目次

2.6.1 緒言 3

略号一覧表

略号又は略称	名称及び内容
Ig	immunoglobulin（免疫グロブリン）
IV	intravenous（静脈内）
kDa	kilodalton（キロダルトン）
rHuPH20	recombinant human hyaluronidase PH20 ［ボルヒアルロニダーゼ アルファ（遺伝子組換え）］
SC	subcutaneous（皮下）

2.6.1 緒言

ダラツムマブ（遺伝子組換え）（以下，ダラツムマブ）は，腫瘍細胞に発現する膜貫通糖タンパク質の CD38 に対して高い結合親和性を示すヒト免疫グロブリン（Ig）G1κ抗体製剤で，複数の作用機序を介して抗腫瘍効果を示す。作用機序は，補体依存性細胞傷害作用，抗体依存性細胞傷害作用，抗体依存性細胞貪食作用及び Fcγ 受容体を介した腫瘍細胞と抗体間の架橋形成によるアポトーシス誘導での直接的な細胞傷害作用である。ダラツムマブは免疫抑制性のサブセットである CD38 陽性の制御性 T 細胞，骨髄由来免疫抑制細胞及び制御性 B 細胞を速やかかつ持続的に除去する[1)]ことに加え，CD38 酵素活性の調節や悪性骨髄腫細胞に対する傷害作用により，CD8 及び CD4 陽性 T 細胞のクローナルな増殖を誘導すると考えられている[1)，2)]。このようなダラツムマブの集合的な作用機序が患者で認められている深い奏効を相乗的にもたらすと推定される。ダラツムマブ点滴静注製剤（Dara-IV 製剤）は，多発性骨髄腫の治療薬として世界各国で承認されている。

ダラツムマブ皮下注製剤（Dara-SC 製剤，本剤）は，ダラツムマブとボルヒアルロニダーゼ アルファ（遺伝子組換え）（以下，rHuPH20）を含有する。rHuPH20 は皮下（SC）投与した薬剤の拡散及び吸収を促進する目的で使用されるエンドグリコシダーゼであり，ヒトヒアルロニダーゼ（PH20）の可溶性フラグメントをコードする DNA プラスミドを導入した哺乳類動物細胞から，分子量約 61 kDa のグリコシル化一本鎖タンパク質として産生される。

本邦での本剤の医薬品製造販売承認申請における効能・効果（案）及び用法・用量（案）は，以下のとおりとした。

【効能・効果（案）】
多発性骨髄腫
【用法・用量（案）】
他の抗悪性腫瘍剤との併用において，通常，成人にはダラツムマブ（遺伝子組換え）として，1 回 1,800 mg 及びボルヒアルロニダーゼ アルファ（遺伝子組換え）30,000 単位（2,000 単位/mL）を，併用する抗悪性腫瘍剤の投与サイクルを考慮して，以下の A 法又は B 法の投与間隔で皮下注射する。
A 法：1 週間間隔，2 週間間隔及び 4 週間間隔の順で投与する。
B 法：1 週間間隔，3 週間間隔及び 4 週間間隔の順で投与する。

2.6.1.1 参考文献

1） Chiu C, et al. Daratumumab in combination with lenalidomide plus dexamethasone induces clonality increase and T-cell expansion: results from a phase 3 randomized study (POLLUX). 58th Annual Meeting and Exposition of the American Society of Hematology; December 3-6, 2016; San Diego, CA. Abstract 4531.

2） van de Donk NWCJ, et al. Daratumumab in combination with lenalidomide plus dexamethasone results in persistent natural killer (NK) cells with a distinct phenotype and expansion of effector memory T-cells in Pollux, a phase 3 randomized study. Blood. 2017;130 (Supplement):3124.

目次

2.6.2 薬理試験の概要文 3
2.6.2.1 まとめ 3
2.6.2.2 効力を裏付ける試験 4
2.6.2.3 副次的薬理試験 16
2.6.2.4 安全性薬理試験 17
2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験 17
2.6.2.6 考察及び結論 17
2.6.2.7 図表 18
2.6.2.8 参考文献 18
2.6.3 薬理試験概要表 1

略号一覧表

略号又は略称	名称及び内容
ANOVA	analysis of variance（分散分析）
CHO	Chinese hamster ovary（チャイニーズハムスター卵巣）
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）
HA	hyaluronan，hyaluronic acid（ヒアルロン酸）
HE	hematoxylin and eosin（ヘマトキシリン・エオジン）
HSA	human serum albumin（ヒト血清アルブミン）
ID	intradermal（皮内）
IgG	immunoglobulin G（免疫グロブリン G）
IV	intravenous（静脈内）
MM	multiple myeloma（多発性骨髄腫）
rHuPH20	recombinant human hyaluronidase PH20 ［ボルヒアルロニダーゼ アルファ（遺伝子組換え）］
SC	subcutaneous（皮下）
SEM	standard error of the mean（標準誤差）
SII	swelling/induration index（腫脹及び硬結スコア）
U	Unit(s)
YMP	Yucan mini-pigs（ユカタン系ミニブタ）

2.6.2 薬理試験の概要文

2.6.2.1 まとめ

ダラツムマブ（遺伝子組換え）（以下，ダラツムマブ）は，分子量が約 148 kDa のヒト免疫グロブリン G1κ（IgG1κ）モノクローナル抗体であり，形質細胞及びその腫瘍細胞である多発性骨髄腫（MM）細胞の表面に発現する CD38 に特異的に結合する最初の治療薬である。ダラツムマブ点滴静注製剤（Dara-IV 製剤）は MM の治療薬として既に承認されている。

新たな皮下（SC）投与製剤であるダラツムマブ皮下注製剤（Dara-SC 製剤）は，ボルヒアルロニダーゼ アルファ（遺伝子組換え）（以下，rHuPH20）を含有する。rHuPH20 は，rHuPH20 と同時に SC 投与した治療薬の拡散及び吸収を促進する目的で使用される分子量 60～65 kDa のグリコシル化一本鎖タンパク質のエンドグリコシダーゼであり，ヒトヒアルロニダーゼ（PH20）の可溶性フラグメントをコードする DNA プラスミドを導入したチャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞で産生される。

2.6.2.1.1 効力を裏付ける試験

2.6.2.1.1.1 ダラツムマブ

ダラツムマブの効力を裏付ける試験は，「再発又は難治性の多発性骨髄腫」を効能・効果とした Dara-IV 製剤の初回申請時に提出されており，今回の承認申請にあたってダラツムマブの新たな薬理試験は実施されていない。

2.6.2.1.1.2 rHuPH20

rHuPH20 はグリコシル化一本鎖タンパク質であり，非分岐直鎖グリコサミノグリカンであるヒアルロン酸（HA）を基質とする。HA は細胞外マトリックスのゲル状構成成分の 1 つである。rHuPH20 は，投与部位の HA を脱重合し，細胞外マトリックスの粘性を一過性に低下させることにより大容量の液体の浸透性を増加させ，結果として SC 投与する治療薬の拡散及び吸収を促進させる[1)]。

HA の構造は動物種間で共通しており[2)]，rHuPH20 はマウス，ラット及びブタで薬理学的活性を示すため，これら動物を用いて rHuPH20 の効力を裏付ける試験を実施した。マウス及びラットを用いた検討では，ヒトの皮下スペースと類似し色素拡散を可視化しやすいことから，投与経路として皮内（ID）を選択した。また，トレーサー色素（[redacted]）の拡散を用いた手法は，マウス皮膚におけるヒアルロニダーゼの薬理活性を評価する方法として確立されている[3)]。さらに，ユカタン系ミニブタ（YMP）は，皮膚がヒトと解剖学的に類似し，臨床相当容量の治療用タンパク質を投与できる十分な体重とサイズであることから，SC 投与試験の動物種として用いた[4)]。

効力を裏付ける試験により，以下の結果を得た。

- マウスに rHuPH20（100 U/mL，4 U/匹に相当）を ID 投与したところ，溶媒投与群と比べて色素拡散面積が増大した。rHuPH20 による局所での拡散促進作用は投与 6 時間後までみ

