラットにおいて、本薬10mg/kg及びヘパリン1,000U/kgの単回静脈内投与は、アセチルコリン及びスタミン静脈内投与による血圧降下反応に影響を及ぼさなかった。

ラットの摘出輸精管標本において、本薬0.01、0.1及び1mg/mL並びにヘパリン1、10及び100U/mLを添加したところ、本薬1mg/mL及びヘパリン100U/mLは電気刺激誘発収縮を軽度抑制した。

非妊娠ラット摘出子宮 (エストロジェン前投与) 標本及び妊娠ラット摘出子宮標本において、本薬0.01、0.1及び1mg/mL並びにヘパリン1、10及び100U/mLの添加は、自動収縮に影響を及ぼさなかった。

ウサギ摘出十二指腸標本において、本薬0.47、0.94及び1.88mg/mLの添加は、自動運動及び

アドレナリンによる弛緩に影響を及ぼさなかった。

モルモット摘出回腸標本において、本薬0.47、0.94及び1.88mg/mLを添加したところ、1.88mg/mLで自動運動のわずかな増加が見られたが、アセチルコリン及びヒスタミンによる収縮には影響を及ぼさなかった。

ラットの摘出門脈標本において、本薬0.24、0.47、0.94、1.88及び3.76mg/mLを添加したところ、3.76mg/mLで自動運動を一過性に軽度に抑制したが、ノルアドレナリンによる収縮には影響を及ぼさなかった。

5) 消化器系に対する作用 (添付資料4.2.1-14～15)

マウス及びラットにおいて、本薬10mg/kg及びヘパリン1,000U/kgの単回皮下投与は、消化管内輸送能、消化管活動電位、自発（麻酔下）及びヒスタミン（皮下投与）誘発胃酸分泌、拘束ストレス誘発及びエタノール誘発胃潰瘍並びに胆汁分泌に影響を及ぼさなかった。

6) 水及び電解質代謝に対する作用 (添付資料4.2.1-10)

ウサギにおいて、本薬10mg/kgの単回皮下投与は、尿量、尿中ナトリウム、カリウム及び塩化物イオン濃度並びに尿素及びクレアチニン排泄量に影響を及ぼさなかった。

7) その他の作用

①血液に及ぼす影響 (添付資料4.2.1-16)

ウサギにおいて、本薬10mg/kg及びヘパリン260U/kgの単回皮下投与は、赤血球数、Hb量及び蛋白量を減少させ、血糖値を上昇させた。ヘマトクリット（以下、Ht）値は、本薬により減少しヘパリンにより増加した。また、いずれも白血球、血小板、網状赤血球、血漿鉄及び鉄結合能には影響を及ぼさなかった。

ラット血液において、本薬0.01、0.1及び1mg/mL並びにヘパリン1、10及び100U/mLの添加は、いずれの濃度においても粘度を増加させた。

②抗炎症作用 (添付資料4.2.1-10)

カラゲニンで足蹠浮腫を誘発したラットにおいて、本薬2.35、4.7及び9.4mg/kgを単回皮下投与したところ、4.7mg/kg以上で中等度の抗炎症作用を示した。

(4) 薬力学的薬物相互作用試験

新たな資料は提出されていない。

<審査の概要>

機構は、ヘパリンが本薬より強い抗Ⅱa活性を有することを踏まえ、ウサギ頸動静脈シャント血栓モデルに対する抗血栓作用の検討において、抗Xa活性で同等の本薬及びヘパリン投与時のフィブリン沈着量及び血小板沈着数に対する作用が同様であった理由を考察するよう求めた。

In vitro における本薬の抗Xa活性/抗Ⅱa活性比はヘパリンの1より大きいことから、抗Xa活性で同等の用量の本薬とヘパリンを投与した場合、*in vivo*における抗血栓作用はヘパリンよりも本薬の方が弱いことが予想されたが、当該試験における本薬のフィブリン沈着抑制作用は、ヘパリンと同等であった。したがって、この血栓モデルにおけるフィブリン沈着抑制作用には、抗Xa活性が

