

審査報告書

平成 21 年 11 月 11 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] エポエチンアルファ BS 注 750 シリンジ「JCR」、同注 1500 シリンジ「JCR」、同注 3000 シリンジ「JCR」、同注 750 「JCR」、同注 1500 「JCR」、同注 3000 「JCR」（ジェポ注 750 シリンジ、同注 1500 シリンジ、同注 3000 シリンジ、同注 750、同注 1500、同注 3000 から変更）
- [一 般 名] エポエチン カッパ（遺伝子組換え） [エポエチンアルファ後続 1]（エポエチン カッパ（遺伝子組換え）から変更）
- [申 請 者 名] 日本ケミカルリサーチ株式会社
- [申請年月日] 平成 20 年 11 月 21 日
- [剤型・含量] 1 筒（0.5mL、1mL 又は 2mL）中にエポエチン カッパ（遺伝子組換え） [エポエチンアルファ後続 1] を 750 国際単位、1500 国際単位又は 3000 国際単位含有する注射剤（キット製品）
1 パイアル（0.5mL、1mL 又は 2mL）中にエポエチン カッパ（遺伝子組換え） [エポエチンアルファ後続 1] を 750 国際単位、1500 国際単位又は 3000 国際単位含有する注射剤
- [申 請 区 分] 1-(1) 新有効成分含有医薬品
- [本 質]
- （日本名） エポエチン カッパは、遺伝子組換えヒトエリスロポエチンであり、チャイニーズハムスター卵巣細胞で産生される。エポエチン カッパは、165 個のアミノ酸残基からなる糖タンパク質（分子量：約 28,000）である。
- （英 名） Epoetin Kappa is a recombinant human erythropoietin, which is produced in Chinese hamster ovary cells. Epoetin Kappa is a glycoprotein (molecular weight: ca. 28,000) consisting of 165 amino acid residues.

構造式：

審査結果

平成 21 年 11 月 11 日

- [販 売 名] エポエチンアルファ BS 注 750 シリンジ「JCR」、同注 1500 シリンジ「JCR」、同注 3000 シリンジ「JCR」、同注 750「JCR」、同注 1500「JCR」、同注 3000「JCR」（ジェポ注 750 シリンジ、同注 1500 シリンジ、同注 3000 シリンジ、同注 750、同注 1500、同注 3000 から変更）
- [一 般 名] エポエチン カッパ（遺伝子組換え）〔エポエチンアルファ後続 1〕（エポエチン カッパ（遺伝子組換え）から変更）
- [申 請 者 名] 日本ケミカルリサーチ株式会社
- [申請年月日] 平成 20 年 11 月 21 日
- [審 査 結 果]

提出された資料から、本薬とエポエチンアルファ（遺伝子組換え）（以下、「EPO α 」）は同等/同質であり、本申請製剤は EPO α を有効成分とする製剤である「エスポー注射液 750」等を先行バイオ医薬品とするバイオ後続品に該当すると判断する。

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】

1. 透析施行中の腎性貧血
2. 未熟児貧血

【用法・用量】

1. 透析施行中の腎性貧血

投与初期は、エポエチンアルファ（遺伝子組換え）〔後続 1〕として、通常、成人、1 回 3000 国際単位を週 3 回、できるだけ緩徐に静脈内投与する。

貧血改善効果が得られたら、維持量として、通常、成人、1 回 1500 国際単位を週 2～3 回、あるいは 1 回 3000 国際単位を週 2 回投与する。

貧血改善効果の目標値はヘモグロビン濃度で 10g/dL（ヘマトクリット値で 30%）前後とする。

なお、いずれの場合も貧血症状の程度、年齢等により適宜増減するが、維持量での最高投与量は、1 回 3000 国際単位、週 3 回投与とする。

2. 未熟児貧血

通常、エポエチンアルファ（遺伝子組換え）〔後続 1〕として、1 回 200 国際単位/kg を週 2 回皮下投与する。

ただし、未熟児早期貧血期を脱し、ヘモグロビン濃度が 10g/dL（ヘマトクリット値で 30%）

前後で臨床症状が安定したと考えられる場合は投与を中止すること。
なお、貧血症状の程度により適宜増減する。

審査報告 (1)

平成 21 年 10 月 22 日

I. 申請品目

[販 売 名]	ジェボ注 750 シリンジ、同注 1500 シリンジ、同注 3000 シリンジ、同注 750、同注 1500、同注 3000
[一 般 名]	エポエチン カッパ (遺伝子組換え)
[申 請 者 名]	日本ケミカルリサーチ株式会社
[申 請 年 月 日]	平成 20 年 11 月 21 日
[剤 形 ・ 含 量]	1 筒 (0.5mL、1mL 又は 2mL) 中にエポエチン カッパ (遺伝子組換え) を 750 国際単位、1500 国際単位又は 3000 国際単位含有する注射剤 (キット製品) 1 パイアル (0.5mL、1mL 又は 2mL) 中にエポエチン カッパ (遺伝子組換え) を 750 国際単位、1500 国際単位又は 3000 国際単位含有する注射剤
[申 請 時 効 能 ・ 効 果]	透析施行中の腎性貧血
[申 請 時 用 法 ・ 用 量]	投与初期は、エポエチン カッパ (遺伝子組換え) として、通常、成人、1 回 3000 国際単位を週 3 回、できるだけ緩徐に静脈内投与する。 貧血改善効果が得られたら、維持量として、通常、成人、1 回 1500 国際単位を週 2~3 回、あるいは 1 回 3000 国際単位を週 2 回投与する。 貧血改善効果の目標値はヘモグロビン濃度で 10g/dL (ヘマトクリット値で 30%) 前後とする。なお、いずれの場合も貧血症状の程度、年齢等により適宜増減するが、維持量での最高投与量は、1 回 3000 国際単位、週 3 回投与とする。

II. 提出された資料の概略及び審査の概要

本申請において、申請者が提出した資料及び医薬品医療機器総合機構 (以下、「機構」) における審査の概略は、以下のとおりである。

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

腎性貧血の主因は腎障害に伴う造血因子であるエリスロポエチン (以下、「EPO」: erythropoietin) の産生低下であり、貧血の原因が腎障害以外に認められない場合に初めて診断される。腎性貧血に対する第一選択薬は赤血球造血刺激因子製剤 (以下、「ESA」: erythropoiesis stimulating agent) であり、慢性透析患者の 83.7% が遺伝子組換えヒト EPO (以下、「rHuEPO」) 製剤を使用している (日本透析医学会統計調査委員会 わが国の慢性透析療法の現況 2006 年 12 月 31 日現在)。本邦において末期腎不全患者は増加しており、2008 年末には慢性透析患者は約 28 万 2 千人に達し、透析導入患者数は約 3 万 8 千人で、慢性透析患者数は毎年約 1 万人ずつ増加していることから (日本透析医学会統計調査委員会 わが国の慢性透析療法の現況 2008 年 12 月 31 日現在)、ESA による治療が必要な透析施行中の腎性貧血患者は、今後さらに増加す

ると考えられている。

本邦では、既に ESA 製剤として rHuEPO 製剤のエポエチンアルファ（遺伝子組換え）（以下、「EPO α 」）及びエポエチン ベータ（遺伝子組換え）（以下、「EPO β 」）、並びに持続型製剤のダルベポエチン アルファ（遺伝子組換え）が使用されている。

エポエチン カッパ（遺伝子組換え）（以下、「本薬」）は、申請者により製造された新規 rHuEPO 製剤であり、先行バイオ医薬品である EPO α 製剤「エスポー注射液 750」等と同等/同質の製剤であることの確認を目的として本邦における開発が進められ、製造販売承認申請に至った。

なお、2009 年 10 月現在、本薬は海外では承認されておらず、開発も行われていない。

2. 品質に関する資料

<提出された資料の概略>

本薬は、ヒト胎児肝細胞の mRNA に由来するヒト EPO（以下、「HuEPO」）cDNA を導入したチャイニーズハムスター卵巣細胞（以下、「CHO 細胞」）で産生される、165 個のアミノ酸残基（C₈₀₉H₁₃₀₁N₂₂₉O₂₄₀S₅、分子量：18,235.70）からなる糖タンパク質（分子量：約 28,000）である。分子内に、2 ヲ所のジスルフィド結合（Cys7-Cys161、Cys29-Cys33）、3 本の N-結合型糖鎖（Asn24、Asn38 及び Asn83）及び 1 本の O-結合型糖鎖（Ser126）を有する。

(1) 原薬

1) 製造方法

① 遺伝子発現構成体の構築及びセルバンクの調製

ヒト胎児肝臓 cDNA ライブラリーから、HuEPO cDNA をクローニングした後、得られたクローンにおいて欠損していた N 末端 5-アミノ酸をコードする領域を、合成オリゴヌクレオチドを結合させることにより補完し、完全長の HuEPO cDNA が得られた。完全長の HuEPO cDNA を、XXXXXXXXXX耐性遺伝子を含む発現ベクターである XXXXXXXXXX に挿入することにより、HuEPO 発現用遺伝子発現構成体 XXXXXXXXXX (EPO) が作製された。XXXXXXXXXX (EPO) を XXXXXXXXXX 法により CHO 細胞に導入し、XXXXXXXXXX 存在下で XXXXXXXXXX (EPO) 導入細胞が選択され、XXXXXXXXXX (EPO) 導入細胞の中から HuEPO の生産能を指標に、XXXXXXXXXX 株が選択された。この株を無血清培地に馴化させ、マスターセルバンク（以下、「MCB」：master cell bank）が調製され、MCB からワーキングセルバンク（以下、「WCB」：working cell bank）が調製された。

② セルバンクの性質及び管理

MCB、WCB 及び *in vitro* 細胞齢の上限まで培養された細胞（以下、「CAL」：cells at the limit）について、特性解析（表 1）が行われ、MCB を起点として累積細胞分裂回数 XXXXXXXXXX 回までの遺伝的安定性が確認された。また、純度試験（表 2）が行われ、MCB 及び CAL の電子顕微鏡観察において CHO 細胞に内在するレトロウイルス様粒子が観察されたことを除き、実施された試験項目の範囲で異種微生物及びウイルスの混入がないことが確認された。

＜表1 セルバンク等における特性解析試験一覧＞

試験項目	試験方法	結果		
		MCB	WCB	CAL
		ロット番号		
挿入 DNA コピー数	定量的 PCR 法	～ コピー/細胞	NT	～ コピー/細胞
挿入 DNA パターンの解析	サザンブロット法	HuEPO 遺伝子の挿入が確認	NT	HuEPO 遺伝子の挿入が確認
DNA 塩基配列	HuEPO 遺伝子の 5'及び 3'フランキング領域の DNA 塩基配列解析	期待される塩基配列と一致	NT	期待される塩基配列と一致
	HuEPO 遺伝子の DNA 塩基配列解析	NT	NT	期待される HuEPO 遺伝子の塩基配列と一致した
mRNA 塩基配列	RT-PCR 法	期待される塩基配列と一致	NT	期待される塩基配列と一致
mRNA サイズ	ノーザンブロット法	～ kb に 1 本のバンドが認められた	NT	～ kb 付近に 1 本のバンドが認められた
発現タンパク質の解析	ウエスタンブロット法	EPO の発現が確認された		NT
	ペプチドマップ	NT	NT	自家一次標準物質のペプチドマップと一致
アイソザイム解析	6 種類の酵素 ^{a)} のアイソザイムパターン解析	チャイニーズハムスター由来の細胞であることが確認		
ゲノム解析	FISH ^{b)}	分子ゲノム	NT	分子ゲノム

NT: 未実施

^{a)} ヌクレオシドホスホリラーゼ (NP)、グルコース 6-リン酸脱水素酵素 (G6PD)、リンゴ酸脱水素酵素 (MD)、マンノースリン酸イソメラーゼ (MPI)、乳酸脱水素酵素 (LD) 及びペプチダーゼ B (PepB)

^{b)} Fluorescence *in situ* hybridization

＜表2 セルバンク等における純度試験一覧＞

試験項目	試験方法	結果			
		MCB	WCB	CAL	
異種微生物混入	無菌試験法 (直接法)	異種微生物の混入は検出されなかった			
マイコプラズマ	マイコプラズマ否定試験法	陰性			
ウイルスに関する試験	感染性試験	感受性細胞 (mink S ^L 細胞) を用いて、レトロウイルスの感染性について調べた	陰性	NT	陰性
	電子顕微鏡観察	レトロウイルス及びレトロウイルス様粒子の存在について調べた	CHO 細胞で存在の知られたレトロウイルス様粒子以外のウイルス及びウイルス様粒子は検出されなかった	NT	CHO 細胞で存在の知られたレトロウイルス様粒子以外のウイルス及びウイルス様粒子は検出されなかった
	<i>in vitro</i> 試験	指示細胞 ^{a)} に接種し、それぞれ細胞変性及び血球吸着 (MCB については血液凝集も加えて) を観察した	ウイルス混入を示す結果は認められなかった		
	<i>in vivo</i> 試験	動物 (成熟マウス及び乳飲みマウス) 及び発育鶏卵に接種し、それぞれ健康状態を観察した	ウイルス混入を示す結果は認められなかった		
	マウス抗体産生試験	接種/飼育後、血清中の 16 種類のウイルス ^{b)} に対する抗体産生の有無を調べた	陰性	NT	NT
	ハムスター抗体産生試験	接種/飼育後、血清中の 10 種類のウイルス ^{c)} に対する抗体産生の有無を調べた	陰性	NT	NT
	ウシウイルス試験	指示細胞 (BT 細胞及び Vero 細胞) ^{d)} を用い、ウシウイルスの混入について調べた	陰性	NT	NT
	ブタウイルス試験	指示細胞 (PPK 細胞) ^{e)} を用い、ブタウイルスの混入について調べた	陰性	NT	NT
	ウシ・ブタウイルス試験	定量的 PCR 法により、ウシ及びブタのサーコウイルスの混入について調べた	陰性	NT	NT
	指示細胞 (KL2 細胞、PK13 細胞、ST 細胞、A9 細胞、Vero 細胞) ^{f)} を用い、ウシウイルス及びブタウイルスの混入について調べた	NT	NT	陰性	

NT: 未実施

^{a)} ヒト肺二倍体細胞 (MRC-5)、アフリカミドリザル腎臓細胞 (以下、「Vero 細胞」) 及び CHO-K1 細胞

^{b)} Lymphocytic choriomeningitis virus (以下、「LCMV」)、Mouse hepatitis virus (MHV)、Pneumonia virus of mice (以下、「PVM」)、Murine minute virus (以下、「MMV」)、Sendai virus (以下、「SEND」)、Ectromelia (ECTRO)、Epizootic diarrhoea of infant mice (EDIM)、Reovirus Type 3 (以下、「Reo3」)、Mouse encephalomyelitis (GDVII)、Mouse adenovirus (MAD)、Polyoma (POLY)、Hantaan virus (以下、「HAN」)、Mouse thymic virus (MTV)、Mouse cytomegalovirus (MCMV)、Mouse pneumonitis virus(K) 及び Lactate dehydrogenase-elevating virus (LDV)

^{c)} SEND、Simian virus 5、PVM、MMV、Kilham Rat virus、Toolan's H-1 virus、Mouse polio virus、Reo3、LCMV 及び HAN

^{d)} ウシ鼻甲介細胞 (BT) 及び Vero 細胞

^{e)} ブタ腎臓初代培養細胞 (PPK)

^{f)} ウシ胎児肺細胞 (KL2)、ブタ腎臓上皮細胞 (PK13)、ブタ精巣細胞 (ST)、マウス脂肪組織細胞 (A9) 及び Vero 細胞

セルバンク（MCB 及び WCB）は液化窒素気相中に保存され、保存中の安定性は少なくとも 年 に 回の頻度で生存率を測定することにより確認される。細胞の生存率の顕著な低下、異種微生物の混入又は生産物の変化がセルバンクに起因することが明らかになった場合は、当該セルバンクは廃棄される。なお、MCB は安全上の理由により 施設において保存される。

セルバンクの更新時には、現行のセルバンクの調製方法に準じて調製した後、特性解析試験（表 1）を実施し、表 1 の結果と比較して差異がなく、かつ、純度試験（表 2）において異常が認められないことが確認された細胞が、新しいセルバンクとして使用される。

③ 製造工程

本薬の製造工程及び工程管理は以下のとおりである。

第 1 工程	種培養 WCB の融解 (本) 及び培養 培養装置： ～ mL 培養フラスコ 培地： 培地	工程管理 1～3 生細胞密度 生存率
第 2 工程	拡大培養 1～3 培養装置： ～ L バイオリアクター 培地： 培地	工程管理 4～6 生細胞密度 生存率
第 3 工程 ^{a)}	生産培養 方法：本工程内において、 培養装置： L バイオリアクター 培地： 培地	工程管理 7 (各 段階) 生細胞密度 生存率 HuEPO 含量 工程管理 8 (第 3 工程終了時) 細胞分裂回数
第 4 工程 ^{a)}	ハーベスト 方法：生産培養でハーベストした培養液から細胞を除去し、ろ過する フィルター：親水性ろ過フィルター (孔径 μm)	
第 5 工程	濃縮 方法：限外ろ過 限外ろ過膜の分画分子量： kD	工程管理 9 回収率
第 6 工程 ^{a)}	ウイルス不活化 方法：低 pH 処理 (pH) による不活化及びろ過による緩衝液置換 フィルター：親水性ろ過フィルター (孔径 μm) ろ液を とし、中間体試験を行う	工程管理 10 回収率 中間体試験 性状 エンドトキシン HuEPO 含量
第 7 工程 ^{a)}	凍結保存 アフィニティクロマトグラフィー 担体：	工程管理 11 回収率 HCP ^{b)} 除去率
第 8 工程 ^{a)}	疎水クロマトグラフィー 担体：	工程管理 12 回収率 HCP ^{b)} 除去率
第 9 工程 ^{a)}	ハイドロキシアパタイトクロマトグラフィー 担体：	工程管理 13 回収率
第 10 工程 ^{a)}	陽イオン交換クロマトグラフィー 担体：	工程管理 14 回収率
第 11 工程 ^{a)}	サイズ排除クロマトグラフィー 担体：	工程管理 15 エンドトキシン 回収率
第 12 工程 ^{a)}	ウイルス除去 フィルター： (孔径 nm)	工程管理 16 フィルター完全性
第 13 工程	原薬化 フィルター：親水性ろ過フィルター (孔径 μm) 原薬 ^{c)} 製容器に充てんする 貯蔵方法：-20℃ 以下、暗所 有効期間：3 年	工程管理 17 回収率