られ，投与 18 時間以内に投与部位の皮下組織の再構築がみられたことから，rHuPH20 の拡散促進作用は一過性であることが示された。

- マウスに rHuPH20（1～30,000 U/mL，0.04～1,200 U/匹に相当）と色素をそれぞれ対側に ID 投与したところ，色素拡散の促進はみられなかったことから，rHuPH20 の拡散促進作用は局所性であることが示された。
- マウスに抗 rHuPH20 中和抗体を事前に静脈内（IV）投与したところ，ID 投与した rHuPH20（2,000 U/mL，80 U/匹に相当）による色素の拡散促進作用が抑制されなかったことから，rHuPH20 の拡散促進作用は局所性であることが確認された。
- ラットに rHuPH20（10,000 U/mL，500 又は 1,500 U/匹に相当）を ID 投与後，投与部位の皮膚組織の病理組織学的検査を行ったところ，rHuPH20 の局所皮膚反応性はみられなかった。
- ブタに rHuPH20（160 又は 2,000 U/mL，2,240 又は 100,000 U/匹に相当）を SC 投与したところ，ヒト IgG の大量 SC 投与（50 又は 300 mL）に伴う投与部位の腫脹及び硬結を減少させて皮膚の柔軟性及び血流量を維持することにより，SC 投与したヒト IgG の拡散を促進した。

2.6.2.1.2 安全性薬理試験

rHuPH20 の心血管系，呼吸系及び中枢神経系に及ぼす影響は，カニクイザル 39 週間反復 SC 投与毒性試験の中で評価した。最高用量である 2 mg/kg/週まで，投与に関連した影響はみられなかった。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

2.6.2.2.1 ダラツムマブ

該当資料なし

2.6.2.2.2 rHuPH20

2.6.2.2.2.1 一過性拡散促進作用

【評価資料 4.2.1.1.1】

雌 NCr nu/nu マウスに rHuPH20 と色素を同部位に ID 投与し，rHuPH20 の一過性の拡散促進作用を検討した。

NCr nu/nu マウスに rHuPH20（100 U/mL）又は溶媒 0.04 mL を左右両側に ID 投与し，0.5，1，6，18，24 及び 48 時間後に [redacted]%[redacted]色素液 0.04 mL を同部位に ID 投与した。色素投与 5 及び 20 分後に色素の拡散面積を測定し，各時点において溶媒投与群と比較した（two tailed *t*-test，$p<0.05$）。

色素投与 5 分後に色素拡散面積を測定したところ，投与 0.5，1 及び 6 時間後における rHuPH20 投与群の色素拡散面積は，各時点の溶媒投与群より有意に増加した（図 2.6.2-1）。同様に色素投与 20 分後に測定したところ，rHuPH20 投与群の色素拡散面積は溶媒投与群と比べて投与 0.5 及び

1 時間後に有意に増加した（図 2.6.2-2）。rHuPH20 投与 18，24 及び 48 時間後の色素拡散面積は，同時点の溶媒投与群と比べて有意な差はなかった。

以上の結果から，投与 6 時間後まで rHuPH20 による局所での拡散促進作用がみられ，投与 18 時間以降はその作用が消失したことから，rHuPH20 の拡散促進作用は一過性であることが示され，18 時間以内に投与部位の皮下組織が再構築すると考えられた。

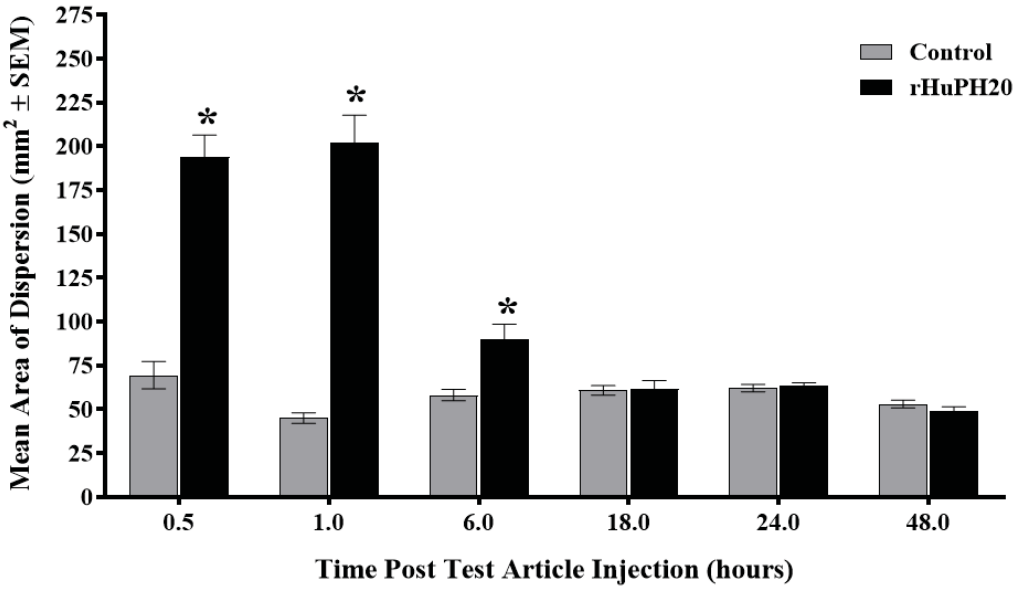


図 2.6.2-1 同部位に投与した色素に対する rHuPH20 の一過性拡散促進作用
（色素投与 5 分後）

Control；溶媒投与群，n=5~6，平均値±SEM，*p<0.05 vs 溶媒投与群（two tailed *t*-test）

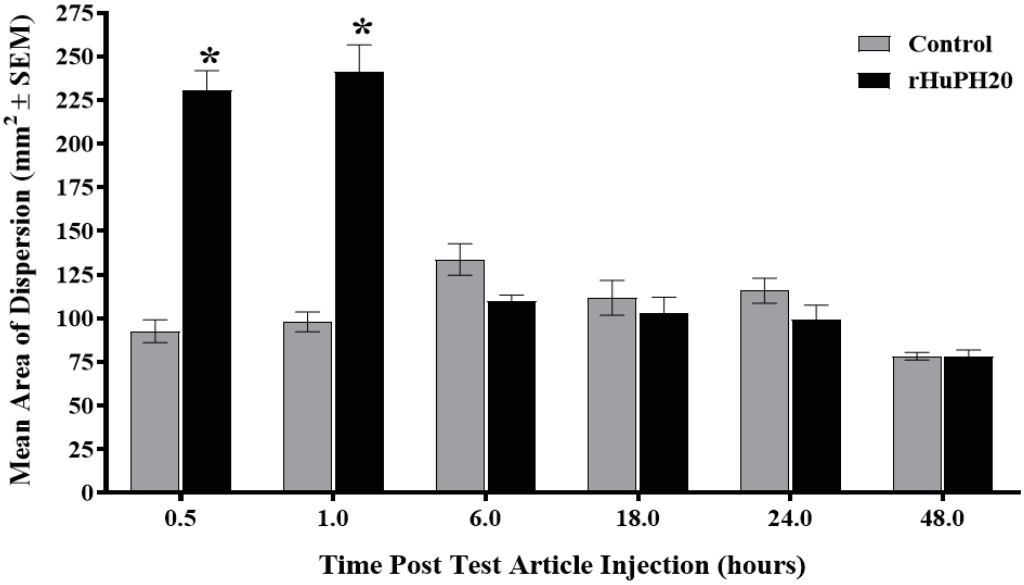


図 2.6.2-2 同部位に投与した色素に対する rHuPH20 の一過性拡散促進作用
（色素投与 20 分後）

Control；溶媒投与群，n=5~6，平均値±SEM，*p<0.05 vs 溶媒投与群（two tailed *t*-test）

2.6.2.2.2.2 局所性拡散促進作用

【評価資料 4.2.1.1.2，4.2.1.1.3】

雌 NCr nu/nu マウスに rHuPH20 と色素を異なる部位に ID 投与（4.2.1.1.2），又は抗 rHuPH20 中和抗体を事前に IV 投与（4.2.1.1.3）し，rHuPH20 の拡散促進作用が局所性であることを検討した。

