

(案)

動物用医薬品評価書

ペグボビグラスチム

2016年11月

(2017年11月 一部改訂)

食品安全委員会

目 次

	頁
○審議の経緯	3
○食品安全委員会委員名簿	3
○食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿	3
○要 約	4
I. 評価対象動物用医薬品の概要	5
1. 用途	5
2. 有効成分の一般名	5
3. 化学名	5
4. 分子式	5
5. 分子量	5
6. 構造式	6
7. 使用目的及び使用状況	6
II. 安全性に係る知見の概要	8
1. 薬物動態に関連する知見	8
(1) 薬物動態及び薬力学試験（ラット）	8
(2) 薬力学試験（牛）	9
(3) rhG-CSF 及び PEG rhG-CSF を用いた薬物動態に関連する知見（ラット）	10
(4) rhG-CSF 及び PEG rhG-CSF を用いた薬物動態に関連する知見（ヒト）	11
2. 残留試験	13
(1) ペグボビグラスチムの牛の組織及び乳汁への残留性について<参考資料>	13
(2) ペグボビグラスチムを投与した牛由来の食肉又は乳汁中の残留性について<参考資料>	13
3. 毒性試験	14
(1) ペグボビグラスチム	14
(2) rhG-CSF	14
4. 一般薬理試験	18
5. その他の試験	19
(1) 眼刺激性試験	19
(2) 皮膚刺激性試験	19
(3) 遺伝子組換えによる影響	20
(4) 抗原性について	20
(5) ペグボビグラスチムの胃液中での分解性 (<i>in vitro</i>)	20
(6) PEG の毒性について	21
6. 微生物学的影響に関する試験	21
7. ヒトにおける知見（rhG-CSF 及び PEG rhG-CSF）	21

8. 安全性試験	22
(1) 安全性試験 (牛) ①<参考資料>	22
(2) 安全性試験 (牛) ②<参考資料>	22
III. 国際機関等における評価	24
1. EMA における評価	24
2. FDA における評価	24
IV. 食品健康影響評価	25
・ 別紙：検査値等略称	26
・ 参照	27

<審議の経緯>

- 2016年 6月 2日 インポートトレランス申請
2016年 6月 15日 厚生労働大臣から残留基準設定（インポートトレランス）に係る食品健康影響評価について要請（厚生労働省発生食 0614 第1号）、関係資料の接受
2016年 6月 21日 第611回食品安全委員会（要請事項説明）
2016年 7月 22日 第193回動物用医薬品専門調査会
2016年 9月 27日 第623回食品安全委員会（報告）
2016年 9月 28日から10月27日まで 国民からの意見・情報の募集
2016年 11月 9日 動物用医薬品専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告
2016年 11月 15日 第629回食品安全委員会（報告）
（同日付で厚生労働大臣に通知）
2017年 11月 28日 第675回食品安全委員会（報告）
（記載の修正に伴う一部改訂）

<食品安全委員会委員名簿>

（2015年7月1日から）

佐藤 洋（委員長）
山添 康（委員長代理）
熊谷 進
吉田 緑
石井 克枝
堀口 逸子
村田 容常

（2017年1月7日から）

佐藤 洋（委員長）
山添 康（委員長代理）
吉田 緑
山本 茂貴
石井 克枝
堀口 逸子
村田 容常

<食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿>

（2016年4月1日から）

青山 博昭（座長）	島田 美樹	宮田 昌明
小川 久美子（座長代理）	須永 藤子	吉田 和生
青木 博史	辻 尚利	吉田 敏則
石川 さと子	寺岡 宏樹	渡邊 敏明
石塚 真由美	能美 健彦	
島田 章則	舞田 正志	

<第193回食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門参考人名簿>

澤田 純一

要 約

免疫賦活剤である「ペグボビグラスチム」(CAS No.1363409-60-2、ペグ化遺伝子組換え牛顆粒球コロニー刺激因子)について、ペグボビグラスチムのインポートトレランス (IT) 申請資料、EMA 評価書 (EPMAR) 等を用いて食品健康影響評価を実施した。

ラットを用いた薬物動態及び薬力学試験において、ペグボビグラスチムの経口投与による(皮下投与に対する相対的な)バイオアベイラビリティは、ECL イムノアッセイの定量限界値を用いて算出したとしても 0.08%以下であり、無視できる程度であった。また、ラット及び牛を用いた薬力学試験において、皮下投与では好中球数の増加がみられたものの、強制経口投与では有意な増加はみられなかった。

ペグボビグラスチムを用いた各種毒性試験は実施されていないが、フィルグラスチム(遺伝子組換えヒト顆粒球コロニー刺激因子)を用いた遺伝毒性試験において、全て陰性の結果が示されており、また、ペグボビグラスチムは消化管内で分解され、そのバイオアベイラビリティも低いことから、ペグボビグラスチムについては、*in vivo* での遺伝毒性の懸念は低く、生体にとって特段問題となる遺伝毒性を示さないと判断した。

ペグボビグラスチムを用いた残留試験は、実施されていない。また、フィルグラスチムを用いた亜急性毒性試験及び生殖発生毒性試験の結果が報告されているが、いずれも経口投与で実施されていない。しかし、人工胃液を用いた分解試験において、ペグボビグラスチムは、人工胃液中で 30 分以内に消化、分解されることが示された。したがって、ヒトが食品を介してペグボビグラスチムを経口摂取しても、ペグボビグラスチムはヒトの胃内で短時間で分解されることから、ペグボビグラスチムの牛への投与による食品を介したばく露による影響は無視できる程度と考えられ、毒性学的及び薬理学的影響を考慮する必要はないと考えた。

以上から、食品安全委員会は、ペグボビグラスチムについては、ADI を特定する必要はないと判断した。

I. 評価対象動物用医薬品の概要

1. 用途

免疫賦活剤

2. 有効成分の一般名

和名：ペグボビグラスチム¹（ペグ化遺伝子組換え牛顆粒球コロニー刺激因子）

英名：Pegbovigrastim (PEGylated Bovine Granulocyte Colony Stimulating Factor)

(参照 1)

3. 化学名

IUPAC

英名：L-methionyl-[133-{4-(1-[methoxy-polyethylene glycolyl-carbonyl-aminoethoxy]iminoethyl)-L-phenylalanine}]bovine granulocyte colony-stimulating factor

CAS (No. 1363409-60-2)

英名：Colony-stimulating factor, granulocyte [methionyl, 133-(4-acetylphenylalanine)](synthetic bovine), 20 kilodalton pegylated

(参照 1)

4. 分子式²

$C_{859}H_{1370}N_{236}O_{248}S_9 \cdot [C_2H_4O]_n$ $n=454$ (平均) (参照 1)

5. 分子量³

約 40,600、

約 39,400 (理論値)

(参照 1)

¹ 原薬の規格としてペグボビグラスチムの純度は93%以上に、不純物（ボビグラスチム、酸化体及び多量体等）は一定量以下に管理されている。

² ポリエチレングリコール（PEG）のエチレングリコール鎖の重合度により異なる。

³ 分子式と同様、PEGのエチレングリコール鎖の重合度により異なる。ペグ化前の遺伝子組換え牛顆粒球コロニー刺激因子の分子量は、19,144である。

6. 構造式

Sequence

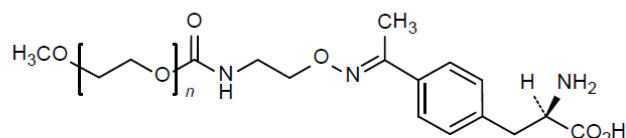
				M	
TPLGPARSLP	QSFLKCLEQ	VRKIQADGAE	LQERLCAAHK	LCHPEELMLL	50
RHSLGIPQAP	LSSCSSQSLQ	LTSCLNQLHG	GLFLYQGLLQ	ALAGISPELA	100
PTLDTLQLDV	TDFATNIWLQ	MEDLGAAPAV	QPEQGAMPTF	TSAFQRRAGG	150
VLVASQLHRF	LELAYRGLRY	LAEP			174