^{a)} 第 3、第 4 工程及び第 6～12 工程は重要工程である

^{b)} 宿主細胞由来タンパク質

^{c)}

生産培養工程、ハーベスト工程、濃縮工程、ウイルス不活性化工程及び精製工程について、実生産スケールでプロセスバリデーションが実施され、連続した4ロットの生産工程において、いずれの工程管理項目も管理基準を満たすことが確認された。また、不純物の除去能が検討され、宿主細胞由来タンパク質（以下、「HCP」：host cell protein）、宿主細胞由来DNA及びエンドトキシンが安全性に影響のない低レベルまで恒常的に除去されることが確認された。

なお、ウイルスクリアランス能を持つ工程（表3）については、ウイルスクリアランス試験の結果により工程の頑健性が確認された（「④ 外来性感染性物質の安全性評価」の項参照）。

また、以下の検討がなされ、品質の恒常性が確認された。

実生産スケールで製造された4ロットの原薬の規格試験が実施され（「5 原薬の規格及び試験方法」の項参照）、いずれの試験結果も同様であり品質の恒常性が認められた。また、糖に係る特性解析（N-グリコシルノイラミン酸含量、シアロ糖鎖プロファイル及び糖ペプチドの質量分析）では、いずれのロットもほぼ同様の糖鎖が付加されていることが確認された。さらに、培地成分由来タンパク質（XXXXXXXXXX（遺伝子組換え）及びXXXXXXXXXX（遺伝子組換え））について、パイロットプラントスケールで製造された6ロットの原薬を用いた検討がなされ、いずれも安全性に影響のない低レベルまで除去されることが確認された。

カラム担体の再使用可能回数が、スケールダウンした評価系を用いた再使用試験（SDS-PAGE〈銀染色〉、SE-HPLC及びELISA〈HCP〉）により検討され、いずれの結果も検討された使用回数の範囲で変化は認められなかった。また、ウイルスクリアランス能を有する第9及び10工程については、カラム再使用時のウイルスクリアランス指数が算出され、検討された使用回数の範囲で、ウイルスクリアランス能の低下は認められなかった。

なお、重要中間体（ウイルス不活性化工程〈第6工程〉終了後のろ液）は、保存試験（性状、pH、HuEPO含量、SE-HPLC、エンドトキシン、タンパク質定量及び吸光度）の結果、XXXX℃以下でXXXXヵ月間安定であることが確認された。

④ 外来性感染性物質の安全性評価

本薬の製造工程では、宿主細胞であるCHO細胞以外の動物由来原材料は使用されておらず、細胞培養工程で使用する培地には、XXXXXXXXXX（遺伝子組換え）及びXXXXXXXXXX（遺伝子組換え）が含まれているが、その製造工程で動物由来原材料は使用されていない。

MCB、WCB及びCALについて純度試験が実施され、マイコプラズマ、異種微生物及びウイルスの混入は認められないことが確認された（表2）。

生産培養工程（第3工程）終了後、細胞を除去する前に採取した未精製バルクについては、XXXX年にXXXX回の頻度で純度試験（マイコプラズマ、異種微生物混入及びウイルスに係る試験〈電子顕微鏡観察、*in vitro*試験〔MRC-5細胞、Vero細胞、CHO-K1細胞及び324K細胞〕）が実施される。

また、第6、9、10及び12工程についてウイルスクリアランス試験が実施された。各工

程のウイルスクリアランス指数を表3に示す。

＜表3 ウイルスクリアランス試験結果＞

製造工程：不活化/除去工程	ウイルス ^{a)} クリアランス指数			
	MuLV	PRV	Reo-3	MVM
第6工程：ウイルス不活化工程	≥	≥	≥ ^{b)}	≥ ^{b)}
第9工程：ハイドロキシアパタイトクロマトグラフィー工程	≥	≥	≥ ^{b)}	≥ ^{b)}
第10工程：陽イオン交換クロマトグラフィー工程	≥ ^{b)}	≥	≥	≥ ^{b)}
第12工程：ウイルス除去工程	≥	≥	≥	≥
総ウイルスクリアランス指数	≥11.00	≥20.49	≥8.71	6.60

^{a)} MuLV：Murine leukemia virus、PRV：Pseudorabies virus、Reo-3：Reovirus type3、MVM：Minute virus of mice

^{b)} 総ウイルスクリアランス指数に含めていない

⑤ 製造工程の開発の経緯

本薬の開発過程において、製造方法の変更が行われた。製造方法 A、B 及び C では異なる細胞が使用され、加えて B から C への変更では生産性向上のための変更が行われた。主な変更点を表4に示す。なお、自家一次標準物質は製造方法 ■、治験薬は製造方法 ■により製造され、実生産スケールの製造方法は製造方法 ■である。

＜表4 製造工程の主な変更点＞

製造方法	A	B	C
細胞（ロット番号） ^{a)}	■	■	■
生産培養工程（培養装置容量）	L		L
ウイルス不活化工程の実施段階	ハーベスト液を ■ を実施する	変更なし（同左）	ハーベスト液を ■ として凍結保存する
ウイルス除去工程	ろ過膜面積： ■ m ²		ろ過膜面積： ■ m ²

^{a)} ■（実験用セルバンク）、■（WCB）及び ■（WCB）は、全て同一の MCB から作製されている

製造方法変更前後の原薬の同等性/同質性について、製造方法 A から B への変更については規格試験のみ、製造方法 B から C への変更については、規格試験に加え、特性解析試験（N 末端アミノ酸配列、N-グリコリルノイラミン酸含量、シアロ糖鎖プロファイル、糖ペプチドの質量分析及び生物活性（HuEPO 受容体との結合親和性〔結合解離速度定数及び解離定数〕）及び不純物（等電点ウエスタンブロット、SE-HPLC 及び SDS-PAGE〔銀染色〕））が実施され、申請者はこれらの試験結果から、製造方法 A、B 及び C で製造される原薬は同等/同質であると判断している。

2) 構造・組成

特性解析として、以下の試験が実施された。

① 一次構造

アミノ酸組成、N 末端アミノ酸配列、C 末端アミノ酸配列及び全アミノ酸配列解析により、一次構造が決定され、その配列は cDNA 配列及び HuEPO に関する公表論文（J Biochem 107: 352-359, 1990; J Biol Chem 262: 17156-17163, 1987）から推定される理論配列と一致した。

② 高次構造

i) ジスルフィド結合

アミノ酸組成分析によりシステインは4残基と算出された。

本薬をエンドプロテアーゼ Glu-C（以下、「Glu-C」）で消化し RP-HPLC で分離して得られた、システインを含むと推測されるペプチドについて、還元ピリジルエチル（以下、「PE」）化し RP-HPLC で分離しアミノ酸配列を確認した結果、2カ所のジスルフィド結合（Cys7-Cys161、Cys29-Cys33）が確認された。また、非還元・還元 PE 化及びアミノ酸分析を行った結果、遊離 SH 基は確認されなかった。

ii) 二次構造解析

遠紫外領域（200～250nm）の円偏光二色性（以下、「CD」：circular dichroism）スペクトルを解析した結果、各構造の存在比は、 α -ヘリックス ■■■%、 β -シート ■■■%、 β -ターン及びランダムコイル構造 ■■■%であった。

③ 糖鎖構造

i) 糖鎖結合部位

糖鎖の結合部位を含むと推測される各ペプチド断片を RP-HPLC で分離した後にアミノ酸配列を決定した結果、Asn24、Asn38 及び Asn83 に *N*-結合型糖鎖が結合していることが確認され、また、Ser126 に *O*-結合型糖鎖が結合していることが確認された。

ii) 単糖組成

単糖組成分析の結果、本薬 1mol に対し、シアル酸である *N*-アセチルノイラミン酸 ■■■mol 及び *N*-グリコリルノイラミン酸 ■■■mol、中性糖であるマンノース ■■■mol、フコース ■■■mol 及びガラクトース ■■■mol、アミノ糖であるグルコサミン ■■■mol 及びラクトサミン ■■■mol が確認された。

iii) 糖鎖プロファイル

ヒドラジン分解及び *N*-グリコシダーゼ F 処理により切り出した *N*-結合型糖鎖を蛍光標識し、シアリダーゼによりアシアロ化した後、二次元糖鎖マップ法により糖鎖構造の決定を行った。*N*-結合型糖鎖として、複合型糖鎖（パイアンテナリー型糖鎖、トリアンテナリー型糖鎖及びテトラアンテナリー型糖鎖）が検出された。また、質量分析による解析から、それらの非還元末端にはシアル酸を有する糖鎖構造が確認された。

ヒドラジン分解及び *O*-グリコシダーゼ処理により切り出した *O*-結合型糖鎖を蛍光標識し、RP-HPLC による既知の糖鎖（Gal β 1-3GalNAc）との比較及び質量分析を行った結果、*O*-結合型糖鎖は、Gal β 1-3GalNAc であることが確認された。

④ その他の物理的・化学的性質

ウエスタンブロットでは、抗 HuEPO モノクローナル抗体と反応する幅広い単一の泳動帯が認められた。紫外吸収スペクトルから、280nm 付近に極大吸収を持つことが確認され、等電点電気泳動（変性条件）では、pI ■■■～■■■の間に ■■■～■■■本の泳動帯が認められた。

SDS-PAGE（クマシーブリリアントブルー（以下、「CBB」：coomassie brilliant blue）染

色)の結果、分子量は約 32,000~39,000 と推定され、一方、質量分析の結果、分子量は約 28,000 と推定された。

RP-HPLC 及び SE-HPLC のクロマトグラムにおいて、いずれも単一のピークが認められた。

⑤ 生物活性

i) HuEPO 受容体に対する結合親和性

HuEPO 受容体発現細胞を使用した HuEPO 受容体への結合阻害試験において、本薬は、HuEPO 受容体に対し結合親和性を有した (結合阻害定数 K_i 値は、 $6.31 \times 10^{-10} \pm 1.72 \times 10^{-10} \text{ mol/L}$)。また、HuEPO 受容体に対する結合速度定数 k_a は $2.12 \times 10^7 \pm 0.35 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、解離速度定数 k_d は $1.24 \times 10^{-4} \pm 0.08 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 、解離定数 K_D は $5.97 \times 10^{-12} \pm 1.17 \times 10^{-12} \text{ mol/L}$ であった (いずれも平均値 \pm 標準偏差)。

ii) ヒト骨髄赤芽球系前駆細胞の分化・増殖促進作用

ヒト骨髄単核細胞を用いた赤芽球コロニー形成能試験において、本薬により前期赤芽球前駆細胞 (以下、「BFU-E」: burst-forming unit-erythroid) 及び後期赤芽球前駆細胞 (以下、「CFU-E」: colony-forming unit-erythroid) 由来コロニー形成が促進された。

iii) 正常ラットにおける単回静脈内及び皮下投与による赤血球造血促進作用

正常ラットに本薬 (30~7,680 国際単位 (以下、「IU」: international unit) /kg) を単回静脈内又は皮下投与したとき、投与後 2 日から 4 日にかけて網赤血球数の増加が認められた。

3) 目的物質関連物質

本薬を Glu-C で消化し、RP-HPLC で分離したピークについて質量分析及びアミノ酸配列分析を行った結果、XXXXXXXXXXに糖鎖が付加されていない糖鎖未結合体が約 XXXX%存在することが確認された。

4) 不純物

① 目的物質由来不純物

SE-HPLC の結果、目的物質由来不純物を示すピークは認められなかったが、長期保存試験において 36 ヶ月保存した原薬では、マイナーピークとして本薬の高分子体と推測されるピークが認められた。

② 製造工程由来不純物

製造工程由来不純物は、HCP、宿主細胞由来 DNA、エンドトキシン及び培地成分由来成分 (XXXXXXXXXX (遺伝子組換え) 及び XXXXXXXXXX (遺伝子組換え)) である。

5) 原薬の規格及び試験方法

原薬の規格及び試験方法として、性状、確認試験 (ウエスタンブロット、等電点電気泳動、

ペプチドマップ、アシアロ糖鎖プロファイル及びシアロ糖鎖プロファイル)、pH、純度試験(SE-HPLC、RP-HPLC、HCP、宿主細胞由来 DNA)、構成アミノ酸、シアル酸、中性糖、アミノ糖、エンドトキシン、比活性(タンパク質定量法及び定量法[正常マウスを用いた網赤血球数測定法])及び定量法が設定されている。

6) 原薬の安定性

パイロットプラントスケールで製造された原薬を用いて、長期保存試験(-20±5℃、暗所、36ヵ月)、苛酷試験(5±3℃、暗所、6ヵ月/25±2℃、暗所、6ヵ月)(以上、 製気密容器)及び光安定性試験(25±2℃、白色光 120 万 lx·h(25日間)及び近紫外光 200W·h/m²(40時間)(ガラス製密封容器))が実施された。

長期保存試験では原薬3ロットが使用され、苛酷試験及び光安定性試験では、各試験条件につき原薬1ロットが使用された。長期保存試験の試験項目は、性状、確認試験(ウエスタンブロット、等電点電気泳動、ペプチドマップ、アシアロ糖鎖プロファイル、シアロ糖鎖プロファイル及びN末端アミノ酸配列)、pH、純度試験(SE-HPLC、RP-HPLC、HCP及び宿主細胞由来DNA)、エンドトキシン、構成アミノ酸、シアル酸、中性糖、アミノ糖、タンパク質定量、比活性及び定量法であった。苛酷試験の試験項目は、長期保存試験の試験項目からシアロ糖鎖プロファイルを除いたものであった。光安定性試験の試験項目は、性状、確認試験(ウエスタンブロット及び等電点電気泳動)、pH、純度試験(SE-HPLC、RP-HPLC)、タンパク質定量、比活性及び定量法であった。

長期保存試験の結果、SE-HPLCで検出される目的物質由来不純物が ヵ月までに最大 %増加したが、それ以外の試験項目に変化は認められなかった。苛酷試験(25±2℃)の結果、SE-HPLCで検出される目的物質由来不純物が ヵ月までに最大 %増加したが、それ以外の試験項目に変化は認められなかった。光安定性試験の結果、ウエスタンブロットにおいて高分子量側に新たな泳動帯が確認され、SE-HPLC及びRP-HPLCにおいて目的物質由来不純物が %及び %増加した。また、定量値が %低下した。

以上より、原薬の貯蔵方法及び有効期間は、 製気密容器を用いて、暗所、-20℃以下で凍結保存するとき、36ヵ月と設定された。

なお、実生産スケールで製造した原薬を用いた長期保存試験は現在実施中である(2011年9月終了予定)。

(2) 製剤

1) 製剤設計

本剤はシリンジ製剤及びバイアル製剤として開発されており、いずれも有効成分であるエポエチン カッパ(遺伝子組換え)の他に、添加物(安定剤:グリシン(1mg/mL)及びポリソルベート80(0.05mg/mL)、pH調節剤:リン酸二水素ナトリウム(3.12mg/mL)及び < >、等張化剤: < mg/mL)>を含む無色澄明の液である。

シリンジ製剤及びバイアル製剤の充てん量は、0.5mL(750IU製剤)、1mL(1500IU製剤)

及び2mL(3000IU製剤)である。なお、シリンジ製剤では [] mL、バイアル製剤では [] mLが一律に過量充てんされる。

2) 製剤化工程

シリンジ製剤の製造方法は、以下のとおりである。

添加物（ []、リン酸二水素ナトリウム、グリシン及びポリソルベート 80）を注射用水に溶解した後、 [] で pH を調整し、原薬を加える（薬液調製工程）。孔径 [] μm の [] フィルターを用いて無菌ろ過を行う（無菌ろ過工程）。ろ過液を無色ガラス製シリンジに充てんし、 [] ブチルゴム製の栓で打栓する（充てん・打栓工程）。プランジャーロッド及びバックストップを取り付け、ラベルを貼付し、紙箱に包装する（包装工程）。

バイアル製剤の製造方法は、以下のとおりである。

添加物（ []、リン酸二水素ナトリウム、グリシン及びポリソルベート 80）を注射用水に溶解した後、 [] で pH を調整し、原薬を加える（薬液調製工程）。孔径 [] μm の [] フィルターを用いて無菌ろ過を行う（無菌ろ過工程）。ろ過液を無色ガラス製バイアルに充てんし、 [] ブチルゴム製の栓で打栓し、フリップオフキャップを巻き締める（充てん・打栓・巻き締め工程）。ラベルを貼付し、紙箱に包装する（包装工程）。

重要工程は、シリンジ製剤では無菌ろ過工程及び充てん・打栓工程、バイアル製剤では無菌ろ過工程及び充てん・打栓・巻き締め工程である。また、製剤化工程において、表5に示した工程管理が設定されている。

＜表5 製剤化工程における工程管理＞

製剤化工程	工程管理
薬液調製工程	工程管理1: [] による溶解確認 工程管理2: pH
無菌ろ過工程	工程管理3: フィルター完全性試験
充てん・打栓（・巻き締め）工程	工程管理4: [] 試験

3) 製剤の規格及び試験方法

製剤の規格及び試験方法として、性状、確認試験（ウエスタンブロット及び等電点電気泳動）、浸透圧比、pH、純度試験（SE-HPLC 及び RP-HPLC）、エンドトキシン、採取容量、不溶性異物、不溶性微粒子、無菌及び定量法が設定されている。

4) 製剤の安定性

パイロットプラントスケールで製造されたシリンジ製剤（容器：ホウ珪酸ガラス製のバレル／施栓系： [] ブチルゴム製ゴム栓）及びバイアル製剤（容器：ホウ珪酸ガラス製のバイアル／施栓系： [] ブチルゴム製ゴム栓及びアルミニウム、ポリプロピレン製のフリップオフキャップ）を用いて安定性試験が実施された。長期保存試験及び加速試験では、各製剤3ロットが使用され、苛酷試験及び光安定性試験では、各製剤1ロットが使用された。試験条件及び試験項目を表6に示す。

<表 6 安定性試験の試験条件及び試験項目>

	安定性試験	試験条件	試験項目
シリンジ製剤 750IU 1,500IU 3,000IU	長期保存試験	5±3℃、暗所、36 ヶ月	性状、確認試験（ウエスタンブロット及び等電点電気泳動）、浸透圧比、pH、純度試験（SE-HPLC 及び RP-HPLC）、エンドトキシン、採取容量、不溶性異物、不溶性微粒子、無菌、定量法、タンパク質含量、及び容器及び施栓系の機能性試験（プランジャーストッパーの摺動性及び密封性及びチップキャップの密封性及び脱離強度）
	加速試験	25±2℃、暗所、6 ヶ月	
	苛酷試験	40±2℃、暗所、3 ヶ月	
		50±2℃、暗所、3 週間	
光安定性試験	25±2℃、白色光 120 万 lx・h (25 日間) 及び近紫外光 200W・h/m ² (40 時間)	性状、確認試験（ウエスタンブロット及び等電点電気泳動）、pH、純度試験（SE-HPLC 及び RP-HPLC）、不溶性異物、不溶性微粒子、定量法及びタンパク質含量	
バイアル製剤 750IU 1,500IU 3,000IU	長期保存試験	シリンジ製剤と同条件	シリンジ製剤と同じ試験項目（容器及び施栓系の機能性試験を除く）
	加速試験		
	苛酷試験		
	光安定性試験		