NCr nu/nu マウスに rHuPH20（1～30,000 U/mL，0.04～1,200 U/匹に相当）又は溶媒 0.04 mL を右側部に ID 投与し，45 分後に [redacted]%[redacted]色素液 0.04 mL を左側部に ID 投与した（4.2.1.1.2）。色素投与 5 及び 15 分後に色素拡散面積を測定し，各投与群間で比較した（ANOVA，$p<0.05$）。

色素投与 5 分後に色素拡散面積を測定したところ，rHuPH20 の拡散促進作用に濃度依存性はみられず，溶媒投与群を含めて各投与群間で差はみられなかった（図 2.6.2-3，溶媒投与群の平均値；63.89 mm^2，rHuPH20 投与群の平均値の範囲；55.54～69.73 mm^2）。色素投与 15 分後に測定した色素拡散面積も同様であった（図 2.6.2-4，溶媒投与群の平均値；73.21 mm^2，rHuPH20 投与群の平均値の範囲；61.64～76.15 mm^2）。

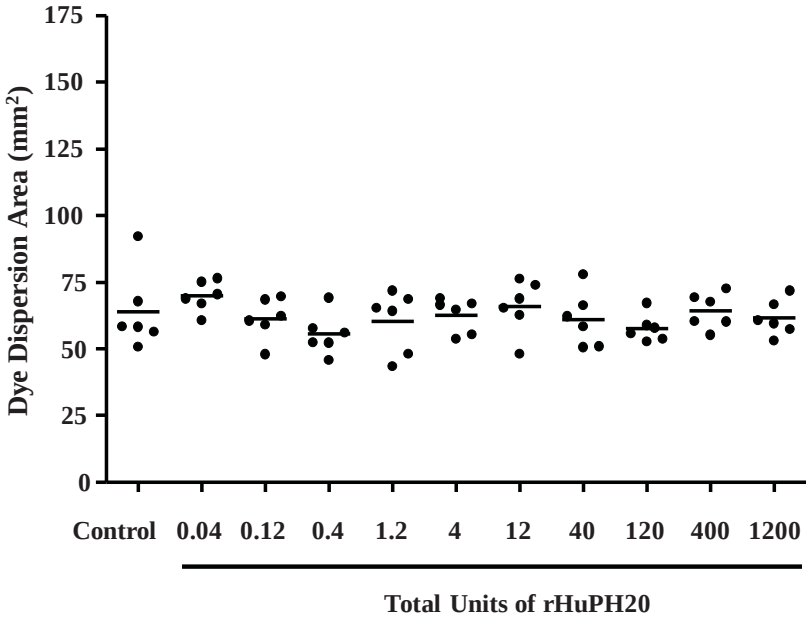


図 2.6.2-3 対側に投与した色素の拡散に対する rHuPH20 の作用（色素投与 5 分後）

Control；溶媒投与群，n=6，平均値，$p>0.05$ vs 溶媒投与群（ANOVA)

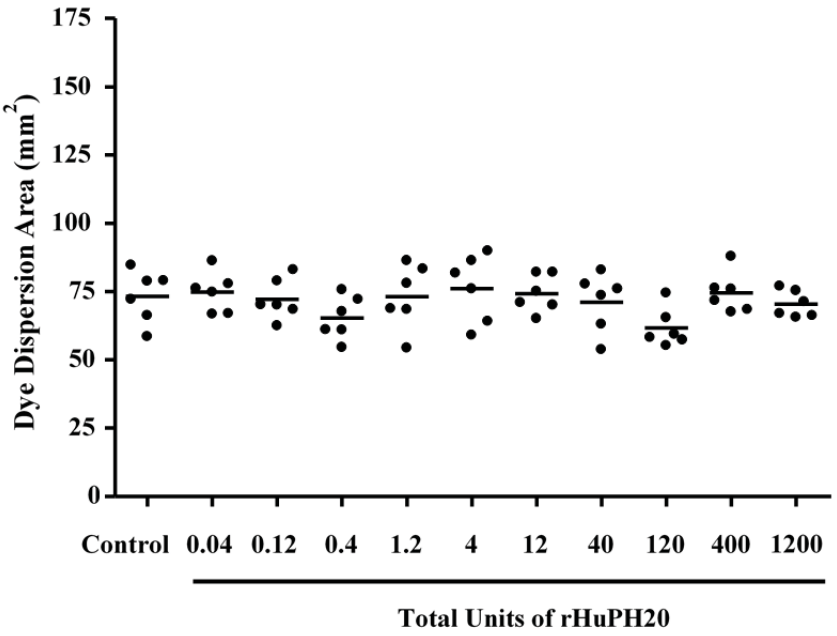


図 2.6.2-4 対側に投与した色素の拡散に対する rHuPH20 の作用（色素投与 15 分後）

Control；溶媒投与群，n=6，平均値，p>0.05 vs 溶媒投与群（ANOVA)

さらに，rHuPH20 の局所性拡散促進作用への抗 rHuPH20 ウサギポリクローナル中和抗体の影響についても検討した（4.2.1.1.3）。NCr nu/nu マウスに抗 rHuPH20 中和抗体（0，1，10 及び 100 μg/匹）を尾静脈より IV 投与し，24 時間後に rHuPH20（2,000 U/mL）又は溶媒と[redacted]色素液（最終濃度 [redacted]%）の混合液 0.04 mL を左側部に ID 投与した。各群における投与量及び投与経路を表 2.6.2-1 にまとめる。抗体による中和活性を確認するため，陽性対照群（1 群）では抗 rHuPH20 中和抗体と rHuPH20 を事前に混合して ID 投与した。投与前に各群の投与液における rHuPH20 活性を測定し，陽性対照群のみ抗体の中和により活性が低下したことを確認している。色素投与 5，15 及び 30 分後に色素拡散面積を測定し，各投与群間で比較した（ANOVA，$p \leq 0.05$）。

表 2.6.2-1 抗 rHuPH20 中和抗体を用いた試験の概要

投与群		抗 rHuPH20 中和抗体		rHuPH20	
		投与量（μg）	投与経路	投与量	投与経路
1	陽性対照群 [a]	37	ID	80 U （2,000 U/mL）	ID
2 3	溶媒対照群 [b]	0 100	IV	0 U	ID
4 5 6 7	rHuPH20 投与群 [b]	0 1 10 100	IV	80 U （2,000 U/mL）	ID

a; 抗 rHuPH20 中和抗体，rHuPH20 及び[redacted]色素液の混合液 0.04 mL を ID 投与
b; 抗 rHuPH20 中和抗体を事前 IV 投与後，rHuPH20 又は溶媒と[redacted]色素液の混合液 0.04 mL を ID 投与

色素投与 5 分後に色素拡散面積を測定したところ，[redacted]色素液のみ（2 群）又は抗 rHuPH20 中和抗体（IV）及び[redacted]色素液を投与し rHuPH20 を投与しなかった溶媒対

照群（3 群）では，色素拡散面積が最も小さかった。一方，rHuPH20 を投与した群（4～7 群）では色素拡散面積が増加し，この増加は抗 rHuPH20 中和抗体の IV 投与により抑制されず，中和抗体の作用に有意な用量依存性はみられなかった（表 2.6.2-2 及び図 2.6.2-5）。また，rHuPH20 を抗 rHuPH20 中和抗体と事前に混合して ID 投与した陽性対照群（1 群）の色素拡散面積は溶媒対照群と同程度であり，抗体の中和活性が確認された。ANOVA での解析の結果，それぞれ陽性及び溶媒対照群間（1～3 群間）及び rHuPH20 投与群間（4～7 群間）で差はみられず，陽性及び溶媒対照群（1～3 群）と rHuPH20 投与群（4～7 群）の間で有意な差が認められた（$p<0.05$）。

