

造される医薬品の承認申請に必要な添付資料の作成について」、昭和 63 年 6 月 6 日：薬審 1 第 10 号「細胞培養技術を応用して製造される医薬品の承認申請に必要な添付資料の作成について」の中にすでに言及され、さらに 1992 年に作成され内示された薬審 243 号改訂版において、製造方法の変更の申請時に必要とされる資料に関する記載が具体的に示されている。それによると、

- (1) 既承認の医薬品と目的産物の構造遺伝子の入手方法が異なる組換え医薬品
- (2) 既承認の医薬品と製造に用いる宿主・ベクター（発現ベクターも含む）系が異なる組換え医薬品
- (3) 既承認の医薬品と製造に用いる培養の方法が異なる組換え医薬品
- (4) 既承認の医薬品と精製方法が異なる組換え医薬品

に相当する変更の場合、その変更の範囲、当該医薬品の種類、特性や臨床適用法等を勘案して科学的に適切で合理的な追加試験の範囲及び程度をケースバイケースで定め、資料を提出すること。その場合、以下の(1)に掲げる資料のほか、例えば(2)～(5)に掲げる資料等の作成と提出を考慮すること。

- (1) 製造方法、構造決定及び物理化学的性質等並びに規格及び試験方法等に関する資料
- (2) 安定性に関する試験成績（既承認医薬品との比較）
- (3) 毒性試験のうち単回投与毒性試験（1種の動物、抗原性試験及び発熱性物質試験成績（原体を用いて既承認医薬品との比較）
- (4) 生物学的同等性に関する資料
- (5) 安全性等を確認する目的で詳細な検討がなされた臨床試験成績

とされている。

このような基準で、製造方法の変更に際する評価を行ってきたが、同等性／同質性評価が最近 ICH のバイオ医薬品のトピックとして取り上げられ、我が国でも同等性／同質性評価をどのように捉え、どのように対応すべきか、より具体的に整理する必要が生じてきた。そこで、欧米のガイドラインを取り巻く状況を踏まえた上で、我が国における製造方法の変更に伴う製品の同等性／同質性評価における要件の整理を試みた。

1) タンパク質性生物薬品において同等性／同質性が問題になるステージ

タンパク質性生物薬品における同等性／同質性が問題になるステージは 1) 研究開発段階における様々な製法変更時、2) 承認後の製法等一部変更時、3) 後発品としての開発時（いわゆる Generic Biologicals）などである。

問題の焦点は「旧製法による製品で得られた非臨

床および臨床データが、新製法による製品にどれだけ適用できるか」、「新製法による製品に必要なデータにはどのようなものがあるか」ということである。

2) タンパク質性生物薬品における同等性／同質性を確立するための戦略

異なった製造方法によるバイオ医薬品の同等性／同質性の評価は、合理的にステップバイステップに行うべきである。その際（1）理化学的・生物学的特性解析、（2）不純物プロファイルおよび混入物質の存在の評価、（3）バッチ毎の分析、（4）製品の安定性、（5）製造工程の評価／検証、（6）より広い意味での非臨床、臨床研究、が重要なパラメータとなる。

3) 製品の特性からの評価

(3-1) 製品の同等性／同質性評価の第一段階

タンパク質性生物薬品において同等性／同質性を論じる際の第一歩は、新旧製品が、分子特性および品質特性からみて同質、同等であるかという点である。新旧製品の間で、分子特性、品質特性で同等でないのなら、新製品は新医薬品としての評価をうけるべきである。

(3-2) 新旧製品の分子特性、品質特性の同等性／同質性評価にあたって考慮すべき要件

タンパク質性生物薬品の有効成分の多くは、分子多様性を有している。そのような医薬品の分子特性、品質特性の同等性／同質性評価は、いかに行うべきであろうか。この点については ICH Q6B ガイドラインにおける有効成分の考え方をあてはめて、評価することが適切と考えられる。即ち、「目的物質」、「目的物質関連物質」、さらには「不純物（製造工程由来不純物と目的物質由来不純物）」に分類しながら、それぞれ比較することが合理的である。

(3-3) タンパク質性生物薬品において同等性／同質性を論ずる前提として目的物質のタイプ毎に充たされるべき条件

それぞれの製品について同等性／同質性の議論をするとき、そもそも新しく得られた目的物質において、旧目的物質との分子特性及び品質特性に関する同等性／同質性が充たされなければ話の前提が成り立たない。したがって、どのような条件が充たされれば、その後の同等性／同質性の議論に入ることができるのかを明らかにしておくことが必要である。以下に各タイプ（A-D）の「目的物質」毎にまとめた。

(A) 予期した構造を有するタンパク質（例：モノクローナル抗体）における同等性／同質性

モノクローナル抗体の場合は、本来、単一クローンの抗体産生細胞が産生する抗体で一次構造が均一（クラス、サブクラス、アロタイプ、L鎖の型、イディオタイプなどの点で均一）であるものを指す。したがって、産生クローンが同一でない限り同一の一次構造をもつ抗体分子は得られない。このことは、