① シリンジ製剤の安定性

安定性試験では、各含量の製剤において同様の傾向が認められた。長期保存試験では、いずれの試験項目にも顕著な変化は認められず、750IU 製剤については「5±3℃、暗所、30 ヶ月」、1,500IU 製剤及び 3,000IU 製剤については「5±3℃、暗所、36 ヶ月」の安定性が確認された（750IU 製剤の長期保存試験は、36 ヶ月まで継続中。2010 年 3 月終了予定。）。加速試験においても、顕著な変化は認められなかった。苛酷試験（50±2℃）では、ウエスタンブロットにおいて高分子量側に新たな泳動帯が確認され、SE-HPLC 又は RP-HPLC において目的物質由来不純物が最大 10%増加することが確認された。また、不溶性微粒子の経時的な増加が確認された。定量値は最大 10%低下することが確認された。苛酷試験（40±2℃）及び光安定性試験でも苛酷試験（50±2℃）と同様の傾向が確認された。

以上から、シリンジ製剤の貯蔵方法及び有効期間は、暗所、凍結を避け、5±3℃で保存するとき、750IU 製剤は 30 ヶ月、1,500IU 及び 3,000IU 製剤は 36 ヶ月と設定された。

② バイアル製剤の安定性

安定性試験では、各含量の製剤において同様の傾向が認められた。長期保存試験では、いずれの試験項目にも顕著な変化は認められず、「5±3℃、暗所、24 ヶ月」の安定性が確認された（長期保存試験は、36 ヶ月まで継続中。2010 年 8 月終了予定。）。加速試験では、RP-HPLC において目的物質由来不純物が最大 10%増加することが確認された。苛酷試験（50±2℃）では、ウエスタンブロットにおいて高分子量側に新たな泳動帯が確認され、SE-HPLC 又は RP-HPLC において目的物質由来不純物が最大 10%増加することが確認された。定量値は最大 10%低下することが確認された。苛酷試験（40±2℃）及び光安定性試験でも苛酷試験（50±2℃）と同様の傾向が確認された。

以上の結果から、バイアル製剤の貯蔵方法及び有効期間は、暗所、凍結を避け、5±3℃で保存するとき、24 ヶ月と設定された。

(3) 標準物質

自家一次標準物質は、原薬の製造方法に従って調製され、5±3℃で保存される。1年ごとにリ

テストを行い、有効期間を延長する。自家一次標準物質の規格及び試験方法として、性状、確認試験（SDS-PAGE〈CBB染色〉、ウエスタンブロット、等電点電気泳動、ペプチドマップ、アシアロ糖鎖プロファイル、シアロ糖鎖プロファイル及びN末端アミノ酸配列）、純度試験（SE-HPLC、RP-HPLC）、構成アミノ酸、シアル酸、中性糖、アミノ糖、比活性及び定量法が設定されている。

自家用標準物質は、今後、原葉の製造方法に従って調製され、■■■℃で保存される。自家用標準物質の規格及び試験方法として、性状、確認試験（ウエスタンブロット、等電点電気泳動、ペプチドマップ、アシアロ糖鎖プロファイル及びシアロ糖鎖プロファイル）、純度試験（SE-HPLC、RP-HPLC）、シアル酸、比活性及び定量法が設定されている。

(4) EPO α との比較

本葉（原葉）とEPO α （製剤）との物理的・化学的性質及び生物活性の比較が行われた（表7）。本葉とEPO α の類似性は、あらかじめ設定された評価基準に基づいて評価された。

SDS-PAGE（CBB染色）、ウエスタンブロット、等電点電気泳動、ペプチドマップ及びシアロ糖鎖プロファイルの結果、糖鎖構造の多様性に係る差異が認められたが、比活性、HuEPO受容体との結合親和性（結合解離速度定数、解離定数及び結合阻害定数）、赤芽球系前駆細胞分化・増殖促進作用及び赤血球造血促進作用については、同様の結果が得られた。

＜表7 本葉とEPO α の物理的・化学的性質及び生物活性の比較＞

一般的名称	評価基準	本葉	EPO α
原葉／製剤の別		原葉	製剤
性状	無色透明の液	適合	
SDS-PAGE (CBB染色)	同一の位置に同様の泳動帯を認める	単一で幅広い泳動帯が認められたが、本葉の泳動帯は、EPO α と比べてより高分子量側に認められた	
ウエスタンブロット		■本の泳動帯が認められた	■本の泳動帯が認められた
等電点電気泳動		■本の泳動帯が認められた	■本の泳動帯が認められた
ペプチドマップ	同一の保持時間に同様のピークを認める	糖ペプチドのピークパターンに差が認められ、その他のペプチドは同様のピークパターンを示した	
シアロ糖鎖プロファイル		糖鎖の構成比に依存したピーク形状の差が認められた	
質量分析による糖鎖構造解析	各糖鎖結合部位において同様の構成群を認める	各糖鎖結合部位には、異なる糖鎖が認められるものの、総合的にはEPO α とほぼ同様の糖鎖が結合していた	
SE-HPLC	同一の保持時間に同様のピークを認める	適合	
RP-HPLC		適合	
比活性 ($\times 10^6$ IU/mg)	■	2.08	2.08
シアル酸 (%)	■	16.68	16.88
中性糖 (%)	マンノース	■	■
	フコース	■	■
	ガラクトース	■	■
アミノ糖 (%)	グルコサミン	■	■
	ガラクトサミン	■	■
CDスペクトル (%)	α -ヘリックス	■	■
	β -シート		
	β -ターン及びランダムコイル構造		
HuEPO受容体との結合親和性 ^{*)}	k_s ($\times 10^7$ M ⁻¹ s ⁻¹)	2.12 \pm 0.35	2.20 \pm 0.28
	k_d ($\times 10^{-4}$ s ⁻¹)	1.24 \pm 0.08	1.15 \pm 0.15
	K_D ($\times 10^{-12}$ mol/L)	5.97 \pm 1.17	5.22 \pm 0.32
	K_I ($\times 10^{-10}$ mol/L)	6.31 \pm 1.72	6.79 \pm 2.29
ヒト骨髄赤芽球系前駆細胞の分化・増殖促進作用	同一の濃度範囲で同一の作用を認める	同一の濃度範囲でBFU-E及びCFU-E由来コロニー形成が促進され、その作用は同様であった	
赤血球造血促進作用	同一の用量群間で差を認めない	正常ラットにおいて網赤血球数の増加が認められ、その作用は同様であった	

^{*)} 平均値 \pm 標準偏差

<機構における審査の概略>

(1) 規格の追加及び変更について

1) 原薬の規格について

EPO は多様な糖鎖を持つタンパク質分子の混合物であるが、申請者は、糖鎖の管理について、シアル酸含量、等電点電気泳動及びアシアロ糖鎖プロファイルを原薬の規格に設定することでシアル酸付加数の総量及び糖鎖構造の多様性を確認することが可能と考え、シアロ糖鎖プロファイルを規格に設定していなかった。機構は、EPO については糖鎖の末端に存在するシアル酸数の減少により *in vitro* の活性が増加し、*in vivo* 活性が減少することが広く知られていることから、単糖組成分析のデータよりも糖鎖構造全体で捉えるべきであると考え、HPAEC によるシアロ糖鎖プロファイルを規格に設定することを申請者に求めた。

申請者は、以下のように回答した。

EPO のシアロ糖鎖構造の恒常性を確認する目的で、糖鎖を *N*-グリコシダーゼ F 処理により切り出した後、液体クロマトグラフィーを行った際の、モノシアロ糖鎖、ジシアロ糖鎖、トリシアロ糖鎖及びテトラシアロ糖鎖の各群の [] をシアロ糖鎖プロファイルの規格として追加設定することとする。

機構は、本薬の糖鎖については、シアル酸含量及び等電点電気泳動等に加え、シアロ糖鎖プロファイルの規格が定められることにより、糖鎖構造の多様性を適切に管理することが可能となると考え、申請者の回答を了承した。

2) 製剤の定量法の規格値の変更について

製剤の含量が表示量に対して [] ~ [] % に設定されていたため、機構は、臨床試験に使用されたロットの含量に基づいて規格値を狭めるよう、申請者に求めた。

申請者は、以下のように回答した。

臨床試験に使用したシリンジ製剤 750IU、1,500IU 及び 3,000IU 合計 11 ロットの定量値の範囲は [] ~ [] % であり、総平均値 [] %、標準偏差 σ_{n-1} [] %、総平均値 $\pm 3\sigma_{n-1}$ [] ~ [] % であった。以上より、製剤の含量を「表示量に対し [] ~ [] %」に変更する。なお、この範囲であれば、理論的に本薬 750IU 製剤が 1,500IU 製剤の含量を上回る可能性はない。

機構は、申請者の回答を了承した。

(2) 本薬と EPO α の糖鎖構造に関する差異について

本薬（原薬）と EPO α （製剤）の物理的・化学的性質を比較した結果（表 7 参照）、SDS-PAGE（CBB 染色）、ウエスタンブロット、等電点電気泳動、ペプチドマップ及びシアロ糖鎖プロファイルにおいて糖鎖構造の多様性に係る差異が認められたことから、機構は、認められた糖鎖構造の多様性に係る品質の差異が本薬の有効性及び安全性に影響を与えないと判断する根拠について、非臨床試験及び臨床試験成績も含めて説明するよう、申請者に求めた。

申請者は、以下のように説明した。

等電点電気泳動及びシアロ糖鎖プロファイルにおいて糖鎖構造の多様性に起因すると考えられる差異が認められたものの、比活性に差は認められなかった（本薬及び EPO α 共に 2.08×10^5 IU/mg）。また、非臨床薬理試験における *in vitro* 及び *in vivo* での比較では、本薬と EPO α でいずれも同様の結果が得られ、非臨床薬物動態試験においても、ラットに本薬及び EPO α を単回静脈内又は皮下投与したときの血中濃度推移はほぼ同様であった（「3. 非臨床に関する資料（ii）薬物動態試験成績の概要 <提出された資料の概略>（1）吸収」の項参照）。また、毒性試験において認められた変化は、いずれも本薬の薬理作用である赤血球造血促進作用又はその過剰発現に起因するものであり、本薬は EPO α と類似した毒性学的性質を示すことが確認された（「3. 非臨床に関する資料（iii）毒性試験成績の概要 <機構における審査の概略>（1）本薬の毒性について」の項参照）。

さらに、臨床試験では、臨床薬理試験（JR1102：本薬及び EPO α 単回静脈内投与）及び臨床薬理試験（JR2101：本薬及び EPO α 単回皮下投与）の結果、両者の薬物動態プロファイルは類似していることが確認され、血液透析（以下、「HD」：hemodialysis）施行中の腎性貧血患者を対象とした第Ⅱ/Ⅲ相二重盲検比較試験（JR1301）では、ヘモグロビン（以下、「Hb」：hemoglobin）濃度維持効果について本薬と EPO α の同等性が検証され、両者の安全性にも大きな違いがないことが確認された。

以上の非臨床試験及び臨床試験成績から、本薬は EPO α と類似した薬理的、薬物動態学的及び毒性学的性質を有すること、臨床における両者の有効性は同等であり、安全性プロファイルにも大きな差はないことが明らかにされた。したがって、物理的・化学的性質において両者に糖鎖構造の多様性に係る差異が認められたものの、これらの差異は本薬の有効性及び安全性に影響を与えるものではないと考える。

機構は、生物活性、非臨床試験及び臨床試験の結果から、糖鎖構造の多様性に係る物理的・化学的性質の差異は、本薬の静脈内投与時の有効性及び安全性に影響を与えないことが示されたと判断した。

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>

（1）効力を裏付ける試験

1) *in vitro* 試験

in vitro 試験に使用された本薬、EPO α 及び EPO β の薬物濃度は mol 又は質量単位で表示したが、各薬剤の比活性値*（本薬 2.09×10^5 IU/mg (3.81×10^{12} IU/mol)、EPO α 2.00×10^5 IU/mg (3.65×10^{12} IU/mol) 及び EPO β 1.80×10^5 IU/mg (3.28×10^{12} IU/mol)）を用いて国際単位も併記した。

* *in vitro* 試験で用いた EPO α 及び EPO β の IU 濃度定量値は不明であるため、公表されている比活性値により換算された（Exp Hematol 31: 290-299, 2003; エボジン注シリンジ エボジン注アンプル 医薬品インタビューフォーム 2008年7月（改訂第12版））

① EPO 受容体に対する親和性 (4.2.1.1.1 : 試験番号 [REDACTED])

HuEPO 受容体を発現している BaF/EPOR 細胞における本薬の [¹²⁵I] 標識体の K_d 値は 0.70nmol/L (2.67IU/mL)、B_{max} は 4,517fmol/mg protein (17.211IU/mg protein) であった。本薬、EPO α 及び EPO β により本薬の [¹²⁵I] 標識体の HuEPO 受容体に対する結合が阻害され、そのときの K_i 値 (平均値 \pm 標準偏差) は、本薬 $6.31 \times 10^{-10} \pm 1.72 \times 10^{-10}$ mol/L (2.40 \pm 0.66IU/mL)、EPO α $6.79 \times 10^{-10} \pm 2.29 \times 10^{-10}$ mol/L (2.48 \pm 0.84IU/mL) 及び EPO β $5.01 \times 10^{-10} \pm 4.85 \times 10^{-11}$ mol/L (1.64 \pm 0.16IU/mL) であった。

② BaF/EPOR 細胞における作用 (4.2.1.1.2 : 試験番号 [REDACTED])

EPO 依存性増殖能を有する BaF/EPOR 細胞において、本薬、EPO α 及び EPO β は細胞増殖作用を示し、EC₅₀ 値 (平均値 \pm 標準偏差) は、それぞれ 266.8 \pm 8.1pg/mL (55.8 \pm 1.7mIU/mL)、296.3 \pm 15.1pg/mL (59.3 \pm 3.0mIU/mL) 及び 268.0 \pm 13.6pg/mL (48.2 \pm 2.4mIU/mL) であった。

③ 骨髄赤芽球系前駆細胞に対する作用 (4.2.1.1.3 : 試験番号 [REDACTED])

ヒト骨髄単核細胞において、本薬、EPO α 及び EPO β により、BFU-E 及び CFU-E 由来コロニー形成がそれぞれ同様に促進された。10ng/mL (本薬 2,090mIU/mL、EPO α 2,000mIU/mL 及び EPO β 1,800mIU/mL) 以上で BFU-E 由来コロニー形成作用の飽和が、1.0ng/mL (本薬 209mIU/mL、EPO α 200mIU/mL 及び EPO β 180mIU/mL) 以上で CFU-E 由来コロニー形成作用の飽和が認められた。

2) *in vivo* 試験

① 正常ラットにおける赤血球造血作用 (4.2.1.1.4~4.2.1.1.6 : 試験番号 [REDACTED] 及び [REDACTED])

ラットに溶媒及び本薬 (30、120、480、1,920 及び 7,680IU/kg) を単回静脈内又は皮下投与したときの、網赤血球数、赤血球数、ヘマトクリット (以下、「Ht」: hematocrit) 値、Hb 濃度、白血球数、血小板数等が測定された。本薬により、網赤血球数、赤血球数、Ht 値、Hb 濃度及び白血球数の増加が認められたが、血小板数には影響は認められなかった。なお、静脈内投与と皮下投与による赤血球造血促進作用は類似していた。

ラットに溶媒、本薬及び EPO β (それぞれ 30、120、480 及び 1,920IU/kg) を週 3 回 3 週間反復静脈内投与、又は溶媒、本薬 (90、360、1,440 及び 5,760IU/kg) を週 1 回 3 週間反復静脈内投与したときの、網赤血球数、赤血球数、Ht 値、Hb 濃度、白血球数、血小板数等が測定された。本薬及び EPO β の週 3 回投与により、網赤血球数、赤血球数、Ht 値及び Hb 濃度の増加が認められ、同一投与量群間でこれらのパラメータの推移を比較した結果、パラメータ増加の程度及び効果の持続性は、ほぼ同様であった。一方、本薬の週 3 回投与と週 1 回投与を比較すると、1 週間あたりの投与量が同一の場合は、週 3 回投与の方が網赤血球、赤血球数、Ht 値及び Hb 濃度の増加促進作用が強い傾向が認められた。

また、ラットに溶媒、本薬及び EPO α (それぞれ 30、120 及び 480IU/kg) が週 3 回 3 週間反復静脈内投与され、網赤血球数、赤血球数、Ht 値及び Hb 濃度が測定された。本薬群

及び EPO α 群とも、投与量の増加に伴い網赤血球数、赤血球数、Hb 濃度及び Ht 値の増加が認められ、同一用量群間でこれらのパラメータの推移を比較した結果、パラメータの増加の程度及び効果の持続性は、ほぼ同様であった。

② 腎性貧血ラットにおける貧血改善作用 (4.2.1.1.7 及び 4.2.1.1.8 : 試験番号 [REDACTED] 及び [REDACTED])

5/6 部分腎臓摘出慢性腎不全ラットに溶媒、本薬及び EPO α (それぞれ 30、120 及び 480IU/kg) を週 3 回 3 週間反復静脈内投与したときの、網赤血球数、赤血球数、Ht 値及び Hb 濃度が測定された。腎摘出術を行わない偽手術ラットが対照群とされた。本薬群及び EPO α 群のいずれにおいても、投与量の増加に伴い網赤血球数、赤血球数、Hb 濃度及び Ht 値の増加が認められ、本薬と EPO α は同様な貧血改善効果を示した。

また、同様に 5/6 部分腎臓摘出慢性腎不全ラットに溶媒、本薬及び EPO β (それぞれ 30、120 及び 480IU/kg) を週 3 回 3 週間反復静脈内投与したとき、本薬群及び EPO β 群で同様な貧血改善効果が認められた。

(2) 安全性薬理試験

1) 中枢神経系に及ぼす影響 (4.2.1.3.1 : 試験番号 [REDACTED])

ラットに溶媒、本薬 (240、2,400 及び 24,000IU/kg) を単回静脈内投与したとき、一般症状、運動量、行動、感覚/運動反射反応及び体温に大きな影響は認められなかった。