表 2.6.2-2 rHuPH20 の拡散促進作用に対する中和抗体の作用

投与群		色素拡散面積（mm^2）		
		投与 5 分後	投与 15 分後	投与 30 分後
1	陽性対照群	41.67 ± 3.14	47.46 ± 4.52	55.89 ± 3.78
2	溶媒対照群	40.20 ± 6.79	62.42 ± 5.85	68.62 ± 6.07
3		40.05 ± 4.81	49.97 ± 3.18	56.89 ± 2.28
4	rHuPH20 投与群	73.44 ± 6.38*	107.81 ± 9.86*	114.11 ± 4.55*
5		64.80 ± 3.08*	84.32 ± 5.96*	99.47 ± 8.26*
6		70.15 ± 4.13*	95.32 ± 6.71*	103.96 ± 5.25*
7		67.25 ± 2.15*	78.22 ± 5.69*	91.51 ± 5.36*

n=6，平均値±SEM，*p<0.05 rHuPH20 投与群（4~7 群）vs 溶媒対照群（1~3 群）（ANOVA)

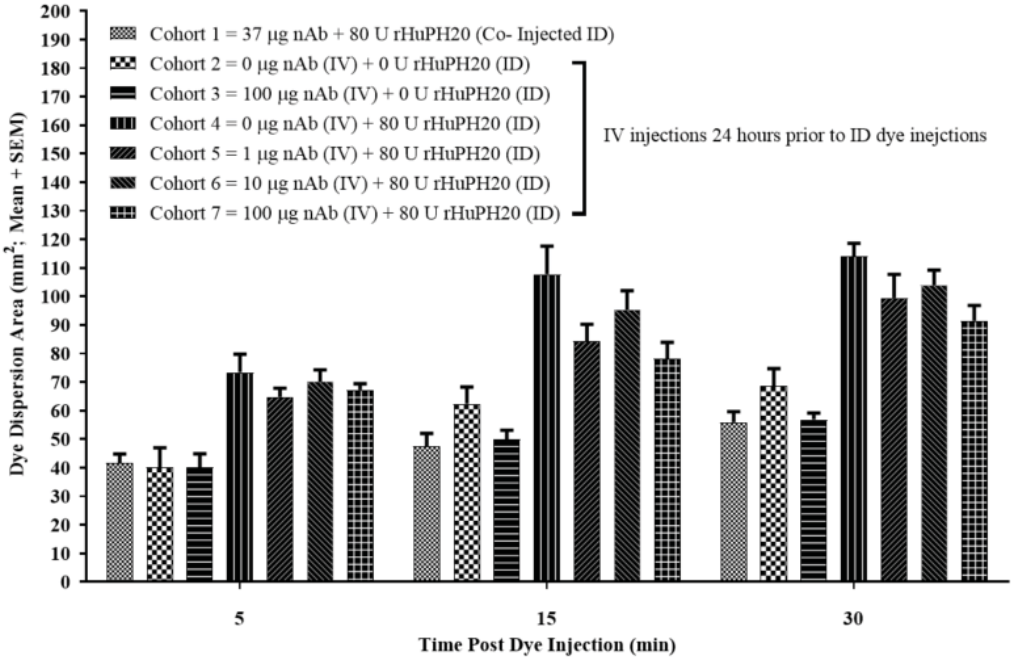


図 2.6.2-5 rHuPH20 の拡散促進作用に対する中和抗体の作用

n=6，平均値+SEM，nAb；抗 rHuPH20 中和抗体

以上のように，rHuPH20 は対側に ID 投与した色素の拡散に影響を及ぼさず，また，IV 投与した抗 rHuPH20 中和抗体によって rHuPH20 の拡散促進作用が抑制されなかったことから，rHuPH20 の拡散促進作用は局所性であることが示された。

2.6.2.2.2.3 投与液の局所皮膚反応性に及ぼす影響

【評価資料 4.2.1.1.4】

マウスを用いた効力を裏付ける試験で用いた溶媒中のヒト血清アルブミン（HSA）及び rHuPH20，並びに ID 投与容量による局所皮膚反応性を検討した。

雌 Sprague-Dawley ラットを 8 群に分け（各群 6 例），HSA 不含又は含有のヒスチジン緩衝液（Buffer 1 又は Buffer 2），rHuPH20（10,000 U/mL）不含又は含有の投与液をそれぞれ 0.05 又は 0.15 mL の容量で ID 投与した。投与 48 及び 120 時間後（それぞれ各群 3 例）に投与部位の皮膚組織を採取し，病理組織学的検査を行った。各試験群の概要を表 2.6.2-3 にまとめる。

表 2.6.2-3 ラット局所皮膚反応性試験の概要

投与群		HSA（mg/mL）	投与経路	投与容量（mL）	rHuPH20（U/mL）
1	Buffer 1	0	ID	0.05	0
2	Buffer 1 + rHuPH20				10,000
3	Buffer 1			0.15	0
4	Buffer 1 + rHuPH20				10,000
5	Buffer 2	1.0		0.05	0
6	Buffer 2 + rHuPH20				10,000
7	Buffer 2			0.15	0
8	Buffer 2 + rHuPH20				10,000

Buffer 1; 10 mmol/L Histidine，130 mmol/L NaCl（pH 6.5），Buffer 2; Buffer 1 + 1 mg/mL HSA（pH 6.5）

投与 48 時間後の病理組織学的検査では，Buffer 1 のみを投与した 1 群（1/3 例）及び 3 群（2/3 例）において散発的かつ軽微な表皮の潰瘍又はびらんがみられたが，近傍の表皮の上皮細胞過形成を伴う真皮の炎症が注射針と一致した線状を示していたことから，いずれも ID 投与の手技によるものと考えられた。また，Buffer 2 を投与した 5，6 及び 7 群の各 1/3 例で表皮の潰瘍及びびらんを伴わず白血球の混在した滲出性炎症がみられたが，全て投与手技によるものと考えられた。投与 120 時間後の病理組織学的検査では，3，5 及び 8 群の各 1/3 例で散発的かつ軽微な真皮の限局的な炎症がみられたが，いずれも投与手技によるものであり，投与 48 時間後よりも所見の発現頻度は低かった。

以上の結果から，ヒスチジン含有緩衝液，HSA 及び rHuPH20，並びに投与容量に起因する局所皮膚反応性を示す所見はみられなかった。

2.6.2.2.2.4 IgG 抗体の SC 投与による皮膚変化に対する作用

【評価資料 4.2.1.1.5】

雌 YMP を用い，ヒト IgG の持続 SC 投与により生じる投与部位の皮膚変化に及ぼす rHuPH20 の影響を検討した。

溶媒又は rHuPH20（160 U/mL）14 mL を流速 2 mL/分で腹部に SC 投与後（事前 SC 投与），10%ヒト IgG 300 mL を流速 5 mL/分で同部位に持続 SC 投与した（IgG 持続 SC 投与）。投与部位の腫脹又は硬結の程度，並びに局所の皮膚変化として持続 SC 投与時の注入圧（インライン圧トランスデューサーを用いて連続的に測定），皮膚粘弾性（皮膚に設置したキュートメーターを用いて投与前後の皮膚柔軟性を比較），皮膚表面温度（携帯型赤外線センサーを用いて IgG 投与前，

投与期間中及び投与後に測定），腫脹容積及び面積（デジタルキャリパーを用いて IgG 投与後に測定），腫脹及び硬結スコア（SII），並びに投与部位の病理組織学的検査により評価した。

rHuPH20 を事前に SC 投与することにより，IgG の持続 SC 投与期間の平均注入圧が有意に低下するとともに，全投与期間を通じた平均注入圧が約 39%低下した（表 2.6.2-4）。

表 2.6.2-4 YMP における持続 SC 投与時の平均注入圧

測定期間	溶媒投与群 （mmHg ± SEM）	rHuPH20 投与群 （mmHg ± SEM）
事前 SC 投与期間 [a]	33.5 ± 0.3	29.2 ± 0.1*
IgG 持続 SC 投与期間 [b]	202.6 ± 0.5	123.2 ± 0.1*
全投与期間 [c]	184.9 ± 0.9	113.3 ± 0.5*

a; 溶媒又は rHuPH20 14 mL（2 mL/分）の投与期間（0~7 分），
b; IgG 300 mL（5 mL/分）の投与期間（7~67 分），c; 全投与期間（0~67 分）
n=9，*p<0.05 vs 溶媒投与群（two-tailed parametric paired *t*-test）

