メプセヴィ点滴静注液 10mg

第 2 部（モジュール 2）：CTD の概要（サマリー）

2.4　非臨床試験の概括評価

アミカス・セラピューティクス株式会社

目次

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 6
2.4.3　薬物動態試験 13
2.4.4　毒性試験 17
2.4.5　総括及び結論 25
2.4.6　参考文献 28

略語一覧

ADA	抗薬物抗体
AUC	血漿中濃度－時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}inf}$	投与後 0 時間から無限大までの血漿中濃度－時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}t}$	投与後 0 時間から最終測定可能時点までの血漿中濃度－時間曲線下面積
BMT	骨髄移植
BW	体重
CDER	医薬品評価研究センター
CFR	米国連邦規則
CHO	チャイニーズハムスター卵巣
CIM6PR	カチオン非依存性マンノース 6 リン酸受容体
CL	静脈内投与後の薬物の総クリアランス
C_{max}	最高血中濃度
CNS	中枢神経系
[redacted]	[redacted]
CTD	コモン・テクニカル・ドキュメント
CV	心血管
CV	変動係数
DART	生殖発生毒性
DMB	ジメチルメチレンブルー
DNA	デオキシリボ核酸
DPH	ジフェンヒドラミン
DRF	用量範囲設定
EFD	胚・胎児発生
ELISA	酵素免疫測定法
ERT	酵素補充療法
FDA	米国食品医薬品局
g	グラム
GAG	グリコサミノグリカン
GD	妊娠日数
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
GUS	β-グルクロニダーゼ
gus^{mps}/gus^{mps}	ムコ多糖症VII型マウス

h, hr	時間
ICH	日米 EU 医薬品規制調和国際会議
IV	静脈内
K_{uptake}	細胞内への最大取り込み量の 50%が得られる酵素濃度
kDa	キロダルトン
LD	授乳日
LSD	ライソゾーム病
mg/kg	ミリグラムパーキログラム
MHLW	厚生労働省
mL	ミリリットル
MPS	ムコ多糖症
MPS I	ムコ多糖症I型、ハーラー症候群若しくはシャイエ症候群、又はハーラー・シャイエ症候群（α-L-イズロニダーゼ欠損症）
MPS II	ムコ多糖症II型、ハンター症候群（イズロン酸-2-スルファターゼ欠損症）
MPS IVA	ムコ多糖症IV-A 型、モルキオ症候群（ガラクトース 6-スルファターゼ欠損症）
MPS VI	ムコ多糖症VI型、マロトー・ラミー症候群（N-アセチルガラクトサミン-4-スルファターゼ欠損症）
MPS VII	ムコ多糖症VII型、スライ症候群（β-グルクロニダーゼ欠損症）
M6P	マンノース 6 リン酸
nM	ナノモル
NOAEL	無毒性量
NRE	非還元末端
NZW	New Zealand White ウサギ
OECD	経済協力開発機構
PD	薬力学
PK	薬物動態
PPND	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
QOW	隔週
r^2	決定係数
rhGUS	遺伝子組換えヒト β-グルクロニダーゼ
rmGUS	遺伝子組換えマウス β-グルクロニダーゼ
SD	標準偏差
SD rat	Sprague Dawley ラット
$T_{1/2}$	半減期
TK	トキシコキネティクス

uGAG	尿中グリコサミノグリカン
US	米国
UX003	遺伝子組換えヒトβ-グルクロニダーゼ
Vz	分布容積

2.4　非臨床試験の概括評価

2.4.1　非臨床試験計画概略

UX003（遺伝子組換えヒト β-グルクロニダーゼ、rhGUS）は遺伝子組換えヒトタンパク質であり、既承認薬がない重度の多系統ライソゾーム病（LSD）であるムコ多糖症VII型（MPS VII）に対する酵素補充療法（ERT）治療薬として開発が進められている。

ムコ多糖症（MPS）は、グリコサミノグリカン（GAG）の段階的分解に関与する酵素の欠損によって生じる遺伝性ライソゾーム病である。ムコ多糖症は各病型で多くの特徴が類似しているが、欠損している酵素や組織への GAG の蓄積によって生じる症状が異なることから、それぞれ明確に分類できる別個の疾患である。MPS VII型（MPS 7 型、スライ症候群）は、β-グルクロニダーゼ（GUS）が欠損している進行性消耗性かつ生命を脅かす極めてまれなライソゾーム病である。MPS VII 型は、ムコ多糖症の中でも非常にまれなタイプであり（推定有病率は 100 万人に 1 人［Orphanet 2019］）。MPS VII型では、出生時に胎児水腫、又は青年期若しくは成人期に骨疾患やその他の症状を伴う臨床所見を認めることがある。また、特異顔貌、肺疾患、心血管合併症、肝脾腫、関節硬直、低身長、認知障害、多発性異骨症など、MPS で一般的な様々な臨床的特徴が見られる（Neufeld et al. 2001）。MPS VII型患者のほとんどは、様々な医学的問題により 10～20 歳未満で死亡する（Montano et al. 2016）。MPS VII型は極めてまれな疾患である上、患者によって症状の発現、重症度及び進行が大きく異なるため、UX003 の臨床開発プログラムは大きな困難を伴うものとなった。

約 20 年に及ぶ非臨床研究において MPS VII 型動物モデルに対する酵素補充療法（ERT）治療薬の有効性が示され、他の 4 つの MPS 型（MPS I型、MPS II型、MPS IV-A 型、及び MPS VI型）でも ERT 治療薬の効果が認められているが、MPS VII型を適応とした既承認薬はない。MPS VII型が極めてまれな疾患であり、従来の臨床試験デザインで必要な症例数や評価項目を設定することは現実的ではないため、治療薬の開発は進んでいなかった。そのため、UX003（rhGUS）の開発プログラムでは、MPS VII型患者を対象とした ERT 治療薬の安全性や有効性の評価にあたり、ERT 治療薬に関する広範な非臨床データが反映されるように工夫を行った。

UX003 は遺伝子操作された安定したチャイニーズハムスター卵巣細胞株を使用して生産される遺伝子組換えヒト GUS であり、外因性の活性 GUS を細胞内ライソゾームに取り込むことで不活性又は欠損した内因性 GUS を補充することを意図している。オリゴ糖鎖上にあるマンノース 6 リン酸（M6P）残基を介して GUS が細胞表面受容体と結合し、GUS が細胞内に移行し、ライソゾーム及び組織に蓄積した GAG の異化が起こる。

rhGUS の薬理学的活性のエビデンスは *in vitro* 及び *in vivo* 試験で確立されている。rhGUS の細胞内移行は、MPS VII型患者由来のヒト線維芽細胞を用いた *in vitro* 試験で確認されている。MPS VII型モデルマウスを用いた多くの公表論文では、遺伝子組換え GUS が多くの組織に分布し、ライソゾーム内の GAG 蓄積を大幅に減少又は抑制することが示されている（Vogler et al. 2005、Sly et al. 2006）。

UX003 を最大 4 mg/kg の用量で隔週長期間静脈内投与する用法の妥当性を裏付けるため、包括的な非臨床プログラムを計画し、実施した。UX003 の薬理学的活性のエビデンスは *in vitro* 及び *in vivo* 試験で確立されている。さらに、公表論文（O'Connor et al. 1998、Sands et al. 1994、Sands et al. 1997、Sands et al. 2001、Vogler et al. 1996、Vogler et al. 2005）、研究者により収集された試料におけるライソゾーム内 GAG 蓄積の盲検下病理学的再評価（Vogler et al. 2005 並びに [redacted]

20022037-1 及び 20022037-2）、及び Ultragenyx がスポンサーの試験（UX003-PC001）では、MPS VII型モデルマウスに対する遺伝子組換え GUS 投与によりライソゾーム内の GAG 蓄積が大幅に減少又は抑制されることが示されている。

UX003 を静脈内投与したときの非臨床薬物動態（PK）は、SD ラットを用いた単回投与毒性試験及び中枢神経系安全性薬理試験（GLP 適用、UX003-PC002）、並びにカニクイザルを用いた 26 週間反復投与毒性試験及び心血管系安全性薬理併合試験（GLP適用、UX003-PC003）でのトキシコキネティクス（TK）評価の一部として評価した。ラット及びウサギを用いた静脈内投与生殖発生毒性（DART）試験（SD ラット：UX003-PC007、UX003-PC008 及び UX003-PC010、ウサギ：UX003-PC006 及び UX003-PC009）では、限定的な TK 採血を行った。UX003 の組織への分布は、MPS VII型モデルマウスを用いた試験（UX003-PC001）及び雄 SD ラットを用いた単回投与試験（GLP 非適用、UX003-PC005）で評価した。いずれの試験でも、rhGUS 活性の存在又は組織中ライソゾーム内 GAG 蓄積減少のエビデンス、若しくは組織中 GAG 濃度測定のいずれかで、UX003 が組織に分布していることが示された。安全性薬理は複数の Ultragenyx がスポンサーの GLP 適用試験で評価した。UX003-PC004 試験では、SD ラットを用いて UX003 の呼吸器系への影響を評価した。UX003 の中枢神経系（CNS）及び心血管（CV）系への影響は、SD ラットを用いた急性毒性試験（UX003-PC002）と若齢カニクイザルを用いた 26 週間慢性毒性試験（UX003-PC003）の結果を合わせて評価した。