Disulfide bridges

36-42 64-74

Modified residues

F
133
4-(methoxyPEGcarbonylaminoethoxyiminoethyl)Phe



(参照 1)

7. 使用目的及び使用状況

ペグボビグラスチムは、ポリエチレングリコール (PEG) 分子を結合させた遺伝子組換え牛顆粒球コロニー刺激因子である。その本質は、牛顆粒球コロニー刺激因子の N 末端のメチオニンが保持され、133 位⁴のアミノ酸を p-アセチルフェニルアラニンに置換した 175 のアミノ酸から成るタンパク質を、20 kDa の PEG でペグ化したものである。ペグボビグラスチムは、内因性の牛顆粒球コロニー刺激因子のアミノ酸一次配列とほぼ同一 (98%超) であり、遺伝子組換えヒト顆粒球コロニー刺激因子のアミノ酸配列とは 81%が相同である。(参照 1、2)

顆粒球コロニー刺激因子は、生体内で単核白血球、内皮細胞及び線維芽細胞から分泌されるサイトカインの一つで、好中球の顆粒球のみに影響を及ぼし、好中球の増殖及び骨髄中の前駆幹細胞からの分化を刺激する。顆粒球コロニー刺激因子をペグ化することにより、タンパク質の分子量が大きくなり、分解及び腎クリアランスが低減されることから、ペグ化顆粒球コロニー刺激因子の活性の持続時間は延長される。(参照 1) これらのことから、ペグボビグラスチムは、牛において、骨髄系幹細胞からの成熟好中球の産生を増大させ、生体内を循環する成熟好中球の機能を活性化し、その結果、免疫系を刺激するために用いられる。(参照 2)

動物用医薬品として、ペグ化遺伝子組換え牛顆粒球コロニー刺激因子を有効成分とする製剤は、日本では承認されていない。海外では、周産期の乳牛における臨床型乳房炎発症率の軽減を効能又は効果とする製剤について、米国、カナダ、EU 等で既に承認されており、豪州等では承認申請又は審議が行われている。製剤の用法及び用量は、乳牛 1 頭 1 回当たり 15 mg のペグボビグラスチムの皮下投与である。(参照 1)

ヒト用医薬品として、海外において、ペグ化遺伝子組換えヒト顆粒球コロニー刺激因子の製剤は既に承認されている。日本では、遺伝子組換えヒト顆粒球コロニー刺激因子の製剤及びペグ化遺伝子組換えヒト顆粒球コロニー刺激因子の製剤が既に承認されている。(参照 1、3、4、5)

⁴ N 末端のメチオニンを 0 位として記述。

今般、インポートトレランス（IT）申請に伴い、厚生労働大臣からペグボビグラスチムの残留基準の設定に係る評価要請がなされた。

II. 安全性に係る知見の概要

本評価書では、IT 申請資料、欧州医薬品庁 (EMA) の評価書 (EPMAR) 等を基に、ペグボビグラスチムの毒性等に関する主な知見を整理した。(参照 1~9)

なお、本評価書における牛⁵及びヒトの顆粒球コロニー刺激因子の略称を表 1 にまとめた。

検査値等略称は、別紙に示した。

表 1 牛及びヒトの顆粒球コロニー刺激因子の種類及び略称

種類	牛	ヒト
顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF)	bG-CSF	hG-CSF
遺伝子組換え顆粒球コロニー刺激因子 (rG-CSF)	rbG-CSF 成分名：ボビグラスチム ⁶	rhG-CSF 成分名：レノグラスチム ⁷ 、 フィルグラスチム ⁸ rhG-CSF(置換) ⁹
ペグ化遺伝子組換え顆粒球コロニー刺激因子 (PEG rG-CSF)	PEG rbG-CSF 成分名：ペグボビグラスチム	PEG rhG-CSF 成分名：ペグフィルグラスチム ¹⁰ PEG rhG-CSF(T133pAF 置換) ¹¹

1. 薬物動態に関連する知見

[1. (1)] に示すとおり、ペグボビグラスチムを用いた薬物動態及び薬力学試験において好中球数の測定により薬学的評価が可能であることが示唆されたことから、[1. (2)] のとおり、牛における薬学的評価が実施された。(参照 1)

(1) 薬物動態及び薬力学試験 (ラット)

ラット (SD 系、雌雄各 3 匹/群) を用いてペグボビグラスチムの単回皮下投与 (250 µg/kg 体重) 又は単回強制経口投与 (2,500 µg/kg 体重) 試験を実施した。対照群には、賦形剤のみを皮下投与した。投与前並びに投与 0.25、1、2、4、12、24、48、72、96 及び 120 時間後の好中球絶対数を自動細胞計数器により測定し、血清中のペグボビグラスチム

⁵本評価書において、原則として実験動物種及び人はカタカナ、評価対象動物用医薬品の使用対象となる動物等は漢字又はひらがなで記載する。

⁶ ペグボビグラスチムと同じ配列を有しペグ化されていない rbG-CSF を、本評価書では「ボビグラスチム」として記載した。

⁷ 174 個のアミノ酸で構成される分子量約 20,000 の糖タンパク質で、天然型 hG-CSF とアミノ酸配列は一致している。133 位のスレオニンに糖鎖を有する。(参照 1、3)

⁸ 175 個のアミノ酸で構成される分子量約 19,000 の糖タンパク質で、N 末端のメチオニンが保持されたもの。(参照 1、4)

⁹ N 末端に 4 つのアミノ酸 (メチオニン-アルギニン-グリシン-セリン) が付加し、17 位のシステインがアラニンに置換したもの。(参照 1)

¹⁰ フィルグラスチムの N 末端に 20 kDa のモノメトキシポリエチレングリコールを結合させたもの。(参照 1)

¹¹ 天然型 hG-CSF の 133 位のアミノ酸を p-アセチルフェニルアラニンに置換し、20 kDa のモノメトキシポリエチレングリコールを結合、N 末端のメチオニンが保持されたもの。(参照 1)

チム濃度を電気化学発光 (ECL) イムノアッセイにより定量した (定量限界: 46.9 ng/mL)。

経口投与群では、好中球絶対数は投与 120 時間後までに投与前の最大 2 倍となったが、有意差はみられなかった。皮下投与群では、投与 4 時間後から顕著に増加し、投与 12 時間後に有意 ($p=0.01$) となった。さらに、その後も増加を続け、投与 24~72 時間後に最高値に達し、その値は投与前の約 10 倍となった。

経口投与群では、血清中のペグボビグラスチム濃度は投与後 120 時間にわたり定量限界未満であった。皮下投与群では、投与 2~4 時間後には顕著に上昇し、その後も上昇を続け、投与 12~24 時間後に最高値 (約 20,000 ng/mL) に達した。(参照 1、2)

皮下投与によるペグボビグラスチムの薬物濃度曲線下面積 ($AUC_{0\sim72}$) は 420,000 ng·hr/mL (420 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/mL}$) であり、経口投与による AUC (全例が定量限界値: 46.9 ng/mL と仮定) と比較すると、経口投与による (皮下投与に対する相対的な) バイオアベイラビリティは、ECL イムノアッセイの定量限界値を用いて算出した場合、0.08% であることが示唆された。このことから、EMA は、ペグボビグラスチムの経口投与によるバイオアベイラビリティは無視できる程度であると結論付けている。(参照 2)

(2) 薬力学試験 (牛)

① ペグボビグラスチム及び rbG-CSF を用いた薬力学試験

泌乳牛 (ホルスタイン種、4~5 頭/群) にペグボビグラスチム又は rbG-CSF (ボビグラスチム) を単回皮下投与 (いずれも 20 $\mu\text{g/kg}$ 体重) し、薬力学試験が実施された。投与前及び投与 14 日後までの好中球数を測定した。対照群には、緩衝液のみを投与した。

