

ペガシス皮下注90 µg, ペガシス皮下注180 µg
[ペグインターフェロン アルファ-2a (遺伝子組換え)]

[B 型慢性肝炎]

第2部 (モジュール2)
CTD の概要 (サマリー)

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.1 緒言

中外製薬株式会社

略語一覧

略語	英名	和名
HBV	Hepatitis B virus	B 型肝炎ウイルス
IFN	Interferon	インターフェロン
IFNAR	Type I interferon receptor	I 型インターフェロン受容体
mPEG	Methoxy polyethylene glycol	メトキシポリエチレングリコール
OAS	2', 5'-oligoadenylate synthetase	2', 5'オリゴアデニル酸合成酵素
PEG-IFN α -2a	PEG-interferon alpha-2a (genetical recombination)	ペグインターフェロン アルファ-2a (遺伝子組換え)
PKR	Protein kinase, RNA regulated	二本鎖 RNA 依存性蛋白質リン酸化酵素
rIFN α -2a	Interferon alpha-2a (genetical recombination)	インターフェロン アルファ-2a (遺伝子組換え)

目次

	<u>頁</u>
2.6 非臨床試験の概要文及び概要表.....	4
2.6.1 緒言	4
2.6.1.1 インターフェロンの B 型慢性肝炎に対する作用	4
2.6.1.2 今回の承認申請の概要.....	4
2.6.1.3 図表.....	5
2.6.1.4 参考文献.....	5

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.1 緒言

2.6.1.1 インターフェロンのB型慢性肝炎に対する作用

インターフェロン（IFN）は、抗ウイルス作用を初めとした種々の生理活性を有するサイトカインの一種であり、産生細胞、構造や生物活性などによりI型からIII型までの3種類に分類される。このうちI型IFNはウイルスや二本鎖RNAなどの刺激で白血球や線維芽細胞により産生され、その主な作用はウイルスの増殖抑制である。I型IFNにはIFN α 、IFN β 及びIFN ω などが含まれ、このうちIFN α 及びIFN β は、感染症や癌に対する臨床応用が進められている¹⁾。

IFN α の抗ウイルス作用の機序としては、ウイルスの分解を促進する蛋白の合成促進や宿主免疫担当細胞の活性化などが知られている^{1), 2)}。IFN α は、I型IFN受容体（IFNAR）を介して細胞質にある転写因子群をリン酸化し、転写因子複合体を形成させる。転写因子複合体は、核内で転写調節部位（IFN-stimulated response element など）に結合することにより、種々のIFN応答遺伝子の発現を誘導する^{1), 2)}。IFN応答遺伝子の発現により合成されるIFN誘導蛋白質のうち、二本鎖RNA依存性蛋白質リン酸化酵素（Protein kinase, RNA regulated : PKR）及び二本鎖RNA依存性2', 5'オリゴアデニル酸合成酵素（2', 5'-oligoadenylate synthetase : OAS）などが抗ウイルス活性に関与することが知られている。このうち、PKRは翻訳開始因子であるeIF-2 α をリン酸化してこれを不活性化することでウイルス蛋白質の合成を阻害し、OASはRNA分解酵素Lを活性化してウイルスRNAを分解する^{1), 2)}。これらの作用メカニズムはRNAウイルス、DNAウイルスにかかわらず機能しうるものである。DNAウイルスであるB型肝炎ウイルス（HBV）に対するIFN α の抗ウイルス活性についてもこれらのメカニズムに基づくものと推定されるが、詳細については不明な点もあり未知のメカニズムの関与も考えられる。

ペグインターフェロン アルファ-2a（遺伝子組換え）（PEG-IFN α -2a）は、分子量約20 kDaのインターフェロン アルファ-2a（遺伝子組換え）（rIFN α -2a）に分子量約40 kDaの分枝メトキシポリエチレングリコール（mPEG）1分子を共有結合させたものであり、分子量は約60 kDaである（図 2.6.1.3-1、図 2.6.1.3-2）。PEG-IFN α -2aのmPEGが結合可能な部位は、N末のアミノ基及び11個のリジン残基であるが、このうちN末から31、121、131及び134番目のリジン残基のいずれかに結合していることが明らかにされている。

