ピリヴィジェン 10%点滴静注
5 g/50 mL、10 g/100 mL、20 g/200 mL

2.4　非臨床試験の概括評価

CSL ベーリング株式会社

目次

略語・略号一覧 3
非臨床試験で使用した IgG 製剤の一覧 4
2.4.　非臨床試験の概括評価 5
2.4.1.　非臨床試験計画概略 5
2.4.2.　薬理試験 11
2.4.2.1.　効力を裏付ける試験 11
2.4.2.1.1.　実験的アレルギー性脳脊髄炎に対する効果 11
2.4.2.1.2.　結論 12
2.4.2.2.　副次的薬理試験 12
2.4.2.3.　安全性薬理試験 12
2.4.2.3.1.　IgPro10 を用いた安全性薬理試験 12
2.4.2.3.2.　静脈注射用人免疫グロブリン製剤の安全性薬理試験（文献情報） 13
2.4.2.3.3.　結論 13
2.4.2.4.　薬力学的薬物相互作用試験 14
2.4.3.　薬物動態試験 14
2.4.3.1.　分析法 14
2.4.3.2.　吸収 15
2.4.3.3.　分布、代謝及び排泄 15
2.4.3.4.　胎盤通過及び乳汁移行 15
2.4.3.5.　結論 16
2.4.4.　毒性試験 16
2.4.4.1.　単回及び反復投与毒性試験 16
2.4.4.2.　遺伝毒性試験 17
2.4.4.3.　がん原性試験 17
2.4.4.4.　生殖発生毒性試験 17
2.4.4.5.　局所刺激性試験 17
2.4.4.5.1.　結論 18
2.4.4.6.　その他の毒性試験 18
2.4.4.6.1.　不純物 18
2.4.4.6.2.　L-プロリンの非臨床試験 19
2.4.4.7.　環境毒性 27
2.4.5.　総括及び結論 27
2.4.6.　参考文献一覧 31

略語・略号一覧

略語・略号	英語	日本語
ACA	Anticomplementary activity	抗補体活性
AUC	Area Under the Curve	血中濃度-時間曲線下面積
CIDP	Chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy	慢性炎症性脱髄性多発根神経炎
CRO	Contract Research Organization	開発業務受託機関
CSLB	CSL Behring AG, Bern, called ZLB Behring AG before 2007 or ZLB Bioplasma AG before summer 2004	CSL Behring AG, Bern（2007 年以前は ZLB Behring AG、2004 年夏以前は ZLB Bioplasma AG）
EAE	Experimental allergic encephalomyelitis	実験的アレルギー性脳脊髄炎
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay	固相酵素免疫測定法
Fab	Antigen binding fragment of the immunoglobulin molecule	免疫グロブリン分子中の抗原結合部位
Fc	Crystallizable fragment of the immunoglobulin molecule	免疫グロブリン分子中の結晶化可能部位
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
ICH	International Conference on Harmonisation (of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use)	医薬品規制調和国際会議
ITP	Immune thrombocytopenic purpura	免疫性血小板減少性紫斑病
IgG	Immunoglobulin G	免疫グロブリン G
IVIG	Immunoglobulin for intravenous administration	静脈注射用人免疫グロブリン
SCIG	Immunoglobulin for subcutanous administration	皮下投与用免疫グロブリン
SOP	Standard Operating Procedure	標準操作手順書

非臨床試験で使用した IgG 製剤の一覧

製剤	形態	IgG 濃度	L-プロリン	pH	臨床適用経路	販売状況	備考
IgPro10	液状製剤	10%	+	4.8	静脈内投与	海外で販売（販売名：Privigen）	治験薬
IgPro20	液状製剤	20%	+	4.8	皮下投与	本邦（販売名：ハイゼントラ 20%皮下注[*1]）及び海外（販売名：Hizentra）で販売	
サングロポール[*2]（Sandoglobulin）	凍結乾燥製剤	5%	−	6.6	静脈内投与	本邦（販売名：サングロポール）及び海外（販売名：Sandoglobulin）で販売	
Beriglobin P	液状製剤	16%	−	6.8	筋肉内投与 皮下投与	海外で販売（販売名：Beriglobin）	
[redacted]	液状製剤	[redacted]%	+	4.8	皮下投与	[redacted]	
[redacted]	液状製剤	[redacted]%	+	4.8	皮下投与	[redacted]	
Sandoglobulin Liquid	液状製剤	12%	+	5.3	静脈内投与	海外で販売（販売名：Sandoglobulin Liquid）	

*1 ハイゼントラ 20%皮下注 1 g/5 mL、2 g/10 mL、4 g/20 mL（承認番号：22500AMX01830000、22500AMX01831000 及び 22500AMX01832000）
*2 サングロポール点滴静注用 2.5 g（承認番号：22000AMI00003000）

2.4. 非臨床試験の概括評価

2.4.1. 非臨床試験計画概略

IgPro10 の適応症は、慢性炎症性脱髄性多発根神経炎（CIDP）である。CIDP は、病因として自己免疫の関与が想定されている後天性脱髄性神経疾患であり、慢性又は再発性の経過を特徴とし、主として 2 肢以上の手足の対称性運動あるいは感覚に関する徴候及び症状が 2 ヵ月以上にわたって進行する。

ヒト免疫グロブリンは生体内に存在するタンパク質であり、CSL ベーリング（CSLB）社など数社の製造業者によって高度に精製された免疫グロブリン G（IgG）が長年にわたって医薬品として販売されており、その安全性及び忍容性は十分に確立されている。

表 2.4-1　IgPro10 の組成

構成成分	機能	成分含量
ヒト免疫グロブリン G（IgG）	有効成分	100 g/L
L-プロリン	安定化剤	28.8 g/L （250 mmol/L）

人免疫グロブリン製剤は免疫学的活性を有し、外来物反応性抗体を含むため（McMorrow et al. 1997；Tomlinson et al. 1997；Watier et al. 1996）、人免疫グロブリン製剤を動物モデルで試験することには限界がある。ICH ガイドライン［ICH S6 (R1)：バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価］は血漿分画製剤も対象となるが、本ガイドラインでは「臨床的に広く使用されている医薬品と構造的及び薬理学的に同等であるバイオ医薬品の場合、毒性試験を簡略化してもよいことがある」と記載されている。

したがって、CSLB 社は、IgPro10 については標準的な非臨床試験のすべてを実施するのではなく、また、安定化剤として使用している L-プロリンに焦点を当てた非臨床試験を実施することが妥当であると判断した。ただし、IgPro10 については、本製剤の機能（*in vitro* における Fab 及び Fc 機能）及びラット実験的アレルギー性脳脊髄炎（EAE）モデルに対する *in vivo* 効果を検討し、また、ウサギを用いた局所刺激性試験を実施した。GLP 適用下で実施した IgPro10 のウサギを用いた局所刺激性試験（表 2.6.7-5、試験番号 143.143.482 及び表 2.6.7-6、試験番号 143.143.552）では、臨床試験（試験番号 ZLB03_003CR、Hagan et al. 2012）で使用したロットと同一ロットの IgPro10 を用いた。加えて、ラットを用いた血圧への影響を検討し（表 2.6.3-3、試験番号 HYR 01/06）、ラット反復投与薬物動態試験も実施した（表 2.6.5-2、試験番号 PSR 02/06）。表 2.4-2 に IgPro10 の非臨床試験の概略を示す。Fab 機能及び Fc 機能に関する試験結果は [redacted] に示す。

表 2.4-2　IgPro10 を使用した非臨床試験

試験の種類 及び試験番号	動物種	投与期間	投与方法	被験物質	投与量	GLP 適用の有無
効力を裏付ける試験 EAR 03/06	ラット	5 日	反復静脈内投与 反復皮下投与	IgPro10 IgPro20* 生理食塩液	100, 200, 400 mg/kg	非適用
安全性薬理試験 HYR 01/06	ラット	1 日	単回 ボーラス静脈内投与	IgPro10 IgPro20* Sandoglobulin Liquid 生理食塩液	250 mg/kg	非適用
反復投与後の吸収 PSR 02/06	ラット	5 日	反復静脈内投与 反復皮下投与	IgPro10 IgPro20*	100, 400 mg/kg	非適用
局所刺激性試験 143.143.482	ウサギ	8 日（観察期間）	初日に単回投与、静脈内、静脈周囲及び動脈内投与	IgPro10	ヒト IgG：51.25 mg L-プロリン： 14.4 mg	適用
局所刺激性試験 143.143.552	ウサギ	4 日（観察期間）	単回皮下、 皮下持続投与	IgPro10 [redacted]* * IgPro20* Beriglobin P L-プロリン溶液 （250 mmol/L, pH 4.8）	最大 2.5 mL/kg （ヒト IgG： 250 mg/kg, L-プロリン： 72 mg/kg）	適用

* [redacted]、[redacted] 及び IgPro20 は、IgG 濃度がそれぞれ [redacted]、[redacted] 及び 20%であることを除き、IgPro10 と同等である。

IgPro10 製剤の唯一の添加物である L-プロリンは安定化剤として使用され、IgPro10 製剤中の L-プロリン濃度は 250 mmol/L（28.8 g/L）である。L-プロリンは溶液中の IgG を安定化させ、IgG 二量体の生成を抑制する（[redacted]）。L-プロリンによる IgG 二量体の生成抑制作用は、IgG 製剤の安定化剤として一般的に使用されているグリシンより優れていることが証明されている。IgG 二量体は、ヒトにおいて一過性の有害事象を引き起こし、炎症性サイトカインの産生を誘導することが知られている（Spycher et al. 1999）。

L-プロリンは、非経口栄養剤の有効成分及びハイゼントラの安定化剤として既に承認されている。また、L-プロリンは、CSLB 社が上市した静脈注射用人免疫グロブリン（IVIG）液状製剤の Sandoglobulin Liquid に含有される 3 添加物のうちの一つであり、最高 115 mg/kg まで静脈内投与される。しかし、IgPro10 製剤では、L-プロリンはこれまでの IgG 製剤の使用前例よりも高い用量で投与される。

L-プロリンは非必須アミノ酸であり、タンパク質、コラーゲン及び正常食の一部としてよく目にするアミノ酸であり、食品に含まれる L-プロリンの 1 日摂取量は約 5.2 g である（Proline 2005）。

また、L-プロリンは小児適用の非経口栄養剤に使用されている一つのアミノ酸である（例：プレアミン-P 注射液、扶桑薬品工業株式会社。L-プロリンは最高 216 mg/kg まで小児に連日静脈内投与される）。他の静脈内投与の栄養液剤では、L-プロリンを同様に 1 日当たり約 300 mg/kg の用量で数ヵ月間投与した結果、良好な忍容性が認められている。

また、CSLB 社が実施した臨床試験では、L-プロリンは CIDP 患者に 1 日当たり最高 288 mg/kg まで投与された。

IgPro10 の静脈内投与経路などの予定される使用条件下で、L-プロリンのヒト曝露に関する情報は多く、一連の毒性試験をすべて実施しなくても妥当であると CSLB 社は考えた。

CSLB 社は IgPro10 の開発中及び IVIG 液状製剤の開発初期に実施した数種類の非臨床試験（L-プロリンを高用量で投与した場合の影響を評価するため、反復静脈内投与毒性試験、胚・胎児発生に関する静脈内投与試験、神経毒性試験及び幼若動物試験）で L-プロリンの安全性を評価した（表 2.4-3）。