その結果、ボビグラスチム投与群では、好中球数は、投与 12 時間後に最高値に達し、投与 60 時間 (2.5 日) 後まで、対照群と比較して有意な高値を示した。ペグボビグラスチム投与群では、好中球数は、投与 5 時間後から対照群と比較して有意な高値を示し、投与 36 時間後に最高値に達した。その後、投与 96 時間後まで及びその後のいくつかの測定時点 (投与 240、264 及び 312 時間後) で有意に高く、投与 12 日後まで好中球数の増加がみられた。(参照 1)

② ペグボビグラスチム及び PEG rhG-CSF を用いた薬力学試験

牛 (交雑種、6~10 か月齢、去勢雄及び雌、6 頭/群) にペグボビグラスチム、PEG rhG-CSF (ペグフィルグラスチム又は PEG rhG-CSF (T133pAF 置換)) を単回皮下投与 (いずれも 40 $\mu\text{g/kg}$ 体重) し、薬力学試験が実施された。投与前及び投与 21 日後までの好中球数を測定した。対照群には、賦形剤のみを投与した。

その結果、好中球数は、各投与群とも投与 4 時間後から増加し、投与 8 時間後にはペグボビグラスチム及びペグフィルグラスチム投与群で対照群と比較して有意な高値を示した。ペグボビグラスチム投与群では投与 72 時間後に、ペグフィルグラスチム及び PEG rhG-CSF (T133pAF 置換) 投与群では投与 48 時間後に最高値に達した。いずれの投与群も対照群と比較して投与 14 日後まで高値を示したが、投与 21 日後には対照群と同程度まで低下した。(参照 1)

(3) rhG-CSF 及び PEG rhG-CSF を用いた薬物動態に関連する知見 (ラット)

① rhG-CSF を用いた薬物動態試験

ラット (SD 系、6~8 週齢、雌雄、3~5 匹/群) に ^{125}I 標識 rhG-CSF (フィルグラスチム) を単回静脈内投与 ($5 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重) し、薬物動態試験が実施された。血漿中放射活性、トリクロロ酢酸 (TCA) 沈殿画分中放射活性及び免疫反応性放射活性が測定された。また、用量依存性を調べるため、15 及び $50 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重投与群 (雄 5 匹/群) が設定された。

投与後、血漿中放射活性は、雌雄ともに二相性の減衰を示し、TCA 沈殿画分中放射活性及び免疫反応性放射活性は、投与 1 時間後まで総放射活性の 90%以上を占め、それ以降は総放射活性に対してより速やかに消失した。消失半減期 ($T_{1/2}$)、分布容積 (Vd) 及び AUC に性差はみられなかった。投与量を 15 及び $50 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重に増加すると、 $T_{1/2}$ 及び Vd に変化はみられなかったが、AUC は用量相関的に増加した。投与 10 分後には、血漿、副腎、血液、腎臓、甲状腺、肝臓及び骨髄に高濃度の放射活性が検出されたが、血漿中放射活性濃度の減衰に伴い経時的に減少した。脳、眼、胸腺、脂肪及び骨格筋では、放射活性が検出されたものの、低濃度であった。雌では、生殖器への放射活性の分布がみられた。投与 24 時間後では、放射活性の分布は甲状腺を除き痕跡程度であり、甲状腺における放射活性の増加は代謝産物である遊離 ^{125}I の取り込みによるものと考えられた。また、投与 72 時間後には、投与放射活性の大部分 (雄 : 97.7%、雌 : 89.3%) が尿中に遊離 ^{125}I として排泄された。(参照 1)

② rhG-CSF を用いた乳汁移行試験

生後 10 日の哺乳中のラット (SD 系、雌 3 匹) に ^{125}I 標識 rhG-CSF (フィルグラスチム) を単回静脈内投与 ($5 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重) し、投与 1、2、4、8 及び 24 時間後の乳汁中放射活性を測定して、乳汁への移行が検討された。

その結果、投与 4~8 時間後をピークとして高分子成分の放射活性がみられた。乳汁中放射活性の成分分析の結果、高分子成分はフィルグラスチム由来成分ではなく、大部分が分子量 50 万以上に相当する放射性成分であったことから、 ^{125}I 標識フィルグラスチムの代謝分解により生じた ^{125}I を取り込んだ生体高分子成分と推定された。(参照 1)

③ rhG-CSF 及び PEG rhG-CSF を用いた薬物動態及び薬力学試験

ラット (系統、性別及び匹数不明) に rhG-CSF (フィルグラスチム) 又は PEG rhG-CSF (ペグフィルグラスチム) を単回静脈内投与 (いずれも $100 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重) し、薬物動態及び薬力学試験が実施された。

各物質の投与における薬物動態パラメーターを表 2 に示した。

好中球数は、両物質ともに投与 12 時間後に最高値に達した。しかし、ペグフィルグラスチムでは最高好中球数は投与 24~72 時間後の間も維持され、投与前のレベルに戻ったのは、フィルグラスチムで投与 48 時間後、ペグフィルグラスチムで投与 168 時間後であった。

表 2 ラットにおけるフィルグラスチム又はペグフィルグラスチムの静脈内投与後の薬物動態パラメーター

投与物質	AUC _{0-∞} ($\mu\text{g} \cdot \text{hr/L}$)	クリアランス (mL/hr/kg)	T _{1/2} (hr)	MRT (hr)
フィルグラスチム	2,000	50.0	1.8*	1.7
ペグフィルグラスチム	16,195	6.2	7.1	10.8

*：投与2～8時間の時点のデータから算出した。

フィルグラスチム及びペグフィルグラスチムの排泄について検討された。

腎摘出ラットでは、フィルグラスチムのクリアランスが大きく減少した。ある試験では、対照動物では 44.5 mL/hr/kg であったが、腎摘出ラットでは 9.4 mL/hr/kg に減少したと報告された。また、フィルグラスチムの半減期は、対照動物の 1.5 時間に対し、腎摘出ラットでは 5.3 時間に増加した。別の試験では、対照動物のフィルグラスチムのクリアランスが $45.1 \pm 2.4 \text{ mL/hr/kg}$ であったが、両側の腎摘出ラットでは $17.2 \pm 1.7 \text{ mL/hr/kg}$ に有意に減少した。一方、ペグフィルグラスチムの平均クリアランスは腎摘出ラット ($9.2 \pm 2.7 \text{ mL/hr/kg}$) と対照動物 ($11.4 \pm 1.8 \text{ mL/hr/kg}$) で同様であった。ペグフィルグラスチムのクリアランスは、投与量及び好中球数に依存していた。これらのことから、フィルグラスチムの主な排泄経路は腎臓排泄であることが確認された。ペグフィルグラスチムは、ペグ化により腎糸球体ろ過を受けにくくなり、腎臓からの排泄が大幅に減少するため、好中球による取り込みと分解が主な血中からの消失経路であると考えられた。

また、ペグフィルグラスチムの投与量が多いと飽和状態となり、それ以上に血清中濃度は上昇しなかった。そのため、ペグフィルグラスチムの排泄は投与量及び投与時の好中球数の影響を受け、生体内に好中球数が十分に存在するときは排泄も速やかであり、好中球数が減少しているときは遅くなった。(参照 1)

(4) rhG-CSF 及び PEG rhG-CSF を用いた薬物動態に関連する知見 (ヒト)

ヒトにおいて、rhG-CSF (フィルグラスチム) の半減期は約 3 時間である。フィルグラスチムの排泄経路としては、腎臓経由の排泄並びに好中球による取り込み及び分解の 2 種類がある。PEG rhG-CSF (ペグフィルグラスチム) はフィルグラスチムをペグ化することで分子量及び分子サイズを大きくし、腎糸球体ろ過による排泄を遅らせ、フィルグラスチムの数倍長い半減期を持つことが可能になった。(参照 1)