投与部位の皮膚粘弾性は，皮膚に設置したキュートメーターのプローブ開口部内への陰圧により吸引された皮膚の高さ（伸長）を測定することにより評価した。

溶媒投与群と rHuPH20 投与群間で，針刺入前の皮膚粘弾性ベースライン値に差がないことを確認した（p>0.05）。IgG 持続 SC 投与完了後に同部位の皮膚粘弾性を測定したところ，溶媒投与群の平均伸長はベースライン値から 0.3 mm 減少し，rHuPH20 投与群の平均伸長はベースライン値から 0.2 mm 増加した（表 2.6.2-5）。溶媒投与群と比べて rHuPH20 投与群では有意に柔軟性が高く（p<0.05），rHuPH20 を事前に投与することにより大量の IgG 持続 SC 投与後も皮膚柔軟性が維持されることが示唆された。

表 2.6.2-5 YMP における SC 投与部位の皮膚粘弾性評価

測定項目	溶媒投与群 （mm ± SEM）	rHuPH20 投与群 （mm ± SEM）
ベースライン時の平均伸長	1.5 ± 0.2	1.4 ± 0.2
IgG 持続 SC 投与完了後の平均伸長	1.2 ± 0.1	1.6 ± 0.1
投与前後の平均伸長の変化	-0.3 ± 0.2	0.2 ± 0.2*

n=6，*p<0.05 vs 溶媒投与群（two-tailed parametric paired *t*-test）

投与部位の皮膚表面温度は，溶媒投与群と rHuPH20 投与群間で比較することにより評価した。

溶媒投与群と rHuPH20 投与群間で，ベースライン時の皮膚表面温度に差がないことを確認した（p>0.05）。IgG 持続 SC 投与の中間時点（30 分後）及び終了時点（60 分後）の皮膚表面温度を測定したところ，いずれの時点においても溶媒投与群と比べて rHuPH20 投与群で有意に高く（p<0.05），溶媒投与群で皮膚表面温度の低下が大きかった（表 2.6.2-6）。

表 2.6.2-6 YMP における投与部位の皮膚表面温度の評価

測定時間	溶媒投与群 （°C ± SEM）	rHuPH20 投与群 （°C ± SEM）
-7 分（ベースライン時点）	34.0 ± 0.3	34.1 ± 0.3
30 分（IgG 持続 SC 投与期間の中間時点）	27.0 ± 0.4	28.6 ± 0.8*
60 分（IgG 持続 SC 投与期間の終了時点）	26.3 ± 0.5	28.1 ± 0.9*

n=9，平均値±SEM，*p<0.05 vs 溶媒投与群（two-tailed parametric paired *t*-test）

IgG 持続 SC 投与後，腫脹容積及び面積をデジタルキャリパーで測定することにより評価した。rHuPH20 の事前投与により，持続投与後の腫脹容積及び面積は溶媒投与群と比べてそれぞれ 82%及び 54%低下し，有意な差がみられた（$p<0.05$，表 2.6.2-7）。

表 2.6.2-7 YMP における投与部位の腫脹容積及び面積

測定項目	溶媒投与群	rHuPH20 投与群
腫脹容積（cm^3 ± SEM）	326.5 ± 16.5	60.3 ± 21.9*
腫脹面積（cm^2 ± SEM）	169.0 ± 3.3	77.3 ± 16.6*

n=9，*p<0.05 vs 溶媒投与群（two-tailed parametric paired *t*-test）

また，投与部位の腫脹及び硬度を 0～4（0；所見なし～4；重度）の 5 段階に分類した定性的スコアから SII を算出し（腫脹及び硬度の各スコアの和/2），SII が 2 以上の場合を硬結と定義したところ，溶媒投与群では全例で硬結がみられたのに対して，rHuPH20 投与群では 2/9 例に発現頻度が有意に低下した。

IgG 持続 SC 投与 1，4 及び 8 日後，投与部位の皮膚から 5 箇所の試料をパンチングにより採取し，ヘマトキシリン・エオジン（HE）染色及びマッソントリクローム染色した組織の病理組織学的検査を行ったところ，溶媒投与群及び rHuPH20 投与群の両群でリンパ管拡張，浮腫，炎症，単核細胞浸潤及び出血がみられた。溶媒投与群では，rHuPH20 投与群に比べて投与 1 及び 4 日後の重症度スコアが高かった。投与 1 日後，溶媒投与群と比べて rHuPH20 投与群ではリンパ管拡張が強く，浮腫が弱かったが，投与 4 日目までに全ての病理組織学的所見は回復した。rHuPH20 投与群でみられたリンパ管拡張は，投与部位における IgG の拡散促進に寄与すると考えられる。投与 8 日後には，溶媒投与群と rHuPH20 投与群間で病理組織学的な差は認められなかった（表 2.6.2-8）。

表 2.6.2-8 YMP における投与局所の病理組織学的所見重症度スコアの比較

観察時点（IgG 持続 SC 投与後日数）	合計重症度スコア*		平均重症度スコア	
	溶媒投与群	rHuPH20 投与群	溶媒投与群	rHuPH20 投与群
1 日後	89	67	17.8	13.4
4 日後	59	17	11.8	3.4
8 日後	10	10	2.0	2.0

n=3，*；リンパ管拡張，浮腫，単核細胞浸潤，白血球又は好中球浸潤炎症，出血の 6 項目について重症度をスコアリング（0 = なし，1 = 軽微，2 = 軽度，3 = 中等度，4 = 高度）し，各群の発現例数と重症度スコアの積を合計した。

以上の結果から，YMP に rHuPH20 を事前に SC 投与することにより，大量の IgG 持続 SC 投与に伴う投与部位への影響（局所の腫脹，硬結，注入圧，皮膚柔軟性及び皮膚表面温度の変化）を減少させた。

2.6.2.2.2.5　IgG 抗体の SC 投与による皮膚表面血流量変化に対する作用

【評価資料 4.2.1.1.6】

雌 YMP を用い，溶媒又は rHuPH20 を事前 SC 投与後にヒト IgG を持続 SC 投与したときの腫脹及び硬結が投与部位の皮膚血流に及ぼす影響を検討した。

両側の腹部皮下にそれぞれ溶媒又は rHuPH20（160 U/mL）14 mL を流速 2 mL/分で事前 SC 投与後，10%ヒト IgG 300 mL を流速 5 mL/分で同部位に持続 SC 投与した。IgG の大量持続投与に伴う硬結による皮膚血流量の変化（レーザードップラー血流計を用いて測定），注入圧（インライン圧トランスデューサーを用いて連続的に測定），皮膚表面温度（携帯型赤外線センサーを用いて IgG 投与前，投与中及び投与後に測定），腫脹容積及び面積（デジタルキャリパーを用いて IgG 投与後に測定），SII，並びに投与部位の病理組織学的検査について評価した。

レーザードップラー血流画像解析では皮膚微小循環の血流量を連続的かつ非侵襲的に測定可能である。血流量の測定値は対象領域（ROI）内の血液潅流単位（flux，値は 0～1,000）として表され，flux 値が大きいほど皮膚の血液潅流量が多いことを意味する。溶媒又は rHuPH20 の事前投与から，IgG 持続 SC 投与の全投与期間における投与部位の血流潅流量を 5 分ごとに測定し，事前投与前のベースライン血流量からの変化率を算出した。

全投与期間におけるベースライン血流量からの変化率は，溶媒投与群と比べて rHuPH20 投与群で有意に小さく，平均変化率はそれぞれ-13.42%及び-1.6%であった（p<0.05，図 2.6.2-6）。さらに，レーザードップラー画像解析ソフト（[redacted]）を用い，flux 値（0～1,000）を 16 階級に区切って，最小血液潅流単位に相当する階級（0～62.5）の発現数（ピクセル数として算出）を経時的に示した（図 2.6.2-7）。全投与期間における最小血液潅流単位の平均発現数は，溶媒投与群及び rHuPH20 投与群でそれぞれ 269.8 及び 39.4 ピクセルであり，最小血液潅流単位を示した発現数は rHuPH20 投与群で有意に低かった（p<0.05）。