2) 呼吸器系に及ぼす影響 (4.2.1.3.2 : 試験番号 [REDACTED])

ラットに溶媒、本薬 (240、2,400 及び 24,000IU/kg) を単回静脈内投与したとき、呼吸機能 (呼吸数、1 回喚起量及び分時喚起量) に大きな影響は認められなかった。

3) 心血管系に及ぼす影響 (4.2.1.3.3 : 試験番号 [REDACTED])

カニクイザルに溶媒、本薬 (240、2,400 及び 24,000IU/kg) を 7 日間隔で低用量から順次静脈内投与したとき、心電図検査、血圧及び心拍数に大きな影響は認められなかった。

<機構における審査の概略>

(1) 本薬の貧血改善効果について

申請者は、本薬の貧血改善効果及び既存の rHuEPO 製剤との類似性について、以下のよう

に説明している。
in vitro 試験において、本薬は HuEPO 受容体発現細胞の HuEPO 受容体に対して親和性を示し、HuEPO 依存性増殖能を有する BaF/EPOR 細胞に対して細胞増殖作用を示し、ヒト骨髄赤芽球系前駆細胞に対して CFU-E 及び BFU-E 由来コロニー形成促進作用を示した。また、*in vivo* 試験においても、正常動物 (ラット及びサル*) 及び 5/6 部分腎臓摘出慢性腎不全ラットで造

* 「iii) 毒性試験成績 <提出された資料の概略> (2) 反復投与毒性試験」の項参照

血促進作用を示した。したがって、本薬は EPO 受容体を介して造血促進作用を示し、貧血を改善すると考えた。

また、今回認められた本薬の作用は、既存の rHuEPO 製剤である EPO α と比較して同様であったため、本薬の薬理的性質は EPO α と同等であると考えられた。

なお、安全性薬理試験において、特段の問題は認められていない。

機構は、以下のように考える。

非臨床薬理試験成績から本薬による造血促進作用は期待でき、また、EPO α と比較して同様の造血促進作用が認められるとする申請者の説明を了承した。また、安全性に関しても、安全性薬理試験からは特段注意すべき点は認められないと考える。

(ii) 薬物動態試験成績の概要

<提出された資料の概略>

ラット及びサルにおいて、本薬、本薬の [125 I] 標識体、EPO α 及び EPO β を静脈内又は皮下投与時の薬物動態が検討された。なお、本薬、EPO α 及び EPO β の測定には ELISA 法が、放射能の測定にはガンマカウンターが用いられた。

なお、特に言及しない限り雄性の動物が用いられた。

(1) 吸収

1) 単回投与試験 (4.2.2.2.1~4.2.2.2.3、4.2.2.7.2 及び 4.2.3.1.2 : 試験番号 [REDACTED]、[REDACTED]、[REDACTED] 及び [REDACTED])

ラットに本薬、本薬の [125 I] 標識体、EPO α 又は EPO β を単回静脈内投与した時、並びにサルに本薬を単回静脈内投与した時の血中薬物動態パラメータを表 8 に示した。また、ラットに本薬又は EPO α を単回皮下投与した時の血中薬物動態パラメータを表 9 に示した。なお、トリクロロ酢酸 (以下、「TCA」: trichloroacetic acid) 不溶性画分の放射能 (TCA 不溶性放射能) は、TCA に溶出する遊離した [125 I] 等の低分子化合物の放射能を除いた本薬の未変化体及び高分子化合物の放射能に相当し、また、免疫反応性画分の放射能 (免疫反応性放射能) は、抗 HuEPO 抗体と結合する画分の放射能であり、本薬の未変化体の放射能に相当する。

2) 反復投与試験 (4.2.3.2.4 及び 4.2.3.2.8 : 試験番号 [REDACTED] 及び [REDACTED])

雌雄ラット及び雌雄サルに本薬を週 3 回 26 週間反復静脈内投与時の本薬の血漿中濃度は表 10 のとおりであった。なお、表 10 は雄性動物の結果のみ示したが、雌雄で血漿中本薬濃度に大きな差異は認められなかった。

＜表 8 本薬、本薬の [125I] 標識体、EPO α 又は EPO β 単回静脈内投与時の血中薬物動態パラメータ＞

種	性別		投与量 (IU/kg)	例数	C ₀ (mIU/mL, 又は mIU Eq/mL)	AUC _{0-∞} (mIU·h/mL, 又は mIU Eq·h/mL)	t _{1/2α} (h)	t _{1/2β} (h)	CL (mL/h/kg)	V _d (mL/kg)	
ラット	雄	本薬	60	4	1,400±140	2,800±190	0.650±0.048	6.06±0.19	21.5±1.5	114±9	
			180	4	3,960±250	9,960±350	0.851±0.075	6.24±0.43	18.1±0.7	99.9±7.9	
			540	4	12,800±300	32,700±3,000	0.746±0.056	6.85±0.35	16.6±1.4	105±12	
		EPO α	60	4	1,560±110	3,190±110	0.717±0.105	6.43±0.89	18.9±0.6	104±12	
			180	4	4,220±480	10,800±1,000	0.881±0.078	6.00±0.75	16.8±1.7	88.5±8.6	
			540	4	13,100±1,000	31,600±2,300	0.808±0.038	6.23±0.24	17.2±1.3	93.1±6.8	
	雌	本薬	60 ^(c,d)	4	1,150, 1,080	2,680, 2,760	0.762, 0.797	4.89, 6.27	22.4, 21.8	102, 126	
			180	4	4,180±840	9,700±1,000	0.809±0.117	5.93±0.29	18.7±1.8	98.9±10.6	
			540	4	13,100±1,400	35,300±2,200	0.887±0.071	6.15±0.24	15.4±0.9	86.3±4.0	
		EPO β	180	4	4,990±650	10,200±300	0.668±0.046	6.53±0.37	17.7±0.6	102±13	
			本薬 ^(a,b)	100	3	1,790±160	8,250±290	1.50±0.04	10.0±0.4	12.1±0.4	127±10
						1,700±160	7,010±210	1.41±0.04	10.0±0.4	14.3±0.5	143±11
2,090±610	7,270±660	1.36±0.20				8.07±0.07	13.8±1.2	112±13			
雌	本薬 ^(a,b)	100	3	1,840±120	8,900±270	1.57±0.06	10.1±0.7	11.3±0.3	120±13		
				1,740±110	7,240±160	1.45±0.03	10.5±0.8	13.8±0.3	145±19		
				1,800±260	7,360±280	1.54±0.24	8.08±0.51	13.6±0.6	112±5		
サル	雄	本薬 ^(c)	60	2	1,640, 1,340	6,000, 4,000	NA	17.0, 7.78 ^(c)	10.0, 15.0	153, 105	
			1,200	2	26,100, 34,100	135,000, 158,000	NA	8.84, 10.9 ^(c)	8.89, 7.61	68.7, 74.3	
			24,000	2	457,000, 679,000	4,290,000, 3,930,000	NA	15.4, 12.7 ^(c)	5.59, 6.10	89.0, 85.9	

平均値±標準偏差, NA: not analyzed

^{a)} 放射能の薬物動態パラメータを示した

^{b)} 上段: 総放射能 中段: TCA 不溶性放射能 下段: 免疫反応性放射能

^{c)} 各動物から得られた値

^{d)} 血漿中濃度推移から、投与過誤があったと判断された2例の結果は記載を省略した

^{e)} 最終消失相の半減期のみ算出

＜表 9 ラットに本薬又は EPO α 単回皮下投与時の血中薬物動態パラメータ＞

	投与量 (IU/kg)	例数	C _{max} (mIU/mL)	AUC _{0-∞} (mIU·h/mL)	t _{1/2} (h)
本薬	60	4	85.1±10.9	2,600±230 ^{a)}	16.5±5.5 ^{a)}
	180	4	285±33	7,060±1,480 ^{a)}	13.6±0.3 ^{a)}
	540	4	742±27	21,900±900	8.97±0.50
EPO α	60	4	71.5±10.5	2,500±620	19.7±10.1
	180	4	236±54	5,820±1,040 ^{a)}	9.9±2.0 ^{a)}
	540	4	778±83	20,800±1,100	8.66±0.61

平均値±標準偏差

^{a)} n=3

＜表 10 本薬反復静脈内投与時の血漿中濃度推移＞

動物種	投与量 (IU/kg)	例数	血漿中本薬濃度 (mIU/mL)		
			投与後 2 分	投与後 24 時間	
ラット	12	1 日目	3	255±13	ND
		180 日目	3	386±30	ND
	60	1 日目	3	1,180±130	12.6±1.3
		180 日目	3	2,380±190	19.0±5.7
	300	1 日目	3	6,600±590	100±11
		180 日目	3	11,600±1,800	62.9±15.3
サル	60	1 日目	4	1,480±130	32.7±16.5
		180 日目	4	1,570±180	8.59 ^{b)}
	300	1 日目	4	6,640±640	95.3±28.3
		180 日目 ^{a)}	4	8,080±1,170	38.1±9.4
	1,500	1 日目	4	32,500±7,200	1,300±120
		180 日目 ^{a)}	4	44,700±5,300	221±30

平均値±標準偏差, ND: not determined (定量限界未満のため)

^{a)} 4 匹中 1 匹が死亡したため, n=3

^{b)} 4 匹中 3 匹が定量限界未満のため, n=1

(2) 分布

1) 単回投与時の臓器・組織内分布 (4.2.2.2.3: 試験番号 XXXXXXXXXX)

ラットに本薬の [125I] 標識体 100IU/kg を単回静脈内投与した時の、投与後 24 時間までの臓器・組織内放射能濃度が検討された。胃、甲状腺及び気管以外の組織・臓器では投与後

30分～4時間に、胃、甲状腺及び気管では投与後8時間に最高総放射能濃度に達した。甲状腺及び気管以外の臓器・組織における総放射能濃度は、いずれの時点においても血漿中総放射能濃度より低く、血漿中総放射能濃度と同様に経時的に消失した*。

また、血漿、肝臓、腎臓、脾臓及び骨髄については TCA 不溶性画分の放射能濃度も測定され、各組織中 TCA 不溶性画分の放射能濃度の投与後 30 分～24 時間における、各組織中総放射能濃度に対する TCA 不溶性画分の放射能濃度の割合は、血漿 73.1%～88.9%、骨髄 72.1%～84.1%、脾臓 62.3%～81.7%、肝臓 46.1%～64.3%及び腎臓 42.7%～55.4%であり、本薬の標的器官である骨髄における割合が高かった。また、投与後 30 分～24 時間における血球移行率は 1.9%～10.3%であった。

2) ラットにおける胎盤通過性及び胎児移行性 (4.2.2.3.2 : 試験番号 ██████████)

妊娠 18 日目のラットに本薬の $[^{125}\text{I}]$ 標識体 100IU/kg を単回静脈内投与した時の投与後 24 時間までの母動物の臓器・組織、胎盤、羊水及び胎児の総放射能濃度が測定された。子宮及び羊水を除く母動物の臓器・組織における総放射能濃度は投与後 30 分に最高濃度を示し、血漿中総放射能濃度と同様に経時的に減少した。子宮、羊水及び胎児では、投与後 4 時間に最高総放射能濃度を示したが、各組織中総放射能濃度の血漿中総放射能濃度に対する比は 0.24、0.03 及び 0.04 であった。また、母動物の血漿、脾臓、胎盤及び羊水、並びに胎児については TCA 不溶性画分の放射能濃度も測定され、投与後 30 分～24 時間における各組織及び胎児中の総放射能濃度に対する TCA 不溶性画分の放射能濃度の割合は、血漿 64.9%～91.6%、脾臓 54.0%～77.6%、胎盤 58.7%～74.9%、羊水 9.7%～13.3%及び胎児 4.4%～49.3%であった。

投与後 24 時間における胎児 1 匹あたりの総放射能及び TCA 不溶性画分放射能の分布率は、それぞれ投与量の 0.07%及び 0.04%であった。

(3) 代謝

1) ラットにおける代謝物の検討 (4.2.2.2.3 : 試験番号 ██████████)

ラットに本薬の $[^{125}\text{I}]$ 標識体 100IU/kg を単回静脈内投与した時の血漿中代謝物、及び雌雄ラットに本薬の $[^{125}\text{I}]$ 標識体 100IU/kg を単回静脈内投与した時の尿中代謝物がゲルろ過クロマトグラフィーにより検討された。本薬の非標識体の溶出時間から、本薬の非標識体と同じ溶出時間を示す画分は未変化体画分、未変化体画分よりも高分子側に認められた画分は未知高分子体画分、未変化体画分よりも低分子側に認められた画分は遊離した $[^{125}\text{I}]$ の画分であると推察された。

血漿中代謝物について、未変化体画分、未知高分子体画分及び遊離した $[^{125}\text{I}]$ の画分の放射能の総放射能に対する割合は、投与 30 分後では、それぞれ 67.0%、19.9%及び 8.3%、投与後 24 時間では、それぞれ 24.8%、25.7%及び 22.2%であった。

尿中代謝物について、投与後 24 時間までの蓄積尿において、遊離した $[^{125}\text{I}]$ の画分の放

* 甲状腺及び気管で血漿中より高い総放射能濃度が認められたが、遊離した $[^{125}\text{I}]$ が分布したためであると、申請者は説明している

射能の総放射能に対する割合は、雄ラットで96.2%及び雌ラットで92.6%であった。雌雄ラットとも、未変化体画分及び未知高分子体画分は検出されなかった。

(4) 排泄

1) ラットにおける尿、糞中排泄 (4.2.2.2.3: 試験番号 [REDACTED])

雌雄ラットに本薬の^[125]I 標識体 100IU/kg を単回静脈内投与した時の投与後 168 時間までの放射能の尿中及び糞中排泄率は表 11 のとおりであった。TCA 不溶性画分の放射能は総放射能と比較して低値であったことから、尿中に認められた放射能は、大部分が遊離した^[125]I であると考えられた。また、投与後 8 時間及び 24 時間までの尿中の免疫反応性画分の放射能は認められなかった。なお、表 11 は雄性ラットの結果のみ示したが、雌雄ラットで尿中及び糞中排泄率に大きな差異は認められなかった。

＜表 11 本薬単回静脈内投与時の尿及び糞中排泄率^{a)}＞

投与経路	例数	時点		
		8 時間まで	24 時間まで	168 時間まで
尿中排泄率 (%) ^{b)}	3	19.5±1.1	59.9±3.8	82.0±2.7
	3	1.5±0.2	4.5±0.3	NA
糞中排泄率 (%)	3	0.1±0.2	1.8±0.3	7.8±1.4

平均値±標準偏差、NA: not analyzed

^{a)} 投与量に対する放射能の割合

^{b)} 上段: 総放射能、下段: TCA 不溶性画分の放射能

2) ラットにおける乳汁移行性 (4.2.2.5.2: 試験番号 [REDACTED])

分娩後 8 日～9 日目の授乳ラットに本薬 540IU/kg を単回静脈内投与した時の投与後 24 時間までの乳汁中濃度が測定された。投与後 8 時間に最高濃度 (607±52mIU/mL (平均値±標準偏差)) を示し、その時点での本薬の血漿中濃度の 45±9%であった。また、本薬の乳汁中濃度の AUC_{0-24h} は本薬の血漿中濃度の AUC_{0-24h} の 27±3%であった。

(5) 腎不全モデルラットにおける薬物動態 (4.2.2.7.1: 試験番号 [REDACTED])

正常ラット及び 5/6 部分腎臓摘出ラットに、本薬 540IU/kg を単回静脈内投与した時の薬物動態パラメータ及び投与量に対する累積尿中排泄率は、表 12 のとおりであった。

＜表 12 正常ラット及び腎不全モデルラットにおける薬物動態＞

	AUC _{0-∞} (mIU·h/mL)	t _{1/2} ^{a)} (h)	CL (mL/hr/kg)	CLr (mL/hr/kg)	V _d (mL/kg)	尿中排泄率 ^{b)} (%)
正常ラット	51,000±2,400	6.45±0.18	10.6±0.5	0.564±0.247	59.8±3.9	5.28±2.10
5/6 腎臓摘出ラット	67,900±3,300	7.12±0.52	8.0±0.4	0.634±0.120	58.6±5.8	7.94±1.23

平均値±標準偏差

^{a)} 最終消失相の半減期のみ算出

^{b)} 投与量に対する 0～48 時間の累積尿中排泄率

＜機構における審査の概略＞

(1) 本薬と EPOα の薬物動態について

申請者は、本薬と EPOα の薬物動態の類似性について、実施された本薬の非臨床薬物動態試験成績及び EPOα の薬物動態が検討された報告 (基礎と臨床 22: 5583-5602, 1988; 基礎と臨床 22: 5603-5607, 1988) を基に、以下のように説明している。

ラットにおける単回静脈内投与試験及び単回皮下投与試験において、本薬と EPO α の薬物動態パラメータに大きな差は認められていない。

また、本薬の [¹²⁵I] 標識体をラットに静脈内投与した非臨床薬物動態試験において、1) 血中免疫反応性放射能の AUC_{0- ∞} は総放射能の 80% 以上である、2) 甲状腺、気管及び骨髄における高濃度の総放射能の分布が認められる、3) 本薬の胎児移行性が低い、4) 尿中に本薬の未変化体はほとんど認められない、という成績が得られているが、EPO α の [¹²⁵I] 標識体を投与した試験においても同様の試験成績が得られている。

以上より、本薬の薬物動態は EPO α の薬物動態と類似していると考えられる。

機構は、非臨床薬物動態試験において、単回静脈内投与又は皮下投与した時に本薬と EPO α の血中濃度推移に大きな差異は認められなかったことを確認した。一方、本薬と EPO α の分布及び排泄に関しては、同一試験内での比較ではなく公表論文等のデータとの外部比較であることから、厳密にその類似性を検討することは困難であると考えられるものの、EPO α と比較して本薬が特異な挙動を示すものではないことは確認できたと考える。

以上から、厳密に類似性を比較することは困難であるが、非臨床における本薬と EPO α の薬物動態のプロファイルに大きな差異は認められないと考える。

(iii) 毒性試験成績の概要

<提出された資料の概略>

以下の毒性試験において、特に言及しない限り、本薬は 0.005% ポリソルベート 80 を含むリン酸緩衝生理食塩水 (pH6.5) に溶解したものが投与され、対照群には当該溶媒が投与された。また、雌性及び雄性動物を用いて試験が実施されている。

(1) 単回投与毒性試験 (試験番号 [] 及び [] : 4.2.3.1.1 及び 4.2.3.1.2)

ラットに本薬 0、60、1,200 及び 24,000IU/kg、並びに雄性サルに本薬 60、1,200 及び 24,000IU/kg が単回静脈内投与されたが、いずれも死亡動物は認められず、概略の致死量は 24,000IU/kg 超と判断された。