健常ボランティア及び癌患者を対象に、rhG-CSF (フィルグラスチム) の薬物動態試験 (投与経路及び投与量不明) が実施された。フィルグラスチムの平均 T_{1/2} は、 163 ± 7.4 分であり、顆粒球コロニー刺激因子濃度は投与 14～18 時間以内にベースラインに戻った。(参照 1)

化学療法を受けていない癌患者を対象に、rhG-CSF (フィルグラスチム) の 6 日間静脈内投与 ($10 \sim 60 \mu\text{g/kg}$ 体重/日) による薬物動態試験が実施された。平均 T_{1/2} は、

5.1 時間 (3.9~6.3 時間) であった。(参照 1)

健常ボランティア (8 名/群) を対象に、PEG rhG-CSF (ペグフィルグラスチム) の単回皮下投与 (30、60、100 又は 300 µg/kg 体重) による薬力学試験が実施された。その結果、投与量及び時間依存的な好中球数の増加がみられた (表 3)。平均作用時間 (好中球数が $10 \times 10^3/\text{mm}^3$ 以上) は、30 µg/kg 体重投与群で 5.8 日間、他の投与群 (60、100 又は 300 µg/kg 体重) では 8 日間以上であった。(参照 1)

表 3 健常ボランティアにおけるペグフィルグラスチムの単回皮下投与後の薬力学パラメーター (n=8)

パラメーター	投与量 (µg/kg 体重)		
	30	100	300
最大好中球数 ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	30.4 (21.0~35.2)	36.7 (29.3~51.1)	50.8 (30.0~96.0)
最大好中球数に達する時間 (日)	2.5 (1.5~2.5)	3.0 (2.0~5.0)	5.0 (4.0~6.0)
作用時間 (日)	5.79 (4.75~9.9)	8.29 (4.67~8.9)	8.79 (6.83~131.8)
基準値影響曲線上面積 ($\times 10^3/\text{mm}^3 \cdot \text{日}$)	101 (74~152)	141 (100~189)	223 (134~342)

() 内は範囲を示した。

乳癌又は転移性メラノーマ患者で好中球減少症を発症している成人を対象に、高用量の化学療法及び自己骨髄移植後に rhG-CSF (フィルグラスチム) を投与し、薬物動態試験が実施された。被験者には、フィルグラスチム (4~64 µg/kg 体重/日) を 14 日間連続静脈内点滴又は 21 日間投与 (1 日 4 時間点滴、移植 3 時間後に開始) した。フィルグラスチムの血漿中半減期は、4 時間点滴群では 198 ± 134 分であったが、被験者間におけるクリアランスの変動は大きかった (3.4~106.9 mL/hr/kg)。連続点滴群のフィルグラスチムの全身クリアランスもまた、被験者間の変動が大きかった (1.14~156.86 mL/hr/kg)。しかし、連続点滴群の全被験者において、白血球が回復するとクリアランスが増加した。数学的モデル化を行うことで、クリアランスが二相性であり、腎臓排泄に関連した静的相及び白血球数 (WBC) に伴って変化する好中球介在性クリアランス相があることが判明した。(参照 1)

パクリタキセルを 21 日ごとに 225 mg/m^2 の用量で投与されている非小細胞性肺癌患者に、化学療法終了 24 時間後に PEG rhG-CSF (ペグフィルグラスチム) (30、100 又は 300 µg/kg 体重) 又は rhG-CSF (フィルグラスチム) (5 µg/kg 体重) を単回皮下投与して、薬物動態試験が実施された。また、化学療法 14 日前に同様に投与した場合の薬物動態と比較した。

結果を表 4 に示した。ペグフィルグラスチムの薬物動態は、化学療法 14 日前に投与した場合と化学療法 24 時間後に投与した場合とでは、大きく異なっていた。各投与量における最高濃度 (C_{max}) は化学療法前後で同程度であったが、化学療法前より化学療法後に投与された方がより低いクリアランスとなる傾向があった。ペグフィルグラスチムのクリアランスは、被験者の好中球数に依存し、各被験者の造血能の回復

に依存する可能性があることが示された。(参照 1)

表 4 非小細胞性肺癌患者に対する化学療法前後 (14 日前又は 24 時間後) のフィルグラスチム (5 µg/kg 体重) 又はペグフィルグラスチム (100 µg/kg 体重) の単回皮下投与後の薬物動態パラメーター

	化学療法	血漿中 C _{max} (ng/mL)	T _{max} (hr)	AUC _{0-∞} (ng · hr/mL)	終末 T _{1/2} (hr)	血清クリアランス (mL/hr/kg)
フィルグラスチム	前	15.4 (12.5~37.2)	4.0 (2.0~8.0)	167 (96.6~346)	2.6 (2.4~3.3)	29.9 (14.5~51.8)
	後	10.7 (9.2~15.5)	8.0 (8.0~8.0)	126 (81.9~155)	3.4 (3.1~4.8)	39.6 (32.3~61.1)
ペグフィルグラスチム	前	131 (50.4~172)	24.0 (24.0~36.0)	5,640 (2,490~7,710)	62.1 (47.9~68.6)	17.7 (13.0~40.1)
	後	114 (58.1~203)	72.0 (24.0~96.0)	7,150 (6,320~24,100)	33.2 (30.3~53.8)	14.0 (4.2~15.8)

() 内は範囲を示した。

2. 残留試験

ペグボビグラスチムを用いた残留試験は、実施されていない。

(1) ペグボビグラスチムの牛の組織及び乳汁への残留性について<参考資料¹²⁾>

申請者によると、牛の体内に残留するペグボビグラスチム濃度は微量であるが、血中の好中球数及び乳汁中の体細胞数 (ほとんどが白血球) はペグボビグラスチム濃度を反映するため、以下のとおり、ペグボビグラスチムの薬力学的指標として使用可能であるとされている。

薬物動態試験 [1. (3)] では、PEG rhG-CSF の投与後、血中の好中球数は速やかに上昇し、投与後 2 週間程度かけて徐々に正常値に戻ったが、PEG rhG-CSF を用いたヒトの知見 [1. (4)] やラットにおける薬物動態及び薬力学試験 [1. (1)] で示唆されるように、血中の好中球数の増加に伴い G-CSF 濃度は速やかに低下することから、ペグボビグラスチムの投与においても好中球数の減衰に先立って血中濃度は低下するものと考えられる。(参照 1)

(2) ペグボビグラスチムを投与した牛由来の食肉又は乳汁中の残留性について<参考資料¹³⁾>

以下のとおり、ペグボビグラスチムを投与した牛由来の食肉又は乳汁中の残留性が申請者により試算されている。

¹²⁾ 通常の残留試験ではないことから、参考資料とした。

¹³⁾ 通常の残留試験ではないことから、参考資料とした。

ペグボビグラスチムは、対象動物である牛に対し、分娩予定 7 日前及び分娩後 24 時間以内の 2 回、1 シリンジ（ペグボビグラスチムとして 15 mg を含む。）を皮下投与することから、2 回目投与直後の食肉又は乳汁を介してヒトが経口摂取した場合が試算された。

① 食肉における残留性について

ペグボビグラスチムは乳牛 1 頭 1 回当たり 15,000 µg を投与することから、投与直後の投与部位直下の筋肉 1 kg に投与した全量が分布すると仮定すると、1,000 g 当たり 15,000 µg 程度が存在すると考えられる。ヒトが当該部位の筋肉を 300 g 摂取した場合、ペグボビグラスチムの摂取量は 4,500 µg (15,000 µg × 300 g/1,000 g) となる。これを体重当たりに換算すると、成人（体重 60 kg）で 75 µg/kg 体重、子供（体重 20 kg）で 225 µg/kg 体重となる。（参照 1）

