

平成31年2月20日  
医薬・生活衛生局  
医療機器審査管理課

## 審議結果報告書

[類別] 遺伝子治療用製品 一. プラスミドベクター製品  
[一般的名称] ベペルミノゲン ペルプラスミド  
[販売名] コラテジェン筋注用 4mg  
[申請者] アンジェス株式会社  
[申請日] 平成30年1月22日（製造販売承認申請）

### 【審議結果】

平成31年2月20日の再生医療等製品・生物由来技術部会の審議結果は次のとおりであり、この内容で薬事分科会に報告することとされた。

本品目を承認して差し支えない。条件及び期限付承認に該当する。条件及び期限は次のとおりとすることが適当である。

#### 承認条件

1. 重症化した慢性動脈閉塞症に関する十分な知識・治療経験を持つ医師のもとで、創傷管理を複数診療科で連携して実施している施設で本品を使用すること。
2. 条件及び期限付承認後に改めて行う本品の製造販売承認申請までの期間中は、本品を使用する症例全例を対象として製造販売後承認条件評価を行うこと。

#### 承認の期限

5年

## 審査報告書

平成 31 年 2 月 4 日

独立行政法人医薬品医療機器総合機構

承認申請のあった下記の再生医療等製品にかかる医薬品医療機器総合機構での審査結果は、以下のとおりである。

### 記

[販 売 名] コラテジェン筋注用 4 mg

[類 別] 遺伝子治療用製品 一. プラスミドベクター製品

[一般的名称] ベペルミノゲン ペルプラスミド

[申 請 者] アンジェス株式会社

[申請年月日] 平成 30 年 1 月 22 日

[剤形・含量] 1 バイアル中にベペルミノゲン ペルプラスミド 4 mg を含有する注射剤

[形状、構造、成分、分量又は本質]

ベペルミノゲン ペルプラスミドは、ヒト肝細胞増殖因子を発現するプラスミド DNA である。ベペルミノゲン ペルプラスミドは、5,181 塩基対からなり、サイトメガロウイルスプロモーター／エンハンサーにて制御されるヒト肝細胞増殖因子 cDNA、pUC 由来配列及びカナマイシン耐性遺伝子等を含む。

[申 請 区 分] (1 の 1) 新再生医療等製品

[特 記 事 項] なし

[審査担当部] 再生医療製品等審査部

[審 査 結 果]

別紙のとおり、提出された資料から本品目の標準的な薬物治療の効果が不十分で血行再建術の施行が困難な慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症及びバージャー病）における潰瘍の改善に対しての本品の一定の有効性は期待でき、安全性は許容可能と判断する。ただし、現時点では情報が限られていることから、製造販売承認後も継続して本品の有効性を評価し確認することが適切と判断する。

以上、医薬品医療機器総合機構における審査の結果、医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律第 23 条の 26 に基づき、下記の承認条件及び期限を付した上で、以下の効能、効果又は性能、並びに用法及び用量又は使用方法で本品を承認して差し支えないと判断した。なお、同条に基づく期限は 5 年とすることが適切と判断した。

[効能、効果又は性能]

標準的な薬物治療の効果が不十分で血行再建術の施行が困難な慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症及びバージャー病）における潰瘍の改善

[用法及び用量又は使用方法]

通常、成人には、投与対象肢の虚血部位に対して1カ所あたり本品0.5 mgを8カ所に4週間間隔で2回筋肉内投与する（1回総計4 mg）。なお、臨床症状が残存する場合には、2回目投与の4週後に3回目の投与を行うこともできる。また、投与に際しては、日局生理食塩液で希釈し、希釈後の1カ所あたりの薬液量は3 mLとし、投与対象筋が小さい場合には2 mLまで減じてよい。

[承認条件]

1. 重症化した慢性動脈閉塞症に関する十分な知識・治療経験を持つ医師のもとで、創傷管理を複数診療科で連携して実施している施設で本品を使用すること。
2. 条件及び期限付承認後に改めて行う本品の製造販売承認申請までの期間中は、本品を使用する症例全例を対象として製造販売後承認条件評価を行うこと。

## 審査報告 (1)

平成 30 年 12 月 3 日

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

## 申請品目

[販売名] コラテジェン筋注用 4 mg

[類別] 遺伝子治療用製品 一. プラスミドベクター製品

[一般的名称] ベペルミノゲン ペルプラスミド

[申請者] アンジェス株式会社

[申請年月日] 平成 30 年 1 月 22 日

[剤形・含量] 1 バイアル中にベペルミノゲン ペルプラスミド 4 mg を含有する注射剤

[形状、構造、成分、分量又は本質]

ベペルミノゲン ペルプラスミドは、ヒト肝細胞増殖因子を発現するプラスミド DNA である。ベペルミノゲン ペルプラスミドは、5,181 塩基対からなり、サイトメガロウイルスプロモーター／エンハンサーにて制御されるヒト肝細胞増殖因子 cDNA、pUC 由来配列及びカナマイシン耐性遺伝子等を含む。

[申請時の効能、効果又は性能]

慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症・バジャー病）における潰瘍及び安静時疼痛の改善

[申請時の用法及び用量又は使用方法]

本品を日局生理食塩液で希釈し、投与対象肢の虚血部位に対して 1 カ所あたり 0.5 mg を 8 カ所に筋肉内投与する（1 回総計 4 mg）。希釈後の 1 カ所あたりの薬液量は 3 mL とし、投与対象筋が小さい場合には 2 mL まで減じてよい。投与部位は虚血の状態により決定する。投与は 4 週間の間隔をあけて 2 回行う。なお、臨床症状が残存する場合は、3 回投与も可能とする。

[目 次]

1	起原又は発見の経緯及び外国における使用状況に関する資料.....	3
2	製造方法並びに規格及び試験方法等に関する資料及び機構における審査の概略.....	4
3	安定性に関する資料並びに機構における審査の概略.....	6
4	効能、効果又は性能に関する資料及び機構における審査の概略.....	9
5	製品の体内動態に関する資料及び機構における審査の概略.....	12
6	非臨床安全性に関する資料及び機構における審査の概略.....	17
7	臨床試験等の試験成績に関する資料並びに機構における審査の概略.....	21
8	リスク分析に関する資料及び機構における審査の概略.....	62
9	機構による承認申請書に添付すべき資料に係る適合性調査結果及び機構の判断.....	63
10	審査報告（1）作成時における総合評価.....	64

[略語等一覧]

別記のとおり。

## 1 起原又は発見の経緯及び外国における使用状況に関する資料

### 1.1 申請品目の概要

HGF は、1984 年に肝細胞の増殖に関与するタンパク質として発見され、1989 年に cDNA がクローニングされた (Biochem Biophys Res Commun 1989; 163: 967-73)。HGF は、肝障害、腎障害に伴って障害臓器や肺等の間葉系細胞により産生され、障害臓器の上皮細胞系に働きかけて再生を促すこと (J Biochem 1996; 119: 591-600、Proc Natl Acad Sci USA 1993; 90: 1937-41)、また血管内皮細胞の強力な増殖作用を有し血管新生にも重要な役割を果たしていることが報告されている (J Cell Biol 1992; 119: 629-41 等)。

本品は、hHGF 遺伝子の翻訳領域をコードする cDNA を含む 5,181 塩基対からなる hHGF 発現プラスミド DNA (ベベルミノゲン ペルプラスミド) を成分とする再生医療等製品であり、ASO 及びバージャー病による重症虚血肢に対する治療を目的とし、医薬品と同様に薬理的な作用による治療効果を期待して開発された。本品は、虚血病巣付近の筋肉内に投与することで、HGF の産生・分泌による血管新生をもたらし、血管数と血流の増加により虚血状態を改善させることが期待されており、ASO 及びバージャー病の患者の重症虚血肢に対する治療効果を発揮すると考えられている。

### 1.2 開発の経緯等

ASO は、四肢の主幹動脈の慢性的なアテローム性動脈硬化性変化が原因で発症し、腸骨動脈・大腿動脈に好発し、末梢動脈の狭窄及び閉塞による循環障害に起因する臨床症状 (安静時疼痛、潰瘍、壊疽等) を伴う疾患である。ASO による重症虚血肢に対する治療として、血管内治療及びバイパス術による血行再建術が施行されるが、十分な血行動態の改善が得られず、臨床症状の改善が得られない患者が少なからず存在する。また、血行再建術そのものが施行できない又は施行が困難であると判断される患者も存在する。血行再建術で十分な効果が得られなかった又は血行再建術に不適応となった患者に対する有用な治療選択肢はなく、最終的に下肢切断に至る患者が少なくない。下肢切断を受けた患者の予後は不良であり、下肢切断の回避は臨床症状の改善とともに生命予後の観点からも重要な課題である。

バージャー病は、ピュルガー病又は TAO とも呼ばれ、四肢の主幹動脈に閉塞性の血管全層炎をきたす炎症性疾患であり、喫煙による血管攣縮を誘因として発症すると考えられているが、正確な発症原因は不明である。病変は四肢のいずれの動脈にも発生するが、特に下肢の動脈に好発することから、重症化すると ASO と類似した下肢の臨床症状 (安静時疼痛、潰瘍、壊疽等) を呈する。ASO よりも末梢の動脈が閉塞するため、特に足趾末端の潰瘍の発生率が高い。バージャー病に対する治療の基本は禁煙及び薬物治療であり、末梢病変という解剖学的理由から血行再建術の適応となる患者は少ない。血行再建術が不適応の患者に対しては、交感神経節切除術が考慮されるが効果は限定的で、ASO と同様に他に有用な治療選択肢はなく、下肢切断に至る患者が少なくない。

また、ASO 及びバージャー病の臨床症状の重症度分類としては、Fontaine 分類が用いられており、I 度は無症状、II 度は間歇性跛行、III 度は安静時疼痛、及び IV 度は潰瘍及び壊死を呈した状態と定義されている (本邦の診療ガイドライン)。

本品のヒトへの初めての投与は、2001 年 5 月より「末梢性血管疾患の治療のための遺伝子治療臨床研究」として大阪大学医学部附属病院において実施された。その後、国内において、標準的な薬物治療の効果が不十分で血行再建術の施行が困難な重症虚血肢を有する ASO 患者を対象に、ASO 第 III 相試験が 2004 年 1 月より実施された。また、既存の内科的治療が無効な潰瘍を有するバージャー病患者を対象に、TAO 一般臨床試験が 2004 年 5 月から実施された。

また、米国において、血行再建術の施行が困難な重症虚血肢を有する ASO 患者を対象に、米国第Ⅱ相試験が 2003 年 4 月から実施された。米国第Ⅱ相試験では、国内での臨床試験と異なり、本品の投与部位が固定されていたことから、2005 年 8 月から実施した米国追加第Ⅱ相試験では、国内第Ⅲ相試験と同じく虚血部位の筋肉内に本品を投与する投与方法が選択された。しかしながら、米国追加第Ⅱ相試験については、本品の有効性の評価に適さない症例が多数組み入れられたため、試験の目的を達成することが困難となり、20 年 月に中止となった。

申請者は、ASO 第Ⅲ相試験、TAO 一般臨床試験等の成績を基に、「重症虚血肢（安静時疼痛、虚血性潰瘍）を有する閉塞性動脈硬化症・バージャー病」を効能・効果として、2008 年 3 月 27 日にコラテジェン筋注 4 mg として本品の医薬品製造販売承認申請を行った。機構における審査の結果、提出された臨床試験成績に基づき申請効能・効果に対する本品の有効性及び安全性について明確な判断ができる状況ではないとの見解が示されたことを受け、申請者は製造販売承認の取得には更なる臨床データが必要との結論に至り、20 年 月 日に当該製造販売承認申請を取り下げた。

その後、米国において血行再建術の施行が困難な重症虚血肢を有する ASO 患者を対象に、新たな用法・用量（7.2.3 参照）で本品の安全性を検討する米国第Ⅱb 相パイロット試験が 2014 年 3 月から開始された。また、米国第Ⅱb 相パイロット試験と同一の用法・用量において国際共同第Ⅲ相試験が 2014 年 11 月から開始されたが、被験者の組入れに時間を要したため、20 年 月に新たな被験者登録を中止した。

一方、国内において、標準的な薬物治療の効果が不十分で血行再建術の施行が困難な慢性動脈閉塞症（ASO 及びバージャー病）患者を対象に、先進医療 B 臨床研究が 2014 年 10 月から実施された。

申請者は、前回の医薬品製造販売承認申請時に提出した ASO 第Ⅲ相試験及び TAO 一般臨床試験等の成績に加え、新たに実施した先進医療 B 臨床研究の成績を主要な試験成績とし、今般の再生医療等製品製造販売承認申請に至った。

なお、2018 年 11 月時点において、本品はいずれの国及び地域においても承認を取得していない。

## 2 製造方法並びに規格及び試験方法等に関する資料及び機構における審査の概略

### 2.1 原薬

原薬であるベペルミノゲン ペルプラスミドは、 により原薬等登録原簿（MF 登録番号 ）に登録されている。

#### 2.1.1 細胞基材の調製及び管理

MCB 及び WCB の調製及び管理については、別添のとおりである。原薬は、大腸菌を基材として製造される。

#### 2.1.2 製造方法

別添のとおりである。

#### 2.1.3 外来性感染性物質の安全性評価

原薬の製造工程で、生物由来原料等は使用されていない。

#### 2.1.4 製造工程の開発の経緯

別添のとおりである。

## 2.1.5 特性

### 2.1.5.1 構造及び特性

表 1 に示す特性解析が実施された。

表 1 特性解析における評価項目

一次構造	制限酵素マップ、塩基配列
高次構造	二本鎖環状構造、開環状構造、直鎖状構造
生物活性	HGF 発現活性 (4.1.1 参照)、 <span style="background-color: black; color: black;">XXXXXXXXXX</span> 、 <span style="background-color: black; color: black;">XXXXXXXXXX</span>
免疫化学的性質 (6.2.4 参照)	異種受身皮膚アナフィラキシー反応試験 (マウス)、能動的全身性アナフィラキシー反応試験 (モルモット)、同種受身皮膚アナフィラキシー反応試験 (モルモット)

生物活性について、本品を XXXXXXXXXX 細胞に導入して得た培養上清を、c-Met チロシンキナーゼ受容体の活性化を評価するために遺伝子改変により樹立された XXXXXXXXXX 細胞に添加し、c-Met チロシンキナーゼ受容体の活性化作用が評価された。また、HGF 生物機能活性は、本品を XXXXXXXXXX 細胞に導入して得た培養上清を、XXXXXXXXXX 細胞株 XXXXXXXXXX 細胞に添加することで得られた培養上清中の VEGF の量を測定することで評価された。

### 2.1.5.2 目的物質関連物質/目的物質由来不純物

本品の主要な構造である二本鎖環状 DNA (CCC 体) の片方の鎖に切断が生じた開環状の OC 体、二本鎖 DNA の両方の鎖の同じ又はごく近い位置に切断が生じた LN 体及びその他の不純物が、目的物質由来不純物とされた。いずれの目的物質由来不純物も、原薬及び製品の規格及び試験方法により管理される (3.R.1 参照)。

### 2.1.5.3 製造工程由来不純物

HCP、宿主細胞由来 DNA、宿主細胞由来 RNA、エンドトキシン、XXXXXXXXXX<sup>1\*</sup>、XXXXXXXXXX<sup>2\*</sup>、残留タンパク質及び XXXXXXXXXX<sup>3\*</sup> が製造工程由来不純物とされた。いずれの製造工程由来不純物も、製造工程で十分に除去されることが確認されている。

## 2.1.6 原薬の管理

原薬の規格及び試験方法として、含量、性状、確認試験 (XXXXXXXXXX、XXXXXXXXXX)、pH、CCC 体含量 (HPLC 法、XXXXXXXXXX)、純度試験 (OC 体、LN 体、その他の不純物、宿主細胞由来 DNA、宿主細胞由来 RNA、残留タンパク質 (XXXXXXXXXX)、HCP (XXXXXXXXXX)、XXXXXXXXXX<sup>3\*</sup>)、エンドトキシン、微生物限度及び定量法 (XXXXXXXXXX) が設定されている。

なお、OC 体、LN 体及びその他の不純物に対する純度試験は、審査の過程で追加された (3.R.1 参照)。

## 2.2 製品

### 2.2.1 製品及び処方並びに製品設計

製品は、1 ガラスバイアル (3 mL) あたり、本薬 4 mg を含有する注射剤である。製品には、塩化ナトリウム、水酸化ナトリウム及び注射用水が添加剤として含まれる。二次包装は紙箱である。

## 2.2.2 製造方法

製品の製造工程は、原薬混合、[REDACTED]、[REDACTED]、ろ過滅菌、充填、打栓・巻き締め、保管、解凍、包装、試験及び保管の各工程からなる。

重要工程は、[REDACTED]、[REDACTED]、ろ過滅菌及び充填工程とされている。

製品の製造工程について、実生産スケールでプロセスバリデーションが実施されている。

## 2.2.3 製造工程の開発の経緯

製品の開発段階における製造方法の主な変更点は、以下のとおりである。なお、[REDACTED]製法（A\*製法）で製造された原薬を用いて[REDACTED]製法（B\*製法）及び[REDACTED]製法（C\*製法）で製造した製品をそれぞれA\*B\*製品及びA\*C\*製品、[REDACTED]製法（D\*製法）で製造された原薬を用いて[REDACTED]製法（E\*製法）及び[REDACTED]製法（F\*製法）で製造した製品をそれぞれD\*E\*製品及びD\*F\*製品とする。

- B\*製法からC\*製法：[REDACTED]の変更、並びに[REDACTED]、[REDACTED]、[REDACTED]、[REDACTED]及び[REDACTED]等
- C\*製法からE\*製法：[REDACTED]の変更、[REDACTED]及び[REDACTED]等
- E\*製法からF\*製法：[REDACTED]の変更、[REDACTED]及び[REDACTED]等
- F\*製法から申請製法：[REDACTED]の変更、[REDACTED]等

大阪大学臨床研究にはA\*B\*製品、ASO 第Ⅲ相試験、TAO 一般臨床試験、米国第Ⅱ相試験、米国追加第Ⅱ相試験及び米国IHD 第Ⅰ相試験にはA\*C\*製品、米国第Ⅱb相パイロット試験、国際共同第Ⅲ相試験及び先進医療B臨床研究にはD\*F\*製品がそれぞれ使用された。

これらの製法変更に伴い、品質特性に関する同等性／同質性評価が実施され、製法変更前後の製品の同等性／同質性が確認されている。

## 2.2.4 製品の管理

製品の規格及び試験方法として、含量、性状、確認試験（[REDACTED]）、pH、浸透圧比、CCC 体含量（HPLC 法、[REDACTED]）、純度試験（OC 体、LN 体及びその他の不純物）、採取容量、不溶性異物、不溶性微粒子、無菌、生物活性（[REDACTED]）及び定量法（[REDACTED]）が設定されている。

なお、OC 体、LN 体及びその他の不純物に対する純度試験は、審査の過程で追加された（3.R.1 参照）。

## 2.R 機構における審査の概略

3.R に併せて記載する。

## 3 安定性に関する資料並びに機構における審査の概略

### 3.1 原薬の安定性

原薬の主要な安定性試験は、表 2 のとおりである。



### 3.R 機構における審査の概略

#### 3.R.1 目的物質由来不純物の管理について

申請時の原薬及び製品の規格及び試験方法では、目的物質由来不純物の管理として、CCC 体、OC 体、LN 体及びその他の不純物の合計に対する CCC 体の含量の割合、及び既知異性体（CCC 体、OC 体及び LN 体の合計）の含量の割合を管理する、均一性試験が設定されていた。

機構は、以下のように考え、申請者へ対応を求めた。

OC 体、LN 体及びその他の不純物は、CCC 体よりも生物活性が低く、目的物質由来不純物と位置づけられていることから、その限度値を管理する必要がある。しかしながら、申請時の HPLC による均一性試験では、XXXXXXXXXX OC 体及び LN 体 XXXXXXXXXX を管理するための試験性能が評価されていなかったため、各異性体の含量管理が可能な適切な試験性能を有する純度試験を設定する必要があると考える。

申請者は、各目的物質由来不純物含量を管理するために適切な試験性能を有する純度試験を設定すると回答した。

機構は、申請者の対応を了承した。条件設定を含む純度試験法の検討は現時点で実施中であることから、審査報告（2）で報告することとする。

#### 3.R.2 安定性への影響について

機構は、製品の加速及び苛酷条件において、ロット間で CCC 体含量に係る安定性プロファイルが大きくばらついた理由について、申請者に説明を求めた。

申請者は、以下のように回答した。

製品の加速及び苛酷条件下では CCC 体含量が経時的に低下し、また低下の程度はロット間でばらついていていた。また、25°Cの加速試験の条件下においては、製品の pH に応じて CCC 体含量の経時的な低下の程度が異なる傾向が認められ、pH ■ では著しい減少を示した。したがって、CCC 体の安定性に影響を与える主な要因として製品の pH が疑われた。一方で、長期保存条件下では、pH に依存した CCC 体含量の減少は認められなかった。

機構は、CCC 体含量に係る安定性プロファイルへの影響を低減化する方策について、申請者に説明を求めた。

申請者は、以下のように回答した。

製品の加速試験において、1 カ月時点では CCC 体含量の低下は認められていない。また、製品が pH ■ ~ ■ の範囲内であれば、25°Cの加速試験の条件下でも ■ カ月間は CCC 体含量の顕著な減少は観察されていない。したがって、製品の pH の規格値を pH5.0~7.5 と設定して管理することで、CCC 体含量の安定性は確保できると考える。また、製造工程において、バイアル充填品解凍後の包装工程で一定期間室温環境下に曝露されるが、安定性の確保のための方策として、当該工程における室温での作業時間の上限を ■ 時間と設定する。また、医療機関では製品の解凍後 ■ 時間以内に使用するよう情報提供する。

機構は、25°Cでは製品の CCC 体含量の低下が認められたものの、設定された製品の貯法条件下における安定性には問題がないこと、pH を適正に管理すること及び製造時における室温での時間管理がなされることから、安定性試験において認められた CCC 体含量の低下に対する対策は講じられ、問題はないと判断した。したがって、製品の有効期間を、遮光下、-35°C~-15°Cで保存するとき 60 カ月とすることを了承した。

## 4 効能、効果又は性能に関する資料及び機構における審査の概略

### 4.1 *in vitro* 試験

#### 4.1.1 培養細胞系における本品により発現誘導されるタンパク質の解析 (添付資料 4.2.1.1-1)

本品又は陰性対照である p██████ を CHO 細胞にリポフェクション法により遺伝子導入したときの、24 時間培養後の培養上清中の hHGF 濃度が、ELISA 法により測定された。その結果、培養上清中の hHGF 濃度は、本品で 73.23±7.47 ng/mL (平均値±標準偏差、以下同様。n=3)、p██████ で定量下限値 (██████ ng/mL、n=3) 未満であった。

HGF は、生体内では未成熟型 HGF として産生された後、細胞外に分泌され、Pro-HGF となる。Pro-HGF は細胞外で酵素により切断され α 鎖及び β 鎖となり、ヘテロ二量体を形成し成熟型 HGF (活性型) となる。

本品を CHO 細胞に導入し、培養上清中に放出された hHGF の分子構造がウェスタンブロット法により解析された。hHGF α 鎖特異的モノクローナル抗体による解析の結果、Pro-HGF と考えられる 92 kDa 付近、及び成熟型 HGF α 鎖と考えられる 69 kDa 付近にシグナルが検出された。また、hHGF β 鎖特異的モノクローナル抗体による解析の結果、Pro-HGF と考えられる 92 kDa 付近、並びに成熟型 HGF β 鎖と考えられる 32 kDa 及び 34 kDa 付近 (2 本のシグナルは、糖鎖の有無による) にシグナルが検出された。

#### 4.1.2 ヒト骨格筋細胞に対する本品の HGF 発現誘導作用 (添付資料 4.2.1.1-2)

本品又は p██████ を 4.1.1 と同様の遺伝子導入法により正常ヒト骨格筋細胞に導入したときの、24 時間培養後の培養上清中の hHGF 濃度は、本品で 3.45±0.46 ng/mL (n=3)、p██████ で定量下限値 (██████ ng/mL) 未満 (n=3) であった。

#### 4.1.3 本品由来 HGF のヒト血管内皮細胞に対する増殖活性試験 (添付資料 4.2.1.1-3)

4.1.1 と同様の遺伝子導入法により CHO 細胞で産生・分泌させた本品由来 HGF の HUVEC に対する細胞増殖能が、生細胞によるテトラゾリウム塩の代謝により生じるホルマザン色素量を指標とする WST-1 法により評価された。その結果、本品由来 HGF 濃度依存的な細胞増殖が認められた。

## 4.2 ラットを用いた試験

### 4.2.1 ラット下肢虚血モデルにおける本品の薬効評価試験 (添付資料 4.2.1.1-6、参考資料 4.2.1.1-7 及び -8)

雄性 SD 系ラットを用いた左下肢虚血モデルの虚血側の左内側大腿筋肉内に、本品 0.2 mg/mL、2 mg/mL、又は p██████ 2.5 mg/mL が 0.5 mL/body で単回投与された。投与 14 及び 26 日後にレーザードップラー血流画像化装置を用いて下肢血流量が測定され、Doppler ratio (左下肢血流量の右下肢血流量に対する比)

から血流改善作用が評価された（表 4）。投与 26 日後では p █████ 群と比較して本品群で血流量が有意に高かった（ $p < 0.01$ 、Dunnett 検定）。

表 4 ラット下肢虚血モデルにおける本品投与後の Doppler ratio (%)

測定検体	本品群		p █████ 群
	0.1 mg/body	1.0 mg/body	
投与前	40.71 ± 6.85	40.31 ± 6.87	40.28 ± 7.08
投与 14 日後	50.74 ± 13.10	50.72 ± 14.09	42.49 ± 14.23
投与 26 日後	64.76 ± 10.56	64.96 ± 8.42	50.97 ± 8.72

平均値 ± 標準偏差（各群 n=16）

また、投与 28 日後の本品投与部位筋肉の ALP 染色標本から画像解析装置を用いて毛細血管数が計測され、血管新生作用が評価された（n=15~16）。毛細血管数(本/body)については、p █████ 群では 300 ± 99、本品群（0.1 及び 1.0 mg/body）ではそれぞれ 324 ± 49 及び 383 ± 63 であり、本品投与により用量依存的な毛細血管数の増加傾向が認められ、p █████ 群と比較して本品 1 mg/body 投与群で有意な差が認められた（ $p < 0.01$ 、Dunnett 検定）。

#### 4.2.2 本品のラットにおける HGF 発現の比較試験（添付資料 4.2.1.1-9）

雄性 SD 系ラット（9 週齢）の左右の前脛骨筋内に本品（A\*C\*製品又は D\*E\*製品）0.75 mg/0.3 mL が単回投与され、投与 7 日後に投与部位筋肉中の hHGF 濃度が ELISA 法により測定された。本品（A\*C\*製品及び D\*E\*製品）による hHGF の発現量は、それぞれ 1.500 ± 0.954 及び 1.899 ± 1.195 ng/g tissue（各群 n=10）であった。

#### 4.3 ウサギを用いた試験

雄性 NZW 系正常ウサギ（14 週齢）の左右の █████ 筋に本品が単回投与され、hHGF 発現における投与液中の本品濃度及び投与液量による影響が、投与後の投与部位筋肉における hHGF 発現量の経時変化を ELISA 法で測定することにより検討された。

##### 4.3.1 ウサギ骨格筋における HGF 発現に対する本品投与液濃度の影響（添付資料 4.2.1.1-10）

本品 0.01 mg 又は 0.5 mg が投与液量 2.0 mL で単回投与され、投与後 7 日の投与部位筋肉中での hHGF 発現量が測定された（各群 n=20）。0.01 mg 群では 8/20 例で測定可能な hHGF の発現が認められ、hHGF 発現量は 0.345 ± 0.492 ng/g tissue であった（定量下限値未満の場合は 0 として算出された）。0.5 mg 群では、20 例全例で測定可能な hHGF の発現が認められ、hHGF 発現量は 14.824 ± 12.366 ng/g tissue であり、投与液濃度依存的な hHGF の発現が認められた。

##### 4.3.2 ウサギ骨格筋における HGF 発現に対する本品投与液量の影響（添付資料 4.2.1.1-11）

本品 0.5 mg が 0.5 mL（1.0 mg/mL）又は 2.0 mL（0.25 mg/mL）単回投与され、投与後 7 日の投与部位筋肉中の hHGF 発現量を測定された（各群 n=20）。0.5 mL 群で 5.174 ± 4.662 ng/g tissue（19/20 例で検出）、2.0 mL 群で 15.628 ± 17.047 ng/g tissue（19/20 例で検出）であり、投与液量依存的な hHGF の発現が認められた。

### 4.3.3 ウサギ骨格筋における hHGF 発現の経時変化 (添付資料 4.2.1.1-12)

本品 0.5 mg を 2.0 mL (0.25 mg/mL) 単回投与したときの、投与後 1、7、14 及び 28 日の投与部位筋肉中の hHGF 発現量が測定された (表 5)。hHGF の発現が認められた動物数及び発現量は、ともに投与後 7 日目に最大を示した。

表 5 ウサギにおける単回筋肉投与後の hHGF 発現

測定検体	投与部位筋肉中		血清中
	HGF 発現が認められた動物数 (例)	hHGF 濃度 <sup>a</sup> (ng/g tissue)	hHGF 濃度 (ng/mL)
1 日後	10/20	0.737±0.914	定量下限値 <sup>b</sup> 未満
7 日後	18/19	3.754±3.079	定量下限値 <sup>b</sup> 未満
14 日後	16/20	2.331±2.954	定量下限値 <sup>b</sup> 未満
28 日後	5/20	0.362±0.764	定量下限値 <sup>b</sup> 未満

a : 平均値±標準偏差 (各群 n=20)、定量下限値 (■ ng/mL) 未満の場合は測定値を 0 として算出。

b : ■ ng/mL

## 4.4 安全性薬理試験

### 4.4.1 中枢神経系に及ぼす影響 (添付資料 4.2.1.3-1 及び-2)

雄性 SD 系ラット (6 週齢) に本品 0.5 mg/kg、5.0 mg/kg 又は溶媒 (生理食塩液) を右大腿筋肉 (2 カ所) に単回投与 (合計投与液量 : 2 mL/kg) したときの中枢神経系に及ぼす作用が、FOB 法により投与後 168 時間まで検討された。一般症状、行動及び体温に影響は認められなかった。5.0 mg/kg 投与群 (n=8) では、投与 1 時間後の排糞数が溶媒群 (n=8) と比較して有意に高値であったが、申請者は、関連する情動性の指標に変化がないことから、偶発的な変化であると考察している。