表 2.4-3　L-プロリンを使用した非臨床試験

試験の種類 及び試験番号	動物種	投与期間	投与方法	被験物質	投与量	GLP 適用の有無
反復投与毒性試験 4.2.3.7.7.1 925/034	ラット	5 日	静脈内投与 7 時間／日	L-プロリン グリシン	L-プロリン：最大 1449 mg/kg/day グリシン：最大 945 mg/kg/day	非適用
反復投与毒性試験 4.2.3.7.7.2 925/035	ラット	28 日	静脈内投与 7 時間／日	L-プロリン グリシン	L-プロリン：最大 1449 mg/kg/day グリシン：最大 945 mg/kg/day	適用
反復投与毒性試験 4.2.3.7.7.3 668316	イヌ	7 日	静脈内投与 7 時間／日	L-プロリン	最大 4350 mg/kg/day	非適用
反復投与毒性試験 4.2.3.7.7.4 668321	イヌ	28 日	静脈内投与 7 時間／日	L-プロリン	最大 4350 mg/kg/day	適用
生殖発生毒性試験（胚・胎児毒性試験） 4.2.3.7.7.9 AA30034	ラット	妊娠 6～17 日	静脈内投与 7 時間／日	L-プロリン グリシン	L-プロリン： 1449 mg/kg/day グリシン： 945 mg/kg/day	適用
神経毒性試験 （Irwin 試験） 4.2.3.7.7.10 1657/ZLB/02	ラット	5 日	静脈内投与 7 時間／日（初日から 4 日目まで） 約 3 時間（5 日目）	L-プロリン グリシン	L-プロリン：最大 1449 mg/kg/day グリシン：最大 945 mg/kg/day	適用
神経毒性及び探索的薬物動態試験 4.2.3.7.7.11 PSR 08/06	ラット	単回投与	皮下投与 腹腔内投与	L-プロリン	皮下投与：2 g/kg 腹腔内投与：最大 4 g/kg	非適用
幼若動物における神経毒性及び薬物動態試験 4.2.3.7.7.12 PSR 03/07	ラット	単回投与	皮下投与	L-プロリン グリシン	L-プロリン：1.9 g/kg グリシン：1.2 g/kg	非適用

試験の種類 及び試験番号	動物種	投与期間	投与方法	被験物質	投与量	GLP 適用の有無
幼若動物における神経毒性試験 （Irwin type 試験） 4.2.3.7.7.13 PSR 01/07	ラット	5 日（生後 9～13 日）又は 3 日（生後 9、16 及び 23 日）	皮下投与（1 日 2 回）	L-プロリン グリシン	L-プロリン：最大 2×2.0 g/kg/day グリシン：最大 2×1.3 g/kg/day	非適用
幼若動物における神経毒性試験（水迷路試験） 4.2.3.7.7.13、PSR 01/07 及び 4.2.3.7.7.14、ZLB 06_006	ラット	5 日（生後 9～13 日）又は 3 日（生後 9、16 及び 23 日）	皮下投与（1 日 2 回）	L-プロリン グリシン	L-プロリン：最大 2×2.0 g/kg/day グリシン：最大 2×1.3 g/kg/day	非適用

CSLB 社は、ヨーロッパで販売された Sandoglobulin Liquid に、L-プロリンなどの 3 種類の添加物が含まれる混合添加物（以下、添加物 8 と略す）を使用したため、数種のアミノ酸及びニコチンアミドを含む混合添加剤の毒性試験を追加実施した。L-プロリンの遺伝毒性試験データは、混合添加物（添加物 8：L-プロリン 120 mmol/L、L-イソロイシン [redacted] mmol/L、ニコチンアミド [redacted] mmol/L）について検討した試験により得た。これら 3 種類の添加剤の代謝は既知であり、添加物間の相互作用が低いことを考慮すると、これらの試験データは L-プロリンを単一の添加物として試験したものと同様と考えられる。また、文献データはこれらの試験成績を裏付けている。

表 2.4-4　L-プロリンの遺伝毒性試験

試験の種類 及び試験番号	動物種／試験系	投与期間	投与方法	投与量	GLP 適用の有無
変異原性試験 4.2.3.7.7.5 22196	Ames	–	–	L-プロリン：最大 69 µg/plate	適用
変異原性試験 4.2.3.7.7.6 49196	Ames	–	–	L-プロリン：最大 6900 µg/plate	適用
遺伝毒性試験 4.2.3.7.7.7 CLE1554/3-D5140	チャイニーズハムスター卵巣（CHO）培養細胞における染色体異常	–	–	L-プロリン：最大 14.22 mmol/L	適用
遺伝毒性試験 4.2.3.7.7.8 CLE1554/4-D5140	マウス骨髄における小核誘発	5 日	静脈内投与	L-プロリン：最大 276 mg/kg/day	適用

L-プロリンはニコチンアミド及び L-イソロイシンとの混合物（添加物 8：L-プロリン 120 mmol/L、L-イソロイシン [redacted] mmol/L、ニコチンアミド [redacted] mmol/L、pH [redacted]）として評価した。

非臨床試験で使用した L-プロリン、並びに IgPro10 及び Sandoglobulin Liquid の製剤中の L-プロリンは、同一の製造会社で同一の品質で製造されており、アメリカ薬局方及びヨーロッパ薬局方の品質要件を満たしていた。L-プロリンの非臨床安全性評価のための適切な動物種として、げっ歯類はラット、非げっ歯類はイヌを使用しており、その理由は、L-プロリンがこれらの動物及びヒトで質的及び量的に同様な薬物動態を示すことであった。

添加物の毒性及び薬物動態に関する試験プログラムには重要な毒性学的及び薬物動態学的エンドポイントが盛り込まれており、発達中の脳への影響に関する公表文献の新規情報についても考察した。すべての非臨床試験は、IgPro10 のリスク評価のために科学的妥当性をもって実施された。

L-プロリンの薬理学的特性及び神経発達への影響を含む毒性学的特性に関する文献検索を十分に行ったが、これらの試験で使用した L-プロリンの品質に関する情報は完全ではなく、また、設定された試験条件は IgPro10 のヒトへの投与方法に適応するには十分でない可能性が考えられた。

標準的な非臨床試験を実施していない理由

IgPro10 の非臨床試験のうち、副次的薬理試験、安全性薬理試験（血圧に対する影響の検討試験を除く）、分布、代謝及び排泄に関する試験、単回及び反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、がん原性試験、生殖発生毒性試験、並びに幼若動物を用いる試験について、これらを実施していない理由を表 2.4-5 に示す。

表 2.4-5　標準的な非臨床試験を実施していない理由

非臨床試験	非臨床試験を実施していない理由
薬理試験	
副次的薬理試験	人免疫グロブリン製剤は外来物反応性抗体を含むため、ヒトに外挿できない作用が動物で誘発される可能性があることから、人免疫グロブリン製剤を動物モデルで試験することには限界がある。免疫グロブリン製剤は長い臨床使用経験から、その安全性及び有効性が十分に確立されている。
安全性薬理試験（血圧に対する影響の検討試験を除く）	人免疫グロブリン製剤は外来物反応性抗体を含むため、ヒトに外挿できない作用が動物で誘発される可能性があることから、人免疫グロブリン製剤を動物モデルで試験することには限界がある。免疫グロブリン製剤は長い臨床使用経験から、その安全性及び有効性が十分に確立されている。 IgPro10 に類似した高度精製 10%IVIG 製剤では、ラット、モルモット、ウサギ又はイヌを用いた安全性薬理試験において、心血管系、呼吸器系及び血栓／凝固系に対して懸念すべき所見を示さなかったと報告されている（Teschner et al. 2007）。
薬物動態試験	
分布	ヒト IgG の動物での体内分布は、ヒトでの分布とは類似しないと考えられる。
代謝	代謝経路が明らかにされている天然の内因性物質についての *in vitro* 代謝データは必要とされていない。 人免疫グロブリン製剤は外来物反応性抗体を含むため、ヒト IgG の動物モデルにおける *in vivo* 代謝プロファイルはヒトと異なると予測される。

非臨床試験	非臨床試験を実施していない理由
排泄	人免疫グロブリン製剤は外来物反応性抗体を含むため、ヒト IgG の動物モデルにおける排泄はヒトにおける排泄とは同様ではないことが予測され、また、ヒト IgG の薬理効果や安全性に関する評価において排泄に関連する懸念すべきデータは得られていないことから、試験は実施しなかった。ヒト IgG の乳汁移行性については、臨床的に十分検討されていることから、ヒトの公表文献に基づいて評価した。
毒性試験	
単回投与毒性試験	単回投与毒性試験は医薬品開発の初期で、用量反応性に関する有用な情報を提供する可能性はある。しかし、人免疫グロブリン製剤は免疫学的活性を有し、外来物反応性抗体を含むため（McMorrow et al. 1997；Tomlinson et al. 1997；Watier et al. 1996）、ヒトに外挿できない作用が動物で誘発される可能性があることから、人免疫グロブリン製剤を動物モデルで試験することには限界がある。そのため、IgPro10 の単回投与毒性試験を実施しなかった。
反復投与毒性試験	人免疫グロブリン製剤は免疫学的活性を有し、外来物反応性抗体を含むため（McMorrow et al. 1997；Tomlinson et al. 1997；Watier et al. 1996）、ヒトに外挿できない作用が動物で誘発される可能性があることから、人免疫グロブリン製剤を動物モデルで試験することには限界がある。ヒト IgG を動物に投与すると、抗ヒト IgG 抗体が産生されるため、血清中ヒト IgG 濃度を高値に上昇させることは難しく、たとえ静脈内反復投与毒性試験が実施できたとしても、動物での IgPro10 の曝露量がヒトでの曝露量を上回る可能性は低い。加えて、海外の臨床試験及び市販後の情報より、本剤の安全性について特段の懸念はないと考えられる。これらすべての理由より、IgPro10 の反復投与毒性試験を実施しなかった。
遺伝毒性試験	ヒト IgG のような免疫グロブリンは細胞内の DNA 及び染色体に直接影響を及ぼさないため、そのような高分子の遺伝毒性試験を実施することは適切ではないと考えられた。
がん原性試験	IgG 分子は内因性物質であり、ヒト IgG の反復投与は異種動物で免疫反応を引き起こすと考えられるため、IgPro10 に含まれる IgG 分子のがん原性試験を実施することは適切ではない。IgPro10 は CIDP 患者に高用量で投与されるが、IgPro10 に含まれる IgG 分子は内因性物質であり、高用量の IgG は抗炎症作用を示すことが知られているため、IgG の生理学的レベルを超える曝露量で細胞増殖及び腫瘍発生を引き起こすとは考えられない。さらに、IVIG 製剤のうち献血グロベニン-I（乾燥ポリエチレングリコール処理人免疫グロブリン）及びガンマガード（乾燥イオン交換樹脂処理人免疫グロブリン）の長期毒性試験において腫瘍発生を示唆するような所見は認められなかった。これらのエビデンスから、科学的根拠の重要度（weight of evidence）によるアプローチに基づきヒトでの発がんリスクが低いことは十分に担保されるため、ICH S6 (R1)ガイドラインに従い、新たに非臨床試験を実施する必要はないと考えられる。また、動物での IgPro10 の曝露量がヒトでの曝露量を上回る可能性は低く、動物を用いてがん原性試験を実施する意義は低いと考えられる。

非臨床試験	非臨床試験を実施していない理由
生殖発生毒性試験	サングロポール（Sandoglobulin Liquid の先行製剤）を投与量 62.5、125 及び 250 mg/kg でラットの妊娠前及び妊娠初期、器官形成期並びに周産期及び授乳期に、サングロポールを投与量 62.5、125 及び 250 mg/kg でウサギの器官形成期に静脈内投与しても妊娠率、分娩、胎児及び新生児に対する影響はみられなかった。 サングロポールの試験結果より、ヒト IgG は生殖発生に悪影響を及ぼさないと推察された。また、動物試験の実施に際しては、IgPro10 の外来物反応性抗体及び免疫原性の影響を考慮すべきであり、動物での IgPro10 の曝露量がヒトでの曝露量を上回らず低くなると予測される。これらのことから、IgPro10 の生殖発生毒性試験を実施しなかった。
幼若動物を用いる試験	IgPro10 に含まれる IgG は市販されている IVIG 製剤として、長年、小児に使用されてきた。加えて、CSLB 社が実施した IgPro10 の海外臨床試験では、参入した小児患者に安全性に関する懸念は認められなかった。したがって、幼若動物を用いる非臨床試験は実施していない。

