

平成 17 年 6 月 9 日
医薬食品局審査管理課

審議結果報告書

[販売名] マイロターグ注射用 5 m g
[一般名] ゲムツズマブオゾガマイシン (遺伝子組換え)
[申請者] ワイス株式会社
[申請年月日] 平成 15 年 6 月 21 日
[審議結果]

平成 17 年 5 月 26 日に開催された医薬品第二部会において、本品目は承認して差し支えないとされ、薬事・食品衛生審議会薬事分科会に報告することとされた。なお、本品目について、生物由来製品に指定し、再審査期間は 10 年とし、原体及び製剤を毒薬に指定することとされた。

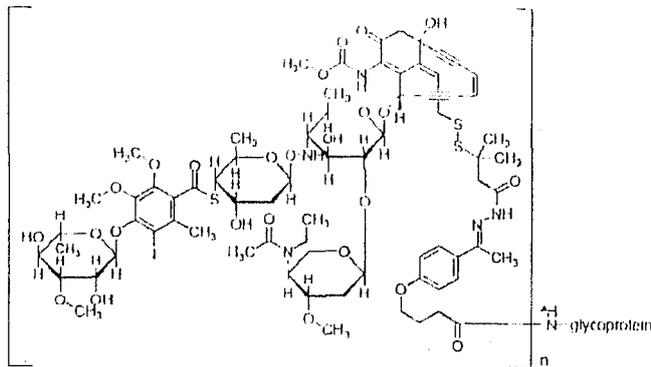
審査報告書

平成17年5月18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医薬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] マイロターグ注射用5mg
- [一般名] ゲムツズマブオゾガマイシン（遺伝子組換え）
- [申請者] 日本ワイスレダリー株式会社（現 ワイス株式会社）
- [申請年月日] 平成15年6月26日
- [剤型・含量] 注射剤・1バイアル中ゲムツズマブオゾガマイシン（遺伝子組換え）
5mg
- [申請区分] 医療用医薬品（1）新有効成分含有医薬品
- [化学構造]



オゾガマイシン

*ゲムツズマブのLys残基のアミノ酸

ゲムツズマブのアミノ酸配列は以下のとおり

¹Gln-Val-Gln-Leu-Val-Gln-Ser-Gly-Ala-Glu-Val-Lys-Lys-Pro-Gly-Ser-Ser-Val-Lys-Val
²¹Ser-Cys-Lys-Ala-Ser-Gly-Tyr-Thr-Ile-Thr-Asp-Ser-Asn-Ile-His-Trp-Val-Arg-Gln-Ala
⁴¹Pro-Gly-Gln-Ser-Leu-Glu-Trp-Ile-Gly-Tyr-Ile-Tyr-Pro-Tyr-Asn-Gly-Gly-Thr-Asp-Tyr
⁶¹Asn-Gln-Lys-Phe-Lys-Asn-Arg-Ala-Thr-Leu-Thr-Val-Asp-Asn-Pro-Thr-Asn-Thr-Ala-Tyr
⁸¹Met-Glu-Leu-Ser-Ser-Leu-Arg-Ser-Glu-Asp-Thr-Ala-Phe-Tyr-Tyr-Cys-Val-Asn-Gly-Asn
¹⁰¹Pro-Trp-Leu-Ala-Tyr-Trp-Gly-Gln-Gly-Thr-Leu-Val-Thr-Val-Ser-Ser-Ala-Ser-Thr-Lys
¹²¹Gly-Pro-Ser-Val-Phe-Pro-Leu-Ala-Pro-Cys-Ser-Arg-Ser-Thr-Ser-Glu-Ser-Thr-Ala-Ala
¹⁴¹Leu-Gly-Cys-Leu-Val-Lys-Asp-Tyr-Phe-Pro-Glu-Pro-Val-Thr-Val-Ser-Trp-Asn-Ser-Gly
¹⁶¹Ala-Leu-Thr-Ser-Gly-Val-His-Thr-Phe-Pro-Ala-Val-Leu-Gln-Ser-Ser-Gly-Leu-Tyr-Ser
¹⁸¹Leu-Ser-Ser-Val-Val-Thr-Val-Pro-Ser-Ser-Ser-Leu-Gly-Thr-Lys-Thr-Tyr-Thr-Cys-Asn
²⁰¹Val-Asp-His-Lys-Pro-Ser-Asn-Thr-Lys-Val-Asp-Lys-Arg-Val-Glu-Ser-Lys-Tyr-Gly-Pro
²²¹Pro-Cys-Pro-Pro-Cys-Pro-Ala-Pro-Glu-Phe-Leu-Gly-Gly-Pro-Ser-Val-Phe-Leu-Phe-Pro
²⁴¹Pro-Lys-Pro-Lys-Asp-Thr-Leu-Met-Ile-Ser-Arg-Thr-Pro-Gln-Val-Thr-Cys-Val-Val-Val
²⁶¹Asp-Val-Ser-Gln-Glu-Asp-Pro-Glu-Val-Gln-Phe-Asn-Trp-Tyr-Val-Asp-Gly-Val-Glu-Val
²⁸¹His-Asn-Ala-Lys-Thr-Lys-Pro-Arg-Gln-Gln-Gln-Phe-Asn-Ser-Thr-Tyr-Arg-Val-Val-Ser
³⁰¹Val-Leu-Thr-Val-Leu-His-Gln-Asp-Trp-Leu-Asn-Gly-Lys-Glu-Tyr-Lys-Cys-Lys-Val-Ser
³²¹Asn-Lys-Gly-Leu-Pro-Ser-Ser-Ile-Glu-Lys-Thr-Ile-Ser-Lys-Ala-Lys-Gly-Gln-Pro-Arg
³⁴¹Glu-Pro-Gln-Val-Tyr-Thr-Leu-Pro-Pro-Ser-Gln-Glu-Glu-Met-Thr-Lys-Asn-Gln-Val-Ser
³⁶¹Leu-Thr-Cys-Leu-Val-Lys-Gly-Phe-Tyr-Pro-Ser-Asp-Ile-Ala-Val-Glu-Trp-Glu-Ser-Asn
³⁸¹Gly-Gln-Pro-Glu-Asn-Asn-Tyr-Lys-Thr-Thr-Pro-Pro-Val-Leu-Asp-Ser-Asp-Gly-Ser-Phe
⁴⁰¹Phe-Leu-Tyr-Ser-Arg-Leu-Thr-Val-Asp-Lys-Ser-Arg-Trp-Gln-Glu-Gly-Asn-Val-Phe-Ser
⁴²¹Cys-Ser-Val-Met-His-Glu-Ala-Leu-His-Asn-His-Tyr-Thr-Gln-Lys-Ser-Leu-Ser-Leu-Ser
⁴⁴¹Leu-Gly-Lys

ゲムツズマブの重鎖アミノ酸配列

¹Asp-Ile-Gln-Leu-Thr-Gln-Ser-Pro-Ser-Thr-Leu-Ser-Ala-Ser-Val-Gly-Asp-Arg-Val-Thr
²¹Ile-Thr-Cys-Arg-Ala-Ser-Gln-Ser-Leu-Asp-Asn-Tyr-Gly-Ile-Arg-Phe-Leu-Thr-Trp-Phe
⁴¹Gln-Gln-Lys-Pro-Gly-Lys-Ala-Pro-Lys-Leu-Leu-Met-Tyr-Ala-Ala-Ser-Asn-Gln-Gly-Ser
⁶¹Gly-Val-Pro-Ser-Arg-Phe-Ser-Gly-Ser-Gly-Ser-Gly-Thr-Glu-Phe-Thr-Leu-Thr-Ile-Ser
⁸¹Ser-Leu-Gln-Pro-Asp-Asp-Phe-Ala-Thr-Tyr-Tyr-Cys-Gln-Gln-Thr-Lys-Gln-Val-Pro-Trp
¹⁰¹Ser-Phe-Gly-Gln-Gly-Thr-Lys-Val-Glu-Val-Lys-Arg-Thr-Val-Ala-Ala-Pro-Ser-Val-Phe
¹²¹Ile-Phe-Pro-Pro-Ser-Asp-Gln-Gln-Leu-Lys-Ser-Gly-Thr-Ala-Ser-Val-Val-Cys-Leu-Leu
¹⁴¹Asn-Asn-Phe-Tyr-Pro-Arg-Gln-Ala-Lys-Val-Gln-Trp-Lys-Val-Asp-Asn-Ala-Leu-Gln-Ser
¹⁶¹Gly-Asn-Ser-Gln-Glu-Ser-Val-Thr-Gln-Gln-Asp-Ser-Lys-Asp-Ser-Thr-Tyr-Ser-Leu-Ser
¹⁸¹Ser-Thr-Leu-Thr-Leu-Ser-Lys-Ala-Asp-Tyr-Glu-Lys-His-Lys-Val-Tyr-Ala-Cys-Glu-Val
²⁰¹Thr-His-Gln-Gly-Leu-Ser-Ser-Pro-Val-Thr-Lys-Ser-Phe-Asn-Arg-Gly-Glu-Cys

ゲムツズマブの軽鎖アミノ酸配列

重鎖222及び225番目のCys（破線下線）同士が分子間ジスルフィド結合した2量体である。重鎖130番目のCys（一重下線）は軽鎖218番目のCys（二重下線）と分子間ジスルフィド結合している。オゾガマイシンと重鎖242、286、330及び388番目のLys（実線四角）がアミド結合している。糖鎖結合部位は重鎖293番目のAsn（破線四角）である。

糖鎖の種類	構造
N結合型糖鎖構造	$\begin{array}{c} \text{Gal-Gal-GlcNAc-Man} \\ \text{Gal-Gal-GlcNAc-Man} \end{array} \begin{array}{l} \nearrow \\ \searrow \end{array} \begin{array}{c} \text{Man-GlcNAc-GlcNAc} \\ \text{Fuc} \\ \\ \text{Man-GlcNAc-GlcNAc} \end{array}$
	$\text{Gal} \left\{ \begin{array}{l} \text{Gal-GlcNAc-Man} \\ \text{Gal-GlcNAc-Man} \end{array} \right. \begin{array}{l} \nearrow \\ \searrow \end{array} \begin{array}{c} \text{Man-GlcNAc-GlcNAc} \\ \text{Fuc} \\ \\ \text{Man-GlcNAc-GlcNAc} \end{array}$
	$\begin{array}{c} \text{Gal-GlcNAc-Man} \\ \text{Gal-GlcNAc-Man} \end{array} \begin{array}{l} \nearrow \\ \searrow \end{array} \begin{array}{c} \text{Man-GlcNAc-GlcNAc} \\ \text{Fuc} \\ \\ \text{Man-GlcNAc-GlcNAc} \end{array}$
	$\text{Gal} \left\{ \begin{array}{l} \text{GlcNAc-Man} \\ \text{GlcNAc-Man} \end{array} \right. \begin{array}{l} \nearrow \\ \searrow \end{array} \begin{array}{c} \text{Man-GlcNAc-GlcNAc} \\ \text{Fuc} \\ \\ \text{Man-GlcNAc-GlcNAc} \end{array}$
	$\begin{array}{c} \text{GlcNAc-Man} \\ \text{GlcNAc-Man} \end{array} \begin{array}{l} \nearrow \\ \searrow \end{array} \begin{array}{c} \text{Man-GlcNAc-GlcNAc} \\ \text{Fuc} \\ \\ \text{Man-GlcNAc-GlcNAc} \end{array}$
	$\begin{array}{c} \text{GlcNAc-Man} \\ \text{Man} \end{array} \begin{array}{l} \nearrow \\ \searrow \end{array} \begin{array}{c} \text{Man-GlcNAc-GlcNAc} \\ \text{Fuc} \\ \\ \text{Man-GlcNAc-GlcNAc} \end{array}$

ゲムツズマブの糖鎖を構成するオリゴ糖構造

化学名：マウス抗CD33モノクローナル抗体の相補性決定部及びヒト免疫グロブリンG4（ κ 鎖及び γ 4鎖）のフレームワーク部を含む可変部と定常部からなるヒト化マウス抗CD33モノクローナル抗体をコードするcDNAの発現によりマウス骨髄腫細胞（NS0細胞）で産生される218個のアミノ酸残基（C₁₀₄₈H₁₆₂₆N₂₈₂O₃₄₁S₆；分子量：23,824.20）からなる軽鎖2分子と、443個のアミノ酸残基（C₂₁₇₇H₃₃₄₃N₅₇₁O₆₇₅S₁₅；分子量：48,795.23）からなる重鎖2分子からなる糖タンパク質（ゲムツズマブ、分子量：約150,000）のリジン残基（重鎖Lys242、286、330及び388）に1.8~3.0分子のメチル(1*R*,4*Z*,8*S*,13*E*)-13-(2-{{2-{{[*p*-(3-カルバモイルプロポキシ)- α -メチルベンジリデン]ヒドラジノ}カルボニル)-1,1-ジメチルエチル]ジチオ}エチリデン)-8-[[4,6-ジデオキシ-4-{{(2,6-ジデオキシ-4-*S*-(4-[(6-デオキシ-3-*O*-メチル- α -L-マンノピラノシル)オキシ]-3-ヨード-5,6-ジメトキシ- σ -トルオイル)-4-チオ- β -D-リボヘキソピラノシル)オキシ]アミノ}-2-*O*-[2,4-ジデオキシ-4-(*N*-エチルアセトアミド)-3-*O*-メチル-

α -L-スレオ-ペントピラノシル]- β -D-グルコピラノシル)オキシ]-1-ヒドロキシ-
11-オキソビシクロ[7.3.1]トリデカ-4,9-ジエン-2,6-ジイン-10-カルバマート (オ
ゾガマイシン、 $C_{73}H_{97}IN_6O_{25}S_3$ ；分子量：1681.68) がアミド結合した修飾タ
ンパク質 (分子量：約153,000)

[特記事項] 希少疾病用医薬品

[審査担当部] 新薬審査第一部

審査結果

平成17年5月18日作成

[販売名] マイロターゲット注射用5mg
[一般名] ゲムツズマブオゾガマイシン（遺伝子組換え）
[申請者] 日本ワイスレダリー株式会社（現 ワイス株式会社）
[申請年月日] 平成15年6月26日

審査結果

再発又は難治性の CD33 陽性の急性骨髄性白血病の効能・効果に対して、提出された資料から、本剤の有効性及び安全性が認められると判断した。

以上、医薬品医療機器総合機構における審査の結果、本剤は以下の承認条件を付した上で、下記の効能・効果、用法・用量のもとで承認して差し支えないと判断した。

[効能・効果]

再発又は難治性の CD33 陽性の急性骨髄性白血病

[用法・用量]

通常成人には、ゲムツズマブオゾガマイシン 1 回量 $9\text{mg}/\text{m}^2$ （たん白質量として表記）を 2 時間かけて点滴静脈内投与する。投与回数は、少なくとも 14 日間の投与間隔をおいて、2 回とする。

[承認条件]

国内での治験症例が極めて限られており、また、治験において感染症、出血、肝機能障害等の重篤な副作用の発生が認められていることから、市販後、一定数の症例に係るデータが集積されるまでの間は、全症例を登録した使用成績調査を実施することにより、本剤使用患者の背景情報を把握するとともに、安全性及び有効性に関するデータを収集し、本剤の適正使用に必要な措置を講じること。

審査報告 (1)

平成 17 年 3 月 11 日作成

1. 品目の概要

- [販売名] マイロターグ注射用 5mg
[一般名] ゲムツズマブオゾガマイシン (遺伝子組換え)
[申請者] 日本ワイスレダリー株式会社 (現 ワイス株式会社)
[申請年月日] 平成 15 年 6 月 26 日
[剤型・含量] 注射剤・1 バイアル中ゲムツズマブオゾガマイシン (遺伝子組換え) を 5mg 含有する
[申請時の効能・効果] CD33 陽性の再発又は難治急性骨髄性白血病
[申請時の用法・用量] 通常成人には、ゲムツズマブオゾガマイシン 1 回量 9mg/m² (たん白質量として表記) を 2 時間かけて点滴静脈内投与する。投与回数は、少なくとも 14 日間の投与間隔をおいて、2 回とする。
[特記事項] 希少疾病用医薬品

2. 提出された資料の概略及び医薬品医療機器総合機構における審査の概略

本申請において、申請者が提出した資料及び国立医薬品食品衛生研究所医薬品医療機器審査センター、若しくは医薬品医療機器総合機構からの照会事項に対する申請者の回答の概略は、下記のようなものであった。なお、平成 16 年 4 月 1 日、国立医薬品食品衛生研究所医薬品医療機器審査センターと医薬品副作用被害救済・研究振興調査機構等が統合され、医薬品医療機器総合機構 (以下、機構) が設立されたことに伴い、本審査報告 (1) においては、審査センターにて行った照会・判断等も機構が行ったものと統一して記載した。

イ. 起原又は発見の経緯及び外国における使用状況等に関する資料

急性骨髄性白血病 (Acute Myeloid Leukemia; AML) は、未熟な骨髄球系の細胞がクローン性に増殖した疾患である。急性骨髄性白血病は FAB 分類 (French-American-British criteria) に基づいて M0 から M7 に分類される。病型により、未熟な、若しくは分化成熟した白血病細胞が、骨髄球、単球、赤芽球、巨核球系統の形態をとる。CD33 抗原は、顆粒球系-単球系前駆細胞、単球/マクロファージ、未熟顆粒球、及び成熟顆粒球に発現しており、AML の多くの芽球が CD33 抗原陽性である。

我が国での 1996 年の全白血病罹患率は、約 7,000 人で、年齢調整罹患率は、人口 10 万人あたり男性 5.6 人、女性 3.5 人であり、1999 年の年齢調整死亡率は人口 10 万人あたり男性 5.2 人、女性 3.1 人である。急性白血病と慢性骨髄性白血病の比率が約 4 対 1 で、急性白血病のうち骨髄性 (AML) と、リンパ性の比率が成人では約 4 対 1 である。成人の AML の年齢中央値は 65 歳であり、40 歳以下の発症は比較的少ない。40 歳以上では、

年齢が増加するにしたがって発症頻度が増加する傾向がある。

土壌菌 *Micromonospora echinospora ssp. calichensis* から単離される γ -カリケアマイシンは、分子中のエンジン構造が細胞内で活性なラジカル体に変換され、二重鎖 DNA の特異的塩基対と結合してこれを切断することによって、細胞傷害作用を発揮すると推定されている。

ゲムツズマブオゾガマイシン（遺伝子組換え）（以下、本薬）は、 γ -カリケアマイシンの誘導体である *N*-アセチル- γ -カリケアマイシンと遺伝子組換えヒト化抗 CD33 モノクローナル抗体（米国 [] にて構築されたマウス抗 CD33 モノクローナル抗体 mP67.6 を英国 [] 社（現 [] 社）が遺伝子組換え技術を用いてヒト化した IgG₄ 抗体）をリンカー（ [] 及び [] ）を介して化学的に結合させた、CD33 抗原陽性 AML に対する新規の抗悪性腫瘍剤である。

19 [] 年 [] 月より米国において CD33 抗原陽性の再発又は難治 AML 患者を対象に本薬の第 I 相試験が実施され、その後 19 [] 年から 19 [] 年にかけて北米及び欧州で CD33 抗原陽性の初回再発 AML 患者を対象とした三つの第 II 相試験が開始された。米国では、1999 年 10 月に第 II 相試験の中間成績をもって「For the treatment patients with CD33 positive acute myeloid leukemia in relapse.」を効能・効果として accelerated approval 申請がなされた。20 [] 年 [] 月 [] 日に開催された Oncology Drug Advisory Committee において、本薬の安全性は従来のサルベージ療法に比して改善されているものの、効果の点では従来のサルベージ療法に匹敵するという十分なデータは得られていないとされた。しかし、60 歳以上の患者集団においては、本薬は従来のサルベージ療法に匹敵する効果が期待されるとされ、この患者集団での accelerated approval が勧告された。米国食品医薬品局（FDA）は、本薬の効能・効果を「for the treatment of patients with CD33 positive acute myeloid leukemia in first relapse who are 60 years of age or older and who are not considered candidates for cytotoxic chemotherapy.」とし、2000 年 5 月に accelerated approval 医薬品として承認し、同月より販売されている。本薬は 2003 年 3 月時点で米国、アルゼンチン、ブラジル、チリ、コロンビア、メキシコ、キプロス、シンガポール、タイ及びインドで承認されている。なお、FDA からは市販後に本薬の臨床的有用性を検証するための適切な臨床試験の実施が要求され、8 歳以上 56 歳未満の未治療急性骨髄性白血病患者を対象とした、本薬、シタラビン、ダウノルビシンの三剤併用療法とシタラビン、ダウノルビシンの二剤併用療法との比較試験を計画し、20 [] 年 [] 月に FDA に試験実施計画書を提出した。この試験は Southwest Oncology Group によって実施中（Protocol SWOG S0106）である。

本邦においては、本薬は 1999 年 1 月 21 日に予定される効能・効果「再発・難治急性骨髄性白血病」として希少疾病用医薬品に指定された（指定番号 117）。19 [] 年 [] 月より国内で CD33 抗原陽性の再発 AML 患者を対象に第 I/II 相試験を開始した。今回、国内第 I/II 相試験のうち第 I 相試験に相当する部分の成績が得られ、これと海外の第 I 相試験及び第 II 相試験（最終成績）の成績を評価資料として、承認申請がなされた。なお、国内第 I/II 相試験のうち第 II 相試験に相当する部分の成績については 20 [] 年 [] 月に最終観察が終了し、第 II 相試験に相当する部分の総括報告書（第 1 版）は参考資料として

20 年 月に提出された。

機構は、欧州における本薬の開発状況について説明を求めた。

申請者は、以下のように回答した。

欧州医薬品庁 (EMA) の Scientific Advice and Protocol Assistance において、米国の承認申請時に提出した資料をもとにした承認申請について、1999 年及び 2001 年に 2 回協議を実施したが、本薬の臨床的有用性を明確にするための randomized study が必要との見解が示された。本薬の臨床的位置付けを考慮すると比較試験を設定することの妥当性は見出せないとの米国 Wyeth 社の主張と EMA の見解には大きな隔たりがあり、欧州における本薬の承認申請は暫時保留することとなった。20 年 月の Scientific Advice and Protocol Assistance との協議において、①EU 各国において Compassionate Use/Named Patient Program の使用が拡大したことから本薬の医療上の有用性は明確となっていること、②処方薬として認知の要求が高まってきたこと、③第 II 相試験の最終解析結果が得られたことから、Wyeth 社は追加臨床試験の実施の必要性について再考するように要求した。その結果、必ずしも追加臨床試験を実施しなくとも Market Authorization Application が可能であるとの示唆が得られ、既に得られている三つの第 II 相試験成績を主要なデータとして EMA に 20 年 月に承認申請する準備を行っている。

ロ. 物理的・化学的性質並びに規格及び試験方法に関する資料

(1) 提出された資料の概略

1) 原薬 (ゲムツズマブオゾガマイシン (遺伝子組換え))

ゲムツズマブオゾガマイシン (遺伝子組換え) は、①ヒト CD33 上のエピトープを認識するマウス IgG₁ モノクローナル抗体 (mP67.6) をヒト化させた遺伝子組換え IgG₄ 抗体 (ヒト化抗 CD33 モノクローナル抗体: hP67.6) と②土壌菌 *Micromonospora echinospora ssp. calichensis* から単離され DNA 傷害作用を持つ γ -カリケアマイシンを親化合物とする活性 *N*-アセチルカリケアマイシン DMH AcBut との結合体である。

i) ヒト化抗 CD33 モノクローナル抗体

ヒト化抗マウス CD33 モノクローナル抗体 (hP67.6) はマウス抗 CD33 モノクローナル抗体の相補性決定領域 (CDR) 並びにヒト免疫グロブリン G₄ (IgG₄) の不変領域 (Kappa 鎖及び γ ₄ 鎖) 及び可変領域フレーム配列から成るヒト化抗マウス CD33 モノクローナル抗体をコードする cDNA を導入したマウス骨髓腫細胞 (NS0 細胞) から産生される 218 個のアミノ酸残基 (C₁₀₄₈H₁₆₃₀N₂₈₂O₃₄₁S₆、分子量 23,824.20) の軽鎖 2 分子と 443 個のアミノ酸残基 (C₂₁₇₇H₃₃₅₁N₅₇₁O₆₇₅S₁₅、分子量 48,795.23) の重鎖 2 分子から成る糖タンパク質 (分子量 約 150,000) である。hP67.6 は IgG₄ 抗体と同様にジスルフィド結合により各分子間が共有結合している。

製造方法 (構造遺伝子の構築、組換え体の構築)

mP67.6 ハイブリドーマは、CD33 を発現しているヒト急性骨髄性白血病由来細胞 HL-

60 から DNA 及び █████ 癌遺伝子を含むプラスミドを調製し、このプラスミドをマウス NIH-3T3 細胞に導入して得られた細胞を BALB/c マウスに投与して免疫した後、摘出したマウス脾臓細胞と █████ 骨髄腫細胞を融合して得られたハイブリドーマから選別されたものである。この mP67.6 ハイブリドーマから単離して得られた RNA を用いて cDNA を合成し、これを用いて mP67.6 重鎖及び軽鎖可変領域をそれぞれクローニングした。

mP67.6 の V_H 塩基配列及び V_L 塩基配列に最も類似した CDR 配列を持つヒト IgG₄ 抗体をヒト化抗体のフレームワークに選択すると共に、分子モデリングにより mP67.6 の CDR 配列及び抗原結合能の保持に必要なアミノ酸を加味し、hP67.6 の V_H 塩基配列及び V_L 塩基配列を合成した。これら遺伝子を IgG₄ の重鎖及び軽鎖の不変領域をコードする塩基配列に結合させることにより、hP67.6 の重鎖及び軽鎖遺伝子を有するベクターをそれぞれ構築した。

NS0 細胞で hP67.6 を発現させるために、重鎖遺伝子と軽鎖遺伝子を一つの遺伝子発現構成体に導入し、遺伝子発現構成体 █████ を構築した。なお、遺伝子発現構成体 █████ 中には制限酵素 █████ の切断部位が 1 カ所のみ存在することから、ここで切断し直線状にすることにより哺乳動物細胞のゲノム DNA に挿入が可能となる。

█████ を電気穿孔法により宿主細胞である NS0 細胞に導入した。NS0 細胞はグルタミン合成酵素遺伝子を欠損しているが、遺伝子発現構成体は █████ 合成酵素遺伝子を含むことから、これらを █████ 除去選択培地中で培養することにより、█████ 合成酵素遺伝子を高レベルで産生する組換え体を選択的に得た。これらから、さらに組換え体ヒト IgG₄ 発現量及び細胞増殖能の高いクローン（組換え体）を選択し、これを種細胞株とした。種細胞株からマスターセルバンク（MCB）が調製され、MCB からワーキングセルバンク（WCB）が調製されている。WCB は、その残量が █████ 本になった段階で、新たに調製することとされている。MCB 及び WCB の保存中の品質の確認として、それぞれ WCB 調整時及び hP67.6 製造時に細胞生存率を測定することとされている。

セルバンクの性質

MCB、WCB、*in vitro* 細胞齢の上限（WCB から数えて細胞集団倍加数が █████）まで培養された細胞（CAL）及び製造後細胞（EOPC）について、特性解析がなされている。

MCB の特性解析の結果、透過型電子顕微鏡観察では、A 型及び C 型レトロウイルス様粒子が観察され、Mn²⁺要求性の逆転写酵素活性は陽性を示したが、これらの結果は NS0 細胞の内因性レトロウイルスによるものと考えられている。*Mus dunni* 試験、増幅 S+L フォーカス試験及び増幅 XC プラーク試験の結果、感染性ウイルスの混入は認められなかった。アイソザイムパターンはマウス由来細胞のもの一致した。また、重鎖及び軽鎖の cDNA 配列は、█████ から期待される hP67.6 の遺伝子配列と等しいことを確認した。DNA プロファイル試験の結果、各制限酵素により切断される遺伝子発現構成体断片の理論的分子量の位置に、DNA 切断体のバンドを認めた。DNA コピー数は、重鎖遺伝子及び軽鎖遺伝子について、それぞれ █████ 及び █████ であった。RNA プロファイル試験においては、重鎖及び軽鎖プローブに対して、mRNA より予想される理論的分子量の位置に、RNA のバンドが認められた。