また、雄性カニクイザル (2~3 歳、各群 n=4) に本品 0.25 mg/kg、2.5 mg/kg 又は溶媒を左右大腿筋内の複数カ所に約 0.6 mL ずつ単回投与 (合計投与液量 : 1 mL/kg) したときの一般状態及び行動が観察され、明らかな変化は認められなかった。

### 4.4.2 呼吸・循環器系に及ぼす影響 (添付資料 4.2.1.3-2)

雄性カニクイザル (2~3 歳、各群 n=4) に本品 0.25 mg/kg、2.5 mg/kg 又は溶媒 (生理食塩液) を左右大腿筋内の複数カ所に約 0.6 mL ずつ単回投与 (合計投与液量 : 1 mL/kg) したときの呼吸・循環器系に及ぼす影響が、テレメトリー及びホルター心電図測定法を用いて検討された。投与 24 時間後まで血圧、呼吸数、心拍数及び心電図に影響は認められず、投与 168 時間後に実施された同一の検査でも影響はみられなかった。また、投与 1 時間後の動脈血における血液ガス分析において、O<sub>2</sub> 分圧は 2.5 mg/kg 群で溶媒群より有意に高かったものの、動脈血 pH、CO<sub>2</sub> 分圧及び O<sub>2</sub> 飽和度に影響は認められなかった。

## 4.R 機構における審査の概略

### 4.R.1 本品の作用機序について

申請者は、本品の筋肉内投与による重症虚血肢に対する作用機序について、以下のように説明している。

本品は、細胞内に遺伝子導入されることにより成熟型 hHGF を産生・分泌すること、本品により産生された hHGF は血管内皮細胞の特異的な増殖を促進することから、本品投与により血管を誘導する可能性が示唆される。ウサギ骨格筋及びラット前脛骨筋への投与において本品の投与により筋肉内で測定可能な hHGF の発現が認められたこと、及びラット下肢虚血モデルにおいて本品の大腿筋肉内投与により

血流量及び血管数が増加したことを考え合わせると、本品は骨格筋細胞に導入されて hHGF を発現し、血管内皮細胞の増殖作用を介して血管新生を誘導すると考えられる。

機構は、本品の作用機序について、現在得られている知見に基づき一定の考察がなされているものとする。

#### 4.R.2 安全性薬理試験について

申請者は、本品の安全性薬理試験結果を踏まえて、中枢神経系、呼吸器系及び心血管系への安全性上の懸念はないものと推察されると説明した。

機構は、安全性薬理試験結果を踏まえたヒトにおける安全性評価について、受入れ可能と判断した。

### 5 製品の体内動態に関する資料及び機構における審査の概略

#### 5.1 非臨床体内動態

本品を雌雄ラットの筋肉内又は静脈内に投与したときの血液中濃度推移、分布、代謝及び尿中排泄、また、本品を雄性カニクイザルに筋肉内投与したときの血液中濃度推移が検討された。

ラット血液及び尿、並びにサル血液中の本品濃度測定は Q-PCR 法により実施され、本品を構成する塩基配列（全 5,181 bp）のうち CMV プロモーター領域と hHGF cDNA 領域を含む配列  $\blacksquare$  bp を特異的に検出するプライマーセットが使用された（Q-PCR 法 A）。さらに、ラット組織中の本品濃度の定量には、代謝物である不活性な核酸断片と hHGF 発現誘導能を有するプラスミド DNA を区別するために、当該  $\blacksquare$  bp を含む  $\blacksquare$  bp の配列を増幅領域とするプライマーセットも使用された（Q-PCR 法 B）。Q-PCR 法の定量下限値は、血液（Q-PCR 法 A 及び B）：10 copies/ $\mu$ L、組織（Q-PCR 法 A 及び B）：50 copies/ $\mu$ g DNA 及び尿（Q-PCR 法 A のみ）：50 copies/ $\mu$ L である。本品の薬物動態パラメータは、本品の 1 copy の重量  $5.68 \times 10^{-6}$  pg を用いて本品等量に換算された。また、本品の代謝物組成分析にはサザンブロット法が用いられた。

#### 5.1.1 吸収

##### 5.1.1.1 ラット単回筋肉内投与及び静脈内投与時の血液中濃度推移（添付資料 4.2.2.3-1、4.2.2.3-3～4 及び 6）

雌雄 SD 系ラット（9 週齢）に本品 0.06、0.3 及び 1.5 mg/kg（投与液量：1 mL/kg）を右大腿筋肉内に単回内投与したときの血液中本品濃度、及び本品 1.5 mg/kg を単回静脈内投与したときの血液中本品濃度が Q-PCR 法 A により測定された（表 6）。本品 1.5 mg/kg の筋肉内投与時の AUC と静脈内投与時の AUC を比較したところ、絶対バイオアベイラビリティは雌雄ラットでそれぞれ 0.7 及び 0.2% であり、本品を筋肉内に投与した場合、本品はほとんど全身循環血液中へ移行しないと考えられた。

表 6 雌雄ラットに本品を単回筋肉内投与又は静脈内投与した時の血液中本品の薬物動態パラメータの比較

投与経路	用量 (mg/kg)	性	Cmax (pg eq./mL)	AUC <sub>last</sub> (pg eq.·h/mL)	AUC <sub>inf</sub> (pg eq.·h/mL)	t <sub>max</sub> (h)	t <sub>1/2</sub> (h)
筋肉内	0.06	雌	3.07±2.05	9.97±6.50	Nc	6.5±3.0	Nc
	0.3		1,010±1,780	616±782	1,130 <sup>a</sup>	0.44±0.13	0.99 <sup>a</sup>
	1.5		5,120±5,710	20,600±18,800	20,600±18,800	4.3±4.3	3.7±4.2
静脈内	1.5			3,120,000±910,000	3,120,000±910,000		7.0±3.0
筋肉内	0.06	雄	20.4±33.4	73.9±107.4	28.2 <sup>a</sup>	2.1±1.5	4.5 <sup>a</sup>
	0.3		623±653	562±400	Nc	1.3±1.8	Nc
	1.5		6,440±5,050	8,420±6,680	10,200±6,900 <sup>b</sup>	0.31±0.13	4.0±3.8 <sup>b</sup>
静脈内	1.5			4,250,000±1,020,000	4,250,000±1,020,000		12±3

平均値±標準偏差 (各群 n=4)、Nc:算出できず、a:平均値 (n=2)、b:平均値±標準偏差 (n=3)

### 5.1.1.2 ラット 1 カ月間隔 2 回筋肉内投与時の血液中濃度推移 (添付資料 4.2.2.3-2 及び-6)

雌雄 SD 系ラット (9 週齢) の右大腿筋肉内に本品 1.5 mg/kg (投与液量: 1mL/kg) を 1 カ月間隔で 2 回投与したときの血液中本品濃度が Q-PCR 法 A により測定された (表 7)。単回 (5.1.1.1 参照) 及び 2 回目投与時の AUC に有意な差は認められなかった。

表 7 雌雄ラットに本品を 1 カ月間隔で 2 回筋肉内投与した時の血液中本品の薬物動態パラメータ

投与経路	性	Cmax (pg eq./mL)	AUC <sub>last</sub> (pg eq.·h/mL)	t <sub>max</sub> (h)	t <sub>1/2</sub> (h)
筋肉内	雌	5,880±6,510	7,010±7,290	2.1±2.2	2.1±0.4
	雄	9,700±15,890	20,800±28,000	2.6±3.6	1.8 <sup>a</sup>

平均値±標準偏差 (n=4)、a:平均値 (n=2)

### 5.1.1.3 サル単回筋肉内投与時の血液中濃度推移 (添付資料 4.2.2.3-5 及び-6)

雄性カニクイザル (3~5 歳) に本品 0.5 及び 2.5 mg/kg を単回筋肉内投与したときの血液中本品濃度が Q-PCR 法 A により測定された (表 8)。サルでは高値であったが、t<sub>max</sub> はラットと同程度であった。

表 8 雄性カニクイザルに本品を単回筋肉内投与した時の血液中本品の薬物動態パラメータ

投与経路	用量 (mg/kg)	性	Cmax (ng eq./mL)	AUC <sub>last</sub> (ng eq.·h/mL)	t <sub>max</sub> (h)	t <sub>1/2</sub> (h)
筋肉内	0.5	雄	123±155	640±748	3.0±4.3	6.2±1.6
	2.5		483±640	10,500±17,600	0.50±0.43	11±4

平均値±標準偏差 (各群 n=3)

## 5.1.2 分布

### 5.1.2.1 ラット単回筋肉内投与時の組織分布 (添付資料 4.2.2.3-1 及び-6)

雌雄 SD 系ラット (9 週齢、n=4) に本品 1.5 mg/kg (投与液量: 1 mL/kg) を単回筋肉内投与したときの投与後 1、4 及び 7 日の組織中本品濃度が測定された。さらに雄性ラットに同用量で単回筋肉内投与した時の投与後 14、28、60 及び 90 日目の投与部位筋肉中の本品濃度が測定された。

Q-PCR 法 A による測定では、投与 1 日後に、雌雄ラットの投与部位筋肉中に本品投与量の 0.014~0.015% が認められ、血液、肺、心臓、脾臓、腎臓、膵臓、小腸、大脳、副腎及び非投与部位筋肉でも検出された。投与後 4 日以降では投与部位筋肉を除く組織において定量下限値未満であった。一方、Q-PCR 法 B による測定では、全ての測定時点において雌雄ラットの投与部位筋肉以外のいずれの組織でも検出されず、雄性ラットの投与部位筋肉中の本品濃度は、投与後 60 日目では定量下限値未満であった。以上

の結果から、組織中に検出された本品は代謝物である核酸の断片と考えられ、hHGF を発現可能な本品は組織へ分布していないと推察された。

#### 5.1.2.2 ラット単回静脈内投与時の組織分布（添付資料 4.2.2.3-4 及び-6）

雌雄 SD 系ラット（9 週齢、n=4）に本品 1.5 mg/kg を単回静脈内投与したときの投与 1、4 及び 7 日後の組織中本品濃度が測定された。

Q-PCR 法 A による測定では、投与 1 及び 4 日後には広範な組織で検出され、投与 7 日後には骨髄、肺、心臓、腎臓、精巣、卵巣、脾臓及び筋肉で検出された。Q-PCR 法 B による測定では、投与後 1 日には骨髄、肺、心臓、腎臓、脾臓、肝臓、膵臓、副腎、筋肉及び大脳で、投与後 4 日目には雄の脾臓でのみ検出され、投与後 7 日には全ての組織で定量下限値未満であった。以上の結果から、少なくとも投与後 7 日目までに本品は代謝され、hHGF が発現可能な核酸は組織に認められないことが確認された。

#### 5.1.2.3 妊娠ラット単回筋肉内投与時の胎盤移行性（添付資料 4.2.2.3-7～9）

妊娠 13 日の SD 系ラットに本品 0.15 mg/kg 又は 1.5 mg/kg を、妊娠 6、8、10 及び 16 日のラットに本品 1.5 mg/kg をそれぞれ単回筋肉内投与したときの組織中本品濃度が測定された（表 9）。その結果、一部の動物を除き hHGF 発現誘導能をもつ核酸は検出されなかったことから、hHGF を発現可能な本品は、胎盤を通過して胎仔に分布する可能性は低いと考えられた。

表9 妊娠ラットに本品を単回筋肉内投与した時の胎盤移行性評価

	用量 (mg/kg)	測定対象組織	投与後 (日)											
			1		2		3		4		5		6	
			A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
妊娠 6 日目 (n=5)	1.5	投与部位筋肉	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		母体血液	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		子宮	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		受胎産物 <sup>a</sup>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
妊娠 8 日目 (n=5)	1.5	投与部位筋肉	+	+	+	+	+	+	+	+	/			
		母体血液	-	-	△	-	-	-	-	-				
		子宮	+	-	-	-	-	-	-	-				
		受胎産物 <sup>a</sup>	+	-	△	-	-	-	-	-				
妊娠 10 日目 (n=5)	1.5	投与部位筋肉	+	+	+	+	/							
		母体血液	-	-	-	-								
		子宮	+	-	-	-								
		受胎産物 <sup>a</sup>	+	-	-	-								
妊娠 13 日目 (n=3)	0.15	投与部位筋肉	+	/		+	/		+	/				
		母体血液	-			-			-					
		子宮	-			-			-					
		胎盤	-			-			-					
		胚・胎仔	-			-			-					
		羊水	-			-			-					
	1.5	投与部位筋肉	+	+	+	+	+	+	+	+	/			
		母体血液	△	△	-	-	-	-						
		子宮	△	-	-	-	-							
		胎盤	△	-	-	-	-							
		胚・胎仔	-	-	-	-	-							
		羊水	-	-	-	-	-							
妊娠 16 日目 (n=5)	1.5	投与部位筋肉	+	+	+	+	/							
		母体血液	+	△	△	-								
		子宮	+	-	+	-								
		胎盤	+	△	+	-								
		胎仔	-	-	-	-								
		羊水	-	-	-	-								

A : Q-PCR 法 A、B : Q-PCR 法 B、a : 胎盤、胚・胎仔及び羊水を包括的に採取した組織。  
 - : 定量下限値未満、△ : 一部の動物で検出された。

### 5.1.3 代謝

#### 5.1.3.1 *in vitro* 代謝 (添付資料 4.2.2.4-1)

本品の血清中での代謝の種差を検討するため、本品 1.0 µg/mL をヒト又はラット血清中に添加しインキュベートした試料について、本薬を構成する塩基配列 (全 5,181 bp) のうち hHGF cDNA 領域の部分領域 (■■■■ bp) を特異的に検出できるプローブを用いてサザンブロット法により検討された。本品の主要な構造である CCC 体はヒト又はラット血清中に添加すると速やかに OC 体及び LN 体に代謝された後、低分子化の核酸断片に代謝された。ヒト血清中では CCC 体は添加 1~5 分後、OC 体及び LN 体は添加 15~30 分後まで、また、ラット血清中では CCC 体は添加 1 分後、OC 体及び LN 体は添加 5 分後まで検出された。当該試験系における CCC 体の t<sub>1/2</sub> は、ヒト血清中では 37 秒、ラット血清中では 28 秒と算出され、ヒト及びラットの血清のいずれにおいても速やかに代謝されることが示された。

### 5.1.3.2 *in vivo* 代謝 (添付資料 4.2.2.3-1 及び 3)

雌雄ラットに本品 1.5 mg/kg (投与量: 1 mL/kg) を単回筋肉内投与したときの、投与後 8 時間までの血液中の代謝産物がサザンブロット法により解析された。その結果、いずれの検体中にも CCC 体は認められず、投与後 15 分、30 分及び 1 時間までの検体中に OC 体及び LN 体が検出された。投与後 2 時間以降の検体中には OC 体、LN 体のいずれも検出されず、低分子化された核酸断片と考えられるスメアが確認された。

雌雄ラットに本品 1.5 mg/kg (投与量: 1 mL/kg) を単回静脈内投与し、投与後 4 時間までの血液中の代謝産物を同様に分析した結果、いずれの検体中にも CCC 体は認められなかった。投与後 5 分までの検体中には OC 体及び LN 体のみが検出されたが、投与後 15 分以降の検体中には OC 体及び LN 体のいずれも検出されず、低分子化された核酸断片と考えられるスメアが確認された。

以上の結果から、本品は血中で CCC 体から OC 体又は LN 体へ変化し、最終的には不活性な核酸断片へと代謝されることが示唆された。

### 5.1.4 排泄 (添付資料 4.2.2.3-3)

雌雄ラットに本品 1.5 mg/kg を単回静脈内投与したときの尿中での本品濃度が Q-PCR 法 A を用いて検討され、投与後 8、24、48、72、96、120、144、及び 168 時間までのいずれの測定時点においても尿中の本品濃度は定量下限値未満であった。

## 5.2 臨床薬理試験

### 5.2.1 筋肉内投与後の血液中本品濃度

血液中の本品濃度推移が、米国第 II 相試験、米国追加第 II 相試験及び大阪大学臨床研究の第二ステージにおいて検討された (7 参照)。ヒト血液中の本品の定量には、Q-PCR 法 A が用いられた (定量下限は、米国臨床試験では 50 copies/20 µL、大阪大学臨床研究では 50 copies/10 µL)。

各試験において、本品は、本品投与後 4 時間又は 1 日のほぼ全例の血液中に検出されたが、投与後 7 日目には一部の被験者でのみ検出され、2 週間間隔で 2 回目又は 3 回目投与を行った場合にも同様の結果であった。また、本品投与 2 週又は 4 週後において血液中に本品が検出された被験者は少なく、投与 3 カ月又は 6 カ月後では全例で検出限界 (米国臨床試験では 10 copies/20 µL、大阪大学臨床研究では 10 copies/10µL) 未満であった。

### 5.2.2 筋肉内投与後の血清中 hHGF 濃度

血清中の hHGF 濃度推移が ASO 第 III 相試験、TAO 一般臨床試験、先進医療 B 臨床研究、米国第 II 相試験及び米国追加第 II 相試験において検討された (7 参照)。血清中 hHGF の定量には、ELISA 法が用いられた (定量下限は、           ng/mL)。

いずれの試験においても本品投与による血清中 hHGF 濃度の明らかな変動は認められなかった。

## 5.R 機構における審査の概略

申請者は、本品の体内動態について以下のように説明している。

ラットに本品を筋肉内投与した際の投与部位筋肉中の本品濃度は、単回及び 1 カ月間隔 2 回筋肉内投与でほぼ同様に推移したことから、複数回投与による影響はないものと考えられた。また、本品を筋肉内投与した際の血液中の本品の濃度推移を単回投与と 1 カ月間隔 2 回投与との間で比較した結果、単回

投与時と1カ月間隔2回目投与時のAUCに有意な差は認められず、複数回投与による曝露量の差は認められなかった。

ラットに本品を単回筋肉内投与したとき、血液中本品濃度のAUCは、同用量で単回静脈内投与した時のAUCの1%未満であり、本品を筋肉内投与した場合には本品はほとんど全身循環血中へ移行しないと考えられた。

ラットに本品を単回静脈内投与したとき、尿中本品濃度は投与後168時間までの全ての測定時点で定量下限未満であった。サザンブロット法を用いた本品の血液中代謝物の検討結果より、血液中では本品は速やかに代謝されるため、尿中には検出できないほど短い核酸の断片として排泄される可能性が考えられた。また、ラットに本品を単回筋肉内投与したときの胎盤移行性の検討結果より、本品は胚・胎児及び羊水へ移行しないと考えられた。

臨床薬理試験において、本品投与後に血液中本品濃度及び血清中hHGF濃度の明らかな変動は認められていないことから、ヒトにおいても、本品を筋肉内投与した場合には本品はほとんど全身循環血中へ移行せず、血液中代謝物の検討結果から、全身循環血中へ移行したとしても速やかに代謝されると考える。したがって、本品の投与による全身への影響はほとんどないと推察される。

機構は、申請者の説明を了承した。

## 6 非臨床安全性に関する資料及び機構における審査の概略

本品の非臨床安全性に関する試験として、単回投与毒性試験、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、局所刺激性試験及びその他の試験（抗原性試験）の成績が提出された。これらの試験では、A\*B\*製品、A\*C\*製品及びD\*E\*製品が使用された（2.2.3参照）。

なお、特に記載のない限り、*in vivo*試験では溶媒として生理食塩液が用いられた。

### 6.1 一般毒性

ラット及びサルを用いた筋肉内投与毒性試験、並びにラットを用いた静脈内投与毒性試験が実施された（表10、表11）。本品投与による主な所見として、投与部位における単核細胞浸潤が認められた。

表10 単回投与毒性試験

試験系	投与経路	用量 (mg/kg)	主な所見	添付資料
雌雄ラット (SD)	筋肉内	0、10 (A*B*製品)	10：投与部位での単核細胞の浸潤	4.2.3.1-1
雌雄ラット (SD)	静脈内	0、10 (A*B*製品)	10：投与部位での静脈内皮の肥厚	4.2.3.1-2
雌雄ラット (SD)	静脈内	0、10 (D*E*製品) 10 (A*C*製品)	特記所見なし	4.2.3.1-3
雄性カニクイザル	筋肉内	2.5	2.5：好塩基球数及び比率の高値	4.2.3.1-4

表 11 反復投与毒性試験

試験系	投与経路	投与期間	用量 (mg/kg/回) (A*B*製品)	主な所見	無毒性量 (mg/kg/回)	添付資料
雌雄ラット (SD)	筋肉内	1 ヶ月間隔 4 回 (1 回/月) + 休薬 1 ヶ月	0、0.5、1.5、5.0 (A*B*製品)	≥1.5：抗 hHGF 抗体価の上昇 回復性：あり	5.0	4.2.3.2-1
雌雄ラット (SD)	筋肉内	1 週間間隔 5 回 (1 回/週) + 休薬 4 週間	0、5.0 (A*B*製品)	5.0：投与部位における以下の所見 筋線維の変性・壊死・再生、間質の線維化、出血及び単核細胞浸潤 回復性：あり	5.0	4.2.3.2-2
雌雄ラット (SD)	静脈内	14 日間 (1 回/日) + 休薬 14 日間	0、0.6、2.5、10 (A*B*製品)	≥0.6：投与部位での単核細胞浸潤 回復性：あり	10.0	4.2.3.2-3
雌雄カニクイザル	筋肉内	1 ヶ月間隔 4 回 (1 回/月) + 休薬 1 ヶ月	0、0.25、0.8、2.5 (A*B*製品)	2.5：下痢 (雌)	2.5	4.2.3.2-4 (参考)

## 6.2. その他の安全性

### 6.2.1 ラット多臓器コメットアッセイ

本品投与後の本品からの発現産物は hHGF であり、細胞膜を通過して DNA や染色体に直接作用することは考えられないとして、hHGF を考慮した遺伝毒性試験は実施されなかった。なお、本品をラットへ静脈内投与した際に、投与 1 日後の本品の分布は主に肺、腎臓で確認されていることから (5.1.2.2 参照)、ラット多臓器コメットアッセイにおいて本品の肺及び腎臓における DNA 初期損傷誘発作用が検討され、その結果、本品に DNA 初期損傷誘発作用は認められなかった (表 12)。

表 12 ラット多臓器コメットアッセイ (in vivo)

試験系	投与経路	用量 (mg/kg/日) (D*E*製品)	評価した細胞	試験成績	添付資料
雄性ラット (SD)	静脈内	10 (24 時間間隔 2 回投与/静脈内)	肺及び腎臓由来細胞	陰性	4.2.3.3.2-1

### 6.2.2 担がんマウスを用いた腫瘍増殖に対する影響確認試験

本品投与後の本品からの発現産物である hHGF の受容体は、がん原遺伝子産物である c-MET である。HGF/c-MET シグナルの活性化は、がん細胞の増殖、浸潤、転移への関与が知られており、投与部位の近傍に腫瘍が存在した場合に本品の投与が腫瘍増殖に影響を及ぼす可能性が否定できないことから、ヒト腫瘍細胞株 (Mewo 細胞又は HT-29 細胞) を大腿部皮下に移植した担がんマウスを用い、本品の腫瘍増殖への影響確認試験が実施された。その結果、いずれの腫瘍細胞株においても腫瘍増殖促進作用及び腫瘍転移は認められなかった (表 13)。

表 13 担がんマウスを用いた腫瘍増殖に対する影響確認試験

試験系	投与経路	投与期間	腫瘍細胞	用量 (mg/kg/日) (D*E*製品)	観察結果	添付資料
雌性ヌードマウス (Balb/cA Jcl-nu)	筋肉内 (腫瘍 近傍)	単 回 投 与	Mewo 細胞株 <sup>a</sup>	0 0.05 0.25	本品投与後 21 日間において、いずれの腫瘍細胞株においても腫瘍体積及び腫瘍重量について本品投与群と対照群の間で有意な差は認められず、腫瘍細胞の転移も認められなかった。	4.2.3.4.3-1
			HT-29 細胞株 <sup>b</sup>	0 0.05 0.25		

a : ヒト悪性黒色腫由来細胞株、b : ヒト結腸癌由来細胞株

### 6.2.3 局所刺激性試験

ウサギにおける本品の局所刺激性は、陰性対照とした生理食塩液とほぼ同程度と判断された(表 14)。

表 14 ウサギ筋肉局所刺激性試験

試験系	適用局所	試験方法 <sup>a</sup>	主な所見	添付資料
雄性ウサギ (NZW)	筋肉内	0.17 mg/mL を 1 mL 単回投与 (D*E*製品)	投与 2 日後、筋線維の変性又は壊死、組織球及び偽好酸球の浸潤、出血 投与 7 日後、組織球の浸潤 投与 14 日後に上記の所見は消失	4.2.3.6-1
		0.17 mg/mL を 1 mL 単回投与 (A*B*製品)	投与 2 日後、筋線維の変性又は壊死、組織球及び偽好酸球の浸潤、出血 投与 7 日後、組織球の浸潤、出血、線維化 投与 14 日後に上記の所見は軽減	4.2.3.6-2

a : 陰性対照群として生理食塩液投与群、陽性対照群として 0.425% 及び 1.7% 酢酸投与群を設定した。

### 6.2.4 抗原性試験

雄マウスを用いた異種受身皮膚アナフィラキシー反応試験 (Hetero-PCA 試験)、雄モルモットを用いた能動的全身性アナフィラキシー反応試験 (ASA 試験) 及び同種受身皮膚アナフィラキシー反応試験 (Homo-PCA 試験) が実施され、D\*E\*製品及びA\*B\*製品の抗原性の検討、及び感作したマウス及びモルモット血清中の抗本品抗体の ELISA 法による測定が行われた。全ての試験結果は陰性であり、いずれの製品にも抗原性はないと判断された(表 15)。

表 15 マウス抗原性試験及びモルモット抗原性試験

試験の種類	試験系	試験方法	試験結果	添付資料
Hetero-PCA 試験	雄性マウス (Balb/c 及び C3H/He) 及び雄性ラット (SD)	25 mg/kg (D*E*製品) を腹腔内投与 (2 週間隔 3 回投与) して感作したマウスの血清をラット (SD) に皮内投与し、24 時間後に 2.5 mg/kg (D*E*製品) を単回静脈内投与した。	PCA 反応は示されなかった。感作したマウスの血清中に抗本品抗体は認められなかった。	4.2.3.7.1-1 4.2.3.7.1-3 (参考)
ASA 試験 及び Homo-PCA 試験	雄性モルモット (Hartley)	2.5 mg/kg (D*E*製品) 皮下投与 (2 週間隔 3 回投与) して感作し、最終感作 28 日後に 2.5 mg/kg (D*E*製品) を静脈内投与 (ASA 試験) した。 感作モルモット血清を無処置モルモットに皮内投与し、4 時間後に 2.5 mg/kg (D*E*製品) を単回静脈内投与 (Homo-PCA 試験) した。	ASA 反応及び PCA 反応は示されなかった。感作したモルモットの血清中に抗本品抗体は認められなかった。	4.2.3.7.1-1
Hetero-PCA 試験	雄性マウス (Balb/c 及び C3H/He) 及び雄ラット (SD)	25 mg/kg (A*B*製品) を腹腔内投与 (2 週間隔 3 回投与) して感作したマウスの血清をラット (SD) に皮内投与し、24 時間後に 2.5 mg/kg (A*B*製品) を単回静脈内投与した。	PCA 反応は示されなかった。感作したマウスの血清中に抗本品抗体は認められなかった。	4.2.3.7.1-2
ASA 試験 及び Homo-PCA 試験	雄性モルモット (Hartley)	2.5 mg/kg (A*B*製品) を皮下投与 (2 週間隔 3 回投与) して感作し、最終感作 28 日後に 2.5 mg/kg (A*B*製品) を静脈内投与 (ASA 試験) した。 感作モルモット血清を無処置モルモットに皮内投与し、4 時間後に 2.5 mg/kg (A*B*製品) を単回静脈内投与 (Homo-PCA 試験) した。	ASA 反応及び PCA 反応は示されなかった。感作したモルモットの血清中に抗本品抗体は認められなかった。	4.2.3.7.1-2

## 6.R 機構における審査の概略

### 6.R.1 本品の発がんリスクについて

申請者は、HGF は腫瘍細胞に対する増殖促進作用を有することが知られているが、以下の理由から、本品投与による発がん性のリスクは低いと考えると説明している。

- 体内動態試験より、本品は投与後速やかに血液中で代謝されて不活化することが示されていること (5.1 参照)。
- ウサギ筋肉内投与 28 日後にはほとんどの個体で投与部位の hHGF は定量下限未満であり、臨床での本品の投与間隔は 4 週間隔で 2~3 回投与であることを考慮すると、本品最終投与 4 週間後には投与部位の組織中の hHGF 濃度は生理的濃度範囲内に回復すると考えられ、投与局所が hHGF に長期間曝露される可能性は低いと考えること (4.3.3 参照)。
- ラットを用いた多臓器コメットアッセイにより、本品の発がんイニシエーション作用はないことが示されていること (6.2.1 参照)。
- 本品の反復投与毒性試験において前がん病変が認められていないこと (6.1 参照)。
- 担がんマウスを用いた腫瘍増殖に対する影響確認試験において腫瘍増殖促進及び腫瘍転移は認められていないこと (6.2.2 参照)。

また、現時点で示された毒性試験結果において発がんリスクに関する懸念は認められておらず、本品が腫瘍を増悪させるとの臨床試験成績は得られていないものの、発現産物である hHGF は血管新生作用により悪性腫瘍の成長を促進する可能性がある。そのため、添付文書において、本品の投与部位の近傍 (筋肉及び周辺組織) に悪性腫瘍がある患者又はその既往歴のある患者に対する本品の投与は禁忌とし