2.4.2. 薬理試験

免疫グロブリン製剤は長い臨床使用経験から、その安全性及び有効性が十分に確立されている。そのため、IgPro10 の機能を検討するための *in vitro* 試験に加えて、IgPro10 の期待される治療効果を示す 1 つの動物試験（ラット EAE モデル）及びラットにおける降圧作用を検討した 1 つの安全性薬理試験のみを実施した。血漿分画製剤に関しては、このような評価手順が関連するガイドライン（ICH S6）によって認められている。

2.4.2.1.　効力を裏付ける試験

IgPro10 の有効成分は、ヒトの正常な多価免疫グロブリン G（IgG）である。IgPro10 の製造工程において、IgG 分子は正常な構造及び機能を保持している。

効力を裏付ける *in vitro* 試験により、IgPro10 の正常な Fab 機能及び Fc 機能が示された（[redacted]）。

これには、[redacted] 種類の抗体の特異性（Fab 機能）を検討する試験、及び [redacted] 種類の Fc 機能を検討する試験（[redacted]）を用いた。

2.4.2.1.1.　実験的アレルギー性脳脊髄炎に対する効果

ラット EAE の転帰に及ぼす IgPro10 及び IgPro20 の効果を評価した（表 2.6.3-2、試験番号 EAR 03/06）。Day 0 にモルモット脊髄凍結乾燥品を完全 Freund アジュバントとともに皮下注射し、さらに百日咳毒素を静脈内注射することによってラット EAE を惹起した。体重 173～215 g の 8～10 週齢 Lewis 系雌ラット 70 例を各群 10 例、7 群に分けた。IgPro10（静脈内投与）及び IgPro20（皮下投与）を 100、200 又は 400 mg/kg の投与量で 1 日 1 回、5 日間連日（Day 1～Day 5）投

与した。プラセボ対照として生理食塩液を使用した。すべてのラットの中枢神経系障害の徴候を 35 日間にわたって毎日観察し、症状をスコア付けした。

すべての IgG 投与群において、スコア合計値はプラセボ投与群より低値を示した。また、IgG 投与群では症状発現までの時間が延長した。IgPro10 及び IgPro20 は、EAE の症状を軽減させ、死亡率を低下させた。

2.4.2.1.2.　結論

In vitro 試験により、IgPro10 に含有されている IgG は生物学機能を発揮する正常な Fab 及び Fc 領域を保持していることが証明された。EAE モデルに対し IgPro10 が有効性を示したこと、及び CIDP に対して数種類の既承認の IVIG 製剤が臨床的効果を示していることから、CIDP に対する IgPro10 の臨床的効果が期待された。

2.4.2.2.　副次的薬理試験

該当試験なし

2.4.2.3.　安全性薬理試験

2.4.2.3.1.　IgPro10 を用いた安全性薬理試験

Bleeker ら（Bleeker et al. 1987）の方法に従い、IgPro10（1 ロット）、IgPro20（ハイゼントラ；2 ロット）、Sandoglobulin Liquid 及び生理食塩液を被験物質として、ラットの平均動脈圧の最小値、収縮期及び拡張期動脈圧、並びにそれらの最小値に到達するまでの時間に及ぼす影響を評価した（表 2.6.3-3、試験番号 HYR 01/06）。体重 216～303 g の 6～8 週齢 CD 系雌ラット 24 例を 1 群 4 又は 5 例、5 群に分け、IgPro10（投与容量 2.5 mL/kg）、Sandoglobulin Liquid（投与容量 2.08 mL/kg）及び IgPro20（2 ロット；投与容量 1.25 mL/kg）を、それぞれ IgG として 250 mg/kg の投与量でボーラス静脈内投与した。対照群の 4 例には生理食塩液 2.0 mL/kg をボーラス静脈内投与した。

陽性対照の Sandoglobulin Liquid 投与群では生理食塩液対照群の約 70%の平均動脈圧を示し、血圧が中等度に低下した。IgPro10 投与群及び 1 ロットの IgPro20 投与群では同程度に血圧が低下し、Sandoglobulin Liquid との差異はないと考えられた。別ロットの IgPro20 投与群ではそれより僅かに強い血圧低下がみられたが、本モデルの変動の範囲内であった。注目すべき変化として、生理食塩液、IgPro10 及び Sandoglobulin Liquid 投与群で投与直後に一過性の血圧上昇が観察された。この影響は IgPro10（投与容量 2.5 mL/kg）で最大、Sandoglobulin Liquid（投与容量 2.08 mL/kg）及び生理食塩液（投与容量 2.0 mL/kg）で中程度であり、IgPro20（投与容量 1.25 mL/kg）では認められなかった。この一過性の血圧上昇は、投与容量によって説明可能であった。

2.4.2.3.2. 静脈注射用人免疫グロブリン製剤の安全性薬理試験（文献情報）

10%IVIG の開発製剤 3 ロットについて、安全性薬理パラメータを主として市販の IVIG 製剤である Gammagard SD と比較した（Teschner et al. 2007）。

麻酔下の自然発症高血圧ラットに、10%IVIG の開発製剤及び Gammagard SD をいずれも 1 g/kg の投与量でボーラス動脈内投与し、血圧への影響を検討した。開発製剤で惹起された血圧低下は、市販の IVIG 製剤と同程度であった。本ラットモデルでの血圧低下はアナフィラキシー様反応の指標として使用されたが、アナフィラキシー様反応の陽性回数は投与群間で差がみられなかった。アナフィラキシー様反応は結果として肺膨張圧を上昇させるが、そのようなアナフィラキシー様反応誘発物質に対する感受性が知られているモルモットを用いて、気管支攣縮を検討した。アナフィラキシー様反応陽性を 30%以上の肺膨張圧上昇が 1 分以上持続する場合と定義し、陽性回数を測定した。10%IVIG の開発製剤投与後にそのような反応は観察されなかった。ウサギに異なるロットの 10%IVIG の開発製剤 500 mg/kg、陰性対照物質及び陽性対照物質を投与し、血栓形成を半定量的スコア化により評価した。10%IVIG の開発製剤を投与されたウサギでは、2 を超すスコア（数個の中型血栓又は多数の小型血栓）を示さず、本製剤が血栓形成を誘発するリスクは低いと考えられた。

また、10%IVIG の開発製剤について、呼吸器パラメータを含む生命維持に必要な機能に対する影響をイヌで検討した。呼吸機能は（並びに同時に検討した心血管機能及び播種性血管内凝固についても）2 製剤間で差がないと結論づけられた。

2.4.2.3.3. 結論

血圧への影響に関して IgPro10 は良好な忍容性を示した。IgPro10 により惹起された血圧低下は中等度であり、欧州で以前市販されていた Sandoglobulin Liquid と同程度であった。投与直後の一過性の血圧上昇は IgPro10 で最大であったが、この影響は投与容量（IgPro10 の場合、2.5 mL/kg）で説明可能である。公表されている安全性薬理試験により、10%IVIG の開発製剤は非臨床モデルにおいて市販製剤と比較して優れた安全性プロファイルを有することが示されており、これは IVIG 製剤の確立された安全性プロファイルを裏付けるものである（2.6.2.4.2.2）。

文献において、IVIG 製剤によるラット血圧低下は製剤中の IgG 二量体含量に依存しており、ラットでの血圧低下度はヒトでの有害事象の発現頻度とも相関することが示された（2.6.2.4.2.1）。これに基づき、IgPro10 中の [redacted] の濃度は、重要な限界濃度である [redacted] に設定した（[redacted]）。

IVIG 製剤への XIa 因子の混入は血栓形成の副作用の危険性があるため、公表文献において安全性の問題として論じられている（Wolberg et al. 2000）。IgPro10 中の 不純物G*の濃度は、血漿中の [redacted] の生理的濃度の [redacted]%未満である（Blutgerinnung, Wiss. Tabellen Geigy 1979）。

不純物E*　、不純物F*、プレカリクレインアクチベーター等の他の凝固因子の濃度は検出限界濃度付近又はそれ以下である（[redacted]）。したがって、IgPro10 への凝固因子の混入による

＊新薬承認情報提供時に置換

血栓形成の可能性は極めて低い。また、IgPro10 の粘度（[redacted] mPas）は、市販の IVIG 製剤（4～5 mPas）より低い。

IVIG 製剤は長い臨床使用経験からその安全性及び有効性が十分に確立されていること、及び IgPro10 が高純度であることから、ICH S7A に基づく安全性薬理コアバッテリー試験を上記以外にさらに実施する必要はないと判断した。

2.4.2.4.　薬力学的薬物相互作用試験

人免疫グロブリン製剤は、生ワクチンの効果を減弱させるおそれがあることが既に知られており、「相互作用（併用注意）」として、IVIG 製剤の添付文書に記載されている。

添付文書の「適用上の注意」には、人免疫グロブリン製剤は調製時に他の製剤との混注は避けること、と記載されている。

L-プロリンは、IgG の完全性及び全機能に影響を与えることなく、イディオタイプ－抗イディオタイプ抗体の単量体－二量体平衡を単量体優位の方向に変化させる（[redacted]）。非必須アミノ酸の L-プロリンは常に血液中に存在しており、栄養輸液製剤の成分として高用量が投与されてきた。L-プロリンと他の薬剤との薬力学的相互作用に関する文献報告はなく、L-プロリンの生体内変化の経路から判断して、IgPro10 投与時の用量では相互作用の可能性は予測されない。

IgPro10 は高純度であり安定性も高いことから、不純物に関連した薬力学的又は薬物動態的相互作用は予測されない（[redacted]）。

製造工程に関連する不純物（　　不純物**Q***　　、カプリル酸及びエタノール）は、IVIG 製剤及びその他の製剤の製造工程で混入する既知の不純物である。IgPro10 の製造工程において、これらの不純物は正確な分析法の検出限界値以下にまで低減される。そのため、IgPro10 中の残留エタノール濃度は、医薬品の残留溶媒に関する ICH ガイドライン Q3C (R3)のクラス 3 物質について規定されている濃度よりはるかに低値である。カプリル酸はヒトアルブミン製剤の添加物として IgPro10 中の濃度よりはるかに高濃度で使用されており、また、　　不純物**Q***　　は他の市販の IVIG 製剤では IgPro10 より高濃度で使用されている（[redacted]）。

したがって、CSLB 社は、IgPro10、添加物の L-プロリン又は IgPro10 に含有されている不純物の薬力学的薬物相互作用試験を実施しないことは妥当であると判断した。

2.4.3. 薬物動態試験

2.4.3.1.　分析法

ラット血漿サンプル中のヒト IgG は、CSLB 社内の測定法、すなわち、ヒト IgG に特異的な固相酵素免疫測定法（ELISA）により測定した（SOP FRM0010D；4.2.2.1.1、Verification Report 05016.10.AVT.001_01）。

＊新薬承認情報提供時に置換

サンプルは 1%ウサギ血清を含有する緩衝液で希釈し、あらかじめウサギ抗ヒト IgG ポリクローナル抗体でコーティングしたマイクロプレート上でインキュベートした。マイクロプレートの各ウェルにホースラディッシュペルオキシダーゼ標識ウサギ抗ヒト IgG 抗体を添加し、さらにペルオキシダーゼ基質を加えることにより、ヒト IgG を検出した。各アッセイで市販のヒト IgG 標準品及びコントロール試料を用いて作成した標準曲線より、ヒト IgG を定量した。本定量法による定量限界濃度は 0.44 mg/L であった。