UX003 を静脈内投与したときの非臨床毒性特性は、以下の Ultragenyx がスポンサーの複数の非臨床毒性試験で評価した。1) Sprague Dawley（SD）ラットを用いた急性毒性試験（GLP 適用、UX003-PC002）、2) 若齢カニクイザルを用いた 26 週間慢性毒性試験（GLP 適用、UX003-PC003）、3) 免疫寛容の MPS VII型マウスを用いた 8 週間（及び 1 週間の回復期間）の生体内分布試験（UX003-PC001）、4) SD ラットを用いた用量範囲設定（DRF）予備試験（UX003-PC007）及びそれに続く受胎能及び胚・胎児発生（EFD）毒性試験（GLP 適用、UX003-PC008）、5) New Zealand White（NZW）ウサギを用いた DRF 予備試験（UX003-PC006）及びそれに続く EFD 毒性試験（GLP 適用、UX003-PC009）並びに 6) SD ラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する（PPND; Seg III）試験 （ GLP 適用、UX003-PC010） 。

まとめると、以下に示す詳細な非臨床データ及び既承認の酵素補充療法治療薬に関する先行データから、UX003 が安全に臨床使用できることが裏付けられた。

2.4.2　薬理試験

Ultragenyx は、効力を裏付ける試験を 1 件実施し、MPS VII型モデルマウスにおける UX003 の薬理作用を確認し、GLP に準拠した安全性薬理試験を 3 件実施して、UX003 が中枢神経系（CNS）、心血管（CV）系及び呼吸器系パラメータに及ぼす影響を評価した。遺伝子組換え β-グルクロニダーゼ（GUS）（遺伝子組換えマウス GUS［rmGUS］及び複数の遺伝子組換えヒト GUS［rhGUS］を含む）の非臨床の薬効薬理は、UX003 の開発前から、MPS VII型モデルマウスを用いた多くの発表済みの *in vitro* 試験及び *in vivo* 試験で幅広く評価されている。遺伝子組換え GUS は、種類が異なっても同様の薬理作用を示すと考えられる。

UX003 の細胞内取り込み、半減期及び主な薬力学的作用の裏付けとなる発表済みの *in vitro* 及び *in vivo* 試験、並びに Ultragenyx がスポンサーの効力を裏付ける試験及び GLP 適用安全性薬理試験の要約を、表 2.4.2.1 並びに第 2.6.2 項及び第 2.6.3 項に示す。

表 2.4.2.1：　非臨床薬理試験の概要

試験の種類	被験物質	試験系		投与方法	投与期間及び投与スケジュール	用量 (mg/kg)	GLP適用	試験依頼者の試験番号	概要表	CTD中の該当箇所
薬力学										
in vitro* 薬力学*試験										
rhGUSの細胞内半減期測定	UX003	MPS VII型患者由来ヒト線維芽細胞		*in vitro*	該当なし	1、2、又は4 μg/mL	非適用	UGNX-013	NA	4.2.2.3
効力を裏付ける試験										
rhGUS－uGAGと病理組織変化との関係を確認する生体内分布試験	UX003	MPS VII型マウス（MPS VII/E540A^{TG}）10～12週齢		IVボーラス投与	週1回8週間	0、0.1、0.25、1、4、20	非適用	UX003-PC001	NA	4.2.1.1
rhGUS[a]－組織内半減期、分布、蓄積GAGのクリアランス、及び試験依頼者による盲検下病理学的再評価	rhGUS	MPS VII型マウス（MPS VII/E540A^{TG}）	4～5週齢	IVボーラス投与	週1回×3	0.3、1、2.5又は5	非適用	発表論文 (Vogler et al. 2005)	NA	4.3
			8～12週齢		週1回×13	1、2又は4			NA	4.2.3.2
			15～16週齢		3回／週	20又は40		[redacted] 20022037-1 and 20022037-2		
			15～16週齢		週1回×4	20				
rhGUS[a]－PK、分布、蓄積GAGのクリアランス	rhGUS	MPS VII型マウス（MPS VII/E540A^{TG}）		IVボーラス投与	週1回×3	1	非適用	発表論文 (Sly et al. 2006)	NA	4.3
rmGUS－組織分布及びライソゾーム内GAG蓄積の減少	rmGUS	MPS VII型マウス（gus^{mps}/gus^{mps}）	新生児	IVボーラス投与	週1回×6	3.5-0.28	非適用	発表論文 (Sands et al.1994)	NA	4.3
			5週齢		単回投与	0.28				
rmGUS－生存期間及び発育の改善	rmGUS	MPS VII型マウス（gus^{mps}/gus^{mps}）	新生児	IVボーラス投与	週1回×6（殺処分までの期間は異なる）	3.5-0.28	非適用	発表論文 (Vogler et al. 1996)	NA	4.3

試験の種類	被験物質	試験系		投与方法	投与期間及び投与スケジュール	用量 (mg/kg)	GLP適用	試験依頼者の試験番号	概要表	CTD中の該当箇所
rmGUS－組織分布、ライソゾーム内GAG蓄積の減少、発育及び生存期間	rmGUS	MPS VII型マウス（gus^{mps}/gus^{mps}）	新生児	IVボーラス投与	週1回×6、月1回×11	3.5-0.28	非適用	発表論文 (Sands et al. 1997)	NA	4.3
			新生児		週1回×5、その後同系BMT	3.5-0.28				
			5週齢		月1回（最長1年）	0.28				
rmGUS－表現型、行動及び聴覚機能の改善	rmGUS	MPS VII型マウス（gus^{mps}/gus^{mps}）	新生児	IVボーラス投与	週1回×6	3.5-0.28	非適用	発表論文 (O'Connor et al. 1998)	NA	4.3
rmGUS－脳のライソゾーム内GAG蓄積の減少	rmGUS	MPS VII型マウス（gus^{mps}/gus^{mps}）	新生児 2週齢	IVボーラス投与	週1回を1、2、3、4、5、又は6回投与（各群2例又は3例）を0、1、2、3、4、5、又は6週目に開始（投与開始までの期間は異なる）	4.0	非適用	発表論文 (Vogler et al. 1999)	NA	4.3
安全性薬理試験										
中枢神経系（CNS）[b] SDラットを用いた単回投与毒性／TK／CNS安全性薬理試験	UX003	Sprague Dawleyラット		IV持続投与（2時間）	単回投与	0、6、20	適用	UX003-PC002	第2.6.3項、表2.6.3.4.1	4.2.1.3

試験の種類	被験物質	試験系	投与方法	投与期間及び投与スケジュール	用量 (mg/kg)	GLP適用	試験依頼者の試験番号	概要表	CTD中の該当箇所
呼吸器系 UX003をSprague Dawleyラットに静脈内投与したときの呼吸器系への影響に関する薬理学的評価	UX003	Sprague Dawleyラット	IV持続投与（2時間）	単回投与	0、6、20	適用	UX003-PC004	第2.6.3項、表2.6.3.4.1	4.2.1.3
心血管系（CV）[c] UX003の若齢カニクイザルにおける26週間静脈内投与（及び4週間の回復期間）毒性／TK／心血管系安全性試験	UX003	カニクイザル	IV持続投与（2時間）	隔週1回x 26週間、回復期間4週間	0、2、6、20	適用	UX003-PC003	第2.6.3項、表2.6.3.4.1	4.2.1.3

[a] この試験で使用した酵素は、[redacted]製剤のほか、Ultragenyx がスポンサーの非臨床試験及び臨床試験用物質の製造で使用する[redacted]するもので、従来の純化方法と同様の方法で製造したものである。

[b] SDラットを用いた単回投与毒性試験及びトキシコキネティクス（TK）は、中枢神経系安全性薬理試験と併せて実施した。

[c] カニクイザルを用いた26週間慢性毒性試験及びTKは、心血管系安全性薬理評価と併せて実施した。

rhGUS = 遺伝子組換えヒトGUS、rmGUS = 遺伝子組換えマウスGUS

NA = 概要表に記載されていない報告書及び／又は参考文献

2.4.2.1　効力を裏付ける試験

遺伝子組換え GUS の特定の効力を裏付ける試験として、これまでに MPS VII型モデルマウスを用いた多くの *in vitro* 試験及び *in vivo* 試験が発表されている。さらに Ultragenyx は、UX003 の薬理作用を確認する目的で効力を裏付ける試験を 1 件実施した。

MPS VII型患者由来のヒト線維芽細胞における rhGUS の取り込みは、*in vitro* 試験で確認されているように K_{uptake} 値が約 [redacted]～[redacted] nM となると飽和状態になる（第 3.2.S.4.4 項）。この取り込み能の高さは、他の遺伝子組換えヒト酵素補充療法治療薬と同様である（例えば、rh-イズロニダーゼでは 1～2 nM）。MPS VII型患者由来のヒト線維芽細胞における UX003 の細胞内半減期は約 40 日であり（UGNX-013 試験）、イズロニダーゼ（細胞内半減期 3～5 日）などの他の MPS 関連のライソゾーム酵素の約 8 倍に相当する（Kakkis et al. 1994）。

uGAG と病理組織変化との関連性を確認するため、免疫寛容の MPS VII型モデルマウス（不活性化ヒト GUS タンパク質を発現させて免疫寛容を誘導したトランスジェニックマウス）を用いた試験を実施した（UX003-PC001 試験）。UX003 の 8 週間の静脈内投与後に血清及び尿試料中の疾患特異的なバイオマーカーの減少が認められ、これに比例して、各組織の組織学的検査では細胞質内の空胞変性が減少した。UX003 の忍容性は、最大臨床用量及び予定市販用量である 4 mg/kg の 5 倍に相当する 20 mg/kg（試験の最高用量）でも良好であった。