て設定し、本品の投与部位の近傍以外に悪性腫瘍がある患者に対しては慎重に本品の投与可否を検討する必要がある旨を注意喚起する。

機構は、申請者の説明を了承するものの、製造販売後において、本品の発がんリスクに関する安全性情報を慎重に収集する必要があると考える。

## 6.R.2 生殖発生毒性について

機構は、本品の生殖発生毒性試験を実施しなかった理由、生殖発生毒性についての評価、及び本品が乳汁移行により次世代に影響を及ぼす可能性について、申請者に説明を求めた。

申請者は、以下のように述べた。

本品の生殖発生毒性試験は実施していないが、以下の理由から、本品の申請用法・用量において、生殖発生毒性の懸念は低いと考える。ただし、HGF を過剰発現したトランスジェニックマウスに発生異常が生じたという報告があることから（Proc Natl Acad Sci 1996; 93: 5866-71）、胚胎児発生期における HGF の過剰曝露は避けるべきと考える。

- 本品はプラスミドベクターを用いていることから、生殖細胞へ組み込まれるリスクは低いと考えること。
- 妊娠ラットに本品を単回筋肉内投与して胎盤移行性を検討した試験結果（5.1.2.3 参照）より、受胎産物には本品由来の核酸はわずかに検出されたものの、hHGF 誘導能を持たない不活性な核酸断片のみが分布していると考えられることから、本品が胚胎児に影響を及ぼす可能性は低いと考えること。
- 本品をウサギに筋肉内投与した際の血清中 hHGF 濃度は定量下限値未満であったこと及び本品の臨床試験において本品投与により生理的濃度を超える血清中 hHGF 濃度の上昇は認められていないことを踏まえると、本品及び本品が発現する hHGF が、生殖器を含め、全身に影響を及ぼす可能性は低いと考えること。

また、以下の理由から、本品が乳汁移行して乳児に影響を及ぼす可能性は低いと考えるものの、添付文書において授乳中の投与は避けるように注意喚起する。

- 臨床試験において本品投与後の血液中に本品に由来する核酸断片が検出されているものの、体内動態試験の結果等から hHGF を発現可能な本品が乳汁移行する可能性は低いと考えること。
- 本品は DNA であることから、仮に乳汁中に移行した本品を乳児が経口摂取した場合であっても、本品は胃酸や消化酵素により速やかに分解されると考えること。

機構は、申請者の説明を了承した。

## 7 臨床試験等の試験成績に関する資料並びに機構における審査の概略

有効性及び安全性に関する評価資料として、表 16 に示す 7 試験が提出された。また、参考資料として表 16 に示す 2 試験が提出された。なお、医薬品製造販売承認申請の取下げ後から今回の申請時まで、先進医療 B 臨床研究（7.1.3 参照）、米国第 II b 相パイロット試験（7.2.3 参照）、国際共同第 III 相試験（7.2.4 参照）並びに ASO 第 III 相試験、TAO 一般臨床試験、米国第 II 相試験及び米国追加第 II 相試験の追加長期予後調査（7.1.1、7.1.2、7.2.1 及び 7.2.2 参照）が、新たに実施された。

表 16 臨床試験一覧

資料区分	実施地域	試験名	相	対象患者	登録例数	用法・用量の概略 <sup>a</sup>	主な評価項目	
評価	国内	ASO 第Ⅲ相	Ⅲ	ASO 患者	①29 ②15 ③10	<ステージ1> ①本品を 0.5 mg ずつ 8 カ所 (合計 4 mg) に Q4W で 2 回投与 ②プラセボを Q4W で 2 回投与 <ステージ2> ③本品を 0.5 mg ずつ 8 カ所 (合計 4 mg) に Q4W で 2 回投与	有効性 安全性	
		TAO 一般臨床	—	バージャー病患者	10	本品を 0.5 mg ずつ 8 カ所 (合計 4 mg) に Q4W で 2~3 回投与	有効性 安全性	
		先進医療 B 臨床研究	—	ASO 患者 バージャー病患者	6	本品を 0.5 mg ずつ 8 カ所 (合計 4 mg) に Q4W で 2~3 回投与	有効性 安全性	
	国際共同	国際共同 第Ⅲ相	Ⅲ	ASO 患者	①23 ②23	①プラセボを Q2W で 3 回投与 ②本品を 0.5 mg ずつ 8 カ所 (合計 4 mg) に Q2W で 4 回投与 ①②ともに同じ投与レジメンを 3 カ月後、9 カ月後、12 カ月後に実施	有効性 安全性	
	海外	米国 第Ⅱ相	Ⅱ	ASO 患者	①26 ②26 ③25 ④27	①プラセボを Q2W で 3 回投与 ②本品を 0.05 mg ずつ 8 カ所 (合計 0.4 mg) に Q2W で 3 回投与 ③本品を 0.5 mg ずつ 8 カ所 (合計 4 mg) に Q4W で 2 回投与 (初回投与 2 週後はプラセボ投与) ④本品を 0.5 mg ずつ 8 カ所 (合計 4 mg) に Q2W で 3 回投与	有効性 安全性	
		米国追加 第Ⅱ相	Ⅱ	ASO 患者	①6 ②21	①プラセボを Q2W で 3 回投与 ②本品を 0.5mg ずつ 8 カ所 (合計 4 mg) に Q2W で 3 回投与	有効性 安全性	
		米国 第Ⅱb 相 パイロット	Ⅱ	ASO 患者	10	本品を 0.5 mg ずつ 8 カ所 (合計 4 mg) に Q2W で 4 回投与 同じ投与レジメンを 3 カ月後、9 カ月後、12 カ月後に実施	有効性 安全性	
	参考	国内	大阪大学 臨床研究	Ⅰ	ASO 患者 バージャー病患者	①6 ②8 ③8	<第1ステージ> ①本品 0.4 mg を投与した後、0.5mg ずつ 4 カ所 (合計 2 mg) に Q4W で 2 回投与 <第2ステージ> ②本品を 0.5mg ずつ 4 カ所 (合計 2 mg) に Q4W で 2 回投与 ③本品を 0.5mg ずつ 8 カ所 (合計 4 mg) に Q4W で 2 回投与	有効性 安全性
		海外	米国 IHD 第Ⅰ相	Ⅰ	虚血性心疾患	①3 ②6	①本品を ■ mg ずつ ■ カ所 (合計 0.4 mg) に単回投与 ②本品を ■ mg ずつ ■ カ所 (合計 4 mg) を単回投与	有効性 安全性

a: 本品の投与部位は、米国第Ⅱ相試験では対象肢の大腿及び下腿の筋肉内、米国 IHD 第Ⅰ相では虚血心筋内、他の試験ではいずれも対象肢の虚血部位の筋肉内とされた。

各臨床試験の概略は以下のとおりであった。

## 7.1 国内臨床試験

### 7.1.1 ASO 第Ⅲ相試験（添付資料 5.3.5.1-1.1～5.3.5.1-1.5 及び 5.3.5.1-2.1～2、実施期間（治験期間 ステージ1：2004年1月～20■年■月、ステージ2：20■年■月～20■年■月、追跡期間 ステージ1：～20■年■月、ステージ2：～20■年■月）

標準的な薬物治療の効果が不十分で血行再建術の施行が困難な重症虚血肢を有する ASO 患者（Fontaine 分類Ⅲ又はⅣ度）を対象とし、本品の有効性及び安全性を検討する目的で、プラセボ対照無作為化二重盲検<sup>1)</sup> 比較試験が国内 57 施設で実施された。

本試験では、4 週間の観察期を設定し、観察期が終了した時点で表 17 に示す主な選択基準及び除外基準に適合する患者が登録された。登録症例は、ステージ 1 に組み入れられ、登録時の重症度（Fontaine 分類）、性別、施設及び入院・外来の別を割付因子とした動的割付により本品群又はプラセボ群に二重盲検下で割り付けられた。また、ステージ 1 でプラセボ群に割り付けられた患者に本品を投与するステージ 2 が設定された。

表 17 主な選択基準及び除外基準

主な選択基準	<ul style="list-style-type: none"> <li>血管造影、CTA 又は MRA により投与対象肢の浅大腿動脈、膝窩動脈又は膝窩下の動脈に閉塞又は狭窄部位が認められ、かつ閉塞又は狭窄に伴う安静時疼痛（VAS 値が 20 mm 以上）又は潰瘍を有していること。</li> <li>対象肢の血行動態の指標が、以下の条件をいずれも満たすこと。 <ul style="list-style-type: none"> <li>観察期における安静時 ABPI がいずれも 0.6 以下であること。</li> <li>観察期における足関節血圧の平均値が 70 mmHg 未満であること。</li> </ul> </li> <li>投与対象肢の血行再建術（血管内治療を含む）の適応が困難であること。</li> <li>4 週間の観察期に既存の内科的治療や処置による対象肢の症状の改善が認められない<sup>2)</sup> こと。</li> </ul>
主な除外基準	<ul style="list-style-type: none"> <li>投与対象肢又は非対象肢に壊死化している潰瘍、腱又は骨が露出している潰瘍を有していること。</li> <li>悪性新生物又はその既往を有していること、又は下記の検査結果に該当し悪性新生物を有する可能性が否定できないこと。 <ul style="list-style-type: none"> <li>腫瘍マーカー PSA-ACT <math>\geq</math> 5.5 ng/mL</li> <li>子宮頸部細胞診 Class IV または V</li> <li>上記2項目以外の追加検査により悪性新生物の存在が否定できない場合</li> </ul> </li> <li>増殖糖尿病網膜症（未治療の増殖網膜症、中期・晩期増殖網膜症）又は新生血管型の加齢黄斑変性を有していること。</li> </ul>

用法・用量は、以下のとおりとされた。

#### <ステージ 1>

本品 0.5 mg 又はプラセボ（生理食塩液）を 8 カ所（本品の合計 4 mg）に Q4W で 2 回、対象肢の虚血部位に筋肉内投与する。生理食塩液で希釈後の 1 カ所あたりの薬液量は 3 mL とし、投与対象筋が小さい場合には薬液量を 2 mL まで減量してよい。投与部位については、血管造影検査にて血管の閉塞部位を確認した上で決定し、超音波で確認しながら本品を筋肉内に投与する。

#### <ステージ 2>

ステージ 1 の本品群に同じ。

<sup>1)</sup> 本品又はプラセボの初回投与から 12 週間後に治療効果の評価を行うとともに、1 例毎に盲検が解除された。

<sup>2)</sup> Fontaine 分類Ⅲ度の患者では「安静時疼痛の VAS の減少が 20 mm 未満」かつ「ABPI 及び TBPI が測定できる患者では ABPI 及び TBPI の上昇が 0.1 未満」の場合、Fontaine 分類Ⅳ度の患者では「主要評価対象となる潰瘍の大きさ $\sqrt{\text{長径} \times \text{短径}}$ の縮小が 25% 未満」かつ「ABPI 及び TBPI が測定できる患者では ABPI 及び TBPI の上昇が 0.1 未満」の場合と定義された。

また、ASO 及び ASO に随伴する症状に対する治療として、投与対象肢又は非対象肢の血行再建術、交感神経ブロック、交感神経切除術、硬膜外麻酔及びトラフェルミン投与はいずれも禁止とされた。さらに、観察期開始時から初回投与 12 週後の最終評価時まで、①ASO 及び ASO に伴う潰瘍に対する併用薬及び②鎮痛薬は、いずれも変更及び増量（1 日平均使用量が①1.5 倍及び②1.3 倍を超える増加）をしないこととされた。

主要評価項目は、本品又はプラセボの初回投与から 12 週後（又は中止時）の安静時疼痛の VAS 又は潰瘍の大きさの改善率とされた。なお、改善については、Fontaine 分類毎に以下のように定義された。

- Fontaine 分類Ⅲ度の患者では、安静時疼痛（VAS）が本品の投与前値から 20 mm 以上減少すること。ただし、鎮痛薬の使用量が観察期と比較して 1.3 倍を超えた場合には「非改善」として取り扱う。
- Fontaine 分類Ⅳ度の患者では、登録時に主要評価対象<sup>3)</sup>とした潰瘍の大きさ（ $\sqrt{（長径 \times 短径）}$ ）<sup>4)</sup>が投与前値から 75%以下に縮小すること。

申請者は、本試験の開始時点で目標症例数を 120 例（本品群 80 例、プラセボ群 40 例）と設定し、本試験開始前には中間解析は計画していなかった。しかしながら、本試験の組入れ基準を満たす症例が極めて少なく、治験開始後約 ■ 年経過した時点で目標症例数の集積が困難であると考えられたことに加え、当該時点（20■■ 年 ■ 月 ■ 日時点）で盲検解除した 11 例の結果から、本品の有効性が計画当初に予測したよりも大幅に上回る可能性があるとして判断したとし、FAS として 40 例の盲検が解除された時点で 1 回の中間解析を実施するよう治験実施計画書を変更した（第 ■ 版、20■■ 年 ■ 月 ■ 日付）。なお、中間解析を実施することによる第一種の過誤確率の調整には、Lan-DeMets 法が用いられ、Lan-DeMets 法に基づき中間解析における有意水準は両側 2.00%（最終解析では 3.49%）と設定された。

本試験では、46 例（本品群 30 例、プラセボ群 16 例）が無作為化され、そのうち 44 例（本品群 29 例、プラセボ群 15 例）に本品が投与された。そして 41 例目（本品群 28 例、プラセボ群 13 例）の最終評価が実施された時点（20■■ 年 ■ 月 ■ 日）をデータカットオフ日とし、中間解析が実施された。なお、データカットオフ時点で本品が投与中であった 42～44 例目の 3 例は、有効性及び安全性の解析対象から除外された。

中間解析時点で最終評価が終了していた 41 例（本品群 28 例、プラセボ群 13 例）が安全性の解析対象集団とされた。また、本品投与後に血管炎と診断され対象疾患外であることが判明した本品群の 1 例を除く 40 例（本品群 27 例、プラセボ群 13 例）が FAS とされ、FAS が有効性の解析対象集団とされた。なお、41 例中 39 例が 12 週間の治療期を完了した。中間解析の解析対象集団に含まれなかった 3 例は、中間解析のための独立データモニタリング委員会後、データ固定がなされる前にキーオープンされた。

## 1) ステージ 1

有効性について、20■■ 年 ■ 月 ■ 日をデータカットオフ日として実施された中間解析の結果、主要評価項目である安静時疼痛（VAS）又は潰瘍の大きさの改善率は表 18 のとおりであり、独立データモニタリング委員会は本試験の早期終了を勧告し、申請者は本試験を終了した。

<sup>3)</sup> 観察期 4 週間において計測可能な最大潰瘍。

<sup>4)</sup> 虚血性潰瘍の大きさは、 $\sqrt{（長径 \times 短径）}$  で評価され、皮膚欠損部分の長径と直交する短径が、治験依頼者が提供するスケールを用いて計測された。なお、治験期中潰瘍の形状が変化しても、観察期開始時に計測した長径と短径に相当する箇所が測定された。以下、国内試験と同様。

表 18 ステージ 1 における初回投与 12 週後の潰瘍の大きさ又は安静時疼痛（VAS）の改善率  
（FAS、20 年 月 日データカットオフ）

重症度	Fontaine 分類					
	III+IV度		III度		IV度	
評価項目	潰瘍又は安静時疼痛		安静時疼痛（VAS）		潰瘍の大きさ	
群	本品群 N=27	プラセボ群 N=13	本品群 N=16	プラセボ群 N=8	本品群 N=11	プラセボ群 N=5
改善例数（割合（%））	19（70.4）	4（30.8）	8（50.0）	2（25.0）	11（100）	2（40.0）
p 値	0.014 <sup>a</sup>		—		—	
プラセボ群と本品群との改善率の差 [95%CI]	39.6 [9.2, 70.0]		25.0 [-13.7, 63.7]		60.0 [17.1, 100.0]	

N：解析対象例数、中止例は中止時の結果に基づき改善が判断された。a：Fontaine 分類を層別因子とした Mantel-Haenszel 検定、有意水準（両側）2%、Lan-DeMets 法に基づき仮説検定の多重性を調整。

有効性に関する副次評価項目として設定された、Fontaine 分類 III 度の患者における安静時疼痛（VAS）の変化量の推移（図 1）、Fontaine 分類 III 度の患者毎の安静時疼痛（VAS）の変化（表 19）、Fontaine 分類 IV 度の患者における主要評価潰瘍（最大潰瘍）の大きさ及び全ての潰瘍の大きさの和の変化（表 20、図 2）、ABPI（表 21）、TBPI、Fontaine 分類の変化、血管増生の有無、鎮痛薬不要被験者の頻度並びに投与対象肢の切断の有無の結果は、以下のとおりであった。

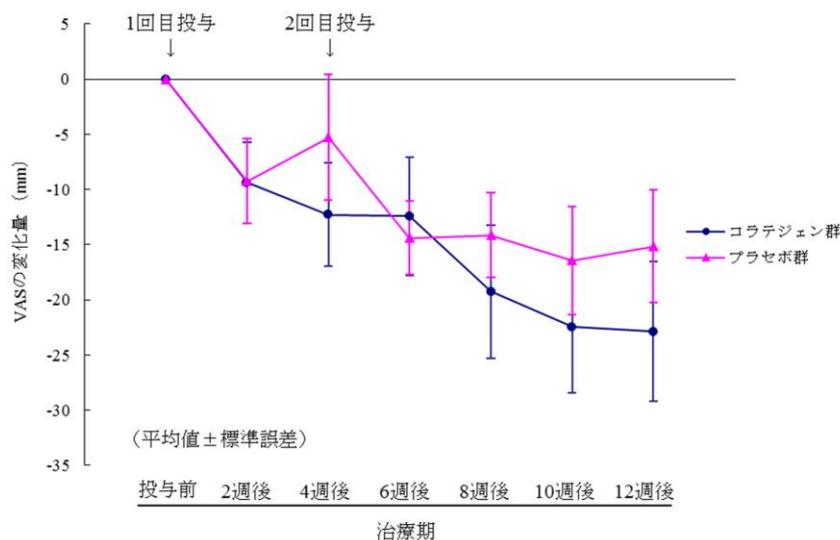


図 1 ステージ 1 における Fontaine 分類 III 度の患者における安静時疼痛（VAS）の変化量の推移（FAS）

表 19 ステージ 1 における Fontaine 分類 III 度の患者毎の安静時疼痛（VAS、mm）の変化（FAS）

	本品群 N=16		プラセボ群 N=8	
	個々の症例の値 (投与前→最終評価時)	34 → 30	72 → 30	75 → 66
	43 → 0	74 <sup>a</sup> → 85 <sup>a</sup>	77 → 65	65
	48 → 22	74 → 70	25 → 1	1
	54 → 55	77 → 70	44 → 5	5
	56 → 4	78 → 49	64 → 45	45
	63 → 26	78 → 61	50 → 44	44
	66 → 70	82 → 94	91 → 93	93
	70 → 10	88 → 43	85 → 77	77

		本品群 N=16	プラセボ群 N=8
上段：平均値±標準偏差 下段：中央値（最小値～最大値）	投与前	66.1±15.2 71.0 (34～88)	63.9±22.6 69.5 (25～91)
	最終評価時	44.9±28.9 46.0 (0～94)	49.5±32.8 55.0 (1～93)
	変化量	-21.1±23.6 -21.5 (-60～12)	-14.4±12.7 -10.5 (-39～2)

a：15 カ月後までに大切断が行われた症例（3）追跡調査参照。

表 20 ステージ 1 における Fontaine 分類IV度の患者における潰瘍の大きさ（ $\sqrt{\text{長径} \times \text{短径}}$ ）（FAS）

評価項目		最大潰瘍の大きさ（mm）の変化		全ての潰瘍の大きさの和（mm）の変化	
群		本品群 N=11	プラセボ群 N=5	本品群 N=11	プラセボ群 N=5
平均値±標準偏差	投与前	9.68±6.36	9.30±4.51	13.33±10.32	9.68±4.12
	初回投与 12 週後	3.33±3.75	11.77±11.39	4.76±5.88	11.77±11.39
	変化率（%）	-69.53±27.60	6.97±77.46	-71.82±24.58	-0.78±75.13

N：解析対象例数

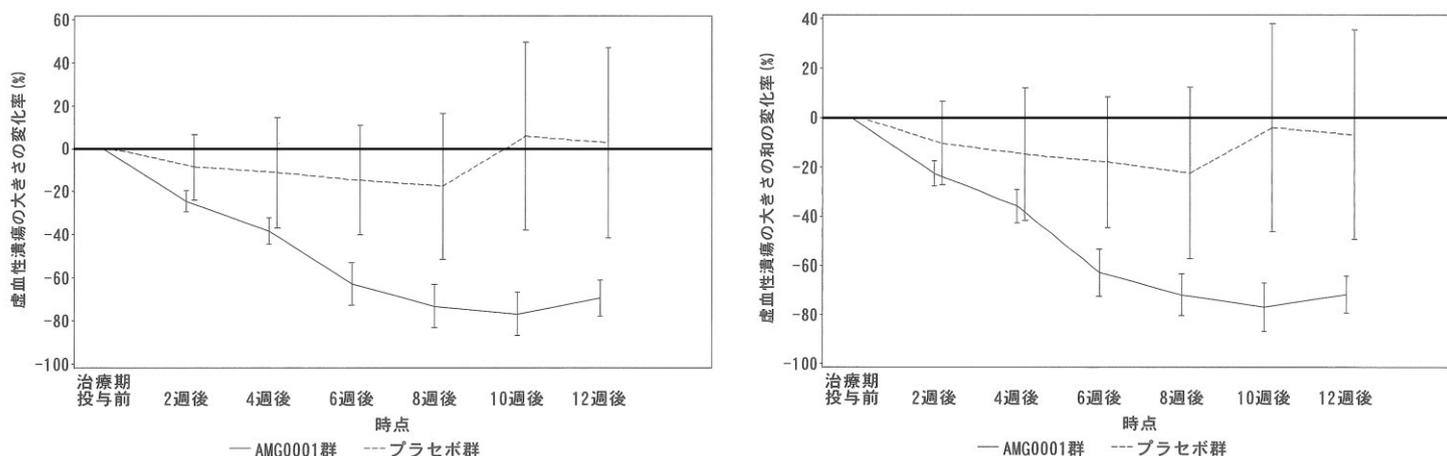


図 2 ステージ 1 における Fontaine 分類IV度の患者における潰瘍の大きさの変化率の推移（FAS、平均値±標準誤差、左図：最大潰瘍、右図：全ての潰瘍、AMG0001 群：本品群）

表 21 ステージ 1 における初回投与 12 週後の ABPI の改善率（FAS）

重症度	Fontaine 分類					
	III+IV度		III度		IV度	
群	本品群 N=25	プラセボ群 N=12	本品群 N=16	プラセボ群 N=8	本品群 N=9	プラセボ群 N=4
改善例数 <sup>a</sup> （割合（%））	11 (44.0)	6 (50.0)	7 (43.8)	3 (37.5)	4 (44.4)	3 (75.0)
改善率の 95%CI	24.4, 65.1	21.1, 78.9	19.8, 70.1	8.5, 75.5	13.7, 78.8	19.4, 99.4

N：解析対象例数、a：「虚血肢取扱い基準（改訂版）」<sup>5)</sup>を参照し、0.1 以上の変化を「改善」と設定した。

患者毎の潰瘍の大きさの推移において、本品群では 11 例中全例で縮小がみられ、うち 4/11 例で完全閉鎖がみられた。プラセボ群では、5 例中 1 例で完全閉鎖がみられ、さらに他の 1 例で縮小がみられた（表 22、図 3）。なお、複数の潰瘍がみられた本品群 4 例において解析対象とされなかった 6 つの潰瘍については、2 つの潰瘍でほぼ変化がなく、4 つの潰瘍で完全閉鎖がみられた。

<sup>5)</sup> 岩井武尚監訳。虚血肢取扱い基準（改訂版）1998

表 22 ステージ 1 における Fontaine 分類IV度の患者毎の潰瘍の大きさ (√ (長径×短径)) (FAS)

群	症例 #	最大潰瘍の大きさ				最大潰瘍以外の個別の潰瘍の大きさ			全ての潰瘍の大きさの和		
		投与前値 (mm)	投与後値 (mm)	変化率 (%)	改善の有無	投与前値 (mm)	投与後値 (mm)	変化率 (%)	投与前値 (mm)	投与後値 (mm)	変化率 (%)
本品群	1	13.1	8.9	-31.6	あり	—	—	—	13.1	8.9	-31.6
	2	12.7	9.2	-27.2	あり	9.8	0.0	-100.0	22.5	9.2	-58.9
	3 <sup>a</sup>	3.9	5.8	50.6	なし	—	—	—	3.9	5.8	50.6
	4	12.0	6.0	-49.8	あり	8.0	0.0	-100.0	20.0	6.0	-69.9
	5	7.5	0.0	-100.0	あり	—	—	—	7.5	0.0	-100.0
	6	3.6	1.7	-53.7	あり	—	—	—	3.6	1.7	-53.7
	7	15.7	0.0	-100.0	あり	—	—	—	15.7	0.0	-100.0
	8	1.4	0.0	-100.0	あり	—	—	—	1.4	0.0	-100.0
	9	5.2	1.6	-70.0	あり	—	—	—	5.2	1.6	-70.0
	10 <sup>b</sup>	9.5	11.5	21.1	あり	36.7	18.7	-49.1			
		4.0	0.0	-100.0							
	11	5.5	4.2	-24.4	あり	14.4	6.2	-56.7			
3.5		0.0	-100.0								
12	6.6	0.0	-100.0	あり	—	—	—	6.6	0.0	-100.0	
プラセボ群	1	5.0	7.0	40.9	なし	1.9	0.0	-100.0	6.9	7.0	2.1
	2	4.4	0.0	-100.0	あり	—	—	—	4.4	0.0	-100.0
	3	14.4	29.5	104.3	なし	—	—	—	14.4	29.5	104.3
	4	12.8	15.9	23.6	なし	—	—	—	12.8	15.9	23.6
	5	9.8	6.5	-33.9	あり	—	—	—	9.8	6.5	-33.9

a: FAS から除外された症例 (本品投与後に血管炎と診断され対象疾患外であることが判明)。b: 15 カ月後までに大切断が行われた症例 (3) 追跡調査参照)。

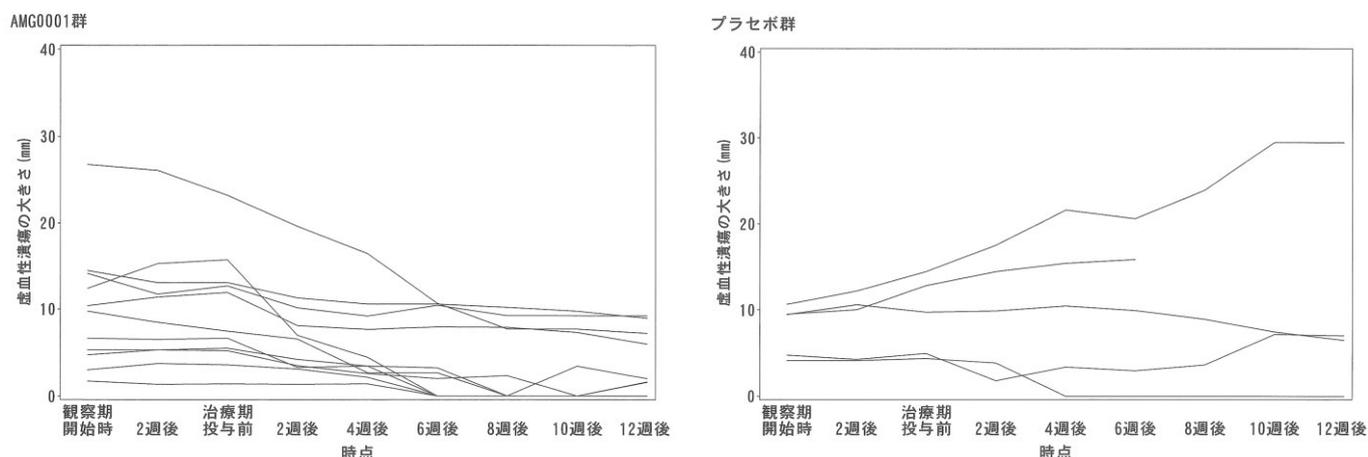


図 3 ステージ 1 における Fontaine 分類IV度の患者毎における潰瘍の大きさの推移 (FAS、AMG0001 群:本品群)

TBPI の測定は、44 例中 8 例 (各群 4 例) で行われ、投与前から初回投与 12 週後の変化量 (平均値 ± 標準偏差) は、本品群 0.048 ± 0.123、プラセボ群 0.000 ± 0.000 であった。TBPI について「改善あり」 (投与前値より 0.1 以上の上昇) とされたのは、本品群の 1 例のみであった。

Fontaine 分類の変化については、本品群では、投与前: III 度 16 例、IV 度 11 例、初回投与 12 週後 (又は中止時): II b 度 3 例、III 度 17 例、IV 度 7 例、プラセボ群では、投与前: III 度 8 例、IV 度 5 例、初回投与 12 週後 (又は中止時): II a 度 1 例、II b 度 1 例、III 度 7 例、IV 度 4 例であり、III 度から IV 度への悪化例は、両群とも認められなかった。

血管増生の有無については、初回投与 8～12 週後の血管造影検査が施行された患者において担当医により「血管増生あり」と判定された割合は、本品群 50.0% (11/22 例)、プラセボ群 33.3% (3/9 例)であった。

治療期開始時に鎮痛薬を使用しており初回投与 12 週後 (又は中止時) に鎮痛薬が不要となった被験者の割合は、本品群 14.3% (2/14 例)、プラセボ群 0.0% (0/8 例)であった。

投与対象肢の切断の有無については、初回投与 12 週後までにプラセボ群で小切断<sup>6)</sup> が 1 例認められた。

安全性について、初回投与から 12 週後までの治療期における有害事象の発現割合は、本品群 96.4% (27/28 例、139 件)、プラセボ群 92.3% (12/13 例、57 件)であった。いずれかの群で 10%以上に認められた有害事象は、表 23 のとおりであった。

表 23 ステージ 1 において、いずれかの群で 10%以上に認められた有害事象 (安全性解析対象集団)

	発現例数 (割合 (%))	
	本品群 N=28	プラセボ群 N=13
鼻咽頭炎	6 (21.4)	3 (23.1)
CRP 増加	5 (17.9)	2 (15.4)
びらん性胃炎	4 (14.3)	1 ( 7.7)
結腸ポリープ	4 (14.3)	0 ( 0.0)
血圧上昇	3 (10.7)	1 ( 7.7)
注射部位疼痛	3 (10.7)	1 ( 7.7)
胃炎	3 (10.7)	0 ( 0.0)
末梢性浮腫	3 (10.7)	0 ( 0.0)
挫傷	3 (10.7)	0 ( 0.0)