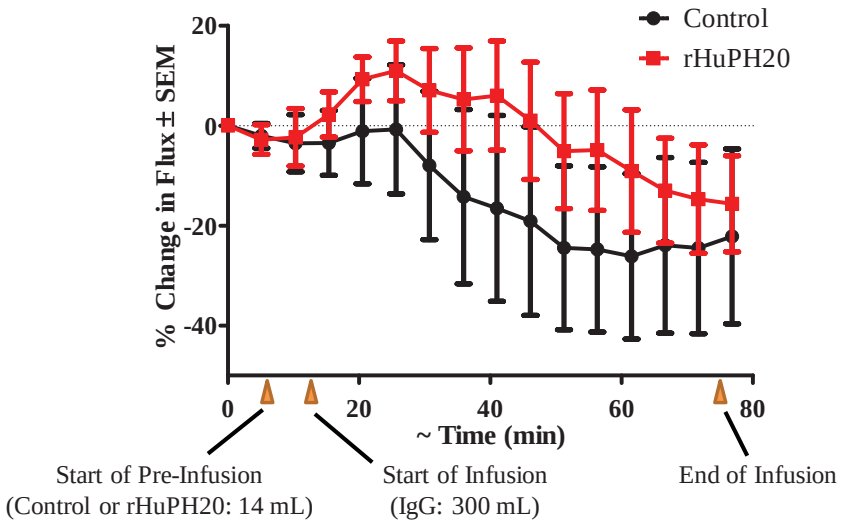


図 2.6.2-6 YMP における持続 SC 投与時の皮膚血流量の変化率

Control；溶媒投与群，平均値±SEM，n=5，p<0.05 vs 溶媒投与群（two-tailed parametric paired *t*-test）

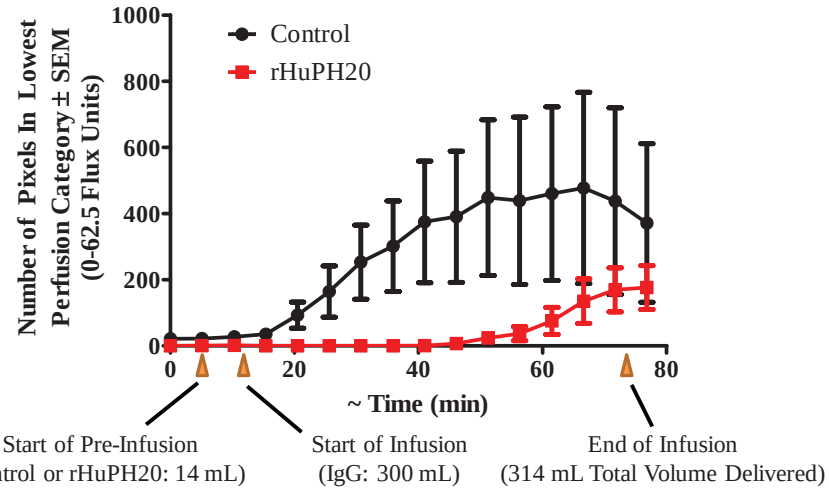


図 2.6.2-7 YMP における持続 SC 投与時の最小血液潅流量単位の発現推移

Control；溶媒投与群，平均値±SEM，n=5，p<0.05 vs 溶媒投与群（two-tailed parametric paired *t*-test）

溶媒又は rHuPH20 の事前 SC 投与期間，並びに IgG の持続 SC 投与期間中のインライン注入圧を測定したところ，いずれの期間においても rHuPH20 を事前 SC 投与することにより平均注入圧が有意に低下した（p<0.0001，表 2.6.2-9）。

表 2.6.2-9 YMP における持続 SC 投与時の平均注入圧

測定期間	溶媒投与群 （mmHg ± SEM）	rHuPH20 投与群 （mmHg ± SEM）
事前 SC 投与期間 [a]	62.0 ± 0.4	33.4 ± 0.2*
IgG 持続 SC 投与期間 [b]	192.9 ± 0.2	136.2 ± 0.1*
全投与期間 [c]	179.2 ± 0.7	125.4 ± 0.5*

a; 溶媒又は rHuPH20 14 mL（2 mL/分）の投与期間（0~7 分），b; IgG 300 mL（5 mL/分）の投与期間（7~67 分），
c; 全投与期間（0~67 分）
n=5，*p<0.0001 vs 溶媒投与群（two-tailed parametric paired *t*-test）

IgG 持続 SC 投与前，投与期間中及び投与後の投与部位における皮膚表面温度を測定したところ，IgG（室温）の投与により皮膚表面温度が低下した（表 2.6.2-10）。IgG 持続 SC 投与期間の皮膚表面温度は溶媒投与群と比較して rHuPH20 投与群で高い傾向がみられたものの，いずれの期間においても溶媒投与群と rHuPH20 投与群間の皮膚表面温度に有意な差はみられなかった（p>0.05）。

表 2.6.2-10 YMP における投与部位の皮膚表面温度評価

測定時間	溶媒投与群 （°C ± SEM）	rHuPH20 投与群 （°C ± SEM）
-7 分（ベースライン時点）	34.7 ± 0.2	34.8 ± 0.3
30 分（IgG 持続 SC 投与期間の中間時点）	26.7 ± 0.7	29.3 ± 1.3
60 分（IgG 持続 SC 投与期間の終了時点）	27.0 ± 0.5	29.1 ± 1.1

n=5，平均値±SEM，p>0.05 vs 溶媒投与群（two-tailed parametric paired *t*-test）

IgG 持続 SC 投与後，腫脹容積及び面積をデジタルキャリパーで測定することにより評価した。rHuPH20 の事前投与により，IgG 持続 SC 投与後の溶媒投与群と比べて rHuPH20 投与群の腫脹容

積及び面積がそれぞれ 10%及び 30%に有意に低下した（p<0.05，表 2.6.2-11）。また，SII のスコアから，溶媒投与群では全例で硬結がみられ，rHuPH20 投与群では硬結の発現が低下した。

表 2.6.2-11 YMP における投与部位の腫脹容積及び面積

測定項目	溶媒投与群	rHuPH20 投与群
腫脹容積（cm^3 ± SEM）	112.3 ± 29.1	11.0 ± 7.1*
腫脹面積（cm^2 ± SEM）	115.9 ± 16.4	35.0 ± 16.9*

n=5，平均値±SEM，*p<0.05 vs 溶媒投与群（two-tailed parametric paired *t*-test）

IgG 持続 SC 投与 1 及び 4 日後，投与部位の皮膚から 5 箇所の試料をパンチングにより採取し，HE 染色及びマッソントリクローム染色した組織の病理組織学的検査を行ったところ，溶媒投与群及び rHuPH20 投与群の両群でリンパ管拡張，浮腫，好中球浸潤炎症，マクロファージ及び／又は単核細胞浸潤がみられた。投与 1 日後では，溶媒投与群と比べて rHuPH20 投与群でリンパ管拡張の発現頻度及び重症度が高かったが，浮腫の発現頻度及び重症度は溶媒投与群と rHuPH20 投与群間で同程度であった。投与 4 日後では，両群でリンパ管拡張及び浮腫がみられたが，炎症は完全に消失した。溶媒投与群に比べ，rHuPH20 投与群で投与 4 日後の平均重症度スコアが低く，速やかな回復が認められた（表 2.6.2-12）。

表 2.6.2-12 YMP における投与部位の病理組織学的所見重症度スコアの比較

観察時点（IgG 持続 SC 投与後日数）	合計重症度スコア*		平均重症度スコア	
	溶媒投与群	rHuPH20 投与群	溶媒投与群	rHuPH20 投与群
1 日後	55	67	11.0	13.4
4 日後	42	23	8.4	4.6

n=5，*; リンパ管拡張，浮腫，白血球又は好中球浸潤炎症，マクロファージ又は単核細胞浸潤，筋線維変性の 7 項目について重症度をスコアリング（0 = なし，1 = 軽微，2 = 軽度，3 = 中等度，4 = 高度）し，各群の発現例数と重症度スコアの積を合計した。