ラットでは、赤血球数、Hb 濃度、Ht 値及び網赤血球数の高値、平均赤血球指数の高値、血小板の高値及び赤芽球の増加が認められたが、14 日の観察期間後はリバウンドによると考えられる網赤血球の低値の他はいずれも回復性が認められた。サルでは、観察期間中に網赤血球の高値のみが認められた。

(2) 反復投与毒性試験 (試験番号 []、[]、[]、[]、[]、[]、[]、[] 及び [] : 4.2.3.2.1~4.2.3.2.4 及び 4.2.3.2.6~4.2.3.2.8)

ラットにおいて、本薬 0、30、300 及び 3,000IU/kg が週 3 回又は連日で 4 週間、本薬 0、60、300 及び 1,500IU/kg が週 3 回 13 週間、本薬 0、12、60 及び 300IU/kg が週 3 回 26 週間反復静脈内投与された (一部の動物で 26 週間投与後 8 週間の回復期間が設定された)。4 週間連日投与試験の 3,000IU/kg 群の雌 1 例 (投与 30 日目) 及び 13 週間試験の 1,500IU/kg 群の雄 1 例 (投与 89 日目) に本薬投与に関連すると考えられる死亡が認められた。

サルにおいて、本薬 0、240、1,200 及び 6,000IU/kg が週 3 回 4 週間（一部の動物で 4 週間投与後 4 週間の回復期間が設定された）、本薬 0、120、600 及び 3,000IU/kg が週 3 回 13 週間、本薬 0、60、300 及び 1,500IU/kg が週 3 回 26 週間反復静脈内投与された（一部の動物で 26 週間投与後 8 週間の回復期間が設定された）。13 週間投与試験の 3,000IU/kg 群の雌 1 例（投与 74 日目）、26 週間投与試験の 1,500IU/kg 群の雌雄各 1 例（投与 156 及び 135 日目）及び 300IU/kg 群の雄 1 例（投与 69 日目）に本薬投与に関連すると考えられる死亡（切迫屠殺を含む）が認められた。

反復投与毒性試験で認められた所見はラット及びサルで類似しており、投与期間及び投与頻度に依存して、低用量群から発現がみられた。主な所見は以下に示すとおりである。

耳介、四肢及び顔面の潮紅、結膜充血、眼底の出血痕、諸臓器における血管内血液の貯留等は、本薬の作用である赤血球造血亢進による多血状態を反映した所見と考えられた。赤血球パラメータの高値、平均赤血球指数（MCV、MCH 及び MCHC）の変動、骨髓中赤芽球系細胞の増加、脾臓・肝臓・顎下リンパ節等での髓外造血亢進、プロトロンビン時間及び活性化部分トロンボプラスチン時間の延長、総ビリルビン高値も認められたが、いずれも本薬の薬理作用及びその二次作用に関連する非障害性変化と判断され、毒性と判断されなかった。

また、胃、空腸の暗赤色斑及び潰瘍、腎臓の出血性梗塞及び巣状壊死、尿潜血、膵臓の腺房萎縮、心筋の壊死、並びにクレアチニンキナーゼ高値が認められ、多血による循環障害と循環障害に伴う組織への酸素供給低下による所見及び循環障害に関連する所見と推察された。その他、ラット 13 及び 26 週間試験で大腿骨の骨梁の減少又は骨増生が認められ、本薬の薬理作用の過剰発現と申請者は推察している。

さらに、サル 26 週間投与試験では、大脳脈絡叢に毛細血管壁の壊死及び泡沫細胞が認められ、休薬期間後も泡沫細胞は確認された。hEPO 遺伝子が過剰発現したトランスジェニックマウスでは、脳血管内皮に障害が発生すると報告されているため（Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 290: R678-R684, 2006）、本薬により、血管壁が障害され、血管外に漏出した血清脂質などをマクロファージが貪食した結果と申請者は推察している。

上記の所見は薬理作用の過剰発現（毒性）と判断され、各試験の無毒性量は、ラットにおいて、4 週間投与試験では 300IU/kg（週 3 回投与：900IU/kg/週）及び 30IU/kg/日（連日投与：210IU/kg/週）、13 週間及び 26 週間投与試験では 60IU/kg（週 3 回投与：180IU/kg/週）、並びにサルにおいて、4 週間投与試験では 1,200IU/kg（週 3 回投与：3,600IU/kg/週）、13 週間投与試験では 120IU/kg（週 3 回投与：360IU/kg/週）未満、26 週間投与試験では 60IU/kg（週 3 回投与：180IU/kg/週）と判断された。

回復試験において、いずれも赤血球パラメータの変動が認められ、多血状態から正常状態へ回復する変化と考えられた。また、ラットでは脾臓（被膜、脾柱及び赤脾髄）に好塩基性物質が認められ、コッサ染色陰性及びベルリンブルー染色陽性であることから、鉄の沈着と考えられた。鉄の沈着について、休薬による一時的な造血低下に伴う鉄消費の減少、並びにエポエチンレベル低下による幼若赤血球の破壊亢進により過剰となった鉄が沈着したと申請者は推察しているが、組織障害性の変化は認められないことから、毒性学的意義は低いと申請者は判断している。

本薬の血漿中濃度は、ラット及びサルによる試験のいずれにおいても、投与量の増加に応じて上昇していたが、蓄積性や性差は認められなかった。

また、抗体産生について、ラット 13 週間投与試験の 1,500IU/kg 群の雌 4 匹で抗 JR-013^{*}抗体が、300IU/kg 群の雌 1 匹で抗 JR-013 抗体及び抗 JR-013 中和抗体が認められ、ラット 26 週間投与試験の 300IU/kg 群の投与期に雌 1 匹、回復期に雌 1 匹で抗 JR-013 抗体の産生が認められ、また、サル 4 週間投与試験の 6,000IU/kg 群の投与期に雄 1 例及び雌 3 例で、回復期に雄 1 例で抗 JR-013 中和抗体の産生が認められた。その他、ラット 4 週間投与試験、並びにサル 13 週間及び 26 週間投与試験では、抗 JR-013 抗体及び抗 JR-013 中和抗体の産生は認められなかった。

(3) 遺伝毒性試験 (試験番号 [REDACTED]、[REDACTED] 及び [REDACTED] : 4.2.3.3.1.1、4.2.3.3.1.2 及び 4.2.3.3.2.1)

細菌を用いる復帰突然変異試験、チャイニーズハムスター肺細胞株 (CHL/IU) を用いた染色体異常試験及びラットを用いた染色体異常試験が行われたが、遺伝毒性は認められなかった。

(4) がん原性試験

本薬は遺伝毒性が認められないこと、分子量が約 28,000 と推定される糖タンパク質であり細胞膜を通過しないと考えられること、反復投与毒性試験において特定の臓器に前腫瘍性変化を示唆する所見は認められていないこと、臨床において、EPO α 及び EPO β にがん原性を示唆する有害事象は報告されていないことから、申請者はがん原性試験の実施は不要と判断している。

(5) 生殖発生毒性試験

ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験、ラット及びウサギによる胚・胎児発生に関する試験、並びにラット出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験が実施され、本薬の薬理作用 (赤血球造血作用) による赤血球数、Hb 値、Ht 値及び網赤血球数の高値が認められた。

1) ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 (試験番号 [REDACTED] : 4.2.3.5.1.1)

雄性ラットは交配前 14 日から剖検前日まで、雌性ラットは交配前 14 日から妊娠 7 日まで本薬 0、30、100 及び 300IU/kg/日 が連日反復静脈内投与された。反復投与試験で認められた摂餌量低下、耳介・四肢の潮紅の他、300IU/kg/日群の雄で体重増加抑制、雌で平均生存胚数低下及び平均着床後死亡率増加が、100IU/kg/日以上 of 雌で体重増加抑制が認められた。無毒性量は一般毒性について雄親動物 100IU/kg/日、雌親動物 30IU/kg/日、生殖能について 300IU/kg/日、胚発生について 100IU/kg/日と判断された。

* 本薬の治験成分記号

2) ラット及びウサギによる胚・胎児発生に関する試験（試験番号 [REDACTED] 及び [REDACTED] : 4.2.3.5.2.2 及び 4.2.3.5.2.4)

ラットの妊娠 7～17 日、ウサギの妊娠 6～18 日に本薬 0、30、100 及び 300IU/kg/日が連日反復静脈内投与された。ラットの 300 IU/kg/日群胎児で仙尾椎の骨化数の低値が認められたが軽度であり、他に本薬の毒性と判断される所見は認められなかった。無毒性量はいずれも、母動物の一般毒性、生殖能及び胎児について 300IU/kg/日と判断された。

3) ラット出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（試験番号 [REDACTED] : 4.2.3.5.3.1)

妊娠 7 日～分娩後 20 日に本薬 0、30、100 及び 300IU/kg/日が連日静脈内投与された。300IU/kg/日群の F₁ 出生児で低体重、100IU/kg/日以上 of F₁ 出生児で離乳前後を通じて体重増加抑制が認められたが、母動物の多血による胎盤の循環障害及び乳汁分泌量減少によると推察された。無毒性量は母動物の一般毒性は 300IU/kg/日、母動物の生殖能及び F₁ 出生児については 30IU/kg/日と判断された。

(6) 局所刺激性（試験番号 [REDACTED] : 4.2.3.6.1)

ラット及びサル of 反復静脈内投与試験において、静脈周囲組織に刺激性は認められなかった。

また、ウサギに本薬 1,500IU/mL (1mL/site) が皮下投与され、投与前、投与直後、1、3、6 時間後、及び 2、3、4 及び 7 日後の局所反応について、生理食塩水（陰性対照）及びスルホプロモフタレインナトリウム（陽性対照）と肉眼的及び病理組織学的な比較が行われた。投与部位で認められた変化は生理食塩水と差は認められず、本薬の皮下投与による局所刺激性は認められないと判断された。

<機構における審査の概略>

(1) 本薬の毒性について

機構は、毒性試験で用いられた動物が正常動物であり、発現した所見が本薬の薬理作用の過剰発現によるものであること、毒性試験以外の非臨床試験で 5/6 部分腎臓摘出ラットが用いられていることから、毒性試験においても、瀉血、放血等の貧血モデル動物による毒性発現を確認する必要性について、申請者の見解を求めた。

申請者は、以下のように回答した。

本薬の反復投与毒性試験で認められた主な所見は、本薬の薬理作用とその過剰発現によるものであると考えられ、瀉血、放血等により多血状態を回避し、本薬の造血作用に起因する毒性所見を軽減させることで、本薬の造血作用によらない毒性所見の発現が確認できる可能性はあると考える。しかし、本薬の反復投与毒性試験で認められた所見は、本薬の薬理作用の過剰発現による多血及び多血に起因したものであり、同種同効薬の EPO α 及び EPO β の毒性試験で報告されている所見と類似していたことから、毒性学的性質は類似していると考えられる。また、臨床においては、過剰な造血が生じないように、定期的な血液検査の実施、休

薬等の処置がとられることから、ヒトで動物に見られた所見が発現する可能性は小さく、大きな問題はないと考える。

機構は、申請者の回答を了承した。

4. 臨床に関する資料

(i) 生物薬剤学試験及び関連する分析法の概要

生物薬剤学試験及び関連する分析法に関する資料は提出されていない。

(ii) 臨床薬理試験成績の概要

臨床薬理試験における血漿中及び尿中の本薬及び EPO α 濃度は ELISA 法により測定された。

<提出された資料の概略>

(1) ヒト生体試料を用いた試験

ヒト生体試料を用いた試験成績は、「3. 非臨床に関する資料 (i) 薬理試験成績の概要 (1) 効力を裏付ける試験 1) *in vitro* 試験 ③ 骨髓赤芽球系前駆細胞に対する作用」の項参照。

(2) 第 I 相臨床試験 (5.3.3.1.1: 試験番号 JR-013H-101 (以下、「101」) <20 年 月~20 年 月>)

20 歳以上 35 歳未満の健康成人男性 (目標症例数 24 例) を対象に、本薬の安全性及び薬物動態を検討する目的で、プラセボ対照単盲検試験が国内 1 施設で実施された。

用法・用量は、プラセボ、本薬 300IU、1,500IU 及び 3,000IU を、それぞれ単回静脈内投与することとされた。

総投与症例 24 例 (各群 6 例) 全例が安全性解析対象及び薬物動態解析対象とされた。

安全性について、有害事象はプラセボ群 0.0% (0/6 例)、本薬 300IU 群 66.7% (4/6 例)、本薬 1,500IU 群 16.7% (1/6 例) 及び本薬 3,000IU 群 33.3% (2/6 例) に、因果関係の否定されない有害事象 (以下、「副作用」) はプラセボ群 0.0% (0/6 例)、本薬 300IU 群 33.3% (2/6 例)、本薬 1,500IU 群 0.0% (0/6 例) 及び本薬 3,000IU 群 0.0% (0/6 例) に認められた。いずれかの群で 2 例以上に認められた有害事象は、本薬 3,000IU 群の鼻咽頭炎 (2 例) であり、いずれも治験薬との因果関係は否定された。

死亡例及び重篤な有害事象は認められなかった。

薬物動態について、本薬の血漿中の薬物動態パラメータ及び累積尿中排泄率を表 13 及び表 14 に示した。なお、パワーモデル ($Y=aX^b$: X =投与量、 Y =AUC) を用いて投与量と AUC の関係を解析したところ、本薬 300IU から 3,000IU の範囲で線形性を有することが示された。

<表 13 血漿中薬物動態パラメータ>

本薬の用量	C ₀ (mIU/mL)	AUC _{0-∞} (mIU·h/mL)	K _{el} (1/h)	t _{1/2} (h)	V _d (L)	CL (L/h)	MRT _{inf} (h)
300IU	105.57±32.72	659.55±401.61	0.09495±0.08073	17.10±20.36	8.45±4.64	0.57±0.29	23.02±26.21
1,500IU	499.27±84.34	2,656.60±588.78	0.08912±0.03769	9.18±4.15	4.18±0.62	0.57±0.10	7.27±1.27
3,000IU	1,051.87±181.36	6,777.87±992.30	0.12942±0.04043	6.00±2.59	2.88±0.41	0.45±0.05	6.47±0.64

n=6、平均値±標準偏差

＜表 14 累積尿中排泄率＞

本薬の用量	投与 0～24 時間後	投与 24～48 時間後	投与 48～72 時間後
300IU	0.37±0.90	0.37±0.90	0.37±0.90
1,500IU	0.88±0.71	0.88±0.71	0.88±0.71
3,000IU	1.72±0.40	1.73±0.40	1.78±0.43

n=6、平均値±標準偏差 (%)

(3) 臨床薬理試験（静脈内投与）（5.3.3.2.1：試験番号 JR1102（以下、「1102」）＜20 年 月～20 年 月＞）

20 歳以上で HD 施行中の腎性貧血患者*（目標症例数 24 例）を対象に、本薬及び EPO α の安全性及び薬物動態を検討する目的で、多施設共同非盲検 2 群 2 期クロスオーバー試験が国内 4 施設で実施された。

用法・用量は、本薬及び EPO α 1,500IU 又は 3,000IU を単回静脈内投与することとされ、休薬期間は 7 日間とされた。

総投与症例 25 例（1,500IU 投与 13 例及び 3,000IU 投与 12 例）のうち、原資料が保存されていない 1 例を除く 24 例（1,500IU 投与 13 例及び 3,000IU 投与 11 例）が安全性解析対象及び薬物動態解析対象とされた。

安全性について、有害事象は本薬 1,500IU 投与時 38.5%（5/13 例）、EPO α 1,500IU 投与時 53.8%（7/13 例）、本薬 3,000IU 投与時 45.5%（5/11 例）及び EPO α 3,000IU 投与時 18.2%（2/11 例）に認められ、副作用は本薬 1,500IU 投与時 15.4%（2/13 例）、EPO α 1,500IU 投与時 30.8%（4/13 例）、本薬 3,000IU 投与時 18.2%（2/11 例）及び EPO α 3,000IU 投与時 0.0%（0/11 例）に認められた。いずれかの治験薬投与時に 2 例以上に認められた有害事象は EPO α 1,500IU 投与時の接触性皮膚炎（2 例）であったが、いずれも治験薬との因果関係は否定された。

死亡例及び重篤な有害事象は認められなかった。

なお、対象から除外された 1 例について、EPO α 3,000IU 投与時に発熱、心室性期外収縮及び血管穿刺部位内出血が、本薬 3,000IU 投与時に発熱が認められたが、いずれも軽度であった。

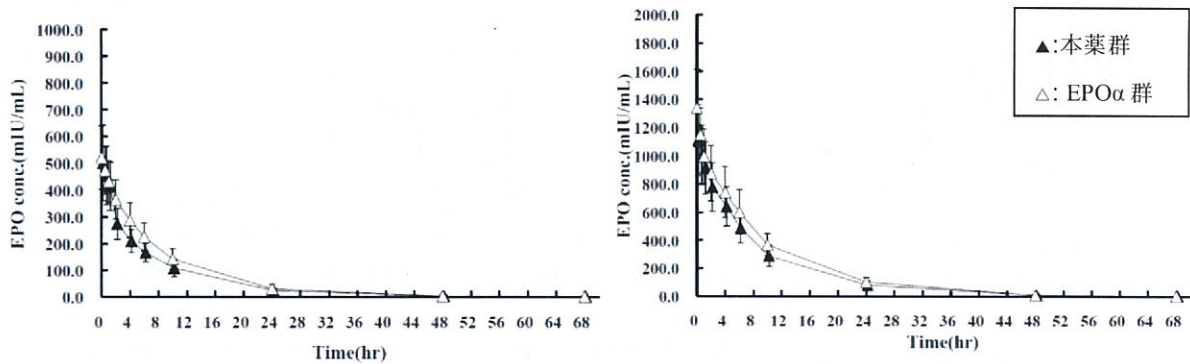
薬物動態について、本薬及び EPO α の血漿中薬物動態パラメータ及びその推移を表 15 及び図 1 に示した。また、本薬の EPO α に対する AUC_{0-∞} の幾何平均値の比 [90%信頼区間] は 1,500IU で 0.78 [0.71, 0.85] 及び 3,000IU で 0.83 [0.77, 0.89] であった。

＜表 15 血漿中薬物動態パラメータ＞

	C ₀ (mIU/mL)	AUC _{0-∞} (mIU·h/mL)	t _{1/2} (h)	V _{ss} (L)	CL (L/h)
本薬 1,500IU 投与時	501.65±141.02	3,398.1±799.0	6.65±1.76	3.78±1.03	0.46±0.10
EPO α 1,500IU 投与時	522.18±117.04	4,377.9±1,237.6	8.08±6.42	3.18±0.78	0.37±0.09
本薬 3,000IU 投与時	1,110.70±250.97	9,575.1±2,627.0	7.45±1.83	2.98±0.54	0.34±0.10
EPO α 3,000IU 投与時	1,338.31±275.39	11,576.1±2,759.7	7.36±1.37	2.57±0.50	0.27±0.07