N : 解析対象例数、MedDRA/J ver.18.0

重篤な有害事象は、本品群 8 例 (腹膜炎、急性腎不全、膀胱穿孔、細菌性肺炎、処置後血腫、前立腺癌、小脳梗塞及び末梢性虚血各 1 例)、プラセボ群 3 例 (塞栓症、壊疽及び四肢痛各 1 例)で認められた。本品群の重篤な有害事象のうち、2 例 (膀胱穿孔及び前立腺癌) は本品との因果関係が否定されず、膀胱穿孔の 1 例 (84 歳女性) は、出血性膀胱炎、神経因性膀胱及び慢性膀胱炎の合併症例で、本品投与 36 日後に悪寒等が認められ、精査の結果、膀胱壁穿孔による汎発性腹膜炎と診断された。死亡例は認められなかった。

なお、中間解析の解析対象集団に含まれなかった 3 例における有害事象は、本品群 1 例については 3 件、プラセボ群 2 例については 1 例 8 件認められたが、重篤な有害事象は認められなかった。

## 2) ステージ 2

ステージ 1 でプラセボが割り付けられた患者 (15 例) のうち、本品の投与を希望した 10 例を対象に、ステージ 1 と同一の用法・用量で本品が投与された。本品が投与された 10 例全例が有効性及び安全性の解析対象とされた。有効性評価項目は、ステージ 1 と同様に設定され、各変化量の算出の起点は、ステージ 2 の本品投与前 (本品投与前 14 日以内に実施) とされた。組入れ時の Fontaine 分類は、II a 度 1 例、II b 度 1 例、III 度 5 例、IV 度 3 例であり、Fontaine 分類 II a (軽度の間歇性跛行) 及び II b 度 (中度～重

<sup>6)</sup> CRF において、切断は大切断 (膝より上) ・大切断 (膝より下) ・小切断の 3 区分に分類された。

間歇性跛行)の各1例は有効性の解析対象集団からは除外された。また、Fontaine分類Ⅱa度の1例は、本品2回目投与前に有害事象(うっ血性心不全)により治験中止となった。

主要評価項目である、初回投与12週後(又は中止時)の安静時疼痛又は潰瘍の大きさの改善率[95%CI]の結果は、表24のとおりであった。主な有効性の副次評価項目の結果は表25のとおりであった。

表24 ステージ2における初回投与12週後の潰瘍の大きさ又は安静時疼痛(VAS)の改善率(有効性解析対象集団)

重症度	Fontaine分類		
	Ⅲ+Ⅳ度 N=8	Ⅲ度 N=5	Ⅳ度 N=3
評価項目	潰瘍又は安静時疼痛	安静時疼痛(VAS)	潰瘍
改善例数(割合(%))	4(50.0)	1(20.0)	3(100.0)
改善率の95%CI	15.7, 84.3	0.5, 71.6	29.2, 100.0

N:解析対象例数

表25 ステージ2における潰瘍の大きさ、安静時疼痛及びABPI(有効性解析対象集団)

重症度	Fontaine分類				
	Ⅳ度		Ⅲ度	Ⅱ度+Ⅲ度+Ⅳ度	
評価項目	潰瘍√(長径×短径)(mm) N=3		安静時疼痛(VAS, mm) N=5	ABPI N=9	
	最大潰瘍の大きさ	全ての潰瘍の大きさの和			
平均値±標準偏差	投与前値	16.76±11.01	21.57±13.64	59.0±25.2	0.372±0.206
	初回投与12週後	0.00±0.00	4.22±7.30	48.2±27.7	0.439±0.154
	変化率(%)	-100.00±0.00	-86.35±23.65	-	-
	変化量	-	-	10.8±11.7	0.067±0.109

N:解析対象例数

患者毎の潰瘍の大きさの推移において、3例全例で完全閉鎖がみられた(表26)。なお、複数の潰瘍がみられた症例3における主要評価潰瘍(最大潰瘍)以外の2つの潰瘍については、ほぼ変化がなかった。

表26 ステージ2におけるFontaine分類Ⅳ度の患者毎における潰瘍の大きさ(√(長径×短径))(有効性解析対象集団)

症例#	最大潰瘍の大きさ				最大潰瘍以外の個別の潰瘍の大きさ			全ての潰瘍の大きさの和		
	投与前値(mm)	投与後値(mm)	変化率(%)	改善の有無	投与前値(mm)	投与後値(mm)	変化率(%)	投与前値(mm)	投与後値(mm)	変化率(%)
1	27.9	0.0	-100.0	あり	-	-	-	27.9	0.0	-100.0
2	5.9	0.0	-100.0	あり	-	-	-	5.9	0.0	-100.0
3	16.4	0.0	-100.0	あり	6.3 8.1	6.3 6.3	0.0 -22.2	30.8	12.6	-59.0

TBPIが測定された4例の投与前後の変化量(平均値±標準偏差)は、0.088±0.176であった。

Fontaine分類については、Fontaine分類Ⅱ度の2例及びⅢ度の5例は不変であり、Fontaine分類Ⅳ度の3例のうち2例がⅢ度となった。また、血管造影検査が施行された4例中1例が担当医により「血管増生あり」と判定された。

安全性について、初回投与から12週後までの治療期における有害事象の発現割合は、80.0%(8/10例30件)であり、2例以上に発現した事象は認められなかった。重篤な有害事象は4例(うっ血性心不全、結腸ポリープ、胆石症及び胃癌各1例)で認められ、うち2例(胃癌及び結腸ポリープ)が本品との因

果関係は否定されなかった。胃癌の1例(76歳男性)は、ステージ2の初回投与12週後の上部消化管内視鏡検査で胃腺腫疑いの病変が認められ、組織診断の結果胃癌と診断された。なお、ステージ1の初回投与12週後の内視鏡写真でも、同様の微小隆起が認められたが、生検は行われておらず、胃癌の出現時期は不明とされた。結腸ポリープの1例(66歳男性)は、ステージ1の観察期開始時、ステージ1の初回投与12週後、ステージ2の初回投与12週後にそれぞれ下部消化管内視鏡検査及び大腸ポリープ切除を行なった症例であり、いずれのポリープも組織検査により悪性腫瘍は否定された。うっ血性心不全により治験を中止した1例は、初回投与から121日後に死亡した。

### 3) 追跡調査

ステージ1の安全性の解析対象集団である本品群28例、及びステージ2で本品が投与された10例のうち治療期にうっ血性心不全により死亡した1例を除く9例を対象に、初回投与から15カ月後までの追跡調査が行なわれ、本品の有効性及び安全性の評価が行なわれた。

有効性に関して、切断は37例中ステージ1の本品群2例で認められ、いずれも膝関節より近位での大切断であった。1例は、組入れ時Fontaine分類Ⅲ度で安静時疼痛の改善が認められなかった症例であり、本品初回投与280日後に大切断に至った。もう1例は、組入れ時Fontaine分類Ⅳ度で、治療期において潰瘍の縮小が認められたものの、2回目の投与から約4カ月後に潰瘍部に挫傷を負い、初回投与278日後に大切断に至った。潰瘍の完全閉鎖がみられた7例(ステージ1の4例及びステージ2の3例)のうち、15カ月後に評価が得られた2例中1例において潰瘍消失が維持されていることが確認された。

安全性に関して、追跡調査期間中に発現した重篤な有害事象は、急性心筋梗塞、狭心症、うっ血性心不全、心筋梗塞、胃潰瘍、急性膵炎、壊疽、四肢膿瘍、第2度熱傷、関節捻挫、食欲不振、脱水、痛風、栄養障害、意識消失、無力症及びアナフィラキシー反応各1例であった。ステージ1の追跡調査期間中の死亡例は急性心筋梗塞の1例で、因果関係は否定された。ステージ2の追跡調査期間中に発現した重篤な有害事象は、胸痛、多臓器不全、膵癌、大腿骨頸部骨折、脳梗塞、胸膜炎、気胸、及び深部静脈血栓症各1例であった。ステージ2の追跡調査中の死亡例は多臓器不全及び膵臓癌各1例で、多臓器不全の1例は、因果関係が否定された。因果関係が否定されなかった膵臓癌の1例(74歳女性)は、本品投与前後のCTでは主膵管の拡張が認められたものの腫瘍は認められなかったが、約1年後に胸部大動脈瘤の精査を目的として実施されたCTで膵臓癌が認められ、約2カ月後に膵臓癌により死亡した。

### 4) 長期予後調査

ステージ1の安全性の解析対象集団である本品群28例、及びステージ2で本品が投与された10例のうち追跡期間中に死亡した3例を除く35例を対象に初回投与15カ月後から36カ月後までの長期予後調査が行われた。35例において、生存中が26例、死亡が7例、追跡不能が2例であり、うち大切断が1例で認められ、当該症例は大切断後8カ月目に死亡した。

### 5) 追加長期予後調査

長期予後調査後から初回投与後最長13年までの追加長期予後調査が行われた。26例において、生存中が6例、死亡が11例、追跡不能が9例であり、うち大切断が1例で認められ、大切断後2カ月目に死亡した。

7.1.2 TAO 一般臨床試験（添付資料 5.3.5.2-2.1～5.3.5.2-2.4、実施期間（治験期間 2004 年 5 月～20 年 月、追跡期間 ～20 年 月）

標準的な薬物治療の効果が不十分で潰瘍を有するバージャー病を対象とし、本品の有効性及び安全性を検討する目的で、非盲検非対照試験が国内 8 施設で実施された。

本試験では、4 週間の観察期を設定し、観察期が終了した時点で表 27 に示す主な選択基準及び除外基準に適合する患者が治療期に移行し本品を投与することとされた。

表 27 主な選択基準及び除外基準

主な選択基準	<ul style="list-style-type: none"> <li>血管造影、CTA 又は MRA により投与対象肢の浅大腿動脈、膝窩動脈又は膝窩下の動脈に閉塞又は狭窄部位が認められ、かつ閉塞あるいは狭窄に起因する潰瘍を有していること。</li> <li>観察期（4 週間以上）に既存の内科的治療や処置により対象肢の症状の改善（「主要評価対象となる潰瘍の大きさ（√（長径×短径））の縮小が 25%未満」かつ「ABPI 及び TBPI が測定できる場合には ABPI 及び TBPI の上昇が 0.1 未満」の場合を症状の改善が認められないと定義された。）が認められないこと。</li> </ul>
主な除外基準	<ul style="list-style-type: none"> <li>投与対象肢又は非対象肢に壊死化している潰瘍、腱又は骨が露出している潰瘍を有していること。</li> <li>悪性新生物又はその既往を有していること、又は下記の検査結果に該当し悪性新生物を有する可能性が否定できないこと。 <ul style="list-style-type: none"> <li>腫瘍マーカー PSA-ACT <math>\geq</math> 5.5 ng/mL</li> <li>子宮頸部細胞診 Class IV または V</li> <li>上記2項目以外の追加検査により悪性新生物の存在が否定できない場合</li> </ul> </li> <li>増殖糖尿病網膜症（未治療の増殖網膜症、中期・晩期増殖網膜症）又は新生血管型の加齢黄斑変性を有していること。</li> </ul>

用法・用量は、以下のとおりとされた。

本品を 0.5 mg ずつ 8 カ所（合計 4 mg）に Q4W で 2 回、対象肢の虚血部位に筋肉内投与する。本品の 2 回目の投与から 4 週間後に、主要評価対象となる潰瘍の大きさ（√（長径×短径））の縮小が 15%未満と判定された患者では 3 回目の投与を行う。生理食塩液で希釈後の本品の 1 カ所あたりの薬液量は 3 mL とし、投与対象筋が小さい場合には希釈液量を 2 mL まで減じてよい。投与部位については、血管造影検査にて血管の閉塞部位を確認した上で決定し、超音波で確認しながら本品を筋肉内に投与する。

また、バージャー病及びバージャー病に伴う潰瘍に対する治療として、投与対象肢又は非対象肢の血行再建術、交感神経ブロック、交感神経切除術、硬膜外麻酔及びトラフェルミンの投与はいずれも禁止された。なお、禁煙指導はされなかった。さらに、観察期開始時から初回投与 12 週後の最終評価まで、①バージャー病及びバージャー病に伴う潰瘍に対する併用薬及び②鎮痛薬は、いずれも変更及び増量（1 日平均使用量が①1.5 倍及び②1.3 倍を超える増加）しないこととされた。

主要評価項目は、初回投与 12 週後（又は中止時）の潰瘍の大きさの改善率とされた。なお、改善については、潰瘍<sup>7)</sup>の大きさ（√（長径×短径））が本品の投与前から 75%以下に縮小することと定義された。

本試験の開始時点では、目標症例数は 15 例と設定された。仮登録された 21 例のうち 10 例は適格基準に適合せず、登録された 11 例のうち、投与前に潰瘍がほぼ治癒した 1 例を除く 10 例に本品が投与され、このうち 3 回目の投与が行われた症例は 2 例であった。本品が投与された 10 例が安全性の解析対象集団とされ、本品投与開始から 9 カ月後の追跡調査で全身性強皮症と診断され対象疾患外であること

<sup>7)</sup> 観察期 4 週間において計測可能な最大潰瘍。

が判明した 1 例（3 回目の投与が行われた 1 例）を除く 9 例が FAS とされ、有効性の解析対象集団とされた。

主要評価項目である最大潰瘍の大きさの改善率 [95%CI] は、66.7% (6/9 例) [29.9, 92.5] であった。副次評価項目として設定された潰瘍の大きさ、安静時疼痛及び ABPI は、表 28 及び図 4 のとおりであった。

表 28 潰瘍の大きさ、安静時疼痛及び ABPI (FAS)

評価項目		潰瘍 $\sqrt{\text{長径} \times \text{短径}}$ (mm) N=9		安静時疼痛 (VAS, mm) N=7 <sup>a</sup>	ABPI N=8 <sup>b</sup>
		最大潰瘍の大きさ	全ての潰瘍の大きさの和		
平均値±標準偏差	投与前値	16.31±8.14	18.74±7.75	59.6±15.0	0.581±0.238
	初回投与 12 週後	11.73±18.82	12.54±18.40	23.3±22.6	0.655±0.216
	変化率 (%)	-53.23±65.39	-51.60±63.79	—	—
	変化量	—	—	-36.3±19.8	0.074±0.103

N: 解析対象例数、a: 投与前値が 20 mm 以下の 2 例は解析から除外。b: 試験参加前に対象肢の足関節部位での切断術の既往があり ABPI の測定ができなかった 1 例が除外された。

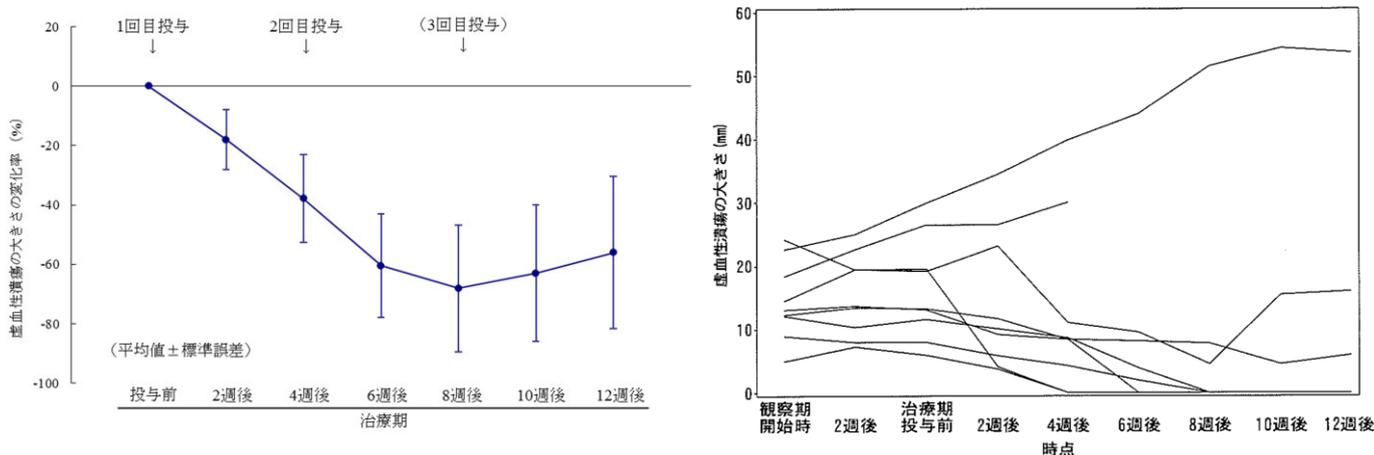


図 4 最大潰瘍の大きさの変化率（左図）と患者毎の最大潰瘍の大きさの推移（右図） (FAS)

患者毎の潰瘍の大きさの推移において、9 例中 6 例で投与前値から 75%以下の縮小がみられ、さらにその中の 5 例で完全閉鎖がみられた（表 29）。なお、複数の潰瘍がみられた 3 例（症例 3、4、及び 10）における解析対象以外の潰瘍については、完全閉鎖又は縮小がみられた。

表 29 患者毎における潰瘍の大きさ ( $\sqrt{}$  (長径×短径)) (FAS)

症例 #	最大潰瘍の大きさ				最大潰瘍以外の個別の潰瘍の大きさ			全ての潰瘍の大きさの和		
	投与前値 (mm)	投与後値 (mm)	変化率 (%)	改善の有無	投与前値 (mm)	投与後値 (mm)	変化率 (%)	投与前値 (mm)	投与後値 (mm)	変化率 (%)
1	19.5	0.0	-100.0	あり	—	—	—	19.5	0.0	-100.0
2	29.9	53.7	79.2	なし	—	—	—	29.9	53.7	79.2
3	13.0	5.9	-54.6	あり	6.9	0.0	-100.0	20.0	5.9	-70.4
4	13.2	0.0	-100.0	あり	5.9 5.0	3.9 3.4	-33.9 -32.0	24.1	7.3	-69.6
5 <sup>a</sup>	28.8	32.2	11.6	なし	4.6	2.0	-56.5	33.4	34.2	2.3
6	19.2	16.0	-16.7	なし	—	—	—	19.2	16.0	-16.7
7	26.5	30.0	13.1	なし	—	—	—	26.5	30.0	13.1
8	5.9	0.0	-100.0	あり	—	—	—	5.9	0.0	-100.0
9	11.5	0.0	-100.0	あり	—	—	—	11.5	0.0	-100.0
10	7.9	0.0	-100.0	あり	4.0	0.0	-100.0	11.9	0.0	-100.0

a：原疾患が全身性強皮症であることが判明し、FAS から除外された症例。

他の主な副次評価項目の結果は以下のとおりであった。

TBPI は 3 例 (症例#8、9 及び 10) で測定され、各症例における投与前から初回投与 12 週後までの推移は、それぞれ 0.08→0.13、0.00→0.00、0.00→0.00 であった。

血管増生の有無について、6 例が血管造影所見に基づいて判定され、担当医により「血管増生あり」と判定された症例はなかった。

TcPO<sub>2</sub> は 6 例で測定され、投与前後での変化量に有意な変化は認められなかった。

治療期開始時に鎮痛薬を使用しており、初回投与 12 週後 (又は中止時) に鎮痛薬が不要となった被験者の割合は 12.5% (1/8 例) であった。

投与対象肢の切断については、初回投与 12 週後までに小切断<sup>8)</sup> が 1 例認められた。

安全性について、初回投与から 12 週後までの治療期における有害事象の発現割合は、100% (10/10 例 53 件) であり、2 例以上で認められた有害事象は、CRP 増加 6 例、血中トリグリセリド増加及び血中リン減少各 3 例、アラニン・アミノトランスフェラーゼ増加、そう痒症及び脂肪肝各 2 例であった。重篤な有害事象は、3 例 3 件 (感染性皮膚潰瘍、骨髄炎及び食道扁平上皮癌、各 1 例) 認められ、食道扁平上皮癌を発現した 1 例 (49 歳男性) は本品との因果関係が否定されなかった。当該症例は、観察期の上部消化管内視鏡検査で食道炎が認められたが、本品投与後の上部消化管内視鏡検査で食道扁平上皮癌が認められた。死亡例は認められなかった。

また、喫煙状況の評価のため施行された唾液中コチニンは、投与前で陰性 4 例、陽性 2 例及び不明 3 例、初回投与 12 週後 (又は中止時) では陰性 3 例、陽性 5 例及び不明 1 例であった。

本試験では、9 例のうち治療期に追跡不能となった 1 例を除く 8 例を対象に、治療期終了後から本品初回投与 15 カ月後までの追跡調査期間が設定され、有効性及び安全性評価が行われた。

有効性に関して、投与対象肢の切断は 8 例中 3 例に認められ、いずれも小切断<sup>7)</sup> であった。潰瘍の完全閉鎖がみられた 5 例のうち、15 カ月後に評価が得られた 3 例全例において潰瘍消失が維持されていることが確認された。安全性について、追跡調査期間中に発現した重篤な有害事象は、末梢性虚血 2 例、

<sup>8)</sup> CRF において、切断は大切断 (膝より上) ・大切断 (膝より下) ・小切断の 3 区分に分類された。

感染性皮膚潰瘍、骨髄炎、黄斑偽円孔及び食道扁平上皮癌が各 1 例で認められ、死亡例は認められなかった。

さらに、初回投与 15 カ月後から 36 カ月後までの長期予後調査では、調査対象の 7 例に下肢切断及び死亡は認められなかった。長期予後調査後から初回投与後最長 13 年までの追加予後調査では、7 例中 4 例は大切断なしの生存、1 例は大切断、3 例が追跡不能であり、死亡例は認められなかった。

### 7.1.3 先進医療 B 臨床研究（添付資料 5.3.5.2-3.1、実施期間 2014 年 9 月～2017 年 8 月、追跡期間 ～ 20 年 月）

標準的な薬物治療の効果が不十分で血行再建術の施行が困難な重症虚血肢を有する Fontaine 分類Ⅲ又はⅣ度の ASO 患者及びバージャー病患者を対象として、本品の有効性及び安全性について、ASO 第Ⅲ相試験及び TAO 一般臨床試験と齟齬のない結果が得られることを確認する目的で、非盲検非対照の臨床研究が先進医療 B として国内 5 施設で実施された。

本研究では、2 週間の観察期を設定し、観察期が終了した時点で表 30 に示す主な選択基準・除外基準に該当する患者が治療期に移行し本品を投与することとされた。また、観察期の前までに禁煙指導を行い、観察期終了まで喫煙状況が観察された。

表 30 主な選択基準及び除外基準

主な選択基準	<ul style="list-style-type: none"> <li>CTA 又は MRA により投与対象肢の浅大腿動脈、膝窩動脈又は膝窩下の動脈に閉塞又は狭窄部位があること。</li> <li>ASO 患者では投与対象肢の観察期における足関節血圧の平均値が 70 mmHg 以下又は ABI が 0.6 以下であること。</li> <li>観察期の VAS 値が 20 mm 以上の安静時疼痛（Fontaine 分類Ⅲ度）、又は潰瘍（Fontaine 分類Ⅳ度）を有すること。</li> <li>投与対象肢の血行再建術（血管内治療を含む）の適応が困難な者、又は当該適応が不可能ではないが、手術によるリスクがあると判断された者</li> <li>観察期中に既存の内科的治療や処置により対象肢の症状の改善（FontaineⅢ度の患者では「VAS 変化量（減少）が 20 mm 以上」の場合、FontaineⅣ度の患者では「主要評価対象となる潰瘍の大きさ（<math>\sqrt{\text{長径} \times \text{短径}}</math>）の縮小が 75%以下」と定義した。）が認められないこと。</li> </ul>
主な除外基準	<ul style="list-style-type: none"> <li>投与対象肢又は非対象肢に壊死化している潰瘍、腱又は骨が露出している潰瘍を有していること。</li> <li>悪性腫瘍又は既往を有していること。ただし、完治した皮膚基底細胞癌は除外する。</li> <li>未治療又は治療抵抗性の増殖糖尿病網膜症、又は新生血管型の加齢黄斑変性症を有していること。</li> </ul>

用法・用量は、以下のとおりとされた。

本品を 0.5 mg ずつ 8 カ所（合計 4 mg）に Q4W で 2 回、対象肢の虚血部位に筋肉内投与する。生理食塩液で希釈後の 1 カ所あたりの薬液量は 3 mL とし、投与対象筋が小さい場合には薬液量を 2 mL まで減量してよい。注射部位は被験者毎に CTA 又は MRA の血管撮影像及び超音波検査を用いて、動脈の閉塞部位又は側副血行路の血流が減弱する部位を同定し、閉塞部位（前脛骨動脈、後脛骨動脈又は腓骨動脈の血流支配領域）毎に決定する。また、①本品の 2 回目の投与から 4 週間後に主要評価項目の改善基準（FontaineⅢ度の患者では「VAS 変化量（減少）が 20 mm 以上」の場合、FontaineⅣ度の患者では「主要評価対象となる潰瘍の大きさ（ $\sqrt{\text{長径} \times \text{短径}}$ ）の縮小が 75%以下」が改善と定義された）に達していない場合、②本品投与前の状態が悪く改善基準に達するものの一定の症状が残存する場合、又は③改善基準に達するものの経時的な症状変化に不安定さを伴うと判断された場合には、2 回目の投与から 4 週間後に 3 回目の投与を行う。

ASO 及びバージャー病、並びに両疾患に随伴する症状に対する治療として、交感神経ブロック、硬膜外麻酔、トラフェルミン投与、投与対象肢又は非対象肢の血行再建術（血管内治療も含む）及び切断術又は交感神経切断術はいずれも禁止とされた。さらに、観察期開始時から最終評価までの期間、①ASO 及びバージャー病、並びに両疾患に随伴する症状に対する併用薬及び②鎮痛薬は、いずれも変更及び増量（1日平均使用量が①1.5倍及び②1.3倍を超える増加）をしないこととされた。

主要評価項目は、初回投与12週後又は本品の投与中止時の安静時疼痛（VAS）又は潰瘍の大きさの改善率とされた。なお、改善については、以下のように定義された。

- Fontaine 分類Ⅲ度の患者では、安静時疼痛（VAS）が投与前値から20 mm以上減少すること。ただし、鎮痛薬の使用量が観察期と比較し1.3倍を超えた場合は「非改善」として取り扱う。
- Fontaine 分類Ⅳ度の患者では、登録時に主要評価対象とした潰瘍<sup>9)</sup>の大きさ（ $\sqrt{\text{長径} \times \text{短径}}$ ）が投与前値から75%以下に縮小すること。ただし、投与同側肢に新たな潰瘍が生じた場合は「非改善」として取り扱う。

目標症例数は6例と設定され、ASO患者2例及びバージャー病患者4例の計6例が登録された。なお、バージャー病の4例では喫煙していないことが確認された。本品を投与された6例全例（6例中2例に2回投与、4例に3回投与）が、有効性の解析対象集団とされた。ただし、うち2例（足首捻挫の有害事象による痛みと安静時疼痛による痛みの識別が困難と考えられた1例、及び潰瘍と考えられた皮膚病変の痂皮化により、潰瘍の大きさを計測することが極めて困難であった1例）は、判定不可能として主要評価項目の解析から除外された。

有効性について、主要評価項目である初回投与12週後（又は中止時）の安静時疼痛（VAS）又は潰瘍の大きさ（ $\sqrt{\text{長径} \times \text{短径}}$ ）の改善率は、表31のとおりであった。

表31 主要評価項目の解析対象における潰瘍の大きさ、安静時疼痛及びABPI（有効性解析対象集団）

評価項目	主要評価項目		副次評価項目
	Fontaine 分類Ⅳ度 最大潰瘍の大きさ $\sqrt{\text{長径} \times \text{短径}}$ N=1	Fontaine 分類Ⅲ度 安静時疼痛 (VAS, mm) N=3	ABPI N=2 <sup>a</sup>
改善例数 (例)	1	2	1 <sup>b</sup>
改善率 [95%CI] ( % )	75.0 [19.4, 99.4]		50.0 [1.3, 98.7]
平均値±標準偏差	投与前	12.51	64.0±21.3
	初回投与12週後	0.00	41.4±25.0
	変化量	-12.51	-25.4±17.7
			0.858±0.338
			0.852±0.299
			-0.006±0.100

N：解析対象例数、a：ASO患者のみが解析対象。b：0.1以上の上昇が改善と定義された。

有効性に関する副次評価項目として設定された、安静時疼痛、潰瘍の大きさ、ABPI及びFontaine分類の変化の結果は表32のとおりであった。

<sup>9)</sup> 観察期2週後において計測可能な最大潰瘍。

表 32 本品を投与された患者における潰瘍の大きさ、安静時疼痛及び ABPI（有効性解析対象集団）

症例 #	対象疾患名	Fontaine 分類	総投与量 (投与回数)	投与前→初回投与 12 週後		
				最大潰瘍の大きさ $\sqrt{\text{長径} \times \text{短径}}$	安静時疼痛 (VAS, mm)	ABPI
01	バージャー病	Ⅲ度	8 mg (2 回)	—	43→26	0.91→0.76
02	バージャー病	Ⅳ度	12 mg (3 回)	12.51→0.00	77→75	1.14→1.08
03	バージャー病	Ⅳ度	12 mg (3 回)	— <sup>a</sup>	42→12	1.21→1.23
04	ASO	Ⅲ度	12 mg (3 回)	—	50→評価なし <sup>b</sup>	0.6→0.7
05	ASO	Ⅲ度	8 mg (2 回)	—	87→37	0.43→0.49
06	バージャー病	Ⅲ度	8 mg (3 回)	—	85→57	評価なし <sup>c</sup>

a：潰瘍痂皮化のため有効性解析から除外。b：評価時期の右足首捻挫のため有効性解析から除外。c：高度の動脈石灰化のため測定不可。

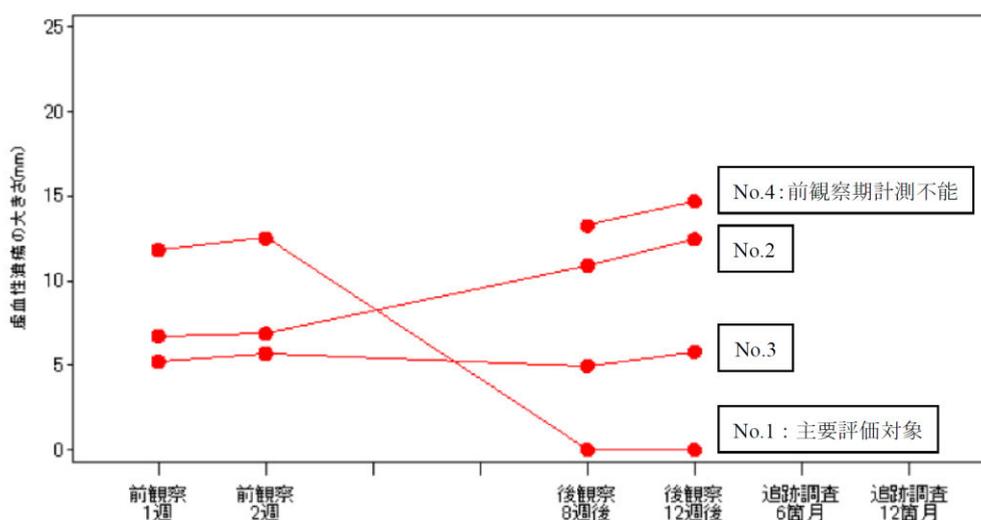


図 5 潰瘍を有していた 1 例における潰瘍の大きさの推移

No.1：第 1 趾の付け根（主要評価対象）、No.2：第 2 趾の第 1 趾側、No.3、第 1 趾の第 2 趾側、No.4：第 2 趾の付け根（投与前から計測不能の潰瘍として観察されており、8 週時点で観察可能となった。）