PEG-IFN α -2aはrIFN α -2a同様、IFNARを介して標的細胞に作用し、IFN応答遺伝子の発現を誘導することが確認されており、その生物学的活性についてはrIFN α -2aと比較して質的な差がみられない。しかしながら、PEG-IFN α -2aの血中半減期は33～43時間とrIFN α -2a（約3時間）の約10倍であり、この薬物動態学的特性のためにrIFN α -2aよりも効果が持続するという薬理学的特性を有している。

PEG-IFN α -2aは、既に「C型慢性肝炎におけるウイルス血症の改善」を効能・効果として承認を取得している（単独療法：2003年10月、リバビリンとの併用療法：2007年1月）。

2.6.1.2 今回の承認申請の概要

今回の承認申請は、B型慢性肝炎に対する適応を追加するためのものである。申請する効能・効果及び用法・用量は以下のとおりである。

効能・効果	B型慢性肝炎におけるウイルス血症の改善
用法・用量	B型慢性肝炎におけるウイルス血症の改善への本剤の使用にあたっては、HBV-DNA、HBe抗原等によりウイルスの増殖を確認したうえで行う。 通常、成人には1回180 μ gを週1回、皮下に投与する。 本剤の投与に際しては、患者の状態を考慮し、減量、中止等の適切な処置を行うこと。

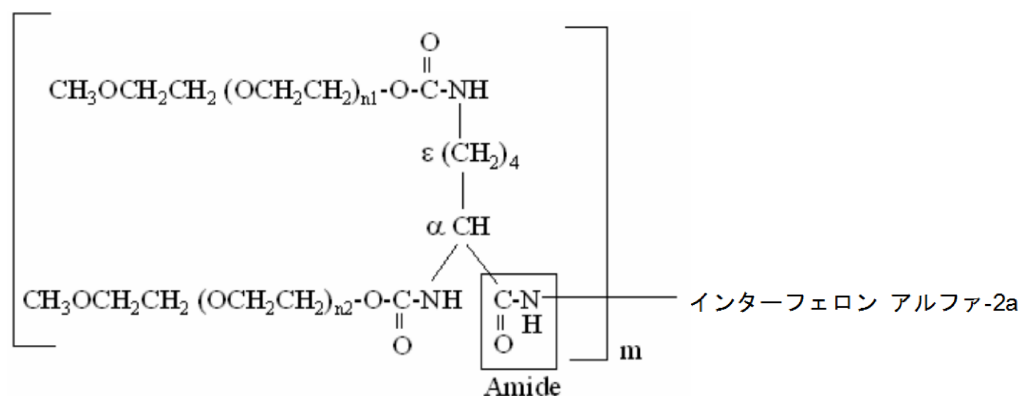
2.6.1.3 図表

図 2.6.1.3-1 インターフェロン アルファ-2a のアミノ酸配列

Cys-Asp-Leu-Pro-Gln-Thr-His-Ser-Leu-Gly-Ser-Arg-Arg-Thr-Leu-Met-Leu-Leu-Ala-Gln-	10	20
Met-Arg-Lys-Ile-Ser-Leu-Phe-Ser-Cys-Leu-Lys-Asp-Arg-His-Asp-Phe-Gly-Phe-Pro-Gln-	30	40
Glu-Glu-Phe-Gly-Asn-Gln-Phe-Gln-Lys-Ala-Glu-Thr-Ile-Pro-Val-Leu-His-Glu-Met-Ile-	50	60
Gln-Gln-Ile-Phe-Asn-Leu-Phe-Ser-Thr-Lys-Asp-Ser-Ser-Ala-Ala-Trp-Asp-Glu-Thr-Leu-	70	80
Leu-Asp-Lys-Phe-Tyr-Thr-Glu-Leu-Tyr-Gln-Gln-Leu-Asn-Asp-Leu-Glu-Ala-Cys-Val-Ile-	90	100
Gln-Gly-Val-Gly-Val-Thr-Glu-Thr-Pro-Leu-Met-Lys-Glu-Asp-Ser-Ile-Leu-Ala-Val-Arg-	110	120
Lys-Tyr-Phe-Gln-Arg-Ile-Thr-Leu-Tyr-Leu-Lys-Glu-Lys-Lys-Tyr-Ser-Pro-Cys-Ala-Trp-	130	140
Glu-Val-Val-Arg-Ala-Glu-Ile-Met-Arg-Ser-Phe-Ser-Leu-Ser-Thr-Asn-Leu-Gln-Glu-Ser-	150	160
Leu-Arg-Ser-Lys-Glu	165	

* : mPEG 分子結合部位

図 2.6.1.3-2 ペグインターフェロン アルファ-2a の構造



m = 1, n1 = 460 ~ 520, n2 = 460 ~ 520

2.6.1.4 参考文献

- 1) 今西二郎, 扇谷えり子. インターフェロン. 臨床とウイルス 2009;37:409-16.
- 2) 喜多正和. インターフェロンのウイルス増殖抑制機構. 総合臨床 2003;52:2492-8.