2.4.3.2.　吸収

ヒト IgG のヒトにおける薬物動態はよく知られており、例えば、天然の IgG の消失半減期は約 3 週間である（Morell 1997）。IgPro10 の薬物動態は臨床試験において評価され、内因性の IgG から予想されるとおりの結果であり、他の IVIG 製剤の薬物動態と類似していた（2.5）。さらに、人免疫グロブリン製剤は外来物反応性抗体を常に含んでいるため、ヒトに外挿できない作用が動物で誘発される可能性があることから、ヒト IgG の薬物動態データを動物において適切に評価することはできない（2.6.4.1）。しかしながら、CSLB 社は、ラットにおけるバイオアベイラビリティ評価試験において、IgPro10 の薬物動態に関するデータを有している（2.6.4.3.2、PSR 02/06）。IgPro10 の 100 又は 400 mg/kg をラットに 1 日 1 回、5 日間反復静脈内投与したときの、α 相半減期はそれぞれ 12.8 及び 13.6 時間、β 相（終末相）半減期はそれぞれ 10.23 及び 7.62 日であった。血中濃度-時間曲線下面積（AUC）は投与量の増加に伴い上昇したが、期待された程度までは増加しなかった。両投与量における消失速度は類似していた。

2.4.3.3.　分布、代謝及び排泄

IgPro10 に含まれるヒト IgG の分布、代謝及び排泄に関するデータは、上記に示したとおりヒトにおける結果とは同様ではないことが予測されたため、動物では得られていない。

2.4.3.4.　胎盤通過及び乳汁移行

IgPro10 に含まれる IgG の胎盤通過及び乳汁移行については、ヒトの公表文献に基づいて評価した。胎生期に胎盤を通過して胎児に移行する母体の IgG は、新生児が持つ免疫防御機構の重要な構成要素である。静脈内投与された IgG は、循環血液中で免疫学的に活性を保持した形で存在可能である。

分類不能型免疫不全症の治療のために IVIG を投与した母親患者及びその新生児に対する検討から、投与された外因性 IgG は内因性 IgG と同様のパターンで胎盤を通過し、また、母乳中の IgG 濃度はヒト乳汁中の正常範囲内であることが示された（Palmeira et al. 2009）。

別の試験では、健康な出生児 11 名の臍帯血清及び分娩時にその出生児の母親から得た血清を用いて、14 種類の肺炎連鎖球菌莢膜多糖類抗原に対する総 IgG 抗体及び特異的 IgG サブクラス抗体の母体及び胎児間の移行性を検討した。その結果、総 IgG サブクラスの母体の乳汁／血清

比は非常に低かったが、特異抗体の多くは乳汁中に認められ、母体血清中濃度の約半分の濃度であった（Gasparoni et al. 1992）。

2.4.3.5.　結論

ヒト IgG の薬物動態パラメータを動物で検討する場合、そのパラメータは健康人や患者とは異なることが知られている。したがって、IgPro10 の薬物動態を評価するための動物試験は実施しなかったが、唯一、ラットを用いた反復投与薬物動態試験を実施した。ラットに IgPro10 を 100 又は 400 mg/kg の投与量で 1 日 1 回 5 日間反復静脈内投与したとき、AUC は投与量の増加に伴い上昇したが、期待された程度までは増加しなかった。両投与量における消失速度は類似していた。

IgPro10 に含まれる IgG の胎盤通過及び乳汁移行についてはヒトの公表文献をもとに評価した。静脈内投与された IgG は、循環血液中で免疫学的に活性を保持した形で存在可能である。分類不能型免疫不全症の治療のために IVIG を投与した母親患者及びその新生児に対する検討から、投与された外因性の IgG は胎盤を通過し、また、母乳中の IgG 濃度はヒト乳汁中の正常範囲内であることが示された。別の試験では、特異抗体（特に IgG_3 及び IgG_4 サブクラス内）の多くは乳汁中に認められ、母体血清中濃度の約半分の濃度であった。これらのデータに基づき、妊娠中の女性が IgPro10 による治療を続けたとき、免疫グロブリンが乳汁中に分泌され新生児への防御抗体の移行に寄与することにより、新生児が受動免疫を獲得できると結論づけられる。

2.4.4. 毒性試験

ヒト免疫グロブリンは生体内に存在するタンパク質であり、安全性及び忍容性は確立している。前述のとおり、人免疫グロブリン製剤を動物モデルで試験することには限界があり、このような限界は非臨床試験に関するガイドライン［例：ICH S6 (R1)］でも認識されている。品質に関する概括資料（2.3）で考察されているとおり、CSLB 社は ICH S6 (R1)で概説されている「不純物や混入物を定性的に特定する非臨床試験計画を設定するより、それらを除去する精製過程をおく方が望ましい」に従い、IgPro10 の製造工程における精製過程を改良した。

2.4.4.1.　単回及び反復投与毒性試験

単回及び反復投与毒性試験は医薬品開発の初期で、用量反応性に関する有用な情報を提供する可能性はある。しかし、人免疫グロブリン製剤は免疫学的活性を有し、外来物反応性抗体を含むため（McMorrow et al. 1997；Tomlinson et al. 1997；Watier et al. 1996）、ヒトに外挿できない作用が動物で誘発される可能性があることから、人免疫グロブリン製剤を動物モデルで試験することには限界がある。製造工程中に使用した構成成分はよく知られており、市販されている

血漿分画製剤では幅広く使用され、IgPro10 製剤でも同様にコントロールされている。そのため、IgPro10 の単回及び反復投与毒性試験を実施しなかった。

2.4.4.2.　遺伝毒性試験

ヒト IgG は細胞内の DNA 及び染色体に直接影響を及ぼさないため、そのような高分子の遺伝毒性試験を実施することは適切ではないと考えられる。

2.4.4.3.　がん原性試験

IgPro10 は CIDP 患者に高用量で投与される。IgPro10 に含まれる IgG 分子はヒトの内因性物質であり、高用量の IgG は抗炎症作用を示すことが知られているため、IgG の生理学的レベルを超える曝露量で細胞増殖を誘発するとは考えられない。さらに、IVIG のうち献血グロベニン-I（乾燥ポリエチレングリコール処理人免疫グロブリン）及びガンマガード（乾燥イオン交換樹脂人免疫グロブリン）の長期毒性試験において腫瘍発生を示唆するような所見は認められなかった。これらのエビデンスから、科学的根拠の重要度（weight of evidence）によるアプローチに基づきヒトでの発がんリスクが低いことは十分に担保されるため、ICH S6 (R1)ガイドラインに従い、新たに非臨床試験を実施する必要はないと考えられる。

2.4.4.4.　生殖発生毒性試験

前述のとおり、人免疫グロブリン製剤を動物モデルで試験することには限界がある。サングロポールの試験結果より、ヒト IgG は生殖発生に悪影響を及ぼさないと推察される。また、動物試験の実施に際しては、IgPro10 の外来物反応性抗体及び免疫原性の影響を考慮すべきであり、動物での IgPro10 の曝露量はヒトでの曝露量を上回らず低くなると予測される。これらのことから、IgPro10 の生殖発生毒性試験を実施しなかった。

2.4.4.5.　局所刺激性試験

IgPro10 は僅かに酸性の pH（pH 4.8）で製剤化されている。本製剤のウサギにおける局所刺激性試験を実施し、IgPro10 を皮下投与した場合の投与局所への影響について、IgPro10 よりも高いタンパク質濃度と高い pH の他製剤と比較し評価した。ウサギを用いる別の局所刺激性試験では、IgPro10 を静脈内投与、動脈内投与及び静脈周囲投与した場合の局所刺激性を評価した。両試験では、臨床試験 ZLB03_003CR［免疫性血小板減少性紫斑病（ITP）を対象とした海外試験、Hagan et al. 2012］で検討した IgPro10 のロットと同一ロットを使用した。

IgG 製剤の皮下投与による局所刺激性試験（表 2.6.7-6、試験番号 143.143.552）では、IgPro10 の 0.5 mL を雌雄ウサギの片側背部に皮下投与し、同一動物に IgPro10 の 2.5 mL/kg を皮下持続投与した。2.5 mL/kg の用量は、体重当たりで計算したヒト最高用量の約 3 倍に相当する。陰性対照として生理食塩液を同一動物に皮下投与した。比較対照群には、[redacted]%、[redacted]%及び 20%のタ

ンパク質濃度を有するそれぞれ[redacted]、[redacted]及びIgPro20（タンパク質濃度以外はIgPro10と同一組成）を投与した。加えて、別の群に海外で市販されている皮下投与用免疫グロブリン（SCIG）製剤のBeriglobin P（16%タンパク質溶液、生理的pH付近）を投与した。また、タンパク質を含まない添加物溶液（L-プロリン250 mmol/L、pH 4.8）も別の群で検討した。一般状態観察は投与日から投与後96時間まで1日2回行った。投与部位の疼痛、紅斑及び浮腫の程度は0から4まで段階的評価法で判定した。

IgPro10、[redacted]及びL-プロリン投与により弱い紅斑形成が観察されたが、生理食塩液投与による変化と同程度であった。[redacted]、IgPro20及びBeriglobin P投与後、紅斑（中等度までの変化として評価）が認められた。皮下投与（ボーラス及び持続投与）による紅斑に特記すべき差異は認められなかった。浮腫の出現頻度及び程度は被験製剤のタンパク質濃度増加に伴い上昇し、用量依存的な変化が示唆された。疼痛反応については、被験製剤と生理食塩液の間に大きな差がみられず、病理組織学的検査でも投与部位に異常所見は認められなかった。

別の局所刺激性試験（表2.6.7-5、試験番号143.143.482）では、IgPro10を静脈内投与、動脈内投与及び静脈周囲投与した場合の影響を検討した。IgPro10（投与容量0.5 mL）をウサギの右耳介に静脈内、動脈内及び静脈周囲に投与し、生理食塩液を同一動物の左耳介に同様に投与した結果、IgPro10の静脈内及び動脈内投与後の局所反応は生理食塩液投与と比較して量的及び質的に明らかな増加はみられなかった。IgPro10の静脈周囲投与による局所反応は生理食塩液と比較して僅かに目立った。投与8日後、投与に関連した病理学的所見は観察されなかった。したがって、IgPro10の単回静脈内、動脈内及び静脈周囲投与による局所忍容性は良好であった。IgPro10の静脈周囲投与後24時間以内に軽度の刺激性変化が認められたが、忍容性の許容範囲内と考えられた。

2.4.4.5.1.　結論

IgPro10の局所忍容性は良好であった。IgPro10の皮下投与による局所忍容性は生理食塩液と同程度であり、海外での市販SCIG製剤であるBeriglobin P（16%タンパク質溶液、生理的pH付近：pH 6.8）よりも良好であった。IgPro10の不適切な投与により局所に不慮の蓄積があった場合でも、IgPro10の単回静脈内、動脈内及び静脈周囲投与後の局所忍容性は許容できる範囲内であった。

2.4.4.6.　その他の毒性試験

2.4.4.6.1.　不純物

不純物**Q***　は[redacted]である。IgPro10の製造工程中、ウイルス不活化を改良するために　不純物**Q***　を添加した（[redacted]）。IgPro10中の　不純物**Q***　濃度は[redacted]µg/L未満であった（[redacted]）。この濃度では、患者は上記の市販製剤より

＊新薬承認情報提供時に置換

も [redacted] 倍低い濃度の　不純物Q*　に曝露されるものと考えられる。この情報に、IgPro10 の局所刺激性試験（表 2.6.7-5 及び表 2.6.7-6）で得られた良好な結果を加え、さらに、　不純物Q*　が低毒性であることを示す文献情報（BIBRA 1992）により、　不純物Q*　について追加すべき安全性試験はないとの結論に至った。

カプリル酸は天然に存在する中鎖脂肪酸であり、IgPro10 の製造工程の初期に実施される沈殿段階で免疫グロブリンを精製するために使用される。その後の工程でカプリル酸は製剤から除去され、最終製剤では微量にしか存在しない（[redacted]）（[redacted]）。

エタノールはヒト血漿を分画するために使用される。IgPro10 の製造工程でエタノールは IgG 溶液から除去され、最終製剤中では、残留溶媒に関する ICH Q3C(R3)ガイドラインでクラス 3 物質として規定された濃度をはるかに下回る残留溶媒濃度となっている。