種細胞株 (MCB) が異なれば同等性/同質性を論ずる前提は成り立たないことを意味している。これに対して、種細胞株 (MCB) は同一であるが、細胞の培養条件の変更等により糖鎖構造において異なる新規抗体が同等/同質な候補物質足りうるか否かについては、ケース・バイ・ケースで考える必要がある。なお、目的モノクローナル抗体の製造を (一部) 遺伝子組換え技術による場合は、組換え糖タンパク質に準じて対処する必要がある。

種細胞株 (MCB) 以降の製法を変更した場合、新規抗体が同等/同質の候補物質足りうる前提となる資格条件として同等性を立証すべき分子特性及び品質特性の項目例としては、1) 化学構造 (ペプチドマッピング等)、物理的・化学的性質、2) 免疫化学的性質 (アフィニティー、アビディティー、免疫反応性等)、3) 標的抗原特異性、類似抗原に対する交叉反応性、組織学的結合性等が考えられる。さらに、4) 有害因子、不純物問題をクリアすべきことが必須条件である。

#### (B) DNA 塩基配列から期待されるタンパク質における同等性/同質性

DNA 塩基配列から期待されるタンパク質の「目的物質」の典型は、ヒト成長ホルモンやインスリン等の単純タンパク質である。このカテゴリーに分類される「目的物質」における同等性/同質性を論ずる前提は、新旧製品の 1) 一次構造の同一性 (アミノ酸配列)、2) 物理的・化学的性質の同一性、3) 生物学的性質、特に活性高次構造を保証する生物学的性質: 臨床上的効能・効果と密接に関連した生物学的性質の同等性/同質性にある。さらに、4) 有害因子、不純物問題をクリアする必要がある。

#### (C) しかるべき翻訳後修飾 (グリコフォームを含む) から期待されるタンパク質における同等性/同質性

このカテゴリーに属する「目的物質」の典型的な例は糖タンパク質である。このグループの新旧製品の同等性/同質性を論ずる際の前提として「目的物質」において充たされるべき条件は、新旧製品の 1) 種細胞株 (MCB) が同一、2) タンパク質部分の一次構造の同一性 (アミノ酸配列)、3) 物理的・化学的性質の同等性/同質性、4) シアル酸、分岐鎖等に関する糖鎖パターンの同等性/同質性 (IEF、CE、FACE 等)、5) 生物学的性質、特に活性高次構造を保証する生物学的性質: 臨床上的効能・効果と密接に関連した生物学的性質の同等性/同質性、であると考えられる。これに加えて、6) 有害因子、不純物問題をクリアする必要がある。

#### (D) 生物活性分子を生産するのに必要な、意図的な加工・修飾操作から期待されるタンパク質 (例: 不活性前駆体→目的活性タンパク質) における同等性/同質性

本カテゴリーに該当する製品の場合、「目的物質」が、DNA 塩基配列から期待されるタンパク質 (例:

単純タンパク質) に相当するものか、しかるべき翻訳後修飾 (グリコフォームを含む) から期待されるタンパク質に相当するものかに応じて、上記 A-C のケースの留意事項を参考に対処するとよいと思われる。

#### (3-4) タンパク質性生物薬品における同等性/同質性を本格的に論ずるための構造、特性解析

これまで検討してきたのは、同等性/同質性を論じることができる前提、予備調査のようなものであった。これらがクリアされてはじめて、同等性/同質性を本格的に論じることができる。同等性/同質性を論じる必要性のあるステージとは、開発を進捗させていく中で製法変更を行うステージ、また新しい製法による製品が承認審査を受け、承認後は市場にでる可能性があるというステージ、あるいは、既存の市販品に対して異なる製法で得た製品の同等性/同質性を主張しようとするステージなどである。既に述べたように、新製品と旧製品との分子特性や品質特性上の同等性/同質性については、旧法での製品を研究開発段階で解析したのと全く同程度の解析を、それぞれの項目について行い、評価する必要がある。例えば、糖鎖の構造解析に関しては、以下に示すような手法で徹底して解析する必要がある。

- (1) 各種単糖分析 (化学分析、ガスクロマトグラフィ、蛍光標識-HPLC、強アニオン交換 HPLC など)、
- (2) 糖鎖マッピングや 2 次元または 3 次元糖鎖マッピング (例えば、蛍光体支援糖質電気泳動法 (FACE 法)、キャピラリー電気泳動法 (CE)、ピリジルアミノ (PA) 標識糖鎖 HPLC などによる)、
- (3) 糖鎖構造解析: ① 各種修飾・分解 (逐次酵素分解、メチル化、アセトリシス)、② 分離 (GC, HPLC) と各種解析法

(MS: FAB/MS, ESI/MS, MALDI-TOF/MS; NMR など) の組み合わせ。タンパク質部分については、(1) アミノ酸組成分析、(2) 末端アミノ酸及び末端アミノ酸配列分析、(3) スルフヒドリル基とジスルフィド結合の数と位置の解析、(4) ペプチド分析、(5) 全アミノ酸配列分析、(6) 高次構造解析などの構造や組成の解析をはじめ、理化学的性質、生物学的性質等についても技術的に可能な範囲で徹底して解析し、新旧の「目的物質」の分子特性や品質特性における異同を明確にする必要がある。新規製品におけるこの分子特性や品質特性の解析の程度や旧製品との異同の程度が、総合的な同等性/同質性を最終的に立証するための決定的な要素の 1 つであるとともに、分子特性や品質特性以外にさらにどのような試験を実施すべきかを考えるための不可欠な要素ともなる。