**ペガシス皮下注90 μg , ペガシス皮下注180 μg
[ペグインターフェロン アルファ-2a (遺伝子組換え)]**

[B 型慢性肝炎]

第2部 (モジュール2)

CTD の概要 (サマリー)

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.2 薬理試験の概要文

略語一覧

略語	英名	和名
HBV	Hepatitis B virus	B 型肝炎ウイルス
PEG-IFN α -2a	PEG-interferon alpha-2a (genetical recombination)	ペグインターフェロン アルファ-2a (遺伝子組換え)

目次

	頁
2.6.2 薬理試験の概要文.....	4
2.6.2.1 まとめ.....	4
2.6.2.2 効力を裏付ける試験.....	4
2.6.2.2.1 PXB マウスを用いた HBV 感染モデルにおける PEG-IFN α -2a の抗 HBV 効果.....	4
2.6.2.3 副次的薬理試験.....	4
2.6.2.4 安全性薬理試験.....	4
2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験.....	4
2.6.2.6 考察及び結論.....	4
2.6.2.7 図表.....	5
2.6.2.8 参考文献.....	5

2.6.2 薬理試験の概要文

2.6.2.1 まとめ

B型肝炎ウイルス（HBV）感染モデルとして確立している HBV 感染 PXB マウスを用いてペグインターフェロン アルファ-2a（遺伝子組換え）（PEG-IFN α -2a）の抗 HBV 効果を検討し、以下の成績を得た。

HBV 感染 PXB マウスに30及び90 $\mu\text{g/kg}$ の PEG-IFN α -2a 又は生理食塩液を週に2回の頻度で2週間皮下投与し、経時的に血清中 HBV-DNA 濃度を測定した。

その結果、血清中 HBV-DNA 濃度は PEG-IFN α -2a の用量に応じて経時的に低下した。なお、試験期間中、PEG-IFN α -2a 投与動物の一般状態には薬物投与に起因すると考えられる特筆すべき変化はみられず、体重も対照群と同様に推移した。

以上の結果から、PEG-IFN α -2a には抗 HBV 効果のあることが確認された。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

2.6.2.2.1 PXB マウスを用いた HBV 感染モデルにおける PEG-IFN α -2a の抗 HBV 効果

（資料番号4.2.1.1-1）

HBV 感染 PXB マウス^{1),2)}（雄、投与開始時点で21～22週齢）を体重、血中ヒトアルブミン濃度、血清中 HBV-DNA 濃度の差が最少となるように3群に分けた。これらのマウスに対し、予備検討の結果に基づいて設定した用量（30及び90 $\mu\text{g/kg}$ ）の PEG-IFN α -2a 又は生理食塩液を週に2回の頻度で2週間（day 1, 4, 8及び11）皮下投与した。各投与日及び最終投与の4日後（day 1, 4, 8, 11及び15）に体重測定と一般状態観察を行うとともに、眼窩静脈叢より採血した末梢血から調製した血清を用いて血清中 HBV-DNA 濃度を測定することにより PEG-IFN α -2a の抗 HBV 効果を評価した。

生理食塩液を投与した対照群における血清中 HBV-DNA 濃度はプラトーに達しており、試験期間を通じて $3.1 \sim 3.7 \times 10^9$ copies/mL の間で一定に推移した。これに対し、PEG-IFN α -2a 投与群における血清中 HBV-DNA 濃度は用量に応じて経時的に低下し、day 15においては30 $\mu\text{g/kg}$ 投与群では 7.9×10^7 copies/mL、90 $\mu\text{g/kg}$ 投与群では 2.8×10^7 copies/mL であった（図 2.6.2.7-1）。また、試験期間を通じて PEG-IFN α -2a 投与動物の一般状態には薬物投与に起因すると思われる特筆すべき変化はみられず、体重も対照群と同様に推移した。