2.4.4.6.2. L-プロリンの非臨床試験

L-プロリンは IgPro10 中に安定化剤として含まれる唯一の添加物である。前述のとおり、L-プロリンは既に市販されている IgG 製剤及び非経口栄養剤の有効成分として使用されているため、非経口用の新規添加物とは考えられない。しかし、IgPro10 については、市販製剤での L-プロリンの 1 日使用用量を超える用量で使用する予定である。CSLB 社は比較的初期の IVIG 製剤及び IgPro10 の開発中に L-プロリンの毒性プロファイルを検討した（表 2.4-2、表 2.4-3）。毒性試験はげっ歯類及び非げっ歯類として適切な動物種と考えられるそれぞれラット及びイヌを用いて実施した。Sandoglobulin Liquid の開発中に L-プロリンを含む混合添加物の試験データ、及び IgPro10 の開発中に L-プロリンの試験データを得た。毒性試験は IgPro10 の臨床適用に直接関係する成績を提供できるよう計画し、投与方法は、ヒトに高用量の IVIG を点滴静注することを想定し、1 日 7 時間の静脈内持続投与とした。L-プロリンは半減期が短く生体内に蓄積しないこと、並びに推奨臨床用量及び投与スケジュールに基づき、28 日間までの反復投与期間は妥当であると考えられた。

ワイス社研究グループは公表した多数の研究報告の中で、発達中の脳に L-プロリンを過剰負荷した場合の脆弱性の問題を検討している。報告された試験では神経毒性及び神経化学的変化に関する徴候が認められていた。そのため、CSLB 社は高用量の L-プロリン投与により急性神経毒性の臨床徴候を検討し（Irwin 試験）、IVIG 投与に匹敵する実験条件下で水迷路課題試験を実施した。加えて、成熟雌ラットにおける単回投与薬物動態試験で急性神経毒性に関する臨床徴候のスコアリングを行った。

また、海外で市販されている IVIG 製剤 Sandoglobulin Liquid の開発中に、L-プロリンを含む混合添加物による一連の遺伝毒性試験を実施した。

＊新薬承認情報提供時に置換

2.4.4.6.2.1.　L-プロリンの単回及び反復投与毒性試験

L-プロリンの単回投与毒性は、ラット及びイヌを用いた 28 日間反復投与毒性試験（試験番号 925/035 及び 668321）の中で評価した。これらの試験でラット及びイヌにそれぞれ最高 1449 及び 4350 mg/kg までの用量で初回投与したところ、死亡及び一般状態の変化は認められなかった。

ラットを用いた 28 日間投与毒性試験及び 2 週間回復性試験（表 2.6.7-8、試験番号 925/035）では、L-プロリンを 579 及び 1449 mg/kg の用量で雌雄動物に毎日 7 時間、静脈内持続投与した。対照群には生理食塩液を静脈内持続投与した。高用量での投与容量は、ラットに投与できる最大容量の 42 mL/kg であった。試験期間中、途中死亡例はみられなかった。投与に関連する一般状態の変化及び眼の病変も認められなかった。血液学的検査及び血液生化学的検査で投与に関連する明らかな影響はみられなかった。尿検査でも投与に関連する影響はみられなかった。器官重量、剖検所見及び病理組織学的所見に L-プロリン投与に関連した明らかな変化は観察されなかった。L-プロリンの投与最終日における血清中最高濃度は、最高用量を投与した雄で 3.1～4.1 mmol/L 及び雌で 2.2～2.8 mmol/L であった。

ビーグル犬を用いた 28 日間投与毒性試験及び 2 週間回復性試験（表 2.6.7-10、試験番号 668321）では、L-プロリンを 2170 及び 4350 mg/kg の用量で雌雄動物に毎日 7 時間、静脈内持続投与した。対照群には生理食塩液を静脈内持続投与した。試験期間中、途中死亡例はみられなかった。嘔吐を含む一般状態の変化が高用量群の数例で認められた。眼科学的検査、心電図検査、血液学的検査及び血液生化学的検査で、L-プロリン投与との関連が考えられるような変化はみられなかった。L-プロリン投与に起因すると考えられる剖検所見及び病理組織学的所見は観察されなかった。尿検査からは、L-プロリン投与に直接関連すると考えられるような尿中パラメータの変化は認められず、尿検査で認められた変化のほとんどは、動物に大量の溶液を投与したことによる電解質の生理的不均衡に起因するものと考えられた。L-プロリンの投与最終日の血清中最高濃度は、高用量群の雄で 12.3～14.5 mmol/L 及び雌で 11.1～12.8 mmol/L であった。

2.4.4.6.2.1.1.　結論

ラットを用いた 28 日間投与毒性試験では、L-プロリン（579 及び 1449 mg/kg）を毎日 7 時間の静脈内持続投与した結果、良好な忍容性が認められ、毒性を示唆する著しい変化は認められなかった。L-プロリン投与に関連した唯一の変化は、投与開始後 2 週間にみられた雄の軽度の体重増加抑制及び摂餌量減少であった（統計学的有意差はなし）。これらの変化は L-プロリンの両投与群の動物に主に認められた。当該試験における L-プロリンの無毒性量は 1449 mg/kg と考えられた。

イヌを用いた 28 日間投与毒性試験では、L-プロリン（2170 及び 4350 mg/kg）を毎日 7 時間の静脈内持続投与した結果（投与速度：9 及び 18 mL/kg/hr）、良好な忍容性が認められた。高用量群の数例で嘔吐を含む一般状態の変化が認められた。試験期間を通じて体重変動に異常は

みられなかった。投与期間中、概して高用量群で摂餌量の減少が認められた。当該試験における L-プロリンの無毒性量は 4350 mg/kg と考えられた。

2.4.4.6.2.2.　L-プロリンの遺伝毒性試験

混合添加物（添加物 8：L-プロリン 120 mmol/L、L-イソロイシン [redacted] mmol/L、ニコチンアミド [redacted] mmol/L）を最高 5000 µg/plate までの用量で（L-プロリン 69 µg/plate、L-イソロイシン [redacted] µg/plate、ニコチンアミド [redacted] µg/plate）、ネズミチフス菌 TA98、TA100、TA102、TA1535 及び TA1537）を用いて、2 つの独立した復帰突然変異試験を実施した（表 2.6.7-11、試験番号 22196；表 2.6.7-12、試験番号 49196）。1 回目の試験では、用量段階はネズミチフス菌 TA100 を用いて検討した予備試験に基づき設定し、2 回目の試験では用量段階を修正した。代謝活性化系（Aroclor-1254 誘導でラット肝臓より得られた S9 ミクロソーム分画）の有無に関わらず被験物質処理に関連した復帰変異体の上昇は認められなかった。2 回目の復帰突然変異試験はプレインキュベーション法で実施され、L-プロリンの患者における推定最高血中濃度をはるかに超える濃度で検討した。その結果、添加物 8 は最高 500 µL/plate（L-プロリン 6900 µg/plate、約 54.6 mmol/L）までの用量でラット肝 S9 代謝活性化系（フェノバルビタール／メチルコラントレン誘導）の有無に関わらず復帰変異体の上昇がみられず、細胞毒性も認められなかった。したがって、これらの試験成績より添加物 8 は遺伝毒性を示す懸念がないと考えられた。

In vitro 細胞遺伝学試験では（表 2.6.7-13、試験番号 CLE 1554/3-D5140、2 回独立して実施）、Aroclor-1254 又はフェノバルビタール／β-ナフトフラボン誘導のラット肝 S9 の存在下（3 時間処理）又は非存在下（3 又は 20 時間処理）において、添加物 8 でチャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞を処理した結果、染色体異常は誘発されなかった。2 回目の試験で検討した添加物濃度（L-プロリン：最高 14.22 mmol/L、L-イソロイシン：[redacted] mmol/L、ニコチンアミド：[redacted] mmol/L）において細胞毒性がみられ、S9 非存在下及び存在下で細胞数はそれぞれ 31 及び 17%減少した。陽性対照物質は適切な反応を示した。

添加物 8 を 5、10 及び 20 mL/kg の用量でマウスに 5 日間静脈内投与したところ、マウス骨髄に小核は誘発されなかった（表 2.6.7-14、試験番号 CLE 1554/4-D5140）。試験期間中、動物の一般状態に変化はみられなかった。また、細胞毒性は認められなかったが、最高用量（L-プロリン：276 mg/kg、L-イソロイシン：[redacted] mg/kg、ニコチンアミド：[redacted] mg/kg）は、試験実施及び動物愛護上の観点から静脈内投与可能な最大容量であり、論理上容認できる用量を設定した。添加物のバイオアベイラビリティは、薬物動態データに基づき十分に確立されているため、添加物が *in vivo* 遺伝毒性を有さないとの判定は妥当であると考えられた。陽性対照物質（シクロフォスファミド）は適切な反応を示した。

2.4.4.6.2.2.1.　結論

一連の遺伝毒性試験では、混合添加物 8 に含まれる L-プロリンは遺伝毒性を示さなかった。3 種類の添加物は代謝が既知であり化合物間の相互作用が低いことを考慮すると、これらの試験成績は L-プロリン単一の添加物としての結果とみなせるものと考えられた。

2.4.4.6.2.3.　L-プロリンの生殖発生毒性試験

L-プロリンのラットを用いた胚・胎児発生に関する試験を実施した。げっ歯類を用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験並びに出生前・出生後の発生及び母体の機能に関する試験、非げっ歯類を用いた胚・胎児発生に関する試験は以下の観点から実施していない。

- 胚・胎児発生に関する試験において、L-プロリンを 1449 mg/kg の用量で雌ラットに妊娠 6 日から 17 日まで連日静脈内投与した結果、母動物への毒性、胎児毒性及び催奇形性は認められなかった。
- 28 日間投与毒性試験において、投与終了時に剖検したラット及びイヌで、最高用量群でも生殖組織（前立腺、精嚢、精巣、精巣上体、乳腺、膣、子宮、卵巣）に L-プロリン投与に関連した病理組織学的変化が認められなかった。
- L-プロリンはヒトにおいては非必須アミノ酸として体内に内因性に利用されており、生体内で合成され､血清中濃度はフィードバック阻害機構によりコントロールされている。加えて、L-プロリンは IgPro10 と同程度の最高用量で、新生児も含めヒトへの非経口栄養剤として広く使用されている。

胚・胎児発生に関する静脈内投与試験（表 2.6.7-15、試験番号 AA30034）では、25 例の妊娠ラットに L-プロリンを 1449 mg/kg の用量（300 mmol/L 水溶液を 42 mL/kg の投与容量）で毎日 7 時間、妊娠 6 日から 17 日まで静脈内持続投与した。対照群には生理食塩液を同容量で投与した。この投与量はラットに静脈内持続投与可能な最高用量として設定した。

L-プロリンを投与した動物には死亡例はみられず、被験物質投与に関連した一般状態の変化も認められなかった。体重及び摂餌量に被験物質投与に関連した影響はみられなかった。各群ともに 25 例中 24 例の雌動物が帝王切開時に妊娠していた。対照群の雌 2 例で胎児がいなかったことを除き、生存児が認められた。着床前データは対照群と投与群の間で差は認められなかった。着床後データのうち平均胎児重量及び胎児の雌雄比には、被験物質投与による影響は認められなかった。母動物の剖検では被験物質投与に関連した肉眼的変化は認められなかった。L-プロリン投与群では外表、内臓及び骨格検査で投与の影響と考えられる異常は認められなかった。L-プロリンを投与した雌動物の妊娠 6 日及び 17 日の平均最高血清中濃度は、それぞれ 3.53 及び 2.57 mmol/L であった。

2.4.4.6.2.3.1.　結論

L-プロリンを雌ラットに妊娠 6 日から 17 日まで静脈内持続投与した結果、胎児の催奇形性は認められなかった。本試験では、L-プロリンを 1449 mg/kg/day の用量で投与しても母動物及び胎児に影響はみられなかったため、この用量は母動物への毒性、胎児毒性及び催奇形性に関する無影響量と考えられた。