MPS VII型モデルマウスを用いた公表論文では、遺伝子組換え GUS が多くの組織に分布し、ライソゾーム内の GAG 蓄積を大幅に減少又は抑制することが示されている（O'Connor et al. 1998、Sands et al. 1994、Sands et al. 1997、Sands et al. 2001、Vogler et al. 1996、Vogler et al. 2005）。rhGUS は、脳、肝臓、脾臓、心臓、腎臓、骨、肺などの多くの MPS VII 型で障害を受ける組織に分布されることが確認されている（Vogler et al.2005、Grubb et al.2008a、Sly et al.2006）。ERT によるライソゾーム内の GAG 蓄積の減少は、病理学的に顕著な改善及び臨床的なベネフィットと相関しており、骨発達、発育、認知能力、聴覚、免疫機能、生存期間などが長期にわたって劇的に改善する（Sands et al. 1997、Sands et al. 2001、Vogler et al. 1996）。また、高用量の rhGUS を投与した MPS VII型マウスでは、rhGUS の血液脳関門の通過が認められたほか、広範囲で rhGUS の分布が見られ、これに応じて脳を含むほぼすべての組織においてライソゾーム内 GAG 蓄積が減少した。rhGUS 濃度の増加とそれに伴うライソゾーム内 GAG 蓄積の減少は、rhGUS の投与量と投与期間の両方に相関していることが示された（Vogler et al. 2005）。

効力を裏付ける試験成績の要約を第 2.6.2.3 項に示す。

2.4.2.2　副次的薬理試験

副次的薬理試験は実施していない。UX003 は内因性ヒト GUS タンパク質の遺伝子組換え酵素であり、ICH S7A ガイドライン（ヒト用医薬品の安全性薬理試験ガイドライン）に準拠して考えると、UX003 の作用機序及び作用部位（細胞ライソゾームにおける GAG（デルマタン硫酸、コンドロイチン硫酸及びヘパラン硫酸）の分解）から、治療標的と関連のない作用又はリスクは示唆されない。

2.4.2.3　安全性薬理試験

UX003 を静脈内投与したときの非臨床安全性薬理は、SD ラット及び若齢カニクイザルに UX003 を最大 20 mg/kg の用量で投与した 3 件の GLP 適用 *in vivo* 試験（表 2.4.2.3.1）（ラット呼吸器系安全性薬理試験：UX003-PC004、ラット単回投与毒性／TK 測定／CNS 安全性薬理併合試験：

UX003-PC002、若齢カニクイザル 26 週間反復投与毒性／TK 測定／CV 安全性薬理併合試験：UX003-PC003）で評価した。これらの試験の結果、UX003 を最大 20 mg/kg（最高用量）で投与しても、中枢神経系、心血管系及び呼吸器系の安全性薬理パラメータに対する影響はないことが示された。UX003 の安全性薬理試験成績の要約を第 2.6.2.5 項に示す。

表 2.4.2.3.1： 安全性薬理試験

試験の種類／試験依頼者の試験番号／試験名／概要表	動物種	投与経路	投与方法及び期間	用量 (mg/kg)	性別／動物数	所見
呼吸器系 UX003-PC004 UX003 を Sprague Dawley ラットに静脈内投与したときの呼吸器系への影響に関する薬理学的評価 第 2.6.3 項、表 2.6.3.4.1	SD ラット	IV 持続投与（2 時間）	実験 1 日目に単回投与	群 1 = 0 群 2 = 6 群 3 = 20	群 1 = 雄 6 例 群 2 = 雄 6 例 群 3 = 雄 6 例	• プレチスモグラフィーデータ：投与後 240 時間まで、換気パラメータ（1 回換気量、呼吸数、毎分換気量）に UX003 による重要な影響は認められなかった。 • 体重：UX003 投与に関連した変化は認められなかった。 • 一般状態：UX003 投与に関連した変化は認められなかった。
中枢神経系（CNS）[a] UX003-PC002 SD ラットを用いた単回投与毒性／TK／CNS 安全性薬理試験 第 2.6.3 項、表 2.6.3.4.1	SD ラット	IV 持続投与（2 時間）	実験 1 日に単回投与	群 1 = 0 群 2 = 6 群 3 = 20	群 1 = 雌雄各 6 例（本試験）＋雌雄各 4 例（TK） 群 2 = 雌雄各 6 例（本試験）＋雌雄各 4 例（TK） 群 3 = 雌雄各 6 例（本試験）＋雌雄各 4 例（TK）	• 中枢神経系（機能観察総合評価）：UX003 投与に関連した変化は認められなかった。 • 体重：UX003 投与に関連した変化は認められなかった。 • 一般状態：UX003 投与に関連した変化は認められなかった。
心血管系（CV）[b] UX003-PC003 UX003 の若齢カニクイザルにおける 26 週間静脈内持続投与（及び 4 週間の回復期間）毒性／TK／心血管系安全性試験 第 2.6.3 項、表 2.6.3.4.1	若齢カニクイザル（1.5～2 歳齢）	IV 持続投与（2 時間）	隔週 1 回 x 26 週 + 回復期間 4 週間	群 1 = 0 群 2 = 2 群 3 = 6 群 4 = 20	群 1 = 雄 5 例（本試験 3 例 + 回復 2 例）及び雌 5 例（本試験 3 例 + 回復 2 例） 群 2 = 雄 3 例 + 雌 3 例 群 3 = 雄 3 例 + 雌 3 例 群 4 = 雄 5 例（本試験 3 例 + 回復 2 例）及び 雌 5 例（本試験 3 例 + 回復 2 例）	• 実験 1、85 及び 155 日、並びに回復期間の最終週に記録した心電図（24 時間）：UX003 投与に関連した変化は認められなかった。 • 体重及び摂餌量：UX003 投与に関連した変化は認められなかった。 • 一般状態：UX003 投与に関連した変化は認められなかった。 •

[a] ラットを用いた単回投与毒性試験及び TK 測定は、中枢神経系安全性薬理試験と併せて実施した。

[b] カニクイザルを用いた 26 週間慢性毒性試験及び TK 測定は、心血管系安全性薬理評価と併せて実施した。

2.4.2.4　薬力学的薬物相互作用

酵素補充療法治療薬は他の薬物と薬力学的相互作用を起こさないと考えられることから、薬力学的薬物相互作用試験は実施していない。

2.4.3　薬物動態試験

2.4.3.1　概要

UX003 を静脈内投与したときの非臨床の薬物動態（PK）特性は、SD ラットを用いた単回投与毒性及び中枢神経系安全性薬理試験（GLP 適用、UX003-PC002）、並びにカニクイザルを用いた 26 週間反復投与毒性試験及び心血管系安全性薬理併合試験（GLP 適用、UX003-PC003）において、トキシコキネティクス（TK）評価の一部として測定した。ラット及びウサギを用いた静脈内投与生殖発生毒性（DART）試験（ラット：UX003-PC007、UX003-PC008 及び UX003-010、ウサギ：UX003-PC006 及び UX003-PC009）では、限定的な TK 採血を行った。UX003 の組織への分布は、MPS VII型マウスを用いた試験（UX003-PC001、第 2.6.5 項、表 2.6.5.5.1）及び雄 SD ラットを用いた単回投与試験（GLP 非適用、UX003-PC005、第 2.6.5 項、表 2.6.5.5.2）で評価した。いずれの試験でも、rhGUS 活性の存在又は組織中ライソゾーム内 GAG 蓄積減少のエビデンス、若しくは組織中 GAG 濃度測定のいずれかが認められたことから、UX003 が組織に分布していることが示された。また、複数の発表論文に基づく rmGUS 及び rhGUS の非臨床 PK 及び生体内分布の要約を第 2.6.4 項に示す。非臨床 PK 及び生体内分布試験成績の要約を第 2.6.4 項及び第 2.6.5 項に示す。

静脈内投与は臨床における予定投与経路であることから、UX003 の影響を評価する単回投与及び反復投与毒性試験では本投与方法（ラット、ウサギ及びサルにおける IV 持続投与）を設定した。非臨床用量（2、6 及び 20 mg/kg）は、MPS VII型患者由来のヒト線維芽細胞における UX003 の K_{uptake} に基づき、最大臨床用量及び予定市販用量（4 mg/kg）の 5 倍の安全係数となるよう設定した。MPS VII型患者由来のヒト線維芽細胞で細胞内半減期が約 40 日であったことや（UGNX-013 試験）、臨床で予定している投与方法を踏まえた上で、反復投与毒性試験は隔週（QOW）投与で実施した。