2.6.2.3 副次的薬理試験

該当なし。

2.6.2.4 安全性薬理試験

該当なし。

2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験

該当なし。

2.6.2.6 考察及び結論

今回、PEG-IFN α -2a の B 型慢性肝炎への適応を承認申請するに当たり、PEG-IFN α -2a の抗 HBV 効果を確認する非臨床薬理試験を実施した。

試験に用いた PXB マウスは、urokinase-type plasminogen activator の遺伝子を導入した SCID マウスにヒト肝細胞を移植することにより、その肝臓の70%以上がヒト肝細胞で構成されたマ

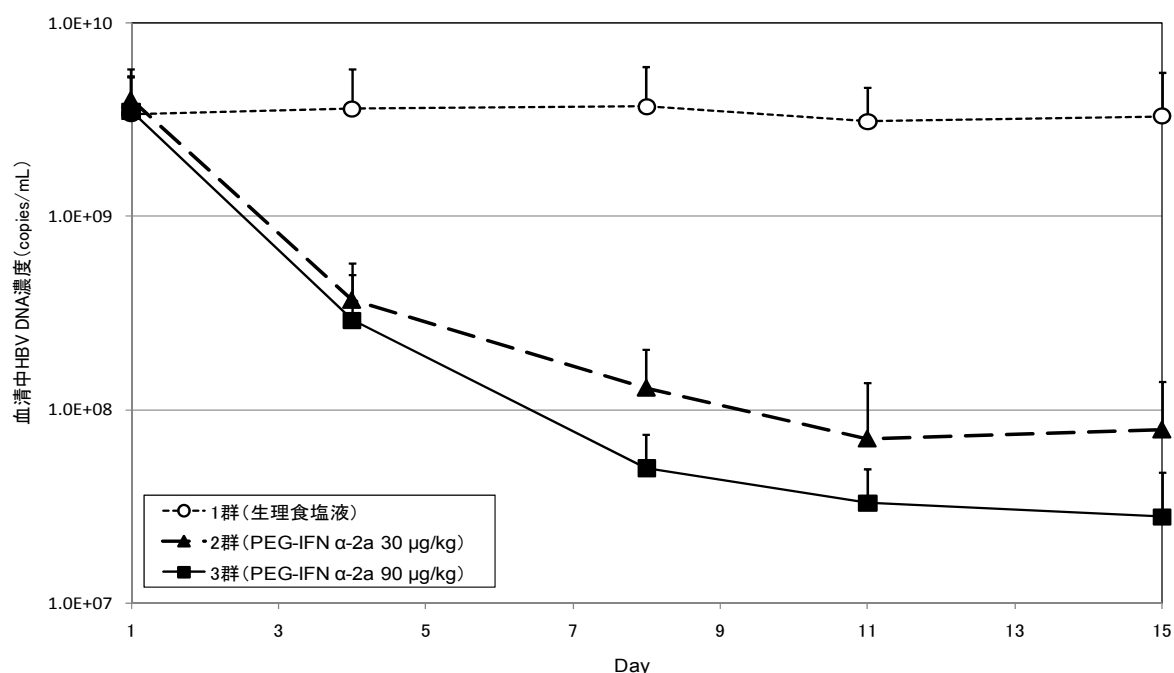
ウスである¹⁾。このマウスに HBV ウイルスを感染させることにより、ヒト肝細胞部分で HBV ウイルスの感染が成立するため²⁾、薬剤投与後の血清中 HBV-DNA 濃度を指標として、薬剤の抗 HBV 作用の有無を評価することが可能である。

HBV 感染 PXB マウスに PEG-IFN α -2a を投与した結果、血清中 HBV-DNA 濃度は用量に応じて経時的に低下し、day 15においては対照群と比較して30 μ g/kg 投与群では約1.6 log, 90 μ g/kg 投与群では2 log 以上の低下が認められた。また、試験期間中を通じて PEG-IFN α -2a 投与動物の一般状態には薬物投与に起因すると考えられる特筆すべき変化はみられず、体重も対照群と同様に推移した。

以上の結果から、PEG-IFN α -2a には抗 HBV 効果のあることが確認された。

2.6.2.7 図表

図 2.6.2.7-1 PEG-IFN α -2a の抗 HBV 効果



HBV 感染 PXB マウスに PEG-IFN α -2a (30及び90 μ g/kg) 又は生理食塩液を day 1, 4, 8及び11に皮下投与し、経時的に血中 HBV-DNA 濃度を測定した。各ポイントは5例の値の相乗平均 + 標準偏差を示す。