以上の結果から，YMP に rHuPH20 を事前 SC 投与することにより，IgG の大量 SC 投与に伴う投与部位への影響（注入圧の上昇，局所の腫脹及び硬結）が減少した。さらに，レーザードップラー血流解析においても，rHuPH20 を投与することにより IgG の大量 SC 投与時も皮膚血流量が維持されていた。

2.6.2.2.2.6 IgG 抗体の同時 SC 投与による皮膚変化に対する作用

【評価資料 4.2.1.1.7】

雌 YMP を用い，ヒト IgG と rHuPH20 の混合液を SC 投与したときの rHuPH20 の拡散促進作用及び投与部位に対する作用を検討した。

溶媒又は rHuPH20（最終濃度；2,000 U/mL）とヒト IgG（最終濃度；15%）の混合液 50 mL を流速 2 mL/分で両側の腹部皮下に投与し，注入圧（インライン圧トランスデューサーを用いて連続的に測定），投与部位の腫脹面積及び容積（投与後にデジタルキャリパーを用いて測定），皮膚粘弾性（皮膚に設置したキュートメーターを用いて投与前後の皮膚柔軟性を比較），並びに皮膚血流量の変化（レーザードップラー血流計を用いて測定）について評価した。

溶媒又は rHuPH20 とともに IgG を投与したところ，全投与期間の平均注入圧はそれぞれ 70.3 又は 25.1 mmHg を示し，rHuPH20 投与により注入圧が有意に低下（64%，p<0.01）した（図 2.6.2-8）。

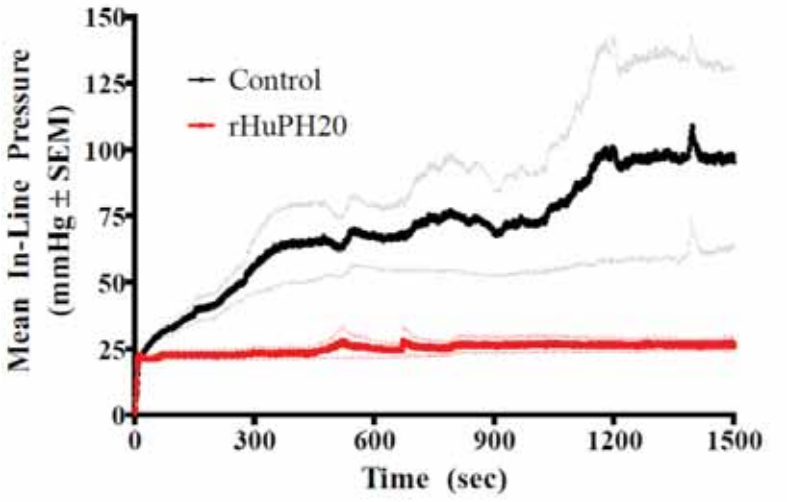


図 2.6.2-8 YMP における溶媒又は rHuPH20 と IgG 同時投与時の注入圧

Control；溶媒投与群，n=8，平均値±SEM，p<0.01 vs 溶媒投与群（two-tailed parametric paired *t*-test）

投与後の局所腫脹面積は，溶媒又は rHuPH20 との投与でそれぞれ 66.0 又は 77.8 cm^2 であり，rHuPH20 投与群で有意に広かった（p<0.05）。腫脹容積は，溶媒又は rHuPH20 投与でそれぞれ 58.7 又は 17.0 cm^3 であり，rHuPH20 投与群で有意に小さかった（71%低下，p<0.01，図 2.6.2-9）。

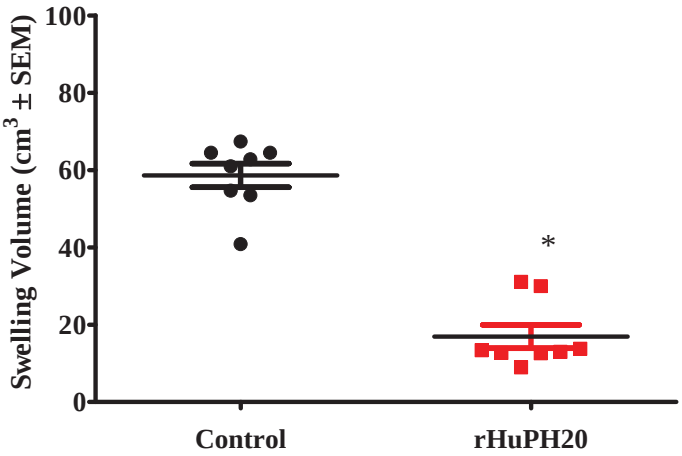


図 2.6.2-9 YMP における投与後の腫脹容積

Control；溶媒投与群，n=8，平均値±SEM，*p<0.01 vs 溶媒投与群（two-tailed parametric paired *t*-test）

投与前後の皮膚粘弾性（柔軟性）を測定し，その変化を評価した。溶媒投与群では-0.2 mm と柔軟性が低下していたのに対して rHuPH20 投与群では+0.3 mm であり，皮膚の柔軟性が維持されていた（p<0.01，図 2.6.2-10）。

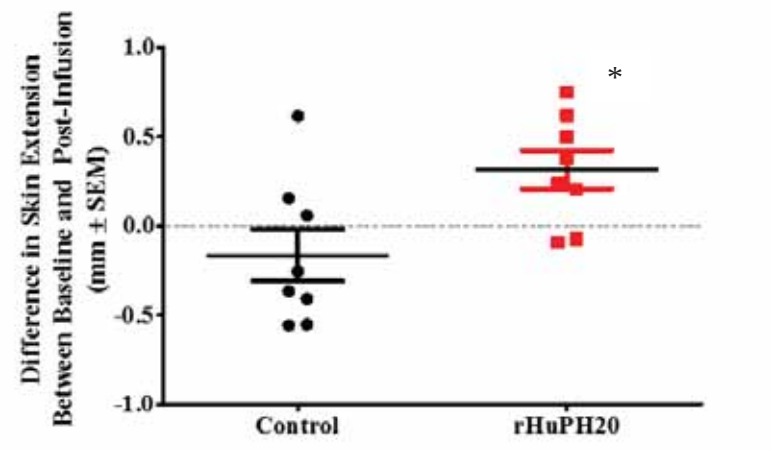


図 2.6.2-10 YMP における投与後の皮膚粘弾性の変化

Control；溶媒投与群，n=8，平均値±SEM，*p<0.01 vs 溶媒投与群（two-tailed parametric paired *t*-test）

投与前後及び投与期間中の皮膚血流量をレーザードップラー画像解析装置で測定し，投与前の血流量をベースラインとした変化率を算出した。全投与期間における皮膚血流量の平均変化率は，溶媒又は rHuPH20 投与群でそれぞれ-3.8%又は+0.2%であった（p<0.05，図 2.6.2-11）。