表 2.4.3.1.1：　UX003／rhGUS／rmGUS の非臨床薬物動態、トキシコキネティクス、及び生体内分布試験の概要

試験の種類	投与経路	動物種／系統	試験番号又は参考文献／	該当概要表	被験物質
吸収					
単回投与：ラット	IV	Sprague Dawley ラット	UX003-PC002	第 2.6.5 項、表 2.6.5.3.1	UX003
単回投与：ラット	IV	Sprague Dawley ラット	UX003-PC005	第 2.6.5 項、表 2.6.5.3.2	UX003[c] 及び rhGUS[a]
反復投与（DART）TK：ラット	IV	Sprague Dawley ラット	UX003-PC007, UX003-PC008, UX003-PC010	第 2.6.7 項、表 2.6.7.3.1	UX003
反復投与（DART）TK：ウサギ	IV	New Zealand White ウサギ	UX003-PC006, UX003-PC009	第 2.6.7 項、表 2.6.7.3.1	UX003
反復投与 TK：サル	IV	カニクイザル	UX003-PC003	第 2.6.7 項、表 2.6.7.3.1	UX003
分布					
反復投与：マウス[b]	IV	MPS VII型マウス（MPS VII/E540A^{TG}）	UX003-PC001	第 2.6.5 項、表 2.6.5.5.1	UX003
単回投与：ラット	IV	Sprague Dawley ラット	UX003-PC005	第 2.6.5 項、表 2.6.5.5.2	UX003[c] 及び rhGUS[a]
単回及び反復投与：マウス（新生児及び 5 週齢）	IV	MPS VII型マウス（gus^{mps}/gus^{mps}）		NA	rmGUS
単回投与：マウス（新生児）	IV	MPS VII型マウス（gus^{mps}/gus^{mps}）	(Vogler et al. 1993)	NA	rmGUS
単回及び反復投与：マウス	IV	MPS VII型マウス（MPS VII/E540A^{TG}）	(Vogler et al. 2005)	NA	rhGUS[a]
単回投与：マウス（新生児及び成熟雌）	IV	MPS VII型マウス（MPS VII/E540A^{TG}）	(Grubb et al. 2008a)	NA	rhGUS[a]
単回投与：マウス	IV	MPS VII型マウス（MPS VII/E540A^{TG}）	(Sly et al. 2006)	NA	rhGUS[a]
胎盤通過性：単回投与マウス（新生児及び成熟雌）	IV	MPS VII型マウス（MPS VII/E540A^{TG}）	(Grubb et al. 2008b)	NA	rhGUS[a]

[a] この試験で使用した酵素は、[redacted]製剤のほか、Ultragenyx がスポンサーの非臨床試験及び臨床試験用物質の製造で使用する[redacted]するもので、従来の純化方法と同様の方法で製造したものである。

[b] 生体内分布は組織抽出物の GUS 活性測定により評価した。

[c] UX003（rhGUS）ロット番号：[redacted]

NA：PK の概要表に記載されていない報告書及び／又は参考文献

2.4.3.2　分析法

非臨床試験で用いた生物学的分析法は、ラット、ウサギ及びサルの血清中GUS（β-グルクロニダーゼ）活性及び抗薬物抗体（ADA）の測定で用いることの妥当性が確認された分析法、投与液分析で用いる A280 法、及び MPS VII型マウスの GLP 非適用試験において GAG 濃度測定に使用した妥当性が確認されていない非還元末端（NRE）法（血清及び尿）及びジメチルメチレンブルー（DMB）法（尿）であった。ラット、ウサギ及びサルの血清中 GUS 活性及び ADA の測定法は、最新の FDA 及び業界ガイドライン（FDA［CDER］業界向けガイダンス［2001 年 5 月］：生物学的分析法バリデーション）及び ICH ガイドライン ICH Q2（R1）（分析法バリデーションに関するテキスト［実施方法］）で推奨される分析法のバリデーション及び評価項目の種類に従って妥当性を評価した。

2.4.3.3　吸収

UX003 を静脈内投与したときの非臨床の PK は、ラットを用いた単回投与毒性／TK／中枢神経系安全性薬理併合試験（GLP 適用）、カニクイザルを用いた 26 週間反復投与毒性／心血管系安全性薬理併合試験（GLP 適用）、並びに SD ラット及び NZW ウサギを用いた生殖発生毒性（DART）試験などの毒性試験の一部として測定した。雄 SD ラットにおける UX003 の PK 及び組織分布プロファイルは、GLP 非適用の単回投与試験で詳細に評価した。

ラットの単回投与試験（GLP 適用、UX003-PC002、第 2.6.5 項、表 2.6.5.3.1）では、各投与群で投与開始後 2.03 時間で GUS 活性がピークに達した。GUS 活性曝露量（$AUC_{0\text{-}t}$ 及び C_{max}）は、雌では用量比例的であったが、6～20 mg/kg 群の雄では用量比例値をわずかに上回っていた。雌の曝露量は雄に比べわずかに低かった。20 mg/kg/dose 群（最高用量群）の雄雌ラットの C_{max} はそれぞれ推定 359 nM 及び 253 nM であった。

雄ラットの単回投与（2 mg/kg）PK 試験（GLP 非適用、UX003-PC005、第 2.6.5 項、表 2.6.5.3.2）における GUS 活性の平均 C_{max} は 14,800 U/mL（13.26 nM）、平均 $AUC_{0\text{-}t}$ は 18,700 h*U/mL、平均 $AUC_{0\text{-}inf}$ は 18,800 h*U/mL であった。消失半減期（$t_{1/2}$）の平均値は 1.1 時間、クリアランスは 1.84×10^{-6}(min*U/mL)/(mg/kg)、Vz は 0.000181 (U/mL)/(mg/kg)であった。

カニクイザルの 26 週間反復投与毒性及び心血管系安全性薬理併合試験（GLP 適用、UX003-PC003、第 2.6.7 項、表 2.6.7.7.2）で実験 1 日目及び 169 日目の投与後に実施した TK 測定の結果、各投与群の GUS 活性は投与開始後 2.03 時間でピークに達した。GUS 活性曝露量（$AUC_{0\text{-}t}$ 及び C_{max}）は用量依存的に増加したが、2～20 mg/kg 群では雌雄ともに用量比例値を上回っていた。実験 169 日の曝露量は概して実験 1 日目の曝露量の 2 倍となり、$AUC_{0\text{-}t}$ の蓄積係数は 0.856～2.23 であった。UX003 の曝露量に顕著な性差は認められなかった。実験 169 日における 20 mg/kg/dose 群（最高用量群）の雄雌サルの C_{max} は、それぞれ推定で 1,530 nM 及び 1,400 nM であった。

SD ラット及び NZW ウサギの DRF 試験及び静脈内投与による DART 本試験（SD ラット：UX003-PC007［第 2.6.7 項、表 2.6.7.11.1］、UX003-PC008［第 2.6.7 項、表 2.6.7.12.1］、及び UX003-PC010、第 2.6.7 項、表 2.6.7.14.1、並びに NZW ウサギ：UX003-PC006［第 2.6.7 項、表 2.6.7.11.2］及び UX003-PC009［第 2.6.7 項、表 2.6.7.13.1］）では、ラットにおいて UX003 の生体内分布に明らかな性差は認められず、反復投与では ADA が認められたことから、特に低用量群では血清中 UX003 濃度が顕著に低下し、雌雄ともに用量依存的に消失半減期が短縮したと考えられた。しかしながら、中用量及び高用量群の雄ラットでは、試験開始（実験 1 日目）及び終了日（実験 29 日）における投与終了後 0.5 時間時点の UX003 濃度は同程度であると思われたことから、こ

れらの用量群では ADA の影響が小さかったことが示された。妊娠ラットでは、ADA の存在により妊娠期間中は UX003 濃度が低下しており、いずれの用量群でもプールした胎児血は ADA 陽性であった。ERT では一般的なことであるが、これらの試験でも ADA が検出され、妊娠動物の UX003 曝露量に影響を及ぼしたと考えられた。

全体的に見て、UX003 は酵素補充療法治療薬に典型的な PK プロファイル（つまり血清中半減期が比較的短い）を示すが、組織分布のエビデンスが認められ、組織内の半減期はかなり長い。ヒトでは点滴静注が数時間に及ぶことを考えると、酵素が取り込まれるまでの曝露時間としては十分であり、非臨床試験の結果と同程度の酵素への取り込みがヒト組織でも達成されると考えられる。これらのデータと線維芽細胞における取り込みデータを合わせると、臨床での隔週投与は妥当である。

2.4.3.4　分布

UX003 の組織への分布は、MPS VII型マウスを用いた試験（UX003-PC001、第 2.6.5 項、表 2.6.5.5.1）及び雄 SD ラットを用いた単回投与試験（GLP 非適用、UX003-PC005、第 2.6.5 項、表 2.6.5.5.2）で評価した。いずれの試験でも、rhGUS 活性の存在又は組織中ライソゾーム内 GAG 蓄積減少のエビデンス若しくは組織中 GAG 濃度測定のいずれかが認められたことから、UX003 が組織に分布していることが示された。UX003 はほとんどの組織に分布しており、灌流率が高い組織（肝臓、脾臓など）ではライソゾーム内 GAG 蓄積が大幅に減少し、平均 GUS 濃度が高かった。

MPS VII型モデルマウスを用いた公表論文では、遺伝子組換え GUS が多くの組織に分布し、ライソゾーム内の GAG 蓄積を大幅に減少又は抑制することが示されている（O'Connor et al. 1998、Sands et al. 1994、Sands et al. 1997、Sands et al. 2001、Vogler et al. 1996、Vogler et al. 2005）。rhGUS は、脳、肝臓、脾臓、心臓、腎臓、肺などの多くの MPS VII 型で障害を受ける組織に分布されることが確認されている（Vogler et al. 2005、Grubb et al. 2008a、Sly et al. 2006）。また、高用量の rhGUS を投与した MPS VII型マウスでは、rhGUS の血液脳関門の通過が認められたほか、広範囲で rhGUS の分布が見られ、これに応じて脳を含むほぼすべての組織においてライソゾーム内 GAG 蓄積が減少した。rhGUS 濃度の増加とそれに伴うライソゾーム内 GAG 蓄積の減少は、rhGUS の投与量と投与期間の両方に相関していることが示された（Vogler et al. 2005）。