(4.2.1.1-1 Fig 3を再掲)

2.6.2.8 参考文献

- 1) Tateno C, Yoshizane Y, Saito N, Kataoka M, Utoh R, Yamasaki C, et al. Near completely humanized liver in mice shows human-type metabolic responses to drugs. *Am J Pathol* 2004;165:901-12.
- 2) Dandri M, Burda MR, Török E, Pollok JM, Iwanska A, Sommer G, et al. Repopulation of mouse liver with human hepatocytes and *in vivo* infection with hepatitis B virus. *Hepatology* 2001;33:981-8.

ペガシス皮下注90 μ g, ペガシス皮下注180 μ g
[ペグインターフェロン アルファ-2a (遺伝子組換え)]

[B 型慢性肝炎]

第2部 (モジュール2)

CTD の概要 (サマリー)

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.3 薬理試験概要表

中外製薬株式会社

略語一覧

略語	英名	和名
HBV	Hepatitis B virus	B 型肝炎ウイルス
PEG-IFN α -2a	PEG-interferon alpha-2a (genetical recombination)	ペグインターフェロン アルファ-2a (遺伝子組換え)

目次

	頁
2.6.3 薬理試験概要表	4
2.6.3.1 薬理試験一覧表	4
2.6.3.2 効力を裏付ける試験	5
2.6.3.3 副次的薬理試験	5
2.6.3.4 安全性薬理試験	5
2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験	6

2.6.3 薬理試験概要表

2.6.3.1 薬理試験一覧表

表 2.6.3.1-1 薬理試験一覧

被験物質：Peginterferon Alfa-2a (Genetical Recombination)

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	記載箇所（資料番号）
効力を裏付ける試験					
抗 HBV 効果	HBV 感染 PXB 雄マウス	皮下投与	株式会社フェニックスバイオ	PBC-HI09-033	4.2.1.1-1

2.6.3.2 効力を裏付ける試験

表 2.6.3.2-1 効力を裏付ける試験の概要

被験物質：Peginterferon Alfa-2a (Genetical Recombination)

試験の種類	試験系	試験方法／投与方法	結果	記載箇所 (試験番号)										
抗 HBV 効果	HBV 感染 PXB 雄マウス	PEG-IFN α -2a 0, 30及び90 $\mu\text{g/kg}$ を 週に2回の頻度で2週 間皮下投与	対照群における血清中 HBV-DNA 濃度は、試験期間を通じて $3.1\sim 3.7\times 10^9$ copies/mL の間で推移した。これに対し、PEG-IFN α -2a 投与群における血清中 HBV-DNA 濃度は用量に応じて経時的に低下した。最終投与の4日後（day 15）における血清中 HBV-DNA 濃度は以下のとおりとなり、PEG-IFN α -2a の抗 HBV 効果が確認された。	4.2.1.1-1 (PBC-HI09-033)										
			<table><tr><th rowspan="2">PEG-IFNα-2a 投 与量 ($\mu\text{g/kg}$)</th><th colspan="2">HBV-DNA 濃度 (copies/mL) *</th></tr><tr><th>day 1</th><th>day 15</th></tr><tr><td>0</td><td>3.4×10^9</td><td>3.3×10^9</td></tr><tr><td>30</td><td>4.0×10^9</td><td>7.9×10^7</td></tr><tr><td>90</td><td>3.5×10^9</td><td>2.8×10^7</td></tr></table>		PEG-IFN α -2a 投 与量 ($\mu\text{g/kg}$)	HBV-DNA 濃度 (copies/mL) *		day 1	day 15	0	3.4×10^9	3.3×10^9	30	4.0×10^9
PEG-IFN α -2a 投 与量 ($\mu\text{g/kg}$)	HBV-DNA 濃度 (copies/mL) *													
	day 1	day 15												
0	3.4×10^9	3.3×10^9												
30	4.0×10^9	7.9×10^7												
90	3.5×10^9	2.8×10^7												
*: 各データは、1群5匹の相乗平均を示す。														

2.6.3.3 副次的薬理試験

該当なし。

2.6.3.4 安全性薬理試験

該当なし。

2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験

該当なし。