WCB においても、細菌、真菌、マイコプラズマ並びに非内在性及び外来性ウイルスの

混入は確認されなかった。アイソザイムパターンはマウス由来細胞のものと同じし、DNA プロファイル試験の結果、MCB の DNA 切断パターンと一致した。DNA コピー数は、重鎖遺伝子及び軽鎖遺伝子について、それぞれ [] 及び [] であった。

CAL に関して、マイコプラズマ並びに非内在性及び外来性ウイルスの混入は認められなかった。また、CAL 及び EOPC に関して、hP67.6 の培養工程中で、 [] の欠失及び他の遺伝子の挿入等が生じていないことが確認された。

培養工程

1 本の WCB から出発し、ローラーボトルによる一次種培養工程、 [] L 培養タンクを用いた二次種培養工程を経て、 [] L 培養タンクによる生産培養工程を行った後、培養液を分離ろ過し、培養ろ液を得る。

なお、培養工程における工程内管理試験として、生産培養工程についてマイコプラズマ否定試験及び *in vitro* ウイルス試験が設定されている。また、培養工程のプロセス評価として、各培養工程における細胞増殖能、二次種培養工程及び生産培養工程における抗体産生能、ハーベスト工程における工程所要時間及び工程収量の検討がなされている。

精製工程

培養ろ液をプロテイン A アフィニティークロマトグラフィーを用いて精製し、溶出液を酸処理 (pH []、 [] ~ [] 分間) する (ウイルスの不活化)。緩衝液交換を行い、DEAE 陰イオン交換クロマトグラフィーを用いて精製する。これを DV50 フィルター (孔径 50nm) を用いたろ過後 (ウイルスの除去)、緩衝液 ([] mol/L [] mol/L [] mol/L [] 緩衝液 (pH [])) 交換を行い、たん白質量を [] ± [] mg/mL に調整する。その後、孔径 [] μm のフィルターでろ過し、得られたろ液を hP67.6 原液とする。

精製工程のプロセス評価として、収率及び各精製工程において除去される工程由来不純物量 (ウシ血清アルブミン、ヒトトランスフェリン、プロテイン A、マウス DNA、ホストセルたん白質) の確認がなされている。また、投与量当たりのマウス DNA 量は [] ng であり、精製工程が製造工程由来のマウス DNA 不純物について、除去能力を有していることが示されている。

各精製工程においてウイルスが除去できることを確認するため、宿主細胞の NS0 細胞に存在するレトロウイルスのモデルとして Xenotropic Murine Leukemia Virus (X-MuLV) を、さらにウイルスの大きさや生化学的性質、DNA ウイルスか RNA ウイルスかの違い、不活化に対する感受性の違いを考慮して、Pseudorabies Herpes Virus (PsRV)、Bovine Adenovirus Type 3 (BAV3)、Poliovirus Sabin Type 1 (POL) の 3 種類のモデルウイルスを用いてウイルス除去効率が調べられており、それぞれの除去効率は以下のとおりであった。

ウイルス除去率

工程	X-MuLV	PsRV	BAV3	POL
プロテインAアフィニティークロマトグラフィー	≥ []*	≥ []*	[]	[]
酸処理	≥ []	≥ []	-	-

DEAE陰イオン交換 クロマトグラフィー	≧ []	≧ []	[]*	[]
ウイルス除去ろ過	≧ []	≧ []	≧ []	—
総計	≧14.20	≧14.23	≧9.84	4.15

—：未実施、*：ウイルス除去効率総計に含まない。(表示単位：log₁₀)

さらに、製造工程中の一時保存条件の検討がなされている。

なお、製造に用いられる原材料のうち動物に由来するものとして、ウシ胎児血清、ウシ血清アルブミン、ヒツジコレステロール、ヒトトランスフェリン、プロテイン A アフィニティークロマトグラフィー担体が挙げられている。ウシ胎児血清及びウシ血清アルブミンは米国産ウシ由来のものが用いられることとされているが、それ以外は生物由来原料基準に基づいて選定されたものを用いることとされている。

同等性/同質性

hP67.6 は申請に至るまでに、発現量の向上を目的とした遺伝子発現構成体の [] から [] への変更 ([] から IgG₄ の軽鎖不変領域及び [] 配列を除き、新たに [] 配列を含まない IgG₄ の軽鎖不変領域を組み込み [] を作製)、及び精製工程中への DV50 フィルターによるウイルス除去工程の追加がなされている。遺伝子発現構成体を変更したことから、同等性/同質性の検討が行なわれ、変更前後で、アミノ酸の構成は同一であると判断された。単糖の種類は同一であったが、重合度の高い糖鎖の含量がわずかに増加し、シアル酸含量も変更前 ([]%) から変更後 ([]%) に増加した。一方、こうした変化は活性に影響を与えないと判断された。また、変更前後の hP67.6 を用いて製造した CMA-676 でサルの間欠投与毒性試験を行ったところ、毒性の発現頻度及び程度に差は認められず、薬物動態学的パラメータにも差は認められなかった。以上より、変更前後の hP67.6 は物理的・化学的、生物学的及び毒性学的な点から同等/同質の品質を有していると申請者は判断している。なお、国内臨床試験及び海外の第Ⅱ相試験以降は変更後の製剤が用いられている

構造決定、物理的・化学的性質及び生物学的性質

hP67.6 の構造は、アミノ酸組成、N-末端アミノ酸配列、ジスルフィド結合、ペプチドマップ、脱アミド部位、糖組成、糖結合部位、シアル酸分析、オリゴ糖構造(サイズプロファイル、電荷プロファイル)を解析することにより確認されている。

hP67.6 の物理的・化学的性質として、①SDS-PAGE (還元、非還元、ウエスタンブロット法)、②等電点電気泳動 (IEF)、③サイズ排除クロマトグラフ法、④MALDI-TOF-MS を用いた検討がなされており、①SDS-PAGE (還元) で、 [] kDa に重鎖、 [] kDa に軽鎖の泳動帯が認められ、SDS-PAGE (非還元) で約 [] kDa に hP67.6 由来の泳動帯が認められること、②IEF で pI [] ~ [] の範囲に [] 本の泳動帯が認められること、③サイズ排除クロマトグラフ法で、単量体は約 [] kDa の位置 (理論質量 [] kDa よりもわずかに低い値) に、凝集体 (含量：約 []%) は約 [] kDa の位置に溶出すること、④MALDI-TOF-MS により測定した結果、分子量は [] kDa であることが確認されている。また、生物学的性質として、hP67.6 の CD33 に対する抗原結合能 (添加したた

ん白質量に対する CD33 に結合したたん白質の割合)は ■■■%であることが確認されている。さらに、不純物についての検討が行なわれ、ウエスタンブロット法により目的物質由来不純物の確認がなされている他、工程由来不純物であるプロテイン A、マウス DNA、ホストセルたん白質含量が測定されている。

規格及び試験方法

hP67.6 の規格及び試験方法として、性状、微粒子、確認試験 (SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法 (非還元)、等電点電気泳動法、ペプチドマップ*、オリゴ糖マップ*) pH、純度試験 (凝集体、プロテイン A、ホストセルたん白質)、微生物限度、エンドトキシン試験、マイコプラズマ、ウイルス試験 (MRC-5、VERO、NS0、324K の各細胞に接種した時にウイルスが検出されない)、重鎖及び軽鎖 (SDS-PAGE (還元)における重鎖及び軽鎖の割合)、力価 (抗原結合能)、定量 (たん白質量) の各試験が設定されている (*:機構からの指摘により、規格設定された)。

ii) 活性 *N*-アセチルカリケアマイシン DMH AcBut

活性 *N*-アセチルカリケアマイシン DMH AcBut (CL-191,548) は、土壤菌の *Micromonospora echinospora ssp. calichensis* から単離され DNA 傷害作用を持つ γ -カリケアマイシンを親化合物とするカリケアマイシン誘導体である。

製造方法

カリケアマイシン産生株である菌株■■■■■は MCB 及び WCB として維持されており、これらは-■■°Cで保存されている。WCB の保存中の安定性試験 (-■■°C、■■カ月)の結果、生存率の低下は認められておらず、WCB のリテスト期間は■■年と設定されている。

カリケアマイシンは、一次種培養工程 (WCB 1 バイアル→■■mL)、二次種培養工程 (■■mL→■■L)、生産発酵培養工程 (■■L→■■L) から成る約■■週間の発酵培養を行なった後、合成吸着剤により抽出される。カリケアマイシン糖鎖部位の■■■基を■■■■■後、■■■■■及び■■■■■によりトリスルフィド部位を修飾し、■■■■■にて■■■■■を活性化し、CL-191,548 を製造する。

なお、製造に用いられる原材料のうち動物に由来するものとして、ペプトン (米国産のウシ骨格筋由来) と加水分解カゼイン (オーストラリア産、ニュージーランド産のウシ乳由来) が挙げられている。

構造決定、物理的・化学的性質、規格及び試験方法

CL-191,548 の構造は、赤外吸収スペクトル、紫外可視吸収スペクトル、核磁気共鳴スペクトル ($^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$)、質量分析、元素分析、旋光度により確認されている。また、物理的・化学的性質として、性状と類縁物質の解析がなされている。

CL-191,548 の規格及び試験方法として、性状、確認試験 (赤外吸収スペクトル法、液体クロマトグラフ法)、純度試験 (総類縁物質、カリケアマイシン、残留溶媒)、水分、定量が設定されている。

iii) ゲムツズマブオゾガマイシン (遺伝子組換え)

製造方法

ゲムツズマブオゾガマイシン (遺伝子組換え) (CMA-676) は、CL-191,548 を、
存在下で、hP67.6 のリジン残基のイプシロンアミノ基と共有結合させた
ものであり (縮合反応)、サイズ排除クロマトグラフィーにより精製後、製剤化緩衝液
(mol/L リン酸ナトリウム/ mol/L 塩化ナトリウム/ $\%$ 精製白糖/ $\%$ デキスト
ラン 40、pH \pm) でたん白質量を調製後、孔径 μm の製フィルターでろ
過し、製造される。

縮合反応の工程内管理項目として、hP67.6 の重鎖及び軽鎖、抗原結合能、エンドトキ
シン試験が設定されている。また、工程プロセス評価として、製造工程中の一時保存時条
件の検討がなされている。

なお、製造に用いられる原材料のうち動物に由来するものとして、デキストラン 40 と
サイズ排除クロマトグラフィー担体が挙げられており (いずれも米国産のウシ乳由来)、
これらは生物由来原料基準に基づいて選定されたものを用いることとされている。

物理的・化学的性質及び生物学的性質

CMA-676 の物理的・化学的性質として、①SDS-PAGE (非還元)、②SDS-PAGE (還
元)、③SDS-PAGE (還元+ウエスタンプロット法)、④IEF、⑤サイズ排除クロマトグラ
フ法を用いた検討がなされており、①SDS-PAGE (非還元) で約 kDa に hP67.6 由
来の主泳動帯を示すこと、②SDS-PAGE (還元) で、約 kDa に hP67.6 重鎖由来の泳
動帯、約 kDa に hP67.6 軽鎖由来の泳動帯を示すこと、③SDS-PAGE (還元) を行な
った後、抗カリケアマイシン抗体を用い、ウエスタンプロットを行なったところ、カリケ
アマイシンを含む泳動帯を示すこと、④IEF で pI \sim の範囲に つ の主泳動帯を
示すこと、⑤サイズ排除クロマトグラフ法で、単量体のピークに対し、相対保持時間約
及び約 の位置に CMA-676 の凝集体を認めることが確認されている。また、
CMA-676 に含まれる総カリケアマイシン誘導体量及び非結合カリケアマイシン誘導体量
の測定がなされ、たん白質 1mg あたりカリケアマイシン誘導体を $\sim\mu\text{g}$ 含むこと、
CMA-676 のたん白質に対するカリケアマイシン誘導体のモル比は 1.8 \sim 3.0 であること、
及び非結合カリケアマイシン誘導体はたん白質 1mg あたり μg 以下であることが確認さ
れている。

生物学的性質として、以下の評価がなされている。

①殺細胞活性：

CMA-676 の殺細胞活性について CD33 抗原陽性ヒト白血病細胞 HL-60 を用いて ^3H -チ
ミジンの取り込み量を指標として評価したところ、 IC_{50} 値は細胞 1×10^5 個に対して \sim
 ng (たん白質) /mL であった。

CMA-676 の殺細胞活性に与える hP67.6 の影響 (マトリックス効果) を検討するため、
hP67.6 と CMA-676 の混合比を 0.5 : 1 から 16 : 1 とした溶液を用いて試験を行ったとこ
ろ、hP67.6 と CMA-676 の比が 以上 : 1 では、殺細胞活性は認められなかった。これ
は、HL-60 細胞の CD33 抗原部位が hP67.6 により飽和され、CMA-676 が CD33 に結合

できず、HL-60 細胞内に CMA-676 が取り込まれなくなったためと考えられている。また、hP67.6 単独では殺細胞活性は認められていない。

また、CD33 を認識しない抗体とカリケアマイシン誘導体の結合体を作製し、殺細胞活性を測定したところ、CMA-676 の [] 分の 1 以下であった。この値は、この結合体が CD33 を認識しないことから、カリケアマイシン誘導体単体の殺細胞活性を示しているものと考えられている。

以上の結果を踏まえ、CMA-676 の hP67.6 が CD33 と結合し、CMA-676 が細胞内に取り込まれ、カリケアマイシン誘導体が殺細胞活性を発現すると考えられている。

②抗原結合能：

CMA-676 の抗原結合能について CD33 を抗原とした ELISA により測定したところ、CMA-676 の抗原結合能 ([] ロット： [] ~ [] %) は hP67.6 の抗原結合能 ([] ロット： [] ~ [] %) と同等であり、カリケアマイシンとの結合による影響はないことが確認されている。

さらに、カリケアマイシン誘導体の hP67.6 への結合部位についての検討がおこなわれ、カリケアマイシン誘導体は hP67.6 の重鎖の 242、286、330 及び 388 位のリジン残基に結合することが確認されている。

規格及び試験方法

CMA-676 の規格及び試験方法として、性状、確認試験 (SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法 (非還元)、等電点電気泳動法、ペプチドマップ*、オリゴ糖マップ*) pH、純度試験 (凝集体、非結合カリケアマイシン誘導体、非結合抗体)、エンドトキシン試験、微生物限度、重鎖及び軽鎖、総カリケアマイシン誘導体、力価 (殺細胞活性、抗原結合能)、定量 (たん白質量) が設定されている (*: 機構からの指摘により、規格設定された)。

2) 製剤

製造方法、製剤設計

製剤は、CMA-676 原液を孔径 [] μm の PVDF 製フィルターで無菌ろ過後、バイアルに充填し、凍結乾燥した後、ゴム栓で閉栓したものである。CMA-676 は、高圧蒸気滅菌では不安定であるため、無菌ろ過による無菌製剤とされている。また、水溶液中で長期間保存した場合、CMA-676 の安定性が十分に確保されないことから、用時溶解の凍結乾燥製剤とされている。さらに、光に対して不安定であることから、遮光保存とされている。

開発初期の臨床試験及び非臨床試験 (毒性、薬理、薬物動態) に使われた製剤は、 [] [] 中に [] 及び [] を含む凍結乾燥製剤であった。しかし、実生産スケールでは、凍結乾燥時にケーキ外観を保持することが難しいことが判明したことから、ケーキ外観を保持でき、5°C で長期間安定性が確保できる処方への検討がなされ、申請製剤は、凍結乾燥前に、 [] mol/L リン酸緩衝液中に精製白糖を [] mol/L、デキストラン 40 を [] %、塩化ナトリウムを [] mol/L 含むように製剤設計された。処方に含まれる塩化ナトリウム及び精製白糖は、CMA-676 の [] を安定化する []

の役割を果たし、精製白糖は、凍結乾燥工程における[]として、デキストラン 40 は []としての役割を果たしている。

規格及び試験方法

製剤の規格及び試験方法として、性状、確認試験（SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法（非還元）、等電点電気泳動法）pH、純度試験（溶状、凝集体、非結合カリケアマイシン誘導體、非結合抗体）、水分、エンドトキシン試験、不溶性異物検査、不溶性微粒子試験、無菌試験、含量均一性試験、重鎖及び軽鎖、総カリケアマイシン誘導體、力価（殺細胞活性、抗原結合能）、定量（たん白質量）が設定されている。

3) 標準物質

ゲムツズマブオゾガマイシン標準物質の規格及び試験方法として、性状、確認試験（SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法（非還元）、等電点電気泳動法、ペプチドマップ*、オリゴ糖マップ*）、pH、純度試験（溶状、凝集体、非結合カリケアマイシン誘導體、非結合抗体）、水分、エンドトキシン試験、不溶性異物検査、不溶性微粒子試験、無菌試験、含量均一性試験、重鎖及び軽鎖、総カリケアマイシン誘導體、力価（殺細胞活性、抗原結合能）、定量（たん白質量）が設定されている（*：機構からの指摘により、規格設定された）。

(2) 審査の概略

機構では、主として以下の点について審査を行なった。機構からの照会に対して提出された回答内容については、概ね問題はないと考えるが、専門協議を踏まえて最終的に判断する。

1) CMA-676 の特性が殺細胞活性に与える影響について

CMA-676 は、カリケアマイシン非結合抗体を 50%以上含み、結合しているカリケアマイシンの数は一定でなく、IEF の結果からみると hP67.6 にもロット間でバリエーションが認められる。さらに、力価（殺細胞活性）の規格が []～[]ng（たん白質）/mL と幅広く設定されていることから、機構は、これらの CMA-676 の品質に関する特性（ばらつき等）が殺細胞活性に与える影響について説明を求めるとともに、一定の品質を確保するために、承認申請時の特性解析及び規格設定で十分であるか（特に、最低限の品質確保のために、ペプチドマップ及び糖鎖に対する規格を設定する必要があるか）見直すよう求めた。

申請者は以下のとおり回答した。

hP67.6 及び CMA-676 は適切に管理された一連の製造工程により製造されており、一定の品質を有する hP67.6 及び CMA-676 が恒常的に得られていると判断している。しかしながら、恒常的にペプチドマップやオリゴ糖マップを実施していないために、hP67.6 と CL-191,305 の結合部位を確認するためのデータの蓄積はなく、オリゴ糖のプロファイルと力価の関係が不明である等、品質上のどのような特性が力価に影響するのかわからない。これを踏まえ、hP67.6 及び CMA-676 の糖鎖付加・脱アミド化・酸化等によるたん白質修飾等を検出することを目的として、ペプチドマップを規格設定することとし

た。また、糖鎖構造の違いが糖たん白質の物理的・化学的性質に微妙な変化をもたらし、糖たん白質の生理機能を大きく変化させることが一般的に知られているため、糖鎖の不均一性の程度及びプロファイルを把握し、ロット間での恒常性を保証するべく、オリゴ糖マップを規格設定することとした。

また、機構は、CMA-676 原薬及び製剤の力価（殺細胞活性）の規格値には 10 倍の幅があり（ \sim \blacksquare ng/mL）、有効性等にロット間で大きな差が生じる可能性が考えられることから、臨床試験に用いられた製剤間（例えば、殺細胞活性が \blacksquare ng（たん白質）/mL と \blacksquare ng（たん白質）/mL のロット）で有効性及び安全性に違いがなかったか説明するとともに、規格値をより厳しく改めることを検討するよう求めた。

申請者は以下のとおり回答した。

殺細胞活性が \blacksquare 及び \blacksquare ng（たん白質）/mL のロットを使用した臨床試験はいずれも海外にて実施されたもので、同一試験に複数のロットが使用され、個々の症例に使用されたロット情報がデータベースに入力されていないため、殺細胞活性値が \blacksquare ng（たん白質）/mL と \blacksquare ng（たん白質）/mL のロット間における有効性及び安全性の比較はできなかった。しかしながら、すべての臨床試験間において、有効性及び安全性に特筆すべき差は認められていないことから、殺細胞活性の結果に 10 倍の幅があることが、臨床における有効性等に 10 倍の差があることを意味するものではないと判断する。また、殺細胞活性はロット間において差が認められ、 \blacksquare \sim \blacksquare ng/mL よりも狭い範囲での制御は困難であると回答した。

機構は、殺細胞活性の異なるいくつかのロットが使用された試験同士の成績を比較しても、殺細胞活性の異なるロット間での有効性及び安全性の違いを検出することは困難であり、殺細胞活性と臨床における有効性及び安全性の関係が必ずしも明らかとはいえないと考えられたことから、ロット間での有効性及び安全性の違いについては原資料を含めて可能な限り調査し、考察するように申請者に照会中である。また、 \blacksquare \sim \blacksquare ng/mL よりも狭い範囲での制御は製造上困難であることは理解するが、臨床で一定の有効性と安全性を示す製品を恒常的に製造するという観点にたつて、力価（殺細胞活性）の規格値を設定すべき/見直すべきであることから、力価（殺細胞活性）と臨床での有効性及び安全性との関係について、市販後に更なる情報収集をする必要性について申請者の回答内容及び専門協議の議論を踏まえて判断したいと考える。

次に、CMA-676 に対するカリケアマイシン誘導体のモル比は 1.8 \sim 3.0 とされており、米国添付文書の組成・性状には「ゲムツズマブオゾガマイシンは、その 50%の抗体が 1 モルにつき 4 \sim 6 モルのカリケアマイシンと結合し、残りの抗体はカリケアマイシンとは結合していない。」とされていることから、機構は、結合しているカリケアマイシン誘導体のモル比によって、力価（殺細胞活性）に違いがないか説明するとともに、ロット毎の結合カリケアマイシン誘導体のモル比が常に一定であるのか説明するよう求めた。

申請者は以下のとおり回答した。

結合しているカリケアマイシン誘導体のモル比を大きく変えて殺細胞活性を評価した結果は得られていない。しかし、CMA-676 原液 \blacksquare ロットの非結合抗体は \blacksquare \sim \blacksquare % とほぼ

一定しており、これらのロットの総カリケアマイシン誘導体量及び非結合カリケアマイシン誘導体量から結合カリケアマイシン量を求め、CMA-676 のたん白質量（総抗体量）に対する結合カリケアマイシン誘導体の平均モル比を推定すると、■■～■■（平均■■）とほぼ一定である。さらに、この値及び非結合抗体（%）から推定した結合抗体あたりの平均カリケアマイシンモル比は■■～■■（平均■■）とほぼ一定である。一方、殺細胞活性の結果は■■～■■ng（たん白質）/mL であり、殺細胞活性と結合しているカリケアマイシン誘導体のモル比との間に相関は認められていない。

機構は、hP67.6 と CMA-676 の比が■■以上：1 の場合、殺細胞活性は認められないことが示されていることから、このような hP67.6 の影響（マトリックス効果）は *in vivo* でも認められるのか血中濃度等を踏まえ説明するよう求めた。

申請者は以下のとおり回答した。

hP67.6 を CMA-676 に■■以上：1 の比率で添加した際には *in vitro* で CMA-676 の殺細胞活性が認められなくなったが（マトリックス効果）、■■以下：1 の比率で添加した際には CMA-676 の殺細胞活性の顕著な低下は認められなかった。一方、臨床試験における hP67.6 及び総カリケアマイシン誘導体の血中濃度測定では、hP67.6 とカリケアマイシン誘導体の結合体/非結合体を区別していないため、hP67.6 とカリケアマイシン誘導体の結合体/非結合体の血中濃度推移に関するデータはなく、*in vivo* におけるマトリックス効果の検討も行っていない。しかしながら、CMA-676 中のカリケアマイシン誘導体の結合した抗体と非結合抗体である hP67.6 の存在比（■■：■■）及び *in vitro* での試験結果を考慮すると、本剤の投与によりマトリックス効果が起こる可能性は少ないものと思われる。

機構は、回答を了承した。

また、機構は、殺細胞活性に影響すると考えられる抗原結合能や非結合抗体の規格値は実測値を踏まえ、見直すよう求めたところ、それらの規格値が適切に改められた。

以上、機構は、力価（殺細胞活性）に影響を与えると考えられる要因についての検討を行ってきたが、特に力価（殺細胞活性）と臨床での有効性及び安全性との関係については、申請者の回答内容及び専門協議の議論を踏まえ、市販後における更なる情報収集の必要性について判断することとした。

2) hP67.6 のセルバンクの管理について

機構は、MCB の保存中の品質の確認について、WCB 調製時に細胞生存率を測定することにより行うこととされているが、WCB の更新は約■■年後であることが想定されることから、試験間隔の妥当性について説明するとともに、試験項目として細胞生存率のみで品質確認が可能と判断した理由を説明するよう求めた。

申請者は以下のとおり回答した。

製造元では、MCB の有効期限として、当初アンプルを凍結保存した日から■■年間を設定したが、有効期限である■■年後の細胞生存率を測定した結果、細胞生存率が判定基準を満たし、前回の細胞生存率と差が認められなかったため、さらに有効期限を■■年間延長し現在に至っているが、MCB の保存中の品質の確認については、WCB 調製時及び■■年毎に細胞生存率を測定することにより行うこととした。また、

WCB 調製時には各種特性解析試験を行い、WCB の品質を確認しているため、MCB の保存中の品質については細胞生存率のみで確保できると判断した。

機構は、WCB の保存中の品質の確認についても、hP67.6 製造時に細胞生存率を測定することにより行うこととされていることから、およその製造間隔を示した上で、試験間隔の妥当性について説明するよう求めた。

申請者は、19■■年■■月から 20■■年■■月までの約■■年間で■■アンプルの WCB が製造に使用され、今後も同等な規模で生産を続けると仮定した場合、およその製造間隔は■■～■■カ月であることから、WCB の保存中の品質はこの間隔で試験を行うことにより担保できると判断したと回答した。

機構は、セルバンクの管理方法の妥当性については、専門協議の議論を踏まえ判断することとした。

3) hP67.6 の同等性/同質性について

hP67.6 は申請に至るまでに、遺伝子発現構成体の変更と精製工程中へのフィルターによるウイルス除去工程の追加がなされている。遺伝子発現構成体の変更に伴い、同等性/同質性の評価が行なわれ、糖分析（電荷プロファイル）で変更後の hP67.6 にシアリル体の著しい増加が認められたにもかかわらず、ペプチドマップで変化は認められておらず、「同等/同質の品質を有している」と結論していることから、変更前後での IEF 及びペプチドマップのデータを示し、「同等の品質を有している」とする根拠を説明するよう求めた。

申請者は以下のとおり回答した。

IEF の結果、両者共に pI■■～■■に■■種の主泳動帯を認めたものの、バンドの表れ方に違いが見られ、米国 Wyeth 社はこの理由を製造スケールの違いと IEF の感度によるとしているが、明確な理由は不明である。一方、ペプチドマップの結果、主要なピークは両者で同様に検出された。

なお、遺伝子発現構成体の変更により、hP67.6 のシアリル体含量に変化は認められたものの、その他の物理的・化学的性質に変化は認められず、力価（殺細胞活性及び抗原結合能）にも変化は認められなかった。また、雄性サルの間欠静脈内投与試験において毒性の発生頻度及び程度に差は認められず、薬物動態学的パラメータにも差は認められなかった。以上を総合的に判断し、遺伝子発現構成体の変更前後における hP67.6 は同等/同質の品質を有するものと結論した。