主要評価項目の解析対象とされた 4 例における初回投与 12 週後（又は中止時）の安静時疼痛（VAS）の改善率は、Fontaine 分類Ⅲ度の患者で 66.7%（2/3 例）であり、このうち ASO 患者は 100%（1/1 例）、バージャー病患者は 50.0%（1/2 例）であった。Fontaine 分類Ⅳ度のバージャー病の 1 例のみが潰瘍の改善率の解析対象とされ、潰瘍の改善率は、100%（1/1 例）であった。当該患者では初回投与 12 週後までに評価対象とされた第 1 趾の付け根の潰瘍の消失が認められた一方で、評価対象とされなかった潰瘍（第 1 趾の第 2 趾側、第 2 趾の第 1 趾側、第 2 趾の付け根の 3 カ所）については改善がみられなかった（図 5）。

ASO 患者のみが ABPI の解析対象とされ、ABPI は 50.0%（1/2 例）で改善が認められた。さらに、Fontaine 分類が治療前後で変化した患者はいなかった。

治療期開始時に鎮痛薬を使用しており、初回投与 12 週後（又は中止時）に鎮痛薬が不要となった被験者の割合は 50.0%（Fontaine 分類Ⅳ度のバージャー病 2 例のうち 1 例）であった。

安全性について、初回投与から 12 週後までの期間における有害事象の発現割合は、83.3% (5/6 例、9 件) であり、このうち因果関係が否定されなかった有害事象は、胃癌、貧血、発疹及び疼痛 (2/6 例、4 件) であった。胃癌の 1 例は、重篤な有害事象とされた。死亡例は認められなかった。

20 年 月 月までにおける追跡調査の結果、6 例中 1 例において、初回投与後 352 日後に投与対象肢の右母指・第 3 趾先端に対して小切断が行なわれた。なお、当該症例は、評価対象である右母趾潰瘍の痂皮化のため、有効性解析から除外された患者であった。対象疾患以外の死因で死亡した 1 例を含む他 5 例に下肢切断はなかった。

## 7.2. 海外臨床試験

### 7.2.1 米国第 II 相試験 (添付資料 5.3.5.1-3.1~5、実施期間 2003 年 4 月~20 年 月)

血行再建術の施行が困難な重症虚血肢を有する ASO 患者を対象に、本品の安全性と本品による血管新生作用及びそれらと重症虚血肢の虚血症状の緩和の相関を評価する目的で、表 33 に示す主な選択基準・除外基準に適合する患者を対象としたプラセボ対照無作為化二重盲検比較試験が実施された。

表 33 主な選択基準及び除外基準

<p>主な選択基準</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 以下のいずれかに該当すること。 <ul style="list-style-type: none"> <li>• 2週間を越えて鎮痛薬投与を要する下肢遠位部の安静時疼痛を有する。</li> <li>• 下肢に潰瘍又は壊疽を有する。</li> </ul> </li> <li>• TcPO<sub>2</sub>が40 mmHg以下であること (既定の3部位のうち1部位について、登録前30日間のスクリーニング中実施する2回の平均値が該当すればよい)。</li> <li>• 以下の血行動態の指標に1つ以上当てはまること。なお、足関節血圧又は足趾血圧が適切に測定できない場合は、中足骨レベルのPVR又はドップラーの波形を使用してよい。その場合、PVR又はドップラーの波形が平坦又はわずかな拍動であること。 <ul style="list-style-type: none"> <li>• 足関節収縮期血圧が70 mmHg以下。</li> <li>• 足趾収縮期血圧が50 mmHg以下。</li> </ul> </li> <li>• 末梢動脈疾患の標準的な血行再建術の適応が困難なこと。</li> </ul>
<p>主な除外基準</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 骨又は腱の露出を伴う深い潰瘍、又は抗菌剤で制御不能な侵襲性の感染症 (蜂窩織炎、骨髄炎等) を有していること。</li> <li>• 悪性新生物又はその既往を有していること。ただし、完治した皮膚の基底細胞癌は除く。また、乳癌については 10 年前、その他の癌については治験組入れ前に治療が成功し、その後再発が認められていない場合は組入れてよい。</li> <li>• 増殖糖尿病網膜症又は非増殖網膜症、6カ月以内に網膜静脈閉塞症、新生血管を伴う黄斑変性及び黄斑浮腫、3カ月以内に眼球内の手術歴を有していること。</li> </ul>

なお、治験実施中に、治験実施計画書第 版 (20 年 月 日付け) で、足関節血圧が 60 mmHg 以下を 70 mmHg 以下に、足趾血圧が 40 mmHg 以下を 50 mmHg 以下にする等、選択基準の一部が変更された。

本品群の用量は、以下の 3 とおりとされ、投与部位は全症例とも大腿及び下腿の筋肉内に 4 カ所ずつ計 8 カ所の固定投与とされた。生理食塩液で希釈後の本品の 1 カ所あたりの薬液量は 2 mL と設定された。

- 0.4 mg×3 回投与群：本品 0.4 mg (0.05 mg×8 カ所) を Q2W で 3 回
- 4 mg×2 回投与群：本品 4 mg (0.5 mg×8 カ所) を Q4W で 2 回
- 4 mg×3 回投与群：本品 4 mg (0.5 mg×8 カ所) を Q2W で 3 回

ASO 及び ASO に随伴する症状に対する治療として、高圧酸素療法は禁止とされた。さらに、鎮痛薬は観察期開始時から極力変更せず、変更の際は CRF に記録を残すこととされた。潰瘍に対する治療については、承認されている薬剤は併用可とされた。

主要評価項目は、試験開始時には初回投与 3 カ月後の TcPO<sub>2</sub> の変化量とされていたが、試験開始後 年 月 日時点で、全ての有効性評価項目（TcPO<sub>2</sub>、潰瘍、足関節収縮期血圧、足趾収縮期血圧、ABPI、TBPI、血行再建術、下肢切断、安静時疼痛（VAS）及び Rutherford 分類<sup>10)</sup>）の初回投与直前、初回投与 14、28、49 日後、3、6 カ月後の各時点での評価に変更された（20 年 月 日付け解析計画書 Ver. ）。潰瘍の面積は、潰瘍面にシートをあててトレースし、中央評価機関で計測することとされた。

目標症例数は各群 25 例、計 100 例と設定された。無作為化された 106 例のうち、本品が投与されなかった 2 例を除く 104 例（プラセボ群 26 例、0.4 mg×3 回投与群 26 例、4 mg×2 回投与群 25 例、4 mg×3 回投与群 27 例）が安全性の解析対象集団とされ、このうち 11 例（投与が 3 回未満 7 例、重症下肢虚血でない 2 例、2 回目投与の 4 日前に血行再建術を受けた 1 例、切断により治験開始前から下腿がない 1 例）を除く 93 例（プラセボ群 24 例、0.4 mg×3 回投与群 25 例、4 mg×2 回投与群 21 例、4 mg×3 回投与群 23 例）が有効性解析対象とされた。中止例は 13 例であり、中止理由は死亡 6 例、同意撤回 6 例及び有害事象 1 例であった。

有効性について、TcPO<sub>2</sub>、潰瘍及び安静時疼痛の初回投与 3 カ月後における変化量は表 34 のとおりであった。

表 34 主な評価項目の変化量（初回投与 3 カ月後測定時の値－ベースライン値）（有効性解析対象集団）

群		プラセボ群 N=24	0.4 mg×3 回投与群 N=25	4 mg×2 回投与群 N=21	4 mg×3 回投与群 N=23
平均値 ±標準 偏差	TcPO <sub>2</sub> (mmHg)	6.1±2.9	8.7±4.3	5.8±3.2	5.7±4.0
	潰瘍の大きさの和 (cm <sup>2</sup> ) (N=19)	0.2±1.1	-1.0±1.4 (N=13)	10.2±10.8 (N=9)	0.3±0.7 (N=16)
	安静時疼痛 (VAS, cm)	-1.78±0.70	-1.56±0.63	-1.00±0.75	-1.79±0.64

N：解析対象例数、潰瘍の大きさの和については、潰瘍が認められた症例が対象。

足関節血圧、ABPI、足趾血圧及び TBI についても、3 カ月後及び 6 カ月後における変化量に投与群間で有意差は認められなかった。

下肢切断については、初回投与 6 カ月後までの大切断が、プラセボ群 1/24 例、0.4 mg×3 回投与群 2/25 例、4 mg×2 回投与群 3/21 例及び 4 mg×3 回投与群 1/23 例に認められた。

Rutherford 分類について、初回投与 6 カ月後においてクラス分類の改善がみられたのは、プラセボ群 7/24 例、0.4 mg×3 回投与群 12/25 例、4 mg×2 回投与群 10/21 例及び 4 mg×3 回投与群 6/23 例であった。

安全性について、初回投与 12 カ月後までの有害事象は、プラセボ群 24/26 例 182 件、0.4 mg×3 回投与群 24/26 例 169 件、4 mg×2 回投与群 24/25 例 215 件及び 4 mg×3 回投与群 25/27 例 213 件であり、いずれかの群で発現割合が 20% 以上の有害事象は表 35 のとおりであった。

<sup>10)</sup> Fontaine 分類と同様の下肢虚血の臨床症状の重症度分類。0：症状なし～6：広範囲の組織欠損の 7 段階で分類する。

表 35 いずれかの群で 20%以上に認められた有害事象（安全性解析対象集団）

	発現例数（割合（%））			
	プラセボ群 N=26	0.4 mg×3 回投与群 N=26	4 mg×2 回投与群 N=25	4 mg×3 回投与群 N=27
皮膚潰瘍	3 (11.5)	6 (23.1)	6 (24.0)	7 (25.9)
末梢性浮腫	6 (23.1)	5 (19.2)	5 (20.0)	5 (18.5)
四肢痛	0 ( 0.0)	4 (15.4)	6 (24.0)	7 (25.9)
末梢性虚血	4 (15.4)	2 ( 7.7)	7 (28.0)	6 (22.2)
悪心	3 (11.5)	1 ( 3.8)	6 (24.0)	0 ( 0.0)
下痢	2 ( 7.7)	1 ( 3.8)	5 (20.0)	1 ( 3.7)
貧血	1 ( 3.8)	5 (19.2)	3 (12.0)	7 (25.9)

N：解析対象例数、MedDRA/J ver.18.0

重篤な有害事象は 62 例に 130 件（プラセボ群 15/26 例 32 件、0.4 mg×3 回投与群 16/26 例 33 件、4 mg×2 回投与群 12/25 例 26 件、4 mg×3 回投与群 19/27 例 39 件）認められ、そのうち、本品との因果関係が否定されなかった事象は、結腸癌 2 例（プラセボ群、4 mg×2 回投与群各 1 例）であった。死亡例は、プラセボ群 2 例（腺癌及び心障害）、0.4 mg×3 回投与群 2 例（心筋梗塞及び小腸閉塞）、4 mg×2 回投与群 1 例（呼吸不全）及び 4 mg×3 回投与群 2 例（脳血管発作及び銃創）であり、いずれも本品との因果関係は否定された。

初回投与から最長 13 年後の追加予後調査では、調査対象となった 78 例中 3 例は大切断なしの生存で、大切断は 15 例、死亡は 19 例、追跡不能は 56 例であった。

### 7.2.2 米国追加第Ⅱ相試験（添付資料 5.3.5.1-4.1～3、実施期間 2005 年 8 月～20 年 月）

血行再建術の施行が困難な重症虚血肢を有する ASO 患者を対象に、本品の有効性と安全性を検討する目的で、表 36 に示す主な選択基準・除外基準に適合する患者を対象としたプラセボ対照無作為化二重盲検比較試験が実施された。

表 36 主な選択基準及び除外基準

主な選択基準	<ul style="list-style-type: none"> <li>投与対象肢に適度な大きさの潰瘍を有する。</li> <li>以下の血行動態の指標に1つ以上当てはまること。 <ul style="list-style-type: none"> <li>足関節収縮期血圧が70 mmHg以下。</li> <li>足趾収縮期血圧が50 mmHg以下。</li> </ul> </li> <li>末梢動脈疾患の標準的な血行再建術の適応が困難なこと。</li> </ul>
主な除外基準	<ul style="list-style-type: none"> <li>骨又は腱の露出を伴う深い潰瘍、又は抗菌剤で制御不能な侵襲性の感染症（蜂窩織炎、骨髄炎等）を有していること。</li> <li>悪性新生物又はその既往を有していること。ただし、完治した皮膚の基底細胞癌は除く。また、乳癌については 10 年前、その他の癌については治験組入れ前に治療が成功し、その後再発が認められていない場合は組入れてよい。</li> <li>増殖糖尿病網膜症又は非増殖網膜症、6カ月以内に網膜静脈閉塞症、新生血管を伴う黄斑変性及び黄斑浮腫、3カ月以内に眼球内の手術歴を有していること。</li> </ul>

用法・用量は、以下のとおりとされた。

本品 0.5 mg 又はプラセボを 8 カ所（本品の合計 4 mg）に Q2W で 3 回、対象肢の虚血部位に筋肉内投与する。生理食塩液で希釈後の本品又はプラセボの 1 カ所あたりの薬液量は 3 mL に固定する。投与部位は、虚血の状態により被験者毎に決定する。

ASO 及び ASO に随伴する症状に対する治療として、高圧酸素療法は禁止とされた。さらに、鎮痛薬は観察期開始時から極力変更せず、変更の際は CRF に記録を残すこととされた。潰瘍に対する治療については、承認されている薬剤は併用可とされた。

本試験では、21 例目の投与 3 カ月後までの成績を対象に盲検下で中間解析を行った結果、壊死組織を伴う潰瘍を有する患者等の本品の有効性評価に適さない症例が多数組み入れられていることが明らかになったことから、試験の目的を達成することが困難である可能性が予測されたとして、20 年 月 日に治験の中止が決定された。

本試験において、無作為化された 27 例（本品群 21 例、プラセボ群 6 例）の全例が本品又はプラセボの投与を受け安全性解析対象とされた。そのうち、3 回の本品の投与を受けていない 3 例（死亡 1 例、対象肢の切断 2 例）を除く 24 例（本品群 18 例、プラセボ群 6 例）が Modified intent to treat (MITT) 集団とされ、有効性の解析対象とされた。なお、中止例は 8 例（本品群 7 例、プラセボ群 1 例）であり、中止理由は、死亡 4 例、対象肢の大切断、非対象肢の大切断、多臓器不全及び原疾患の悪化が各 1 例であった。

有効性の各評価項目の変化量は表 37 のとおりであり、3 カ月後及び 6 カ月後ともに本品群とプラセボ群の間にいずれの項目にも有意差は認められなかった。

表 37 主な評価項目の変化量（各測定時の値－ベースライン値）（MITT 集団）

群		3 カ月後		6 カ月後 (虚血性潰瘍のみ 12 カ月後)	
		本品群 N=18	プラセボ群 N=6	本品群 N=18	プラセボ群 N=6
平均値± 標準誤差	最大の潰瘍の面積 (cm <sup>2</sup> )	0.456±0.6974	-0.875±0.5543	-0.074±0.7957	-3.667±3.0705
	潰瘍の面積の合計 (cm <sup>2</sup> )	9.956±6.2594	-0.458±1.2997	10.559±6.4438	-3.458±3.3705
	安静時疼痛 (cm)	-0.85±0.770	-0.38±0.902	-1.04±1.214	-0.18±0.816
	ABPI	-0.008±0.0402	0.010±0.0643	-0.036±0.0570	-0.116±0.1429
	TBPI	0.035±0.0361	-0.114±0.0273	0.046±0.0435	-0.142±0.0398

N：解析対象例数

下肢切断は、本品群の 18 例中 4 例に認められ、プラセボ群では認められなかった。

血行再建術の有無について、本品又はプラセボが投与された 27 例を対象に検討した結果、本品投与 12 カ月後までの間にプラセボ群 33% (2/6 例)、本品群 4.8% (1/21 例) が血行再建術を受けた。

安全性について、初回投与 12 カ月後までの有害事象は、本品群 20/21 例 249 件及びプラセボ群 5/6 例 63 件（以下同順）に認められ、いずれかの群で 20% 以上に認められた有害事象は表 38 のとおりであった。

表 38 いずれかの群で 20%以上に認められた有害事象（安全性解析対象集団）

	発現例数（割合（%））	
	本品群 N=21	プラセボ群 N=6
末梢動脈閉塞性疾患	11 (52.4)	2 (33.3)
虚血性潰瘍	8 (38.1)	1 (16.7)
貧血	7 (33.3)	3 (50.0)
便秘	5 (23.8)	1 (16.7)
骨髄炎	5 (23.8)	0 ( 0.0)
発熱	5 (23.8)	1 (16.7)
錯乱状態	3 (14.3)	2 (33.3)
蜂巣炎	2 ( 9.5)	3 (50.0)
腎機能障害	0 ( 0.0)	2 (33.3)

N：解析対象例数、MedDRA/J ver.18.0

重篤な有害事象は、本品群 17/21 例に 37 件及びプラセボ群 3/6 例に 13 件認められたが、全て本品との関連性は否定された。死亡例は、本品群 4 例（自然原因、多臓器不全、敗血症及び大動脈血栓塞栓症）及びプラセボ群 1 例（脳血管発作）であった。

初回投与から最長 13 年後の追加予後調査では、調査対象となった 21 例中生存を確認できた症例はなく、大切断は 7 例、死亡は 9 例、追跡不能は 12 例であった。

### 7.2.3 米国第 II b 相パイロット試験（添付資料 5.3.5.2-4.1、実施期間 2014 年 2 月～2014 年 12 月）

血行再建術の施行が困難な重症虚血肢を有する ASO 患者を対象に、FDA との協議を経て設定された本品の新たな用法・用量の安全性及び実行可能性を検討する目的で、表 39 に示す主な選択基準・除外基準に該当する患者を対象とした非盲検非対照試験が実施された。

表 39 主な選択基準及び除外基準

主な選択基準	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 以下のいずれかに該当すること。 <ul style="list-style-type: none"> <li>・ 鎮痛薬投与を要する下肢遠位部の安静時疼痛を有する Rutherford 分類 4 の患者。</li> <li>・ 下肢に 20 cm<sup>2</sup>以下（踵部では 10 cm<sup>2</sup>以下）の潰瘍又は壊疽を有する Rutherford 分類 5 の患者。</li> </ul> </li> <li>• 以下の血行動態の指標に当てはまること。なお、足関節血圧又は足趾血圧が適切に測定できない場合は、中足骨レベルの PVR 又はドップラーの波形を使用してよい。その場合、PVR 又はドップラーの波形が平坦又はわずかな拍動であること。 <ul style="list-style-type: none"> <li>・ Rutherford 分類 4 の患者：足関節血圧が 50 mmHg 以下または足趾血圧が 30 mmHg 以下。</li> <li>・ Rutherford 分類 5 の患者：足関節血圧が 70 mmHg 以下または足趾血圧が 50 mmHg 以下。</li> </ul> </li> <li>• 末梢動脈疾患の標準的な血行再建術の適応が困難なこと。</li> </ul>
主な除外基準	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 骨又は腱の露出を伴う深い潰瘍、20 cm<sup>2</sup>以上（踵部では 10 cm<sup>2</sup>以上）の大きさの潰瘍、又は抗菌剤で制御不能な侵襲性の感染症（蜂窩織炎、骨髄炎等）を有していること。</li> <li>• 増殖糖尿病網膜症又は非増殖網膜症、黄斑浮腫、または汎網膜光凝固術の既往を有していること。</li> </ul>

用法・用量は、以下のとおりとされた。

本品を 0.5 mg ずつ 8 カ所（合計 4 mg）に Q2W で 4 回、対象肢の虚血部位に筋肉内投与し、当該投与レジメンを 3、9、12 カ月後に繰り返し実施する（最大 16 回）。生理食塩液で希釈後の本品の 1 カ所あたりの薬液量は 3 mL に固定する。

ASO 及び ASO に随伴する症状に対する治療として、高圧酸素療法は禁止とされた。さらに、鎮痛薬は観察期開始時から極力変更せず、変更の際は CRF に記録を残すこととされた。潰瘍に対する治療については、承認されている薬剤は併用可とされた。

本試験は試験の性格上、有効性の評価として主要評価項目は設定されず、潰瘍、安静時疼痛（VAS）、VascuQOL 質問表スコア、下肢切断の有無及び血行再建術の有無を評価することとされた。評価の時期は、3、6、9、12 及び 18 カ月後とされた。最大面積の潰瘍が評価対象とされ、正確な潰瘍の大きさの評価のため、壊死組織、痂皮及び胼胝は評価前に除去することとされた。

目標症例数は 10 例と設定され、試験開始から ■ 年で 10 例（Rutherford 分類 4 及び 5：各 5 例）登録され、全例に本品が投与され有効性及び安全性の解析対象集団とされた。10 例中、全 16 回の投与を完了したのは 3 例であり、18 カ月の観察を完了したのは 5 例であった。

有効性について、最大潰瘍又は安静時疼痛の改善例数は表 40 のとおりであった。潰瘍の大きさが 20% 以上縮小した症例は、6 カ月後の評価まで行われた Rutherford 分類 5 の 4 例中 1 例で、潰瘍が完全閉鎖した症例は認められなかった。VAS が本品投与前値から 20 mm 以上減少した症例は、6 カ月後の評価まで行われた Rutherford 分類 4 及び 5 の 8 例中 1 例だった。VascuQOL 質問票スコアの投与前値と比べた変化量は、各評価時期のいずれにおいても有意ではなかった。

表 40 投与対象肢の最大潰瘍又は安静時疼痛の改善例数（有効性解析対象集団）

評価時点（初回投与後）	最大潰瘍			安静時疼痛（VAS）	
	N	完全閉鎖した例数	投与前値 <sup>a</sup> から 20%以上縮小 <sup>b</sup> した例数	N	投与前値 <sup>a</sup> から 20mm 以上減少した例数
0～6 カ月	4	0	1	8	1
6～12 カ月	1	0	0	6	2
12～18 カ月	0	0	0	4	2

N：解析対象例数、a：投与前値は本品初回投与以前で本品初回投与に最も近いデータとした。b：データが得られる場合は、最大潰瘍の潰瘍径から推計される潰瘍面積を基に面積の縮小を計算した。

初回投与 18 カ月後までの評価において、下肢大切断は 20%（2/10 例）に認められ、また 30%（3/10 例）が血行再建術を受けた。

安全性について、初回投与 18 カ月後までの有害事象は、全例（10/10 例）に認められ、3 例以上で認められた有害事象は、投与部位の反応 9 例、擦過傷 4 例、肺炎 4 例及び挫傷 3 例であった。因果関係が否定されなかった有害事象は、10 例中 5 例に認められ、このうち、末梢性虚血及び子宮平滑筋肉腫の各 1 例は重篤な有害事象であり、また、心停止、腸管虚血及び心不全・肺炎合併例の各 1 例の転帰が死亡であった。

長期の下肢切断及び生命予後の評価として、18 カ月後における下肢切断なしの生存の推定値は 0.57 [95%CI ; 0.22, 0.81] であった。

#### 7.2.4 国際共同第Ⅲ相試験（添付資料 5.3.5.1-5.1～2、実施期間 2014 年 11 月～20■■ 年■■ 月）

血行再建術の施行が困難な重症虚血肢を有する ASO 患者を対象に、米国第Ⅱb 相パイロット試験と同様の用法・用量における本品の有効性及び安全性を検討する目的で、米国第Ⅱb 相パイロット試験と同様の主な選択基準・除外基準（表 39）に該当する患者を対象とした国際共同プラセボ対照無作為化二重盲検比較試験が実施された。

用法・用量は、以下のとおりとされた。

本品 0.5 mg 又はプラセボを 8 カ所（本品の合計 4 mg）に Q2W で 4 回、対象肢の虚血部位に筋肉内投与し、当該投与レジメンを 3、9、12 カ月後に繰り返し実施する（最大 16 回）。生理食塩液で希釈後の本品の 1 カ所あたりの薬液量は 3 mL に固定する。

ASO 及び ASO に随伴する症状に対する治療として、高圧酸素療法は禁止された。さらに、鎮痛薬は観察期開始時から極力変更せず、変更の際は CRF に記録を残すこととされた。潰瘍に対する治療については、承認されている薬剤は併用可とされた。

主要評価項目は対象肢の大切断又は死亡までの時間とされた。

本試験では、目標症例数は 500 例（本品群 250 例、プラセボ群 250 例）と設定されていたが、登録に難渋し試験開始後 20 年 12 月 31 日を経過した時点で目標例数の集積が困難であると考えられたことから、20 年 12 月に試験中止となった。本品が投与された本品群 23 例（Rutherford 分類 4 及び 5：12 例及び 11 例）及びプラセボ群 23 例（Rutherford 分類 4 及び 5：10 例及び 13 例）の計 46 例が安全性及び有効性の解析対象とされた。

登録された症例数が目標症例数を大幅に下回ったことから、有効性の評価項目は探索的に評価された。6 カ月間の評価において、対象肢の大切断又は死亡は、本品群で 21.7%（5/23 例）、プラセボ群で 34.8%（8/23 例）であった。なお、下肢切断又は死亡までの期間の中央値は、本品群で 505 日、プラセボ群で 381 日であった。

また、6 カ月間の評価における血行再建術の施行、心筋梗塞及び脳卒中の発現について、それぞれ本品群で 13.0%（3/23 例）、4.3%（1/23 例）及び 0%（0/23 例）、プラセボ群で 8.7%（2/23 例）、0%（0/23 例）及び 4.3%（1/23 例）に認められた。

最大潰瘍又は安静時疼痛の改善については、表 41 のとおりであった。

表 41 投与対象肢の最大潰瘍又は安静時疼痛の改善例数（有効性解析対象集団）

評価時点（初回投与後）	本品群				プラセボ群			
	最大潰瘍		安静時疼痛（VAS）		最大潰瘍		安静時疼痛（VAS）	
	N	完全閉鎖した例数	N	投与前値から 20 mm 以上減少した例数	N	完全閉鎖した例数	N	投与前値から 20 mm 以上減少した例数
0～6 カ月	11	2	23	4	13	1	23	6
6～12 カ月		3		9		1		6
12～18 カ月		3		9		1		6

N：解析対象例数

安全性について、初回投与 18 カ月後までの有害事象は本品群で 73.9%（17/23 例）、プラセボ群で 78.3%（18/23 例）に認められた。いずれかの群で 10%以上に認められた有害事象は表 42 のとおりであった。

表 42 いずれかの群で 10%以上に認められた有害事象

	発現例数（割合（%））	
	本品群 N=23	プラセボ群 N=23
尿路感染	3（13.0）	1（4.3）
悪心	0（0.0）	3（13.0）

N：解析対象例数、MedDRA/J ver.19.0

重篤な有害事象は、本品群 30.4% (7/23 例)、プラセボ群 9% (9/23 例) に認められた。本品との因果関係ありとされた重篤な有害事象はなかった。本品群 3 例及びプラセボ群 3 例の計 6 例が死亡し、死因は、本品群では呼吸不全、多臓器不全及び非小細胞肺癌、プラセボ群では心停止、心室頻拍及び脳卒中であり、いずれも治験製品との因果関係は否定された。

### 7.3 参考資料

#### 7.3.1 大阪大学臨床研究 (添付資料 5.3.5.2-1.1~3、実施期間 2001 年 5 月~2001 年 12 月、追跡期間 ~ 2002 年 12 月)

標準的な薬物治療の効果が不十分で血行再建術の施行が困難な重症虚血肢を有する ASO 患者及びバージャー病患者を対象とし、本品の安全性及び有効性並びに有効用量を検討する目的で、表 43 に示す主な選択基準・除外基準に該当する患者を対象とした非盲検非対照の臨床研究が単施設で実施された。

表 43 主な選択基準及び除外基準

主な選択基準	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ASO 及びバージャー病により、著しく QOL が障害されているが、血行再建術の適応がなく、またこれまでの内科的治療により改善がみられず、将来切断が予想される患者</li> <li>• 以下の臨床症状を示す患者               <ul style="list-style-type: none"> <li>第 1 ステージ：安静時疼痛又は潰瘍・壊死を有する患者</li> <li>第 2 ステージ：高度跛行、安静時疼痛又は潰瘍・壊死を有する患者</li> </ul> </li> </ul>
主な除外基準	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 重度の糖尿病網膜症 (未治療の増殖網膜症及び中期・晩期増殖網膜症) を有していること。</li> </ul>