重要であると考えられた。また、ウサギ頸静脈血栓モデルにおいても、抗Xa活性で同等の用量の本薬とヘパリンを投与した場合、抗血栓作用は同等であった。さらに、ラットにおける頸動静脈AVシャント血栓モデルと下大静脈血栓モデルにおいても、抗Xa活性を指標としたヘパリンのED₅₀が本薬 (Thromb Haemost. 84: 611-20, 2000) 又はダルテパリンナトリウム (Br J Pharmacol. 123: 92-6, 1998) と同等かやや高値であり、同様に、ウサギにおける頸静脈血栓モデルにおいても、抗Xa活性で同等の用量の3種の低分子量ヘパリンとヘパリンを投与した場合、抗血栓作用は同等であったことが報告されている (Br J Haematol. 83: 622-6, 1993)。

静脈血栓モデルに関し、抗Xa活性で同等の用量のヘパリンと本薬を含む低分子量ヘパリンの抗血栓作用が明らかに異なるという非臨床試験成績は報告されてない。これらのモデルでは、血管の障害、凝固亢進状態、血流停滞のいずれかを満たし、凝固カスケードのXaより上流の内因系又は外因系経路の血液凝固因子が活性化されると考えられるが、両経路の合流点に位置するXaは、いずれの経路が活性化された場合にも生成される。Xaはプロトロンビンを変性してIIaを生成し、IIaはフィブリノーゲンをフィブリンに変換する他、血小板、血液凝固第V因子、血液凝固第VIII因子を活性化することにより、凝固反応をさらに活性化させるが、上記血栓モデルでは、いずれも血栓形成惹起前に本薬を含むヘパリン類を投与しているため、凝固カスケードのIIaより上流のXaで効率的にIIaの産生を抑制したと考えられ、抗Xa活性を指標として同等の本薬、他の低分子量ヘパリン又はヘパリンを投与したとき、ヘパリンは低分子量ヘパリンより強い抗IIa活性を有するにもかかわらず、これらの血栓モデルでの抗血栓作用が同等であったものと考えられる。なお、ヒト血小板におけるADP誘発血小板一次凝集に対する増強作用は、本薬よりヘパリンの方が強いが、ウサギ頸動静脈シャント血栓モデルでヘパリン群と対照群の血小板沈着数に有意差はみられず、抗Xa活性で同等の本薬及びヘパリン投与時の抗血栓作用は同等であったことに本薬とヘパリンの血小板一次凝集に対する作用の相違は関連しないものと考えられた。

機構は、以下のように考える。非臨床試験成績から、本薬が、血栓形成前から投与される本申請のような使用法であれば、ヘパリンと本薬の有効性は同等と判断でき、安全性に関しても同等以上であることが示唆された。本薬はヘパリンの解重合体であり、幅広い分子量のヘパリンを含むことから、ヘパリン起因性血小板減少症 (Heparin-induced Thrombocytopenia: 以下、HIT) の危険性や抗IIa活性を合わせ持つことのデメリットについて、ヘパリンと質的に同様である可能性を完全には否定できないものの、硫酸プロタミンにより抗Xa活性の約半分程度中和できる等のメリットも考えられる。

(ii) 薬物動態試験成績の概要

<提出された資料の概略>

本薬の薬物動態は、本薬のグルコサミン部分のN-硫酸基を標識した³⁵Sの放射能又は本薬の抗Xa及び抗IIa活性を指標として検討された。

(1) 吸収 (添付資料 4.2.2-2、-7 及び-8)

ラットに³⁵S-本薬 0.425~1.7mg/kg を単回皮下投与した時、血液中に、放射能は投与3分後より検出され、最高血液中濃度到達時間 (以下、 t_{max}) は0.45~0.70時間であった。最高血液中濃度 (以下、 C_{max}) 及び血液中濃度-時間曲線下面積 (AUC) は用量に依存して増加した。血液中放射能濃度は二相性に消失し、 β 相の消失半減期 (以下、 $t_{1/2\beta}$) は6.37~10.48時間であった。単回静脈内投与時のAUC及び $t_{1/2\beta}$ は、単回皮下投与時と同様であった。皮下投与時の