機構は、遺伝子発現構成体の変更前後の hP67.6 の同等性/同質性については、物理的・化学的性質に若干の変化が認められたものの、これが临床上大きな影響を与えるとは考えられず、国内臨床試験及び海外の第Ⅱ相試験以降は変更後の製剤（申請製剤）が用いられていることから、特段の問題はないと考える。しかしながら、変更前後のロットでシアリル体の含量の違いがあること、及び変更後のロット間において IEF のバンドの現れ方の違いがあることから、品質の恒常性を担保するために糖鎖の規格を設定するよう求めた。

申請者は、糖鎖に関して十分蓄積されたデータはないため、オリゴ糖マップを hP67.6 の確認試験として設定し、糖鎖の不均一性の程度やプロファイルを恒常的に管理し、ロッ

ト間での品質を保証すると回答し（ロ（2）1）CMA-676 の特性が殺細胞活性に与える影響について 参照）、機構はこれを了承した。

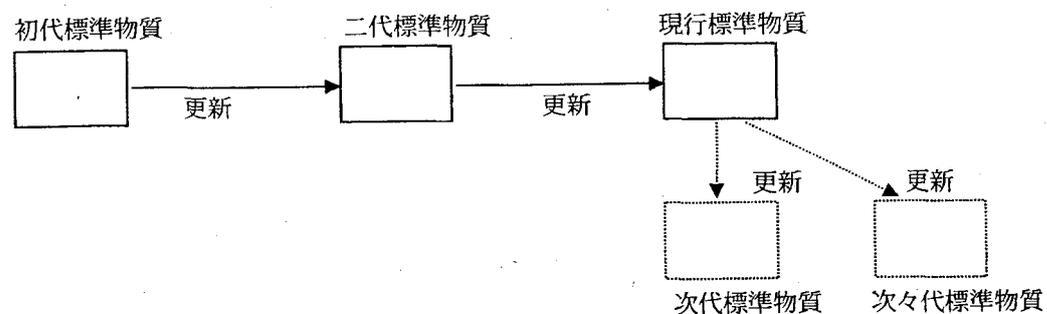
4) hP67.6 及び CL-191,548 の規格及び試験方法について

機構は、hP67.6 及び CL-191,548 について、試験方法、分析法バリデーション、規格値の設定根拠の説明がなかったことから、これらについて説明するよう求めたところ、適切な対応がなされたことから、機構はこれを了承した。

5) 標準物質について

機構は、標準物質は原薬及び製剤の規格を設定する上で原器となるものであることから、より厳密に規格設定をする必要があるにもかかわらず、承認申請時における標準物質の規格及び試験方法は、現行の製剤の規格を準用して順次更新されるよう設定されており、初めに設定された標準物質と、何回か更新された後の標準物質が同じものであるということを保証し難いと考えられることから、標準物質の位置付けを再考し、その規格設定を根本的に見直すよう求めた。

申請者は、これまで作成した標準物質の関係は以下のとおりであるが、今後の標準物質の更新には、現行標準物質を原器として用いることから、今後規格のずれは生じないと考えたと回答した。



また、標準物質の規格及び試験方法等に関して、以下のような説明がなされた。

抗原結合能（力価）を ELISA から表面プラズモン共鳴を用いた試験方法に変更し、CD33 との結合能を絶対的な値として求めることとした。また、標準物質の品質を恒常的に管理するために、新たにペプチドマップを設定し、クロマトグラムから分離されたペプチドを質量分析装置で分析することとした。さらに、オリゴ糖マップによりオリゴ糖組成を確認することとした。これらのことから、より質の高い管理が可能となり、一定の品質を有する標準物質を確保することが可能と考える。

標準物質の安定性試験の結果、標準物質を -80°C で保存することで、安定性に変化はないと推定できる。

機構は、標準物質の規定の妥当性については、現行標準物質を原器として今後の標準物質が適切に更新されるような規格設定となっているか等について専門協議の議論を踏まえて判断することとした。

6) ウシ由来原材料について

平成 16 年 7 月 5 日厚生労働省告示第 262 号をもって、生物由来原料基準の一部が改正され、平成 15 年 12 月に米国において BSE 感染牛が確認されたことに伴い、反芻動物由来原料基準のうち、医薬品、医療用具等の原材料として使用することができるウシ及びその他の類縁反芻動物由来物の原材料の原産国から「アメリカ合衆国」が削除された。しかしながら、hP67.6 の製造工程にはアメリカ合衆国産のウシ血清アルブミン及びウシ胎児血清が使用されていることから、生物由来原料基準の第 4 の 1 の (5)「治療上の効果が当該原材料を用いることによるリスクを上回る場合その他必要な場合において、(2)又は(3)に適合しない原材料をやむを得ず使用する場合は、その妥当性について、薬事法に基づく製品の製造等の承認の際に交付される承認書に記載することとする」に該当し得るか、平成 15 年 12 月 25 日付薬食発第 1225005 号通知、平成 16 年 2 月 18 日付薬食審査発第 0218001 号 薬食安発第 0218003 号通知、平成 16 年 2 月 18 日付 薬食発第 0218004 号通知、平成 16 年 3 月 30 日付薬食審査発第 0330023 号通知、平成 16 年 7 月 5 日付薬食審査発第 0705001 号通知等に対する対応状況も含め、申請者の見解を示すよう求めた。

これに対し、申請者は本剤のリスク・ベネフィット及び通知に対する対応状況について以下のように回答した。

hP67.6 の製造過程で用いられている米国産のウシ由来成分は、セルバンク樹立の際に用いた培地成分及び細胞培養工程の培地成分であるウシ血清アルブミン、並びにセルバンク樹立の際に用いた培地成分と MCB 及び WCB の調製時に用いる凍結保存用の培地成分であるウシ胎児血清である。①リスク評価、②原材料の切替えについて説明する。

①リスク評価

本薬の製造過程で用いられているウシ血清アルブミンは、と殺年齢が 30 カ月未満の米国産の食肉用雄ウシから血液を採取しており、ウシの飼料として他のウシ由来の食物など反芻動物に由来する原材料を一切使用していないことから BSE に感染している可能性は少ないと考えられる。

さらに、使用されるウシは屠殺前後の検査及び米国農務省 (USDA) の検査官の所定の業務によってその適性が検証されている。採血にあたっては、特定危険部位が混入するような方法は採られていない。このように、感染したウシから血液が採取される可能性はかなり低く、また危険部位との接触や交差汚染の可能性も極めて低いと考えられる。

加えて、製造業者は生産されたウシ血清の安全性を担保するためにトラッキングシステムを採用している。また、現在までに、本製造業者の製品で BSE と関連付けられたものは全く確認されていない。なお、米国産の本原材料に対しては 20 年 月 日付けで欧州薬局方委員会 (EDQM) から 20 年 月 日から 5 年間の期限付きで BSE に関する基準に合致していることを示す証明書が発行されている。

平成 15 年 8 月 1 日付第 0801001 号厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知別添に従い「原材料原産国の地理的リスク及び部位のリスク評価」に「製品の製造過程の処理、使用方法によるリスク評価」を加え本品の BSE に関するリスク評価を行った結果、合計値は -26.7 であり、これは使用方法・製造中の処理等を考慮しないレベル 4 の「-3 未満」

であったことから、本剤の使用にあたり、TSE に感染するリスクはきわめて低いと考えられる。

本薬の製造過程で用いられているウシ胎児血清は、母牛をと殺後、子宮を取り出し、これを隔離された採血区画に移送後、胎児の心臓に穿刺し血液を直接採取している。さらに、母牛はと殺前後の検査等 USDA の検査官の所定の業務によってその適性が検証されている。このようなことから、感染した母牛の胎児を使用する可能性は低く、かつ胎児から採血されているため BSE に汚染された血清が使用される可能性は極めて少ないと考えられる。また、危険部位との接触や交差汚染の可能性もかなり低いと考えられる。

加えて、製造業者は生産された仔ウシ血清の安全性を担保するためにトラッキングシステムを採用している。また、現在までに、本製造業者の製品で BSE と関連付けられたものは全く確認されていない。なお、米国产の本原材料に対しては 20 年 月 日付けで EDQM から 20 年 月 日から 5 年間の期限付きで BSE に関する基準に合致していることを示す証明書が発行されている。

本剤の BSE に関するリスク評価を行った結果、合計値は -13.7 であり、これは使用方法・製造中の処理等を考慮しないレベル 4 の「-3 未満」であったことから、本品の使用にあたり、TSE に感染するリスクはきわめて低いと考えられる。

以上より、品質の面のリスクに関して、本薬の使用に際し TSE に感染する可能性はきわめて低いと考える。

②原材料の切替えについて

米国を原産国とするウシ血清アルブミンについては、ニュージーランドを原産国とするウシの血液への切替えを予定しており、hP67.6 の製造において、20 年第 4 四半期から 20 年第 1 四半期に予定している実生産スケールでの製造及び工程評価により、その適合性を確認する。その後、これを使用して製造する製剤での適合性を確認し（20 年第 4 四半期）、ニュージーランドを原産国とするウシの血液に由来するウシ血清アルブミンを培養工程に使用して製造した製剤に切り替えるための一部変更承認申請を行う。

また、米国を原産国とするウシ胎児血清については、上記の一部変更承認申請の承認を所得した後、ニュージーランド又はオーストラリアを原産国とするウシ胎児血清をワーキングセルバンクの更新に用いるための一部変更承認申請を行う。

③本薬のベネフィットについて

本薬の AML 治療における利点として、初回寛解導入に不応であった非寛解例に対するサルベージ療法、再発後のサルベージ療法、強力な化学療法の対象とならない高齢者等に対して適用可能な治療法であることが挙げられる。さらに、今後未治療 AML や再発・難治例を対象とした他剤との併用療法の検討が進めば、本剤は初回寛解導入療法や地固め療法等の、AML の化学療法における様々な局面において寄与し得るものと考えられる。

以上の申請者からの説明を受け、機構は製造工程中でアメリカ合衆国产のウシ由来原材料を用いることのリスクとベネフィットについて評価した。その際、本薬は、同じ申請者

により開発/申請された既承認のエンブレル皮下注用 25mg（一般名：エタネルセプト（遺伝子組換え））と同様の精製工程を経ていることから、エンブレル皮下注用 25mg の専門協議の議論を参考に検討した。なお、エンブレル皮下注用 25mg の専門協議の際には、品質上の安全性に関して、以下のような議論及び情報提供がなされた。

- ・ 血液は感染性の認められない組織に分類されているが、近年、実験動物で血液は TSE の感染性があることが証明され（Transfusion 39: 1169-1178, 1999）、次いで BSE の輸血による羊への感染（Lancet 356: 999-1000, 2000）及び人における vCJD の輸血による伝播の報告（Lancet 363: 417-422, 2004）等がなされている。ただし、ウシについては未だ報告はない。
- ・ ひとたび宿主細胞中に異常プリオンが混入した場合、宿主細胞中の正常プリオンが培養時に異常化する可能性が否定できないことから、培養液等で希釈が行なわれていることは必ずしもリスクを低減することにならない。
- ・ 異常プリオンは DEAE 陰イオン交換クロマトグラフィー等のカラムから溶出しないため、感染性を低減させるためには有効と考えられる。
- ・ DEAE 陰イオン交換クロマトグラフィー等のカラムによって除去されなかった分子については、50nm のウイルス除去膜によるろ過では除去の効果は不十分（15nm であれば有効）である。
- ・ 以上の議論及び提出されたリスク評価の数値から、本剤による現実的な TSE 感染のリスクは極めて低いと考えられる。ただし、TSE 感染にリスクを完全に否定し得ないことから、速やかに BSE 非発生国の原材料への切替えを行うべきである。
（以上、エンブレル皮下注用 25mg の専門協議より、本薬と共通する点のみ）

機構は、エンブレル皮下注用 25mg と同様、本薬による TSE 感染のリスクは完全に否定し得ないものの、リスク評価の数値が示すとおり極めて低いものであり、本薬による治療上の効果が当該原材料を用いることによるリスクを上回ると考えられたことから、生物由来原料基準の第 4 の 1 の (5) に該当するものと判断した。また、本薬による TSE 感染のリスクは完全に否定し得ないことから、添付文書上でインフォームドコンセントの際に十分な情報提供を講じる必要はあるものの、本薬が再発又は難治急性骨髄性白血病に用いられることを鑑み、BSE 未発生国を原産国とするウシ血清への切替えがなされるまでの間、承認を待つものではないと考えているが、この妥当性については、専門協議の議論を踏まえ判断することとした。

7) ヒト由来原材料

機構は、hP67.6 の製造に、ヒト由来原材料としてヒトトランスフェリン及びプロテイン A 精製用アフィニティークロマトグラフィー担体（ヒト γ グロブリン）が用いられていることから、ドナースクリーニングの内容、トレーサビリティの確保及びウイルスクリアランスについて説明するよう求めた。

申請者は以下のとおり回答した。

ヒトトランスフェリンは、米国の健康なヒトの血液に由来するものであり、血清に対し

てドナースクリーニング (HBs 抗原、抗 HCV 抗体、抗 HIV-1 抗体、抗 HIV-2 抗体、梅毒に陰性) を実施して適格性が確認されており、60℃、10 時間の加熱殺菌方法により病原体の不活化及び除去処理を行ったものである。ウイルス除去効率は、ヒト免疫不全ウイルス (HIV-1)、ウシウイルス性下痢ウイルス (BVDV)、A 型肝炎ウイルス (HAV)、仮性狂犬病ウイルス (PRV) で 5log 以上、ブタパルボウイルス (PPV) で約 3log であった。採血日、採血施設、プール血漿に用いた血漿の供血者を特定できる情報等を記載した書類が製造業者 (又は採血所) で保管され、トレーサビリティは確保されている。

プロテイン A アフィニティークロマトグラフィー担体は、フィンランド及びスウェーデンの健康なヒトの血液から抽出された免疫グロブリンから調製されたものである。血清に対してドナースクリーニング (HBs 抗原、抗 HCV 抗体、抗 HIV-1 抗体、抗 HIV-2 抗体に陰性、アラニンアミノトランスフェラーゼ量を測定) を実施して適格性が確認されており、コーンの低温エタノール分画法及び界面活性剤溶媒処理 (New York Blood Centre、0.3%リン酸トリ-n-ブチル/1% Tween80) 方法によりウイルスの不活化及び除去処理を行ったものである。採血業者と製造業者間の相互情報交換システムが確立されており、採血日、採血施設、プール血漿に用いた血漿の供血者を特定できる情報等を記載した書類が製造業者 (又は採血所) で保管され、トレーサビリティは確保されている。なお、20 年度末以降より、ヒト由来のγグロブリンを用いないプロテイン A アフィニティークロマトグラフィー担体への切替えを予定している旨の説明がなされている。

ハ. 安定性に関する資料

(1) 提出された資料の概略

1) 原薬の安定性

原薬であるゲムツズマブオゾガマイシン (遺伝子組換え) は、遺伝子組換えヒト化抗 CD33 モノクローナル抗体とカリケアマイシン誘導体を化学的に結合させたものであり、ヒト化抗 CD33 モノクローナル抗体及び活性 N-アセチルカリケアマイシン DMH AcBut は重要中間体とされ、原薬と同様、重要中間体についてもリテスト期間が定められている。

i) ヒト化抗 CD33 モノクローナル抗体

ヒト化抗 CD33 モノクローナル抗体の安定性について、5℃/ 製容器/36 カ月間の検討が行なわれた。性状、微粒子、確認試験 (SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法 (非還元)、等電点電気泳動法) pH、純度試験 (凝集体)、無菌試験、重鎖及び軽鎖、力価 (抗原結合能)、定量 (たん白質量) について測定がなされ、これらの試験項目にほとんど変化は認められなかった。申請者は、ヒト化抗 CD33 モノクローナル抗体を 製容器に入れ、5℃で保存したときのリテスト期間を カ月と設定した。

ii) 活性 N-アセチルカリケアマイシン DMH AcBut

活性 N-アセチルカリケアマイシン DMH AcBut の安定性について、—℃/遮光/ 袋/36 カ月間の検討が行なわれ、性状、確認試験 (液体クロマトグラ

法)、純度試験(総類縁物質)、水分について測定がなされた。水分の増加が認められたが、その他の試験項目に変化は認められなかった。申請者は、活性 N-アセチルカリケアマイシン DMH AcBut を [] + [] 製袋で - [] °C 以下、遮光保存したときのリテスト期間を [] カ月と設定した。

iii) ゲムツズマブオゾガマイシン(遺伝子組換え)

ゲムツズマブオゾガマイシン(遺伝子組換え)の安定性について、5°C(5°C/暗所/[])製プラスチック袋/4週間)及び25°C60%RH(25°C/60%RH/暗所/[])製プラスチック袋/1週間)の条件下で検討が行なわれ、性状、確認試験(SDS-PAGE、IEF)、pH、純度試験(凝集体、非結合カリケアマイシン誘導体)、重鎖及び軽鎖、総カリケアマイシン誘導体、力価(殺細胞活性、抗原結合能)、たん白質量について測定がなされた。いずれの条件下でも、凝集体及び非結合カリケアマイシンの増加が認められたが、その他の試験項目に変化は認められなかった。

これらの結果から、申請者は、原液を [] 製プラスチック袋、遮光、5°Cで [] 週間保存できるとし、リテスト期間を [] 週間と設定した。

2) 製剤の安定性

製剤について、①長期保存試験(5°C/暗所/密封褐色ガラス瓶/36カ月)、②加速試験(25°C/60%RH/暗所/密封透明ガラス瓶/24カ月)及び③苛酷試験(サイクル試験:25°C/60%RH/3日間→5°C/3日間→25°C/60%RH/3日間→5°C/2日間保存後、5°C又は25°C/60%RH/暗所/密封褐色ガラス瓶/24カ月、30°C/60%RH/暗所/密封褐色ガラス瓶/3カ月、40°C/75%RH/暗所/密封褐色ガラス瓶/3カ月、光安定性試験:25°C/60%RH/284万Lux・hr(白色蛍光灯)及び222.5W・hr/m²(近紫外蛍光灯)/密封褐色ガラス瓶または密封褐色ガラス瓶+函(遮光))が実施され、性状、確認試験(SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法(非還元)、等電点電気泳動法)、pH、純度試験(溶状、凝集体、非結合カリケアマイシン誘導体)、水分、エンドトキシン試験、不溶性異物検査、不溶性微粒子試験、無菌試験、重鎖及び軽鎖、総カリケアマイシン誘導体、力価(殺細胞活性、抗原結合能)、定量(たん白質量)について測定がなされた。

- ①長期保存試験において、凝集体及び水分のわずかな増加が認められたものの、その他の測定項目においては経時的な変化は認められなかった。
- ②加速試験の結果、凝集体及び水分の増加が認められ、確認試験 SDS-PAGE(非還元)において、12カ月以降、高分子量成分またはたん白質の凝集体による泳動帯が認められた(規格に不適合)が、その他の試験項目に変化は認められなかった。
- ③苛酷試験において、製剤をサイクル試験後、5°C/24カ月保存したとき、全ての試験項目に変化は認められなかったが、25°C/60%RH/24カ月保存したとき、凝集体及び水分の増加が認められ、確認試験 SDS-PAGE(非還元)で高分子量成分又はたん白質の凝集体による泳動帯が認められた(規格に不適合)が、その他の試験項目に変化は認められなかった。また、30°C/60%RH及び40°C/60%RHで3カ月保存した結果、凝集体、非結合カリケアマイシン誘導体及び水分の増加が認められたが、その他の試験項目に変化は認められなかった。光に対しては、曝光品において非結合カリケアマイシン誘導体

の増加が認められたが、遮光品では変化は認められず、その他の試験項目においては曝光品、遮光品とも変化は認められなかった。

これらの結果から、長期保存試験 36 カ月で凝集体及び水分の僅かな増加が認められたものの、試験開始時の品質を維持している（規格の範囲内）と考えられることから、製剤の有効期間は遮光、5℃保存で 36 カ月と設定されている。

3) 溶解後の安定性

溶解後の安定性について、製剤の長期保存試験 36 カ月保存品、加速試験 24 カ月保存品、加速試験（光安定性試験）試料を注射用水 5mL で溶解後、遮光、5℃で 16 時間保存したとき、溶解直後と比較して変化は認められなかったことから、溶解後、遮光 5℃で 16 時間安定であるとされた。

また、原薬であるゲムツズマブオゾガマイシン（遺伝子組換え）を 25℃/60%RH/1 週間保存したところ非結合カリケアマイシン誘導体の増加が認められたため、製剤を溶解した液（1mg/mL）の安定性試験（25℃/60%RH/██████████製プラスチック袋/7 日間）を実施したところ、非結合カリケアマイシン誘導体は 3 日目には ████████ $\mu\text{g}/\text{mg}$ を超え、7 日目まで経時的な増加が認められている。

なお、添付文書の適用上の注意には「バイアルに入った状態の溶解液は、遮光下 2～8℃の保存条件下で最大 8 時間保存可能であるが、速やかに使用すること」と記載されている。また、希釈時には「希釈後は速やかに点滴バックを用いて投与すること」、投与時には「本剤は光による影響を受けやすいため、遮光した点滴バックを用いて投与すること」と注意喚起されている。

(2) 機構における審査の概略

機構は、原薬のリテスト期間及び製剤の有効期間の設定、溶解後の安定性に関する注意喚起は妥当であると判断するが、原薬の光に対する安定性の検討がなされていない等の詳細な点については引き続き検討が必要と考える。

二. 急性毒性、亜急性毒性、慢性毒性、催奇形性その他の毒性に関する資料

(1) 提出された資料の概略

1) 単回投与毒性試験

ゲムツズマブオゾガマイシン（遺伝子組換え）（以下、本薬）の単回投与毒性は、ラット及びサルでの静脈内投与が検討されており、その結果ラット及びサルで概略の致死量はそれぞれ 14mg/m² 及び 55.4mg/m²、最大耐量（最大非致死量）はそれぞれ 9.8mg/m² 及び 36.9mg/m²、無毒性量はそれぞれ 2.8mg/m² 及び 36.9mg/m² と判断されている。主な毒性所見としてラットでは自発運動の低下や褐色尿、尿蛋白及び潜血、ALT、AST、ビリルビンの増加を伴い、病理組織学的に腎臓は尿細管拡張、尿円柱、好塩基性化、肝臓では肝細胞の空胞化・壊死、核・細胞質肥大や胆管増生等が認められた。サルでは嘔吐、軟・水様便等が見られたが、サル及びラット共に出血傾向は認められていない。骨髄の前駆細胞に CD33 抗原を発現するチンパンジーに 2 時間かけて 0.5mg/m² を点滴静脈内投与

したところ、一過性の白血球、AST及びALTの上昇が見られたのみであった。

γ -カリケアマイシンの単回静脈内投与がラットとサルで行われ、概略の致死量は共に10 μ g/kgとされている。

2) 反復投与毒性試験

反復投与毒性試験は、臨床での用法が2週間に1回の2サイクルであることより、ラット及びサルを用いて、週1回(ラット:本薬0.7、2.8、8.4mg/m²/回及びヒト化抗CD33モノクローナル抗体(hP67.6)8.4mg/m²/回、サル:本薬2.46、7.38、22.14mg/m²/回及びhP67.622.14mg/m²/回)6週間静脈内投与で行っている(回復期間はラット、サルとも4週間)。週1回投与を1サイクルとした6サイクル投与試験において、ラット、サルとも死亡動物は見られず無毒性量はラットで0.7mg/m²/回、サルで2.46mg/m²/回と判定されている。

ラット6サイクル投与終了時での主な毒性所見として、2.8mg/m²/回で体重・摂餌量の減少、赤血球数及び白血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値の減少が見られている。血液生化学的検査ではコレステロール、アルカリフォスファターゼ、グロブリンの増加が、剖検では腎臓及び副腎の重量増加、精巣重量の減少が見られた。病理組織学的検査では腎臓の尿細管拡張、尿円柱、尿細管上皮好塩基性化、脾臓の辺縁帯萎縮、乳腺萎縮(雄)が認められた。8.4mg/m²/回では2.8mg/m²/回で認められた所見以外に剖検で肝臓の表面粗及び斑状赤色化、精巣小型化及び腎臓の退色、病理組織学的に肝臓の類洞拡張、卵円形細胞・胆管増生、髄外造血、肝細胞の萎縮・空胞化(雄)、核・細胞質肥大、脾臓の髄外造血亢進、精巣の精細管萎縮、精巣上体の精子減少・脱落細胞、骨髄の壊死、線維化が見られた。6サイクル投与後に4週間の回復期間を設けた動物では、上記変化のうち精巣及び精巣上体での影響を除き回復あるいは回復傾向を示した。0.7mg/m²/回では尿蛋白、白血球の減少、ALT・ASTの増加、肝臓及び脾臓の重量増加が認められたが、いずれも軽度で組織学的変化を伴わず回復性が認められたことから毒性所見と判断していない。hP67.6単独8.4mg/m²/回群では雄で軽度な赤血球の減少が認められた以外、変化はなかった。投与後21、41、65日目に測定した抗体検査ではhP67.6及び本薬(CMA-676)で抗CMA-676抗体陽性反応発現に差異はなく、各測定時期で強陽性例も認めた。

サルでは7.38mg/m²/回以上で体重増加量の減少、白血球数、赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値の減少が、血液生化学的検査ではナトリウム増加、剖検では胸腺小型化、骨髄ゼラチン状化が、病理組織学的には腎臓の尿細管拡張、尿円柱、尿細管上皮好塩基性化、尿細管上皮硝子滴沈着、クッパー細胞色素沈着、胸腺・脾臓リンパ球減少及び胚中心萎縮、骨髄細胞減少が認められた。22.14mg/m²/回では上記所見に加えてアルブミンの減少、肝細胞単細胞壊死、腎臓の糸球体空胞化及び好酸性物質(雌)が見られた。腎臓の電子顕微鏡観察では糸球体の被蓋細胞突起消失、内皮細胞腫大、メザンギウム細胞増加が認められているが、基底膜に免疫複合体の沈着は認められていない。最低用量の2.46mg/m²/回でAPTTの延長、ASTの増加、グロブリンの増加、剖検で肝臓赤色巣、病理組織学的検査で肝臓の類洞拡張を伴う肝細胞萎縮が見られているが、いずれの変化も単発的あるいは極軽度な変化であることより毒性所見としなかった。hP67.6の22.14mg/m²/回投与では異常は認められなかった。4週間の回復性試験では上記所見は回復あるいは

は回復傾向を示した。抗体検査では抗 CMA-676 抗体陽性反応を示す個体が試験 21 日において、本薬投与群の各群 10 匹中 1～2 例（極軽度～軽度）、hP67.6 投与群の 10 匹中 3 例（軽度～中等度）であった。

初期製剤と申請製剤の hP67.6 産生株が異なったため、同等性試験として雄サルを用いて 6 サイクルの反復投与試験を実施している。発現した毒性学的所見は主に骨髄、肝臓、腎臓及び精巣であり、先に実施した初期製剤の試験と質的な差異はなく、製剤の同等性が認められたと述べられている。

なお、サル間欠投与毒性試験では皮疹は認められなかったが、同等性試験で初期製剤の 6.96mg/m²/回と申請製剤の 17.76mg/m²/回で皮疹が認められたことに関しては、両試験の実施時期に違いはあるものの、使用した動物の年齢や体重の範囲に違いはなく、試験に用いたサルの個体差による変化であると考察されている。

3) 遺伝毒性試験

遺伝毒性試験は、雌雄マウスを用いた小核試験が実施され、すべての濃度で小核を有する多染性赤血球が有意に増加し、全赤血球に対する多染性赤血球の割合が減少した。したがって、本剤は染色体異常誘発性を有し、同時に骨髄細胞の増殖を抑制する。これらの作用はカリケアマイシン誘導体の DNA 傷害機序に基づくものであることより、細菌及び哺乳類細胞を用いた *in vitro* の遺伝毒性試験は行われていない。

4) がん原性試験

がん原性試験は、臨床投与期間が 2 週間に 1 回の最大 2 サイクルであること、抗癌性腫瘍剤であることから実施されていない。

5) 生殖発生毒性試験

生殖発生毒性は雌雄ラットの授胎能試験及びラットの胚・胎児発生に関する試験で評価されている。ラットの出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験は行われていない。