2.4.3.5　代謝

代謝に関する試験は実施していない。ICH S6（R1）ガイダンスによれば、バイオテクノロジー応用医薬品の期待される代謝は、小さなペプチド及び各アミノ酸への分解である。したがって、その代謝経路は一般によく知られている。通常の医薬品で実施される従来の生体内変化を調べる試験は必要ではない。

2.4.3.6　排泄

排泄又はマスバランスに関する試験は実施していない。UX003 の分子量（約 332 kDa のホモ四量体）を考えると、腎排泄の可能性は低いと考えられる。UX003 異化経路の最終代謝産物（アミノ酸）は、内因性アミノ酸の細胞内プールに取り込まれ、一部は排泄されると考えられる。

2.4.3.7　薬物動態学的薬物相互作用

UX003 は内因性ヒト酵素の遺伝子組換え型であり、チトクローム P450 による代謝を受けないこ

とから、P450 が関与する薬物相互作用は生じないと考えられる。したがって、薬物動態学的薬物相互作用に関する試験は実施していない。

2.4.3.8　その他の薬物動態試験

その他の薬物動態試験は実施していない。

2.4.4　毒性試験

2.4.4.1　概要

UX003 を静脈内投与したときの非臨床の毒性特性は、以下の複数の Ultragenyx がスポンサーの非臨床毒性試験で評価した。（表 2.4.4.1.1）。

1) Sprague Dawley（SD）ラットを用いた急性毒性試験（GLP 適用、UX003-PC002）
2) 若齢カニクイザルを用いた 26 週間慢性毒性試験（GLP 適用、UX003-PC003）
3) 免疫寛容の MPS VII型マウスを用いた 8 週間（及び 1 週間の回復期間）の生体内分布試験（UX003-PC001）
4) SD ラットを用いた DRF 予備試験（UX003-PC007）及びそれに続く受胎能及び EFD 毒性試験（GLP 適用、UX003-PC008）
5) NZW ウサギを用いた DRF 予備試験（UX003-PC006）及びそれに続く EFD 毒性試験（GLP 適用、UX003-PC009）
6) SD ラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する（PPND）試験（ GLP 適用、UX003-PC010)

UX003 の忍容性は 20 mg/kg まで良好で、投与に関連した毒性学的に重要な所見は認められず、無毒性量（NOAEL）は 20 mg/kg（最高用量）と考えられた。これらの試験結果から、安全係数が最大の臨床用量であり予定市販用量である 4 mg/kg の 5 倍、安全域が UX003-CL301 試験の 4 mg/kg 投与時の C_{max} に基づくと 19.5 倍、AUC に基づくと 15.8 倍であった（表 2.4.4.3.1）。

PPND 試験 (UX003-PC010)では、母体の無毒性量は UX003 に対するアナフィラキシー様反応のため 2 mg/kg と考えられたが、発生に関する無毒性量は 20/12mg/kg であった（表 2.4.4.3.1）。

また、Vogler が発表した試験（Vogler et al. 2005）によると、免疫寛容の MPS VII型マウスに rhGUS を投与しても重要な病理学的所見は認められなかった。この結果は、Vogler の試験で保管されていた利用可能な組織学的検査用スライドをすべて盲検下で再評価した Ultragenyx がスポンサーの試験（[redacted] 20022037-1 及び [redacted] 20022037-2）でも確認されている。

以下の GLP 安全性毒性試験（急性：UX003-PC002、慢性：UX003-PC003、並びに生殖発生：UX003-PC008、UX003-PC009 及び UX003-PC010）は、GLP を遵守して実施した。

マウス、ラット、ウサギ及びサルはカチオン非依存性マンノース 6 リン酸受容体（CIM6PR）を発現し、GUS のアミノ酸配列の相同性が合理的で系統発生学的にヒトと類似している（それぞれ 75.0%、75.0%、82.0%、及び 94.0%）ことから、対象動物種として選択した。また、これらの動物種は、これらの試験と同様に CIM6PR による細胞内取り込みの作用機序を利用した他の ERT の毒性プログラムでも使用されている。

静脈内投与は臨床での予定投与経路であることから、UX003 の影響を評価する単回投与及び慢性毒性試験では本投与方法（ラット及びサルにおける 2 時間の IV 持続投与）を設定した。非臨床用量（2、6 及び 20 mg/kg）は、MPS VII型患者由来のヒト線維芽細胞における UX003 の K_{uptake} に基づき、臨床開始用量（2 mg/kg）の 10 倍の安全係数、並びに最大臨床用量及び予定市販用量（4 mg/kg）の 5 倍の安全係数となるよう設定した。MPS VII型患者由来のヒト線維芽細胞で細胞内半減期が約 40 日であったこと（UGNX-013）や、臨床で予定している投与方法を踏まえた上で、26 週間反復投与毒性試験は QOW で実施した。非臨床試験のデザインは、UX003 の臨床使用及び予定する市販製剤としての妥当性が裏付けられるように設計した。

毒性試験成績の要約を第 2.6.6 項及び 2.6.7 に示す。

表 2.4.4.1.1：　非臨床毒性試験の概要

試験の種類	投与方法	動物種／系統	試験番号又は参考文献番号	該当概要表	主な所見
一般毒性試験					
単回投与（GLP 適用）[a]	IV（2 時間の持続投与）；単回；0、6 又は 20 mg/kg；雌雄各 6 例／群 + TK 測定用雌雄各 4 例／群）	SD ラット	UX003- PC002	第 2.6.7 項、表 2.6.7.5.1	• 20 mg/kg まで UX003 投与に関連した変化は認められなかった。 • 生殖器官に肉眼的及び顕微鏡的所見は認められなかった。
反復投与（GLP 非適用）[b]	IV（週 1 回 3 週間）；0.3、1、2.5 又は 5 mg/kg；2～3 例／群 IV（週 1 回 13 週間）；1、2、又は 4 mg/kg；4～5 例／群 IV（1 週間に 3 回）；20 又は 40 mg/kg；2 例／群 IV（週 1 回 4 週間）；20 mg/kg；2 例／群）	MPS VII型モデルマウス（MPS VII/E540A^{TG}）	(Vogler et al. 2005) [redacted] 参照番号：20022037-1 及び 20022037-2	NA 第 2.6.7 項、表 2.6.7.6.1	• Vogler により報告された髄膜のライソゾーム内 GAG 蓄積の中等度の減少は、[redacted]（[redacted]）で実施した Ultragenyx がスポンサーの盲検下再評価で確認した。 • 髄膜並びに頭頂、新皮質及び海馬のニューロン及びグリアにおける GAG 蓄積のクリアランス。肝臓及び腎臓における GAG 蓄積の減少、尿中 GAG 排泄量の減少。これらの結果は、[redacted] で実施した Ultragenyx がスポンサーの盲検下再評価で確認した。 • 髄膜を除き、中枢神経系のライソゾーム内 GAG 蓄積に変化なし。 • ニューロン、グリア及び髄膜における GAG 蓄積の減少。
反復投与（GLP 非適用）	IV（週 1 回 8 週間）；0、0.1、0.25、1、4、又は 20 mg/kg；6 例／群	MPS VII型モデルマウス（MPS VII/E540A^{TG}）	UX003-PC001	第 2.6.7 項、表 2.6.7.7.1	• 20 mg/kg まで UX003 投与に関連した変化は認められなかった。 • 生殖器官に肉眼的及び顕微鏡的所見は認められなかった。
慢性毒性（GLP 適用）[c]	IV（2 時間の持続投与）、隔週 1 回 26 週間 + 4 週間の回復期間；0、2、6、又は 20 mg/kg；雌雄各 3 例／群 + 雌雄各 2 例／群（回復群及び高用量群）	カニクイザル（若齢）	UX003-PC003	第 2.6.7 項、表 2.6.7.7.2	• 体重及び摂餌量：体重及び摂餌量、一般状態、及び眼科学的検査、血液学的検査、凝固機能検査、並びに尿検査において UX003 投与に関連した変化は認められなかった。 • 血液化学的検査：実験 4 日目に雌でビリルビン増加が認められたが、軽度かつ一過性で可逆的であったことから、有害作用とは見なさなかった。

試験の種類	投与方法	動物種／系統	試験番号又は参考文献番号	該当概要表	主な所見
					• 試験したすべての用量で標的臓器は特定されなかった。器官重量、肉眼的病理所見、及び病理組織学的所見に UX003 投与に関連した変化は認められなかった。生殖器官に肉眼的及び顕微鏡的所見は認められなかった。 • UX003 曝露前に ADA 陽性であった動物を除くと、2、6 及び 20 mg/kg 群のそれぞれ 3/5 例、3/5 例、及び 3/7 例で UX003 曝露後に ADA 産生が認められた。
生殖発生毒性（DART）試験					
胚・胎児発生（EFD）毒性（GLP 非適用用量範囲設定試験、Segment II）	IV（30 分間の持続投与）；3 日に 1 回（妊娠 6、9、12、15 及び 18 日）；0、2、6、又は 20 mg/kg；4 例／群	SD ラット	UX003-PC007	第 2.6.7 項、表 2.6.7.11.1	• 体重、摂餌量、及び一般状態に UX003 投与に関連した変化は認められなかった。 • 標的臓器は特定されなかった。 • 試験期間中に ADA 産生が認められた。
受胎能及び EFD 毒性（GLP 適用、Segment I/II）	IV（30 分間の持続投与）；交配前は週 1 回 2 週間（雌）又は週 1 回 4 週間（雄）、交配後は妊娠 6、9、12、15 及び 18 日に投与；0、2、6、又は 20 mg/kg；雌雄各 23 例／群 + TK 用雌雄各 3 例／群	SD ラット	UX003-PC008	第 2.6.7 項、表 2.6.7.12.1	• 3 回目の投与後に高用量群の雌雄で、UX003 に対する免疫応答が原因と考えられる活動性低下／嗜眠が認められた。そのため、DPH を予防的に前投与することとし、その後の投与では同様の作用を回避できたと考えられる。 • 雄では体重減少及び総体重増加量の減少が認められたが、雌では同様の傾向は認められず、投与による子宮重量の変化は見られなかった。受胎能、交尾行動、受胎率（妊娠率）、精子パラメータ（運動性、数及び形態）及び雄の器官重量に UX003 の投与による変化は認められなかった。 • 同腹児の生存率に投与に関連する差は認められなかった。 • 同腹児の平均体重は全群で同様であったことから、胎児の発育に UX003 の投与による影響は見られなかった。胎児の評価（同腹児の体重、並びに頭部、内臓又は骨格検査を含む肉眼的外表観察）で発生異常（奇形）は認められなかった。