以上、ラット胚・胎児発生に関する試験における陰性結果、ラット反復投与毒性試験で生殖器の病理組織学的変化がみられなかったこと、並びに L-プロリンの新生児を含むヒトへの使用状況から、L-プロリンの臨床使用における生殖発生への影響に対する総合的な安全性は担保されているものと考えられる。

2.4.4.6.2.4.　L-プロリンの神経毒性試験

L-プロリンをラットに 1 日 7 時間で静脈内持続投与した 5 日間投与 Irwin 試験（表 2.6.7-16、試験番号 1657/ZLB/02）において、IgPro10 の臨床試験における最高用量の最大 5 倍に相当する L-プロリンの用量（1449 mg/kg/day）を投与した結果、5 日目投与後の体温の軽度上昇以外に明らかな影響は認められなかった。単回投与薬物動態試験（表 2.6.7-17、試験番号 PSR 08/06）において、L-プロリンの 2 g/kg をラットに皮下投与した結果、最高血漿中濃度は 12 mmol/L になったが、神経学的影響や発作症状などの一般状態の変化はみられなかった。

最近実施された試験において、高用量の L-プロリンを新生児ラットに数週間連日投与すると、Morris 水迷路課題試験（Bavaresco et al. 2005 ; Delwing et al. 2006a）及び他の行動薬理試験（Shanti et al. 2004）の成績に悪影響を及ぼすと報告されたことから、L-プロリンの幼若ラットにおける急性神経毒性の臨床徴候について、CIDP の典型的な IVIG 投与スケジュールと Bavaresco らのラットモデルを組み込んだ Morris 水迷路課題試験で追加検討した。当該試験では、比較対照物質としてグリシン及び溶媒対照として生理食塩液を用いた。新生児ラットは、シナプス形成が盛んに行われるため、未成熟状態では出生後の発育に脆弱性を示すことが示唆されることから、使用動物として選択した。当該試験は 2 パートに分けて実施され、一つは急性神経毒性の評価（表 2.6.7-19、試験番号 PSR 01/07）及び薬物動態評価（表 2.6.7-18、試験番号 PSR 03/07）を含む児の飼育と被験物質投与、他の一つは学習及び記憶検査（表 2.6.7-20、試験番号 ZLB 06_006）である。

6 群を設けた前述の試験（試験番号 PSR 01/07）では、L-プロリン、グリシン及び生理食塩液を出生後早期の Wistar 雄ラットに皮下投与した。次の 2 つの投与スケジュールが選択された。スケジュール“1”では、CIDP 患者に IVIG を導入期に静脈内投与する場合の最長期間を想定して、L-プロリンを生後 9 日から 13 日まで 5 日間連続投与した。スケジュール“2”では、CIDP

患者への IVIG（維持療法）を想定し、生後 9 日、16 日及び 23 日に投与した。投与量については、生後 9 日に L-プロリン 1.5 g/kg 及びグリシン 1.0 g/kg（13.0 mmol/kg）を 1 日 2 回投与し、それ以降、動物の加齢に伴い血漿中 L-プロリンのクリアランス増加により生じる投与量の不足分を補うために用量を増加した。各投与日の 2 回の投与は 8 時間間隔で行った。

その結果、生後 9 日から 13 日まで 5 日間連続、又は生後 9、16 及び 23 日に L-プロリン及び生理食塩液を投与した動物では、投与期間を通じて急性神経毒性症状を含め、一般状態の変化は認められなかった。L-プロリン（2 mol/L）を複数回皮下投与した数例に局所刺激性の症状が認められた。しかし、これらの症状は一過性かつ軽微から中等度の程度と考えられた。

動物は生後 54 日及び 71 日に学習検査を実施するため、外部の試験受託機関に送付した。

当該試験において Bavaresco らの方法に従った実験方法（Bavaresco et al. 2005）では、すべての動物は参照記憶の獲得に成功し、参照記憶及び作業記憶の試験で良好な成績を示した。前述のいずれの L-プロリン投与スケジュールでも参照記憶の獲得、参照記憶及び作業記憶に対して負の影響を及ぼさなかった。

2.4.4.6.2.4.1.　結論

成熟ラット（Irwin 試験）及び幼若ラット（水迷路課題試験）を用いて L-プロリンの神経毒性を評価した。CIDP 患者への IVIG の投与スケジュールに従い L-プロリンを投与した。L-プロリンによる急性の神経毒性は認められず、ラットは参照記憶の獲得に成功し、参照記憶試験及び作業記憶試験で良好な成績を示した。2 mol/L の L-プロリン溶液の反復皮下投与による局所刺激性は、一過性かつ軽度から中等度であった。

2.4.4.6.2.4.2.　公表文献

ラットの生後 6～28 日に、L-プロリンを 1 日 2 回連日皮下投与することにより慢性的高プロリン血症モデルを作成し（Moreira et al. 1989）、血漿中及び脳組織中の L-プロリン濃度を測定した。投与 1 時間後に L-プロリンの最高血漿中濃度（12.2～14.4 mmol/L）に達し、投与 6 時間後には 1.3～2.6 mmol/L に減少した。脳組織 100 g あたりの L-プロリン含量は、投与前値の約 2.5 倍に増加した。投与 1 週間後及び 1 ヵ月後に行動薬理試験を実施した。L-プロリンはラットの抑制性回避課題の成績には影響を及ぼさなかったが、オープンフィールド馴化課題では軽度ではあるが有意な成績低下が認められた。同様のモデル及び同様の L-プロリン投与方法を用いた他の試験（Bavaresco et al. 2005）において、生後 60 日齢のラットを用いて水迷路試験が実施された。L-プロリン投与群のラットは生理食塩液投与群と比較して、軽度ではあるが有意な学習成績の低下及び空間記憶の 4 種類の指標のうち 1 つの指標の成績低下を示した。同様の結果が同じ研究グループによる別試験（Delwing et al. 2006a）でも得られ、ビタミン E 及び C の前投与が L-プロリンによる成績低下を抑制することが示された。

別の研究グループでも離乳ラットに対するL-プロリン反復投与の影響を検討している（Shanti et al. 2004）。生後15～39日に、上記のMoreiraらの報告と同用量のL-プロリンをラットに1日2回連日皮下投与した。ラット血漿中及び脳脊髄液中のL-プロリン濃度は、それぞれ1.84±0.051 mmol/L及び31.6±3.5 µmol/Lと報告されたが、文献中に濃度測定時間の記載はない。生後40日に行動薬理試験を実施するとともに、神経化学的及び病理組織学的検査（浸漬固定）を実施した。L-プロリン投与によりラットの動作緩慢及び反応性低下が発現し、ラットの尾を5秒以上保持すると痙攣がみられた。病理組織学的変化については、適切な評価をするために十分に詳細な説明が文献中にないが、検査をした脳の全領域（嗅葉、大脳、小脳、延髄）において神経細胞体及び神経線維の壊死性変化がみられ、細胞体の萎縮、空胞化及び残屑の蓄積を伴うと報告された。対照群ではこのような変化は報告されなかった。細胞体の変化はL-プロリン投与の結果生じたと報告されたが、これに類似した細胞の暗色化が正常な脳の浸漬固定においてもアーチファクトとして生ずることがあると予想されるため、本文献で報告された病理組織学的所見に疑問の余地があると判断される。

ワイス社の研究グループが公表した多くの試験において、L-プロリンによる発生神経毒性のメカニズムが検討されている。

酸化ストレスは、L-プロリンの作用を媒介する重要な因子と考えられる。Delwingらは（Delwing et al. 2005a）、L-プロリンをラットの生後6～28日に反復投与し最終投与12時間後に、又は生後29日に単回投与（18.2 mmol/kg）し1時間後に（Delwing et al. 2003a）、それぞれ酸化ストレスパラメータを検討した。L-プロリン単回投与後、大脳皮質の各種の酸化ストレスパラメータが有意に上昇し、カタラーゼ活性は37%低下した。これらの効果はビタミンEの前投与によって抑制された。なお、その後の文献（Delwing et al. 2006a）において、ビタミンE及びアスコルビン酸がMorris水迷路試験でのL-プロリンの作用を抑制することが示された。L-プロリンの反復投与により、ラット大脳皮質のカタラーゼ活性が有意に上昇し、グルタチオンペルオキシダーゼ活性が低下した。カタラーゼ活性の上昇は、酸化ストレス後の反応として一般的に認められている。これらの試験では、L-プロリンが作用を示すために必要な最低用量、又は血漿中最低濃度は示されていない。しかし、*in vitro*試験（Delwing et al. 2003a；2003b）により、ラット大脳皮質ホモジネートにおいて500又は1000 µmol/LのL-プロリンによる有意な急性的酸化促進作用が示されており、この濃度はL-プロリンがグルタミン又はグリシン受容体に作用する濃度よりやや低い。正常な脳脊髄液中のL-プロリン濃度は3～4 µmol/Lであることから、上記の濃度は著しい上昇に該当する。これらの著者が報告している*in vivo*での結果とは異なり、1000 µmol/LのL-プロリンを急性曝露したホモジネートにおいて、カタラーゼ又はグルタチオンペルオキシダーゼ活性の変化はみられなかった。脳における酸化促進作用は、それ自体が有害であるとともに、興奮性神経毒性物質など他の障害因子の作用を増強する可能性がある。

さらに他の試験（Delwing et al. 2005b）において、L-プロリンの単回投与により大脳皮質のアセチルコリンエステラーゼ活性が 32%又は 28%（2 回の異なる試験結果）の有意な低下を示したが、反復投与では変化を示さなかった。単回投与では投与 1 時間後に、また反復投与では最終投与の 12 時間後に酵素活性を測定した。アセチルコリンエステラーゼ活性の低下の程度は機能上の変化を生じる閾値以下であり、また、反復投与で活性変化がみられなかったことから、この変化は一過性かつ非累積的変化であることが示唆される。ビタミン E を 1 週間、前投与することにより酵素活性の低下が抑制されたことから、L-プロリンの作用メカニズムに酸化ストレスが関与していることが示唆される。L-プロリンの単回投与により血漿中ブチリルコリンエステラーゼ活性が 22%上昇したが、反復投与では活性変化はなかった。ブチリルコリンエステラーゼは外来性物質の代謝に関与する酵素であり、長期間阻害しても有害な結果を生じない（WHO/IPCS EHC63, 1986）ことから、血漿中での本酵素活性の上昇の意義は不明である。著者らは、ブチリルコリンエステラーゼは組織の発生に関与している可能性があること、及び脳のブチリルコリンエステラーゼ活性の変化（当該試験ではデータなし）が神経発生に影響を及ぼす可能性があると指摘している。しかし、この指摘は単なる推論であり、脳のアセチルコリンエステラーゼ活性低下の機能上の意義も不明であるが、酸化ストレスの効果とは異なり活性低下は一過性のものであることから、重要性は低いと考えられる。同様の結果がそれ以前の類似した試験（Delwing et al. 2003c）でも示されている。

上記の試験で認められた酸化ストレスにおいて、L-プロリンによる Na^+、K^+-ATPase の阻害が重要な要因であると提唱されている。生後 12 日のラットに 12.8 mmol/kg の L-プロリンを単回投与したところ、投与 1 時間後に Na^+、K^+-ATPase 活性が 30%阻害され、反復投与でも同様の阻害が認められた（Franzon et al. 2003）。前記の酸化ストレスパラメータに関して、ビタミン E の前投与により酵素活性の阻害が抑制された。1000 mmol/L の L-プロリンにより海馬ホモジネートでの活性が 48%阻害されたが、*in vitro* での阻害に高濃度が必要であることから、*in vivo* での結果と必ずしも一致しておらず、酵素の触媒部位の阻害ではなく、*in vivo* での酸化障害などの間接的メカニズムが関与していることが示唆される。同様に、L-プロリンは、ラット血清中での ATP の加水分解を 1000 µmol/L においてのみ（500 µmol/L では効果なし）有意に増加させた（Delwing et al. 2006b）。ラットに L-プロリンを単回投与したところ、投与 1 時間後に ATP の加水分解の減少がみられたが、投与 3 又は 12 時間後には変化はなかった。L-プロリンの反復投与においても最終投与の 3 時間後に同様の効果がみられたが、最終投与の 12 時間後には変化はなかった。L-プロリンの単回又は反復投与により、脳のシトクロム C オキシダーゼ活性が軽度ではあるが有意に低下（23～28%）した（Delwing et al. 2007）。単回投与後 12 時間に酵素活性の抑制が認められた。ラットの生後 6～28 日に L-プロリンを長期投与した結果、シトクロム C