雄ラット授胎能に関する試験では、交配前 4 週間連日静脈内投与（0.112、0.342、1.033 mg/m²/日）し、各群半数は無処置雌と交配、残り半数は 9 週間の回復期間を置いた後に無処置雌と交配させ、交配雌は妊娠 14 日目に帝王切開し雄授胎能への影響を検討した。

投与終了直後交配群と回復交配群で死亡例及び一般状態の異常は認められなかった。投与終了直後交配群の 0.342mg/m²/日以上で体重の有意な低値がみられ、剖検では精巣及び精巣上体の小型化がみられた。精巣重量は投与全例で減少し、精子検査では 1.033mg/m²/日に精子数及び精子運動率の低下、精子形態異常出現率の増加が認められたが交尾率、授胎率及び交尾所要日数に有意な変化はなかった。病理組織学的検査では本薬投与群全例で精巣の精粗細胞及び精母細胞の減少がみられ、用量の増加によってその程度は強くなった。

9 週間の回復期間を置いた動物は摂餌量の低下が散発的にみられ、0.342mg/m²/日以上では体重が低値だったが体重増加量に差は認められなかった。剖検では精巣及び精巣上体の小型化に伴う重量減少が認められ、精子検査では精子数、精子運動率の低下、形態異常

精子の出現率増加に伴う授胎率の低下が認められた。病理組織学的検査では精粗細胞や精母細胞の減少が見られたが、投与直後交配例と比し出現頻度及び程度は軽減していた。雄生殖能に対する影響は、精粗及び精母細胞へ CD33 抗原と hP67.6 の結合を介さない本薬の非特異的な取り込みによる細胞毒性に由来するとしている。さらに、投与直後交配より 9 週間の休薬期間後に交配した動物の授胎率が低下した原因は、遅延毒性ではなく成熟精子の減少に起因するとしている。回復期間により体重、摂餌量に対する影響は回復性があり、精粗、精母細胞に対する影響も軽減していることから、さらに長期の回復期間をおくことより授胎能への影響は回復すると述べられている。

雌ラット授胎能に関する試験では、交配前 2 週間連日静脈内投与 (0.118、0.348、1.038mg/m²/日) し、各群半数は無処置雄と交配、残り半数は 6 週間の回復期間を置いた後に無処置雄と交配させ、妊娠 14 日目に帝王切開し雌授胎能への影響を検討した。

投与、妊娠期間中の母動物に死亡や一般状態の異常は見られなかった。0.348mg/m²/日以上の群では体重増加抑制、摂餌量の減少が用量に相関して認められたが、交尾率、授胎率及び交尾所要日数に影響はなかった。1.038mg/m²/日群で黄体数及び着床数の減少が認められている。生存胚数の減少及び死亡胚数の増加は用量依存的に認められ、0.348mg/m²/日以上で有意となった。回復期間終了時交配群では回復期間後も体重の低値は依然認められたが、妊娠期間中の体重増加率及び摂餌量に関して本薬投与による変化はなく、授胎能に対する影響も認められなかった。

ラット胚・胎児発生に関する試験では、妊娠 6~17 日に連日静脈内投与 (0.059、0.142、0.342mg/m²/日) し、妊娠動物と胚・胎児への影響を検討した。いずれの投与群でも死亡母動物は見られなかったが、用量に相関した体重増加量、摂餌量、子宮重量の減少が認められた。黄体数、着床数及び着床率に影響はなかった。0.342mg/m²/日で胎児生存率が有意に減少した。生存胎児の体重は用量に相関した低値傾向がみられ、母動物の体重低下と関連していた。0.342mg/m²/日群では胎児外表異常として指趾奇形 (短指・欠指)、内臓異常 (大動脈弓欠損)、骨格異常 (上腕骨及び尺骨の短小・肥厚、橈骨、尺骨・肩甲骨の形態異常、胸骨分節癒合、胸椎・腰椎の椎体形成不全及び椎体欠損) が見られ、催奇形性が認められている。

6) 溶血性試験

ヒト赤血球を用いた *in vitro* 溶血性試験が行われ、国内第 I 相臨床試験での 9mg/m²、2 サイクル投与後の最高血漿濃度の 3.3 倍の濃度 (hP67.6 (12µg/mL) + カリケアマイシン誘導体 B (0.3µg/mL)) で溶血性は示さないとされている。

7) 不純物及び代謝物の毒性試験

製造過程の主な不純物であるカリケアマイシン誘導体 B、生体内で加水分解によって生じる可能性があるカリケアマイシン誘導体 A 及びカリケアマイシン誘導体の不活性代謝物であるカリケアマイシン誘導体 C について、ラット又はイヌでの単回投与毒性試験が、またカリケアマイシン誘導体 A についてはラット及びイヌの 6 サイクル間欠投与毒性試験が行われた。

カリケアマイシン誘導体の単回投与毒性試験で発現した変化はラット及びイヌ共に本薬

で認められた所見と質的には同じであり、その強さは本薬>誘導体 A=誘導体 B>誘導体 Cであった。ラットへのカリケアマイシン誘導体 A の 6 サイクル投与試験では発現した所見は本薬と同質であったが、本薬より弱かった。なお、カリケアマイシン誘導体の親化合物である γ -カリケアマイシンは本薬より強い毒性を示したが、末端にトリスルフィド構造を有するため最終製剤に不純物として含まれる可能性や、生体内で分解生成する可能性はないとされている。

8) 製剤同等性確認毒性試験

提出された毒性試験において単回投与、反復投与、溶血性試験に用いた初期製剤と生殖発生試験、遺伝毒性試験に用いた申請製剤では hP67.6 の製造に使用した細胞株が異なるため (ロ (2) 3) hP67.6 の同等性/同質性について 参照)、両製剤の生物学的同等性を確認する目的で雄サルを用いた 6 サイクル反復投与毒性試験が行われた。認められた毒性変化に初期製剤及び申請製剤で発現頻度やその程度、薬物動態学的パラメータに差は認めず、両製剤は毒性学的に同等性を有していた。

(2) 機構における審査の概略

機構は本薬がヒト CD33 抗原に特異的に結合する抗体医薬品であり、動物での評価には限界があることを踏まえ、さらにガイドラインと異なる試験法についてはその妥当性を鑑みて評価した。

1) チンパンジーを用いた試験について

機構は、CD33 抗原がヒトと同様骨髄の前駆細胞で発現しているチンパンジーへの単回点滴静脈内投与の投与量が $0.5\text{mg}/\text{m}^2$ と海外第 I 相臨床試験の初回用量 ($0.25\text{mg}/\text{m}^2$) の 2 倍、カニクイザルの概略の致死量 ($55.4\text{mg}/\text{m}^2$) から大きく減量して投与した目的と同試験の意義について申請者に説明を求めた。

申請者は、ラットとカニクイザルの毒性試験結果を基に、米国での臨床第 I 相試験を開始するに先立ち、CD33 抗原が発現しているチンパンジーを用いて単回点滴静脈内投与を行った。既にカニクイザルでの概略の致死量が得られていること、動物愛護の観点から致死量を投与することは適切でないと判断し、 $0.5\text{mg}/\text{m}^2$ の忍容性を評価する目的で試験を行ったと回答した。

機構は、CD33 抗原を有するチンパンジーに本薬を過剰投与した場合の反応について申請者に考察を求めた。

申請者は、他の動物と同様に CD33 抗原と hP67.6 との結合を介さない本薬の細胞内への非特異的な取り込みによる、カリケアマイシン誘導体の細胞毒性が発現する可能性がある」と回答した。

機構は、チンパンジーを用いた試験の目的は通常の毒性試験と異なることを明確にするように指示し、回答を了承した。

2) 生殖発生毒性試験の試験期間について

機構は、ラット生殖発生毒性試験で回復試験期間が 6 週と 9 週で実施されていること

に関して、雄生殖器に対する回復期間として設定した根拠について説明を求めた。

申請者は、ラット 6 サイクル反復投与毒性試験では投与終了時及び 4 週間の回復性試験で精細管萎縮は明らかな回復性は認めなかった。また、生殖発生毒性の雄授胎能試験では精粗細胞減少、精母細胞減少が認められたが、9 週間の回復群で軽度な回復性が確認された。本薬投与による精巣への影響は精巣の精子形成初期ステージ（精粗・精母細胞）に見られ、ラットでの精子形成期間（精母～精子形成）は約 7 週間を要することから 9 週間の回復期間で回復性を確認可能と考えた。

機構は、9 週間の回復期間後で、剖検で精巣・精巣上体の小型化及び重量の低下、精子数の減少、精子運動率の低下、精子形態異常率の増加が依然見られている。更に精巣での精粗細胞、精母細胞の減少が認められ、回復傾向は認められるが十分な回復には至っていないと考え、精子が正常に機能を回復する期間について 9 週間では不十分であると考察している。

さらに、機構は、生殖発生毒性に関して、さらに長期の回復期間をおくことより雄授胎能への影響は回復すると申請者は説明していることより、授胎能の回復するまでに要する期間について申請者に説明を求めた。

申請者は、以下のとおり回答した。

高用量群においては、精粗細胞減少のみられた個体数及び平均スコアは投与終了時から軽度な回復性を示し、中・低用量群においても精粗細胞及び精母細胞減少が認められた個体数は明らかに減少しており、本薬の雄授胎能への影響は回復するものと考えた。

機構は、本薬の雄授胎能への影響は休薬により回復傾向は認められているものの、回復までに要する期間は不明であることから、添付文書等において雄授胎能への影響が回復するまでの休薬期間は不明である旨を情報提供するように指示した。

3) 抗体産生について

機構は、反復投与毒性試験のラットで強い抗体産生の影響があり、サルでは抗体産生の影響が殆ど無いことから、両種とも CD33 抗原を発現しない動物でありながら反応性が異なる理由について説明を求めた。

申請者は、本薬投与による反復投与試験での抗体産生に関し、サルよりラットが強い抗体産生能が見られた理由は不明であると回答した。

機構は、異種タンパク投与による抗体産生がラットでサルより強い理由は不明であり、サルの 65 日目では hP67.6 単独投与で強い抗体産生が認められている。しかし、本薬投与後で抗体陰性の個体も存在し、検討動物数が少ないこと等より、動物での抗体産生に関しては個体差も含め不明であると考えた。

機構は、本薬の動物試験結果のヒトへの外挿性に関して申請者に説明を求めた。

申請者は、6 サイクル試験における無毒性量はラットで 0.7mg/m²/回、サルで 2.46mg/m²/回であり、この時の AUC はヒト投与時 (9mg/m²) のその 0.48 倍及び 2.0 倍であった。サル無毒性量での総カリケアマイシン誘導体の AUC はヒト投与時の 0.5 倍であった。

機構は、CD33 抗原を発現していない動物での毒性発現に関し説明を求めた。

申請者は、本薬投与で認められたラット及びサル毒性発現は本薬の細胞内への非特異的な取り込みにより発現したものである。その根拠として CD33 抗原陰性 Raji 細胞でも高濃度ではカリケアマイシン誘導体 A の細胞への取り込みが認められる (ホ (1) 1) v) 細胞内への取り込み 参照)、また成人及び小児白血病患者から採取した骨髄細胞でも、CD33 抗原を認識しない抗体とカリケアマイシン誘導体との結合体においてもコロニー結合の阻害が示されている (ホ (1) 1) iii) 白血病患者から採取した骨髄のコロニー形成阻害作用 参照)。さらにラット及びサルの最小毒性発現量は 2.8mg/m²/回及び 7.38mg/m²/回であり、その初回投与時の総カリケアマイシン誘導体の C_{max} はそれぞれ 254 及び 282ng/mL であった。これらの結果から、最小毒性発現量以上の投与量では CD33 抗原の発現していない細胞への非特異的な本薬の取り込みが生じカリケアマイシン誘導体による細胞毒性が誘発されたと考えると回答した。

機構は、説明を了承した。

機構は、 γ -カリケアマイシンの毒性は強く、CD33 抗原を発現していない臓器・組織においても毒性は認められるものの、本薬の適応疾患が致死的なものであることから、その適用は差し支えないものと判断した。しかしながら、本薬の臨床投与量 (9mg/m²) はラットの概略致死量 (14mg/m²) の約 0.6 倍であり、安全域についても存在しないと考えられることから、本薬の臨床使用においては慎重な投与が必要と考える。特に血液・リンパ一造血系組織、腎臓、精巣及び肝臓については、臨床投与量においても毒性の発現が予測されるため、十分な注意が必要と考えている。

ホ. 薬理作用に関する資料

(1) 提出された資料の概略

1) 効力を裏付ける試験

i) *in vitro* 抗腫瘍作用

ゲムツズマブオゾガマイシン (遺伝子組換え) (以下、本薬) の抗腫瘍効果は、CD33 抗原陽性ヒト急性前骨髄球性白血病由来細胞 (HL-60) 及び CD33 抗原陰性 Raji 細胞を用いて検討された。各細胞に対して本薬を 1 時間曝露し、その後 3 日間培養し、細胞の [³H]チミジン取り込みを指標として本薬の増殖抑制作用を評価した。

本薬の細胞増殖に対する IC₅₀ 値は、HL-60 では 0.021ng/mL、Raji 細胞では 1.60ng/mL であった。一方、本薬の抗体部分であるヒト化マウス抗 CD33 モノクローナル抗体 (hP67.6) と結合していない 3 種類のカリケアマイシン誘導体 (N-acetyl- γ -Calicheamicin DML: 以下、カリケアマイシン誘導体 A、N-acetyl- γ -Calicheamicin DMH AcBut: 以下、カリケアマイシン誘導体 B、N-acetyl- γ -Calicheamicin) では、HL-60 細胞と Raji 細胞に対する IC₅₀ 値に差は認められなかった。

また、参考資料として提出された公表論文 (Leukemia 14: 1436-1443, 2000) では、各種 CD33 抗原陽性ヒト白血病由来細胞及び CD33 陰性 Daudi 細胞に対する本薬 (1~100ng/mL) の殺細胞活性が検討されている。本薬の殺細胞活性は、CD33 の発現レベルが 99%以上の細胞 (HL-60、NOMO-1、NB4 及び NKM-1) に対して用量依存的に認められたが、CD33 陰性 Daudi 細胞又は CD33 抗原の発現レベルが 62.9%の K562 細胞に対しては最高用量 (100ng/mL) でも殺細胞活性は認められないか又は僅かであった。な

お、多剤耐性株である NOMO-1/ADR 及び NB4/MDR に対しては、本薬 10,000ng/mL の添加でも殆ど殺細胞活性は認められなかったが、多剤耐性を抑制する薬剤（P 糖蛋白の阻害剤）MS209 及び PSC833 を添加することで、本薬の殺細胞活性が認められた。

ii) *in vivo* 抗腫瘍作用

①単回投与

HL-60 細胞をヌードマウスに皮下移植し、その 10 日後に本薬 34、68、102 及び 136mg protein/m²（機構注：投与量はマウスの体重を一律 20g として kg あたりで投与し、体表面積あたりの投与量に換算して表示されている。）を腹腔内投与した。移植から 37 日間、経日的に腫瘍径を測定した。136mg protein/m² の用量では 5 匹中 4 匹の動物が死亡し、過用量と考えられた。34、68 及び 102mg protein/m² の本薬投与では、用量依存的に抗腫瘍効果が認められた。34～102mg protein/m² 投与群では、15 例中 13 例のマウスが腫瘍移植後 37 日目においても生存し、そのうち 8 例は腫瘍径が測定不能まで縮小していた。

②反復投与

HL-60 細胞をヌードマウスに皮下移植し、移植後 7、11 及び 15 日目に本薬 6.8、20 及び 41mg protein/m²（機構注：投与量はマウスの体重を一律 20g として kg あたりで投与し、体表面積あたりの投与量に換算して表示されている。）を腹腔内投与し、移植から 35 日間、経日的に腫瘍径を測定した。本薬投与群では、検討したいずれの用量においても反復投与により全ての動物（1 用量あたり 5 匹）が生存し、かつ腫瘍径が測定不能まで縮小した。

iii) 白血病患者から採取した骨髄のコロニー形成阻害作用

成人急性骨髄性白血病（AML）患者から採取した骨髄細胞に本薬又は対照の CD33 抗原を認識しない抗体 hCTM01 とカリケアマイシン誘導体との結合体を 2 時間曝露した。その後 10～12 日間培養し、コロニー形成阻害作用を検討した。対照のコロニー数に対して 60%以上のコロニー形成阻害が認められたサンプル数は、本薬 90ng/mL では 27 サンプル中 4 サンプル、450ng/mL では 27 サンプル中 12 サンプルであった。また、小児 AML 患者から採取した骨髄細胞においても、本薬のコロニー形成阻害作用が認められた。

表 本薬による骨髄細胞の *in vitro* コロニー形成阻害作用

本薬 (ng protein/mL)	総サンプル 数	コロニー形成阻害サンプル数		
		≥25%	≥60%	≥90%
90 [2 ng/mL]	27	10	4	1
180 [4 ng/mL]	6	1	1	0
270 [6 ng/mL]	6	1	1	0
360 [8 ng/mL]	6	1	1	1
450 [10 ng/mL]	27	15	12	6

[] :カリケアマイシン当量

次に、AML 患者（成人：11 例、小児：4 例）から採取した骨髄細胞に本薬、hP67.6

又は hCTM01 とカリケアマイシンとの結合体を 2 時間曝露した。その後 10~12 日間培養し、抗体及び結合体を添加しない時の出現コロニー数を対照としてコロニー形成阻害作用を検討した。

本薬 (0.5µg protein/mL) は、6 サンプルが 60%以上のコロニー形成を阻害したのに対して、hP67.6 (0.5 及び 50µg protein/mL) では、60%以上のコロニー形成阻害は認められなかった。hCTM01 抗体-カリケアマイシン結合体 (0.5µg protein/mL) は 1 サンプルで 60%以上のコロニー阻害作用を認めた。この結果より、hP67.6 はヒト白血病細胞のコロニー形成を阻害するものの、本薬の作用は主にカリケアマイシンによるものであると申請者は考察している。

表 本薬、hP67.6 及び hCTM01-カリケアマイシン結合体による
骨髄細胞の *in vitro* コロニー形成阻害作用

被験薬	総サンプル数	コロニー形成阻害サンプル数		
		≥25%	≥60%	≥90%
本薬 (0.5 µg protein/mL)	15	11	6	3
hP67.6 (0.5 µg protein/mL)	15	1	0	0
hP67.6 (50 µg protein/mL)	15	2	0	0
hCTM01-カリケアマイシン結合体 (0.5 µg protein/mL)	15	4	1	0

iv) 組織結合性に関する試験

①抗 CD33 モノクローナル抗体に対する結合阻害能 (添付資料ホ参-2)

hP67.6 が CD33 抗原を認識していることが確認されているが (添付資料ホ-6)、一定量の $[^{125}\text{I}]mP67.6$ を添加したヒト赤白血病由来細胞 HEL92.1.7 に本薬 (最終濃度 0.01~50µg protein/mL) を加え、 $[^{125}\text{I}]mP67.6$ の結合を 50%阻害する濃度 (IC₅₀) を求めた。その結果、hP67.6 と本薬の $[^{125}\text{I}]mP67.6$ に対する結合阻害能はほぼ同程度であったが、mP67.6 の約 0.6 倍に低下していた。

②ヒト組織に対する結合性

CD33 抗原は単球や顆粒球等の正常な血液細胞においても発現しているため、これら血液細胞やその他のヒト正常組織に対する本薬及び P67.6 (hP67.6 及び mP67.6) の結合性について検討した。

②-1 ヒト組織への結合性 (添付資料ホ-5~8)

ヒト正常組織の凍結切片を用いて、hP67.6 及び本薬のヒト正常組織への結合性を免疫組織染色により観察した。

・ビオチン化 hP67.6 を用いたアビジン-ビオチン法による染色

ヒトの正常組織 44 標本についてビオチン化 hP67.6 を用いたアビジン-ビオチン法で染色したところ、27 組織 (回腸、結腸、直腸、精巣、睪丸、前立腺、尿道、中脳、下垂体、皮膚、扁桃、リンパ節等) で染色が認められた (添付資料ホ-5)。これにヒト正常組織標本を新たに加え、94 標本について hP67.6 で染色したところ、大脳皮質、心臓、脾臓、胎盤、甲状腺、胆嚢、気道、脈絡叢、網膜、耳下腺、血管以外の組織で染色が認めら

れた。染色の大部分は組織球、血管周囲のマクロファージに認められ、これ以外では脳組織のミクログリアや肥満細胞等でも確認されている（添付資料ホ-6）。

・hP67.6 に対するウサギの抗イディオタイプ抗体とそのウサギ抗体に対するロバ抗ウサギ IgG-ペルオキシダーゼコンジュゲートによる染色

50 種の異なるヒト正常組織を用いて本薬の結合性について検討したところ、reagent control には認められない染色が 18 組織（副腎、小脳、結腸、肺、リンパ節、筋肉、脾臓、上皮小体、下垂体、脊髄、胃、脾臓、回腸等）で認められた。染色の大部分は組織球、マクロファージで、これ以外に肥満細胞等も染色が確認された（添付資料ホ-7）。

次に、34 種の異なるヒト正常組織を用いて申請用の hP67.6 及び本薬の結合性を検討した。hP67.6 については、骨髓、血球、回腸、胃、肝臓、肺、リンパ節、脾臓、胸腺等に染色が認められたが、染色が認められた標本はいずれも reagent control でも同様の染色が認められ、特異的なものはなかった。本薬については、骨髓、血球、回腸、胃、肝臓、肺、リンパ節、脾臓、胸腺等に染色が認められたが、このうち reagent control でも同様の染色が認められない特異的なものは回腸、肺及び脾臓に認められた。これらはムチン、多形核白血球に対する反応であった（添付資料ホ-8）。

②-2 ヒト正常末梢白血球及び骨髓細胞への結合性（添付資料ホ参-3）

ヒト正常末梢白血球及び骨髓細胞に 5µg protein/mL となるように mP67.6、hP67.6 あるいは本薬を添加して、フローサイトメトリーにより細胞結合性を検討した。なお、mP67.6 に対する陽性細胞は mP67.6-フィコエリスリンコンジュゲートによる直接染色で検出し、hP67.6 及び本薬は抗 IgG4-ビオチン/ストレプトアビジン-フィコエリスリンによる間接染色により検出した。結果を以下に示す。

表 末梢白血球に対する結合性

(陽性細胞の%)	末梢血 1			末梢血 2			末梢血 3			末梢血 4			末梢血 5		
	リンパ球	単球	顆粒球												
mP67.6	1	97	98	1	99	93	1	99	99	1	99	99	1	98	98
hP67.6	1	96	94	1	97	69	1	96	89	1	98	90	1	93	75
本薬	1	95	95	1	92	74	1	96	90	1	89	91	1	95	83

表 骨髓細胞に対する結合性

(陽性細胞の%)	骨髓 1				骨髓 2				骨髓 3				骨髓 4				骨髓 5			
	骨髓芽球	リンパ球	単球	顆粒球																
mP67.6	70	1	93	93	71	0	93	90	63	1	69	93	73	3	79	97	72	1	92	89
hP67.6	63	1	88	88	63	0	92	73	59	1	46	79	72	2	82	78	61	0	75	88
本薬	62	1	80	85	61	0	83	68	54	1	49	63	65	2	81	74	56	0	73	75

hP67.6 と本薬の比較では、骨髓 3 の顆粒球における 16% (79%と 63%) の相違が最大であったものの、両者の結合特異性は類似していた。mP67.6、hP67.6 及び本薬の比較

では、骨髄の顆粒球において 30% (93%と 63%) の相違が最大であったものの、リンパ球、単球、顆粒球及び骨髄芽球に対する結合性のパターンは mP67.6、hP67.6 及び本薬でほぼ同様であった。

③サル及びラット正常組織への hP67.6 の結合性 (添付資料ホ-9)

カニクイザル及び Sprague-Dawley ラットの正常組織を用いて、hP67.6 によるアビジン-ビオチン法免疫組織染色を行った。hP67.6 の希釈倍率は 1:50 (72 μ g protein/mL) 及び 1:500 (7.2 μ g protein/mL) とした。

サル及びラットの組織では、いずれの希釈倍率 1:50 (72 μ g protein/mL) 及び 1:500 (7.2 μ g protein/mL) においても hP67.6 に特異的な染色はみられず、測定した全ての組織において交差反応性が認められなかった (機構注:いくつかの組織 (例えば、腸管、尿管、上皮) における背景染色は、実質、脂肪、コラーゲン、筋肉のため「equivocal」から「strong」と判定されているが、HL-60 細胞における染色分布との違い、同じ組織由来の他のサンプルでは染色されていないこと、ヒト化モノクローナル抗体 hCTMO1 による組織染色結果等の情報から、これらの染色は非特異的と判定されている。また、肥満細胞、好酸球及びマクロファージに関しては、いずれの組織においても染色が認められ、非特異的なものと判定されている。)

v) 細胞内への取り込み

①抗 CD33 抗体のインターナリゼーションの電子顕微鏡観察 (添付資料ホ参-4)

HL-60 細胞に P67 (機構注:マウス抗 CD33 抗体の名称である。マウス抗 CD33 抗体の製造ロットとしてロット P67.6 とロット ████████ が作成され、当該試験はロット ████████ が用いられた。ロット P67.6 とロット ████████ は同一であると申請者は述べている。当初 P67 と名付けていたものは、P67.6 と名称を変更され、またその後 mP67.6 と名称を付けられた経緯がある。) を氷冷下 45 分間曝露し、P67 除去後の細胞に新鮮培地と金コロイドと抗マウス IgG 抗体との結合体を 1:25 の割合で加え、30 分間培養した。その後、37°C で 10~180 分間培養し、これを電子顕微鏡観察用サンプルとして調製した。

金粒子は、培養 10 分及び 30 分においては細胞表面にのみ観察されたが、培養 60 分ではエンドソーム内にも観察された。120 分及び 180 分では、金粒子は細胞表面に加えてリソソームの形態学的特徴を持つ細胞質内の大型液胞にも観察された。

②標識した抗 CD33 抗体の細胞内への取り込み (添付資料ホ参-5)

HL-60 細胞に ¹²⁵I 標識 P67 (機構注:マウス抗 CD33 抗体の名称である。マウス抗 CD33 抗体の製造ロットとしてロット P67.6 とロット ████████ が作成され、当該試験はロット ████████ が用いられた。ロット P67.6 とロット ████████ は同一であると申請者は述べている。当初 P67 と名付けていたものは、P67.6 と名称を変更され、またその後 mP67.6 と名称を付けられた経緯がある。なお、当該報告書中での hP67.6 の記載は誤記であると申請者は説明している。) (2 μ g 抗体/10⁶細胞) を氷冷下 45 分間曝露した。新鮮培地に交換し 37°C で培養した時の細胞中及び培養上清中の放射活性を経時的に測定した。

培養上清をトリクロロ酢酸 (TCA) 処理した沈渣の放射能 (解離した抗体) は、新鮮

培地交換後から上昇したが、2 時間以降はプラトーとなり、22 時間後では総放射能の 19%であった。培養上清を TCA 処理した上清の放射能（細胞への取り込み後、分解され排出された抗体）は、新鮮培地交換後から 22 時間後まで上昇を続け、22 時間後は総放射能の 45%となった。細胞を酸処理した後の沈渣の放射能（細胞内の抗体）は経時的に減少し、細胞を酸処理した後の上清の放射能（細胞上の抗体）は新鮮培地交換後から 2 時間までは急激に減少したが、2 時間以降はほぼ一定であった。新鮮培地交換後 22 時間では、細胞を酸処理した後の沈渣と上清の放射能の和は総放射能の 36%であった。以上の結果より、少なくとも 45%の抗 CD33 抗体が細胞内にインターナリゼーションされた後、分解されると述べられている。

