

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】 ゲムツズマブオゾカマイシン（遺伝子組換え）

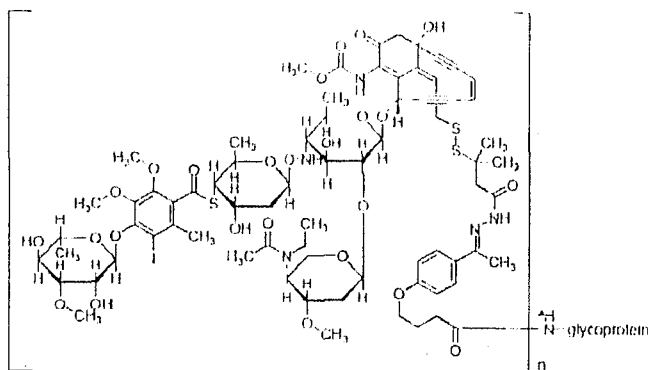
【申 請 者】 日本ワイスレダリー株式会社（現 ワイス株式会社）

【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カマイシン（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	$\begin{array}{c} \text{Gal-Gal-GlcNAc-Man} \\ \text{Gal-Gal-GlcNAc-Man} \end{array} \begin{array}{l} \nearrow \\ \searrow \end{array} \begin{array}{c} \text{Man-GlcNAc-GlcNAc} \\ \\ \text{Fuc} \end{array}$
	$\text{Gal} \left\{ \begin{array}{l} \text{Gal-GlcNAc-Man} \\ \text{Gal-GlcNAc-Man} \end{array} \right. \begin{array}{l} \nearrow \\ \searrow \end{array} \begin{array}{c} \text{Man-GlcNAc-GlcNAc} \\ \\ \text{Fuc} \end{array}$
	$\begin{array}{c} \text{Gal-GlcNAc-Man} \\ \text{Gal-GlcNAc-Man} \end{array} \begin{array}{l} \nearrow \\ \searrow \end{array} \begin{array}{c} \text{Man-GlcNAc-GlcNAc} \\ \\ \text{Fuc} \end{array}$
	$\text{Gal} \left\{ \begin{array}{l} \text{GlcNAc-Man} \\ \text{GlcNAc-Man} \end{array} \right. \begin{array}{l} \nearrow \\ \searrow \end{array} \begin{array}{c} \text{Man-GlcNAc-GlcNAc} \\ \\ \text{Fuc} \end{array}$
	$\begin{array}{c} \text{GlcNAc-Man} \\ \text{GlcNAc-Man} \end{array} \begin{array}{l} \nearrow \\ \searrow \end{array} \begin{array}{c} \text{Man-GlcNAc-GlcNAc} \\ \\ \text{Fuc} \end{array}$
	$\begin{array}{c} \text{GlcNAc-Man} \\ \text{Man} \end{array} \begin{array}{l} \nearrow \\ \searrow \end{array} \begin{array}{c} \text{Man-GlcNAc-GlcNAc} \\ \\ \text{Fuc} \end{array}$

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

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 [] 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 ウイルスカの違い、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 $\text{以上} : 1$ 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