1,500IU 群 n=13、3,000IU 群 n=11、平均値±標準偏差

* 事前検査の 4 週以上前から rHuEPO 製剤が 3,000～9,000IU/2～3 回/週で静脈内投与され、かつ、事前検査前 4 週以内の透析前 Hb 濃度が 9～12g/dL の患者



<図1 本薬及びEPOαの血漿中濃度推移（左図：1,500IU投与時、右図：3,000IU投与時）>

(4) 臨床薬理試験（皮下投与）（5.3.3.1.2：試験番号 JR2101（以下、「2101」））<20■■年■■月～20■■年■■月>

20歳以上35歳以下の健康成人男性（目標症例数32例）を対象に、本薬及びEPOαの薬物動態を検討する目的で、非盲検2群2期クロスオーバー試験が国内1施設で実施された。

用法・用量は、本薬及びEPOα 1,500IU又は3,000IUを単回皮下投与することとされ、休薬期間は7日間以上とされた。

総投与症例32例（各用量16例）が安全性解析対象及び薬物動態解析対象とされた。

安全性について、有害事象は本薬 1,500IU投与時 12.5%（2/16例）、EPOα 1,500IU投与時 0.0%（0/16例）、本薬 3,000IU投与時 6.3%（1/16例）及びEPOα 3,000IU投与時 18.8%（3/16例）に認められ、副作用は本薬 1,500IU投与時 12.5%（2/16例）、EPOα 1,500IU投与時 0.0%（0/16例）、本薬 3,000IU投与時 0.0%（0/16例）及びEPOα 3,000IU投与時 18.8%（3/16例）に認められた。いずれかの治験薬投与時に2例以上に認められた有害事象はEPOα 3,000IU投与時の血中フィブリノゲン減少（2例）であり、いずれも治験薬との因果関係は否定されなかった。

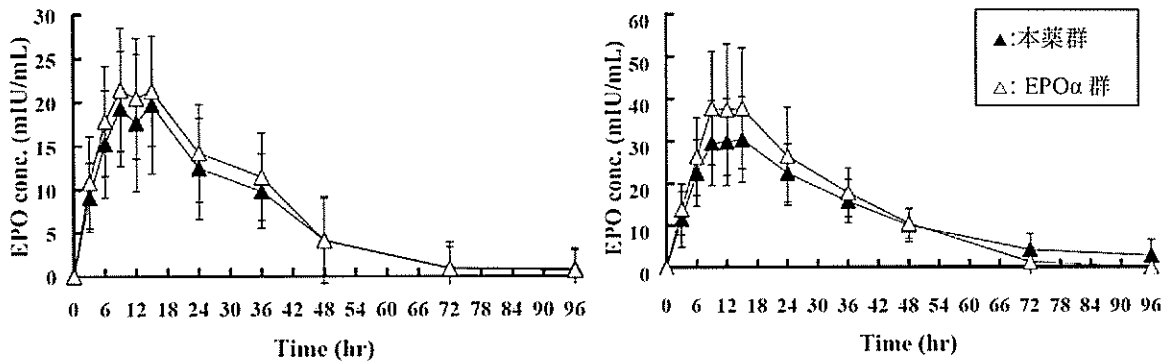
死亡例及び重篤な有害事象は認められなかった。

薬物動態について、本薬及びEPOαの血漿中薬物動態パラメータ及びその推移を表16及び図2に示した。また、本薬のEPOαに対するC_{max}の幾何平均値の比[90%信頼区間]は1,500IUで0.91[0.77, 1.08]及び3,000IUで0.82[0.72, 0.92]であり、AUC_{0-∞}の幾何平均値の比[90%信頼区間]は1,500IUで0.88[0.63, 1.22]及び3,000IUで0.98[0.82, 1.17]であった。

<表16 血漿中薬物動態パラメータ>

	C _{max} (mIU/mL)	t _{max} (h)	AUC _{0-∞} (mIU·h/mL)	t _{1/2} (h)	MRT _{inf} (h)
本薬 1,500IU 投与時	20.68±7.40	12.56±2.94	917.3±406.5	27.94±17.94	46.27±26.26
EPOα 1,500IU 投与時	22.66±6.88	11.44±3.50	1,059.2±542.2	29.75±21.45	47.17±28.78
本薬 3,000IU 投与時	32.97±9.92	12.75±4.58	1,518.0±565.9	37.08±24.92	54.76±27.82
EPOα 3,000IU 投与時	40.88±14.11	11.81±2.56	1,494.0±402.7	23.80±10.78	38.82±13.05

n=16、平均値±標準偏差



＜図2 本薬及びEPO α の血漿中濃度推移（左図：1,500IU投与時、右図：3,000IU投与時）＞

＜機構における審査の概略＞

(1) 本薬とEPO α の薬物動態について

機構は、ヒトにおける本薬とEPO α の静脈内投与時及び皮下投与時の薬物動態について、上記の表15及び16、並びに図1及び2から、本薬とEPO α の血中薬物濃度推移に著しい差異は認められないことを確認した。一方、本薬のEPO α に対する C_{max} 及び $AUC_{0-\infty}$ の幾何平均値の比については、静脈内投与、皮下投与ともに「後発医薬品の生物学的同等性試験ガイドライン等の一部改正について」（平成18年11月24日薬食審査発第1124004号）における生物学的同等性の判定基準を満たしていなかった。

静脈内投与時の薬物動態について、HD患者では本薬はEPO α に対しAUCとして低い値を示したが、本薬及びEPO α を静脈内投与した第Ⅱ/Ⅲ相臨床試験（JR1301）において両群の同等性が検証され、安全性も同様であったことを踏まえると（（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略＞（4）第Ⅱ/Ⅲ相臨床試験）の項参照）、静脈内投与における本薬とEPO α の薬物動態パラメータの差は有効性及び安全性に影響する程のものではないと考えられる。また、皮下投与時の薬物動態については、静脈内投与時と同様に本薬はEPO α に対しAUC及び C_{max} についてやや低い値を示している。皮下投与について有効性及び安全性を確認する臨床試験は実施されていないが、皮下投与時のAUCについては、静脈内投与時の本薬とEPO α の差と比較して著しく異なるものではないこと、HD患者に対する静脈内投与（第Ⅱ/Ⅲ相臨床試験〈JR1301〉）において両群の同等性が検証され、安全性も同様であったことを踏まえると、この皮下投与時の薬物動態の差が临床上の有効性及び安全性に影響を及ぼす可能性は少ないと考える。

本薬の薬物動態の類似性も含めたEPO α との同等性・同質性については、専門協議の議論を踏まえて最終的に判断したい。

(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略＞

(1) 第Ⅰ相臨床試験（5.3.3.1.1：試験番号 JR-013H-101 <20■■年■■月～20■■年■■月>）

試験の概略及び安全性については、「（ii）臨床薬理試験成績の概要＜提出された資料の概略＞（2）第Ⅰ相臨床試験」の項参照。

(2) 臨床薬理試験（静脈内投与）（5.3.3.2.1：試験番号 JR1102 <20 年 月～20 年 月>）

試験の概略及び安全性については、「(ii) 臨床薬理試験成績の概要 <提出された資料の概略> (3) 臨床薬理試験（静脈内投与）」の項参照。

(3) 臨床薬理試験（皮下投与）（5.3.3.1.2：試験番号 JR2101 <20 年 月～20 年 月>）

試験の概略及び安全性については、「(ii) 臨床薬理試験成績の概要 <提出された資料の概略> (4) 臨床薬理試験（皮下投与）」の項参照。

(4) 第Ⅱ/Ⅲ相臨床試験（5.3.5.1.1：試験番号 JR1301（以下、「1301」）<20 年 月～20 年 月>）

20歳以上のHD施行中の腎性貧血患者*（目標症例数300例）を対象に、本薬及びEPO α の有効性及び安全性を比較する目的で、多施設共同二重盲検[†]比較試験が国内30施設で実施された。

用法・用量は、個々の患者について観察期4週間のEPO α の用法・用量と同一の用法・用量で、本薬又はEPO α を1,500IU/回又は3,000IU/回を週2又は3回静脈内投与することとされた。Hb濃度又はHb濃度変化量による用量変更基準（表17）に基づき、1段階の投与量の増減のみが許容され（表18）、用法・用量を変更した場合には4週以内の再変更は行わないこととされた。なお、投与期間は24週間とされた。

<表17 用量変更基準>

Hb濃度又はHb濃度変化量	用量 ^{b)}
治験薬投与後のHb濃度が2週連続して9.0g/dL未満	1段階増量
治験薬投与後のHb濃度が2週連続して12.5g/dL超	1段階減量
治験薬投与後のHb濃度が2週連続して基準Hb濃度 ^{a)} の-1.5g/dL超	1段階増量
治験薬投与後のHb濃度が2週連続して基準Hb濃度 ^{a)} の+1.5g/dL超	1段階減量

^{a)} 観察期（-3、-2、-1及び0週時）の週初めの透析前Hb濃度平均値

^{b)} 表18参照

<表18 変更用量>

1段階減量	開始時投与量	1段階増量
1,500IU×1回/週	1,500IU×2回/週	1,500IU×3回/週
1,500IU×2回/週	1,500IU×3回/週	1,500IU×4回/週 ^{a)}
3,000IU×1回/週	3,000IU×2回/週	3,000IU×3回/週
3,000IU×2回/週	3,000IU×3回/週	-

^{a)} 週3回の透析時に1,500IU・1,500IU・1,500IU 2で投与する

総投与症例329例（本薬群166例及びEPO α 群163例）全例が安全性解析対象集団とされ、主要評価項目が欠測である4例を除く325例（本薬群165例及びEPO α 群160例）がfull analysis set（以下、「FAS」）とされ、有効性解析対象集団とされた。

* 観察期開始前4週以上前から用法・用量を変更せずにEPO α が3,000～9,000IU/2～3回/週で静脈内投与され、観察期開始前4週以内の透析前Hb濃度がいずれも9.0～12.5g/dL、かつ、観察期間中の週初めの透析前Hb濃度平均値が9.5～12.0g/dLで、変動幅（最大値－最小値）が1.5g/dL以内の患者

[†] 第三者機関の盲検維持担当者により、本薬とEPO α の盲検化作業が行われた

有効性について、主要評価項目である Hb 濃度変化量^{*}は、表 19 のとおりであり、両群の Hb 濃度変化量の群間差の 95%信頼区間が、事前に設定した同等性の許容域である-0.5～0.5g/dL の範囲内であったため、本薬群と EPO α 群の同等性が検証された。

<表 19 主要評価項目>

投与群	例数	基準 Hb 濃度 (平均値±標準偏差)	投与後 Hb 濃度 (平均値±標準偏差)	Hb 濃度変化量 (平均値±標準偏差)	群間差 [95%信頼区間]
本薬群	165 例	10.66±0.60g/dL	10.79±0.84g/dL	0.13±0.73g/dL	0.05g/dL [-0.12g/dL, 0.22g/dL]
EPO α 群	160 例	10.64±0.64g/dL	10.72±0.90g/dL	0.08±0.81g/dL	

安全性について、有害事象は本薬群 97.6% (162/166 例) 及び EPO α 群 95.7% (156/163 例) に認められ、副作用は本薬群 23.5% (39/166 例) 及び EPO α 群 15.3% (25/163 例) に認められた。いずれかの群で 5.0%以上に認められた有害事象を表 20 に示したが、いずれかの群で 5.0%以上に認められた副作用はなかった。

<表 20 5.0%以上に認められた有害事象>

有害事象名	本薬群 (166 例)		EPO α 群 (163 例)		有害事象名	本薬群 (166 例)		EPO α 群 (163 例)	
	発現率	例数	発現率	例数		発現率	例数	発現率	例数
全体	97.6%	162	95.7%	156	CRP 増加	6.6%	11	6.1%	10
鼻咽頭炎	60.8%	101	59.5%	97	頭痛	6.0%	10	8.0%	13
処置による低血圧	21.7%	36	20.2%	33	そう痒症	6.0%	10	5.5%	9
白血球数増加	12.0%	20	8.0%	13	皮下出血	6.0%	10	4.3%	7
下痢	10.2%	17	6.7%	11	血中上皮小体ホルモン増加	6.0%	10	4.3%	7
血圧上昇	9.6%	16	9.2%	15	挫傷	5.4%	9	9.2%	15
シャント狭窄	9.0%	15	7.4%	12	血中リン増加	5.4%	9	8.0%	13
背部痛	9.0%	15	6.1%	10	穿刺部位疼痛	4.8%	8	6.1%	10
便秘	9.0%	15	3.1%	5	筋痙攣	4.8%	8	5.5%	9
関節痛	7.8%	13	8.6%	14	嘔吐	3.6%	6	8.6%	14
四肢痛	7.8%	13	8.0%	13	擦過傷	2.4%	4	9.2%	15
血中カリウム増加	6.6%	11	9.8%	16					

死亡例として、EPO α 群で交通事故 1 例が認められたが、治験薬との因果関係は否定された。また、治験薬投与前に急性心不全 1 例及び原因不明 1 例の計 2 例の死亡が認められた。死亡を除く重篤な有害事象は本薬群 10.2% (17/166 例) 及び EPO α 群 13.5% (22/163 例) に認められ、EPO α 群で認められたシャント閉塞 1 例は、治験薬との因果関係が否定されなかった。

(5) 長期投与試験 (5.3.5.2.1 及び 5.3.5.2.2 : 試験番号 JR1302 (以下、「1302」) <20 年 月～20 年 月>)

20 歳以上の HD 施行中の腎性貧血患者[†] (52 週投与症例として目標症例数 100 例) を対象に、本薬の安全性及び有効性を検討する目的で、多施設共同非盲検試験が国内 12 施設で実施された。

用法・用量は、個々の患者について観察期 4 週間の rHuEPO 製剤の週あたり用量と同一の用量で、本薬 750～9,000IU/1～3 回/週を静脈内投与することとされた。目標 Hb 濃度を 10.0

^{*} 投与後 Hb 濃度-基準 Hb 濃度

投与後 Hb 濃度：治療期 (21、22、23 及び 24 週時) の週初めの透析前 Hb 濃度平均値 (中止例は中止日以前の 4 週の Hb 濃度から算出)

基準 Hb 濃度：観察期 (-3、-2、-1 及び 0 週時) の週初めの透析前 Hb 濃度平均値

[†] 観察期開始前 4 週以上前から rHuEPO 製剤が 750～9,000IU/1～3 回/週で静脈内投与され、観察期間中は週あたりの用量を変更せずに、観察期開始前 4 週以内の透析前 Hb 濃度がいずれも 9.5～12.5g/dL、かつ、観察期間中の週初めの透析前 Hb 濃度平均値が 10.0～12.0g/dL の患者

～12.0g/dL とし、その範囲内に維持されるよう治験責任医師等の判断により適宜用法・用量が調整され、増量時の増量幅は 3,000IU/週まで、血中 Hb 濃度が 13.0g/dL 以上になった場合は本薬の投与を行わず、目標 Hb 濃度範囲内に低下した場合に投与を再開することとされた。また、本薬投与開始 2 週以内は用法・用量の変更を行わず、用法・用量を変更した場合は 2 週以内の再変更は行わないこととされた。なお、投与期間は 52 週間とされた。

総投与症例 143 例全例が FAS とされ、有効性解析対象集団及び安全性解析対象集団とされた。

有効性について、目標 Hb 濃度維持率の推移 [95%信頼区間] は、投与直前 91.6% (131/143 例) [85.8%, 95.6%]、4 週時 87.9% (123/140 例) [81.3%, 92.8%]、12 週時 83.0% (112/135 例) [75.5%, 88.9%]、26 週時 84.1% (106/126 例) [76.6%, 90.0%] 及び 52 週時 85.1% (97/114 例) [77.2%, 91.1%] であった。

安全性について、有害事象は 100.0% (143/143 例) 及び副作用は 23.8% (34/143 例) に認められた。5.0%以上に認められた有害事象を表 21 に示した。また、5.0%以上に認められた副作用は血圧上昇 5.6% (8/143 例) のみであった。

＜表 21 5.0%以上に認められた有害事象＞

有害事象名	発現率	例数	有害事象名	発現率	例数	有害事象名	発現率	例数
鼻咽頭炎	56.6%	81	白血球数増加	13.3%	19	擦過傷	9.1%	13
処置による低血圧	28.0%	40	胃腸炎	12.6%	18	便秘	8.4%	12
血中リン増加	21.7%	31	頭痛	12.6%	18	創傷	7.7%	11
血中カリウム増加	20.3%	29	嘔吐	11.9%	17	季節性アレルギー	7.0%	10
上気道の炎症	18.9%	27	筋骨格痛	11.2%	16	接触性皮膚炎	7.0%	10
下痢	17.5%	25	筋痛	11.2%	16	湿疹	7.0%	10
そう痒症	17.5%	25	シャント狭窄	11.2%	16	血中カルシウム増加	7.0%	10
筋痙攣	16.1%	23	悪心	9.8%	14	咽頭炎	6.3%	9
高血圧	15.4%	22	皮下出血	9.8%	14	咽喉頭疼痛	6.3%	9
関節痛	15.4%	22	血中上皮小体ホルモン増加	9.8%	14	関節捻挫	6.3%	9
四肢痛	15.4%	22	Ht 減少	9.1%	13	結膜出血	5.6%	8
血圧上昇	14.7%	21	Hb 減少	9.1%	13	皮膚乾燥	5.6%	8
挫傷	14.7%	21	赤血球数減少	9.1%	13	シャント閉塞	5.6%	8
背部痛	13.3%	19						

n=143

死亡例として敗血症 1 例が認められたが、治験薬との因果関係は否定された。重篤な有害事象は 14.7% (21/143 例) に認められ、心膜炎 1 例及び失明当識 1 例について治験薬との因果関係は否定されなかった。

＜機構における審査の概略＞

機構は、以下の点を中心に審査を行った。

(1) 有効性について

機構は、臨床試験成績から以下の点について検討し、HD 患者に対する本薬の Hb 濃度維持効果は EPO α と同等であり、また長期に亘って Hb 濃度維持効果が持続することが確認できたことから、本薬の有効性は示されたと考えるが、専門協議の議論を踏まえて最終的に判断したい。