オキシダーゼ活性は生後 29 日において低下したが、生後 60 日には低下しなかった。L-プロリンの単回投与の影響は、ビタミン E 及び C の前投与によって抑制された。

したがって、高用量の L-プロリン投与は、脳や他の組織において酸化ストレスを誘導する可能性がある。この誘導は、おそらく特定の酵素（それらの酵素が L-プロリンに対し十分に高い感受性を有することは検討されていない）に対する直接作用ではなく、高用量負荷された L-プロリンをグルタミンに代謝的に処理する必要上惹起された酸化的代謝への刺激を介して発現する。提唱されているこのメカニズム（脳の抗酸化予備能を最終的に上回る累積的酸化ストレス）は、多くの指標が L-プロリンの単回投与の影響から比較的速やかに回復すること、反復投与の影響から回復しないこと、及びビタミン E 及び C の保護効果と一致すると思われる。このメカニズムにより、水迷路試験において 23 又は 25 日間の曝露でみられる神経発生学的影響が 3 又は 5 日間の曝露ではみられない理由についても合理的に説明できることが示唆された。

2.4.4.7.　環境毒性

IgPro10 製剤はヒトプール血漿から製造され、ウイルス混入のマーカー検査が実施されている。製造工程には、エンベロープを持つウイルス及びエンベロープを持たないウイルスに対して効果的な 2 段階のウイルス除去工程が含まれている（2.3.A.2）。IgPro10 中の免疫グロブリンは、内因性抗体と同一過程で代謝及び分解される生体内に存在するタンパク質である。本製剤の唯一の添加物である L-プロリンは生体内に存在するアミノ酸である。したがって、本製剤の環境に対するリスクはないと考えられる。

2.4.5. 総括及び結論

IgPro10 は、臨床使用において CIDP の適応症で成人に投与される。治験における IgPro10 の 1 日最大用量は IgG として 1 g/kg であり、これを単回投与又は 2 日間連日投与した。この投与量において、L-プロリンの 1 日投与量は 288 mg/kg であった。

IgPro10 は高度に精製された IVIG 製剤である。IgPro10 は、免疫化学的方法又はバイオアッセイ法を用いた抗体の Fab 機能の測定で示されているように、広範囲の特異抗体から構成される IgG を正常状態で含有している。これに加え、主要な 2 つの Fc 機能（補体活性化及び食細胞の Fcγ 受容体との相互作用）を測定する *in vitro* アッセイによって正常な Fc 機能を保持していることが示されたことから、IgPro10 の効力を裏付ける動物試験として 1 試験のみを実施した。CSLB 社は、CIDP に関連する動物モデルと考えられるラット EAE モデルを用いた試験を実施した。その結果、IgPro10 がラット EAE の症状を軽減させ死亡率を低下させたことから、CIDP に対する IgPro10 の臨床的有用性が期待できると考えられた。

IgPro10 製剤の厳格な品質管理システムにおいては、本剤中の免疫グロブリンによる心血管系、呼吸器系及び中枢神経系への影響、並びにアナフィラキシー様反応及び血栓形成の可能性がチ

ェックされる。IgPro10 中の関連パラメータ／不純物は、*in vitro* において測定及び試験される。IgPro10 中の不純物が低レベルであること、製剤が低粘度であること等から、IgPro10 は臨床で安全に使用できることが保証される。IgPro10 を用いた治験におけるデータはこのことを裏付けている。

IgG 製剤は臨床において安全に使用され、その有効性が証明されてきた歴史がある。これに加え、ヒト IgG が外来物反応性を有することを考慮し、一連の薬理、薬物動態及び毒性試験パッケージでは IgPro10 を評価しなかった。IgPro10 の非臨床試験として、効力を裏付ける 1 試験、ラットを用いた 1 つの吸収試験及びウサギを用いた 2 つの局所刺激性試験を実施した。製剤の安定性のため、IgPro10 は 250 mmol/L の L-プロリンの存在下でやや酸性（pH 4.8）の製剤とされている。ウサギの局所刺激性試験では、IgPro10 は比較対照の皮下投与用 IgG 製剤（pH 6.8）よりも良好な忍容性を示した。また、別に実施した局所刺激性試験において、IgPro10 の静脈内、静脈周囲及び動脈内投与後の局所刺激性は許容可能な範囲内であった。ラットの血圧に対する影響を検討した結果、IgPro10 は中等度かつ一過性に血圧を低下させたが、海外で以前市販されていた IgG 製剤（Sandoglobulin Liquid）及び日本で既承認の IgG 製剤（IgPro20、ハイゼントラ）による血圧低下と差はないと考えられた。

IgPro10 製剤は IgG 溶液の安定化剤として L-プロリンを含有する。L-プロリンは非必須アミノ酸としてタンパク栄養剤の有効成分として既に使用されており、食品中の 1 日摂取量は約 5.2 g である（Proline 2005）。L-プロリンの正常な血漿中濃度は 266±35 µmol/L である（Druml et al. 2001）。L-プロリンはヒトでの忍容性が良好であることが知られており、小児あるいは新生児適用の安全な非経口栄養剤として高用量が投与されてきた長い歴史がある（例：プレアミン-P 注射液、扶桑薬品工業株式会社。L-プロリンは最高 216 mg/kg まで小児に連日静脈内投与されている）。

L-プロリンのヒトへの曝露（静脈内投与を含む）に関する多くの情報が利用可能であるため、限られた毒性試験で安全性を評価することは妥当であると考えられた。また、L-プロリンは、CSLB 社が海外で上市した IVIG 製剤の Sandoglobulin Liquid に含有される 3 添加物のうちの一つである。Sandoglobulin Liquid の開発中に混合添加物（L-プロリン、L-イソロイシン及びニコチンアミド）の安全性は広範囲に評価されており、IgPro10 製剤に添加されている L-プロリンの安全性評価にも用いられた。IgPro10 で投与される L-プロリンの用量は、Sandoglobulin Liquid に使用された用量を上回るため、IgPro10 の開発中に、成熟ラットを用いた L-プロリンの高用量による安全性試験を追加し［5 日間及び 28 日間反復投与毒性試験、胚・胎児発生に関する試験、並びに 5 日間投与 Irwin 試験］、幼若ラットを用いた Irwin 試験及び水迷路課題試験、イヌを用いた反復投与毒性試験（7 日間及び 28 日間反復投与毒性試験）を実施した。L-プロリンを最高 1449 及び 4350 mg/kg まで静脈内連日投与した試験では、それぞれラット及びイヌを使用した。すなわち、これらの試験で投与された L-プロリンの用量は、CIDP 患者に投与される L-プロリンの用量の少なくとも 5 倍及び 15 倍に相当する。また、これらの試験における最高用量

は、IVIG をヒトに適用する場合と同様な条件下で、動物に静脈内持続投与可能な 1 日最大量であった。

いくつかの研究報告（例 : Bavaresco et al. 2005 ; Delwing et al. 2003a ; 2003b ; Nadler et al. 1988）は、発達中の脳への L-プロリンの過剰負荷及びプロリン誘発性の興奮性神経毒性に関する脆弱性の問題を検討している。これらの実験で神経毒性の徴候及び神経化学的変化が認められた。本邦では、IgPro10 の高用量は小児適用を意図しているものではなく、成人の CIDP 患者に適用することを意図している。したがって、CSLB 社は、L-プロリンの高用量を成熟した雄ラットに IVIG 適用と同等以上の条件下で投与した場合の急性神経毒性（Irwin 試験）の臨床徴候を検討した。成熟雌ラットを用いた単回投与薬物動態試験において、急性神経毒性に関連する臨床徴候をスコア化して評価したところ、L-プロリンの最高平均血漿中濃度の約 2.2～2.8 mmol/L まで明らかな神経行動学的変化は認められなかった。公表文献において、L-プロリンを非常に高い濃度で脳内に直接投与すると、興奮性神経毒性が誘発されることが示されたことから、L-プロリンの最高平均血漿中濃度 12 mmol/L を得るのに十分な用量で単回投与した場合の影響について検討した。その結果、L-プロリンに特有な毒性症状は認められず、初期の公表文献で L-プロリンを非常に高い用量でラットに経口投与した場合に興奮性神経毒性が誘発されなかった成績に一致していた。

いくつかの公表された実験により、L-プロリンを最高平均血漿中濃度 14 mmol/L に相当する用量で出生児ラットに反復皮下投与すると、一過性の急性症状、やや持続的な神経行動学的な影響及び神経化学的な変化が認められることが示された。このことは、IgPro10 の臨床試験で患者における L-プロリンの平均血漿中濃度を上回る非常に高い血漿中濃度（4 倍を超える濃度）で新生児ラットに繰り返し曝露した場合に、特別な感受性を示す可能性を反映している。L-プロリンの高用量による中枢神経系及び発達中の脳への影響を更に検討するため、CSLB 社は、公表されている研究（Bavaresco et al. 2005）と同様のデザインで Morris 水迷路試験を実施し、CIDP 患者の臨床適用状況を反映した投与スケジュールで L-プロリンを幼若ラットに皮下投与した。当該試験では、IVIG を CIDP 患者へ導入期に適用することを想定して、L-プロリンを 4 g/kg までの用量で連日投与し（5 日間連日投与）、また、維持療法として CIDP 患者に間歇的な投与スケジュール（2～4 週ごとに 1 回投与）で投与する場合を想定し、L-プロリンを 3 回間歇投与した。当該試験における投与量はヒト用量よりも最高 12 倍まで高いことは注目すべきである。当該試験成績により、幼若動物における L-プロリンの高用量での一般毒性だけでなく、発達中の脳への安全性を詳細に確認できる。皮下投与は、実験手技上の理由により静脈内持続投与に替えて選択しなければならなかった。L-プロリンの皮下投与により血漿中濃度が急上昇し、低レベルではあるが脳組織でも急上昇が認められた。このような血漿中濃度の急上昇は、臨床試験で IgPro10 をゆっくり点滴静注した後に L-プロリンの血漿中濃度が低レベルで徐々に上昇することとは比較できない。しかし、L-プロリンの血漿中濃度が急上昇するような条件下でも、幼若動物では急性神経作用や脳の発達への影響は認められなかった。一方、文献情報ではこれ

と同一の動物モデルにおいて、L-プロリンを 3 週間以上連日投与した場合、脳の発達に影響が認められた。しかし、3 週間以上の連日投与は、ヒトにおける IVIG の投与方法ではない。文献情報を更に解析すると、脳の発達への影響に関するメカニズムは、投与延長時にのみ働く、脳組織の抗酸化力の消耗によると推定され、ヒトでの IgPro10 適用とは関連がないと考えられた。

ラットにおける 5 日間及び 28 日間反復投与毒性試験では、L-プロリンを投与可能な 1 日最高用量まで静脈内持続投与した結果、明らかな毒性を示さなかった。両試験における L-プロリンの無毒性量は最高用量の 1449 mg/kg/day と推定された。この用量を IgPro10 の臨床試験における L-プロリンの 1 日最高用量（288 mg/kg）と比較すると、ラットの最高用量での安全域は 5 倍と推定された。これらの試験における L-プロリンの最高血清中濃度は 2.2～4.1 mmol/L であったことから、ヒト血清中濃度（2.8 mmol/L）と比較すると、約 1.1 倍の安全域が得られた。