用法・用量は、以下のとおりとされた。

#### <第 1 ステージ>

本品 0.4 mg の予備投与の 2 週間後、本品を 0.5 mg ずつ 4 カ所 (合計 2 mg) に Q4W で 2 回、対象肢の虚血部位に筋肉内投与する。浅大腿動脈の遠位での閉塞等による下肢の循環不全を示す患者では、本品 2.0 mg を膝上部 2 カ所と膝下部 2 カ所に、より遠位の閉塞を示す患者では、2.0 mg を膝下部の罹患肢筋肉 4 カ所に投与する。なお、投与すべき筋肉が萎縮している場合や複数部位の血管が狭窄している症例では、患者の病状により投与部位を選択する。第 1 ステージの全症例について、適応・評価小委員会が安全性を評価し、問題がないと判断された場合には遺伝子治療臨床研究審査委員会で承認された後、第 2 ステージに進む。

#### <第 2 ステージ>

本品を 0.5 mg ずつ 4 カ所 (合計 2 mg) 又は 0.5 mg ずつ 8 カ所 (合計 4 mg) に Q4W で 2 回、対象肢の虚血部位に筋肉内投与する。

第 1 ステージでは ASO 患者及びバージャー病患者各 3 例の計 6 例、第 2 ステージでは 2 mg 群に ASO 患者 5 例及びバージャー病患者 3 例の計 8 例、4 mg 群には ASO 患者 6 例及びバージャー病患者 2 例の計 8 例が組み入れられた。なお、本試験では両下肢への投与が、第 1 ステージ及び第 2 ステージで計 5 例に行なわれ、投与対象下肢 1 肢が 1 例として扱われた。いずれのステージにおいても本品初回投与 (予備投与は除く) から 12 週後までが治療期として設定され、初回投与 27 ヶ月後まで追跡調査が実施された。有効性の主要評価項目は設定されなかった。

第 1 ステージ及び第 2 ステージにおける潰瘍の改善率及び安静時疼痛の改善率は、表 44 のとおりであった。

表 44 潰瘍（最大潰瘍の長径）及び安静時疼痛（VAS）の改善率

評価項目	潰瘍（最大潰瘍の長径） <sup>a</sup>			安静時疼痛（VAS） <sup>b</sup>		
	第1ステージ	第2ステージ		第1ステージ	第2ステージ	
	N=4 <sup>c</sup>	2 mg 群 N=4 <sup>d</sup>	4 mg 群 N=3 <sup>d</sup>	N=6	2 mg 群 N=4 <sup>e</sup>	4 mg 群 N=3 <sup>e</sup>
改善例数（%）	3（75.0）	2（50.0）	2（66.7）	4（66.7）	3（75.0）	1（33.3）
改善率の95%CI	19.4, 99.4	6.8, 93.2	9.4, 99.2	22.3, 95.7	19.4, 99.4	0.8, 90.6

N：解析対象例数、第2ステージの5例では、両下肢に投与され、1肢が1例として扱われた。a：最大潰瘍の大きさの投与前値から75%以下への縮小を「改善あり」と定義。b：VASの投与前値から2cm以上の減少を「改善あり」と定義。c：6例中潰瘍を有していた4例を対象。d：2mg群8例中4例、4mg群8例中3例が潰瘍を有していた。e：2mg群8例中4例、4mg群8例中3例が安静時疼痛（VAS）を測定できた。

安全性について、第1ステージの治療期では、有害事象の発現割合は、100%（6/6例、90件）であった。重篤な有害事象は、1例に2回目投与3週後に脳梗塞が認められ、本品との因果関係は否定された。第2ステージの治療期では、有害事象の発現割合は、2mg群100%（8/8肢、125件）及び4mg群100%（8/8肢、144件）（以下同順）であった。重篤な有害事象は、2件（肺炎及び心不全、両下肢に同時投与された症例であり、同一症例の同一事象）であり、いずれも本品との因果関係は否定された。第1ステージ及び第2ステージともに死亡は認められなかった。

治療期後、治療開始から25カ月までの追跡調査において、22例のうち、第1ステージ及び第2ステージの各1例で死亡が認められ、死因は、それぞれ高カリウム血症に関連した不整脈及び肺炎であった。

治療開始後2年以降から10年以上の追加予後調査では、調査対象となった20例中大切断は1例、死亡は2例、追跡不能は9例であった。

### 7.3.2 米国 IHD 第 I 相試験（添付資料 5.3.5.4-1.1～3、実施期間 2004 年 11 月～20 年 月）

冠動脈バイパス術又は経皮的冠動脈インターベンションの適応がない虚血性心疾患を対象とし、本品の安全性及び忍容性を検討する目的で、非盲検非対照試験が実施された。用法・用量は、以下のとおりとされた。

#### <ステージ1>

本品を mg ずつ カ所（合計 0.4 mg）に、心筋内投与用カテーテルを用いて の虚血部位に投与する。ステージ1の全症例について、安全性評価委員会が安全性に問題がないと判断した後、ステージ2に進む。

#### <ステージ2>

本品を mg ずつ カ所（合計 4 mg）又は mg ずつ カ所に、心筋内投与用カテーテルを用いて の虚血部位に投与する。

ステージ1には3例、ステージ2には6例が組み入れられ、12カ月間のフォローアップ期が設定された。安全性について、有害事象の発現割合は0.4mg群100%（3/3例、32件）及び4mg群100%（6/6例、58件）であった。重篤な有害事象は、0.4mg群2例3件（心筋梗塞、心筋虚血、胃腸出血）、4mg群2例3件（狭心症、心筋梗塞、慢性閉塞性肺疾患）であり、いずれも本品との因果関係は否定された。両ステージともに死亡は認められなかった。

## 7.4 本品の投与に伴う抗体産生

ヒト血清中抗 hHGF 抗体価、ヒト血清中抗 DNA 抗体価及びヒト血清中抗大腸菌タンパク質抗体価の測定が、ELISA 法により行われた（定量下限は、それぞれ■■■ ng/mL、■■ IU/mL 及び■■ ng/mL）。

### ① ASO 第Ⅲ相試験

本品又はプラセボ投与前、投与 4、8、12 週後に血清中抗 hHGF 抗体価、血清中抗 DNA 抗体価及び血清中抗大腸菌タンパク質抗体価が、本品群 28 例、プラセボ群 13 例について測定された。

血清中抗 hHGF 抗体は、両群ともに検出されなかった。

血清中抗 DNA 抗体及び血清中抗大腸菌タンパク質抗体は、本品投与により陽性となった患者は認められなかった。

### ② TAO 一般臨床試験

本品投与前、投与 4、8、12 週後に血清中抗 hHGF 抗体価、血清中抗 DNA 抗体価及び血清中抗大腸菌タンパク質抗体価が測定されたが、いずれも検出されなかった。

### ③ 米国第Ⅱ相試験

本品投与前、投与 7、14、21、28、35、49 日後及び 3、6 カ月後に血清中抗 hHGF 抗体が測定され、いずれの投与群においても検出されなかった。

### ④ 米国追加第Ⅱ相試験

本品投与前、投与 14、28、49 日後及び 3、6 カ月後に血清中抗 hHGF 抗体が測定され、いずれの投与群においても検出されなかった。

### ⑤ 米国第Ⅱb 相パイロット試験

本品投与前、投与 3、6、9、12、15、18 カ月後に血清中抗 hHGF 抗体が測定され、いずれの投与群においても検出されなかった。

### ⑥ 国際共同第Ⅲ相試験

本品投与前、投与 3、6、9、12、15、18 カ月後に血清中抗 hHGF 抗体が測定され、いずれの投与群においても検出されなかった。

## 7.R 機構における審査の概略

### 7.R.1 審査方針について

機構は、提出された評価資料のうち、2008 年 3 月 27 日に行われた本品の医薬品製造販売承認申請時に提出された ASO 第Ⅲ相試験及び TAO 一般臨床試験が本邦における本品の有効性及び安全性を評価する上で重要な試験であると考え。また、上記 2 試験に加えて、20■■年■■月■■日の本品の製造販売承認申請取下げ後に申請者により新たに実施された先進医療 B 臨床研究の結果についても確認し、現時点における ASO 及びバージャー病の治療環境等も考慮した上で、本品の有効性及び安全性について再度評価することとした。

## 7.R.2 臨床的位置づけについて

申請者は、ASO 及びバージャー病の治療における本品の臨床的位置づけについて、以下のように説明した。

標準的な薬物治療の効果が不十分で血行再建術の施行が困難な ASO 患者又は既存の内科的治療が無効なバージャー病患者の重症下肢虚血に対する治療法は確立しておらず、当該 ASO 患者では 10~14%/年の確率で下肢切断に至ると報告されている (JACC Cardiovasc Interv 2017; 10: 1147-57)。また、重症下肢虚血に限らないバージャー病患者では 9 年間で 11.5%の症例が下肢切断に至ったと報告されている (脈管学 1997; 37: 883-6)。下肢切断を受けた ASO 患者の予後は不良であり、下肢切断の回避は症状改善とともに生命予後の観点からも重要な課題である。しかしながら、下肢切断を行うか否かの判断は、潰瘍の状態 (大きさ、深さ、感染や壊死の有無) 及び患者の状態 (基礎疾患や耐術能) 等に基づき総合的に決定されることを考慮すると、下肢の切断に基づいて本品の有効性を評価することには限界があると考えられる。一方で、重症下肢虚血患者における安静時疼痛の軽減及び潰瘍の治癒は生活の質を向上させるものであり、臨床的意義があると考えられる。

本品は、虚血病巣付近の筋肉内に投与することにより細胞内に取り込まれて HGF を産生・分泌し、血管新生をもたらすことにより下肢血流を改善させることが期待されるものである。標準的な薬物治療の効果が不十分で血行再建術の施行が困難な重症下肢虚血患者に対する、安静時疼痛及び潰瘍の改善を目的とした新たな治療選択肢と位置づけられると考える。

機構は、以下のように考える。

標準的な薬物治療の効果が不十分で血行再建術の施行が困難な ASO 及びバージャー病による重症下肢虚血に対する真のエンドポイントは下肢切断の回避であるものの、本邦の診療ガイドラインでは疼痛の軽減、組織欠損部位の治癒についても重症下肢虚血に対する治療の目的として記載されている。ASO 第Ⅲ相試験及び TAO 一般臨床試験等では下肢切断を評価できる試験計画となっておらず、安静時疼痛の軽減及び潰瘍の縮小等が評価されている。この点を考慮すると、本品を既存の内科的治療では症状の改善がみられず、かつ血行再建術の効果が不十分又は施行が困難な重症下肢虚血に対する安静時疼痛の軽減又は潰瘍の治癒を期待する製品として位置づけることの妥当性を評価することは可能と判断した。

## 7.R.3 有効性について

### 7.R.3.1 臨床試験の対象患者について

機構は、ASO 第Ⅲ相試験、TAO 一般臨床試験、先進医療 B 臨床研究等において、本品の投与対象を、血行再建術又は内科的治療の適応とならない ASO 又はバージャー病患者としたことは、本品に期待される薬理作用及び臨床的位置づけに鑑みると、妥当であると考えられる。

### 7.R.3.2 評価項目について

申請者は、ASO 第Ⅲ相試験及び TAO 一般臨床試験の主要評価項目の設定理由について、以下のように説明した。

以下の理由から、主要評価項目として、ASO 第Ⅲ相試験では Fontaine 分類Ⅲ度 (安静時疼痛を有する) の患者における「安静時疼痛の VAS」と Fontaine 分類Ⅳ度 (潰瘍を有する) の患者における「潰瘍の大きさ」の複合評価を、TAO 一般臨床試験では Fontaine 分類Ⅳ度のバージャー病患者における「潰瘍の大きさの改善率」を設定した。

- 本邦の診療ガイドラインにおいて、疼痛の軽減及び潰瘍の治癒は、いずれも ASO 及びバージャー病による重症虚血肢の治療目的とされており、臨床的意義がある指標であると考えたこと。
- 安静時疼痛と潰瘍については、臨床的には異なる所見であるものの、いずれも慢性的な血流不全を原因として生じる症状であり、本品の有効性の評価において複合エンドポイントとすることは可能と考えたこと。

さらに、以下の理由から VAS については 20 mm 以上の減少、潰瘍の大きさ（ $\sqrt{\text{長径} \times \text{短径}}$ ）については投与前値から 75%以下に縮小することを、「改善」と定義した。

- ASO 及びバージャー病に伴う安静時疼痛の評価については、疼痛の一般的な評価方法である VAS を用いることとした。安静時疼痛の改善の定義については、慢性腰痛を対象とした臨床試験において臨床的意義のある変化は 18~19 mm と報告（Eur Spine J 2003;12:12-20）されていること等を参考として、20 mm 以上の減少と設定した。
- 潰瘍については、改善に関する確立した定義はない。したがって、ASO 及びバージャー病に対する治療に詳しい医学専門家の意見に加え、European Wound Management Association（EWMA）では下肢潰瘍等の創傷の治癒評価では創傷面積の 50%減少（J Wound Care 2010;19:237-68）を基準とすることを推奨しており、本品の臨床試験で設定した潰瘍を楕円形と仮定し長径と短径がそれぞれ 75%に縮小した場合に、縮小後の潰瘍の面積は縮小前の面積の 56.3%となり、値が類似することから、潰瘍の大きさ（長径と短径の相乗平均： $\sqrt{\text{長径} \times \text{短径}}$ ）が 75%以下に縮小することを「改善」と定義した。

機構は、以下のように考える。

ASO 第Ⅲ相試験及び TAO 一般臨床試験の主要評価項目の判断基準とされた「安静時疼痛の VAS の 20 mm 減少」及び「潰瘍の $\sqrt{\text{長径} \times \text{短径}}$ の 75%以下の縮小」については確立した基準ではなく、当該判断基準のみに基づき本品の有効性を判断するには限界があると考えられる。

しかしながら、本品の臨床的位置付け（7.R.2 参照）及び以下の点を考慮すると、「安静時疼痛の VAS」及び「潰瘍の大きさ」の改善率について区別して評価した上で、安静時疼痛（VAS）の改善の程度及び潰瘍の完全閉鎖に基づき本品の有効性を評価することは可能と判断した。なお、下肢切断の回避は臨床的に重要と考えるため、下肢切断に関する情報についても補足的に評価することで、本品の有効性を評価することは可能と判断した。

- ASO 第Ⅲ相試験の主要評価項目とされた「安静時疼痛の VAS」及び「潰瘍の大きさ」については、解析対象とされた集団が、それぞれ Fontaine 分類Ⅲ度及びⅣ度の患者と区別されており、各 Fontaine 分類の患者における「改善」の定義が異なることも考慮すると、「安静時疼痛の VAS」と「潰瘍の大きさ」を併せて評価することには限界があり、本品の有効性に係る評価ではそれぞれ区別して評価する必要があること。
- 重症虚血肢に伴う安静時疼痛の評価指標として確立した指標はないものの、一般的に疼痛の評価として VAS が用いられており、疼痛の軽減により Quality of Life (QOL) や Activity of daily life (ADL) の改善が期待できることを考慮すると、安静時疼痛を VAS で評価すること、及び VAS の改善の程度によっては一定の臨床的意義があると考えられること。
- 潰瘍の完全閉鎖が得られることにより、感染制御等の皮膚が有している生体バリア機能の回復が期待でき臨床的意義があると考えられること。

### 7.R.3.3 有効性について

申請者は、潰瘍及び安静時疼痛に対する本品の有効性について、以下のように説明している。

#### <潰瘍について>

潰瘍の大きさの改善について、各臨床試験及び臨床研究における結果は以下のとおりであった。

- ASO 第Ⅲ相試験のステージ 1 では、本品群及びプラセボ群でそれぞれ 11/11 例 (100%) 及び 2/5 例 (40.0%) で認められた (7.1.1、表 18 参照)。
- TAO 一般臨床試験では 6/9 例 (66.7%) で認められた (7.1.2、表 28 参照)。
- 先進医療 B 臨床研究では 1/1 例 (100%) で認められた (7.1.3、表 31 参照)。

さらに、Fontaine 分類Ⅳ度の患者の潰瘍 (評価対象となった潰瘍) の完全閉鎖については、以下のとおりであった。

- ASO 第Ⅲ相試験のステージ 1 では、本品群及びプラセボ群でそれぞれ 4/11 例 (36.4%) 及び 1/5 例 (20.0%) で認められた (7.1.1、表 22 参照)。
- TAO 一般臨床試験では、5/9 例 (55.6%) に認められ (7.1.2、表 29 参照)、5 例のうち 15 カ月後の評価結果が得られた 3 例では潰瘍消失の維持が確認された。
- 先進医療 B 臨床研究では、1/1 例 (100.0%) で認められた (7.1.3、表 32 参照)。

機構は、先進医療 B 臨床研究において潰瘍の完全閉鎖が認められた 1 例では、同側肢の 4 つの潰瘍のうち主要評価の対象となった 1 カ所のみで改善が認められ、他の 3 カ所では改善が認められていないこと等から、当該患者における本品の有効性について説明を求めた。

申請者は、以下のように回答した。

先進医療 B 臨床研究では、「試験開始時に存在する最大径の潰瘍」を治療対象として選択し、本品の有効性を評価することとした。当該症例は、同側肢の第 1 趾及び第 2 趾に 4 つの潰瘍を有していたが、第 1 趾付け根に存在した潰瘍が最大径の潰瘍であり、最大径の潰瘍に対して最も効果的と思われる部位 (第 1 趾に走行している血管を含む筋肉群：前脛骨筋、ヒラメ筋、長母趾伸筋、長母趾屈筋及び短母趾屈筋) に本品を投与した。その結果、最大径の潰瘍のみが完全に閉鎖した。他の 3 つの潰瘍については、最大の潰瘍とは支配血流領域が異なることから血流の改善が得られなかった可能性が考えられた。以上から、他の 3 カ所の潰瘍で改善が認められなかったことにより、本品の有効性が否定されるものではないと考える。

以上の結果等から、本品の潰瘍に対する有効性は期待できる。

#### <安静時疼痛について>

Fontaine 分類Ⅲ度の患者の安静時疼痛について、各臨床試験及び臨床研究における結果は以下のとおりであった。

- ASO 第Ⅲ相試験のステージ 1 では、安静時疼痛の改善が本品群及びプラセボ群でそれぞれ 8/16 例 (50.0%) 及び 2/8 例 (25.0%) で認められた (7.1.1、表 18 参照)。また、VAS の変化量の中央値 [95%CI] は、本品群及びプラセボ群で、それぞれ  $-21.5$  mm [ $-33.7, -8.6$ ] 及び  $-10.5$  mm [ $-25.0, -3.7$ ] であった (7.1.1、表 19 参照)。
- TAO 一般臨床試験では、安静時疼痛の改善が 3/7 例 (42.9%) で認められた。また、VAS の変化量の中央値 [95%CI] は  $-41.0$  mm [ $-54.6, -18.0$ ] であった。

- 先進医療 B 臨床研究では、安静時疼痛の改善が 2/3 例（66.7%）で認められた（7.1.3、表 31 参照）。また、VAS の変化量の中央値 [95%CI] は -28 mm [-50.7, -12.7] であった。

機構は、ASO 第Ⅲ相試験で得られたプラセボ群に対する本品群の安静時疼痛に対する本品の改善効果は僅かであり、また比較対照が設定されていない TAO 一般臨床試験及び先進医療 B 臨床研究の結果から本品の安静時疼痛に対する有効性を評価することは困難であることから、本品の安静時疼痛に対する有効性について更なる説明を求めた。

申請者は、以下のように回答した。

ASO 第Ⅲ相試験の本品群及びプラセボ群では、安静時疼痛の改善がそれぞれ 8/16 例（50.0%）及び 2/8 例（25.0%）で認められた。

国内で実施された臨床試験及び臨床研究で安静時疼痛が評価された Fontaine 分類Ⅲ度の患者（本品群 26 例（ASO 第Ⅲ相試験 22 例、先進医療 B 臨床研究 3 例及び大阪大学臨床研究 1 例）、プラセボ群 9 例（ASO 第Ⅲ相試験 9 例<sup>11)</sup>）を統合したデータを用いて安静時疼痛に対する本品の有効性を検討した。その結果、統合したデータの本品群及びプラセボ群では、安静時疼痛の改善がそれぞれ 11/26 例（42.3%）及び 2/9 例（22.2%）で認められた。さらに、疼痛の評価はプラセボの影響を受けやすいと報告（Curr Pain Headache Rep 2014; 18: 419）されており、特に疼痛が強くない患者では影響が強いとの報告（Am J Cardiol 2002; 90: 1314-9）があることから、プラセボ群の 9 例を、プラセボ（生理食塩液）投与前の █████ が █████ 以上（7 例）及び █████ 未満（2 例）の集団に分けて █████ の変化量を検討した。その結果、█████ が █████ 以上の集団及び █████ 未満の集団におけるプラセボ投与前後の █████ の変化量の平均値±標準誤差はそれぞれ █████ ± █████ 及び █████ ± █████ であり、█████ が █████ 以上の集団と比較して、█████ 未満の集団でプラセボの影響が大きいことが示唆された。以上から、█████ 以上の患者集団では、本品の安静時疼痛に対する有効性をより感度よく評価できると考え、Fontaine 分類Ⅲ度で █████ 以上の患者集団（本品群 20 例、プラセボ群 7 例）における █████ の改善を検討した。その結果、本品群及びプラセボ群において █████ の改善が、それぞれ 9/20 例（45.0%）及び 0/7 例で認められた。

以上の結果から、本品の安静時疼痛に対する有効性については示唆されていると考えるものの、安静時疼痛に対する本品の有効性が確認できる程の十分な例数での検討ができていないこと等を考慮すると、現時点で本品の一定の有効性が示されたとは結論付けられないと考える。

#### <その他の有効性評価>

申請者は、下肢切断について、以下のように説明している。

下肢切断について、各臨床試験及び臨床研究における結果は以下のとおりであった。

- ASO 第Ⅲ相試験のステージ 1 及び 2 で本品を投与された 38 例において、治療期から追跡調査終了まで（15 カ月間）の大切断は 2 例（5.3%）で認められた。また、本品の投与 36 カ月間の時点までに大切断は更に 1 例で認められた。さらに、36 カ月を超える追加予後調査（初回投与から最長 13 年間）を実施したところ、調査可能であった 26 例のうち、大切断は 1 例（3.8%）で認められた。
- TAO 一般臨床試験で本品を投与された 9 例において、治療期から追跡調査終了まで（15 カ月間）の大切断は 1 例（11.1%）で認められた。また、本品の投与 36 カ月間の時点までに新たな大切断は認

<sup>11)</sup> ASO 第Ⅲ相試験の 2007 年 6 月 29 日のデータカットオフ時には安静時疼痛が評価されていなかった 1 例も含めて解析された。

められなかった。さらに、36 カ月を超える追加予後調査（初回投与から最長 13 年間）を実施したところ、調査可能であった 7 例のうち、大切断は 1 例（14.3%）で認められた。

- 大阪大学臨床研究で本品を投与された 22 例において、治療期から追跡調査終了まで（25 カ月間）の大切断は認められなかった。さらに、25 カ月を超える追加予後調査（初回投与から最長 16 年間）を実施したところ、調査可能であった 20 例のうち、大切断は 1 例（5.0%）で認められた。

本邦において、ASO 患者の重症虚血肢に対する最長 3 年間の観察で 24.7%の症例が下肢切断に至り、その 2/3 が大腿部及び下腿部の大切断であったと報告されていること（Therapeutic Research 1992; 13: 4099-109）を考慮すると、本品の下肢切断の回避に対する有効性が期待できると考える。

機構は、以上の有効性に対する試験成績において、ASO 患者を対象とした ASO 第Ⅲ相試験と米国第Ⅱ相試験及び米国追加第Ⅱ相試験との間で有効性の結果に差異が生じた理由について申請者に説明を求めた。

申請者は、以下のように回答した。

以下の理由から、試験間で本品の投与部位、1 カ所当たりの投与量、1 回の手技での投与総量、投与間隔及び疾患の状態に差異があることから、これらが各試験の有効性の結果に影響した可能性があると考ええる。

- 米国第Ⅱ相試験及び米国追加第Ⅱ相試験では、ASO 第Ⅲ相試験では除外基準とされた、投与対象肢に壊死化した潰瘍が認められる患者が登録されたこと。
- 登録された患者の潰瘍の大きさが、ASO 第Ⅲ相試験に比べ米国第Ⅱ相試験及び米国追加第Ⅱ相試験では大きかったこと。
- 投与部位に関して、ASO 第Ⅲ相試験では、患者毎に血管造影写真及びエコーを用いて虚血の状態を確認した上で決定したのに対して、米国第Ⅱ相試験では虚血の状態にかかわらず大腿 4 カ所、下腿 4 カ所と固定されていたこと。
- ウサギを用いた非臨床試験において、本品による hHGF 発現量は投与液濃度及び投与液量に依存するという結果が得られており（4.3.1 及び 4.3.2 参照）、hHGF の産生は用量と液量の両方の増加により上昇すると考えている。各試験の投与部位あたりの用量は、ASO 第Ⅲ相試験では 0.5 mg/3 mL（ただし筋が小さい場合は 2 mL まで減量可）、米国第Ⅱ相試験では 0.5 mg/2 mL であり、液量の多い ASO 第Ⅲ相試験で hHGF 発現が高かった可能性があること。

機構は、以下のように考える。

ASO 第Ⅲ相試験において 1 例ずつ割付をキーオープンする計画としたこと、試験中にキーオープンした被験者の結果に対し検討を実施したこと、さらに途中結果に基づき事前に規定していなかった早期有効中止を目的とした中間解析を計画したことはいずれも適切ではなく、本試験の完全性及び結果の信憑性を大きく低下させるものである。したがって、当該中間解析結果の解釈には限界があると考えられる。しかしながら、その限界を踏まえた上で本品の有効性を検討することは可能と考えると判断した。

潰瘍については、ASO 第Ⅲ相試験でプラセボ群に対して本品群で完全閉鎖した患者の割合が高い傾向にあることを考慮すると、本品の一定の有効性は期待できると考える。また、先進医療 B 臨床研究において潰瘍の完全閉鎖が認められた 1 例で複数の潰瘍での改善が一樣に認められなかったことについて、

上述の申請者の説明は理解可能であるものの、本品の投与部位と有効性との関連については引き続きの検討が必要と考える（8.1 参照）。

一方、安静時疼痛については、プラセボ対照を設定して評価した唯一の臨床試験である ASO 第Ⅲ相試験におけるプラセボ群と本品群の改善効果は 7.1.1 の表 18 のとおりであった。主観的な指標である VAS について、非対照試験では結果にバイアスが生じる可能性が高く、非対照試験を併合した併合試験結果から評価をすることは限界があると考え。また [REDACTED] 以上の患者集団における結果については、事後的な解析であり、探索的な検討結果であること等を考慮すると、当該患者集団の結果に基づき本品の有効性が期待できるとの説明は困難と考える。したがって、現時点では本品の安静時疼痛に対する有効性が期待できるとは結論付けられないと考える。

なお、上記の各臨床試験及び臨床研究は、下肢切断の評価が可能な試験計画ではなく、大切断以外の切断に関する情報も乏しいことから、現時点で本品の下肢切断の回避に対する有効性については不明であると考え。しかしながら、重症下肢虚血に対する下肢切断に係る報告を考慮すると、少なくとも本品の投与が下肢切断の回避に対する明確な悪影響を及ぼしてはいないと考え。

以上から、標準的な薬物治療の効果が不十分で血行再建術の施行が困難な重症虚血肢を有する ASO 患者及びバジャー病患者の潰瘍に対する本品の一定の有効性は期待できると判断した。また、米国第Ⅱ相試験で本品の有効性が認められなかった明確な理由は不明であるものの、投与対象肢に壊死化した潰瘍が認められる患者や、潰瘍の径が大きい患者には本品の有効性が認められない可能性があると考え。

以上の機構の判断に関しては、専門協議にて議論したい。なお、本品の投与対象については、効能・効果又は性能についての項（7.R.4 参照）において、さらなる検討を行った。

#### 7.R.4 安全性について

機構は、本品の作用機序等から想定される、血管新生促進に関連する有害事象（良性又は悪性新生物等の発現リスク、糖尿病網膜症・加齢黄斑変性の発現及び増悪）及びアナフィラキシー反応について申請者に説明を求めた。

##### 7.R.4.1 良性又は悪性新生物等の発現リスクについて

申請者は、以下のように説明している。

本申請で提出した 7 つの評価資料及び大阪大学臨床研究における良性又は悪性新生物等の発現は表 45 のとおりであり、本品群 41/209 例（19.6%）、プラセボ群 3/70 例（4.3%）で認められた。なお、米国追加第Ⅱ相試験では良性又は悪性新生物の発現は認められなかった。

表 45 良性又は悪性新生物等の発現状況

	例数 (%)					
	ASO 第Ⅲ相試験		TAO 一般 臨床試験	先進医療 B 臨床研究	米国第Ⅱ相試験	
	本品群 39 例	プラセボ群 15 例	本品群 10 例	本品群 6 例	本品群 78 例	プラセボ群 26 例
全事象	12 (28.2)	1 (6.7)	3 (30.0)	1 (16.7)	10 (12.8)	2 (7.7)
大腸ポリープ	5 (12.8)	0	1 (10.0)	0	0	0
十二指腸の良性新生物	2 (5.1)	0	0	0	0	0
胃腺癌	1 (2.6)	0	0	0	0	0
膵癌	1 (2.6)	0	0	0	0	0
前立腺癌	2 (5.1)	0	0	0	0	0
胃ポリープ	1 (2.6)	1 (6.7)	0	0	0	0
十二指腸ポリープ	1 (2.6)	0	0	0	1 (1.3)	0
食道扁平上皮癌	0	0	1 (10.0)	0	0	0
咽頭扁平上皮癌	0	0	1 (10.0)	0	0	0
胃癌	0	0	0	1 (16.7)	0	0
基底細胞癌	0	0	0	0	4 (5.1)	0
副腎腫瘍	0	0	0	0	1 (1.3)	0
結腸癌	0	0	0	0	1 (1.3)	1 (3.8)
脂肪腫	0	0	0	0	1 (1.3)	0
扁平上皮癌	0	0	0	0	1 (1.3)	0
肺門リンパ節腫脹	0	0	0	0	1 (1.3)	0
腺癌	0	0	0	0	0	1 (3.8)