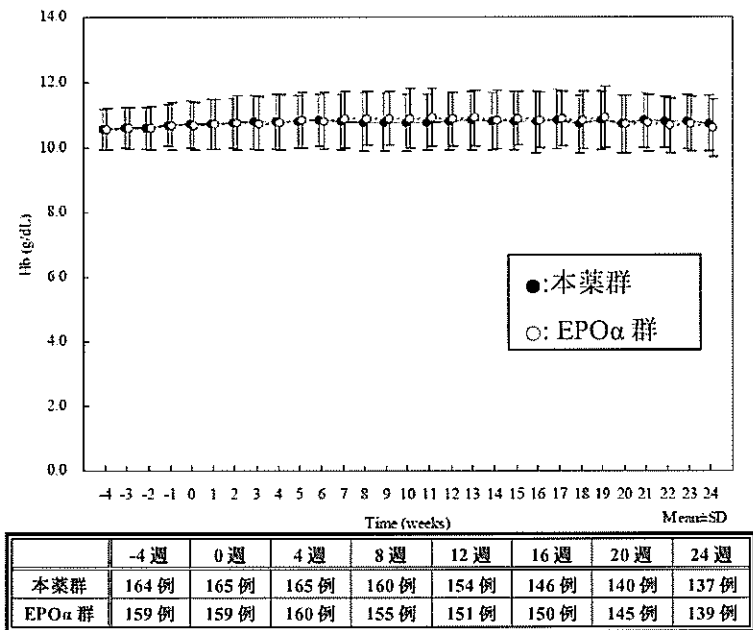
1) 主要評価項目について

1301 試験において、主要評価項目である Hb 濃度変化量の本薬群と EPO α 群の群間差 [95% 信頼区間] は 0.05g/dL [-0.12g/dL, 0.22g/dL] であり、予め規定された同等性の許容域 (± 0.5 g/dL) の範囲内であった。また、解析集団を Per Protocol Set (以下、「PPS」) としたときの Hb 濃度変化量の群間差 [95% 信頼区間] は 0.02g/dL [-0.16g/dL, 0.21g/dL] であり、FAS と同様の結果が得られた (PPS : FAS から試験計画からの逸脱又は投与期間が 16 週未満で試験を中止した 57 例を除く 268 例 (本薬群 131 例及び EPO α 群 137 例))。

2) 副次評価項目について

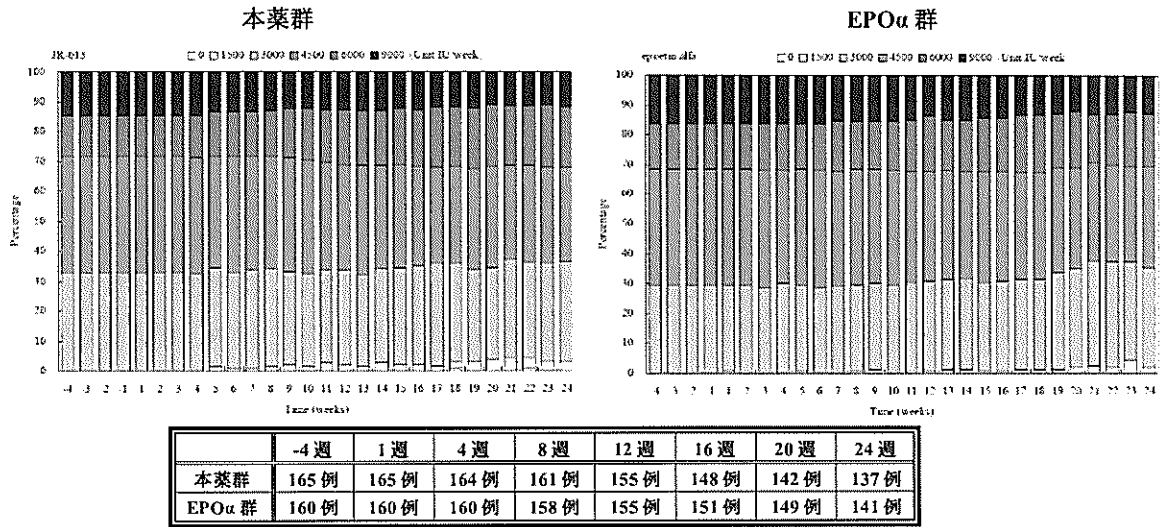
1301 試験における Hb 濃度の推移は図 3 のとおりであり、本薬群と EPO α 群はほぼ同様に推移した。投与後 Hb 濃度が基準 Hb 濃度から ± 1.0 g/dL の範囲内であった患者の割合は、本薬群 84.2% (139/165 例) 及び EPO α 群 77.5% (124/160 例) であり、大きな差異は認められなかった (群間差 [95% 信頼区間] : 6.7% [-1.8%, 15.3%])。また、各評価時点における週あたりの投与量の分布を図 4 に示したが、両群とも投与量分布の推移に大きな変動は認められず、また、群間に顕著な違いは認められなかった。

なお、1301 試験において Hb 濃度の変動により治験薬の投与が中止*された患者は本薬群 3 例及び EPO α 群 6 例であり、問題となる差異は認められなかった。



<図 3 1301 試験の Hb 濃度推移>

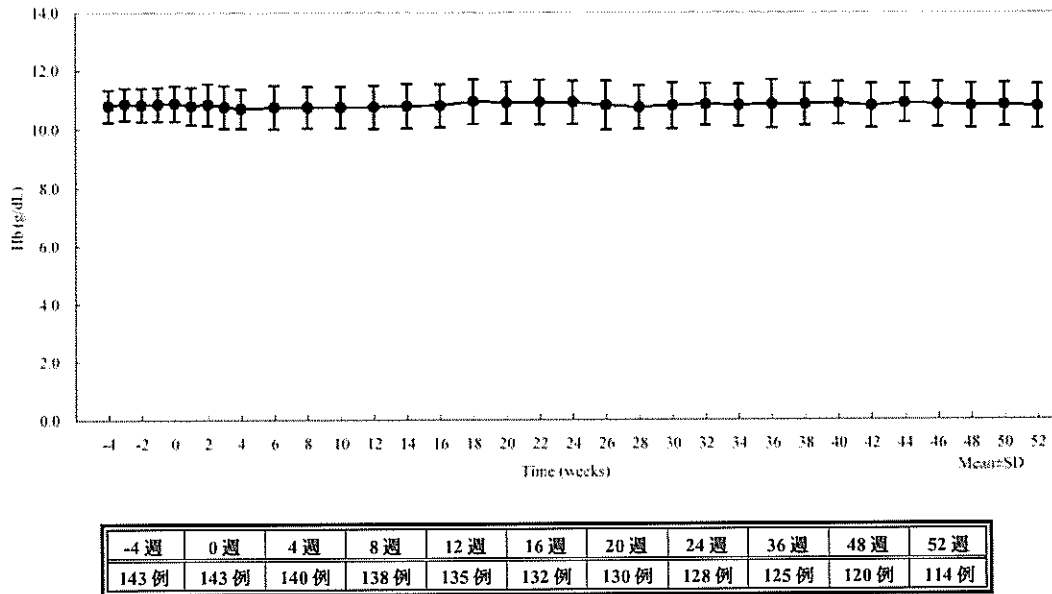
* 週はじめの透析前 Hb 濃度が 2 週連続して 8.5g/dL 以下、又は 13.0g/dL 以上となった場合



<図4 1301試験における週あたりの投与量の分布>

3) 長期投与時の有効性について

1302試験におけるHb濃度の推移を図5に示したが、本薬長期投与時にHb濃度が大きく変動する傾向は認められなかった。



<図5 1302試験のHb濃度推移>

(2) 安全性について

機構は、以下の点より、EPOαと比べて本薬の安全性に現時点で特段問題とすべき点はないと判断したが、本薬の安全性については、専門協議の議論を踏まえて最終的に判断したい。

1) EPOα との比較について

1301 試験において認められた有害事象及び重篤な有害事象に本薬群と EPOα 群間に特段の差異は認められなかった（「<提出された資料の概略> (4) 第Ⅱ/Ⅲ相臨床試験」の項参照）。1301 試験及び 1302 試験において、本薬との因果関係が否定されなかった死亡例は認められず、また、1301 試験において有害事象のため中止に至った症例は本薬群 13 例及び EPOα 群 8 例であったが、本薬群に特異的な事象は特に認められなかった。

さらに、1301 試験における発現時期別の有害事象の発現状況（全期間で発現率が 10.0%以上の事象）を表 22 に示したが、いずれの時期においても本薬群と EPOα 群間に大きな差異は認められなかった。

<表 22 1301 試験におけるいずれかの群で 10.0%以上に認められた有害事象の時期別発現状況>

	有害事象発現時期												合計			
	1 週目～8 週目				9 週目～16 週目				17 週目～24 週目				本薬群 (166 例)		EPOα 群 (163 例)	
	本薬群 (166 例)		EPOα 群 (163 例)		本薬群 (160 例)		EPOα 群 (157 例)		本薬群 (146 例)		EPOα 群 (151 例)		発現率	例数	発現率	例数
全有害事象	78.3%	130	70.6%	115	80.0%	128	82.2%	129	87.0%	127	83.4%	126	97.6%	162	95.7%	156
死亡	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.7%	1	0.0%	0	0.6%	1
重篤な有害事象	4.8%	8	1.8%	3	5.0%	8	4.5%	7	4.1%	6	8.6%	13	10.2%	17	13.5%	22
中止に至った有害事象	2.4%	4	1.8%	3	4.4%	7	1.9%	3	1.4%	2	2.0%	3	7.8%	13	4.9%	8
鼻咽頭炎	23.5%	39	28.2%	46	40.6%	65	29.3%	46	39.0%	57	33.8%	51	60.8%	101	59.5%	97
処置による低血圧	9.0%	15	6.7%	11	9.4%	15	9.6%	15	10.3%	15	9.9%	15	21.7%	36	20.2%	33
白血球数増加	3.0%	5	0.0%	0	4.4%	7	4.5%	7	6.2%	9	5.3%	8	12.0%	20	8.0%	13
下痢	4.2%	7	2.5%	4	4.4%	7	2.5%	4	2.7%	4	3.3%	5	10.2%	17	6.7%	11

2) 長期投与時の安全性について

1302 試験における発現時期別の有害事象の発現状況（全期間で発現率が 10.0%以上の事象）を表 23 に示したが、長期投与時に有害事象の発現率が上昇する傾向は認められなかった。

<表 23 1302 試験において 10.0%以上に認められた有害事象の時期別発現状況>

	有害事象発現時期										合計 (143 例)	
	1 週目～12 週目 (143 例)		13 週目～24 週目 (135 例)		25 週目～36 週目 (128 例)		37 週目～48 週目 (125 例)		48 週目～ (120 例)		発現率	例数
	発現率	例数	発現率	例数	発現率	例数	発現率	例数	発現率	例数		
全有害事象	83.9%	120	88.1%	119	90.6%	116	88.0%	110	55.0%	66	100.0%	143
死亡	0.7%	1	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.7%	1
重篤な有害事象	3.5%	5	3.7%	5	5.5%	7	1.6%	2	1.7%	2	14.7%	21
中止に至った有害事象	5.6%	8	2.2%	3	2.3%	3	2.4%	3	0.8%	1	12.6%	18
鼻咽頭炎	24.5%	35	29.6%	40	29.7%	38	16.8%	21	10.0%	12	56.6%	81
処置による低血圧	8.4%	12	8.9%	12	10.9%	14	11.2%	14	3.3%	4	28.0%	40
血中リン増加	7.0%	10	7.4%	10	9.4%	12	11.2%	14	7.5%	9	21.7%	31
血中カリウム増加	7.7%	11	8.9%	12	6.3%	8	4.8%	6	9.2%	11	20.3%	29
上気道の炎症	3.5%	5	5.9%	8	10.2%	13	7.2%	9	1.7%	2	18.9%	27
下痢	6.3%	9	8.9%	12	3.9%	5	7.2%	9	5.0%	6	17.5%	25
そう痒症	4.9%	7	5.9%	8	4.7%	6	5.6%	7	0.0%	0	17.5%	25
筋痙攣	5.6%	8	3.7%	5	4.7%	6	7.2%	9	0.0%	0	16.1%	23
高血圧	5.6%	8	4.4%	6	5.5%	7	0.8%	1	0.0%	0	15.4%	22
関節痛	6.3%	9	3.7%	5	3.1%	4	4.8%	6	2.5%	3	15.4%	22
四肢痛	2.1%	3	5.2%	7	4.7%	6	5.6%	7	0.0%	0	15.4%	22
血圧上昇	6.3%	9	4.4%	6	5.5%	7	4.8%	6	1.7%	2	14.7%	21
挫傷	4.9%	7	7.4%	10	2.3%	3	4.0%	5	0.0%	0	14.7%	21
背部痛	2.8%	4	2.2%	3	3.9%	5	6.4%	8	2.5%	3	13.3%	19
白血球数増加	3.5%	5	3.7%	5	3.9%	5	4.8%	6	1.7%	2	13.3%	19
胃腸炎	3.5%	5	3.7%	5	5.5%	7	2.4%	3	1.7%	2	12.6%	18
頭痛	4.2%	6	4.4%	6	3.9%	5	4.0%	5	0.8%	1	12.6%	18
嘔吐	4.9%	7	5.2%	7	3.1%	4	2.4%	3	0.0%	0	11.9%	17
筋骨格痛	4.2%	6	3.7%	5	3.9%	5	1.6%	2	0.8%	1	11.2%	16
筋痛	5.6%	8	3.0%	4	3.1%	4	4.0%	5	0.8%	1	11.2%	16
シャント狭窄	2.8%	4	3.7%	5	6.3%	8	3.2%	4	0.8%	1	11.2%	16

3) 抗 EPO 抗体について

第 I 相試験、臨床薬理試験、1301 試験及び 1302 試験では、主に試験終了時に抗 EPO 抗体が測定されているが、いずれの試験においても抗 EPO 抗体の発現は認められず、赤芽球癆の発現も認められなかった。

なお、既存の rHuEPO 製剤では抗 EPO 抗体産生を伴う赤芽球癆の発現が報告されているため、機構は、製造販売後調査等において本薬投与中に貧血の悪化等、抗体発現が疑われる患者が認められないか確認することが必要と考える。

(3) 効能・効果について

申請者は、本薬の非臨床試験及び臨床試験成績において EPO α と同様の試験成績が得られたことを根拠として、本薬は EPO α を有効成分とする「エスポー注射液 750」等のバイオ後続品に該当すると判断し、本薬の申請効能・効果として「透析施行中の腎性貧血」及び「未熟児貧血」と設定することは妥当と判断している。

機構は、1301 試験及び 1302 試験は HD 患者を対象として実施されており、腹膜透析（以下、「PD」：peritoneal dialysis）患者に対する臨床試験成績は得られていないことから、本薬を適用する対象に PD 患者を含めることの可否について、申請者に見解を示すよう求めた。

申請者は、以下の点から、本薬は EPO α と同様に PD 患者に対しても有効かつ安全に使用できると考えており、本剤の効能・効果を「透析施行中の腎性貧血」とすることは妥当であると説明した。

- 1) 海外において、rHuEPO の薬物動態に HD 患者と PD 患者間で大きな差異は認められないことが報告されていること（Nephron 59: 399-402, 1991）
- 2) 国内の PD 患者に EPO α を静脈内投与した時の Ht 値の改善効果は HD 患者と同様であることが報告されていること（腎と透析 26: 1115-1136, 1989）
- 3) EPO α について、PD 患者を含めた使用成績調査において特段の問題は指摘されていないこと（新医薬品再審査概要 No.1 エポエチンアルファ〈遺伝子組換え〉〔エスポー注射液 1500, 3000〕〈透析施行中の腎性貧血〉, 財団法人 日本公定書協会編）
- 4) HD 患者を対象とした 1301 試験において、本薬は EPO α と同等の有効性を示し、安全性についても大きな差異は認められなかったこと

機構は、本薬の効能・効果について、以下のように考える。

HD 患者を対象とした 1102 試験において本薬と EPO α の静脈内投与時の薬物動態は生物学的同等性の判定基準を満たしていないものの、大きな差はないことが示されていること、HD 患者を対象とした 1301 試験において本薬と EPO α の静脈内投与時の有効性は同等であり、安全性に大きな差異は認められていないことが示されていることから、本薬と EPO α は静脈内投与において HD 患者と同様に使用可能であることが示されていると考える。また、HD 患者と PD 患者では透析方法は異なるものの、共に腎障害により内因性 EPO が不足することで貧

血を来していること、EPO α についても透析方法の差異で本薬の用法・用量に違いがないことから、HD 患者に対し EPO α と同様な有効性及び安全性を示した本薬は、PD 患者に対しても同様な有効性及び安全性を示すことが期待できると考える。したがって、本薬の適用対象に PD 患者を含め、効能・効果を「透析施行中の腎性貧血」とすることは可能と考える。ただし、PD 患者に対する本薬の投与経験はないため、製造販売後調査等で PD 患者に対する安全性及び有効性の情報を収集することが適当であると考えられる。

また、EPO α を有効成分とする「エスポー注射液 750」等は、皮下投与で「未熟児貧血」に対する効能・効果も有している。健康成人を対象とした 2101 試験において本薬と EPO α の皮下投与時の薬物動態については、静脈内投与時（1102 試験）と同様に、生物学的同等性の基準を満たしていない。皮下投与について有効性及び安全性を確認する臨床試験は実施されていないが、皮下投与時の AUC については、静脈内投与時の本薬と EPO α の差と比較して著しく異なるものではないこと、HD 患者に対する静脈内投与において本薬と EPO α は同等の有効性を示し、同様に使用可能であることが示されていること、さらに透析施行中の腎性貧血患者と未熟児貧血では病態は異なるものの、不足する内因性 EPO を補充することで EPO 受容体刺激作用による造血促進効果を期待するという同一の薬理作用に基づくものであることから、皮下投与時の薬物動態の差が未熟児貧血に対する本薬の有効性及び安全性に影響を及ぼす可能性は少ないと考えている。

以上から、本薬の効能・効果を、EPO α を有効成分とする「エスポー注射液 750」等と同様に「透析施行中の腎性貧血」とすることは差し支えなく、また、皮下投与による「未熟児貧血」の効能・効果については、静脈内投与時と同じく EPO α と同様な臨床上的有効性及び安全性が期待できるならば付すことは可能と考えている。本薬の効能・効果については、専門協議の議論を踏まえて最終的に判断したい。

