

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。

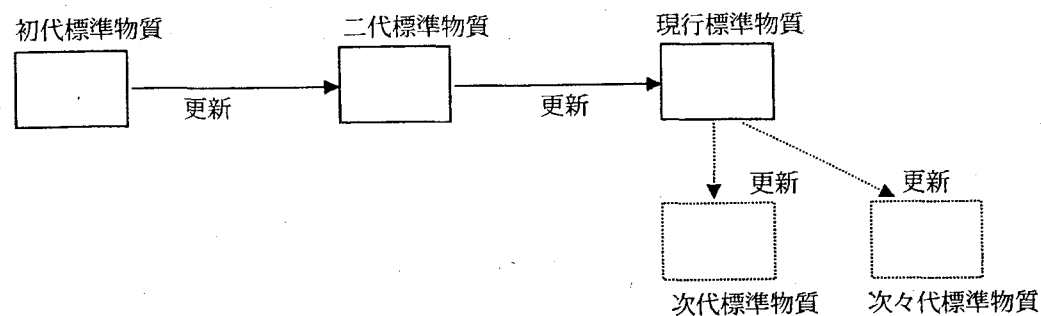
4) hP67.6 及び CL-191,548 の規格及び試験方法について

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 ████████µg/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hP67.6 22.14mg/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の増加、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。