② 乳汁における残留性について

ペグボビグラスチムを約 1 週間間隔で 2 回投与した場合、1 回目投与の半減期を 1 週間とすると、2 回目投与直後の乳牛体内のペグボビグラスチムの総量は 22,500 µg (15 mg × 1.5) となる。乳汁中に rbG-CSF が全く代謝を受けずに全量が投与後 7 日間で乳汁中に排泄された場合、乳汁中濃度は、投与後 7 日間の乳生産量を 168 L (24 L/日 × 7 日) とすると、134 µg/L となる。ヒトの 1 日当たりの乳摂取量を 150 mL とすると、ヒトの rbG-CSF の摂取量は 20.1 µg/ヒト/日となり、成人（体重 60 kg）及び子供（体重 20 kg）の摂取量はそれぞれ 0.34 及び 1.01 µg/kg 体重となる。実際の投与後の乳出荷は、分娩後 5 日程度経ってからになるため、たとえ投与した全量が全く代謝を受けずに乳汁中に排泄されたとしても、ヒトの摂取量は上記の試算値より低くなるものと考えられる。（参照 1）

3. 毒性試験

(1) ペグボビグラスチム

ペグボビグラスチムを用いた毒性試験の結果は、報告されていない。

EMA は、ペグボビグラスチムの経口投与時のバイオアベイラビリティが無視できる程度であることから、動物の組織や食品中に残留したペグボビグラスチムは、その摂取によりヒトに対するリスクとはなり得ないとし、毒性試験を求めなかった。

(参照 2)

(2) rhG-CSF

rhG-CSF は、非経口投与によるヒトへの効果を想定しており、非経口投与による各種毒性試験が実施されている。

① 遺伝毒性試験

rhG-CSF（フィルグラスチム）の遺伝毒性試験結果を表 5 にまとめた。（参照 1）

表 5 フィルグラスチムの遺伝毒性試験結果

検査項目	試験対象	用量	結果	
<i>in vitro</i>	復帰突然変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、TA1537、 <i>Escherichia coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	0、8.4、16.9、33.8、67.5、135 µg/plate (-S9)、0、1.7、3.4、6.8、13.5、27 µg/plate (+S9)	陰性
	染色体異常試験	チャイニーズハムスター肺由来 (CHL) 細胞	0、16.0、17.6、19.4、21.3、23.5、25.8 µg/mL (±S9) (6、24、48 時間)	陰性
<i>in vivo</i>	小核試験	マウス骨髄細胞	0、10.7、11.7、12.9 mg/kg 体重 単回腹腔内投与 (投与 18 時間後)	陰性

食品安全委員会は、ペグボビグラスチムを用いた遺伝毒性試験は実施されていないものの、フィルグラスチムを用いた遺伝毒性試験において全て陰性の結果が示されており、また、ペグボビグラスチムは消化管内で分解され、そのバイオアベイラビリティも低いことから、ペグボビグラスチムについては、*in vivo* での遺伝毒性の懸念は低く、生体にとって特段問題となる遺伝毒性を示さないと判断した。

② 急性毒性試験 (マウス、ラット及びサル)

rhG-CSF (フィルグラスチム) の半数致死量 (LD₅₀) を表 6 に示した。

表 6 フィルグラスチムの急性毒性試験結果

動物種	性別	投与経路	LD ₅₀ (µg/kg 体重)
マウス	雌雄	経口	> 3,000
	雌雄	静脈内	> 3,000
	雌雄	腹腔内	> 3,000
	雌雄	皮下	> 3,000
ラット	雌雄	経口	> 3,000
	雌雄	静脈内	> 3,000
	雌雄	腹腔内	> 3,000
	雌雄	皮下	> 3,000
サル	雌雄	静脈内	> 3,000

マウス及びラットでは、最高用量 (3,000 µg/kg 体重) 投与群においても一般状態、体重及び剖検所見に異常はみられなかった。

サルでは、一般状態、体重、摂餌量、剖検及び病理組織学的所見に投与に関連した異常はみられなかった。血液学的検査では、投与 7 日後に 1,000 及び 3,000 µg/kg 体重投与群で WBC の増加傾向がみられたが、投与 14 日後には正常範囲内となった。(参照 1)

③ 亜急性毒性試験<参考資料¹⁴>

ラットにおける rhG-CSF (フィルグラスチム又は rhG-CSF(置換)) の亜急性毒性試験の結果を表 7 にまとめた。(参照 1)

表 7 ラットにおけるフィルグラスチム又は rhG-CSF(置換)の亜急性毒性試験結果

被験物質	試験	動物種 (性別、匹数/群)	投与量 (µg/kg 体重/日) 及び投与経路	所見
フィルグラスチム	4 週間投与試験	SD ラット (雌雄各 10 匹/群)	0、1、10、100、 皮下投与	1 以上：雌雄：骨髄の好中球比率増加、雄：骨髄の赤芽球系細胞比率減少、雌：骨髄のリンパ球比率減少、 10 以上：雌雄：アルカリホスファターゼ (ALP) 上昇、脾臓の絶対及び相対重量の増加、骨髄に顆粒球系造血亢進、雄：平均赤血球容積 (MCV) 及び平均赤血球血色素量 (MCH) の増加、分葉核球比率増加、リンパ球比率減少、骨髄のリンパ球比率減少、脾臓に顆粒球系造血亢進、 100：雌雄：WBC 増加、後肢骨骨内膜部での骨吸収及び骨新生、雄：RBC 減少、雌：分葉核球比率増加、リンパ球比率減少、骨髄の単球・マクロファージ比率及び赤芽球系細胞比率の減少、脾臓に顆粒球系造血亢進
	13 週間投与試験①	SD ラット (雌雄各 10 匹/群 + 回復群 (1 及び 10 µg/kg 体重/日投与群以外に対して設定) 雌雄各 6 匹/群)	0、1、10、100、500、 静脈内投与 (回復期間:5 週間)	10 以上：雌雄：骨髄の多染性赤芽球比率及びリンパ球比率の減少並びに分葉核球比率及び桿状核球比率の増加、ALP 増加、骨髄に顆粒球系造血亢進、雄：WBC 及び分葉核球比率の増加、リンパ球比率減少、雌：脾臓の絶対及び相対重量の増加、 100 以上：雌雄：後肢関節の腫脹及び運動障害、後肢骨骨内膜部での骨吸収及び骨新生、脾臓に顆粒球系造血亢進、雄：脾臓の絶対及び相対重量の増加、雌：WBC 及び分葉核球比率の増加、リンパ球比率減少、 500：雌雄：MCV 増加、雄：MCH 増加、血小板減少、桿状核球比率増加、雌：平均赤血球血色素濃度 (MCHC) 減少、 回復期間終了時には、上記の所見なし又は回復傾向

¹⁴ 経口投与でないことから、参考資料とした。

rhG-CSF (置換)	13週間投与試験②	SDラット (雌雄各5匹/群 + 回復群雌雄各5匹/群)	0、1、10、100、500、皮下投与 (回復期間：5週間)	10以上：雌雄：ALP増加 ^a 、雄：WBC、好中球数及び好中球比率の増加、 100以上：雌雄：脾赤色髄における好中球数増加、投与部位皮下組織への白血球浸潤、 500：雌雄：脾臓の相対重量増加、雄：後肢関節の腫脹(4/10例)、雌：WBC及び好中球数の増加、 回復期間終了時には、上記の所見なし
--------------	-----------	------------------------------	--------------------------------	---

a：雄の100 µg/kg 体重/日投与群及び雌の500 µg/kg 体重/日投与群では、対照群との有意差なし。

④ 生殖発生毒性試験<参考資料¹⁵>

ラット及びウサギにおけるrhG-CSF(レノグラスチム)の生殖発生毒性試験の結果を表8にまとめた。(参照1)