試験の種類	投与方法	動物種／系統	試験番号又は参考文献番号	該当概要表	主な所見
					• 試験期間中に ADA が産生されたため、特に低用量群の妊娠動物ではクリアランスが速くなり、C_{max} が低下した。
EFD 毒性（GLP 非適用用量範囲設定試験、Segment II）	IV（30 分間の持続投与）、1 日 1 回（妊娠 6～18 日）；0、2、6、又は 20 mg/kg；3 例／群	New Zealand White ウサギ	UX003- PC006	第 2.6.7 項、表 2.6.7.11.2	• 実験 1 日目（投与前）及び実験 29 日目（最終日）の TK 採血：対照群を含むすべての投与群で、妊娠 29 日の血清中 UX003 濃度は、妊娠 6 日の投与開始前の内因性濃度に比べ高かった。胎児の血中 UX003 濃度は、妊娠 6 日の投与前の母体の内因性濃度に比べ低かった。この結果から、妊娠 29 日での胎児の UX003 への曝露は否定されることが示唆された。 • 体重、摂餌量、及び一般状態に UX003 投与に関連した変化は認められなかった。 • 全投与群（対照群を含む）で認められた心拡大は、IV 持続投与時の投与容量の多さに起因したものであり、UX003 の投与に関連したものではなかった。他のすべての組織のパラメータは正常範囲内で、特記すべき所見は認められなかった。 • 試験期間中に ADA の産生が認められたが、血清中 UX003 濃度は上昇していた。
EFD 毒性（GLP 適用、Segment II）	IV、妊娠 6、9、12、15 及び 18 日に投与；0、2、6、又は 20 mg/kg；23 例／群 + TK 用 3 例／群	New Zealand White ウサギ	UX003- PC009	第 2.6.7 項、表 2.6.7.13.1	• 一般状態、摂餌量、体重、子宮重量、及び肉眼的剖検所見に UX003 投与に関連した所見は認められなかった。 • 同腹児の大きさ、生存着床数、総着床数、非生存着床数及び胎児の体重は全群で同様であった。胎児検査（肉眼的な外表観察並びに骨格、内臓及び頭部検査）で明らかな催奇形性パターンは認められず、UX003 投与群の同腹児の平均体重は対照群と同様であった。 • 試験期間中に ADA が産生されたため、妊娠動物ではクリアランスが速くなり、C_{max} が低下した。ADA は妊娠期間後期に産生されたため、発生毒性のリスク評価への影響はなかった。

試験の種類	投与方法	動物種／系統	試験番号又は参考文献番号	該当概要表	主な所見
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（PPND; Seg III)	IV, 妊娠 7 日目から授乳期 20 日まで 3 日ごとに投与； 0, 2, 6, 20/12 mg/kg ；25 例/群+TK 用 3~6 例	SD ラット	UX003-PC010	第 2.6.7 項、表 2.6.7.14.1	• UX003 に関連した死亡例は、6 及び 20mg/kg 群の母動物にみられた。母動物では、運動量低下、四肢蒼白、下垂、低姿勢（low carriage）、運動失調、接触時冷感、異種タンパク質投与に対するアナフィラキシー様反応と思われる緩徐呼吸が見られた。 • 妊娠及び授乳期間中、2mg/kg 以上の UX003 投与群では、立毛の症状が認められた。 • UX003 投与は、母動物の平均体重、体重増加量、摂餌量及び 自然分娩指標に影響を及ぼさなかった。 • ADA は妊娠 19 日目及び授乳 14 日目に UX003 投与群の全例で認められた。 • UX003 投与群の F0 母動物では、用量依存的な β-グルクロニダーゼ活性の増加が認められたが、F1 児では対照群と同程度の活性であった。 • F1 児では、UX003 投与による死亡、臨床症状、肉眼的所見、並びに成長、性成熟、神経行動学的機能及び生殖機能に対する影響は認められなかった。

[a] ラットを用いた単回投与毒性試験及び TK 評価は、中枢神経系安全性薬理試験と併せて実施した。

[b] この試験で使用した酵素は、[redacted]製剤のほか、Ultragenyx がスポンサーの非臨床試験及び臨床試験用物質の製造で使用する[redacted]するもので、従来の純化方法と同様の方法で製造したものである。

[c] カニクイザルを用いた 26 週間慢性毒性試験及び TK 評価は、心血管系安全性薬理評価と併せて実施した。

[d] 高用量群で死亡例が認められたため、妊娠 19 日目に投与量を 20mg/kg から 12mg/kg に減量した。

[e] 妊娠 7 日目以降全群に、ジフェンヒドラミン（DPH）を投与した。

SD = Sprague Dawley 、[redacted] =[redacted]、ADA = 抗薬物抗体、BW = 体重

NA = 概要表に記載なし

2.4.4.2　単回投与毒性試験

Sprague Dawley（SD）ラットを用いた 1 件の急性毒性試験（GLP 適用、UX003-PC002）を実施した。UX003 の忍容性は 20 mg/kg まで良好で、投与に関連した毒性学的に有意な所見は認められなかった。SD ラットに静脈内投与を行った際の NOAEL は 20 mg/kg/dose と考えられた。

2.4.4.3　反復投与毒性試験

若齢カニクイザルを用いた 1 件の 26 週間慢性毒性試験（GLP 適用、UX003-PC003）、及び免疫寛容の MPS VII型マウスを用いた 1 件の 8 週間（及び 4 週間の回復期間）の生体内分布試験（GLP 非適用、UX003-PC001）を実施した。UX003 の忍容性は 20 mg/kg 隔週投与まで良好で、投与に関連した毒性学的に有意な所見は認められなかった。若齢カニクイザルに UX003 を長期間静脈内投与した際の NOAEL は最高用量の 20 mg/kg/dose と考えられた。この NOAEL は、安全域が最大臨床用量及び予定市販用量（4 mg/kg）の 5 倍、UX003-CL301 試験の 4 mg/kg 投与時の C_{max} に基づくと 19.5 倍、AUC に基づくと 15.8 倍であった（表 2.4.4.3.1）。

表 2.4.4.3.1：　UX003 の重要な慢性毒性試験で担保された安全域の概要

試験の種類	動物種	投与期間	用量 [a] (mg/kg)	安全域（用量ベース）	安全域（C_{max} ベース）[b]	安全域（AUC ベース）[c]
反復投与	カニクイザル	6 ヵ月（隔週 1 回）	20	5	19.5	15.8

[a] 無毒性量（NOAEL）

[b] UX003-CL301 試験における 46 週間の 4 mg/kg 投与後の臨床血清中濃度ピーク値の平均（24.0 µg/mL）との比較。サルを用いた慢性毒性試験の実験 169 日目における平均 C_{max} は、1,705,000 U/mL（469 µg/mL 相当）であった。

[c] サルを用いた慢性毒性試験の実験 169 日目における $AUC_{0\text{-}t}$（3,720,000 h*U/mL、1024 hr*µg/mL 相当）と、UX003-CL301 試験における 46 週間の 4 mg/kg/投与後の UX003 の臨床 $AUC_{0\text{-}t}$ の平均値（65 hr*µg/mL）との比較。

出典：UX003-PC003 及び UX003-CL301

2.4.4.4　トキシコキネティクス測定

UX003 の TK 評価は、ラットを用いた単回投与毒性試験（UX003-PC002）、サルを用いた慢性毒性試験（UX003-PC003）、並びにラット及びウサギを用いた DART 試験（UX003-PC007、UX003-PC008、UX003-PC010、UX003-PC006、及び UX003-PC009）において実施した。

ラット及びサルでは、各投与群で投与開始後約 2 時間で GUS 活性がピークに達した。サルでは、雌雄とも GUS 活性曝露量（$AUC_{0\text{-}t}$ 及び C_{max}）が用量比例値を上回った。実験 169 日目の曝露量は概して実験 1 日の曝露量の 2 倍となり、$AUC_{0\text{-}t}$ の蓄積係数は 0.856～2.23 であった。

UX003 の曝露量に顕著な性差は認められなかった。2、6、及び 20 mg/kg 群のそれぞれ 3/5 例、3/5 例、及び 3/7 例で UX003 曝露後に ADA 産生が認められた。試験期間中に免疫原性反応を示した動物はおらず、抗体の曝露量に対する影響は認められなかった。