③カリケアマイシン誘導体及び結合体の細胞への取り込み（添付資料ホ-参 6）

N-アセチル- γ -カリケアマイシン、カリケアマイシン誘導体 A 及び mP67.6-カリケアマイシン誘導体結合体の ^3H 標識化合物を 13.3×10^6 cell/mL に調整した HL-60 又は Raji 細胞に添加して 37°C で 1 時間培養し、遠心分離及び新鮮培地による再懸濁による洗浄を 3 回繰り返し、各サンプルの 90%を被験液として、その放射活性を測定し、1 細胞あたりに移行した分子数を算出した。

HL-60 及び Raji 細胞において、N-アセチル- γ -カリケアマイシン、カリケアマイシン誘導体 A 及び mP67.6-カリケアマイシン誘導体結合体の細胞内への移行は、いずれも濃度に依存して増加した。HL-60 細胞では、mP67.6-カリケアマイシン誘導体結合体は、低濃度 (0.032~4ng カリケアマイシン当量/mL) において非結合体に比べて移行量は多かったが、20 及び 100ng カリケアマイシン当量/mL の場合には、細胞への移行量は非結合体と同程度であった。Raji 細胞では、mP67.6-カリケアマイシン誘導体結合体 (20、100 及び 500ng カリケアマイシン当量/mL) の細胞内へ移行量は、N-アセチル- γ -カリケアマイシン及びカリケアマイシン誘導体 A より低下していた。

また、各サンプルの残りを被験薬の非存在下で 3 日間培養を継続し、 ^3H チミジンの取り込み量を測定し、殺細胞活性を検討した。

1 細胞あたりに移行した分子数の結果をもとに、HL-60 細胞の増殖に対する N-アセチル- γ -カリケアマイシン、カリケアマイシン誘導体 A 及び mP67.6-カリケアマイシン誘導体結合体の IC₅₀を算出したところ、それぞれ 1780、65900 及び 6140 分子/細胞、Raji 細胞の増殖に対するそれは、それぞれ 3490、28900 及び 23100 分子/細胞であった。

④本薬からのカリケアマイシン誘導体 A の遊離（添付資料ホ-10）

最終濃度 0.5mg protein/mL (9 μ g カリケアマイシン当量/mL) の本薬を pH4.5、6.0 及び 7.4 の緩衝液中、37°C でインキュベートした。カリケアマイシン誘導体 A の濃度を経時的に測定し、本薬からのカリケアマイシン A の遊離量を検討した。

その結果、本薬添加後の緩衝液中のカリケアマイシン誘導体 A の濃度は酸性に傾くほど増加した。よって、本薬からのカリケアマイシン誘導体 A の遊離は pH の影響を受け、細胞内に取り込まれた本薬は、酸性環境下のリソソーム中で加水分解され、カリケアマイシン誘導体 A を遊離する可能性が考えられると述べられている。なお、カリケアマイシン誘導体 A 12.5 μ g/mL を上記の緩衝液中でインキュベートしたところ、カリケアマイシン

ン誘導体 A 濃度は経時的に減少し、196 時間後のカリケアマイシン誘導体 A 濃度は pH 6.0>pH 4.5>pH 7.4 の順であった。

vi) カリケアマイシン及び誘導体の作用機序

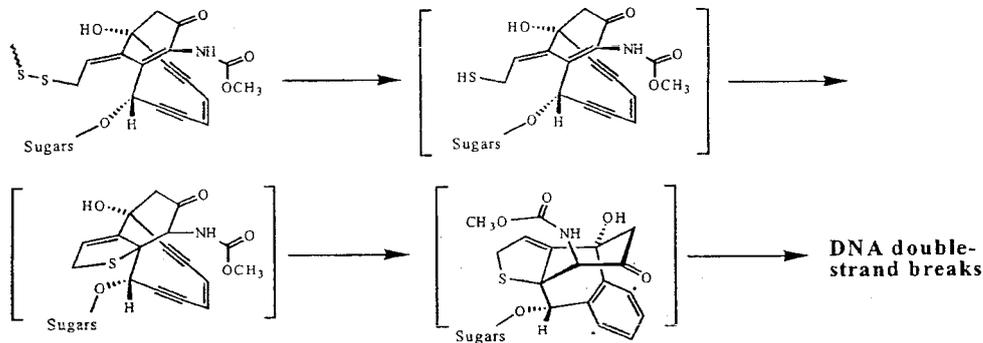


図 カリケアマイシンの活性体への変換反応

カリケアマイシンは、細胞内の還元型グルタチオン等と反応して S-S 結合の還元により活性化され DNA の特定塩基対と結合してジラジカル体が DNA を切断し殺細胞活性を発揮することが報告されている (Science 244: 697-699, 1989、J Am Chem Soc 112: 4554-4556, 1990、Proc Natl Acad Sci USA 89: 4608-4612, 1992)。

①還元型グルタチオンによるカリケアマイシン誘導体 A の還元 (添付資料ホ参-7)

5 μ g/mL のカリケアマイシン誘導体 A と 0.02~20mmol/L の還元型グルタチオンを 20%エタノール、80%リン酸緩衝生理食塩液 (pH 7.4、37 $^{\circ}$ C) 中でインキュベートし、緩衝生理食塩液中のカリケアマイシン誘導体 A 濃度を HPLC 法で経時的に定量した。

還元型グルタチオン濃度が 0.2mmol/L 以下の場合には、カリケアマイシン誘導体 A の濃度はインキュベート中に殆ど減少しなかったが、2 及び 20mmol/L の還元型グルタチオンを添加した場合には、インキュベート中にカリケアマイシン誘導体 A 濃度は経時的に減少した。還元型グルタチオン等の還元型チオール濃度は、血漿中では 15~20 μ mol/L、細胞中には mmol/L 単位の濃度で存在すると報告されていることから、カリケアマイシン誘導体 A は血漿中では安定であるが、細胞中では還元され活性を発揮すると述べられている。

② γ -カリケアマイシングルタチオンジスルフィド体の殺細胞活性 (添付資料ホ参-8)

γ -カリケアマイシンにグルタチオンを付加した誘導体 (γ -カリケアマイシングルタチオンジスルフィド体) を作成した。 γ -カリケアマイシングルタチオンジスルフィド体、N-アセチル γ -カリケアマイシン及び γ -カリケアマイシンを MX-1、Raji、OvCar-3 及び OvCar-3 (R) 細胞に 7 分間 (パルス) 又は 3 日間連続添加した。薬剤曝露後の各細胞の [3 H]チミジンの取り込み量から細胞増殖を測定し、各薬剤の IC₅₀ を算出した。

γ -カリケアマイシングルタチオンジスルフィド体の殺細胞活性は、Raji 細胞においては γ -カリケアマイシンより劣るものの、これ以外の細胞株に対しては N-アセチル γ -カリケ

アマイシンと同程度であった。

表 γ -カリケアマイシングルタチオンジスルフィド体の殺細胞活性 (IC₅₀ ng/mL)

細胞	曝露条件	γ -カリケアマイシングルタチオンジスルフィド体	N-アセチル γ -カリケアマイシン	γ -カリケアマイシン
MX-1	連続	0.07	0.04	Not determined
	パルス	0.92	2.2	Not determined
Raji	連続	0.000069	Not determined	0.000002
	パルス	0.05	Not determined	0.000246
OvCar-3	連続	0.0064	Not determined	Not determined
	パルス	20	14.7	Not determined
OvCar-3(R)	連続	14	Not determined	Not determined
	パルス	347	417	Not determined

カリケアマイシンが細胞内で還元型グルタチオンと反応した後に生じる化合物（機構注： γ -カリケアマイシングルタチオンジスルフィド体の生体内での存在は確認されていない。）は、殺細胞活性を保持していることが示された。また、 γ -カリケアマイシングルタチオンジスルフィド体の殺細胞活性が γ -カリケアマイシンより低下した原因として、極性基となるグルタチオンを付加することにより細胞内への取り込み速度が γ -カリケアマイシンより減少したことが推測されると述べられている。

2) 一般薬理試験

本薬の一般薬理試験として、一般症状及び行動、中枢神経系、平滑筋・自律神経系、循環器系、消化器系、腎機能、肝機能及び巨核球の分化に及ぼす影響が検討された。

1) 循環器系及び巨核球の分化に及ぼす影響以外の項目（添付資料ホ-11 及び 13）

マウスにおいては、一般症状及び行動、自発運動量、チオペンタール誘発麻酔、最大電撃痙攣、ペンチレントラゾール誘発痙攣、ストリキニーネ誘発痙攣、侵害受容（ホットプレート法）、消化管輸送能及び尿量・尿中電解質に対して本薬（一般症状及び行動：1、3、10 及び 30mg protein/kg、一般症状及び行動以外の項目：1、3 及び 10 mg protein/kg）の影響は認められなかった。

ラットにおいては、正常体温、尿量・尿中電解質及びスルホプロモフタレイン排泄に対して本薬（0.3、1 及び 3mg protein/kg）の影響は認められなかった。

モルモット摘出回腸においては、自発運動及びアセチルコリン、ヒスタミン、セロトニンクレアチニン硫酸塩、塩化バリウムによる収縮に対して本薬（30 μ g protein/mL）の影響は認められなかった。

ii) 循環器系に及ぼす影響（添付資料ホ-12）

無麻酔のビーグル犬に本薬（0.19、0.63 及び 1.9mg protein/kg）を静脈内投与し、投与開始前 30 分から投与終了後 60 分にわたり平均動脈圧、心拍数、心拍出量及び心電図を測定した。

1.9mg protein/kg の急速静注では、投与後 20 分まで平均動脈圧の低下が見られたが投与後 30 分には正常レベルに回復した。心拍数は投与後 15 分以降増加傾向を示したが有

意なものではなかった。心拍出量は投与後 10 分間減少したが投与後 30 分以内に正常レベルに回復した。心電図の P 波は増大傾向が認められたが、投与後 40 分値以外は有意なものではなかった。T 波は投与後 5 分から 30 分間及び投与後 45 分に有意な増大が認められた。

0.63mg protein/kg の 30 分間持続静注では、平均動脈圧及び心拍出量には影響は認められなかった。心拍数は投与開始後 15 分以降増加が認められた。心電図の P 波は投与開始後 20 分及び投与開始後 30 分（投与終了時）以降に増大が認められた。T 波は投与開始後 15 分以降に増大が認められた。

0.19mg protein/kg の 30 分間持続静注では、平均動脈圧、心拍数、心拍出量及び心電図の P 波及び T 波に影響は認められなかった。

iii) 巨核球の分化に及ぼす影響（添付資料ホ-14）

臨床試験において一部の患者で血小板減少の回復が遅れることが見いだされたことから、正常ヒト巨核球の分化に対する本薬の作用を検討した。

健康者の骨髓からフィコールによって分離した単核細胞より CD34 陽性細胞を単離し、本薬で 2 時間処理した。洗浄後、巨核球の増殖を *in vitro* で最大限促進するサイトカインカクテルを添加し 14 日間培養し、フローサイトメトリーを用いて培地中の CD41a 陽性 CD14 陰性細胞を巨核球として計測した結果、本薬 0.002~0.5µg protein/mL では 4 つの標本において、本薬の巨核球の増殖への影響は認められなかった。

次に、上記より高濃度の本薬を別途単離・調製した CD34 陽性細胞に 2~24 時間曝露し、洗浄後固形培地で 12 日間培養し、コロニー数を観察した。なお、CD41a 陽性コロニーを巨核球コロニーとした。5 つの骨髓サンプルで巨核球のコロニー形成阻害が観察されたが、感受性はサンプル毎に異なっていた。

表 本薬によるヒト骨髓コロニー形成阻害作用

サンプル	全コロニー IC ₅₀ (µg protein/mL)	巨核球コロニー IC ₅₀ (µg protein/mL)
骨髓 1	>10	1
骨髓 2	>10	>10
骨髓 3	1	1
骨髓 4	5	1
骨髓 5	8	10

健康者 6 名からそれぞれ得た CD34 陽性細胞を本薬 2µg protein/mL に 2、6、11 及び 24 時間曝露し、洗浄後固形培地で 14 日間培養し、コロニー数を計測した。なお、CD41a 陽性コロニーを巨核球コロニーとした。検討した 6 つのサンプル中 4 つは、本薬の曝露時間に依存して全コロニー及び巨核球コロニーともに同程度に形成が阻害され、これらのサンプルでは 24 時間曝露によりいずれのコロニーも殆ど認められなくなった。他のサンプルの 1 つは、全コロニー及び巨核球コロニーの形成阻害は同程度ではなく、また 1 つのサンプルでは 24 時間曝露においても巨核球コロニーの形成阻害が 2 時間曝露よりも増強されることはなかった。これらの試験結果より、正常骨髓細胞の本薬に対する反応性は患者毎に様々であり、AML 患者の正常造血幹細胞及び前駆細胞が今回の *in vitro*

試験の CD34 抗原陽性細胞と同様に本薬に応答すれば、血小板の回復は個々の患者により異なり得ることが示唆されたと述べられている。

②) 機構における審査の概略

機構は、主に以下の点について検討した。

1) 本薬の抗腫瘍作用について

機構は、HL-60 細胞移植マウスを用いた単回投与試験において死亡例が認められた理由について、申請者に説明を求めた。

申請者は、以下のように回答した。

HL-60 細胞移植ヌードマウスへの単回投与において、本薬 68mg protein/m² (500µg/kg カリケアマイシン当量) 及び 102mg protein/m² (1000µg/kg カリケアマイシン当量) の腹腔内投与で 5 例中 1 例ずつ、136mg protein/m² で 5 例中 4 例が死亡した。薬理試験では、死亡原因について検討していないが、担癌マウスで死亡がみられた投与量 (500µg/kg カリケアマイシン当量) の 10 分の 1 量がラット単回静脈内投与毒性試験の概略の致死量 (500µg/kg カリケアマイシン当量) であることを考慮すると、高用量の投与においては CD33 抗原陰性細胞への非特異的な取り込み等により本薬の毒性が発現し、死亡したものと考えられる。

機構は、本薬の AML 患者における薬物動態の検討から初回よりも 2 回目の投与の方が曝露量が高くなる傾向が示されていること (へ (1) 2) i) 国内 I/II 相試験 参照)、また *in vivo* 薬理試験における投与経路は臨床投与経路と異なるものの、68mg protein/m² 以上から腹腔内投与で死亡動物が認められていることを踏まえ、CD33 抗原陽性白血病由来細胞に対して *in vitro* で抗腫瘍作用を示す濃度に比較してより高い血漿中濃度となる投与量を臨床用量として設定する理由について、申請者に説明を求めた。

申請者は、以下のように回答した。

本薬の *in vitro* において HL-60 細胞に対する本薬の殺細胞活性が認められる濃度は、試験条件等の違いにより異なっている。また、本薬に対する感受性は、細胞の種類により異なることも報告されている (Blood 101: 4589-4597, 2003)。さらに、本薬のヒトでの組織移行性に関するデータはないが、本邦の臨床試験において 2 サイクル投与患者で認められた本薬の血漿中最高濃度の平均値は 3640ng protein/mL であり、本薬の主な作用部位となる骨髄組織中の本薬濃度は血漿中濃度より低下している可能性も考えられる。これらの理由により、臨床においては、培養細胞に対する *in vitro* での有効濃度より遙かに高い血漿中濃度を必要とするものとする。と考える。

機構は、本薬の CD33 抗原との結合を介さない細胞内への取り込みのメカニズム及び CD33 抗原との結合を介さない非特異的な細胞内への取り込みによるヒトでの安全性について説明を求めた。

申請者は、CD33 を発現していないラット及びカニクイザルにおいても、カリケアマイシン誘導体の細胞毒性に由来した変化が認められたが、本薬の臨床試験における安全性プロフィールからは、臨床使用量においては非特異的な細胞内への取り込みによる重篤な有害事象発現の可能性は低く、非臨床で認められた毒性所見のヒトでの発現は過剰量投与に

において想定されると回答した。

機構は、本薬の毒性試験で認められた肝機能検査値異常（機構注：申請者は毒性所見として扱っていない）、血液毒性等は、臨床試験において重篤な有害事象として発現しており（ト（2）4）安全性について参照）、臨床用量において非特異的な細胞内への取り込みによる重篤な有害事象発現の可能性は低いという申請者の説明は受け入れられない。

機構は、①ヒト体内では白血病細胞以外の CD33 抗原を発現している正常細胞に対しても本薬が作用する可能性があること、②臨床における血漿中総カリケアマイシン誘導体濃度付近の濃度（カリケアマイシン当量 100ng/mL）において、CD33 抗原陰性細胞における本薬の取り込み効率は、遊離型カリケアマイシン誘導体のそれを数倍下回る程度であり（*in vitro*）、CD33 抗原に因らない本薬の非特異的取り込みが認められ（*in vitro*）、CD33 抗原を発現していないラットでは臨床用量の 1.56 倍の投与量で死亡例が認められていることより、本薬の臨床使用においては CD33 抗原陰性細胞における本薬の非特異的取り込みに起因する副作用を含めて安全性について十分な注意喚起が必要であると考えている。

2) 本薬に対する感受性について

機構は、白血病患者から採取した骨髓細胞を用いたコロニー形成阻害作用の検討において認められた被験者間での感受性の違いについて、患者背景を踏まえて考察するように申請者に求めた。

申請者は、FAB 分類と感受性との関係については、サンプル数が 27 と少ないため不明である。また、CD33 抗原の発現レベルとコロニー形成阻害活性には正の相関 ($r=0.546$, $p<0.01$) が認められたが、P 糖蛋白の発現と阻害活性には相関が認められなかったと回答した。

機構は、多剤耐性株である NOMO-1/ADR 及び NB4/MDR に対して本薬の殺細胞活性は殆ど認められないことが *in vitro* で示されており、CD33 抗原の発現レベルを含めて本薬の感受性に影響を及ぼす可能性のある因子については、今後も文献調査等を含めて情報収集を行い、本薬の適応対象がより適切に選択されるように情報提供していくように申請者に指示した。

3) 本薬の一般薬理試験について

機構は、本薬は、ラット及びカニクイザルの正常組織に対して交差反応が認められていないが、マウス、ラット及びモルモットを使用した一般薬理試験結果のヒトへの外挿について申請者の見解を求めた。

申請者は以下のように回答した。

一般薬理試験は、毒性試験と同様に CD33 抗原を発現していない動物を用いて行っている。このような動物では CD33 抗原への結合を介して本薬が細胞へ取り込まれることはなく、ヒトでの作用とは一部異なるものと考えられる。カリケアマイシン誘導体と蛋白の結合体である本薬が特定の細胞内に取り込まれることなく急性作用を示す可能性や、原薬及び製剤に含まれている不純物が薬理作用を示す可能性等を考慮して CD33 抗原を発現していない動物を用いて一般薬理試験を実施した。その結果、一般薬理試験において、

本薬自体の作用は認められておらず、これらの試験で検討された項目についてヒトで CD33 抗原発現細胞への取り込みを介さない急性作用が発現する可能性は少ないものと考えられる。

機構は、CD33 抗原を発現していない動物種を用いて本薬の一般薬理を検討した理由について、了承した。しかし、イヌでは循環器系への本薬の影響が認められており、本薬自体の作用は認められないとする申請者の説明は十分ではないと考え、イヌで認められた変化の機序（原因）について申請者に考察を求めた。また、これに関して、添付文書上で重点的な注意喚起をする旨が示されているが、臨床試験における安全性評価では、循環器系への本薬の有害事象に対して、どのように評価されているのか、申請者に説明を求めた。

申請者は、以下のように回答した。

一般薬理試験においてイヌの血圧、心拍数及び心電図への影響が観察された。本薬 40mg protein/m² の急速静脈内投与後 5~25 分にかけて血圧低下が認められたが、その後は徐々に回復した。心拍数増加は投与後 15 分から、また心拍出量低下は投与後 5~25 分に認められた。これらの変化の時間的経過を考慮すると、一回拍出量の低下に由来する心拍出量の減少によって血圧が低下し、心拍出量を維持するために心拍数が増加したことが考えられるが、一回拍出量低下の理由は不明である。また、心電図では P 波及び T 波の振幅の増大が認められているが、その原因は不明であり、他の心電図パラメータへの影響は認められていない。以上、イヌの循環器系で認められた変化については、作用機序の詳細は不明であるが、いずれの変化も静脈内投与後短時間に出現していること、イヌは CD33 を発現していないこと、血中では本薬からカリケアマイシン誘導体は殆ど遊離しないことから、遊離したカリケアマイシン誘導体の薬理作用によるものとも考え難い。多くの蛋白製剤に共通する副作用として infusion reaction が知られており、実験動物においても IgG の静脈内投与により循環器系への作用が惹起されることが報告されており (Dev Biol Stand 67: 257-265, 1987, Blood 95: 1856-1861, 2000)、ヒト化抗体とカリケアマイシン誘導体の結合体である本薬の投与においても同様の機序により循環器系への作用が惹起された可能性がある。

臨床試験における循環器系への有害事象は国内第 I/II 相試験の I 相部分 (20 例) において頻脈 7 例 (35%)、高血圧 3 例 (15%)、低血圧 2 例 (10%) がみられた。このうち Grade 3 又は 4 の有害事象は高血圧 1 例 (5%) のみであった。海外第 II 相試験 (試験 201、202、203) の 277 例においては、低血圧 55 例 (20%)、高血圧 43 例 (16%)、頻脈 28 例 (10%) が発現した。Grade 3 又は 4 の有害事象は、高血圧及び低血圧がそれぞれ 21 例 (8%) 及び頻脈 1 例 (1%未満) であった。これらの有害事象は主に、点滴投与関連毒性として本薬の投与後 24 時間以内に悪寒、発熱等とともに発現していることから、添付文書には、低血圧や高血圧も含めて「重要な基本的注意」として infusion reaction について注意喚起している。

機構は、イヌへの本薬の投与に伴う循環器系への影響について、静脈内投与後短時間に発現していること、さらに、臨床試験における循環器系への有害事象においても、本薬の投与後 24 時間以内に悪寒、発熱とともに発現していることから、一般薬理試験で認められた本薬の循環器系への影響は infusion reaction によるものとする申請者の考察は妥当なもの判断した。ただし、最終製剤中には最高 µg/mg protein の遊離型カリケアマ

イシン誘導体が含まれており、遊離型カリケアマイシン誘導体の薬理作用（殺細胞作用）に対しても十分な注意喚起が必要であると考え。なお、申請者は本薬の循環器系及び巨核球の分化抑制への影響について、以下のような添付文書における対応を検討している。

本薬の循環器系への作用に関しては添付文書の「用法・用量に関連する使用上の注意」欄に本剤の持続投与中及び投与後 4 時間は、バイタルサインをモニターすること及び「重要な基本的注意」欄に重篤な低血圧があらわれた場合には、本剤の投与を中止し、症状が完全に消失するまで患者を注意深く観察する旨を記載するとともに、「その他の注意」欄に上記イヌ循環器系に対する作用を記載し注意を促す。さらに、血小板減少に関しては、「重要な基本的注意」欄に本剤を投与した全例に骨髄抑制が生じると考えられるため、頻回に臨床検査（血液検査、腎機能・肝機能検査等）を行なう等患者の状態を十分に観察する旨を記載し注意喚起する。

機構は、本剤の循環器系及び巨核球の分化への影響について、添付文書の記載は妥当なものと考え、さらにインタビューフォーム等による適切な情報提供及び注意喚起は必要であると考え。

へ. 吸収、分布、代謝、排泄に関する資料

(1) 提出された資料の概要

申請者は提出した資料に基づき、主に以下のような考察を行っている。

1) 動物における薬物動態

i) 吸収

① 単回投与（添付資料へー1、2、ニ-4、3）

雄性ラット又は雄性サルに、カリケアマイシン誘導体 B を ^3H 標識した本薬（以下、 ^3H CMA-676）をそれぞれ 11.2 又は 16.0mg protein/m²（カリケアマイシン誘導体 B として 49 又は 45 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）単回静脈内投与した際、血漿中の総放射能濃度及び総カリケアマイシン誘導体濃度はいずれの動物種においても二相性に減少した。ラットにおける血漿中総放射能及び総カリケアマイシン誘導体の最高濃度（C_{max}）はそれぞれ 1.00 $\mu\text{g eq}/\text{mL}$ 及び 1.28 $\mu\text{g eq}/\text{mL}$ （カリケアマイシン誘導体 A 当量）、半減期（t_{1/2}）はそれぞれ 95hr 及び 66hr、血漿中濃度時間曲線下面積（AUC_{inf}）はそれぞれ 22.9 $\mu\text{g eq}\cdot\text{hr}/\text{mL}$ 及び 20.1 $\mu\text{g eq}\cdot\text{hr}/\text{mL}$ であり、総放射能と総カリケアマイシン誘導体は同様の推移を示した。また、サルでは C_{max} はそれぞれ 1.62 $\mu\text{g eq}/\text{mL}$ 及び 1.54 $\mu\text{g eq}/\text{mL}$ 、t_{1/2} はそれぞれ 119hr 及び 162hr、AUC_{inf} はそれぞれ 51.2 $\mu\text{g eq}\cdot\text{hr}/\text{mL}$ 及び 35.7 $\mu\text{g eq}\cdot\text{hr}/\text{mL}$ であり、投与後 1～120 時間まで総放射能濃度の方が総カリケアマイシン誘導体濃度より若干高い推移を示したものの、総放射能と総カリケアマイシン誘導体は投与後 0.5 時間まで及び 168 時間以降は同様の推移を示した。ラット及びサルともに、投与後 120 時間までの血漿中 ^3H 非結合カリケアマイシン誘導体は総放射能の 2%以下であり、循環血中では大部分のカリケアマイシン誘導体は hP67.6 と結合していると申請者は考察している。

雄性サルに本薬（2.46、7.38 又は 22.14mg protein/m²、カリケアマイシン誘導体 B として 5、15 又は 45 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）又は hP67.6（22.14mg protein/m²）を単回静脈内投与した際、総カリケアマイシン誘導体及び hP67.6 の C_{max} 及び AUC_{inf} は用量依存的に増加し、t_{1/2} はそれぞれ 105～173hr 及び 128～169hr であった。最高用量での血漿中非結合カリケア

マイシン誘導体の C_{max} (0.010 μ g eq/mL) は、総カリケアマイシン誘導体の C_{max} (1.31 μ g eq/mL) の 0.8% であり、循環血中では大部分のカリケアマイシン誘導体は hP67.6 と結合していると申請者は考察している。

雌雄のラットに本薬 8.4mg protein/m² (カリケアマイシン誘導体 B として 30 μ g/kg) を単回静脈内投与した際、血漿中総カリケアマイシン誘導体濃度及び hP67.6 濃度推移に性差は認められなかったと申請者は述べている。

②反復投与 (添付資料二-3, 5)

雄性ラットに本薬 (0.7、2.8 又は 8.4mg protein/m²、カリケアマイシン誘導体 B として 3、10 又は 30 μ g/kg) 又は hP67.6 (8.4mg protein/m²) を週 1 回 6 サイクル間欠静脈内投与した際、初回投与後の血漿中総カリケアマイシン誘導体及び hP67.6 の C_{max} 及び AUC_{inf} は用量依存的に増加し、 $t_{1/2}$ はそれぞれ 11~38hr 及び 56~85hr であった。最高用量での非結合カリケアマイシン誘導体の C_{max} (0.015 μ g eq/mL) は、総カリケアマイシン誘導体の C_{max} (0.491 μ g eq/mL) の 3.1% であった。また、本薬を 6 回投与後の血漿中総カリケアマイシン誘導体及び hP67.6 濃度の C_{max} は初回投与後に比べて低かった (機構注: 0.7mg protein/m² 投与群の 6 回投与後の血漿中総カリケアマイシン誘導体及び hP67.6 濃度の C_{max} は、それぞれ初回投与時の 184.5% 及び 209.5% であり、初回投与に比べ 6 回投与後の方が高値である。)。この原因は、反復投与によりラット血漿中の本薬に対する抗体が生成したためであると申請者は述べている。