表8 ラット及びウサギにおけるレノグラスチムの生殖発生毒性試験結果

試験	動物種 (性別、匹数/群)	投与量 (µg/kg 体重/日)、投与経路及び投与期間	所見
器官形成期投与試験	SDラット (35匹/群(帝王切開検査：23匹/群、自然分娩検査：12匹/群))	0、1、10、100、 静脈内投与、妊娠7～17日	母動物：一般状態、体重、摂餌量、妊娠期間、分娩及び哺育に投与による影響なし、 100：帝王切開群：脾臓重量増加、 胎児：発育抑制、死亡及び催奇形性なし、出生児の発育、形態分化、行動機能及び生殖機能に投与による影響なし
周産期及び授乳期投与試験	SDラット (23匹/群)	0、1、10、100、 静脈内投与、妊娠17日～分娩21日後	母動物：一般状態、体重、摂餌量、妊娠期間、分娩及び哺育に投与による影響なし、 100：脾臓重量増加、 出生児(F ₁)：発育、形態分化、行動機能及び生殖機能に投与による影響なし、 胎児(F ₂)：異常なし
器官形成期投与試験	KBL：JWウサギ (13～16匹/群)	0、1、10、100、 静脈内投与、妊娠6～18日	母動物：黄体数、着床数及び着床率に有意差なし、 10以上：摂餌量減少、体重増加抑制傾向、 100：流産(多くは胎盤遺残物、摂餌量減少によると考えられた)、 胎児：外形異常、内臓異常及び骨格異常の発現率に投与による影響なし、骨格変異の発現率及び骨化仙尾椎数に有意差なし、 10：雄胎児体重減少(摂餌量減少によると

¹⁵ 経口投与でないことから、参考資料とした。

試験	動物種 (性別、匹数/群)	投与量 (µg/kg 体重/日)、 投与経路及び投与期間	所見
			考えられた)、 100 : 死亡率増加、雌雄胎児体重減少 (摂餌量減少によると考えられた)

4. 一般薬理試験

rhG-CSF (レノグラスチム) の一般薬理作用を表 9 にまとめた。

レノグラスチムは、中枢神経系、体性神経系、自律神経系及び平滑筋、呼吸・循環器系、消化器系並びに水及び電解質代謝に影響を及ぼさないと判断された。また、血液凝固系及び血液流動性に影響を与えず、溶血作用もないことが示された。しかし、レノグラスチムの投与に伴う WBC 増加状態では、カラゲニンによる炎症が増強された。(参照 1)

表 9 レノグラスチムの一般薬理作用

	項目	動物種	投与量 (投与経路)	結果
中枢神経系	自発運動量、懸垂動作、協調運動、麻酔強化作用、抗痙攣作用、鎮痛作用	マウス	1、10、100 µg/kg 体重 (静脈内投与)	影響なし
	脳波、脊髄反射	ネコ	1、10、100 µg/kg 体重 (静脈内投与)	影響なし
体性神経系	坐骨神経刺激による筋収縮	ラット	1、10、100 µg/kg 体重 (静脈内投与)	影響なし
	横隔膜神経刺激による筋収縮	ラット	0.01、0.1、1 µg/mL (<i>in vitro</i>)	影響なし
	角膜反射	モルモット	1、10、100 µg/mL (点眼)	影響なし
自律神経系及び平滑筋	迷走神経の電気刺激並びにアセチルコリンによる心拍数及び血圧反応	ネコ	1、10、100 µg/kg 体重 (静脈内投与)	影響なし
	瞬膜の収縮	ネコ	1、10、100 µg/kg 体重 (静脈内投与)	影響なし
	妊娠、非妊娠ラットの摘出子宮の自発運動	ラット	0.01、0.1、1 µg/mL (<i>in vitro</i>)	影響なし
	ウサギ回腸の自発運動、モルモット回腸のアセチルコリン、ヒスタミン、BaCl ₂ による収縮	ウサギ、モルモット	0.01、0.1、1 µg/mL (<i>in vitro</i>)	影響なし
	摘出気管のヒスタミン収縮	モルモット	0.01、0.1、1 µg/mL (<i>in vitro</i>)	影響なし
	大動脈の KCl 収縮	ウサギ	0.01、0.1、1 µg/mL (<i>in vitro</i>)	影響なし

項目	動物種	投与量 (投与経路)	結果	
摘出胃底条片に対するセロトニン収縮	ラット	0.01、0.1、1 µg/mL (<i>in vitro</i>)	影響なし	
呼吸・循環器系	麻酔下での呼吸、血圧、心拍数及び心電図	イヌ	1、10、100 µg/kg 体重 (静脈内投与)	影響なし
	摘出心房	モルモット	0.01、0.1、1 µg/mL (<i>in vitro</i>)	影響なし
消化器系	小腸炭末輸送能	マウス	1、10 µg/kg 体重 (静脈内投与)	影響なし
	胃液分泌作用	ラット	1、10、100 µg/kg 体重 (静脈内投与)	影響なし
	生体位胃腸管運動	ウサギ	1、10、100 µg/kg 体重 (静脈内投与)	影響なし
水及び電解質代謝	ラット	1、10、100 µg/kg 体重 (静脈内投与)	影響なし (尿量は、1 µg/kg 体重投与群のみで有意に減少)	
血液系	血液凝固	ラット	1、10、100 µg/kg 体重 (静脈内投与)	影響なし
	溶血作用	ウサギ、イヌ	12.5、25、50 µg/mL (<i>in vitro</i>)	影響なし
炎症・抗炎症作用	毛細血管透過性	マウス	1、10、100 µg/mL (腹腔内投与) 1、10、100 µg/kg 体重 (静脈内投与)	影響なし
	足浮腫	ラット	0.1、1、10 µg/動物 (足蹠皮下投与) 1、10、100 µg/kg 体重 (静脈内投与) カラゲニン浮腫	直接作用なし、白血球増加状態では足浮腫率の増加がみられ、炎症が増強
その他	血中過酸化脂質量	マウス	1、10、100 µg/kg 体重 (7日間静脈内投与)	影響なし

5. その他の試験

(1) 眼刺激性試験

ウサギ (NZW 種、雌 3 匹) にペグボビグラスチムを単回適用 (0.1 mL) し、洗眼せずに適用約 1、24、48 及び 72 時間後の眼反応性を調べた。その結果、試験中の死亡及び体重の大幅な変化はみられず、結膜の発赤 (グレード 1) が適用 1 時間後の 1 例にみられたのみであった。(参照 1)

(2) 皮膚刺激性試験

ウサギ (NZW 種、雄 3 匹) にペグボビグラスチムを剃毛した損傷のない皮膚に適用 (0.5 mL) した。ばく露終了時にパッチを外し、適用部位を洗浄し、パッチを除い

て約 30～60 分後並びに 24、48 及び 72 時間後に観察した。その結果、試験中の死亡、体重の大幅な変化及び皮膚の変化はみられなかった。(参照 1)

(3) 遺伝子組換えによる影響

ペグボビグラスチムの原薬製造工程において、ペグボビグラスチムは精製されており、不純物として、製造に用いられた遺伝子組換え大腸菌由来のタンパク質及び DNA の除去状況が検討されている。大腸菌由来のタンパク質については、原薬の規格としてタンパク質 1 mg 当たりの量は一定量以下に管理され、大腸菌由来の DNA については、WHO Technical Report Series 814 において推奨されている 1 日の投与量当たりの DNA 量上限である 10 ng と比べて極めて少量であった。(参照 1、6) これらのことから、遺伝子組換えによる懸念は無視できる程度と考えられる。

(4) 抗原性について

ペグボビグラスチムを用いた抗原性試験は、実施されていない。

bG-CSF によるヒトのアレルギー誘発性の有無を確認するため、2 種類のアレルゲンデータベースを用いて、bG-CSF のアミノ酸配列において、ヒトで既知のアレルゲンのアミノ酸配列と一致するものがないか検索を行った。その結果、bG-CSF はヒトにアレルギーを誘発するものではないと考えられた。(参照 1)