(4) 用法・用量について

「透析施行中の腎性貧血」に対する本薬の用法・用量は、「(1) 有効性について」及び「(2) 安全性について」の項で記載したように、本薬と EPO α について、HD 患者を対象とした試験において有効性では同等性が検証され、安全性に大きな差異は認められないこと、また、「(3) 効能・効果について」の項で記載したように、HD 患者における腎性貧血の改善と同じ薬理作用に基づいて PD 患者に対する治療効果が期待でき、本薬では HD 患者に対する試験成績から EPO α と同様の効果が期待できると考えることから、以下のとおり、EPO α を有効成分とする「エスポー注射液 750」等と同一とすることが適切であると考えられる。また、「未熟児貧血」に対する本薬の用法・用量については、「(3) 効能・効果について」の項で記載したように、効能・効果として付す場合には、以下のように EPO α と同様とすることが適切であると考えられるが、専門協議の議論を踏まえて最終的に判断したい。

1. 透析施行中の腎性貧血

投与初期は、エポエチンアルファ（遺伝子組換え）後続 1 として、通常、成人、1 回 3000 国際単位を週 3 回、できるだけ緩徐に静脈内投与する。

貧血改善効果が得られたら、維持量として、通常、成人、1回 1500 国際単位を週 2～3 回、あるいは 1回 3000 国際単位を週 2 回投与する。

貧血改善効果の目標値はヘモグロビン濃度で 10g/dL（ヘマトクリット値で 30%）前後とする。なお、いずれの場合も貧血症状の程度、年齢等により適宜増減するが、維持量での最高投与量は、1回 3000 国際単位、週 3 回投与とする。

2. 未熟児貧血

通常、エポエチンアルファ（遺伝子組換え）後続 1 として、1回 200 国際単位/kg を週 2 回皮下投与する。

ただし、未熟児早期貧血期を脱し、ヘモグロビン濃度が 10g/dL（ヘマトクリット値で 30%）前後で臨床症状が安定したと考えられる場合は投与を中止すること。なお、貧血症状の程度により適宜増減する。

(5) 製造販売後調査等について

申請者は、表 24 に示すような製造販売後調査を計画している。

＜表 24 製造販売後調査計画骨子（案）＞

目的	長期使用時の副作用の発現状況の把握、未知の副作用の検出、安全性及び有効性に影響を与えられ る要因の把握
調査方法	中央登録方式
調査実施期間	5 年間（観察期間 1.5 年）
予定症例数	500 例以上
対象患者	透析施行中の腎性貧血患者（PD 患者も含む）
主な調査項目	<ul style="list-style-type: none"> ・ 患者背景（性別、年齢、体重、アレルギー歴の有無、妊娠の有無、合併症・既往歴、ESA 前治療歴等）（登録時） ・ 透析療法（血液透析又は腹膜透析） ・ 本薬投与状況 ・ 併用薬 ・ 一般検査・臨床検査（登録時、6 ヶ月、12 ヶ月及び 18 ヶ月） ・ 有効性評価（Hb 濃度を指標とした貧血改善効果及び臨床症状に基づいて総合的に判定）（6 ヶ月、12 ヶ月及び 18 ヶ月） ・ 有害事象（他覚症状、臨床検査値異常変動等）

機構は、以下の項目について製造販売後調査において情報を集積し、確認することが適当であると考え、調査計画の詳細については、専門協議の議論を踏まえて最終的に判断したい。

- ・ ESA による治療経験のない透析施行中の腎性貧血患者に本薬を投与した経験はないことから、透析施行中の腎性貧血に対する ESA の治療を本薬によって開始する患者に対する安全性及び有効性の情報を集積し確認すること
- ・ PD 患者に対する本薬の安全性及び有効性の情報を集積し確認すること
- ・ 未熟児貧血に対する本薬の安全性及び有効性の情報を集積し確認すること
- ・ 本薬投与中に貧血の悪化が認められた患者等に対して抗体発現の有無を確認した結果を入手する等により、抗 EPO 抗体の発現状況について調査すること

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機構の判断

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、特に問題は認められなかったことから、提出された承認申請資料に基づき審査を行うことについて支障はないと判断した。

2. GCP 実地調査結果に対する機構の判断

提出された資料（試験番号 JR1102：5.3.3.2.1、試験番号 JR1301：5.3.5.1.1、並びに試験番号 JR1302：5.3.5.2.1 及び 5.3.5.2.2）に対して GCP 実地調査が実施された。その結果、5.3.3.2.1 試験が実施された一部の治験実施医療機関において、原資料（同意文書、一部の診療録等）が保存されていない症例が認められ試験成績の信頼性が確認できないことから、当該症例を GCP 不適合とすることとした。

また、他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除外基準に抵触する被験者の登録、治験実施計画書からの逸脱（治験薬の投与規定からの逸脱、臨床検査の未実施）が認められた。

以上の結果から、GCP 不適合と判断した 1 症例について提出された承認申請資料から削除する等の措置を講じた上で、審査を行うことについて支障はないものと機構は判断した。

IV. 総合評価

提出された品質、非臨床及び臨床試験資料から、機構は、本剤の EPO α に対する同等・同質性について以下のように考えている。

品質においては、本薬と EPO α の間に糖鎖構造の多様性に係る物理的・化学的性質に差異が認められ、臨床薬理試験においては、薬物動態パラメータについて、生物学的同等性の判定基準を満たしていなかった。しかし、非臨床試験成績及び HD 患者に対する静脈内投与での臨床試験成績に問題となる特段の差異は認められておらず、両者の糖鎖プロファイルの差異及びヒトでの薬物動態の差は、静脈内投与時には临床上の有効性及び安全性に影響を及ぼさないものと考えられた。一方、皮下投与については、有効性及び安全性を確認する試験は実施されていないものの、認められた血中薬物動態の差が临床上の有効性及び安全性に影響を及ぼす可能性は少ないと考えるが、専門協議における議論を踏まえたうえで、本薬と EPO α の同等/同質性を判断したい。また、以下の点について専門協議で議論を行い、専門協議での検討を踏まえて、EPO α のバイオ後続品として本剤を承認して差し支えないか判断したいと考える。

- ・ 有効性について
- ・ 安全性について
- ・ 効能・効果について
- ・ 用法・用量について
- ・ 本薬を EPO α のバイオ後続品とすることについて
- ・ 製造販売後の検討事項について

審査報告 (2)

平成 21 年 11 月 11 日

1. 申請品目

- [販 売 名] エポエチンアルファ BS 注 750 シリンジ「JCR」、同注 1500 シリンジ「JCR」、同注 3000 シリンジ「JCR」、同注 750 「JCR」、同注 1500 「JCR」、同注 3000 「JCR」(ジェポ注 750 シリンジ、同注 1500 シリンジ、同注 3000 シリンジ、同注 750、同注 1500、同注 3000 から変更)
- [一 般 名] エポエチン カッパ (遺伝子組換え) [エポエチンアルファ後続 1] (エポエチン カッパ (遺伝子組換え) から変更)
- [申 請 者 名] 日本ケミカルリサーチ株式会社
- [申請年月日] 平成 20 年 11 月 21 日

2. 審査内容

医薬品医療機器総合機構 (以下、「機構」) は、審査報告 (1) をもとに専門委員へ意見を求めた。専門委員との協議を踏まえた審査結果を報告する。

なお、本専門協議の専門委員は、本申請品目についての専門委員からの申し出等に基づき、「医薬品医療機器総合機構における専門協議等の実施に関する達」(平成 20 年 12 月 25 日 20 達 第 8 号) の規定により、指名した。

(1) 品質について

審査報告 (1) で検討した本薬と EPO α の品質特性に対し、専門委員より、以下のような意見が出された。

- ・ 本薬と EPO α の糖鎖プロファイルについて、両者はいずれも複合型 4 本鎖でラクトサミンリピートを有している。また、本薬には Gal α 1-3Gal β 構造は存在しない。両者の糖鎖構造の多様性に差異があるものの、それ以外の品質特性には類似性が認められており、更に非臨床試験及び臨床試験成績を踏まえると、本薬を「エスポー注射液 750」等を先行バイオ医薬品とするバイオ後続品として差し支えないと考える。
- ・ 不純物プロファイルを含む品質特性において、本薬と EPO α との類似点及び相違点をより明確に説明する必要があると考える。

機構は、専門委員の意見を踏まえ、以下のように判断した。

本薬中に含まれる不純物について、製造工程由来不純物は、製造工程において安全性に影響のない低レベルにまで恒常的に除去されることが確認されている (審査報告 (1) 「2. 品質に関する資料 <提出された資料の概略> (1) 原薬 1) 製造方法 ③ 製造工程」の項参照)。また、本薬と EPO α において SE-HPLC 及び RP-HPLC で認められた目的物質由来不純物のパターンは、いずれもあらかじめ設定された評価基準を満たしている (審査報告 (1) 表 7 参照)。さらに、臨床試験において認められた有害事象に本薬群と EPO α 群に特段の差異は認められていない (審査報告 (1) 「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 <機構に

おける審査の概略> (2) 安全性について」の項参照)。以上を踏まえ、本薬に含まれる製造工程由来不純物及び目的物質由来不純物は、EPO α と比較して安全性に特段の影響を与えるものではないと判断した。以上の不純物についての考察及び審査報告(1)に記載した検討内容を踏まえ、機構は、原薬及び製剤について十分な特性解析が実施されていること、頑健性の高い製造工程が確立されていること、適切な工程管理と規格が設定されていることから、品質の恒常性は確保されていると考えた。

また、本薬と「エスポー注射液 750」等には、糖鎖構造の多様性に係る物理的・化学的性質に一部差異が認められたが、その他の品質特性に大きな差異はなく(審査報告(1)表7参照)、第Ⅱ/Ⅲ相臨床試験(1301)の結果、HD患者に対する本薬とEPO α のHb濃度維持効果は同等であり、安全性についても特段問題とすべき点がないことに加え、下記の「(3)本薬をEPO α のバイオ後続品とすることについて」の議論も踏まえ、両者の物理的・化学的性質の差異は本薬の有効性及び安全性に大きな影響を与えないと判断した。

(2) 有効性及び安全性について

機構は、臨床試験成績から、HD患者に対する本薬の静脈内投与におけるHb濃度維持効果はEPO α と同等であり、長期に亘ってHb濃度維持効果が持続することが確認できたことから、本薬の有効性は示されたと考え、また、EPO α と比べて本薬の安全性に現時点で特段問題とすべき点はないと判断した。

以上の機構の判断は、専門委員から支持された。

(3) 本薬をEPO α のバイオ後続品とすることについて

機構は、本薬がEPO α のバイオ後続品に該当するか否かについて、以下のような見解を以て専門委員に意見を求めた。

本薬の品質において、本薬とEPO α の間に糖鎖構造の多様性に係る物理的・化学的性質に差異が認められ、静脈内投与及び皮下投与にて検討した臨床薬理試験のいずれにおいても薬物動態パラメータが後発品ガイドラインの生物学的同等性の基準を満たしていなかった。しかし、非臨床試験成績及びHD患者に対する静脈内投与での臨床試験成績において、本薬とEPO α の間に問題となる特段の差異は認められていないことから、両者の糖鎖プロファイルの差異及びヒトでの静脈内投与時における血中薬物動態の差異は、临床上の有効性及び安全性に影響を及ぼさないと考えた。一方、皮下投与については、有効性及び安全性を確認する試験は実施されていないものの、ヒトでの血中濃度推移の変動は静脈内投与時の変動と比べて特に大きくなっているとは言えず、皮下投与時のヒトでの薬物動態の差異が临床上の有効性及び安全性に影響を及ぼす可能性は少ないと考えた。

以上のような機構の見解に対し、専門委員から、以下のような意見が出された。

- ・ 非臨床試験成績及びHD患者対象の静脈内投与試験(1301)成績において問題となるような特段の差異は認められていないため、薬物動態の差は許容可能である。
- ・ バイオ後続品に対しては、後発品ガイドラインで規定された生物学的同等性の基準がそのまま適用できるわけではないと考える。薬物動態パラメータが後発品ガイドラインの生物

学的同等性の基準を満たしていなかったことについては、臨床試験において本薬と EPO α が有効性において同等であり、安全性に大きな差異が認められないことを以て、糖鎖の不均一性の差異に基づくと推定される薬物動態の差異が有効性及び安全性に影響しないと判断することも可能であると考える。

以上の専門協議の議論を踏まえ、機構は、本薬は EPO α と同等/同質であり、本薬の製剤は EPO α の製剤である「エスポー注射液 750」等を先行バイオ医薬品とするバイオ後続品に該当すると判断した。

なお、本薬の一般的名称及び販売名については、「バイオ後続品に係る一般的名称及び販売名の取扱いについて」（平成 21 年 3 月 4 日 薬食審査発第 0304011 号）に基づき、一般的名称を「エポエチン カッパ（遺伝子組換え）〔エポエチンアルファ後続 1〕」とし、また、販売名を「エポエチンアルファ BS 注 750 シリンジ「JCR」」等に変更することが必要となる。機構は、申請者に販売名を変更するよう求め、適切に対応されたため、これを了承した。

(4) 効能・効果について

機構は、審査報告 (1) の「(3) 効能・効果について」の項に記載したように、臨床試験成績及び本薬の作用機序より、PD も含め透析施行中の腎性貧血患者に対する本薬の有効性及び安全性は、EPO α と同様に期待できると判断した。また、皮下投与による「未熟児貧血」については、有効性及び安全性を確認する臨床試験は実施されていないが、静脈内投与による臨床試験成績、薬物動態及び作用機序を踏まえ、EPO α と同様な臨床上の有効性及び安全性が期待できると考えた。以上から、効能・効果を、EPO α を有効成分とする「エスポー注射液 750」等と同一の「透析施行中の腎性貧血」及び「未熟児貧血」とすることで差し支えないと判断した。

以上の機構の判断は、専門委員より支持された。

(5) 用法・用量について

機構は、「(4) 効能・効果について」の項に記載したように、透析施行中の腎性貧血患者及び未熟児貧血患者に対して本薬は EPO α と同様の効果が期待できると考えることから、本薬の用法・用量は、以下のとおり、EPO α を有効成分とする「エスポー注射液 750」等と同一とすることが適切であると考えた。

以上の機構の判断は、専門委員より支持された。

【用法・用量】

1. 透析施行中の腎性貧血

投与初期は、エポエチンアルファ（遺伝子組換え）〔後続 1〕として、通常、成人、1 回 3000 国際単位を週 3 回、できるだけ緩徐に静脈内投与する。

貧血改善効果が得られたら、維持量として、通常、成人、1 回 1500 国際単位を週 2～3 回、あるいは 1 回 3000 国際単位を週 2 回投与する。

貧血改善効果の目標値はヘモグロビン濃度で 10g/dL（ヘマトクリット値で 30%）前後と

する。

なお、いずれの場合も貧血症状の程度、年齢等により適宜増減するが、維持量での最高投与量は、1回 3000 国際単位、週 3 回投与とする。

2. 未熟児貧血

通常、エポエチンアルファ（遺伝子組換え）〔後続 1〕として、1回 200 国際単位/kg を週 2 回皮下投与する。

ただし、未熟児早期貧血期を脱し、ヘモグロビン濃度が 10g/dL（ヘマトクリット値で 30%）前後で臨床症状が安定したと考えられる場合は投与を中止すること。

なお、貧血症状の程度により適宜増減する。

(6) 製造販売後調査等について

機構は、製造販売後調査において、臨床使用下での本薬の安全性及び有効性に関する情報を収集するとともに、以下の場合における有効性、安全性等の情報を収集する必要があると考えた。

- ・ 透析施行中の腎性貧血に対する ESA の治療を本薬によって開始する患者に対する安全性及び有効性の情報
- ・ PD 患者に対する本薬の安全性及び有効性の情報
- ・ 未熟児貧血に対する本薬の安全性及び有効性の情報
- ・ 本薬投与中に貧血の悪化が認められた患者等に対して抗体（抗 EPO 抗体）発現の有無

以上の機構の判断は専門委員より支持されたため、機構は、上記の点を踏まえた製造販売後調査計画書の骨子（案）を提出するよう申請者に求めた。

申請者は、表 25 に概略を示した製造販売後調査計画骨子（案）が提出され、また、未熟児貧血患者に対する製造販売後調査は、対象診療科、調査項目等が異なるため、別途、未熟児貧血の治療が実施されている医療機関において、特定使用成績調査を実施すると回答したため、機構はこれを了承した。

<表 25 製造販売後調査計画骨子（案）>

目的	長期使用時の副作用の発現状況の把握、未知の副作用の検出、安全性及び有効性に影響を与えられ る要因の把握
調査方法	中央登録方式
調査実施期間	5 年間（観察期間 1.5 年）
予定症例数	500 例以上
対象患者	透析施行中の腎性貧血患者（既存の ESA からの切換え例、初回投与例、及び PD 患者を含む）
主な 調査項目	<ul style="list-style-type: none"> ・ 患者背景（性別、年齢、体重、アレルギー歴の有無、妊娠の有無、合併症・既往歴、ESA 前治療歴等）（登録時） ・ 透析療法（HD 又は PD） ・ 本薬投与状況 ・ 併用薬 ・ 臨床検査 ・ 一般検査・臨床検査（登録時、6 ヶ月、12 ヶ月及び 18 ヶ月） ・ 有効性評価（Hb 濃度を指標とした貧血改善効果及び臨床症状に基づいて総合的に判定）（6 ヶ月、12 ヶ月及び 18 ヶ月） ・ 有害事象（自覚症状、臨床検査値異常変動等）

3. 総合評価

以上の審査の結果、機構は、効能・効果及び用法・用量等を以下のように整備し、承認して差し支えないと判断する。なお、本薬は生物由来製品に該当し、原体及び製剤は劇薬に該当することが適当と判断する。

【効能・効果】

1. 透析施行中の腎性貧血
2. 未熟児貧血

【用法・用量】

1. 透析施行中の腎性貧血

投与初期は、エポエチンアルファ（遺伝子組換え）〔後続1〕として、通常、成人、1回3000国際単位を週3回、できるだけ緩徐に静脈内投与する。

貧血改善効果が得られたら、維持量として、通常、成人、1回1500国際単位を週2~3回、あるいは1回3000国際単位を週2回投与する。

貧血改善効果の目標値はヘモグロビン濃度で10g/dL（ヘマトクリット値で30%）前後とする。

なお、いずれの場合も貧血症状の程度、年齢等により適宜増減するが、維持量での最高投与量は、1回3000国際単位、週3回投与とする。

2. 未熟児貧血

通常、エポエチンアルファ（遺伝子組換え）〔後続1〕として、1回200国際単位/kgを週2回皮下投与する。

ただし、未熟児早期貧血期を脱し、ヘモグロビン濃度が10g/dL（ヘマトクリット値で30%）前後で臨床症状が安定したと考えられる場合は投与を中止すること。

なお、貧血症状の程度により適宜増減する。