曝露量は、DRF 試験及びラット受胎能及び EFD 本試験、ウサギ EFD 試験並びにラット PPND 試験で確認した。しかしながら、いずれの動物種でも ADA 産生が認められたことから、特に低用量群では経時的に曝露量が減少し、クリアランスが速くなった。

2.4.4.5　遺伝毒性試験

内因性ヒト GUS タンパク質の遺伝子組換え酵素である UX003 は、その作用機序及び作用部位（細胞ライソゾームにおける GAG の分解）から遺伝毒性リスクが示唆されないため、遺伝毒性試験は実施していない。UX003 は分子量の大きいタンパク質であるため、核内に移行して DNA（デオキシリボ核酸）又は染色体と相互作用することはないと思われる。

2.4.4.6　がん原性試験

「医薬品におけるがん原性試験の必要性に関するガイダンス（ICH S1A）」で述べられている多くの要素を勘案した上で、UX003 のがん原性試験は予定していない。ICH ガイドライン S1A では、「内因性物質を補充療法として必ず与えなくてはならないような場合（すなわち生理的レベル）、特に既に同様の製品（例えば、動物インシュリン、下垂体由来の成長ホルモン、及びカルシトニンなど）で臨床経験があるような場合には、がん原性試験は一般に必要ではない」とされている。UX003はすでに臨床経験のある医薬品分類（ERT）に属する。さらに、UX003は体内に内因的に存在するヒト GUS の遺伝子組換え酵素である。したがって、がん原性はないと思われる。

サルを用いた試験では、UX003（2、6 及び 20 mg/kg）投与後 26 週まで増殖性又は前腫瘍性病変は観察されなかった。また、げっ歯類では UX003 に対する ADA 産生が認められることから、長期間の投与は不可能と考えられ、げっ歯類を用いた 2 年間の標準的ながん原性試験は実施が困難である。

UX003 は、極めてまれな、進行性消耗性かつ生命を脅かす LSD である MPS VII型の治療を目的として開発が進められている。したがって、曝露集団の総数は非常に少ないと思われる。UX003 が内因性物質の遺伝子組換え酵素であること、げっ歯類では ADA 産生により長期間の投与が不可能であること、及びまれな患者集団が対象となることから、UX003 のがん原性試験の実施は不要である。

2.4.4.7　生殖発生毒性（DART）試験

UX003 の生殖発生毒性は、rhGUS に関する既存データ、及び関連する MPS を対象とした他の ERT で得られている生殖発生毒性データに基づいて複数の方法で評価した。UX003 の受胎能への影響は、ラットを用いた急性毒性試験及びサルを用いた慢性毒性試験（GLP 適用、UX003-PC002 及び UX003-PC003）、並びに MPS VII型モデルマウスを用いた試験（UX003-PC001）において雌雄の生殖器官を評価して検討した。これら 3 件の試験では UX003 の投与に起因する肉眼的及び顕微鏡的所見は認められなかった。さらに、SD ラット及び NZW ウサギの DRF 及び静脈内投与による生殖発生毒性（DART）本試験（SD ラット：UX003-PC007 及び UX003-PC008、NZW ウサギ：UX003-PC006 及び UX003-PC009）では、UX003 には母体毒性がないことが示された。UX003-PC010（SD ラット）では、母動物に対する毒性所見は、ほとんどアナフィラキシー様反応によるものと思われ、中用量（6mg/kg）及び高用量（20/12mg/kg）群で確認された。すべての DART 試験において、生殖能力、胚胎児発達、又は出生前及び出生後発達に対する悪影響は観察されず、発達毒性 NOAEL は各 DART 試験で投与された最高用量であった。これらの試験では抗薬物抗体（ADA）が検出され、特に低用量群では ADA 産生が妊娠動物の UX003 曝露量に影響を及ぼしたと考えられた。しかしながら、ADA が存在したにも関わらず、母動物における UX003 の曝露量は十分であったことから、安全域は臨床用量を上回っていた。重要な点は、これらの試験で UX003 の経胎盤分布から胎児への UX003 曝露を裏付ける決定的な所見が認められ

ていないことである。これらの結果は、rhGUS のような高分子量（332 kDa）のタンパク質が受動輸送で胎盤を通過しないこと（ICH 2011）、及び MPS VII型妊娠マウスに rhGUS を 3～5 mg/kg 投与した試験の結果（rhGUS は胎盤壁を通過しない［胎児に送達されない］）（Grubb et al. 2008a）と一致している。これらのデータに基づくと、UX003 の静脈内投与を受けた妊娠患者における受胎能及び胎児発育に対するリスクは低いと考えられる。DART 試験で担保された安全域を表 2.4.4.7.1 に示す。

表 2.4.4.7.1：UX003 の DART 試験で担保された安全域の概要

試験の種類	動物種	用量[a] (mg/kg)	安全域（用量ベース）[b]	安全域（C_{max} ベース）[c]	安全域（AUC ベース）[d]
Seg I／II	ラット（雄）	20	5	18	4.5
Seg I／II	ラット（雌）	20	5	6.3	1.6
Seg II	ウサギ	20	5	18	10
Seg III	ラット	2.0	0.5[g]	N/A[e]	N/A[f]

[a] 無毒性量（NOAEL）

[b] 臨床用量 4 mg/kg との比較

[c] UX003-CL301 試験における 46 週間の 4 mg/kg 投与後の臨床血清中濃度ピーク値の平均（21.2 µg/mL）との比較。平均 C_{max} は、ラット DART 試験（Seg I／II）における実験 22 日目の雄ラット、ラット DART 試験（Seg I／II）の妊娠 18 日の雌ラット、及びウサギ DART 試験（Seg II）の妊娠 18 日の雌ウサギでそれぞれ 386 µg/mL、134 µg/mL、及び 372 µg/mL であった。

[d] UX003-CL301 試験における 46 週間の 4 mg/kg 投与後の UX003 の臨床 $AUC_{0\text{-}t}$ の平均値（57.9 hr*µg/mL）との比較。平均 $AUC_{0\text{-}t}$ は、ラット DART 試験（Seg I／II）の実験 22 日の雄ラット、ラット DART 試験（Seg I／II）の妊娠 18 日の雌ラット、及びウサギ DART 試験（Seg II）の妊娠 18 日の雌ウサギでそれぞれ 258 hr*µg/mL、91.7 hr*µg/mL、及び 604 hr*µg/mL であった。

[e] C_{max} は TK 用採血が妊娠 7，19 及び授乳 13 日目に限定されたため計算しなかった。

[f] AUC は TK 用採血が妊娠 7，19 及び授乳 13 日目に限定されたため計算しなかった。

[g] 新生児の安全域は、20/12mg/kg 群の NOAEL の 5/3 倍とした。

N/A=計算されなかった（not applicable）; GD=妊娠期間中の日; LD=授乳期間中の日

出典：UX003-PC008、UX003-PC009、UX003-PC010 及び UX003-CL301

2.4.4.8　局所刺激性試験

独立した UX003 の非臨床局所刺激性試験は実施していない。しかしながら、ラットの単回投与毒性試験（UX003-PC002）及び若齢カニクイザルの 26 週間反復投与毒性試験（UX003-PC003）で、IV 注入部位に UX003 に起因する肉眼的及び病理組織学的な異常は認められなかった。

2.4.4.9　その他の毒性試験

その他の毒性試験は実施していない。

2.4.5　総括及び結論

UX003 を最大 4 mg/kg の用量で隔週長期間静脈内投与する用法の妥当性を裏付けるため、包括的な非臨床プログラムを計画し、実施した。UX003 の薬理学的活性のエビデンスは *in vitro* 及び *in vivo* 試験で確立されている。MPS VII型患者由来のヒト線維芽細胞における UX003 の取り込みは、

K_{uptake}値が約[redacted]～[redacted] nMとなると飽和状態になる（第3.2.S.4.4項）。この取り込み能の高さは、他の遺伝子組換えヒト酵素補充療法治療薬と同様である（例えば、rh-イズロニダーゼのK_{uptake}値は1～2 nM）（Kakkis et al. 1994）。MPS VII型患者由来のヒト線維芽細胞におけるUX003の細胞内半減期は約40日であり（UGNX-013）、イズロニダーゼ（細胞内半減期3～5日）などの他のMPS関連のライソゾーム酵素の約8倍に相当する（Kakkis et al.1994）。さらに、公表論文（O'Connor et al. 1998、Sands et al. 1994、Sands et al. 1997、Sands et al. 2001、Vogler et al. 1996、Vogler et al. 2005）、学術研究において収集された試料におけるライソゾーム内GAG蓄積の盲検下病理学的再評価（Vogler et al. 2005並びに[redacted] 20022037-1及び20022037-2）、及びUltragenyxがスポンサーの試験（UX003-PC001）では、MPS VII型モデルマウスにおいて遺伝子組換えGUSが多くの組織に分布しており、ライソゾーム内のGAG蓄積が大幅に減少又は抑制されることが示されている。