一方、ペグボビグラスチムと内因性の bG-CSF とのアミノ酸配列の違いは、N 末端のメチオニン保持及び 133 位¹⁶のアミノ酸の置換のみであり、相同性が高い(98%超)ことから、抗原性を誘起する可能性は低いことが考えられる。

rhG-CSF (レノグラスチム) を免疫補助剤と一緒にマウス又はモルモットに感作すると抗体産生がみられたが、レノグラスチム単独の感作では抗体産生がみられなかった。また、タンパク質をペグ化することにより免疫原性を低下させるという報告もある。(参照 1) これらのことから、ペグボビグラスチムを牛に投与した場合の抗原性は低いと考えられる。

(5) ペグボビグラスチムの胃液中での分解性 (*in vitro*)

ペグボビグラスチムを人工胃液中に 2.0 mg/mL の割合で溶解し、37°C で 0、0.5、1、2、4 及び 8 時間反応させた。各時点における人工胃液中のペグボビグラスチムを高速液体クロマトグラフィー (HPLC) により分析し、ペプシン、賦形剤、ペプシンの分解物等について確認した。対照群には、人工胃液のみを 0 及び 8 時間反応させたものを用いた。

その結果、ペグボビグラスチムの保持時間に相当する位置のピークはみられず、その近傍に僅かなピークがみられるのみであったことから、大部分はペプチド鎖及び PEG に分解され、アミノ酸配列が一部切れた分解物が残ったと考えられた。したがって、ペグボビグラスチムは、人工胃液中では 30 分以内に分解されると考えられた。

(参照 1)

¹⁶ N 末端のメチオニンを 0 位として記述。

(6) PEG の毒性について

FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議 (JECFA) の第 23 回会合 (1979 年) において、PEG は溶媒又は賦形剤として評価されている。PEG の毒性は分子量に反比例し、消化管における吸収は分子量が大きいほど低下するとされた。分子量 10,000 以下の PEG を用いた種々の試験が実施され、無毒性量 (NOAEL) はラットの混餌投与試験における 1,000 mg/kg 体重 (混餌濃度 2%) と考えられ、一日摂取許容量 (ADI) は 10 mg/kg 体重/日と設定された。(参照 1、7、8)

また、EMA でも 1994 年に動物用医薬品として評価され、JECFA の評価を支持し、同様に 10 mg/kg 体重/日の ADI が設定された。(参照 9)

6. 微生物学的影響に関する試験

各種病原性細菌に対する bG-CSF の最小発育阻止濃度 (MIC) を測定し、結果を表 10 に示した。その結果、グラム陽性及び陰性の各種細菌に対し、bG-CSF は全く抗菌活性を示さなかった。(参照 1)

表 10 bG-CSF の各種細菌に対する抗菌活性

菌名	株数	MIC ₉₀ (µg/mL)
<i>Escherichia coli</i>	11	>64
<i>Streptococcus uberis</i>	3	>64
<i>Staphylococcus aureus</i>	3	>64
<i>Mannheimia haemolytica</i>	38	>64
<i>Pasteurella multocida</i>	53	>64
<i>Histophilus somni</i>	14	>64
<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	13	>64
<i>Streptococcus suis</i>	4	>64
<i>Salmonella choleraesuis</i>	4	>64
<i>Salmonella typhimurium</i>	6	>64

ペグボビグラスチムは抗菌活性を欠くことから、EMA は、ペグボビグラスチムの異なる特性に係る知見の提出は不要としている。(参照 2)

7. ヒトにおける知見 (rhG-CSF 及び PEG rhG-CSF)

ペグボビグラスチムのヒトにおける知見は、得られていない。

rhG-CSF 又は PEG rhG-CSF を含有するヒト用医薬品の注射剤による骨髄抑制化学療法を受けている患者において、皮下投与後に最も高頻度に観察された副作用は、一過性の骨痛であった。一部の患者では、手足の疼痛が報告された。他の副作用としては、脾臓破裂、急性呼吸促進症候群、アナフィラキシーを含むアレルギー反応及び鎌状赤血球貧血患者における重篤な鎌状赤血球クリーゼが報告された。これらの副作用は、骨髄抑制化学療法時に支持療法として rhG-CSF の注射剤を投与された患者で発生した。(参照 2)

8. 安全性試験

(1) 安全性試験（牛）①<参考資料¹⁷>

周産期の牛（ジャージー種、1歳7か月～8歳4か月齢、経産又は未経産牛各4頭/群）にペグボビグラスチムを分娩予定日の7及び3日前並びに分娩後24時間以内に計3回皮下投与〔0（生理食塩水）、15、30又は45 mg/頭/日〕し、安全性試験が実施された。母動物については分娩4日後に、児動物については生後14日間、評価を実施した。

死亡例はなく、一般状態（直腸温、呼吸数、心拍数、毛細血管再充満時間及び臨床所見等）、摂餌量、飲水量等に投与による影響はみられなかった。

血液学的検査では、対照群と比較して、WBC、好中球の絶対数及び百分率、桿状核球の絶対数及び百分率、後骨髄球の絶対数及び百分率並びに骨髄球の絶対数及び百分率の上昇がみられたが、これらはペグボビグラスチムの作用機序と一致するものであり、有害影響とはみなされなかった。

血漿の凝固能、血液生化学的検査、尿検査、乳汁中体細胞数及び剖検所見に投与による影響はみられなかった。

脾臓の絶対及び相対重量が増加したが、脾臓の髄外造血に関連した変化と考えられ、ペグボビグラスチムの作用機序と一致するものであり、有害影響とはみなされなかった。

病理組織学的検査では、骨髄及び髄外（脾臓、リンパ節及び乳腺）における顆粒球血液細胞の産生増大がみられたのみであった。30 mg/頭/日以上投与群で、乳腺の炎症（乳房炎）、子宮の炎症（子宮炎）及び第四胃の潰瘍やびらんを呈した症例数の増加並びにこれらの疾患の重篤度の上昇がみられる傾向にあったが、これらは周産期の移行期疾病（乳房炎及び子宮炎）に伴うストレスに関連する二次的なものであると考えられた。

児動物については、一般状態及び血液学的検査において、投与による影響はみられなかった。

以上から、15 mg/頭/日のペグボビグラスチムを分娩予定日の7日前及び分娩後24時間以内に皮下投与した際の牛（母牛及び子牛）の安全性が示された。（参照1）

(2) 安全性試験（牛）②<参考資料¹⁸>

乳牛（ホルスタイン種、3～5歳齢、49～53頭/群）にペグボビグラスチムを皮下投与し、臨床的な安全性について検討された。投与後の泌乳期における乳量、乳質パラメーター、乳組成、分娩後の初回受精における受胎率、胎児の子宮内における生存能力、生産児数及び被験物質の初回投与からの妊娠期間について評価した。試験群の設定の概要を表11に示した。また、被験動物には分娩約45日後に人工授精を行い、授精30日後に初回受胎率の評価が行われた。

¹⁷ 牛に対する安全性試験であることから、参考資料とした。

¹⁸ 牛に対する安全性試験であることから、参考資料とした。

表 11 本試験における試験群の設定の概要

試験群	動物数 (頭)	投与物質	投与量 ($\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/ 日)	投与方法
陰性対照	50	生理食塩水	—	2回投与 (分娩7日前及び分娩日)
陽性対照	49	rbG-CSF (ボビ グラスチム)	3	14日間投与 (分娩7日前～分娩6日後、 1日1回)
被験物質 投与	50	pegボビグラス チム	20	2回投与 (分娩7日前及び分娩日)
	53		40	2回投与 (分娩7日前及び分娩日)

陽性対照群及び 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日投与群の乳量は陰性対照群と同程度であったが、40 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日投与群の泌乳開始後 28 日間の乳量は低下した。この影響は、免疫応答の刺激による乳汁生産から免疫へのエネルギーの転用によるものと考えられた。

乳組成については、乳タンパク、乳固形分及び乳糖の含有率に群間で差はなかったが、乳脂肪含有率は 40 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日投与群で他の群より有意に高かった。乳汁中の体細胞数は、群間で差はみられなかった。