	例数 (%)			
	米国第Ⅱb 相 パイロット試験	国際共同第Ⅲ相試験		大阪大学臨床研究
	本品群 10 例	本品群 23 例	プラセボ群 23 例	本品群 22 例
全事象	1 (10.0)	1 (4.3)	0	13 (59.1)
子宮平滑筋肉腫	1 (10.0)	0	0	0
非小細胞肺癌	0	1 (4.3)	0	0
胃の良性新生物	0	0	0	2 (9.1)
脂肪腫	0	0	0	2 (9.1)
食道ポリープ	0	0	0	2 (9.1)
皮膚の新生物	0	0	0	1 (4.5)
皮膚乳頭腫	0	0	0	1 (4.5)
膵臓の良性新生物	0	0	0	1 (4.5)
胃ポリープ	0	0	0	1 (4.5)
AFP 増加	0	0	0	1 (4.5)
CEA 増加	0	0	0	4 (18.2)
腫瘍マーカー上昇	0	0	0	1 (4.5)
CA19-9 増加	0	0	0	3 (13.6)

表 46 良性又は悪性新生物等を発現した患者一覧

試験名	投与群	年齢	性別	発現事象	発現時期 <sup>a</sup> (日目)	因果関係
ASO 第Ⅲ相試験	本品	84	男	十二指腸ポリープ	78	なし
		73	男	胃ポリープ	81	なし
				食道ポリープ	81	なし
		75	男	胃腺癌	83	あり
		81	女	十二指腸の良性新生物	90	なし
		73	女	膵癌	432	あり
		72	男	前立腺癌	80	あり
		77	男	大腸ポリープ	90	なし
		79	男	大腸ポリープ	88	なし
		67	男	大腸ポリープ	89	なし
		66	男	大腸ポリープ	78	なし
				十二指腸の良性新生物	79	なし
				大腸ポリープ	79	なし
	プラセボ	73	男	前立腺癌	973	あり
TAO 一般臨床試験	本品	84	男	胃ポリープ	83	なし
		48	男	食道扁平上皮癌	91	あり
		57	男	大腸ポリープ	117	なし
先進医療 B 臨床研究	本品	49	男	喉頭扁平上皮癌	603	あり
		70	男	胃癌	33	あり
米国第Ⅱ相試験	本品	84	男	基底細胞癌	171	なし
		70	女	基底細胞癌	44	なし
				基底細胞癌	122	なし
				基底細胞癌	358	なし
				基底細胞癌	91	なし
		78	男	基底細胞癌	140	なし
				扁平上皮癌	169	なし
		73	男	十二指腸ポリープ	92	なし
		78	女	肺門リンパ節腫脹	112	なし
		75	女	脂肪腫	26	なし
		68	男	基底細胞癌	48	なし
		65	女	副腎腺腫	16	なし
		77	女	結腸癌	365	あり
プラセボ	64	男	結腸癌	224	なし	
	74	女	腺癌	114	なし	
米国第Ⅱb相 パイロット試験	本品	62	女	子宮平滑筋肉腫	349	あり
国際共同第Ⅲ相試験	本品	70	男	非小細胞肺癌	493	なし
		63	女	AFP 増加	97	なし
		66	男	CA19-9 増加	194	なし
				胃の良性新生物	595	なし
		69	男	CA19-9 増加	216	なし
				CEA 増加	216	なし
				皮膚乳頭腫	258	なし
				皮膚新生物	267	なし
				CA19-9 増加	378	なし
				CEA 増加	714	なし
				皮膚の新生物	718	なし
		67	男	CA19-9 増加	175	なし
				胃の良性新生物	367	なし
		66	男	脂肪腫	694	なし
		66	男	食道ポリープ	680	なし
		69	女	膵臓の良性新生物	704	なし
		58	男	胃ポリープ	355	なし
66	男	脂肪腫	574	なし		

試験名	投与群	年齢	性別	発現事象	発現時期 <sup>a</sup> (日目)	因果関係
		27	女	腫瘍マーカー上昇	209	なし
				CEA 増加	553	なし
		66	男	食道ポリープ	589	なし
		66	男	CEA 増加	122	なし
				CEA 増加	357	なし
		66	男	CEA 増加	73	なし
				CEA 増加	308	なし

a: 初回投与からの日数

申請者は、本品による良性又は悪性新生物等の発現リスクについて、以下のように説明している。

良性又は悪性新生物等の発現率は、プラセボ群より本品群で高かった。しかしながら、本品との因果関係が否定されなかった症例は7例のみであること、ASO 第Ⅲ相試験ではプラセボ群に対して本品群では観察期間がより長期（本品群：最長 13 年、プラセボ群：12 週）になっていること、さらに本品の投与対象となるのは発癌のリスクが高くなる年齢層の患者であること等を考慮すると、現時点で本品と良性又は悪性新生物等の発現との関連は明確ではないと考える。

機構は、以下のように考える。

本品による良性又は悪性新生物の発現リスクに関する申請者の説明は理解可能であり、現時点で本品と良性又は悪性新生物等の発現との関連は明確ではないと考える。ただし、本品は hHGF の産生・分泌により血管新生作用を有する（4.2.1 参照）ことを考慮すると、本品投与後の良性又は悪性腫瘍等の発現リスクについて製造販売後に引き続き情報収集する必要があると考える。

#### 7.R.4.2 糖尿病網膜症・加齢黄斑変性の発現及び増悪について

申請者は、本品の血管新生作用に伴う糖尿病網膜症及び加齢黄斑変性の発現及び増悪について、以下のように説明している。

本申請で提出した7つの評価資料及び大阪大学臨床研究における糖尿病網膜症又は加齢黄斑変性及びそれらに関連すると思われる有害事象の発現状況は表 47 のとおりであり、本品群 12/209 例（5.7%）、プラセボ群 1/70 例（1.4%）に認められた。なお、TAO 一般臨床試験、先進医療 B 臨床研究、米国追加第Ⅱ相試験及び国際共同第Ⅲ相試験では、糖尿病網膜症又は加齢黄斑変性の発現は認められなかった。

表 47 糖尿病網膜症又は加齢黄斑変性の発現状況

	例数 (%)					
	ASO 第Ⅲ相試験		米国第Ⅱ相試験		米国第Ⅱb 相 パイロット試験	大阪大学臨床研究
	本品群 39 例	プラセボ群 15 例	本品群 78 例	プラセボ群 26 例	本品群 10 例	本品群 22 例
全事象	2 (5.1)	0	3 (3.8)	1 (3.8)	2 (20.0)	5 (22.7)
糖尿病網膜症	1 (2.6)	0	0	0	1 (10.0)	0
網膜渗出物	1 (2.6)	0	0	0	0	0
網膜出血	0	0	2 (2.6)	0	0	5 (22.7)
黄斑変性	0	0	1 (1.3)	0	0	0
網膜症	0	0	0	1 (3.8)	0	0
黄斑浮腫	0	0	0	0	1 (10.0)	0

本品群で糖尿病網膜症又は加齢黄斑変性が認められた患者のうち、本品との因果関係が否定されなかったのは、大阪大学臨床研究でみられた網膜出血の2例（両肢に本品が投与されたことから、同一症例を2例として算出）のみであり、本品投与から368日後に発現し非重篤と判断された。

次に、申請者は、糖尿病網膜症及び加齢黄斑変性の発現及び増悪リスクについて、以下のように説明している。

本申請で提出した7つの評価資料及び大阪大学臨床研究において、本品の投与前に非増殖性の糖尿病網膜症又は非滲出性の加齢黄斑変性が認められた患者は、それぞれ37例及び3例であったが、本品の投与後に増殖糖尿病網膜症又は新生血管型（滲出性）加齢黄斑変性に増悪した症例は認められなかった。

以上から、本品投与により糖尿病網膜症及び加齢黄斑変性が発症及び増悪する可能性は高くないと考える。

ただし、本申請で提出した7つの評価資料及び大阪大学臨床研究においては、事前の眼底又は網膜検査において増殖糖尿病網膜症又は滲出性加齢黄斑変性が認められた患者には本品又はプラセボの投与を行わないことと規定していたことから、増殖糖尿病網膜症又は滲出性加齢黄斑変性を有する患者に対する本品の投与経験はなく、本品投与により病状が増悪する可能性は否定できない。そのため、増殖糖尿病網膜症又は滲出性加齢黄斑変性を有する患者に対する本品の投与の可否は慎重に判断されるべきである旨を添付文書で注意喚起する。

機構は、以下のように考える。

現時点で、本品の投与経験は限られており、本品の投与と糖尿病網膜症及び加齢黄斑変性の発現及び増悪との関連については明らかではないと考える。ただし、本品の作用機序を考慮すると、本品投与による糖尿病網膜症及び加齢黄斑変性の発現及び増悪には注意が必要であり、製造販売後には、当該情報についても引き続き情報収集していく必要があると考える。

また、増殖糖尿病網膜症又は滲出性加齢黄斑変性を有する患者に対する本品の投与の経験はなく、本品の投与の可否は慎重に判断されるべきである旨を添付文書で注意喚起すると申請者の説明は了承可能と判断した。

#### 7.R.4.3 アナフィラキシー反応について

申請者は、アナフィラキシー反応について、以下のように説明した。

ASO 第Ⅲ相試験において、本品群で1/39例（2.6%）にアナフィラキシー反応が認められた。当該症例では、慢性膵炎の急性増悪に対して投与されたガベキサートメシル酸塩によるアナフィラキシー反応と考えられ、本品との因果関係は否定された。

機構は、以下のように考える。

本品投与に伴い臨床試験におけるアナフィラキシー反応の発現は上記の1例のみであり、現時点で本品との因果関係が否定されていない患者は認められていない。したがって、本品とアナフィラキシー反応との関連は不明であるものの、現時点では情報が限られているため、製造販売後も情報を収集していく必要があると考える。

以上の機構の判断に関しては、専門協議にて議論したい。

### 7.R.5 効能、効果又は性能について

申請者は、【効能、効果又は性能】及び<効能、効果又は性能に関連する使用上の注意>について、以下のように説明している。

ASO 第Ⅲ相試験、TAO 一般臨床試験及び先進医療 B 臨床研究等の結果から、標準的な薬物治療の効果が不十分で血行再建術の施行が困難な慢性動脈閉塞症（ASO 及びバージャー病）による重症下肢虚血により潰瘍を有する患者に対して、本品の一定の有効性が期待できる結果が得られた。

また、これらの臨床試験及び臨床研究から除外された、①下肢の広範囲に壊死組織が広がっている患者、及び抗菌剤による制御が不能で生命を脅かすような感染症を下肢に有している患者、②壊死を伴う潰瘍や骨や腱の露出を伴う病変のある患者、③担癌患者に対する本品の投与については、以下のように考える。

- ① 当該患者では、本品の投与により血流の回復が期待できず、感染の制御を優先すべきと考えることから、当該患者に対する本品の投与は推奨できない。
- ② 壊死組織や骨や腱の露出が残存している場合には、壊死組織や骨や腱の切除を行い、壊死組織や骨や腱の露出がない状態の潰瘍となれば本品の投与が推奨できると考える。
- ③ 本品が腫瘍を増悪させるとの臨床試験成績は得られていないものの、本品の作用機序を考慮すると、腫瘍を増悪させる可能性は否定できないと考える。特に本品の投与部位の近傍（筋肉及び周辺組織）に悪性腫瘍がある患者又はその既往歴のある患者に対する本品の投与は禁忌として設定し、本品の投与部位の近傍ではない部位に悪性腫瘍がある患者に対しては慎重に本品の投与の可否を検討する必要がある旨を添付文書で注意喚起する。

機構は、ASO 第Ⅲ相試験と米国第Ⅱ相試験及び米国追加第Ⅱ相試験の有効性の結果が相違した理由に対する申請者の説明から（7.R.3.3 参照）、患者の潰瘍の大きさが有効性に影響する可能性を踏まえ、本品による治療効果が期待できる潰瘍の大きさの上限を設定する必要性について説明を求めた。

申請者は、以下のように回答した。

本品が投与された潰瘍を有する日本人患者24例（ASO第Ⅲ相試験14例、TAO一般臨床試験9例、先進医療B臨床研究1例）における、潰瘍の大きさと有効性について検討した。本品の投与12週後に潰瘍の完全閉鎖が認められた13例の投与前の潰瘍の大きさは、 $\sqrt{\text{長径} \times \text{短径}}$  で1.4~27.9 mmと広く分布し、投与12週後に75%以下の潰瘍縮小がみられた8例の投与前の潰瘍の大きさは3.6~23.2 mm、投与12週後で潰瘍の大きさが不変あるいは拡大した3例の投与前の潰瘍の大きさは19.2~29.9 mmであった。以上より、潰瘍の大きさと本品との有効性との関連は不明であり、潰瘍の大きさで本品の対象患者を限定する必要はないと考える。

以上に加え、本品の投与に際しては添付文書の臨床成績の項の内容を十分に理解する必要があると考えることから、本品の申請【効能、効果又は性能】、及び<効能、効果又は性能に関連する使用上の注意>を下記のとおり設定した。

## 【効能、効果又は性能】

標準的な薬物治療の効果が不十分で血行再建術の施行が困難な慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症・バージャー病）における潰瘍の改善

### <効能、効果又は性能に関連する使用上の注意>

- 本品の投与に際しては、【臨床成績】の項の内容を熟知し、本品の有効性及び安全性を十分に理解した上で、適応患者の選択を行うこと。
- 骨や腱の露出を伴う潰瘍や壊死を有する患者の場合、壊死組織の除去や骨組織の部分切除等を行い、本品の投与を考慮すること。
- 骨や腱の露出を伴う潰瘍や壊死のみの創傷治療の目的として、本品の投与は推奨されない。
- 下肢の広範囲に壊死組織が広がっている患者や、抗菌剤による制御が不能で生命を脅かすような感染症を下肢に有している患者への本品の投与は推奨されない。

機構は、以下のように考える。

「7.R.2 臨床的位置付けについて」、「7.R.3 有効性について」及び「7.R.4 安全性について」の項での検討の結果より、本品は、標準的な薬物治療の効果が不十分で血行再建術の施行が困難な慢性動脈閉塞症（ASO及びバージャー病）による潰瘍を有する患者に対する治療選択肢として位置づけられると考える。以上より、【効能、効果又は性能】については申請者の設定のとおりとすることは可能であると判断した。

次に、現時点で潰瘍の大きさと本品の有効性との関連は不明であるとの申請者の説明は理解可能であり、本品の<効能、効果又は性能>において潰瘍の大きさを設定し対象患者を限定する必要はないと考える。しかしながら、臨床試験で本品の有効性が示された潰瘍よりも大きい潰瘍に対する本品の有効性は不明であり、当該潰瘍に対して本品が漫然と投与されることを回避する必要がある。したがって、本品の有効性が認められた潰瘍の大きさについては添付文書の臨床成績の項に記載した上で、<効能、効果又は性能に関連する使用上の注意>で、本品の投与に際しては、本品の有効性が認められた潰瘍の大きさについて【臨床成績】の項の内容を熟知し、本品の有効性及び安全性を十分に理解した上で、適応患者の選択を行う旨を注意喚起する必要があると考える。

さらに、安静時疼痛及び下肢切断の回避に対する本品の有効性が確立していない旨についても、<効能、効果又は性能に関連する使用上の注意>で注意喚起する必要があると考える。

また、以下の点を考慮すると、壊死を伴う潰瘍や骨や腱の露出を伴う病変のある患者では、当該壊死組織等を除去した上であれば治療対象となる潰瘍に対する本品の投与が推奨できる、との申請者の説明は受け入れられず、当該患者への投与は現時点で推奨できないと考える。したがって、当該患者に対しては本品を投与しないように<効能、効果又は性能に関連する使用上の注意>で注意喚起する必要があると判断した。

- 壊死を伴う潰瘍や骨や腱の露出を伴う病変のある患者を対象とした米国第Ⅱ相試験では本品の有効性が認められていないこと。
- 国内の臨床試験及び臨床研究では壊死を伴う潰瘍や骨や腱の露出を伴う病変のある患者が除外され、壊死組織等を除去した上での本品の投与経験はなく、当該患者に対する有効性及び安全性を示す臨床試験成績が得られていないこと。

以上より、【効能、効果又は性能】及び<効能、効果又は性能に関連する使用上の注意>を以下のように設定することが適切であると判断した。

**【効能、効果又は性能】**

標準的な薬物治療の効果が不十分で血行再建術の施行が困難な慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症及びバージャー病）における潰瘍の改善

<効能、効果又は性能に関連する使用上の注意>

- 本品の安静時疼痛及び下肢切断に対する有効性は確立していない。
- 本品の投与に際しては、本品の有効性が確認された潰瘍の大きさ等について【臨床成績】の項の内容を熟知し、本品以外の治療の実施についても慎重に検討し、適応患者の選択を行うこと。
- 骨や腱の露出を伴う潰瘍や壊死を有する患者に対して本品を投与しないこと。
- 下肢の広範囲に壊死組織が広がっている患者や、抗菌剤による制御が不能で生命を脅かすような感染症を下肢に有している患者に対して本品を投与しないこと。

以上の機構の判断に関しては、専門協議にて議論したい。

#### 7.R.6 用法及び用量又は使用方法について

申請者は、本品の【用法及び用量又は使用方法】及び<用法及び用量又は使用方法に関連する使用上の注意>について、以下のように説明している。

**【用法及び用量又は使用方法】**

本品を日局生理食塩液で希釈し、投与対象肢の虚血部位に対して1カ所あたり0.5 mgを8カ所に筋肉内投与する（1回総計4 mg）。希釈後の1カ所あたりの薬液量は3 mLとし、投与対象筋が小さい場合には2 mLまで減じてよい。投与部位は虚血の状態により決定する。投与は4週間の間隔をあけて2回行う。なお、臨床症状が残存する場合は、3回投与も可能とする。

<用法及び用量又は使用方法に関連する使用上の注意>

- 投与前に、血管造影写真あるいは超音波エコーを用いて投与部位を検討し、投与の際には、超音波エコーを用いて薬液が確実に筋肉内に注入されたことを確認しながら投与することが望ましい。

【用法及び用量又は使用方法】の設定根拠は、以下のとおりである。

本品の1回投与量、投与部位数、投与間隔及び投与経路について、以下の理由等から、ASO 第Ⅲ相試験、TAO 一般臨床試験及び先進医療 B 臨床研究において1カ所あたり0.5 mg ずつ8カ所にQ4Wで筋肉内投与することと設定した。その結果、本品の一定の有効性が期待できる結果が得られた。

- ウサギ下肢虚血モデルを用いた非臨床試験において、hHGF プラスミドを1カ所あたり0.5 mg ずつ4カ所に投与した際に血流量の増加が認められたとの報告（Gene Ther 2001; 8: 181-9）があること。
- 重症虚血肢を有する患者に VEGF165 プラスミドの有効性等を検討する目的で実施された海外臨床研究において、当該プラスミドを1カ所あたり0.5 mg ずつ4カ所にQ4Wで筋肉内投与した際に血管新生が認められたとの報告（Circulation 1998; 97: 1114-23）があること。さらに、HGFによる血管新生作用は、VEGF165による血管新生作用よりも強力であるとのウサギ下肢虚血モデルでの報告（Circulation 1998; 97: 381-90）があること。

- 投与部位数については、大阪大学臨床研究の第二ステージにおいて、本品を1カ所あたり0.5mgずつ4又は8カ所に筋肉内投与した際の有効性及び安全性について、4カ所と8カ所の間に明確な差異は認められなかった。しかしながら、本品によるhHGFの発現範囲は投与部位の近傍に局限すると考えられ、4カ所よりも8カ所に投与することで本品のより高い有効性が期待できると考えること。
- 投与間隔については、ウサギを用いた非臨床試験では、組織中のhHGF濃度は、投与後7日をピークとし、投与後28日にはほぼ消失することが示されていること（4.3.3参照）から、血管新生作用が維持されるように、筋肉中hHGFを補充するために初回投与4週後に再投与することが有用であると考えられたこと。
- 投与液量については、hHGF発現量は投与液量の増加により上昇すると考えられるため、ヒトの下肢骨格筋へ臨床的に投与可能な最高液量として、1カ所あたり3mLと設定した。ただし、足部や下腿遠位筋などの対象筋が小さい場合を考慮し、2mLまで減じることを可とした。

本品の投与回数については、ASO 第Ⅲ相試験では2回と設定していたが、TAO 一般臨床試験及び先進医療 B 臨床研究では臨床症状が残存する等の場合には3回目の投与を許容することとした。その結果、3回目の投与を行った患者は、TAO 一般臨床試験及び先進医療 B 臨床研究で6例（TAO 一般臨床試験2及び先進医療 B 臨床研究4例）であり、有効性の解析対象となったのは3症例（TAO 一般臨床試験1例、先進医療 B 臨床研究2例）であった。当該3例において、3回目投与後に症状の明確な悪化が認められた患者はなく、3回目の投与が症状の安定に寄与することが期待され、3回目の投与を行うことには一定の臨床的な意味があると考えられる。

さらに、ASO 第Ⅲ相試験、TAO 一般臨床試験及び先進医療 B 臨床研究では、血管造影、CTA、MRA又は超音波検査を行い、動脈の閉塞部位又は側副血行路の血流が減弱する部位を同定し、閉塞部位（前脛骨動脈、後脛骨動脈又は腓骨動脈の血流支配領域）毎に設定された筋肉内に、本品が筋肉内に確実に投与されていることを超音波で確認しながら投与することと設定していたことから、当該内容を＜用法・用量又は使用方法に関連する使用上の注意＞の項で設定した。

機構は、以下のように考える。

本品の1カ所あたりの投与量を0.5mgとし、合計8カ所（総計4mg）とすることについて、他の用法・用量は検討されていないことから、最適か否かは不明であると考えられる。しかしながら、ASO 第Ⅲ相試験等から潰瘍に対する本品の一定の有効性が期待でき、安全性についても許容可能であると考えられることから、本品の1カ所あたりの投与量を0.5mgとし、合計8カ所（総計4mg）とすることについては受入れ可能と判断した。

また、本品の3回目の投与については、3回の投与が行われた患者は限られておりかつ3回投与の有効性を示す明確な試験成績がないことから、3回目の投与を推奨する根拠は薄弱であり、本品の投与回数は原則2回であると考えられる。しかしながら、本品の投与対象となる潰瘍に対しては他の有効な治療法が確立していないことを考慮すると、3回目の投与の余地を残すことには一定の理解が可能であると考えられる。

さらに、本品の投与部位の選択については、本品の投与に際して重要な情報であることから、ASO 第Ⅲ相試験、TAO 一般臨床試験及び先進医療 B 臨床研究における投与部位の決定方法の詳細を添付文書

の臨床成績の項に記載した上で、当該決定方法を参考に本品の投与を行う旨を＜用法及び用量又は使用方法に関連する使用上の注意の項＞で注意喚起する必要があると判断した。

以上から、本品の用法及び用量又は使用方法、並びに用法及び用量又は使用方法に関連する使用上の注意の項について、以下のように記載整備して設定することは可能であると判断した。

#### 【用法及び用量又は使用方法】

通常、成人には、投与対象肢の虚血部位に対して1カ所あたり本品0.5 mgを8カ所に4週間間隔で2回筋肉内投与する（1回総計4 mg）。なお、臨床症状が残存する場合には、2回目投与の4週後に3回目の投与を行うこともできる。また、投与に際しては、日局生理食塩液で希釈し、希釈後の1カ所あたりの薬液量は3 mLとし、投与対象筋が小さい場合には2 mLまで減じてよい。

＜用法及び用量又は使用方法に関連する使用上の注意＞

【臨床成績】の項を参考に、血管造影、CTA、MRA、超音波検査等の画像診断により虚血領域を同定した上で投与部位を決定し、投与の際には、薬液が確実に筋肉内に注入されたことを超音波検査で確認しながら行うこと。

以上の機構の判断に関しては、専門協議にて議論したい。

#### 7.R.7 本品の投与を行う医療機関及び医師の条件について

機構は、本品の投与手技は筋肉内投与であり、高度な技術を要するものではないが、以下の理由から、本品の投与を行う医療機関及び医師の条件を設定する必要があると考える。

- 本品の投与部位の決定においては、血管造影、CTA、MRA、超音波検査等の画像診断を行い、動脈の閉塞部位又は側副血行路の血流が減弱する部位を同定し、閉塞部位（前脛骨動脈、後脛骨動脈又は腓骨動脈の各血流支配領域）毎に設定された投与方法で本品を投与する必要がある（7.R.6 参照）、本品の投与部位の決定には虚血肢の画像診断に十分な知識と経験を有する医師の判断が必要であること。
- 重症虚血肢の治療において潰瘍の創傷管理が重要であること、また、対象となる標準的な薬物治療の効果が不十分で血行再建術の施行が困難な患者を選択するためには複数の診療科により慎重かつ適切な対応が求められることから、複数の診療科が連携して診療可能な体制が不可欠であると考えらるること。

以上から、機構は、本品の投与を行う医療機関及び医師の基準を策定するよう申請者に求め、申請者は以下のように基準を提示した。

#### 【本品の投与を行う医療機関及び医師の基準】

本品の有効性及び安全性を十分に理解し、重症化した慢性動脈閉塞症（ASO 及びバージャー病）の診断・治療に十分な専門的知識・経験を有する医師（日本循環器学会、日本脈管学会、日本下肢救済・足病学会、日本心血管インターベンション学会、日本心臓血管外科学会、日本血管外科学会等の慢性動脈閉塞症を専門に扱う学会の専門医）が在籍し、創傷管理を複数診療科で連携して実施している施設

機構は、申請者の説明を了承した。

以上の機構の判断に関しては、専門協議にて議論したい。

## 8 リスク分析に関する資料及び機構における審査の概略

### 8.1 製造販売後の検討事項について

申請者は、本品の製造販売後調査について以下のとおり説明している。

現時点までに得られている本品の有効性及び安全性に関する情報は限られていることから、製造販売後における本品の有効性及び安全性のさらなる評価を目的として、本品を投与する患者と本品を使用しない患者の情報とを比較する使用成績比較調査（表 48）を実施する。なお、使用成績比較調査のデータは、一般社団法人日本再生医療学会が管理する再生医療等データ登録システム（National Regenerative Medicine Database : NRMD）に登録される。

表 48 使用成績比較調査の骨子（案）

目的	本品の有効性及び安全性を評価すること
調査方法	全例調査方式
対象患者	FontaineⅣ度の患者で以下に該当する患者 本品群：標準的な薬物治療の効果が不十分で血行再建術の施行が困難な慢性動脈閉塞症で、本品が投与された全患者 対照群：血行再建術の施行が困難と判断された、保存的治療を受けている慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症・パージャヤー病）で、本品が投与されない患者
観察期間	本品の投与開始から 24 カ月間（投与中止あるいは脱落した場合は、投与中止・脱落時まで）
有効性の調査項目	<主要評価項目> <ul style="list-style-type: none"> <li>本品投与群では本品投与 12 週後及び比較対照群では登録 12 週後における評価対象潰瘍（本品投与時又は登録時の壊死を伴わない最大潰瘍）の完全閉鎖率</li> </ul> <副次評価項目> <ul style="list-style-type: none"> <li>本品投与群では本品投与 12 週後及び比較対照群では登録 12 週後における潰瘍径の変化（変化量及び変化率）</li> <li>本品投与群では本品投与 12 週後及び比較対照群では登録 12 週後における潰瘍総数・総径</li> <li>下肢切断及び血行再建術の有無、並びに生命予後</li> </ul>
有効性の評価方法	<主要解析> <ul style="list-style-type: none"> <li>ITT 集団での傾向スコアを補正因子とした潰瘍の完全閉鎖率のロジスティック回帰</li> </ul> <副次解析> <ul style="list-style-type: none"> <li>傾向スコアを共変量とした潰瘍径変化の共分散分析</li> <li>傾向スコアの逆確率重み付け法又は傾向スコアマッチング法を用いた潰瘍の完全閉鎖率の比較</li> </ul>
安全性の調査項目	有害事象（投与に伴う反応（アナフィラキシー様反応）、投与部位における血管腫、悪性腫瘍の進行の促進、並びに増殖糖尿病網膜症又は滲出性加齢黄斑変性の増悪を含む）の有無及びその発現状況
解析対象	ITT 集団として、本調査に組み入れられた全例を有効性解析対象集団とする。ITT 集団のうち、以下に示す症例を除外した集団を FAS とする。 本品群：本品投与 12 週後までに評価に影響を与えるような介入がなされた症例 対照群：閉塞性動脈硬化症・パージャヤー病以外の患者
目標症例数	本品投与群 120 例、比較対照群 120 例（いずれも登録期間を 3 年と設定した際の予定数）  ASO 第Ⅲ相試験、TAO 一般臨床試験、先進医療 B 臨床研究及び大阪大学臨床研究の統合解析において、治験製品の投与から 12 週間後の本品群及びプラセボ群で潰瘍の完全閉鎖は、それぞれ 13/27 例（48.1%）及び 1/6 例（16.7%）で認められた。 例えば、第一種の過誤確率を両側 5%、検出力 80% として本品群と比較対照群を 1:1 でマッチングして比較した場合の必要症例数は、各群 41 例となることから、脱落例を考慮しても、上記の目標症例数で、本品群と比較対照群との間で本品の有効性及び安全性の比較が可能となる。

## 8.R 機構における審査の概略

機構は、以下のように考える。

現時点で、本品の有効性が検証されたとは言えないこと、本品の投与経験が限られており本品の安全性に関する情報も限られていることから、製造販売後には全例調査方式で使用成績比較調査を実施し、本品の有効性の検証及び安全性情報の収集を行う必要があると判断した。

使用成績比較調査については、申請者の計画では目標解析症例数及び有効性の評価方法が明確に設定されていないことから、これらについて改めて検討する必要があると考える。また、各症例の観察期間については、本品が遺伝子治療用製品であること及び本品投与群の長期予後に関する情報が乏しいことから、各症例の安全性の情報、生存率及び下肢切断回避率について、2年目以降も調査終了まで情報収集することが適切と考える。

さらに、バージャー病においては対照群と比較したデータがないことから、追加として、ASO及びバージャー病の疾患別の評価が必要であると考えます。

製造販売後の使用成績調査の詳細については、本品の有効性及び安全性評価に関する専門協議での議論も踏まえた上で最終的に判断したい。

## 9 機構による承認申請書に添付すべき資料に係る適合性調査結果及び機構の判断

### 9.1 適合性書面調査結果に対する機構の判断

医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律の規定に基づき承認申請書に添付すべき資料に対して書面による調査を実施した。その結果、提出された承認申請資料に基づいて審査を行うことについて支障はないものと機構は判断した。

