

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] 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)

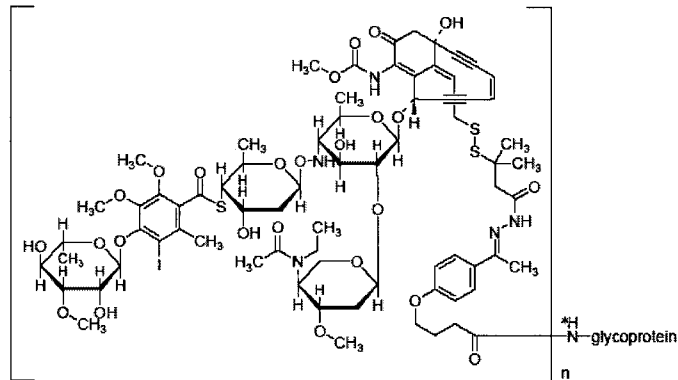
[申請者] 日本ワイステダリー株式会社 (現 ワイス株式会社)

[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

¹Glu-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-Glu-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-Glu-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-Glu-Glu-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-Gln-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-Glu-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-Glu-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	

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（ $C_{1046}H_{1626}N_{282}O_{341}S_6$ ；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（ $C_{2177}H_{3343}N_{571}O_{675}S_{15}$ ；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化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と一致した。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

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、エンドトキシニン試験、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 -████℃ で保存されている。WCB の保存中の安定性試験 (-████℃、████ 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 ±) 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+ウエスタンブロット法)、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、ウエスタンブ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 ～ 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 ～ μg 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 1.8～3.0 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、IC₅₀ 値は細胞 1×10⁵ 個に対して ～ 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法の検討がなされ、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体、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。

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体、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) 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（たん白質量）/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は明らかではない。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（ $\blacksquare \sim \blacksquare$ 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ず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 1.8~3.0 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 4~6 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、これが臨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。

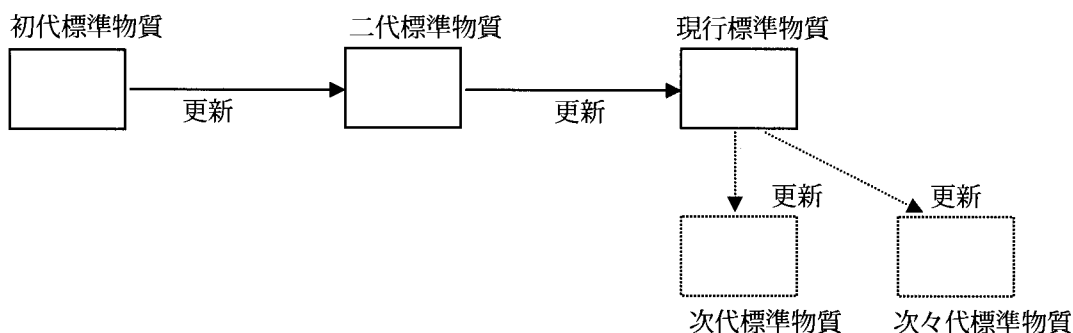
4) hP67.6 及び CL-191,548 の規格及び試験方法について

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－ °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、米国産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する。

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産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

フ法)、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、抗悪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。

雌ラット受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受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、受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、受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 (口 (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かと回答した。

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業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業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髓細胞でも、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髓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 [¹²⁵I]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、[¹²⁵I]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 [¹²⁵I]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、骨髄、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、骨髄、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 ヒト正常末梢血白血球及び骨髄細胞への結合性（添付資料ホ参-3）

ヒト正常末梢血白血球及び骨髄細胞に 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 末梢血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	リンパ球	単球	顆粒球	リンパ球	単球	顆粒球	リンパ球	単球	顆粒球	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 骨髄細胞に対する結合性

(陽性細胞の%)	骨髄 1				骨髄 2				骨髄 3				骨髄 4				骨髄 5			
	骨髄芽球	リンパ球	単球	顆粒球	骨髄芽球	リンパ球	単球	顆粒球	骨髄芽球	リンパ球	単球	顆粒球	骨髄芽球	リンパ球	単球	顆粒球	骨髄芽球	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、骨髄 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 (72µg protein/mL) 及び 1:500 (7.2µg 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 (72µg protein/mL) 及び 1:500 (7.2µg 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。) (2µg 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