繁殖成績については、40 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日投与群で陰性対照群と比較して妊娠期間が 1 日短くなったが、生産児数に差はなかった。初回受胎率は、陰性対照群、陽性対照群、20 及び 40 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日投与群でそれぞれ 29%、39%、39%及び 33%であり、投与による影響はみられなかった。

児動物の出生後 30 日間の健康状態の観察から、投与による子宮内の胎児への影響もみられなかった。

以上から、20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日の pegボビグラスチムの投与では、投与による異常はみられなかったと判断された。(参照 1)

III. 国際機関等における評価

1. EMA における評価

EMA は、2012 年にペグボビグラスチムの評価を行っている。

EMA は、ラットを用いた薬物動態試験でペグボビグラスチムの経口投与によるバイオアベイラビリティが 0.08% であり、無視できる程度であることから、ペグボビグラスチムを投与された動物由来の食品における残留がヒトに対するリスクとはなり得ず、毒性試験及び ADI の設定はいずれも不要であるとしている。また、ペグボビグラスチムは、抗菌活性を欠くことから、微生物学的 ADI も設定する必要はないとしている。(参照 2)

2. FDA における評価

米国食品医薬品庁 (FDA) は、2012 年にペグボビグラスチムの評価を行っている。

ペグボビグラスチム製剤に関して提出された資料により、ペグボビグラスチムの ADI は設定されず、乳及び組織における残留基準の設定は不要であるとされた。(参照 1)

IV. 食品健康影響評価

ペグボビグラスチムは、遺伝子組換え大腸菌により生産された rbG-CSF をペグ化したものである。rbG-CSF は、175 のアミノ酸から成るタンパク質で、内因性の天然型 bG-CSF の一次配列とほぼ同一であり、ペグボビグラスチムは rbG-CSF をペグ化することにより、タンパク質の分子量が大きくなっている。

ラットを用いた薬物動態及び薬力学試験において、ペグボビグラスチムの経口投与による（皮下投与に対する相対的な）バイオアベイラビリティは、ECL イムノアッセイの定量限界値を用いて算出したとしても 0.08%以下であり、無視できる程度であった。また、ラット及び牛を用いた薬力学試験において、皮下投与では好中球数の増加がみられたものの、強制経口投与では有意な増加はみられなかった。

ペグボビグラスチムを用いた各種毒性試験は実施されていないが、フィルグラスチムを用いた遺伝毒性試験において、全て陰性の結果が示されており、また、ペグボビグラスチムは消化管内で分解され、そのバイオアベイラビリティも低いことから、ペグボビグラスチムについては、*in vivo* での遺伝毒性の懸念は低く、生体にとって特段問題となる遺伝毒性を示さないと判断した。

ペグボビグラスチムを用いた残留試験は、実施されていない。また、フィルグラスチムを用いた亜急性毒性試験及び生殖発生毒性試験の結果が報告されているが、いずれも経口投与で実施されていない。しかし、人工胃液を用いた分解試験において、ペグボビグラスチムは、人工胃液中で 30 分以内に消化、分解されることが示された。したがって、ヒトが食品を介してペグボビグラスチムを経口摂取しても、ペグボビグラスチムはヒトの胃内で短時間で分解されることから、ペグボビグラスチムの牛への投与による食品を介したばく露による影響は無視できる程度と考えられ、毒性学的及び薬理学的影響を考慮する必要はないと考えた。

以上から、食品安全委員会は、ペグボビグラスチムについては、ADI を特定する必要はないと判断した。

<別紙：検査値等略称>

略称等	名称
ADI	一日摂取許容量
ALP	アルカリホスファターゼ
AUC	薬物濃度曲線下面積
C _{max}	最高濃度
ECL	電気化学発光
EM(E)A	欧州医薬品（審査）庁
FDA	米国食品医薬品庁
JECFA	FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議
LD ₅₀	半数致死量
MCH	平均赤血球血色素量
MCV	平均赤血球容積
MIC	最小発育阻止濃度
MRT	平均滞留時間
PEG	ポリエチレングリコール
T _{1/2}	消失半減期
TCA	トリクロロ酢酸
Vd	分布容積
WBC	白血球数

<参照>

1. 日本イーライリリー株式会社. ペグボビグラスチム残留基準値（インポートトレランス）設定のための資料(1)、(2)（非公表）
2. EMA: Pegylated bovine granulocyte colony stimulating factor (PEGbG-CSF) (bovine species). European public MRL assessment report (EPMAR), 2012
3. 中外製薬株式会社. 医薬品添付文書「レノグラスチム（遺伝子組換え）製剤 ノイトロジン®注 50µg、ノイトロジン®注 100µg、ノイトロジン®注 250µg」2014年6月改訂第21版
4. 協和発酵キリン株式会社. 医薬品添付文書「フィルグラスチム（遺伝子組換え）注射液 グラン®注射液 75、グラン®シリンジ 75、グラン®注射液 150、グラン®シリンジ 150、グラン®注射液 M300、グラン®シリンジ M300」2016年2月改訂第21版
5. 株式会社ヤクルト本社. 医薬品添付文書「注射用ナルトグラスチム（遺伝子組換え）ノイアアップ®注 25、ノイアアップ®注 50、ノイアアップ®注 100、ノイアアップ®注 250」2015年5月改訂第13版
6. WHO: Guidelines on the quality, safety, and efficacy of biotherapeutic protein products prepared by recombinant DNA technology. Replacement of Annex 3 of WHO Technical Report Series, No.814, 2013
7. JECFA: Toxicological evaluation of certain food additives. WHO Food Additives Series No. 14, 1979
8. JECFA: Evaluation of certain food additives. WHO Technical Report Series No. 648, 1980
9. EMEA: Committee for Veterinary Medicinal Products “POLYETHYLENE GLYCOLS” Summary Report. EMEA/MRL/034/95

動物用医薬品「ペグボビグラスチム」に係る評価書の変更点

修正箇所	変更前	変更後
P4 L20	したがって、ヒトが食品を介してペグボビグラスチムを経口摂取しても、ペグボビグラスチムはヒトの胃内で短時間で分解されることから、ペグボビグラスチムの経口投与による食品を介したばく露による影響は無視できると考えられ、毒性学的及び薬理学的影響を考慮する必要はないと考えた。	したがって、ヒトが食品を介してペグボビグラスチムを経口摂取しても、ペグボビグラスチムはヒトの胃内で短時間で分解されることから、ペグボビグラスチムの <u>経口牛への</u> 投与による食品を介したばく露による影響は無視できる <u>程度</u> と考えられ、毒性学的及び薬理学的影響を考慮する必要はないと考えた。
P8 注釈 5	(記載なし)	<u>本評価書において、原則として実験動物種及び人はカタカナ、評価対象動物用医薬品の使用対象となる動物等は漢字又はひらがなで記載する。</u>
P20 L10	これらのことから、遺伝子組換えによる懸念は無視できると考えられる。	これらのことから、遺伝子組換えによる懸念は無視できる <u>程度</u> と考えられる。
P22 L2	ペグボビグラスチムを分娩予定日の 7、3 日前及び分娩後 24 時間以内に	ペグボビグラスチムを分娩予定日の 7 <u>及び</u> 3 日前 <u>及び並びに</u> 分娩後 24 時間以内に
P25 L19	したがって、ヒトが食品を介してペグボビグラスチムを経口摂取しても、ペグボビグラスチムはヒトの胃内で短時間で分解されることから、ペグボビグラスチムの経口投与による食品を介したばく露による影響は無視できると考えられ、毒性学的及び薬理学的影響を考慮する必要はないと考えた。	したがって、ヒトが食品を介してペグボビグラスチムを経口摂取しても、ペグボビグラスチムはヒトの胃内で短時間で分解されることから、ペグボビグラスチムの <u>経口牛への</u> 投与による食品を介したばく露による影響は無視できる <u>程度</u> と考えられ、毒性学的及び薬理学的影響を考慮する必要はないと考えた。

※ P ; ページ数、L ; 当該ページの上から数えた行数