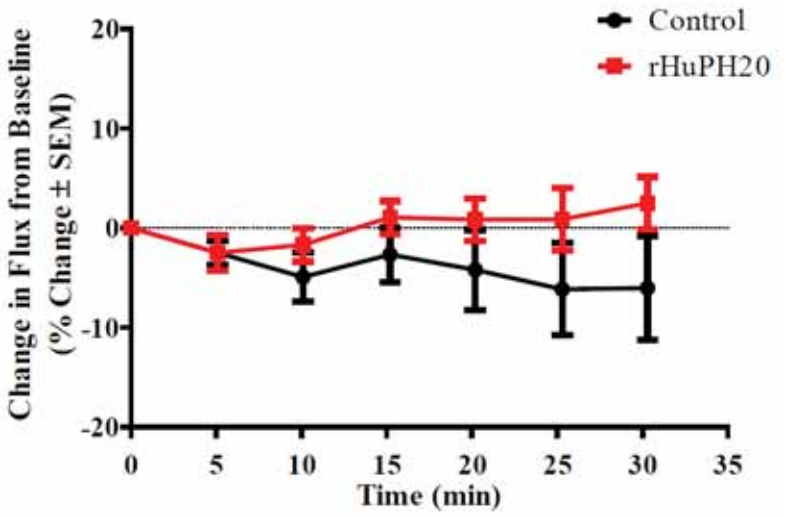


図 2.6.2-11 YMP における投与時の皮膚血流量の変化

Control；溶媒投与群，n=8，平均値±SEM，p<0.05 vs 溶媒投与群（two-tailed parametric paired *t*-test）

以上の結果から，rHuPH20（2,000 U/mL）の SC 投与は，皮膚の柔軟性及び血流量を維持するとともに，注入圧を低下し投与局所の腫脹及び硬結を抑制することで，同時に投与される 15%ヒト IgG の拡散促進に寄与すると考えられる。

2.6.2.3 副次的薬理試験

該当資料なし

2.6.2.4 安全性薬理試験

2.6.2.4.1 ダラツムマブ

該当資料なし

2.6.2.4.2 rHuPH20

【評価資料 4.2.3.2.2】

心血管系（血圧及び心電図），呼吸系（呼吸数）及び中枢神経系（一般状態観察）に及ぼす rHuPH20 の影響は，カニクイザル 39 週間反復 SC 投与毒性試験（GLP 試験，回復期間；4 週間）の中で評価した【2.6.6.3.1.2】。

カニクイザルに rHuPH20（0，0.02，0.2 及び 2 mg/kg/週）を週 1 回反復 SC 投与し，血圧及び呼吸数を反復投与期間（36 週目）及び回復期間（43 週目）に各 1 回，心電図を馴化期間，反復投与期間（13 及び 36 週目）及び回復期間（43 週目）に各 1 回測定し，一般状態を 1 日 2 回観察した。

最高用量である 2 mg/kg/週まで，心血管系，呼吸系及び中枢神経系に影響はみられなかった。

2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験

該当資料なし

2.6.2.6 考察及び結論

2.6.2.6.1 効力を裏付ける試験

マウスを用いて実施した一連の薬理試験において，ID 投与した rHuPH20 は同部位に投与した色素の拡散を促進させた。その作用は rHuPH20 投与後 6 時間まで観察され，18 時間後には消失していたことから一過性の作用であることが示された【2.6.2.2.2.1】。rHuPH20 の基質である HA の体内でのターンオーバーは速やかで[5)，6)，7)，8)]，皮下の結合組織は 24～48 時間以内に再生されることが報告されており[9)]，一過性作用を示したマウスでの結果と一致している[1)]。rHuPH20 と色素をそれぞれ対側に投与した試験では高用量の rHuPH20 投与群においても色素拡散の促進作用はみられず，また，抗 rHuPH20 中和抗体を IV 投与した試験では rHuPH20 による色素拡散の促進作用に対する抑制がみられなかったことから，rHuPH20 は局所性に作用することが示された【2.6.2.2.2.2】。マウスで rHuPH20 の色素拡散作用を検討した公表文献においても，同様に，rHuPH20 が一過性かつ局所性の拡散促進作用を有することが示されている。さらに，当該文献では rHuPH20 の拡散促進作用が濃度依存的であることも示されている[1)]。

ラットに rHuPH20 を ID 投与後，投与部位の皮膚組織を病理学的に観察したところ，rHuPH20 の ID 投与に関連した局所皮膚反応性を示す所見はみられなかった【2.6.2.2.2.3】。

YMP でヒト IgG の SC 投与に及ぼす rHuPH20 の影響を検討したところ，rHuPH20 を SC 投与することにより，大量の IgG SC 投与に伴う投与部位への影響である投与部位の腫脹，注入圧の上

昇及び皮膚表面温度の低下を軽減させ，皮膚の柔軟性及び血流量を維持した。その結果，IgG の SC 投与に伴う硬結の発現を抑制した【2.6.2.2.2.4，2.6.2.2.2.5，2.6.2.2.2.6】。

以上のマウス，ラット及びブタを用いた試験の結果から，rHuPH20 が一過性かつ局所性に拡散促進作用を示し，SC 投与する薬剤の拡散を促進することが示された。

2.6.2.6.2 安全性薬理試験

心血管系，呼吸系及び中枢神経系に及ぼす rHuPH20 の影響は，カニクイザル 39 週間反復 SC 投与毒性試験の中で評価した。最高用量である 2 mg/kg/週まで，心血管系，呼吸系及び中枢神経系に影響はみられなかった【2.6.2.4.2 及び 2.6.6.3.1.2】。

2.6.2.7 図表

図表は本文中に記載した。

2.6.2.8 参考文献

1） Bookbinder LH, et al. A recombinant human enzyme for enhanced interstitial transport of therapeutics. J Control Release. 2006;114:230-41.

2） Grandoch M, et al. Hyaluronan: A Master Switch Between Vascular Homeostasis and Inflammation. Circ Res. 2018;122:1341-3.

3） Frost GI. Recombinant human hyaluronidase (rHuPH20): an enabling platform for subcutaneous drug and fluid administration. Expert Opin Drug Deliv. 2007;4:427-40.

4） Kang DW, et al. Porcine model to evaluate local tissue tolerability associated with subcutaneous delivery of protein. J Pharmacol Toxicol Methods. 2013;67:140-7.

5） Fraser JR, et al. Plasma clearance, tissue distribution and metabolism of hyaluronic acid injected intravenously in the rabbit. Biochem J. 1981;200:415-24.

6） Fraser JR, et al. Hyaluronan: its nature, distribution, functions and turnover. J Intern Med. 1997;242:27-33.

7） Jadin L, et al. Characterization of a novel recombinant hyaluronan binding protein for tissue hyaluronan detection. J Histochem Cytochem. 2014;62:672-83.

8） Laurent UBG, et al. Turnover of hyaluronan in the tissues. Adv Drug Deliv Rev. 1991;7:237-56.

9） Bywaters EG, et al. Reconstitution of the dermal barrier to dye spread after hyaluronidase injection. Br Med J. 1951;2:1178-83.

2.6.3 薬理試験概要表

2.6.3.1 薬理試験：一覧表

Test Article: rHuPH20

Type of Study	Test System	Method of Administration	GLP	Test Facility	Study No./ Location in CTD
Primary Pharmacodynamics					
Dye dispersion / dermal reconstitution	Mice/NCr nu/nu	ID	No	Halozyme, US	R08103/ 4.2.1.1.1
Dye dispersion at distal sites of injection	Mice/NCr nu/nu	ID	No	Halozyme, US	R09022/ 4.2.1.1.2
Dye dispersion	Mice/NCr nu/nu	ID	No	Halozyme, US	R09109/ 4.2.1.1.3
Local skin reaction assessment	Rat/Sprague-Dawley	ID	No	Halozyme, US	R09090/ 4.2.1.1.4
Induration assessment	Pig/Yucatan Micro	SC	No	Halozyme, US	11018/ 4.2.1.1.5
Induration assessment	Pig/Yucatan Micro	SC	No	Halozyme, US	11028/ 4.2.1.1.6
Local infusion site evaluation	Pig/Yucatan Micro	SC	No	Halozyme, US	11125/ 4.2.1.1.7
Safety Pharmacology					
A 39-week toxicity study of rHuPH20 administered subcutaneously in cynomolgus monkeys with a recovery phase	Monkey/Cynomolgus	SC	Yes	[redacted], US	R09050/ 4.2.3.2.2

GLP = Good Laboratory Practice; ID = intradermal; rHuPH20 = recombinant human hyaluronidase PH20; SC = subcutaneous

2.6.3.2　効力を裏付ける試験

効力を裏付ける試験の詳細は概要文中に記載した

2.6.3.3　副次的薬理試験

該当資料なし

2.6.3.4　安全性薬理試験

安全性薬理試験の詳細は概要文中に記載した

2.6.3.5　薬力学的薬物相互作用試験

該当資料なし