雄性サルに hP67.6 産生細胞株が異なる初期製剤 (6.96mg protein/m²、カリケアマイシン誘導体 B として 15 μ g/kg) 又は申請製剤 (1.92、5.88 又は 17.76mg protein/m²、カリケアマイシン誘導体 B として 5、15 又は 45 μ g/kg) を週 1 回 6 サイクル間欠静脈内投与した際、初回及び 6 回投与後の薬物速度論的パラメータは、初期製剤及び申請製剤で同様であったことから、両製剤は同様の体内動態を示すと申請者は推察している。申請製剤では、初回及び 6 回投与後ともに、 C_{max} 及び AUC に用量依存性が認められた。また、サルでは 6 回投与時の本薬に対する抗体産生は弱~中程度であり、6 回投与後の $AUC_{0-168hr}$ (475~4086 μ g eq·hr/mL) は、初回投与後の血漿中 hP67.6 濃度の AUC_{inf} (332~3986 μ g eq·hr/mL) と同様であったことから、蓄積性はないと申請者は考察している。

ii) 分布

①組織内濃度 (添付資料へ-3)

雄性ラットに [³H]CMA-676 を 9.1mg protein/m² (カリケアマイシン誘導体 B として 29.5 μ g/kg) を単回静脈内投与した際、最高組織内放射能濃度は、血漿、血液、肺、肝臓、腎臓、脾臓、心臓の順に高い値 (431.86~35.16ng eq/mL 又は ng eq/g) を示し、その他の組織では 30ng eq/g 以下であった。また、いずれの組織のいずれの採取時間においても組織内放射能濃度は血漿中放射能濃度に比べて低かった。血液中放射能濃度 (236.25ng eq/mL) は血漿中放射能濃度 (431.86ng eq/mL) の約 1/2 であったことから、血球への移行は低いと申請者は推察している。

②胎盤・胎児への移行性 (添付資料二-8, 9)

妊娠 6~17 日のラットに本薬 (0.059、0.142 又は 0.342mg protein/m²) を 1 日 1 回 12 日間静脈内投与した際の胚・胎児発生に関する試験において、催奇形性が認められたことから (ニ (1) 5) 生殖発生毒性試験 (参照)、本薬又は代謝物が胎盤を通過し胎児に移行すると申請者は考察している。

iii) 代謝

① *in vitro* 代謝 (添付資料へ-4~6)

ヒト肝ミクロソーム画分 (HLM) 中でカリケアマイシン誘導体 A (7~14 μ mol/mL) 又はカリケアマイシン誘導体 B (6~12 μ mol/mL) を NADPH 存在下、37°C で 2~2.5 時間インキュベートした結果、カリケアマイシン誘導体 A から M1、M2 及び M10 が生成し、カリケアマイシン誘導体 B からカリケアマイシン誘導体 A、M1、M2、M10 に加えて、M12 及び M13 が生成した。カリケアマイシン誘導体 A 及び B の主代謝経路は酸化及び O-脱メチル化と推定された。

ヒト肝可溶性画分 (HLC) 中でカリケアマイシン誘導体 A (14 μ mol/mL) 又はカリケアマイシン誘導体 B (12 μ mol/mL) を NADPH 存在下、37°C で 3.5 時間インキュベートした結果、カリケアマイシン誘導体 A からカリケアマイシン誘導体 C (M6) 及びその誘導体 (M5、M7)、M3、M4、M8、M9a 及び M9b が生成した。また、カリケアマイシン誘導体 B からはカリケアマイシン誘導体 A、M5、M6、M7、M8、M9a、M9b に加えて、カリケアマイシン誘導体 C の酸化体 (M11a、M11b) 及び酸化還元体 (M15a、M15b) が生成した。

HL-60 細胞 (2 \times 10⁷ 細胞/mL) とカリケアマイシン誘導体 A (10 μ mol/mL) を 37°C で 4、8 又は 24 時間インキュベートした結果、4 及び 8 時間ではカリケアマイシン誘導体 A から M6 及び M16 が生成し、24 時間ではそれらに加え、M7、M8 及び M14 が生成した。

ヒト肝細胞 (2.45 \times 10⁶ 細胞/mL) とカリケアマイシン誘導体 A (10 μ mol/mL) を 37°C で 1 又は 4 時間インキュベートした結果、4 時間ではカリケアマイシン誘導体 A から O-脱メチル体 (M1、M10)、カリケアマイシン誘導体 C 及びその誘導体 (M5、M6、M7)、M8 が生成した。

② 代謝酵素 (添付資料へ-6~8)

CYP1A2、2A6、2C9、2C19、2D6、2E1 及び 3A4 の各ヒト CYP 発現系ミクロソームを用いて本薬の代謝酵素を検討した結果、ヒト肝細胞画分 (機構注: HLM) とインキュベートした際に認められた酸化代謝物 (M1、M2 及び M10) は、CYP3A4 発現系ミクロソームにおいてのみ生成され、それらの生成は CYP3A4 阻害剤であるケトコナゾールにより阻害された。

HLC 及びヒトグルタチオン S-トランスフェラーゼ/還元型グルタチオン (GST/GSH) を用いて、カリケアマイシン誘導体 A の細胞内での代謝における GST の役割を検討し、さらに代謝に関与する GST アイソザイムの検索を行った。HLC 中でカリケアマイシン誘導体 A をインキュベートした際、代謝物 M6、M7、M8、M19 及び M20 が認められたが、GST 阻害剤である p-クロロメルクリフェニルスルホン酸により M6、M7、M19 及び M20 の生成は阻害された。HLC の代わりに GSH を含む精製ヒト GST を用い

た場合も、M6、M7、M19 及び M20 が生成し、それらの生成は GST 阻害剤で阻害された。しかし、GSH のみではそれらの代謝物は生成しなかった。また、本薬の代謝においても、GST により M6 及び M19 が生成し、GST 阻害剤共存下では、それらの生成が阻害された。さらに、精製ヒト GST の代わりに 3 種の遺伝子組換えヒト型 GST アイソザイム (A1-1、M1-1、P1-1) を用いたところ、いずれの GST アイソザイムでも M6 及び M7 が生成し、さらに A1-1 では M19 及び M20 が、M1-1 では M20 が、P1-1 では M19 が認められた。それらの生成は GST 阻害剤で阻害された。

HLM 及びブタ肝エステラーゼを用いて、カリケアマイシン誘導体 B 及び本薬のヒドラゾン結合の加水分解におけるエステラーゼの役割を検討した。HLM 中でカリケアマイシン誘導体 B は速やかにカリケアマイシン誘導体 A に加水分解し、その変換はエステラーゼ阻害剤であるパラオキシソンにより阻害された。また、HLM の代わりにブタ肝エステラーゼを用いた場合においても、カリケアマイシン誘導体 B からカリケアマイシン誘導体 A が生成した。さらに、本薬をブタ肝エステラーゼ中でインキュベートした検討においても、同様にカリケアマイシン誘導体 A が生成した。

iv) 排泄

①尿及び糞中排泄 (添付資料へー3)

雄性ラットに³H]CMA-676 を 9.1mg protein/m² (カリケアマイシン誘導体 B として 29.5µg/kg) を単回静脈内投与した際、放射能は尿及び糞中に徐々に排泄され、投与後 14 日目までの尿及び糞中総排泄率は投与放射能の 71.2% (尿中 12.6%、糞中 58.6%) であった。また、放射能の大部分は糞中に排泄されたことから、胆汁中排泄が主排泄経路であると申請者は考察している。

②乳汁への移行性

免疫グロブリンの IgA は乳汁中に移行し、新生児の感染防御に重要な機能を果たしていることが知られている (Am J Clin Nutr 42: 1299-1317, 1985)。本薬は構造的に IgA と類似性を有しているため、乳汁中に移行する可能性があるとして申請者は考察している。

2) ヒトにおける薬物動態

本薬をヒトに静脈内投与した際の薬物動態は、再発又は難治性の急性骨髄性白血病 (AML) 患者を対象にした国内臨床試験及び 4 つの海外臨床試験により検討されている。

i) 国内第 I/II 相試験 (0903A1-103: 試験 103) (添付資料トー2)

国内第 I/II 相臨床試験の第 I 相部分に組み入れられた CD33 陽性の再発又は難治性の AML 患者 20 例 (男性 11 例及び女性 9 例、平均年齢 54.6 歳) を対象に、本薬の 6、7.5 又は 9mg/m² を 2 時間点滴静脈内投与 (少なくとも 14 日間隔で最高 2 回) した際の薬物動態について検討した。

初回投与後における血漿中 hP67.6 濃度の C_{max} はそれぞれ 1837、2497、3248ng/mL、AUC_{inf} はそれぞれ 67.1、108.7、133.4mg・hr/L であり、投与量と C_{max} 及び AUC_{inf} との間には正の相関がみられた。初回投与後における t_{1/2} は 51~63hr と投与量に関わらずほ

ば一定であったと申請者は述べている。2回目投与後における血漿中 hP67.6 濃度の C_{max} は 1934、2808、3640ng/mL、 AUC_{inf} は 109.1、180.9、223.1mg·hr/L であった。2回目投与開始直前の血漿中濃度は定量限界付近まで低下していたが、各投与量群の投与回別の AUC_{inf} の平均値を比較すると、2回目投与では初回投与よりも高値を示す傾向がみられた。これに伴い 6 及び 7.5mg/m² 両投与群において、初回投与時よりも 2回目投与時で hP67.6 のクリアランス (CL)、及び定常状態における分布容積 (V_{ss}) に減少傾向がみられた。

初回投与後における血漿中総カリケアマイシン誘導体濃度の C_{max} はそれぞれ 45、56、83ng/mL であり、 AUC_{inf} はそれぞれ 1.07、2.35、2.72mg·hr/L であった。総カリケアマイシン誘導体の C_{max} 及び AUC_{inf} は hP67.6 と同様、投与量の増量に伴って増加し、血漿中総カリケアマイシン誘導体濃度は血漿中 hP67.6 濃度と平行して推移したと申請者は述べている。初回投与後における総カリケアマイシン誘導体の $t_{1/2}$ は 15~24hr であった。また、hP67.6 と同様に総カリケアマイシン誘導体の AUC_{inf} についても、初回投与後より 2回目投与後で高値 (1.79~6.16mg·hr/L) を示す傾向がみられた。

血漿中非結合カリケアマイシン誘導体濃度は、血漿中 hP67.6 濃度及び血漿中総カリケアマイシン誘導体濃度と平行して推移しているものの、6、7.5 及び 9mg/m² 初回投与後における C_{max} 又は AUC_{inf} と投与量との間に明確な関連性は認められなかったと述べている。しかしながら、hP67.6 及び総カリケアマイシン誘導体と同様に、非結合カリケアマイシン誘導体の AUC_{inf} においても、2回目投与では初回投与後よりも高値を示す傾向がみられた。

ii) 海外第 I 相臨床試験 (0903A1-101-US : 試験 101) (添付資料ト-1)

CD33 陽性の再発又は難治性の AML 患者 41 例に、本薬 0.25、0.5、1、2、4、5、6 又は 9mg/m² を 2 時間点滴静脈内投与 (14 日間隔で最高 3 回まで) した際、最高血漿中 hP67.6 濃度到達時間 (t_{max}) は投与量に関わらず点滴投与終了直後に観察された。血漿中 hP67.6 濃度の C_{max} 及び AUC_{inf} は投与量の増大に伴い緩やかなカーブを描いて上昇し、明確な線形性はみられなかった。 $t_{1/2}$ は 0.25mg/m² 投与群以外は 26~44hr の範囲にあり、投与量の増加に伴う変化はみられなかったと申請者は述べている。高用量域において、血漿中 hP67.6 濃度の C_{max} 及び AUC_{inf} が投与量に比例せず、投与量の増加率以上に上昇した原因としては、高用量域では標的細胞の数に対して本薬が十分に存在することにより標的細胞への移行に飽和が生じたためと申請者は考察している。

また、本薬 (1mg/m²) の 3 回投与により完全寛解に到達した後、再発が確認されたため再度 6mg/m² を 2 回投与された症例 (10132-107) において、6mg/m² の初回及び 2 回目投与時の血漿中 hP67.6 濃度を比較したところ、2 回目投与時の血漿中 hP67.6 濃度に顕著な減少 (機構注: 2 回投与時の C_{max} は初回投与時の 0.48% に減少) が認められた。抗体検査の結果、カリケアマイシン-リンカー部分に対する抗体が検出された。この症例については、本薬に対する抗体の産生により本薬のカリケアマイシン-リンカー部分に結合した抗体がマクロファージなどによる貪食作用を増強、又は hP67.6 濃度測定に用いた ELISA 法の 1 次抗体の結合部位近くに、発現した抗体が結合しているために、hP67.6 の測定を阻害しているなどの可能性があるとして申請者は考察している。別症例 (10132-2) に

において、本薬 (0.25mg/m²) を 3 回投与後、カリケアマイシン-リンカー部分に対する抗体が陽性と判定されたが、初回及び 2 回目投与後と 3 回目投与後の血漿中 hP67.6 濃度に変化は認められなかった。この症例については、抗体の抗原特異性 (hP67.6 と結合した状態のカリケアマイシン-リンカー部分に対する反応性) が異なっている可能性があるとして申請者は述べている。

iii) 海外第Ⅱ相臨床試験 (0903B1-201-US/CA : 試験 201) (添付資料ト-3)

CD33 陽性の初回再発 AML 患者 84 例を対象に、本薬 9mg/m² を 2 時間点滴静脈内投与 (少なくとも 14 日間隔で最高 3 回まで) した際、血漿中 hP67.6 濃度推移には大きな個体間変動が認められるとともに、個体内においても投与回数により変動がみられた。初回及び 2 回目投与における hP67.6 の C_{max} はそれぞれ 3132±2325ng/mL 及び 3831±1357 ng/mL であった。また、AUC_{inf} は 2 回目投与 (253.39±204.63mg·h/L) では初回投与 (135.87±129.93mg·h/L) に比べ 1.86 倍高く、t_{1/2} は初回及び 2 回目投与でそれぞれ 70hr と 89hr であった。

総カリケアマイシン誘導体の血漿中濃度は hP67.6 と同様の消失挙動を示し、初回及び 2 回目投与における C_{max} はそれぞれ 81±87ng/mL 及び 83±35ng/mL、AUC_{inf} はそれぞれ 2.50±1.87mg·h/L 及び 5.15±3.80mg·h/L、t_{1/2} はそれぞれ 42hr 及び 62hr であり、hP67.6 と同様に初回投与に比べ 2 回目投与時に AUC_{inf} に増加傾向がみられた。また、初回及び 2 回目投与における非結合カリケアマイシン誘導体の AUC_{inf} は、総カリケアマイシン誘導体の AUC_{inf} のそれぞれ 8.8% 及び 6.2% であった。

iv) 海外第Ⅱ相臨床試験 (0903B1-202-EU : 試験 202) (添付資料ト-4)

CD33 陽性の初回再発 AML 患者 95 例を対象に、本薬 9mg/m² を 2 時間点滴静脈内投与 (少なくとも 14 日間隔で最高 3 回まで) した際、血漿中 hP67.6 濃度は単相性の消失挙動を示したが、薬物動態パラメータには大きな個体間変動がみられた。初回及び 2 回目投与における hP67.6 濃度の AUC_{inf} はそれぞれ 167.28±175.12mg·h/L 及び 317.79±439.96mg·h/L であり、他の臨床試験成績と同様に 2 回目投与では AUC_{inf} の上昇が観察された。これらの結果は試験 101 (機構注: 試験 201) で得られた値とほぼ一致していた。また、hP67.6 の CL と分布容積 (V_z 及び V_{ss}) に初回投与に比べ 2 回目投与時に減少傾向がみられた。

総カリケアマイシン誘導体の血漿中濃度は hP67.6 と同様に単相性の推移を示し、初回及び 2 回目投与後における総カリケアマイシン誘導体の C_{max} はそれぞれ 89±41ng/mL 及び 105±51ng/mL であり、AUC_{inf} はそれぞれ 3.84±4.09mg·h/L 及び 6.66±5.87mg·h/L であった。また、初回及び 2 回目投与時の非結合カリケアマイシン誘導体の AUC_{inf} は、総カリケアマイシン誘導体の AUC_{inf} のそれぞれ 10.7% 及び 6.3% であった。

v) 海外第Ⅱ相臨床試験 (0903B1-203-US/EU : 試験 203) (添付資料ト-5)

60 歳以上の CD33 陽性の初回再発 AML 患者 98 例を対象に、本薬 9mg/m² を 2 時間点滴静脈内投与した際、hP67.6、総カリケアマイシン誘導体及び非結合カリケアマイシン誘導体の各薬物動態パラメータには大きな個体間変動がみられたが、初回投与後の t_{1/2} は

それぞれ 53 ± 29 hr、 36 ± 29 hr 及び 121 ± 161 hr であり、血漿中濃度はいずれの測定対象も緩やかに低下した。

初回及び 2 回目投与における hP67.6 の AUC_{inf} はそれぞれ 104.42 ± 98.82 mg·h/L 及び 206.06 ± 161.96 mg·h/L であり、他の臨床試験と同様に初回投与に比べ 2 回目投与では AUC_{inf} の増加が観察され、また、CL、 V_z 及び V_{ss} に減少傾向がみられた。

初回及び 2 回目投与時の総カリケアマイシン誘導体の C_{max} は 81 ± 41 ng/mL 及び 95 ± 41 ng/mL、 AUC_{inf} はそれぞれ 2.46 ± 2.00 mg·h/L 及び 5.14 ± 3.93 mg·h/L であった。初回及び 2 回目投与時の非結合カリケアマイシン誘導体の AUC_{inf} は、総カリケアマイシン誘導体の AUC_{inf} のそれぞれ 12.6% 及び 8.3% であった。

vi) 尿中代謝物の探索的検討 (参考資料へー1)

試験 201 の 3 例及び試験 203 の 1 例より採取した尿サンプル中の代謝物を同定したところ、全ての被験者からカリケアマイシン誘導体 A、M8 が検出され、また、カリケアマイシン誘導体 C (M6) とその誘導体 (M5、M7、M14) が検出された被験者も複数あった。M8 は化学構造が特定できていないが、M5、M6、M7 及び M14 はカリケアマイシンの抗腫瘍活性部位であるエンジイン構造が失われている。エンジイン構造を失ったカリケアマイシン誘導体が多岐にわたる種類について確認されていることから、ヒトにおける主要尿中代謝物は不活性化されたカリケアマイシンの誘導体であると申請者は考察している。

vii) 海外臨床試験のまとめと母集団薬物動態解析 (添付資料トー6、参考資料へー2)

本薬 9 mg/ m^2 を静脈内投与した 3 つの海外第 II 相試験 (試験 201、202、203) 成績を集計して、年齢、性別と hP67.6 の AUC_{inf} について検討したが、これらの間に明確な関連性は認められなかった。また、海外の臨床試験において肝機能障害 (Grade 3 又は 4 の GOT/GPT 上昇及びビリルビン上昇、並びに肝静脈閉塞症の発現) の有無に分け、初回投与時の血漿中 hP67.6 濃度の AUC の分布を比較したが、両者の間に相関は認められなかったと申請者は述べている。一方、海外第 II 相臨床試験の症例の 96% ($259/271$ 例) が白人であったため、薬物動態への人種の影響については検討されていない。

海外で実施した第 I 相及び第 II 相臨床試験 (試験 101、201、202、203) より得られた血漿中 hP67.6 濃度データを基に 2-コンパートメントモデルを用いた母集団薬物動態解析を行った結果、得られた母集団薬物動態パラメータは被験者毎の非コンパートメント解析から導かれたパラメータと類似していたと述べている。また、母集団薬物動態パラメータに対して、年齢、性別、体表面積及び民族差の影響は検出されなかった。初回投与に比べ 2 回目投与で CL の増加が認められたが、この原因を説明する共変量は見出されなかった。

(2) 機構における審査の概要

1) 用法・用量の設定根拠について

機構は、本薬の用法・用量の設定根拠について、薬物動態の面から説明するよう求めた。申請者より、以下の回答がなされた。

本薬が薬理効果を発揮するためには、殺細胞効果を引き起こすために十分な量の本薬を

取り込むことができる数の CD33 抗原が白血病細胞表面に発現しており、かつ白血病細胞における総 CD33 抗原量に対して充分な量の本薬が血液及び骨髄中に存在することが必要である。海外第 I 相試験における CD33 飽和試験の結果から、充分量の本薬を標的である CD33 陽性白血病細胞に確実に届けるためには $9\text{mg}/\text{m}^2$ の投与量が必要であると考えられ、国内試験第 I 相部分においてもそれを裏付ける結果が得られている。

また、本薬の用法である 14 日間隔での 2 回投与については、本薬 $9\text{mg}/\text{m}^2$ の初回投与後における血漿中 hP67.6、総カリケアマイシン誘導体及び非結合カリケアマイシン誘導体濃度の $t_{1/2}$ (平均値) がそれぞれ 51、24 及び 170hr であり、 $t_{1/2}$ が最も長い非結合カリケアマイシン誘導体においても 14 日間 (336 時間) の間隔により体内曝露量は最大曝露時の 25%程度まで低下することが期待できる。カリケアマイシン誘導体の体内への蓄積による影響を最小限にしつつ、残存する癌細胞が再増殖する時間を与えずに 2 回目の投与を行うことが本薬を有効に使用する上で最も重要と考える。

これらのことから、薬物動態の面からも現在規定している用法・用量は支持できる。

機構は、国内臨床試験では、末梢血 CD33 抗原の飽和度と、血漿中 hP67.9 又は総カリケアマイシン誘導体濃度との間に明確な関連性は認められておらず、また副作用の発現と薬物動態との関係も十分に明らかになっていないため、本薬の用法・用量の設定根拠の妥当性を説明し得る薬物動態の成績は得られていないと判断した。

2) 薬物動態に与える影響因子について

機構は、本薬の薬物動態パラメータに影響を及ぼす因子 (体格差、年齢、性別、遺伝子多型、疾患、肝障害及び腎障害等) について説明を求めた。

申請者より、以下の回答がなされた。

海外臨床試験データを用いた PPK 解析において、hP67.6 の薬物動態パラメータに対する年齢、性別、体重、体表面積及び人種 (白人、白人以外) (機構注: 白人 142 例、非白人 15 例) の影響について検討した結果、いずれも統計学的に有意な違いは検出されておらず、初回投与と 2 回目投与において CL の減少がみられたのみである。投与回数における CL の変化は、本薬の薬理効果による CD33 抗原発現細胞の減少に伴う本薬の細胞内取り込みの減少によるものと考えている。このことから、薬物動態パラメータへの主たる影響因子は患者における総 CD33 抗原量であると考えられる。しかしながら、総 CD33 抗原量は白血病の種類、患者の状態によって変化するだけでなく、同一の白血病細胞であっても細胞表面の CD33 抗原の発現量は一様でない。さらに、患者における総 CD33 抗原量を定量的に測定する方法が存在しないため、本薬の薬物動態における総 CD33 抗原量の影響については検討できていない。

本薬は他の高分子蛋白製剤と同様に、肝臓又は腎臓に存在する酵素によってアミノ酸に分解され、再利用もしくは排泄され则认为られるため、肝障害又は腎障害を持つ患者に対しては薬物動態が変化している可能性もあるが、詳細な情報は得られていない。ただし、肝障害のある患者では重篤な肝静脈閉塞症 (veno-occlusive disease: VOD) の発症リスクの上昇が懸念されるため、本薬の使用には十分な注意を要すると考える。

機構は、個々の患者の総 CD33 抗原量が本薬の薬物動態に影響する因子の一つであるな

らば、CD33 発現細胞又は CD33 発現量が比較的少ない患者に本薬を投与した場合には、特に安全性上の問題が生じる可能性はないか、説明を求めた。

申請者より、以下の回答がなされた。

本薬は分子標的医薬品としての性質を持ち、作用部位において活性物質であるカリケアマイシン誘導体が遊離して殺腫瘍活性を発揮すると考えられていることから、CD33 抗原発現細胞が比較的少ない場合においても、安全性の問題を引き起こす可能性は低いと考えられる。本薬の殺 CD33 抗原発現細胞効果により、2 回目投与前では初回投与前よりも CD33 抗原発現細胞数が減少していると考えられるが、2 回目投与時に初回投与前とは明らかに異なるような安全性上の問題はみられていない。また、本薬の全身曝露量の増加と安全性上の主な論点である肝機能異常との間に、明確な関連性は見出されていない。以上のことから、CD33 抗原発現細胞数あるいは抗原量が比較的少ない患者において、安全性上の問題が生じる可能性は低いと考える。

機構は、CD33 抗原を発現していない細胞に対しても本薬は殺細胞作用を示すことが薬理試験で確認されており、全身曝露量の増加に起因する副作用の発現は否定できないと考える。国内臨床試験（試験 103）において $9\text{mg}/\text{m}^2$ を初回投与した際の hP67.6 の CL は、低値 ($0.04\sim 0.10\text{L}/\text{hr}$: 6/11 例) 又は高値 ($0.20\sim 0.42\text{L}/\text{hr}$: 5/11 例) に分かれる傾向がみられることから、その原因について患者背景等から考察するとともに、CL が高値を示す症例の多くで 2 回目の投与が行われていない理由が、初回投与後の有効性又は安全性と関連があるか考察するよう求めた。

申請者より、以下の回答がなされた。

本薬の初回投与時において、CD33 抗原量が比較的多い患者では、本薬は CD33 抗原と結合し、速やかに末梢静脈血中から消失し、CL は高値を示すと考えられる。しかしながら、体内における総 CD33 抗原数を正確に把握することは通常不可能であるため、患者間における CL の高低の原因が体内の総 CD33 抗原量であることを示唆するデータは得られていない。国内第 I/II 相臨床試験（試験 103）の I 相部分における CL と主要な患者背景及び中止理由との関係について、特段の関連は見出されていない。有害事象及びその他の医学事象と CL についても、国内試験の症例については直接的な関連性は見出せていない。有効性については、少なくとも飽和試験の結果において標的細胞上の CD33 抗原量に対して充分量が投与されていることが確認されており、高 CL による AUC の低下と有効性との関連性については、直接的な関係はないと考えている。

機構は、海外臨床試験における PPK 解析の結果より、投与回数が本薬の CL に影響を及ぼすことが示唆されており、2 回目投与例の全身曝露量の増加に関係する因子は不明であるが、2 回目投与例に対しては、より慎重に経過を観察するよう注意喚起する必要があると考える。

また、機構は本薬の CL には CD33 抗原量が影響すると申請者は考察しているが、現時点では生体内の総 CD33 抗原量の定量法は確立されていないことから、総 CD33 抗原量がどの程度本薬の CL に影響するのかわからないと判断している。

さらに、海外臨床試験成績を基にした PPK 解析において本薬の薬物動態に影響する因子は投与回数以外に見出されていないものの、CD33 抗原及びその定量法等、本薬の薬物

動態に影響する可能性がある因子及びその関連事項については、今後も調査を継続することが必要であると機構は考える。

3) 本薬の代謝について

機構は、本薬は循環血中では代謝されず、標的細胞内で特異的に hP67.6 とカリケアマイシン誘導体に加水分解されるメカニズムについて、説明を求めた。

申請者より、以下の回答がなされた。

本薬は静脈内投与後、循環血中から CD33 標的細胞に到達し、細胞表面の CD33 抗原に結合した後、インターナリゼーションによって取り込まれ、細胞内で hP67.6 とカリケアマイシン誘導体に加水分解されると考えられている。本薬が循環血中では代謝されず、標的細胞内で特異的に hP67.6 とカリケアマイシン誘導体に代謝されるメカニズムは、非酵素的な加水分解が行われる環境の pH の違いによるものと考えている。本薬の非酵素的な加水分解は、pH 6 から pH 4.5 の弱酸性になるにつれて増大するのに対し、生理条件下の血液と同じ pH 7.4 の緩衝液中ではほとんど加水分解していない (ホ (1) 1) v) ④ 本薬からのカリケアマイシン誘導体 A の解離 参照)。このことから、本薬は循環血中では殆ど加水分解 (機構注：非酵素的な加水分解) を受けず、標的細胞への取り込み後、リソソーム中の酸性条件下において非酵素的な加水分解によりカリケアマイシン誘導体を生じるものと考えている。エステラーゼによる酵素的な加水分解の関与についても否定はできないが (へ (1) 1) iii) ②代謝酵素 参照)、循環血中において本薬の大部分が複合体の形態のまま存在していたことから、血中のエステラーゼに対しては安定であると考えられる。