UX003を静脈内投与したときの非臨床薬物動態（PK）特性は、SDラットを用いた単回投与毒性及び中枢神経系安全性薬理試験（GLP適用、UX003-PC002）、並びにカニクイザルを用いた26週間反復投与毒性試験及び心血管系安全性薬理併合試験（GLP適用、UX003-PC003）において、トキシコキネティクス（TK）評価の一部として実施した。ラット及びウサギを用いた静脈内投与生殖発生毒性（DART）試験（ラット：UX003-PC007、UX003-PC008及びUX003-PC010、ウサギ：UX003-PC006及びUX003-PC009）では、限定的なTK採血を行った。UX003の組織への分布は、MPS VII型モデルマウスを用いた試験（UX003-PC001）及び雄SDラットを用いた単回投与試験（GLP非適用、UX003-PC005）で評価した。いずれの試験でも、rhGUS活性の存在又は組織中ライソゾーム内GAG蓄積減少のエビデンス、若しくは組織中GAG濃度測定のいずれかが認められたことから、UX003が組織に分布していることが示された。全体として、UX003は酵素補充療法治療薬に典型的なPKプロファイル（つまり血清中半減期が比較的短い）を示すが、組織分布のエビデンスが認められ、組織内の半減期はかなり長い。これらのデータと線維芽細胞における取り込みデータを合わせると、臨床での隔週投与は妥当である。

UX003を静脈内投与したときの非臨床毒性特性は、以下の複数のUltragenyxがスポンサーの非臨床毒性試験で評価した。1) Sprague Dawley（SD）ラットを用いた急性毒性試験（GLP適用、UX003-PC002）、2) 若齢カニクイザルを用いた26週間慢性毒性試験（GLP適用、UX003-PC003）、3) 免疫寛容のMPS VII型マウスを用いた8週間（及び1週間の回復期間）の生体内分布試験（UX003-PC001）、4) SDラットを用いた用量範囲設定（DRF）試験（GLP適用、UX003-PC007）及びそれに続く受胎能及び胚・胎児発生（EFD）毒性本試験（GLP適用、UX003-PC008）、5) New Zealand White（NZW）ウサギを用いたDRF試験（GLP適用、UX003-PC006）及びそれに続くEFD毒性本試験（GLP適用、UX003-PC009）並びに6) SDラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する（PPND）試験（GLP適用、UX003-PC010)。PPND試験を除く試験では、UX003の忍容性は20mg/kg隔週投与まで良好で、投与に関連した重要な毒性学的所見は認められなかった。PPND試験では、忍容性は2mg/kgの3日に1回投与まで良好で、投与に関連した重要な毒性学的所見は認められなかった。また、中枢神経系、心血管系、及び呼吸器系に対するUX003の影響をGLP適用試験（それぞれUX003-PC002、UX003-PC003、及びUX003-PC004）の安全性薬理試験で評価した。これらの試験の結果、UX003を20 mg/kg（最高用量）で投与しても中枢神経系、心血管系及び呼吸器系の安全性薬理パラメータに対する影響はないことが示された。SDラットの単回静脈内投与試験及び若齢カニクイザルの慢性静脈内投与試験における無毒性量（NOAEL）は20 mg/kgと考えられた。重要な慢性毒性試験では、安全域が最大臨床用量及び予定市販用量（4 mg/kg）の5倍、UX003-CL301試験の4 mg/kg投与時

の C_{max} に基づくと 19.5 倍、AUC に基づくと 15.8 倍であった（表 2.4.4.3.1）。また、Vogler が発表した試験（Vogler et al. 2005）によると、免疫寛容の MPS VII型マウスに rhGUS を投与しても重要な病理学的所見は認められなかった。この結果は、Vogler の試験で保管されていた利用可能な組織学的スライドをすべて盲検下で再評価した Ultragenyx がスポンサーの試験（[redacted] 20022037-1 及び [redacted] 20022037-2）でも確認している。

生殖発生毒性（DART）は、SD ラット及び NZW ウサギを用いた DRF 試験及び GLP 準拠の EFD 本試験で評価した（SD ラットを用いた受胎能試験と EFD 試験の併合試験：UX003-PC007、UX003-PC008 及び PPND 試験：UX003-PC010 並びに NZW ウサギを用いた EFD 試験：UX003-PC006 及び UX003-PC009）。PPND 試験を除く試験では、UX003 に関連する有害な所見は認められず、NOAEL は 20mg/kg （最高用量）であった。PPND 試験では、母体 NOAEL は UX003 に対するアナフィラキシー様反応に基づいて 2mg/kg と考えた。一方、発達毒性 NOAEL は 20/12mg/kg と考えられた。ADA 産生により、特に低用量群では UX003 のクリアランスが速くなり、曝露量が減少した。しかしながら、ADA が存在したにも関わらず、母動物における UX003 の曝露量は十分であったことから、安全域は予定市販用量を上回っていた（表 2.4.4.7.1）。これらの試験では UX003 の経胎盤分布から胎児への UX003 曝露を裏付ける決定的な所見は認められなかった。全体として、UX003 は受胎能又は F_1 世代の発育分化に対するリスクは低いと考えられる。

したがって、上記及び第 2.6 項に示す詳細な非臨床データ及び既承認の酵素補充療法治療薬に関する先行データから、UX003 が安全に臨床使用できることが裏付けられた。

2.4.6 参考文献

Grubb JH, Vogler C, Levy B, Galvin N, Tan Y, Sly WS. 2008a. "Chemically modified beta-glucuronidase crosses blood-brain barrier and clears neuronal storage in murine mucopolysaccharidosis VII." Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A 105 (7):2616-2621.

Grubb JH, Vogler C, Tan Y, Shah GN, MacRae AF, Sly WS. 2008b. "Infused Fc- tagged beta-glucuronidase crosses the placenta and produces clearance of storage in utero in mucopolysaccharidosis VII mice." Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A 105 (24):8375-8380.

ICH. 2011. PRECLINICAL SAFETY EVALUATION OF BIOTECHNOLOGY-DERIVED PHARMACEUTICALS S6(R1). Vol. S6(R1). European Union, Japan, USA: INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE.

Kakkis ED, Matynia A, Jonas AJ, Neufeld EF. 1994. "Overexpression of the human lysosomal enzyme alpha-L-iduronidase in Chinese hamster ovary cells." Protein Expr Purif 5 (3):225-32.

Montano AM, Lock-Hock N, Steiner RD, Graham BH, Szlago M, Greenstein R, Pineda M, Gonzalez-Meneses A, Coker M, Bartholomew D, Sands MS, Wang R, Giugliani R, Macaya A, Pastores G, Ketko AK, Ezgu F, Tanaka A, Arash L, Beck M, Falk RE, Bhattacharya K, Franco J, White KK, Mitchell GA, Cimbalistiene L, Holtz M, Sly WS. 2016. "Clinical course of sly syndrome (mucopolysaccharidosis type VII)." J Med Genet 53 (6):403-18.

Neufeld EF, Muenzer J. 2001. "The Mucopolysaccharidoses." In The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease, edited by CR Scriver, AL Beaudet, WS Sly and D Valle, 3421-3452. New York: McGraw-Hill.

O'Connor LH, Erway LC, Vogler CA, Sly WS, Nicholes A, Grubb J, Holmberg SW, Levy B, Sands MS. 1998. "Enzyme replacement therapy for murine mucopolysaccharidosis type VII leads to improvements in behavior and auditory function." J.Clin.Invest 101 (7):1394-1400.

Orphanet. 2019. Prevalence of rare diseases 2019 [cited January 2019]. Available from http://www.orpha.net.

Sands MS, Vogler C, Kyle JW, Grubb JH, Levy B, Galvin N, Sly WS, Birkenmeier EH. 1994. "Enzyme replacement therapy for murine mucopolysaccharidosis type VII." J.Clin.Invest 93 (6):2324-2331.

Sands MS, Vogler C, Torrey A, Levy B, Gwynn B, Grubb J, Sly WS, Birkenmeier EH. 1997. "Murine mucopolysaccharidosis type VII: long term therapeutic effects of enzyme replacement and enzyme replacement followed by bone marrow transplantation." J.Clin.Invest 99 (7):1596-1605.

Sands MS, Vogler CA, Ohlemiller KK, Roberts MS, Grubb JH, Levy B, Sly WS. 2001. "Biodistribution, kinetics, and efficacy of highly phosphorylated and non- phosphorylated beta-glucuronidase in the murine model of mucopolysaccharidosis VII." J.Biol.Chem. 276 (46):43160-43165.

Sly WS, Vogler C, Grubb JH, Levy B, Galvin N, Tan Y, Nishioka T, Tomatsu S. 2006. "Enzyme therapy in mannose receptor-null mucopolysaccharidosis VII mice defines roles for the mannose 6-phosphate and mannose receptors." Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A 103 (41):15172-15177.

Vogler C, Levy B, Galvin NJ, Thorpe C, Sands MS, Barker JE, Baty J, Birkenmeier EH, Sly WS. 1999. "Enzyme replacement in murine mucopolysaccharidosis type VII: neuronal and glial response to beta-glucuronidase requires early initiation of enzyme replacement therapy." Pediatr Res 45 (6):838-44.

Vogler C, Levy B, Grubb JH, Galvin N, Tan Y, Kakkis E, Pavloff N, Sly WS. 2005. "Overcoming the blood-brain barrier with high-dose enzyme replacement therapy in murine mucopolysaccharidosis VII." Proc Natl Acad Sci U S A 102 (41):14777-82.

Vogler C, Sands M, Higgins A, Levy B, Grubb J, Birkenmeier EH, Sly WS. 1993. "Enzyme replacement with recombinant beta-glucuronidase in the newborn mucopolysaccharidosis type VII mouse." Pediatr Res 34 (6):837-40.

Vogler C, Sands MS, Levy B, Galvin N, Birkenmeier EH, Sly WS. 1996. "Enzyme replacement with recombinant beta-glucuronidase in murine mucopolysaccharidosis type VII: impact of therapy during the first six weeks of life on subsequent lysosomal storage, growth, and survival." Pediatr.Res. 39 (6):1050-1054.