### 9.2 GCP 実地調査結果に対する機構の判断

医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律の規定に基づき承認申請書に添付すべき資料（CTD 5.3.5.1-1.1<sup>12)</sup>、CTD 5.3.5.1-1.2<sup>12)</sup>、CTD 5.3.5.1-2.1<sup>12)</sup>、CTD 5.3.5.2-2.1<sup>12)</sup>、CTD 5.3.5.2-2.2<sup>12)</sup>、CTD 5.3.5.2-3.1<sup>13)</sup>）に対してGCP実地調査を実施した。その結果、全体としては試験がGCPに従って行われていたと認められたことから、提出された承認申請資料に基づいて審査を行うことについて支障はないものと機構は判断した。なお、試験全体の評価には大きな影響を与えないものの、一部の実施医療機関及び治験依頼者において以下の事項が認められたため、当該実施医療機関の長及び治験依頼者に改善すべき事項として各々通知した。

<改善すべき事項>

#### 実施医療機関

- 実施医療機関の長が、1年に1回以上、当該実施医療機関において試験を継続して行うことの適否について審査委員会の意見を聴いていなかった
- 治験の実施に係る業務の一部委託に関する契約書の記載不備
- 治験実施計画書からの逸脱（血管造影実施時の造影剤条件の不遵守）

<sup>12)</sup> 本品目は再生医療等製品の区分で申請されたが、治験開始時点において再生医療等製品 GCP 省令の施行前であったため、当該治験は医薬品 GCP 省令が適用されている。

<sup>13)</sup> ICH-E6 (R1) ガイドライン (ICH-GCP) 等に準拠して実施された先進医療 B 臨床研究に係る資料である。

## 治験依頼者

- 監査に関する計画書及び業務に関する手順書に従った監査を実施していなかった

## 10 審査報告 (1) 作成時における総合評価

提出された資料から、本品目の標準的な薬物治療の効果が不十分で血行再建術の施行が困難な慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症・バージャー病）における潰瘍の改善に対する一定の有効性は期待でき、認められたベネフィットを踏まえると安全性は許容可能と考える。本品の有効性及び安全性に関する情報は現時点で限定的ではあるものの、慢性動脈閉塞症患者に対する治療の選択肢の一つとして本品を臨床現場に提供する意義はあるものと考え。

専門協議での検討を踏まえて特に問題がないと判断できる場合には、製造販売後、一定の期限までに引き続き本品の有効性の確認及びさらなる安全性の情報収集を行うこと等の医薬品医療機器法第 23 条の 26 に基づく条件及び期限を付して本品を承認して差し支えないと考える。なお、同条に基づく期限は、製造販売後調査の計画内容（販売準備期間、症例登録期間、各症例の観察期間、申請準備期間等）を踏まえ、専門協議の議論を踏まえて判断したい。

以上

## 審査報告 (2)

平成 31 年 2 月 1 日

### 申請品目

[販 売 名]                    コラテジェン筋注用 4 mg  
[一般的名称]                ベペルミノゲン ペルプラスミド  
[申 請 者]                    アンジェス株式会社  
[申請年月日]                平成 30 年 1 月 22 日

[略語等一覧]  
別記のとおり。

### 1. 審査内容

専門協議及びその後の機構における審査の概略は、以下のとおりである。なお、本専門協議の専門委員は、本品目についての専門委員からの申し出等に基づき、「医薬品医療機器総合機構における専門協議等の実施に関する達」（平成 20 年 12 月 25 日付け 20 達第 8 号）の規定により、指名した。

#### 1.1 有効性について

機構は、ASO 第Ⅲ相試験、TAO 一般臨床試験及び先進医療 B 臨床研究の成績に基づき、標準的な薬物治療の効果が不十分で血行再建術の施行が困難な重症虚血肢を有する ASO 患者及びバージャー病患者（骨や腱の露出を伴う潰瘍や壊死を有する患者は除外された）の潰瘍に対する本品の一定の有効性は期待できると判断した。ただし、現時点で得られている本品の有効性に関する情報は極めて限られていることから、製造販売後も引き続き本品の有効性について評価する必要があると判断した（審査報告(1)の「7.R.3 有効性について」）。

専門協議において、以上の機構の判断は専門委員により支持された。また、専門委員からは、以下の意見が出された。

- 上記の臨床試験及び臨床研究において潰瘍の完全閉鎖が認められた症例は限定的であり、また対象とならなかった病態の患者もいることから、重症虚血肢に対する本品の有効性がすべての患者に認められたというわけではなく、本品の有効性の限界を理解した上で本品の適応患者の選択を行う必要がある。したがって、国内臨床試験及び臨床研究において、本品の有効性が認められた患者のみではなく、有効性が認められなかった患者を含め、各患者における血管の閉塞部位、本品の投与部位と潰瘍の大きさの推移について、資材等を用いて医療現場に情報提供することが望ましい。

機構は、本品について、重症虚血肢に対する真のエンドポイントである下肢切断の回避に対する有効性は示されておらず、潰瘍閉鎖に対する効果も限定的であることから、上記の資材を作成し、医療現場に情報提供するよう申請者に求め、申請者は適切に対応したことからこれを了承した。

## 1.2 安全性について

機構は、本品の作用機序等から想定される血管新生促進に関連する有害事象（良性又は悪性新生物等の発現リスク、糖尿病網膜症・加齢黄斑変性の発現及び増悪のリスク）及びアナフィラキシー反応の発現状況を確認した結果、重症下肢虚血患者に対する本品の安全性は忍容可能と判断した。ただし、現時点で得られている安全性に関する情報は限られているため、製造販売後も引き続き情報収集し、得られた情報を適切に医療現場に提供する必要があると考える。また、投与部位の筋肉及び周辺組織に悪性腫瘍のある患者又はその既往歴のある患者には投与しないこと、増殖糖尿病網膜症又は滲出性加齢黄斑変性を有する患者に対する本品の投与の可否は慎重に判断することを添付文書で注意喚起する必要があると判断した（審査報告（1）の「7.R.4 安全性について」）。

専門協議において、以上の機構の判断は専門委員により支持された。

## 1.3 効能、効果又は性能について

機構は、審査報告（1）の「7.R.5 効能、効果又は性能について」の項における検討の結果、本品の【効能、効果又は性能】及び<効能、効果又は性能に関連する使用上の注意>を以下のように設定することが適切であると判断した。

### 【効能、効果又は性能】

標準的な薬物治療の効果が不十分で血行再建術の施行が困難な慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症及びバージャー病）における潰瘍の改善

<効能、効果又は性能に関連する使用上の注意>

- 本品の安静時疼痛及び下肢切断の回避に対する有効性は確立していない。
- 本品の投与に際しては、本品の有効性が確認された潰瘍の大きさ等について【臨床成績】の項の内容を熟知し、本品以外の治療の実施についても慎重に検討した上で、適応患者の選択を行うこと。
- 骨もしくは腱の露出を伴う潰瘍を有する患者又は壊死を有する患者に対して本品を投与しないこと。
- 下肢の広範囲に壊死組織が広がっている患者や、抗菌剤による制御が不能で生命を脅かすような感染症を下肢に有している患者に対して本品を投与しないこと。

専門協議において、以上の機構の判断は専門委員により支持された。

機構は、上記のように【効能、効果又は性能】及び<効能、効果又は性能に関連する使用上の注意>を設定するよう申請者に指示し、申請者は適切に対応したことからこれを了承した。

## 1.4 用法及び用量又は使用方法について

機構は、審査報告（1）の「7.R.6 用法及び用量又は使用方法について」の項における検討の結果、本品の【用法及び用量又は使用方法】及び<用法及び用量又は使用方法に関連する使用上の注意>を以下のように設定することが適切であると判断した。

### 【用法及び用量又は使用方法】

通常、成人には、投与対象肢の虚血部位に対して1カ所あたり本品0.5 mgを8カ所に4週間間隔で2回筋肉内投与する（1回総計4 mg）。なお、臨床症状が残存する場合には、2回目投与の4週後に3回

目の投与を行うこともできる。また、投与に際しては、日局生理食塩液で希釈し、希釈後の1カ所あたりの薬液量は3 mLとし、投与対象筋が小さい場合には2 mLまで減じてよい。

<用法及び用量又は使用方法に関連する使用上の注意>

【臨床成績】の項を参考に、血管造影、CTA、MRA、超音波検査等の画像診断により虚血領域を同定した上で投与部位を決定し、投与の際は、薬液が確実に筋肉内に注入されたことを超音波検査で確認しながら行うこと。

専門協議において、以上の機構の判断は専門委員により支持された。また、専門委員からは、以下の意見が出された。

- 本品の投与部位の選択及び投与方法は本品の投与に際して重要な情報であることから、投与部位及び投与方法に関する情報提供資料の作成が必要である。

機構は、上記の資料を作成し、医療現場に情報提供するよう申請者に求め、申請者は適切に対応したことからこれを了承した。

### 1.5 本品の投与を行う医療機関及び医師の条件について

機構は、審査報告(1)の「7.R.7 本品の投与を行う医療機関及び医師の条件について」の項における検討の結果、申請者が説明した以下の本品の投与を行う医療機関及び医師の基準を了承した。

#### 【本品の投与を行う医療機関及び医師の基準】

本品の有効性及び安全性を十分に理解し、重症化した慢性動脈閉塞症（ASO及びバージャー病）の診断・治療に十分な専門的知識・経験を有する医師（日本循環器学会、日本脈管学会、日本下肢救済・足病学会、日本心血管インターベンション学会、日本心臓血管外科学会、日本血管外科学会等の慢性動脈閉塞症を専門に扱う学会の専門医）が在籍し、創傷管理を複数診療科で連携して実施している施設

専門協議において、本品を使用する医療機関及び医師の条件に対し、専門委員より申請者からの提案に加えて以下の意見が出された。

- 診断・治療に十分な専門的知識・経験を有する医師として、慢性動脈閉塞症を専門に扱う専門学会の「専門医」とされていることについて、学会によっては「専門医」という用語が用いられていない場合も考慮し、修正する必要がある。
- 投与部位の選択方法等を含む、使用方法に関する講習会の受講等の規定が必要である。

機構は、上記の専門協議での意見を踏まえた上で、本品の投与を行う医療機関及び医師の条件、本品の使用方法に関する講習会の受講等の規定について再検討するよう申請者に求めた。申請者はこれらに適切に対応し、本品の投与を行う医療機関及び医師の基準を以下のとおりとする旨回答した。

#### 【本品の投与を行う医療機関及び医師の基準】

本品の有効性及び安全性を十分に理解し、重症化した慢性動脈閉塞症（ASO及びバージャー病）の診断・治療に十分な専門的知識・経験を有し、製造販売業者が実施する講習会等により本品に関する必要

な説明を受けた医師（日本循環器学会、日本脈管学会、日本下肢救済・足病学会、日本フットケア学会、日本心血管インターベンション学会、日本心臓血管外科学会、日本血管外科学会の慢性動脈閉塞症を専門に扱う学会からの認定資格を所有する医師）が在籍し、創傷管理を複数診療科で連携して実施している施設

機構は、以上について了承した。

#### 1.6 製造販売後承認条件評価計画（案）について

機構は、審査報告（1）の「8.1 製造販売後の検討事項について」の項における検討の結果、製造販売後の調査及び調査計画について以下の点を考慮して立案する必要があると判断した。

- 現時点で本品の投与経験は限られ、本品の有効性が検証されたとはいえないことから、製造販売後には全例調査方式で製造販売後承認条件評価を実施し、本品の有効性の検証及び安全性情報の収集を行う必要がある。
- 観察期間については、本品が遺伝子治療用製品であること及び本品投与群の長期予後に関する情報が乏しいことから、安全性の情報、生存率及び下肢切断回避率について、2年目以降も調査終了まで情報収集することが適切である。
- 目標解析症例数が明確ではないため、臨床的意義のある潰瘍の完全閉鎖率の群間差を考察した上で、目標解析症例数を明確に設定する必要がある。
- 有効性の評価方法として、共変量である傾向スコアを明確に設定する必要がある。

専門協議において、以上の機構の判断は専門委員により支持された。なお、専門委員から、副次評価項目として血行動態の指標を設定すること、並びにフットケアの内容及び実施状況を調査項目として設定することが必要である旨の意見が出された。

機構は、上記の専門協議での議論を踏まえ、製造販売後承認条件評価計画を再検討するよう申請者に求めた。

申請者は、表 49 に示す製造販売後承認条件評価計画の骨子（案）を提出し、機構及び専門協議での意見に対応すると説明した。

機構は、製造販売後承認条件評価計画（案）及び以上の申請者の説明を了承した。

表 49 製造販売後承認条件評価計画（案）

目的	本品の有効性及び安全性を評価すること
調査方法	全例調査方式
対象患者	FontaineIV度の患者で以下に該当する患者 本品群：標準的な薬物治療の効果が不十分で血行再建術の施行が困難な慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症及びバージャー病）で、本品が投与された全患者 対照群：標準的な薬物治療の効果が不十分で血行再建術の施行が困難な慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症及びバージャー病）で、本品が投与されない患者
観察期間	本品群：最長5年間 対照群：登録後12週間
有効性の調査項目	<主要評価項目> <ul style="list-style-type: none"> <li>本品群では本品投与12週後、対照群では登録12週後における評価対象潰瘍（本品投与時又は登録時の壊死を伴わない最大潰瘍）の完全閉鎖率</li> </ul> <副次評価項目> <ul style="list-style-type: none"> <li>本品群では本品投与12週後、対照群では登録12週後における潰瘍の大きさ（√（長径×短径））の変化（変化量及び変化率）</li> <li>本品群では本品投与12週後、対照群では登録12週後における潰瘍総数・総径</li> <li>本品群では本品投与12週後、対照群では登録12週後における血行動態指標</li> <li>本品群での下肢切断及び生命予後</li> </ul>
有効性の評価方法	<主要解析> <ul style="list-style-type: none"> <li>ITT 集団での傾向スコアを用いた重み付け推定法による潰瘍の完全閉鎖率のロジスティック回帰</li> </ul> <副次解析> <ul style="list-style-type: none"> <li>傾向スコアを共変量とした潰瘍の完全閉鎖率のロジスティック回帰及び潰瘍の大きさ（√（長径×短径））の共分散分析</li> <li>傾向スコアマッチングにより抽出された集団における潰瘍の完全閉鎖率の Fisher 直接確率法での比較</li> </ul> 傾向スコアの推定には、以下の項目を用いる。 性別、年齢、病型、評価潰瘍の本品投与前又は登録前の大きさ（√（長径×短径））、膝下動脈罹患枝数、本品投与前又は登録前の血行再建術の有無、BMI、糖尿病神経障害の有無、透析の有無、血清アルブミン値、評価潰瘍の局所感染の有無、フットケアの有無、独歩の可否、喫煙習慣
安全性の調査項目	有害事象（投与に伴う反応（アナフィラキシー様反応）、投与部位における血管腫、悪性腫瘍の進行の促進、並びに増殖糖尿病網膜症又は滲出性加齢黄斑変性の増悪を含む）の有無及びその発現状況
解析対象	ITT 集団として、本調査に組み入れられた全例を有効性解析対象集団とする。ITT 集団のうち、本品群では本品投与12週後まで、対照群では登録12週後までに評価に影響を与えるような介入（血行再建術、創傷の集中的治療、下肢切断等）がなされた症例を除外した集団を FAS とする。
目標症例数	本品群 120 例、対照群 80 例  ASO 第Ⅲ相試験、TAO 一般臨床試験、先進医療 B 臨床研究及び大阪大学臨床研究の統合解析において、治験製品の投与から12週間後の本品群及びプラセボ群での潰瘍の完全閉鎖は、それぞれ13/27例（48.1%）及び1/6例（16.7%）に認められた。 潰瘍の完全閉鎖率を本品群で■%、対照群で■%と推定し、第一種の過誤確率を両側5%、検出力80%とすると、両群差（■%）を検証するのに必要な例数は本品群■例、対照群■例となる。上記の目標症例数に対して両群10%の脱落例を考慮すると、本品群108例、対照群72例となる。当該例数では、本品群と対照群のそれぞれの改善閉鎖率■%、■%の差を検出力■%で検証可能となる。

## 1.7 その他

### 1.7.1 品質について

審査報告(1)の作成時点で申請者に対応を求めていた、目的物質由来不純物を管理するための純度試験について（審査報告(1)の「3.R.1 目的物質由来不純物の管理について」）、申請者は以下のように説明した。

- 申請時に均一性試験として設定していた HPLC 法について分析法バリデーションを実施した結果、当該試験が本品中の OC 体及び LN 体含量の管理を行う上で適切な試験性能を有する試験方法であることを確認した。
- 当該試験法を整備し、原薬及び製品の純度試験として設定する。

また、申請者は、製品の規格にエンドトキシンを設定すると説明した。

機構は、申請者の説明を了承し、提出された資料及び以上の検討から、原薬及び製品の品質は適切に管理されていると判断した。

### 1.7.2 指定再生医療等製品の要否について

生物由来製品及び特定生物由来製品並びに指定再生医療等製品の指定に関し（平成 26 年 11 月 5 日付け薬食審査発 1105 第 1 号及び薬食審査発 1105 第 2 号）、本品の原薬及び製品の製造工程でヒト又は動物に由来する原料等は用いられていないことから、指定再生医療等製品への指定は不要と判断した。

## 2. 審査報告 (1) の訂正事項

審査報告 (1) の下記の点について、以下のとおり訂正するが、本訂正後も審査報告 (1) の結論に影響がないことを確認した。

頁	行	訂正前	訂正後
7	表 2	下表のとおり	下表のとおり
24	23、33	20■■年■■月■■日	20■■年■■月■■日
27	5	TBPI の測定は、44 例中 8 例（各群 4 例）で行われ、	TBPI の測定は、40 例中 8 例（各群 4 例）で行われ、

<訂正前>

表 2 原薬の主要な安定性試験の概略

	ロット数	製法	保存条件	保存形態	実施期間
長期保存試験	7 <sup>a</sup>	D*1 <sup>b</sup> 製法	-70±10℃	1.8 mL ポリプロピレン製凍結用チューブ	■■ カ月
	1	D*2 <sup>b</sup> 製法			
	3	申請製法	-80±10℃	30 mL ポリプロピレン製ボトル	■■ カ月 <sup>c</sup>
加速試験	1	D*1 <sup>b</sup> 製法	25±2℃ 60%RH±5%RH	1.8 mL ポリプロピレン製凍結用チューブ	■■ カ月
	1	D*2 <sup>b</sup> 製法			
	4	申請製法			

a：うち 1 ロットは 24 カ月まで実施され、36 カ月以降は中止された。b：D\*製法における製法変更前後の製法をそれぞれ D\*1 製法、D\*2 製法とよぶ。c：安定性試験継続中。

<訂正後>

表2 原薬の主要な安定性試験の概略

	ロット数	製法	保存条件	保存形態	実施期間
長期保存試験	7 <sup>a</sup>	D*1 <sup>b</sup> 製法	-70±10℃	1.8 mL ポリプロピレン製凍結用チューブ	■ カ月
	1	D*2 <sup>b</sup> 製法			
	1	申請製法	-70±10℃	1.8 mL ポリプロピレン製凍結用チューブ	■ カ月 <sup>c</sup>
	3	申請製法	-80±10℃	30 mL ポリプロピレン製ボトル	■ カ月 <sup>c</sup>
加速試験	1	D*1 <sup>b</sup> 製法	25±2℃ 60%RH±5%RH	1.8 mL ポリプロピレン製凍結用チューブ	■ カ月
	1	D*2 <sup>b</sup> 製法			
	4	申請製法			

a : うち1ロットは24カ月まで実施され、36カ月以降は中止された。b : D\*製法における製法変更前後の製法をそれぞれD\*1製法、D\*2製法とよぶ。c : 安定性試験継続中。

### 3. 総合評価

以上の審査を踏まえ、機構は、下記の承認条件を付した上で、効能、効果又は性能、並びに用法及び用量又は使用方法を以下のように整備し、添付文書による注意喚起及び適正使用に関する情報提供が製造販売後に実施されるのであれば、医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律第23条の26に基づく条件及び期限を付して本品を承認して差し支えないと判断する。また、同条に基づく期限は5年が適当であり、指定再生医療等製品への指定は不要と判断する。

#### [効能、効果又は性能]

標準的な薬物治療の効果が不十分で血行再建術の施行が困難な慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症及びバージャー病）における潰瘍の改善

#### [用法及び用量又は使用方法]

通常、成人には、投与対象肢の虚血部位に対して1カ所あたり本品0.5mgを8カ所に4週間間隔で2回筋肉内投与する（1回総計4mg）。なお、臨床症状が残存する場合には、2回目投与の4週後に3回目の投与を行うこともできる。また、投与に際しては、日局生理食塩液で希釈し、希釈後の1カ所あたりの薬液量は3mLとし、投与対象筋が小さい場合には2mLまで減じてよい。

#### [承認条件]

- 重症化した慢性動脈閉塞症に関する十分な知識・治療経験を持つ医師のもとで、創傷管理を複数診療科で連携して実施している施設で本品を使用すること。
- 条件及び期限付承認後に改めて行う本品の製造販売承認申請までの期間中は、本品を使用する症例全例を対象として製造販売後承認条件評価を行うこと。

以上

## [略語等一覧]

略語	英語	日本語
ABPI	Ankle brachial pressure index	上腕・足関節血圧比
AEC	Anion exchange chromatography	陰イオン交換クロマトグラフィー
AFP	Alpha-fetoprotein	$\alpha$ -フェトプロテイン
AGE	Agarose gel electrophoresis	アガロースゲル電気泳動
ALP	Alkaline phosphatase	アルカリフォスファターゼ
ASO	Arteriosclerosis obliterans	閉塞性動脈硬化症
AUC	Area under the drug concentration timecurve	血液中濃度－時間曲線下面積
AUC <sub>inf</sub>	Area under the drug concentration time curve from 0 to infinity	投与後 0 時間から無限時間まで外挿した血液中濃度－時間曲線下面積
AUC <sub>last</sub>	Area under the drug concentration time curve from 0 to the last quantifiable timepoint	投与後 0 時間から最終定量可能時間までの血液中濃度－時間曲線下面積
BCA	Bicinchoninic acid	ビスニコニン酸
B-C 製品	■■■■ product	■■■■で製造した原薬を■■■■で製品化した製品
B-H 製品	■■■■ product	■■■■で製造した原薬を■■■■で製品化した製品
bp	base pair	塩基対
CA19-9	Carbohydrate antigen 19-9	糖鎖抗原 19-9
CCC 体	Covalently closed circular form	二本鎖環状構造体
cDNA	Complementary deoxyribonucleic acid	相補的 DNA
CEA	Carcinoembryonic antigen	癌胎児性抗原
CHO 細胞	Chinese hamster ovary cells	チャイニーズハムスター卵巣細胞
CI	Confidence interval	信頼区間
Cmax	Maximum blood concentration	最高血中濃度
CMV	Cytomegalovirus	サイトメガロウイルス
c-Met	—	HGF 受容体チロシンキナーゼ
■■■■ 細胞	■■■■	■■■■細胞
CRF	Case Report Form	症例報告書
CRP	C-reactive protein	C-反応性蛋白
CTA	Computed tomography angiography	コンピュータ断層血管造影
DNA	Deoxyribonuclease	デオキシリボ核酸
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay	酵素免疫測定
EWMA	European Wound Management Association	—
FAS	Full Analysis Set	最大の解析対象集団
FDA	Food and Drug Administration	アメリカ食品医薬品局
FOB	Functional observation battery	機能観察総合検査
HASMC	Human aortic smooth muscle cells	正常ヒト大動脈平滑筋細胞
HCP	Host cell protein	宿主細胞由来タンパク質
HGF	Hepatocyte growth factor	肝細胞増殖因子
hHGF	Human hepatocyte growth factor	ヒト肝細胞増殖因子
HIC	Hydrophobic interaction chromatography	疎水性相互作用クロマトグラフィー

HPLC	High performance liquid chromatography	高速液体クロマトグラフィー
HUVEC	Human umbilical vein endothelial cells	ヒト臍帯静脈内皮細胞
LacZ	$\beta$ -galactosidase	$\beta$ -ガラクトシダーゼ
LN 体	Linear form	直鎖状構造体
MCB	Master cell bank	マスター・セル・バンク
MedDRA/J	Medical Dictionary for regulatory activities Japanese version	ICH 国際医薬用語集日本語版
MRA	Magnetic Resonance Angiography	磁気共鳴血管撮影
NZW	New zealand white	ニュージーランド白色系
OC 体	Open circular form	開環状構造体
Pro-HGF	Pro-Hepatocyte growth factor	HGF の前駆体である不活性型 HGF
P■■■■	■■■■	hHGF 遺伝子を挿入していないプラスミドベクター
PVR	Pulse volume recording	容積脈波記録
Q-PCR	Quantitative polymerase chain reaction	定量的ポリメラーゼ連鎖反応
Q-PCR 法 A	—	79 bp の配列を増幅領域とする測定法
Q-PCR 法 B	—	241 bp の配列を増幅領域とする測定法
Q2W	quaque 2 weeks	2 週間間隔
Q4W	quaque 4 weeks	4 週間間隔
rhbFGF	Recombinant human basic fibroblast growth factor	組換えヒト線維芽細胞増殖因子
rhHGF	Recombinant human hepatocyte growth factor	組換えヒト肝細胞増殖因子
rhVEGF	Recombinant human vascular endothelial growth factor	組換えヒト血管内皮細胞増殖因子
RNA	Ribonuclease	リボ核酸
SEC	Size exclusion chromatography	サイズ排除クロマトグラフィー
S-F 製品	■■■■ product	■■■■ で製造した原薬を ■■■■ で製品化した製品
S-P 製品	■■■■ product	■■■■ で製造した原薬を ■■■■ で製品化した製品
TAO	Thromboangiitis obliterans	閉塞性血栓血管炎
TBPI	Toe-brachial Pressure Index	足趾上腕血圧比
TcPO2	Transcutaneous partial pressure of oxygen	経皮酸素分圧
t <sub>max</sub>	Time of maximum concentration	最高血中濃度到達時間
t <sub>1/2</sub>	Elimination half-life	消失半減期
■■■■ 細胞	■■■■	■■■■ 細胞
VAS	Visual Analogue Scale	—
VEGF	Vascular endothelial growth factor	血管内皮細胞増殖因子
WCB	Working cell bank	ワーキングセルバンク
本邦の診療ガイドライン	—	末梢閉塞性動脈疾患の治療ガイドライン (2015 年改訂版)
機構	—	独立行政法人 医薬品医療機器総合機構
本品	—	コラテジェン筋注用 4 mg
本薬	—	ヒト HGF 発現プラスミド DNA

(別添)

コラテジェン筋注用 4 mg の原薬等登録原簿 (MF 登録番号 [REDACTED]) に係る引用された資料の概略及び審査の概略

## 原薬等登録原簿

[販売名] [REDACTED] [REDACTED]  
[一般名] ベペルミノゲン ペルプラスミド  
[登録者名] [REDACTED]  
[登録番号] [REDACTED]

## 1. 引用された資料部分の概略

### 1.1 原薬

#### 1.1.1 細胞基材の調製及び管理

ヒト白血球より調製した相補的 DNA (以下、「cDNA」) ライブラリーからプラークハイブリダイゼーション法によりヒト HGF cDNA が選択された。選択されたヒト HGF cDNA の翻訳領域をコードする遺伝子断片をサイトメガロウイルス プロモーター/エンハンサーの制御下において発現するよう、ヒトゲノムと相同な配列を最小限化した p[REDACTED] ベクターにウシ成長ホルモン ポリアデニル化シグナル領域を含め挿入することにより、遺伝子構成体を含むプラスミドベクター (p[REDACTED]) が作製された。当該プラスミドベクターを大腸菌株 ([REDACTED] 株) に導入することにより形質転換した大腸菌から目的とする表現型を有するクローン株が選択され、当該大腸菌株を起原とし、マスターセルバンク (以下、「MCB」) 及びワーキングセルバンク (以下、「WCB」) が調製された。

MCB 及び WCB について、特性解析及び管理試験 (生存試験、宿主の同定、非宿主汚染、プラスミド DNA 保持率、[REDACTED]、[REDACTED] 及びバクテリオファージ否定試験) が実施された。また、通常の生産における世代数を越えた細胞について、特性解析 (生存試験、プラスミド DNA 保持率、[REDACTED] 及び [REDACTED]) が実施され、製造期間中の遺伝的安定性が確認された。MCB 及び WCB は -70°C で保管される。MCB の更新予定はないが、WCB は必要に応じて更新される。更新時には上記の管理試験により適格性が確認される。

#### 1.1.2 製造方法

原薬の製造工程は、前培養及び本培養、菌体回収、溶菌、限外ろ過濃縮、硫酸沈殿及びろ過、HIC、AEC、SEC、限外ろ過濃縮、最終ろ過、試験並びに保管からなる。得られた原薬は、ポリプロピレン製容器を用いて、遮光下、-70°C 以下で保存される。

重要工程は、上記の工程のうち、本培養、溶菌、硫酸沈殿及びろ過、HIC 並びに AEC 工程とされている。

原薬の製造工程について、実生産スケールでプロセスバリデーションが実施されている。

#### 1.1.3 製造工程の開発の経緯

原薬の開発工程における製造方法の主な変更点は、以下のとおりである。なお、大阪大学臨床研究、ASO 第Ⅲ相試験、TAO 一般臨床試験、米国第Ⅱ相試験及び米国 IHD 第Ⅰ相試験では、[REDACTED]

製法（以下、「A\*製法」）の原薬を、先進医療 B 臨床研究では、[REDACTED]製法（以下、「D\*1 製法」）の原薬を、それぞれ用いて製造された製剤が使用された。[REDACTED]では、その後、D\*2 製法及び申請製法に変更された。

- A\*製法から D\*1 製法：[REDACTED] 及び [REDACTED]、[REDACTED]、[REDACTED] 等
- D\*1 製法から D\*2 製法：[REDACTED]
- D\*2 製法から申請製法：[REDACTED]

これらの製法変更に伴い、品質特性に関する同等性／同質性評価が実施され、製法変更前後の原薬の同等性／同質性が確認されている。