機構は、申請者の考察は限られた試験成績からの推測と判断し、メカニズムの詳細は不明であると考え。製剤では紫外可視吸光度測定法による総カリケアマイシンの規格値は 24~35µg/mg (たん白質)、ELISA による非結合カリケアマイシン誘導体は 1µg/mg (たん白質) 以下に設定されているが、国内臨床試験では総カリケアマイシン誘導体の AUC_{inf} は 3.27mg·h/L、非結合カリケアマイシン誘導体の AUC_{inf} は 1.18mg·h/L という症例 (症例番号 1-007) もあり、細胞内において加水分解された非結合カリケアマイシン誘導体の血中への放出、循環血中での本薬の代謝の可能性について今後も情報収集していく必要があると考える。

4) 代謝酵素と薬物相互作用について

機構は、薬物相互作用に関する検討はなされていないことより、今後の検討計画について説明を求めた。

申請者は、薬物相互作用に関する今後の検討計画はないと回答した。

機構は、本薬の代謝に CYP3A4 が関与している可能性があることから、CYP3A4 を介した薬物相互作用の懸念があると考え、添付文書中にその旨を記載する必要性について申請者の見解を求めた。

申請者より、以下の回答がなされた。

in vitro 代謝試験の結果から、カリケアマイシン誘導体 A の代謝経路の一つとして、CYP3A4 により酸化代謝物 (M1、M2、M10) を生成する経路が示唆されたが、それ以

外にも、カリケアマイシン誘導体 A には複数の代謝経路が存在すると推定されている。すなわち、グルタチオン S-トランスフェラーゼによってカリケアマイシン誘導体 A のジスルフィド結合が還元されて活性化した後、不活性代謝物であるカリケアマイシン誘導体 C (M6) とその誘導体 (M5、M7、M11a、M11b、M14、M15a、M15b、M19、M20) を生成する経路、さらに別の代謝物 (M3、M4、M9a、M9b、M16) を生成するいくつかの代謝経路があると考えられている。また、海外臨床試験の一部の症例で検討された尿中代謝物の検索結果から、ヒトにおいては M6 とその誘導体 (M5、M7、M14) が主な尿中代謝物であると考えられている。したがって、CYP3A4 はカリケアマイシン誘導体 A の一部の代謝に関与するものの、カリケアマイシン誘導体 A にはその他の複数の代謝経路が存在すると考えられるため、臨床において CYP3A4 の阻害により重大な薬物相互作用を起こす可能性は低いと推察される。以上の理由から、添付文書中に CYP3A4 を介した薬物相互作用について記載する必要性はないと考える。

機構は、CYP3A4 の阻害が本薬の代謝に及ぼす影響に関する回答内容は、限られた定性的な試験成績に基づくものであり、また、CYP3A4 等の基質となる併用薬の薬物動態に及ぼす影響については検討されていない。したがって、代謝酵素を介した薬物相互作用が発現する可能性は否定できない旨を添付文書において情報提供するとともに、本薬及び代謝物について代謝酵素の阻害及び誘導作用に関する検討を、市販後の指示事項とする必要があると考える。

また、機構は、本薬の代謝酵素であるグルタチオン S-トランスフェラーゼ及びエステラーゼ活性に影響を与える因子はないか、説明を求めた。

申請者より、以下の回答がなされた。

グルタチオン S-トランスフェラーゼ (GST) はグルタチオン抱合反応を触媒する酵素であり、生体内では肝臓を含む各種臓器に広く豊富に存在しており、肝細胞では可溶性蛋白の約 10% を占めている。GST 活性に影響を与える主な因子としては、GST の酵素誘導、酵素阻害及び遺伝多型が考えられる。GST の酵素阻害では、グルタチオン抱合される化合物は GST の基質であるため、競合的阻害剤になる可能性が考えられる。GST の酵素誘導、酵素阻害又は遺伝多型により本薬の GST による代謝が影響を受ける可能性は否定できないものの、GST は各種臓器に広く存在する代謝能が高い酵素であり、また、本薬は 3 種のヒト型 GST アイソザイム (Alpha、Mu、Pi) のいずれによっても代謝されることから、一つのアイソザイムの酵素誘導、酵素阻害又は遺伝多型により本薬の代謝が大きな影響を受ける可能性は低いものと推察される。

代謝試験において、本薬及びカリケアマイシン誘導体 B はブタ肝エステラーゼ (カルボキシエステラーゼ、CES) によって加水分解されたことから、本薬の加水分解に CES が関与していることが示唆されている。CES はエステル及びアミド型プロドラッグの代謝活性化に関与する酵素であるため、それらのプロドラッグは CES の競合的阻害剤になる可能性が考えられる。

機構は、回答を概ね了承した。

5) 抗体産生の影響について

機構は、本薬に対する抗体産生に関する種差の有無、及びヒトにおける抗体産生につい

て説明し、有効性及び安全性への影響について考察するよう求めた。

申請者より、以下の回答がなされた。

6 サイクル間欠投与毒性試験において、ラット及びサルいずれの投与群でも抗 hP67.6 抗体の産生が認められた。ラットでは多くの個体で強陽性を示したのに対し、サルでは陽性は各投与群 10 例中 1~3 例であり抗体産生は弱いものであった。また、サルを用いた新旧製剤の同等性試験において、抗 hP67.6 抗体及び抗カリケアマイシン誘導体抗体の両抗体の産生が認められたものの、それらの強度は弱~中等度であった。ヒトにおける本薬に対する抗体産生の有無の確認は、全ての臨床試験で抗 hP67.6 抗体及びカリケアマイシン-リンカー部分に対する抗体について測定を行っている。抗体産生は海外第 I 相臨床試験においてのみ、2 例にカリケアマイシン-リンカー部分に対する抗体陽性例が認められ、その他の 3 つの海外第 II 相臨床試験及び国内臨床試験の第 I 相部分ではいずれの症例においても抗体は認められなかった。また、抗 hP67.6 抗体の陽性例は全ての臨床試験で認められていない。以上より、本薬に対する抗体産生には明らかな種差があり、その強さはラット>サル>ヒトの順であると推察された。

非臨床で有効性を評価した *in vivo* 試験は、ヌードマウス（免疫不全）を用いた抗腫瘍作用のみであることから、抗体産生の有効性への影響に関する検討は行われなかった。抗体産生の安全性への影響は、ラット及びサルの反復投与毒性における各動物個体の抗体産生、剖検、器官重量及び病理組織学的検査より考察した。ラット及びサルの反復投与における本薬の毒性は、主に骨髄、リンパ器官、肝臓、腎臓及び雄性生殖器で発現したが、抗体産生の陰性個体と陽性個体でそれらの毒性所見に差は認められなかったことから、それらの毒性は抗体に起因して出現した変化ではなく、主に本薬の細胞内への非特異的な取り込みによるカリケアマイシン誘導体の細胞毒性によるものと考えられた。また、サルにおいて、アナフィラキシー様の過敏症は認められておらず、腎臓の電顕観察においても抗体産生に伴う糸球体への免疫複体の沈着もなかった。抗体による血漿中濃度への影響は、ラットでは強い抗体産生により血漿中総カリケアマイシン誘導体及び hP67.6 濃度の低下が認められたものの、サルでは弱~中等度の抗体産生であり血漿中 hP67.6 濃度への影響はほとんどなかった。

米国第 I 相試験でカリケアマイシン-リンカー部分に対する抗体が検出された 2 例のうち 1 例は、本薬 1mg/m² を 3 回投与後に寛解が得られたものの、後に再発し 6mg/m² 群に再登録された症例であった。本症例で 6mg/m² の 2 回目投与後に抗体産生が確認され、2 回目投与時に免疫反応に起因すると考えられる症状（軽度の息切れと胸部絞扼感）と血漿中 hP67.6 濃度の顕著な低下がみられている（へ（2）ii）。海外第 I 相臨床試験（0903A1-101-US：試験 101）参照）。本試験では血漿中カリケアマイシン誘導体濃度の測定は行われておらず、カリケアマイシン誘導体の薬物動態に対する影響については不明である。本症例における免疫反応起因症状はいずれも軽度であり、短時間の酸素吸入などにより回復している。最終投与の翌日からは芽球消失と判断されたが、この芽球消失は本薬 6mg/m² の初回投与による効果と考えられるため、抗体産生がみられた 2 回目の本薬投与が芽球低下にどの程度寄与したかは不明である。他の 1 例では本薬 0.25mg/m² の 3 回目投与後にカリケアマイシン-リンカー部分に対する抗体が検出されたが、血漿中 hP67.6 濃度に対する抗体産生の影響及び免疫反応起因症状はみられていない。

0.25mg/m² の投与を受けた 4 例すべてにおいて有効性は確認されておらず、末梢血における CD33 飽和度も平均 36.7%であった。したがって、この症例で本薬の効果が不十分であった主な原因は投与量の不足によるものと考えられるため、抗体産生による有効性への影響は不明である。抗体産生がみられた 2 例について、免疫反応を起因とする有害事象は発現していないか、発現しても軽度であった。

機構は、抗体産生の頻度、並びに抗体産生の程度と有効性については、疾患の背景因子が複雑であり、不明であると考え。一方、安全性については以下のように考える。申請用法・用量から、本薬の国内での投与回数は最大 2 回までと設定されている。抗体産生が見られた症例が、全試験において 2 人見られているが、重篤な有害事象はみられなかった。しかし、海外市販後の安全性定期報告（2004 年 7 月）において、抗体産生との関係は不明であるが、アナフィラキシーショックによる死亡例が 1 名あり、機構は本薬投与後 24 時間は、厳重な監視を行い何らかの問題が発生した場合に速やかに適切な処置を行うことが必要であると考え。この点については警告欄に記載し、注意喚起を行う必要があると判断した。米国 Wyeth 社より申請者が入手した情報より、2005 年 2 月 25 日時点において、米国第 I 相試験で認められた 2 例以外に、本薬の臨床試験及び市販後の臨床使用において抗体産生の症例報告はないと申請者は回答している（機構注：申請者は市販後の臨床使用において抗体測定を行った経験はないと述べている）。

また、機構は、ラットの反復投与試験において、6 回投与後では薬物濃度が検出限界以下となるまでの時間は初回投与時に比して早くなっていることから、抗体による両物質の薬物動態への影響及び濃度測定に対する影響について説明を求めた。

申請者より、以下の回答がなされた。

抗体による総カリケアマイシン誘導体測定用の ELISA 法への影響は検討していないが、定量前のメルカプトエタノールの還元処理（ジスルフィド結合の切断）により抗体は変性していると考えられること、また遊離カリケアマイシン誘導体を定量していることから、総カリケアマイシン誘導体濃度測定に及ぼす抗体の影響は僅かであると推察される。一方、hP67.6 測定用の ELISA 法は、本薬を CD33 及び一次抗体と結合させており、血漿中の抗体（機構注：産生された抗体）と結合した本薬（免疫複合体）により CD33 及び一次抗体との結合が阻害される可能性が推察される。

上述のように、血漿中カリケアマイシン誘導体測定用の ELISA 法への抗体の影響は僅かであると考え、ラットの 6 サイクル間欠投与後の血漿中カリケアマイシン誘導体濃度の低下は、血中で形成された抗体と本薬の免疫複合体がマクロファージの貪食等により除去された結果によるものと推察される。また、総カリケアマイシン誘導体濃度が hP67.6 に比べ著しく低下（機構注：2.8 及び 8.4mg/m² を 6 サイクル投与時の C_{max} は、初回投与時の C_{max} に比べ、総カリケアマイシン誘導体で 79.6～94.2%に、hP67.6 で 35.8～74.3%に低下）していたことの原因は明らかではないが、以下の考察が可能である。ラットに hP67.6 を単独で投与したとき、抗 hP67.6 抗体の産生は強陽性を示したが、血漿中 hP67.6 濃度はほとんど低下しなかった。このことから抗 hP67.6 抗体のみでは、血漿中 hP67.6 はほとんど影響を受けないことが示唆される。一方、本試験（機構注：ラット反復投与試験）において抗カリケアマイシン誘導体抗体の検査は実施されなかったが、サルの製剤同等性試験において両方の抗体が産生されたことから類推して、ラットでも抗カ

リケアマイシン誘導体抗体が産生された可能性が考えられる。以上を考慮すると、本薬投与後の血中総カリケアマイシン誘導体及び hP67.6 の消失が速かったのは、抗 hP67.6 抗体と抗カリケアマイシン誘導体抗体の両抗体の影響を受けたためであり、また、hP67.6 投与後の血中 hP67.6 の消失が遅かったのは、上述のように血中 hP67.6 への抗 hP67.6 抗体の影響が殆どみられず、且つ抗カリケアマイシン誘導体抗体による影響も受けなかったためと推察される。なお、最低用量の本薬投与群において、血中 hP67.6 の消失が遅延する傾向が見られたが、その原因の検討は実施していないため不明である。

機構は、還元処理により抗体蛋白が変性する可能性を理由に、産生された抗体が測定系へ及ぼす影響は僅かであると推察されているが、その根拠は不明であると考えられる。産生された抗体の総カリケアマイシン誘導体及び hP67.6 の測定系に及ぼす影響については、十分にバリデートされたデータに基づいて考察する必要があると考えられる。また、血漿中総カリケアマイシン誘導体と hP67.6 の濃度推移の関係についての考察も、極めて定性的な根拠に基づく推論であると判断している。

6) 消化管障害と腸肝循環について

機構は、カリケアマイシン誘導体の大部分が胆汁中排泄されることが示唆されたことから、活性代謝物が消化管障害を惹起する可能性について考察を求めた。

申請者より、以下の回答がなされた。

ラットに³H]CMA-676 を単回静脈内投与した際、大部分の放射能 (58.6%) が糞中に排泄されたことから (へ (1) 1) iv) ①尿及び糞中排泄 参照)、胆汁中排泄が主排泄経路であると推察された。胆汁中の代謝物の同定に関する検討は行っていないため、胆汁中に排泄された放射能化合物の構造は明らかではないが、活性代謝物が胆汁中に排泄されて消化管に何らかの影響を与える可能性は否定できない (厳密には、活性代謝物とはカリケアマイシンの分子中のエンジン構造が変換したラジカル体であるが、ここでいう活性代謝物はカリケアマイシン誘導体 A 等のエンジン構造を有しラジカル体に変換し得る代謝物を含むものとする)。ラットの反復毒性試験において、主な毒性は骨髄、リンパ器官、肝臓、腎臓及び雄性生殖器等で発現していたが、消化管への影響は糞排泄量減少等の軽度なものであった (二 (1) 2) 反復投与毒性試験 参照)。したがって、胆汁中に排泄された活性代謝物による消化管障害の発現は否定できないものの、その程度は重大なものではないと推察される。また、サルの反復毒性試験においても、消化管に大きな変化は認められていない (二 (1) 2) 反復投与毒性試験 参照)。さらに、国内外の臨床試験において本薬投与後に発現した消化管障害は、嘔気・嘔吐、食欲不振を除きその殆どが低頻度かつ軽度であった。このことから、本薬及び本薬の活性代謝物が特異的に消化管障害を惹起する可能性は低いと考える。

機構は、活性代謝物による消化管障害は完全には否定できないため、消化管障害の発現には注意する必要があると考えるが、回答を概ね了承した。

また、機構は、カリケアマイシン誘導体が腸肝循環を起こす可能性について考察を求めた。

申請者より、以下の回答がなされた。

腸肝循環に関する検討は行っていないため、胆汁中に排泄された代謝物が再吸収され

るか否かは不明であるが、ラット及びサルに ^{3}H CMA-676 を単回静脈内投与した際、投与後 120 時間まで血漿中非結合体は総放射能の 2%以下であったことから（へ（1）1）i）①単回投与 参照）、仮に腸肝循環があったとしても僅かであると推察される。一方、臨床試験においては、非結合カリケアマイシン誘導体の血漿中濃度が投与 7 日後以降に再上昇している症例も認められており、ヒトにおける腸肝循環の可能性は否定できない。しかしながら、血漿中濃度の再上昇の程度は非常に小さいことから、ヒトにおいても腸肝循環が存在したとしてもその影響は僅かであると推察される。

機構は、回答を了承した。

7) 蛋白結合について

機構は、カリケアマイシン誘導体の蛋白結合について説明するよう求めた。

申請者より、以下の回答がなされた。

hP67.6と結合していない非結合カリケアマイシン誘導体の蛋白結合に関する検討は実施していない。しかしながら、①日本人AML患者における本薬 $9\text{mg}/\text{m}^2$ の初回投与後の血漿中の非結合カリケアマイシン誘導体の平均 C_{max} は総カリケアマイシン誘導体の約1/10であること、②毒性試験において、非結合カリケアマイシン誘導体Cの毒性は殆ど認められず、また非結合カリケアマイシン誘導体A及びBの毒性は本薬の毒性と質的に同様なものの、その程度は本薬より弱いことから（二（1）7）不純物及び代謝物の毒性試験 参照）、日本人AMLにおける非結合カリケアマイシン誘導体濃度の平均 $t_{1/2}$ （170hr）がhP67.6及び総カリケアマイシン誘導体（51及び24hr）より長いことが血中蛋白結合によるものであったとしても、臨床上に及ぼす影響は低いものと推察している。

機構は、カリケアマイシン誘導体の蛋白結合が本薬の臨床効果に及ぼす影響は小さいとの回答は理解できるものの、臨床上の影響が小さいことは本薬の基礎的性質を評価しないことを正当化する理由にはならないと考える。また、蛋白結合を介した薬物相互作用の可能性についても明らかにする必要があると考え、カリケアマイシン誘導体の血漿蛋白結合について、更なる検討もするよう申請者に指示した。

ト. 臨床試験に関する資料

(1) 提出された資料の概要

評価資料として、海外第 I 相臨床試験（1試験）、国内第 I/II 相臨床試験の第 I 相部分、海外第 II 相臨床試験（3試験）の成績が提出された。また、参考資料として国内第 I/II 相臨床試験の第 II 相部分が提出された（機構注：承認申請時には国内第 I/II 相臨床試験成績の II 相部分は平成■年■月■日までに登録された9例に関して平成■年■月■日までの情報が参考資料として提出され、第 II 相部分の総括報告書（第1版）は平成■年■月に参考資料として追加提出された。）。

1) 海外第 I 相臨床試験（添付資料ト-1、試験番号 101）

CD33陽性の再発又は難治性の急性骨髄性白血病（AML）患者を対象として、本剤の安全性（忍容性、MTDの確認）及び薬物動態を検討する第 I 相臨床試験が19■年■月～19■年■月に米国■■■■他1施設で行われた。

対象患者は、①CD33陽性AML患者で、完全寛解（Complete Response: CR）に至らない症例又は再発症例（骨髄移植後再発も含む。骨髄移植後再発の場合は、血小板数20,000/ μ L以上、絶対好中球数500/ μ L以上である症例）、②Karnofsky Performance Status (PS) が60%以上、③年齢16歳以上70歳以下（19■■年■■月■■日の改訂で年齢上限は削除）であり、初回投与量を0.25mg/m²群として、0.25、0.5、1、2、4mg/m²の4用量で計画したが、この用量ではMTDに達しなかったため、6及び9mg/m²群が追加された。また、6mg/m²群でGrade 4の低血圧が認められたため、4mg/m²群と6mg/m²群の中間用量である5mg/m²群が追加された。本剤の各投与に先立ち、全ての被験者にジフェンヒドラミン静脈内投与とアセトアミノフェン経口投与を行い、その後上記いずれかの投与量を2時間点滴静脈内投与し、14日以上投与間隔で最高3回まで投与できるとされた。投与後に発熱又は悪寒を発現した場合には、その後の点滴投与速度を遅くし、2~4時間かけて投与できるとされたが、治験薬の調製から8時間以内に点滴投与が完了することとされた。後治療は、本剤の最終投与後28日間の観察期間（パート1）終了後に少なくとも14日間をおいた場合に施行可能とされた。

本試験における用量と組み入れ症例数は、0.25mg/m²（4例）、0.5mg/m²（3例）、1mg/m²（4例）、2mg/m²（3例）、4mg/m²（6例）、5mg/m²（6例）、6mg/m²（8例）、9mg/m²（7例）であった。

本試験の治験開始時目標症例数は約50例と計画され、41例が試験に組み入れられた。患者背景は、年齢の平均値48.6歳（23~73歳）、性別：男性21例、女性20例、人種：白人34例、アジア人4例、ヒスパニック1例、黒人1例、その他1例であった。前治療歴として同種骨髄移植を受けた例は16例、自家骨髄移植を受けた例は5例であった。病期は、第1~3再発期37例（90%）、第4再発期以降1例（2%）、不明3例（7%）であった。

登録症例41症例のうち、全例が本剤の投与を1回以上受け、全例が安全性の解析対象とされた。本剤投与の回数は、1回のみが16例、2回が13例、3回が12例であった（なお、1mg/m²の1例は6mg/m²群に再度登録したため、同一症例を2例として計上されている）。3回の投与を受けた12例のうち、28日間の観察期間を終了した症例は8例、終了しなかった症例は4例であった。

試験の結果、DLTは認められなかったが、①9mg/m²でもっとも高率（7例中4例）に芽球消失が認められたこと、②末梢血中のCD33抗原部位飽和度では初回投与開始6時間後及び24時間後ともに、9mg/m²で高い数値であったこと（それぞれ90.7%及び69.2%）、③9mg/m²の7例中2例に遷延する好中球減少が出現したこと、から、これ以上の増量は行わず、第Ⅱ相試験の用法・用量は、少なくとも14日間の投与間隔で、9mg/m²の3回投与とすることが決定された。

安全性の評価は、本剤の最終投与後28日間まで、血液学的検査、生化学検査、理学的検査、心電図等により行われ、WHOの副作用判定基準に基づき有害事象が評価された。

全ての症例に有害事象が発現し、発現頻度が高い有害事象（10%以上）は以下のとおりであった。

有害事象	例数	有害事象	例数
発熱	37例 90.2%	口内乾燥	5例 12.2%
悪寒	32例 78.0%	歯肉出血	6例 14.6%
嘔気	25例 61.0%	肝機能検査異常	5例 12.2%
白血球減少症	23例 56.1%	メレナ	5例 12.2%
無力症	21例 51.2%	口内炎	8例 19.5%
嘔吐	17例 41.5%	貧血	6例 14.6%
頭痛	16例 39.0%	汎血球減少症	8例 19.5%
下痢	15例 36.6%	点状出血	7例 17.1%
血小板減少症	15例 36.6%	浮腫	6例 14.6%
食欲不振	14例 34.1%	低マグネシウム血症	5例 12.2%
低カリウム血症	11例 26.8%	血清 GOT 増加	5例 12.2%
乳酸脱水素酵素増加	11例 26.8%	関節痛	5例 12.2%
処置に伴う局所反応	11例 26.8%	浮動性めまい	7例 17.1%
呼吸困難	10例 24.4%	傾眠	5例 12.2%
腹痛	9例 22.0%	咳そう増加	5例 12.2%
胸痛	8例 19.5%	低酸素症	6例 14.6%
敗血症	6例 14.6%	咽頭炎	6例 14.6%
低血圧	6例 14.6%	肺所見	8例 19.5%
頻脈	7例 17.1%	血尿	5例 12.2%
便秘	5例 12.2%		

重篤な有害事象は、64件（28例）認められた。このうち、因果関係が否定できないとされたものは、発熱10件（回復7件・未回復3件）、好中球減少4件（回復3件・未回復1件）、好中球減少性発熱2件（未回復）、遷延する好中球減少2件（回復1件・未回復（死亡）1件）、血小板減少症による鼻出血1件（回復）、水分過負荷1件（回復）、息切れ1件（回復）、胸部絞扼感1件（回復）、心房細動2件（回復）、敗血症1件（死亡）、肝酵素上昇1件（未回復）、肝毒性1件（未回復）、AST増加1件（回復）、低酸素症1件（原疾患により死亡）、肺浸潤1件（原疾患により死亡）、鼓膜出血1件（回復）、うっ血性心不全1件（回復）、低血圧2件（回復）、失神様症状1件（回復）、悪寒1件（回復）であった。

特に本剤による有害事象として注目されている内容については以下のとおりである。

血液毒性に関して、本剤投与開始前の値がWHO基準のGrade 2以下であった症例に見られた有害事象は、以下のとおりであった。白血球数は、投与開始前にGrade 2以下であった29例中、本剤投与後にGrade 4となった症例は、4mg/m²未満では10例中4例（40%）、4mg/m²以上では19例中15例（79%）に認められた。好中球数は、投与開始前にGrade 2以下であった9例中、本剤投与後にGrade 4となった症例は4mg/m²未満では4例中3例（75%）、4mg/m²以上では5例中5例（100%）に認められた。血小板数は、投与開始前にGrade 2以下であった10例中、4 mg/m²未満では5例中5例（100%）、4mg/m²以上では5例中5例（100%）に認められた。