イヌにおける 7 日間及び 28 日間反復投与毒性試験では、L-プロリンを 1 日最高用量まで静脈内持続投与した結果、明らかな毒性を示さなかった。両試験における L-プロリンの無毒性量は最高用量の 4350 mg/kg/day と推定された。この用量を、L-プロリンの臨床試験における L-プロリンの 1 日最高用量（288 mg/kg）と比較すると、イヌの最高用量での安全域は 15 倍と推定された。これらの試験における L-プロリンの最高血清中濃度は 11.1～14.5 mmol/L であったことから、ヒト血清中濃度（2.8 mmol/L）と比較すると、約 4.0～5.2 倍の安全域が得られた。

ラット及びイヌの反復投与毒性試験における L-プロリンの 28 日間の最長投与期間は、動物及びヒトに投与された場合の半減期が非常に短いこと及び IgPro10 の臨床試験における投与方法から妥当であると考えられた。また、ラット及びイヌは、L-プロリンがこれらの動物種とヒトで質的及び量的に同様な薬物動態を示すことから適切な動物種であると考えられた。

CSLB 社が実施した一連の遺伝毒性試験では、混合添加物に含まれる L-プロリンは遺伝毒性を示さなかった。3 種類の添加物は代謝が既知であり化合物間の相互作用が低いことを考慮すると、これらの試験成績は L-プロリン単一の添加物としての結果とみなせると考えられた。加えて、L-プロリンはハムスターにおいてがん原性を示さなかったことが報告されている（Thamavit et al. 1994）。

L-プロリンのみによるラット胚・胎児発生に関する試験（表 2.6.7-15、試験番号 AA30034）では、L-プロリン 1449 mg/kg/day を投与しても催奇形性及び胚毒性は認められなかった。この用量は当該試験で投与可能な最高用量であり、無影響量と推定された。

ヒトでの文献に基づき、授乳中の女性の乳汁中への L-プロリンの排泄及び授乳中の乳児への L-プロリンの曝露について評価した。授乳中女性への IgPro10 投与に由来する乳児の L-プロリン摂取量は、乳タンパク質として自然に摂取される L-プロリン量よりもかなり低いか、あるいは、非経口栄養のためにアミノ酸溶液として投与される量よりもかなり低い。したがって、乳汁からの L-プロリン摂取は、乳児に影響を及ぼす可能性が低いと考えられる。このヒトに関する情報は、動物における L-プロリンの生殖発生毒性試験及び幼若動物を用いた試験の結果とと

もに、授乳中女性に IgPro10 を投与する場合の L-プロリンの安全性を担保していると考えられる。ヒトの文献情報に基づき、授乳中女性に IgPro10 を投与した場合、乳汁を介した乳児への L-プロリン摂取を使用上の注意（1.8）に含める必要性はないと考えられる。

IgPro10 をウサギに静脈内投与、静脈周囲投与、動脈内投与及び皮下投与した場合の忍容性は良好であった。添加物の L-プロリンは忍容可能な毒性プロファイルを示した。

結論として、IgPro10 及び L-プロリンの利用可能な非臨床試験データにより、IgPro10 の安全性及び添付文書の記載内容は十分に担保されると考えられた（1.8）。

2.4.6. 参考文献一覧

Achiron A, Mor F, Margalit R, Cohen IR, Lider O, Miron S. (2000) Suppression of experimental autoimmune encephalomyelitis by intravenously administered polyclonal immunoglobulins. J Autoimmun, 15, pp. 323-330.

Bavaresco CS, Streck EL, Netto CA, Wyse ATS. (2005) Chronic hyperprolinemia provokes a memory deficit in the Morris water maze task. Metab Brain Dis, 20, pp. 73-80.

BIBRA. (1992) Toxicity profile: 不純物Q* .

Bleeker WK, Agterberg J, Rigter G, de Vries-van Rossen A, Bakker JC. (1987) An animal model for the detection of hypotensive side effects of immunoglobulin preparations. Vox Sang, 52, pp. 281-290.

Blutgerinnung. (1979) In: Wissenschaftliche Tabellen Geigy: Physikalische Chemie, Blut, Humangenetik, Stoffwechsel von Xenobiotika, Ciba-Geigy Limited, Basle, Switzerland, 8th edition, pp. 199-209.

Delwing D, Bavaresco CS, Chiarani F, Wannmacher CMD, Wajner M, Dutra-Filho CS, Wyse ATS. (2003a) In vivo and in vitro effects of proline on some parameters of oxidative stress in rat brain. Brain Res, 991, pp. 180-186.

Delwing D, Bavaresco CS, Wannmacher CMD, Wajner M, Dutra-Filho CS, Wyse ATS. (2003b) Proline induces oxidative stress in cerebral cortex of rats. Int J Dev Neurosci, 21, pp. 105-110.

Delwing D, Chiarani F, Delwing D, Bavaresco CS, Wannmacher CMD, Wajner M, Wyse ATS. (2003c) Proline reduces acetylcholinesterase activity in cerebral cortex of rats. Metab Brain Dis, 18, pp. 79-86.

＊新薬承認情報提供時に置換

Delwing D, Chiarani F, Bavaresco CS, Wannmacher CMD, Wajner M, Dutra-Filho CS, Wyse ATS. (2005a) Protective effect of antioxidants on brain oxidative damage caused by proline administration. Neurosci Res, 52, pp. 69-74.

Delwing D, Chiarani F, Wannmacher CMD, Wajner M, Wyse ATS. (2005b) Effect of hyperprolinemia on acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase activities in rat. Amino Acids, 28, pp. 305-308.

Delwing D, Bavaresco CS, Monteiro SC, Matté C, Netto CA, Wyse ATS. (2006a) α-Tocopherol and ascorbic acid prevent memory deficits provoked by chronic hyperprolinemia in rats. Behav Brain Res, 168, pp. 185-189.

Delwing D, Delwing D, Sarkis JJF, Wyse ATS. (2006b) Proline induces alterations in nucleotide hydrolysis in rat blood serum. Mol Cell Biochem, 292, pp. 139-144.

Delwing D, Delwing D, Chiarani F, Kurek AG, Wyse ATS. (2007) Proline reduces brain cytochrome c oxidase: prevention by antioxidants. Int J Dev Neurosci, 25, pp. 17-22.

Druml W, Heinzel G, Kleinberger G. (2001) Amino acid kinetics in patients with sepsis. Am J Clin Nutr, 73, pp. 908-913.

Franzon R, Lamers ML, Stefanello FM, Wannmacher CMD, Wajner M, Wyse ATS. (2003) Evidence that oxidative stress is involved in the inhibitory effect of proline on Na+, K+-ATPase activity in synaptic plasma membrane of rat hippocampus. Int J Dev Neurosci, 21, pp. 303-307.

扶桑薬品工業株式会社 (2011) プレアミン-P 注射液 添付文書

Gasparoni A, Avanzini A, Probizer FR, Chirico G, Rondini G, Severi F. (1992) IgG subclasses compared in maternal and cord serum and breast milk. Arch Dis Child, 67, pp. 41-43.

Green NR, Savage JR. (1978) Screening of safrole, eugenol, their ninhydrin positive metabolites and selected secondary amines for potential mutagenicity. Mutat Res, 57, pp. 115-121.

Hagan JB, Wasserman RL, Baggish JS, Spycher MO, Berger M, Shashi V, Lohrmann E, Sullivan KE. (2012) Safety of L-proline as a stabilizer for immunoglobulin products. Expert Rev Clin Immunol, 8, pp. 169-178.

Kotera K, Tomiyama K, Ishimura K, Shinohara K, Hongo Y, Baba A, Yonezawa M, Tsuneyoshi F, Hatano M. (1982) Toxicological studies on amino acid solution (GO-80) III chronic toxicity in rabbit. Iyakuhin Kenkyu, 13 (1) 62-89.

Kroez M, Kanzy EJ, Gronski P, Dickneite G. (2003) Hypotension with intravenous immunoglobulin therapy: importance of pH and dimer formation. Biologicals, 31, pp. 277-286.

McMorrow IM, Comrack CA, Nazarey PP, Sachs DH, DerSimonian H. (1997) Relationship between ABO blood group and levels of Gal alpha,3 Galactose-reactive human immunoglobulin G1. Transplantation, 64, pp. 546-549.

Moreira JCF, Wannmacher CMD, Costa SM, Wajner M. (1989) Effect of proline administration on rat behavior in aversive and nonaversive tasks. Pharmacol Biochem Behav, 32, pp. 885-890.

Morell A. (1997) Pharmacokinetics of intravenous immunoglobulin preparations. In: Intravenous immunoglobulins in clinical practice, Eds. Lee ML and Srand V, Marcel Dekker, Inc., New York, Basel, Hong Kong. pp. 1-18.

Nadler JV, Wang A, Hakim A. (1988) Toxicity of L-proline toward rat hippocampal neurons. Brain Res, 456, pp. 168-172.

Palmeira P, Costa-Carvalho BT, Arslanian C, Pontes GN, Nagao AT, Carneiro-Sampaio MM. (2009) Transfer of antibodies across the placenta and in breast milk from mothers on intravenous immunoglobulin. Pediatr Allergy Immunol, 20, pp. 528-535.

Proline. (2005) In: Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acids. Panel on macronutrients, Food and Nutrition Board. Washington, D.C.: The National Academies Press, pp. 728-729.

Shanti ND, Shashikumar KC, Desai PV. (2004) Influence of proline on rat brain activities of alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase and acid phosphatase. Neurochem Res, 29, pp. 2197-2206.

Spycher MO, Bolli R, Hodler G, Gennari K, Hubsch A, Späth P, Schnorf J. (1999) Well-tolerated liquid intravenous immunoglobulin G preparations (IVIGs) have a low immunoglobulin G dimer (IgG-dimer) content. J Autoimmun (suppl), p. 96.

Tada Y, Yano N, Takahashi H, Yuzawa K, Ando H, Kubo Y, Nagasawa A, Ohashi N, Ogata A, Nakae D. (2010) Toxicological evaluation of L-proline in a 90-day feeding study with Fischer 344 rats. Regul Toxicol Pharmacol, 58, pp. 114-120.

Teschner W, Butterweck HA, Auer W, Muchitsch EM, Weber A, Liu SL, Wah PS, Schwarz HP. (2007) A new liquid, intravenous immunoglobulin product (IGIV 10%) highly purified by a state-of-the-art process. Vox Sang, 92, pp. 42-55.

Thamavit W, Pairojkul C, Tiwawech D, Shirai T, Ito N. (1994) Lack of promoting effect of proline on bile duct cancer development in dimethylnitrosamine-initiated hamster livers. Teratog Carcinog Mutagen, 14, pp. 169-174.

Tomlinson S, Nussenzweig V. (1997) Human alternative complement pathway-mediated lysis of rabbit erythrocytes is enhanced by natural anti-Galα1-3Gal antibodies. J Immunol, 159, pp. 5606-5609.

Tsuchitani M, Kuramoto T, Saito M, Sano M, Narama I. (1984) Chronic toxicity test of polyethylene glycol treated human immunoglobulin, lyophilized (GV-523) in rats by i.v. administration. Pharmacometrics, 27, pp. 39-62.

Watier H, Guillaumin JM, Piller F, Lacord M, Thibault G, Lebranchu Y, Monsigny M, Bardos P. (1996) Removal of terminal α-galactosyl residues from xenogeneic porcine endothelial cells. Transplantation, 62, pp. 105-113.

WHO/IPCS EHC63 (1986) Organophosphorus insecticides: a general introduction (International Programme on Chemical Safety, Environmental Health Criteria 63), Geneva, Switzerland, World Health Organization

Wolberg AS, Kon RH, Monroe DM, Hoffman M. (2000) Coagulation factor XI is a contaminant in intravenous immunoglobulin preparations. Am J Hematol, 65, pp. 30-34.