本剤の投与後24時間以内に発現した有害事象は「点滴関連毒性」と定義され、この内投与後6時間以内に発現した事象を「急性点滴投与関連毒性」とし、それ以外を「遅発性点

滴投と関連毒性」と定義されている。

急性点滴投与関連毒性は、以下のとおりであった。

投与回数別の急性点滴投与関連毒性^a

有害事象名	症例数 (%)			
	初回投与期間 n = 41	2回目投与期間 n = 25	3回目投与期間 n = 12	全投与期間 n = 41
全ての事象 ^b	27 (66)	14 (56)	5 (42)	29 (71)
悪寒	20 (49)	9 (36)	4 (33)	23 (56)
発熱	16 (39)	7 (28)	2 (17)	18 (44)
嘔気	4 (10)	1 (4)	2 (17)	7 (17)
嘔吐	3 (7)	2 (8)	1 (8)	4 (10)
低血圧	4 (10)	1 (4)	1 (8)	4 (10)

a: 全体で10%以上に発現した事象

b: 同一症例が複数の事象を発現した場合もあった。

投与量群別の急性点滴投与関連毒性発現頻度

有害事象	投与量 (mg/m ²), 症例数 (%) ^a							
	0.25 n = 4	0.5 n = 3	1 n = 4	2 n = 3	4 n = 6	5 n = 6	6 n = 8	9 n = 7
全ての有害事象 ^b	2 (50)	2 (67)	3 (75)	2 (67)	5 (83)	6 (100)	5 (63)	4 (57)
悪寒	0	1 (33)	3 (75)	2 (67)	4 (67)	5 (83)	4 (50)	4 (57)
発熱	0	1 (33)	3 (75)	2 (67)	1 (17)	4 (67)	4 (50)	3 (43)
嘔気	0	0	0	1 (33)	1 (17)	2 (33)	2 (25)	1 (14)
嘔吐	0	0	0	1 (33)	0	2 (33)	0	1 (14)
低血圧	0	0	0	0	1 (17)	1 (17)	1 (13)	1 (14)

a: 全体で10%以上に発現した事象

b: 同一症例が複数の事象を発現した場合もあった。

遅発性点滴投与関連毒性については以下のとおりであった。

投与回数別の遅発性点滴投与関連毒性^a

有害事象	投与量 (mg/m ²), 症例数 (%) ^a			
	初回投与期間 n = 41	2回目投与期間 n = 25	3回目投与期間 n = 12	全体 n = 41
全ての有害事象 ^b	34 (83)	18 (72)	10 (83)	36 (88)
発熱	14 (34)	5 (20)	6 (50)	18 (44)
嘔気	10 (24)	2 (8)	2 (17)	13 (32)
悪寒	7 (17)	4 (16)	4 (33)	11 (27)
白血球減少症	7 (17)	4 (16)	0	9 (22)
嘔吐	5 (12)	0	0	5 (12)
発疹	2 (5)	1 (4)	2 (17)	5 (12)
疼痛	3 (7)	1 (4)	0	4 (10)
血小板減少症	4 (10)	0	0	4 (10)

a: 全体で10%以上に発現した事象

b: 同一症例が複数の事象を発現した場合もあった。

投与量群別の遅発性点滴投与関連毒性^a

投与量 (mg/m ²), 症例数 (%)	
-----------------------------------	--

有害事象名	0.25 n=4	0.5 n=3	1 n=4	2 n=3	4 n=6	5 n=6	6 n=8	9 n=7
全ての有害事象 ^b	3 (75)	3 (100)	4 (100)	2 (67)	5 (83)	6 (100)	6 (75)	7 (100)
発熱	1 (25)	1 (33)	1 (25)	1 (33)	4 (67)	4 (67)	2 (25)	4 (57)
嘔気	0	0	0	0	3 (50)	2 (33)	2 (25)	6 (86)
悪寒	1 (25)	1 (33)	1 (25)	0	2 (33)	2 (33)	0	4 (57)
白血球減少症	0	0	1 (25)	1 (33)	1 (17)	3 (50)	2 (25)	1 (14)
嘔吐	0	0	0	0	0	1 (17)	2 (25)	2 (29)
発疹	0	0	0	0	0	3 (50)	1 (13)	1 (14)
疼痛	0	0	1 (25)	0	2 (33)	0	1 (13)	0
血小板減少症	0	0	0	1 (33)	1 (17)	0	2 (25)	0

a:全体で10%以上に発現した事象

b:同一症例が複数の事象を発現した場合もあった。

粘膜炎（口内炎等）は、41例中10例に認められ、このうち、因果関係が否定されない症例は2例であった（4mg/m²群：1例、9mg/m²群：1例）。

本剤の構成成分であるカリケアマイシンーリンカー部分に対する抗体が2例で検出された。1例では再登録時の2回目の投与後に抗体が出現したため本剤投与が中止された。もう1例では3回目の投与後に抗体が出現した。

肝機能検査値異常は、以下のとおりであった。ビリルビンの高値は、41例中15例に認められ、内Grade 3以上は、9mg/m²群の1例であった。GOT/GPTの高値は、36例に認められ、内Grade 3以上は、11例（0.5mg/m²群1例、1mg/m²群1例、5mg/m²群4例、6mg/m²群3例、9mg/m²群2例）であった。

安全性の問題による中止は3例（症例番号10138-0008、10138-0015、10132-0107）であった。10138-0008（6mg/m²群）は、第1回目の本剤投与の後に本剤との因果関係が否定できない「低血圧」が発現し、本剤の投与を中止した。10138-0015（9mg/m²群）は第2回目の本剤投与の後に本剤との因果関係が否定できない「発熱、悪寒」が発現し、本剤の投与を中止した。10132-0107は本剤に対する抗体が出現したため、本剤の投与を中止した。

本剤最終投与日から30日以内に死亡した症例は7例であった。このうち、6例は原疾患の悪化によるとされ、本剤との因果関係は否定された。1例（症例番号10132-0019、6mg/m²）では、6mg/m²の3回目投与後に本剤との因果関係が否定されない「感染」により死亡した。「感染」により死亡した症例の経過は、3回目の本剤投与日に「発熱」、「好中球減少」、投与12時間後に「心房細動」、投与翌日に「発疹」及び血液培養で細菌が検出され、投与12日後に「感染（グラム陰性敗血症）」で死亡した。「発熱」、「好中球減少」、「発疹」については本剤との因果関係が否定されたが、「心房細動」及び死亡原因となった「感染」と、本剤との因果関係は否定できないとされた。

本剤最終投与日から31日以降に死亡した症例は31例で、死亡原因は、原疾患の悪化29例、中枢神経系ヘルペス感染及び原疾患の悪化による症例1例（本剤との因果関係なし）、感染1例（症例番号10138-0015、9mg/m²）であった。感染で死亡した症例は、本剤の2回目投与18日後に「発熱」、「悪寒」を発現し、また「遷延好中球減少症」が遷延しており抗生物質とG-CSF投与を開始されたが、投与53日後に「感染」により死亡した。これらの有害事象と本剤との因果関係は否定できないとされた。

例、女性9例、であった。病期は、寛解導入不応例1例、第1再発期15例、第2再発期2例、第3再発期1例、第5再発期1例であった。FAB分類では、M0:2例、M1:1例、M2:6例、M3:1例、M4:7例、M4E0:1例、M5:2例であった。染色体異常による予後分類では、予後良好群1例、予後中間群6例、予後不良群3例、未実施10例であった（機構注；染色体異常と予後判定の関係については照会中である）。PSは、0が12例、1が7例、2が1例であった。

登録症例の内訳は、6mg/m²群6例、7.5mg/m²群3例、9mg/m²群11例であった。症例検討委員会において被験薬が投与された20症例全てが適格例であり、安全性及び有効性の解析対象と判断されたが、9mg/m²の1例（被験者識別コード：1-008）は「不完全例」と判断された（本剤の初回投与当日に重篤な有害事象として肺出血が出現し、死亡したため、本症例は有効性の評価データが存在しないことを理由に、症例検討委員会において不完全例と判断された）。

以上より安全性評価対象は20例、有効性評価対象は20例（1-008は不完全例）とされた。投与量の増量経過は以下のとおりであった。

投与量群 (mg/m ²)	被験者識別コード	NCI Grade* 最高値	結果
6	1-001	2	Grade 3 を超える非血液毒性は 3 例ともみられなかったことから、9 mg/m ² に移行
	1-002	2	
	1-003	1	
9	1-004	3	3 例中 2 例に Grade 3 の非血液毒性がみられたため、9 mg/m ² を 3 例追加
	1-005	3	
	1-006	2	
9	1-007	2	2 例目（1-008）に重篤な有害事象（肺出血による死亡）が発現したため、一時登録を中断、6 mg/m ² から再開
	1-008	4	
6	1-009	2	3 例中 1 例に Grade 3 の非血液毒性がみられた。最初の 3 例と合わせて、6 例中 1 例に Grade 3 の非血液毒性がみられたのみであったことから、中間用量の 7.5 mg/m ² に移行
	1-010	1	
	1-011	3	
7.5	1-012	2	Grade 3 を超える非血液毒性は 3 例ともみられなかったことから、9mg/m ² に移行
	1-013	1	
	1-014	2	
9	1-015	2	6 例中 2 例に Grade 3 の非血液毒性がみられたが、9 mg/m ² は忍容性ありと判断
	1-016	2	
	1-017	2	
	1-018	3	
	1-019	2	
	1-020	3	

1-008については、本剤投与7時間後に心肺停止となっているのを発見され、9時間後に死亡した。剖検の結果、肺出血による死亡であるとされた。これを受け、症例登録が一時中断され、効果安全性評価委員会が開催された。効果安全性評価委員会での検討の結果、登録時の適格性に問題がなく、本症例は本剤投与前日まで肺炎を併発しており全身状態が

低下していたことが予想されるとして、本治験の中止の必要はないと判断された。また、本剤投与前2日間以内、及び、投与後3、8日目にPT、APTT、フィブリノーゲン、FDP、Dダイマーを、また投与後24時間の心電図モニターを実施するよう治験実施計画書の変更が行われ、6 mg/m²投与群より症例登録の再開が成されたものである。

有効性・安全性の評価は、パート1（最終投与後28日間）、パート2（パート1終了後6カ月間）、パート3（安全性はパート2終了後18カ月間）にわけて行われ、パート3では、CR又はCRp（complete remission with incomplete platelet recovery）の症例については、CR又はCRp持続期間の18カ月間追跡調査及び再発又は死亡までの6カ月毎の追跡調査を、無効例については、3カ月毎の追跡調査を行うとされたが、治験期間とされたのはパート1のみである。本試験の有効性・安全性の情報は全てパート1のみの情報である。

後治療については、寛解後療法が可能とされた。パート1終了時にCR又はCRpとなった症例は、15日間の間隔をあけたのち寛解後療法の施行を可能とされた。

安全性の評価は、パート1では血液学的検査、生化学検査、理学的検査、心電図等により行われ、NCI-CTC version 2.0に基づき有害事象が評価された。なお、同一症例で同一有害事象が複数回発現した場合には、よりGradeの高い事象のみが集計された。

全ての症例に有害事象が発現した（空欄は0例。括弧内は因果関係が否定できない有害事象数）。その内訳は以下のとおりである。

	6mg/m ² (6例)	7.5mg/m ² (3例)	9mg/m ² (11例)		6mg/m ² (6例)	7.5mg/m ² (3例)	9mg/m ² (11例)
掻痒	1		1(1)	心電図異常	1(1)		
爪囲炎			1(1)	高血圧	2(2)	1(1)	
発疹	1		1(1)	低血圧	1(1)		1(1)
皮下出血			2(2)	心筋虚血	1(1)		
毛包炎	1(1)		1(1)	心室性不整脈	1(1)		
蕁麻疹	1			心房性不整脈	1(1)		
関節痛	1(1)			頻脈	3(3)	2(2)	2(2)
筋痛	1(1)		2(2)	血腫			1(1)
めまい		1(1)	2(1)	潮紅			1
音声障害	1(1)			咽頭炎	2(2)		2(2)
知覚減退	1(1)			咳	1(1)	1(1)	2(2)
不眠		1(1)		呼吸困難			1(1)
しゃっくり			2(2)	喉頭炎	1(1)		
メレナ			1(1)	低酸素症		1(1)	
胃炎	1(1)			肺出血			1(1)
胃腸粘膜変色		1(1)		鼻出血	3(3)	1(1)	3(3)
下痢	1(1)	1(1)	2(2)	貧血	5(5)	2(2)	10(10)
口内炎	2(2)		2(2)	リンパ球減少	6(6)	3(3)	9(9)
歯周破壊			1(1)	白血球減少	6(6)	3(3)	10(10)
歯肉出血			1(1)	顆粒球減少	5(5)	3(3)	8(8)
食欲不振	4(4)	1(1)	8(8)	APTT延長		1(1)	6(6)
潰瘍性口内炎			1(1)	プロトンポン		1(1)	1(1)

吐血		1(1)		減少			1(1)
便秘	1(1)	1(1)	1(1)	血腫			10(10)
嘔気	4(4)	3(3)	9(9)	血小板減少	6(6)	3(3)	
嘔吐	3(3)	3(3)	6(6)	フィブリノーゲン増加	1(1)	2(2)	
ビリルビン血症	3(3)	1	2(2)	紫斑	3(3)		2(2)
γ GTP 上昇	2(2)			線維素溶解現象亢進	2(2)	3(3)	6(6)
GOT 上昇	4(4)	3(3)	9(9)	皮下出血		1(1)	1(1)
GPT 上昇	2(2)	3(2)	8(8)	血尿			1(1)
LDH 上昇	6(5)	3(3)	8(7)	腔出血	1(1)		
NPN 上昇*		1(1)	1(1)	ほてり			1(1)
ALP 上昇	1(1)	3(2)	4(4)	アレルギー反応	1	1	
高カルシウム血症	1(1)			悪寒	4(4)	1(1)	6(6)
高トリグリセリド血症	2(2)			顔面浮腫			1(1)
高血糖	5(3)	2(1)	7(3)	胸痛			1(1)
体重減少		1(1)	2(1)	倦怠感	3(3)	2(2)	7(7)
体重増加			2(1)	頭痛	4(4)	2(2)	3(3)
低アルブミン血症	3(3)	2(2)	3(3)	発熱	5(5)	3(3)	10(10)
低カリウム血症	3(1)	2	2(1)	腹痛	1(1)	1(1)	1(1)
低カルシウム血症	3(1)	2(1)	5(5)	腹部腫脹			1(1)
低ナトリウム血症	2(1)		1(1)	注射部腫脹			1(1)
低リン酸血症	2(2)	2(2)		モニリア症			1(1)
低蛋白血症	1(1)	2(2)	2(2)	感染	5(5)	3(3)	6(6)
浮腫		1(1)		単純疱疹	1(1)	1(1)	

*NPN上昇は、症例報告書では「クレアチニン上昇」と記載されていた。

特に本剤による有害事象として注目されている内容については以下のとおりである。

パート1では、血液毒性は以下のとおりであった。

器官別大分類 ^a 基本語	6mg/m ² , n=6		7.5mg/m ² , n=3		9mg/m ² , n=11		全体, n=20	
	G3+G4	G1-G4	G3+G4	G1-G4	G3+G4 (%)	G1-G4 (%)	G3+G4 (%)	G1-G4 (%)
有害事象発現症例数	6	6	3	3	10(91)	10(91)	19(95)	19(95)
赤血球障害	4	5	1	2	8(73)	10(91)	13(65)	17(85)
貧血	4	5	1	2	8(73)	10(91)	13(65)	17(85)
白血球・網内系障害	6	6	3	3	10(91)	10(91)	19(95)	19(95)
リンパ球減少	5	6	2	3	5(45)	9(82)	12(60)	18(90)
白血球減少(症)	6	6	3	3	10(91)	10(91)	19(95)	19(95)
顆粒球減少(症)	5	5	3	3	8(73)	8(73)	16(80)	16(80)
血小板・出血疑血障害	6	6	3	3	10(91)	10(91)	19(95)	19(95)
血小板減少(症)	6	6	3	3	10(91)	10(91)	19(95)	19(95)

好中球数の500/μL以上に回復するまでの期間の中央値は27.5日（G-CSFが用いられた症例は1例）（機構注：好中球数の500/μL以下となった19例のみを対象として解析された）、

血小板の25,000/ μ L以上に回復するまでの期間の中央値は12日（機構注：血小板回復日数については、機構における審査の概要参照）であったとされた。

Grade 3以上の非血液毒性は、食欲不振3例、嘔気2例、嘔吐1例、GOT上昇1例、GPT上昇2例、高血糖3例、低カリウム血症1例、肺出血1例、アレルギー反応1例、発熱1例、感染1例であった。

本剤の投与当日及び翌日に発現した有害事象は「点滴関連毒性」と定義された。点滴投与関連毒性は、全て本剤との関連性は否定できないとされた。

初回投与時に発現頻度10%以上で発現したものは、以下のとおりであった。初回投与時に点滴関連毒性が見られた症例数は20例全例であった。

有害事象	例数	有害事象	例数
発熱	16例	低カルシウム血症	4例
嘔気	12例	頭痛	4例
悪寒	11例	GOT 上昇	3例
嘔吐	7例	低アルブミン血症	3例
頻脈	7例	高血圧	2例
食欲不振	7例	低血圧	2例
倦怠感	6例	貧血	3例
リンパ球減少	5例	繊維素溶解 現象亢進	2例
白血球減少（症）	4例	GPT 上昇	2例
血小板減少（症）	4例	LDH 上昇	2例

Grade 3又は4の点滴投与関連毒性は、血小板減少（症）（4例）、白血球減少（症）（4例）、食欲不振（3例）、嘔気（2例）、貧血（2例）、リンパ球減少（2例）、嘔吐（1例）、肺出血（1例）、顆粒球減少（1例）、発熱（1例）、血清GOT上昇（1例）、血清GPT上昇（1例）であった。

2回目投与時には、13例中12例で点滴関連毒性が見られた。発現頻度10%以上で発現したものは、発熱（8例）、嘔気（5例）、嘔吐（5例）、頻脈（4例）、悪寒（3例）、頭痛（3例）、LDH上昇（2例）であった。Grade 3又は4の点滴投与関連毒性は、貧血（1例）及び白血球減少（症）（1例）であった。

パート1での粘膜炎または口内炎に関連する有害事象は、20例中11例に発現した（6mg/m²群で6例中6例、7.5mg/m²群で3例中1例、9mg/m²群で11例中4例）。このうち、Grade 3以上の有害事象は認められなかった。

パート1での感染に関連する有害事象は、20例中17例に発現した（6mg/m²群で6例中6例、7.5mg/m²群で3例中3例、9mg/m²群で11例中8例）。このうち、Grade 3以上の有害事象は、感染が1例（6mg/m²群で1例）であった。

パート1での出血に関連する有害事象は、20例中、15例に発現した（6mg/m²群で6例中5例、7.5mg/m²群で3例中2例、9mg/m²群で11例中8例）。このうち、Grade 3以上の有害事象は、肺出血が1例（9mg/m²群）であった。

パート1での肝毒性に関連する有害事象は、20例中、18例に発現した（6mg/m²群で6例

中6例、7.5mg/m²群で3例中3例、9mg/m²群で11例中9例)。このうち、Grade 3以上の有害事象は、GOT上昇1例(9mg/m²群)、GPT上昇2例(7.5mg/m²群及び9mg/m²群)、であった。

本剤の構成成分であるカリケアマイシンーリンカー部分並びにhp67.6に対する抗体は認められなかった。

重篤な有害事象と判定されたものは2件で、「感染」(1-009、6mg/m²群の初回投与期間)及び「アレルギー反応」(1-014、7.5mg/m²群の初回投与期間)であった。「感染」については、本剤との因果関係は否定できないとされた。

治験の中止例は以下のとおりであった。

投与量群	6mg/m ²	7.5mg/m ²	9mg/m ²	全体
その他の医学的事象	0	0	2	2
不十分な効果・有効性	3	0	3	6
有害事象	0	1	1	2
小計	3	1	6	10

(症例数)

本剤の2回目の投与を受けたのは13例で、2回目投与を受けなかった7例の理由は、原疾患の悪化が3例、有害事象が2例、その他の医学的事象が2例であった。投与量群別では、6mg/m²群で6例中1例(原疾患の悪化)、7.5mg/m²群で3例中1例(Grade 3のGPT上昇及びGrade 2のGOT上昇)、9mg/m²群で11例中5例(原疾患の悪化2例、肺出血1例、その他の医学的事象2例)であった。9mg/m²群の「その他の医学的事象」とは、中枢神経系浸潤の疑いが否定できなくなった1例と、本剤を2回投与した場合に感染症のコントロールが不能となる恐れがあると判断された1例であった。

また、2回目の投与をうけた13例のうち、3例で最終観察期間が予定された28日(パート2)より短かった(原因は原疾患の悪化による。)

本剤最終投与日から30日以内に死亡した症例は2例であった。

被験者識別コード	年齢(歳)	性別	投与量群(mg/m ²)	初回投与からの日数(日目) ^a	有害事象	因果関係
初回投与 1-008	67	男性	9	1	肺出血	関連性ないともいえない
1-018 ^b	46	女性	9	22	肺炎	関連なし

1-008は、67歳男性で、初回再発例に対して本剤を投与された。本剤投与後にGrade 2の発熱(39.5度)と悪寒を認めた。7時間後に心肺停止となっているところを発見され、心肺蘇生を行うも回復せず、9時間後に死亡した。剖検の結果、死因は肺出血であった。

1-018では、本剤投与後に、原疾患増悪のため治験を中止し、後治療の化学療法開始後に肺炎が出現したものであるとして、本剤と肺炎との因果関係はないとされた。

最終投与後31日以降に死亡した症例は14例で（転院した死亡理由不明の1例を除く）、全例で本剤と死亡の因果関係はなしとされた。

有効性の評価は、以下の結果であった。

パート1の終了時に抗腫瘍効果を判定した。CRは、①末梢血中芽球消失、②骨髄中芽球が5%以下、③ヘモグロビン9g/dL以上、④ANC 1,500/ μ L以上、⑤血小板100,000/ μ L以上、⑥赤血球輸血及び血小板輸血に依存しない、⑦髄外白血病を認めない、の全てを満たす場合と定義され、これらのうち⑤のみ満たさない場合をCRpと定義された。

9 mg/m²を2回投与した2例でCRが認められたが、CRpは認められなかった。

また、パート1の終了時にCR又はCRp基準を満たさないものの、末梢血中又は骨髄中に芽球が認められない症例（骨髄中は5%以下）（芽球消失例）は、9mg/m²で認められたCR（2例）の他、6 mg/m²群1例、7.5 mg/m²群2例、9 mg/m²群2例の計5例に認められた。

CR例の患者背景は、51歳男性・M3・予後中間群（初診時）・第3再発期にトレチノインによる寛解導入療法行うも非寛解（症例番号1-004）の症例、及び、40歳男性・M4・予後中間群（初診時）・第1再発（症例番号1-016）であった。CR例の、寛解後療法については現在照会中である。

芽球消失例の患者背景については66歳女性・M4・予後中間群（初診時）・第1再発期に化学療法行うも非寛解（症例番号1-001）、35歳男性・M4・予後中間群（初診時・スクリーニング時）・第1再発期に化学療法行うも非寛解（症例番号1-012）、63歳男性・M4・予後中間群（初診時・スクリーニング時）・第2再発期に化学療法行うも非寛解（症例番号1-013）、63歳男性・M4・予後分類不明・第5再発期に化学療法行うも非寛解（症例番号1-017）、65歳男性・M1・予後中間群（初診時）・第1再発（症例番号1-019）であった。

CRになった2例のCR達成日は1-004で45日目、1-016で57日目であった。1-016はCR達成日から104日後に再発が確認されたが、1-004は再発及び死亡は確認されておらず、無再発生存が確認された観察期間は930日以上であった。

全生存期間の中央値は305日であった。

本剤を投与された適格例20例中19例について、投与開始前、投与開始3時間後及び6時間後に末梢血を採血し、単核細胞表面のCD33抗原部位への飽和度を測定した結果、9 mg/m²でもっとも高い飽和度（平均値93.3%（77.9~100%））であった。

3) 海外第II相臨床試験（添付資料ト-3、試験番号201）

CD33陽性の初回再発のAML患者を対象として、本剤投与後の有効性・安全性及び薬物動態、本剤に対する反応の予測因子を検討する第II相試験が19■■年■■月~20■■年■■月に米国の14施設で行われた。

対象患者は、①CD33陽性の初回再発のAML患者で、初回CR期間が6カ月以上の症例、②年齢18歳以上、③PSが0~2、であった。

用法・用量は、9mg/m²の2時間静脈内投与を、最高で3回行うとされた。本剤の各投与に先立ち、全ての被験者にアセトアミノフェンの経口投与及び塩酸ジフェンヒドラミン

50mg/body を本剤投与前に行い、アセトアミノフェンの経口投与は、初回のアセトアミノフェン投与後約4時後、8時間後に追加投与するとされた。

本剤の2回目の投与を受ける基準は、「初回投与による非血液毒性の回復、コントロール不能な感染症がない、疾患悪化がない、カリケアマイシン又はhp67.6に対する抗体がない、初回投与後14日間～28日間後である」場合とされた。3回目投与を受ける基準は、19■■年■■月■■日改訂により追加された基準で、「2回目投与によってもCR又はCRpに至らない、2回目投与のための基準を満たしている、骨髓中の芽球数が50%未満である、骨髓の細胞密度が15%以上」とされた。

本試験時の治験開始時目標症例数は55例と計画された。スクリーニングを受けた症例は139例であったが、84例が試験に組み入れられ本剤を1回以上投与され、安全性・有効性の評価対象とされた（機構注：本試験に再登録された症例数が8例あり、最初の登録と別の症例番号として投与された）。

患者背景は、年齢の平均値51.9歳（22～82歳）、性別：男性43例、女性41例、であった。初診時FAB分類は79例で判定され、M0：8例、M1：20例、M2：27例、M4：15例、M4E0：8例、M5：6例、M6：1例、M7：1例、不明：5例であった。染色体異常による予後分類では61例で判定され（初診時）、予後良好群1例、予後中間群37例、予後不良群23例、であった（染色体異常と予後判定の関係は照会中である）。

有効性及び安全性の評価は、パート1（最終投与後28日間）、パート2（パート1終了後6カ月間）、パート3（安全性はパート2終了後18カ月間、その後被験者死亡まで6カ月ごと）にわけて行われた。

後治療については、寛解後療法が可能とされ、パート1終了時に①CR、②CRp、③骨髓及び末梢血中の芽球が5%以下の症例のいずれかに相当する症例は、30日間の間隔をあけたのち、無治療または自家造血幹細胞移植、同種造血幹細胞移植、ミトキサントロン10mg/m²を5日間とエトポシド100mg/m²の5日間投与を1コース投与のいずれかを選択可能とされた。

評価症例数の内訳を以下に示す。

内 訳	登録症例数 n=84
パート1	
初回投与を受けた症例	84
2回目投与を受けた症例	66
3回目投与を受けた症例	2
パート1で死亡した症例	11
パート2	
6カ月間の追跡症例	73
パート2で死亡した症例	35
パート3	
18カ月間の追跡症例	38
パート3で死亡した症例	22
18カ月間の追跡を終了した症例	16

有効性の評価は、パート1、パート2での抗腫瘍効果により行った。CRは、①末梢血中

芽球消失、②骨髓中芽球が5%以下、③ヘモグロビン9g/dL以上、④ANC 1,500/ μ L以上、⑤血小板100,000/ μ L以上、⑥赤血球輸血及び血小板輸血に依存しない、の全てを満たす場合を完全寛解（Complete Response: CR）と定義され、これらのうち⑤のみ満たさない場合をCRpと定義された。

CRは14例（17%）、CRpは13例（15%）に認められた。年齢別では、以下のとおりであった。

抗腫瘍効果		CR	CRp	OR (CR+CRp)
年齢別				
60歳以上 (n=29)	症例数 (%)	5 (17%)	3 (10%)	8 (28%)
	95%信頼区間	6-36%	2-27%	13-47%
60歳未満 (n=55)	症例数 (%)	9 (16%)	10 (18%)	19 (35%)
	95%信頼区間	8-29%	9-31%	22-49%

全生存期間中央値は5.3カ月であった（20■■年■■月■■日時点。機構はこの時点よりも後に情報の集積があれば提出するように求めている）。CR及びCRp例の無再発生存期間（CR又はCRpとなった日を起算日）の中央値は7.2カ月（CR例のみでは7.3カ月、CRp例では7.2カ月）。また、60歳以上のCR5例及びCRp3例の無再発生存期間の中央値は5.1カ月であった。

CR14例中、5例が同種造血幹細胞移植、4例が自家造血幹細胞移植、4例が化学療法、CRp13例中、6例が同種造血幹細胞移植、2例が自家造血幹細胞移植、2例が化学療法を寛解後療法として施行された。なお、CR1例、CRp3例で寛解後療法が施行されていない理由は照会中である。

安全性の評価は、パート1では血液学的検査、生化学検査、理学的検査、心電図等により行われ、NCI-CTC version 1.0に基づき有害事象が評価された。同一症例に複数の事象が発現していた場合には、最高Gradeの事象のみを集計対象とした。

パート1で認められた有害事象は以下のとおりである。有害事象は全例に認められた。発現頻度が高い有害事象（10%以上）は、以下のとおりである。

有害事象	例数	有害事象	例数
腹部腫脹	11例 13%	ビリルビン血症	13例 15%
腹痛	40例 48%	脱水	8例 10%
無力症	48例 57%	浮腫	10例 12%
背部痛	24例 29%	高血糖	10例 12%
蜂巣炎	9例 11%	低カルシウム血症	10例 12%
悪寒	67例 80%	低カリウム血症	31例 37%
顔面浮腫	8例 10%	低マグネシウム血症	12例 14%
発熱	69例 82%	低リン酸血症	13例 15%
頭痛	47例 56%	乳酸脱水素酵素増加	11例 13%
感染	8例 10%	末梢性浮腫	19例 23%
好中球減少性発熱	24例 29%	関節痛	12例 14%