新規製品においてはこうした分子特性や品質特性解析等、製品そのものに焦点をあてた検討に加えて、新規の製造方法について、目的物質の恒常的生産や製品に混入する可能性がある不純物や混入汚染物質のクリアランスに関しても旧法と同等もしくはそれ以上の能力を有することを立証するための試験を実施する必要がある。

さらに、状況に応じて、適切な非臨床試験、あるいは臨床試験による同等性/同質性の検討が必要に

なってくる。

#### 4) 製造工程からの評価

##### (4-1) 同等性/同質性を確立するための製造工程の評価

同等性/同質性評価を確立するためのもうひとつの要件として、製造工程が目的活性物質を安定的に製造可能であること、さらには不純物や混入物を除去できることに関する評価/検証がある。

製造方法の変更の可能性は、さまざまな工程で考えられるが、そのうち主なものには以下のような工程が挙げられる。すなわち、(1)クローン細胞株(種細胞株)、MCB、WCBなどを含む細胞基材の調製方法の変更、(2)細胞の培養方法の変更、(3)製品の分離・精製方法の変更、(4)製品の製剤化方法の変更などである。

遺伝子発現系、細胞基材の調製、細胞基材のバンク化、細胞の培養方法、分離・精製工程、保存条件その他などの評価法については、ICH ガイドライン:「遺伝子の安定性」、「細胞基材」、「ウイルス安全性」、「製品の安定性」、「特性解析、規格及び試験方法」のうち関連するものを単独で、あるいは相互補完的に参照、活用するとよい。

##### (4-2) 製造工程の変更と変更内容や変更の程度に応じたプロセス評価/検証及び判定基準

変更がどのようなものであれ、それが製品の恒常的生産や、同一性、純度、有効性、安全性などに直接、間接にどのような影響を及ぼすかを考察し、必要に応じて、変更後の製造工程を改めて評価あるいは検証する必要がある。どのような評価/検証や判定基準が適切かは変更の内容や程度に応じて異なる。

製造工程の評価/検証の結果によっては、関連する工程内管理の規格値/適否の判定基準、あるいは中間体の規格の変更が必要となる場合もある。

#### 5) 同等性/同質性に関する非臨床試験及び臨床試験の程度や内容の決定に影響する諸要素

同等性/同質性に関する非臨床試験及び臨床試験の程度や内容は以下に示すようなさまざまな要素を考慮してケース・バイ・ケースで決定していく必要がある。すなわち、(1)製品の種類、(2)目的とする臨床適用法、(3)新規製品が分子特性及び不純物プロフィールを含む品質特性において旧製品と同等・同質である程度、(4)製造工程変更の内容と程度、(5)新規製造工程に関するプロセス評価・検証結果(関連する工程内管理試験の結果を含む)、(6)同等性/同質性試験に用いた試験方法の解析能と限界、(7)(新旧)製品についての既存の非臨床/臨床データの入手可能性、(8)当該製品に関する既存の情報や経験の程度、(9)製品の開発段階、などが考慮すべき諸要素の例である。

#### 6) 製法等変更にあたって必要な資料

製法等の変更にあたってどのようなデータを具体的に提出すべきかは、国内外でも十分な議論がなさ

れていない。どの程度のデータが必要かは、1)項や5)項で示したような諸要素を勘案して決めることになる。同等性/同質性が問題になるステージは、(1)研究開発途上におけるさまざまな製法変更時、(2)承認後の製法等一部変更時、(3)後発品としての開発時などである。これらのステージ毎に必要なデータの程度は異なる。また、製品のもともとの開発者である先発メーカーが製法を変更しようとする場合と、後発メーカーが後発品を開発するという局面での製法変更では整備しなければならないデータの内容や程度は自ずと異なる。先発メーカーは当該製品に関して膨大なデータを蓄積し、豊富な経験を有し、それをバックにして同等性/同質性を論ずることが可能なのに対して、後発メーカーは改めて膨大なデータの整備を必要とするからである。

##### (6-1) 製法変更にあたって必要な資料: 先発メーカーが開発途上で製法を一部変更する場合

先発メーカーが開発途上で製法を変更するケースについて、わが国では従来、これに関わる資料の提出はとくに義務づけられてこなかった。これは、申請されてきた製造方法による製品が市販を目指すものである、これを直接の承認審査の対象とすることで十分であるということからであった。開発途上での製法変更は、専ら開発メーカーが内部的に処理していくものであり、さまざまな経緯はあったとしても、最終的にメーカーが採択し、承認以降にも用いるものとして申請された製造方法を、承認審査上は評価することでよいという認識であった。もっとも、開発途上で、申請時と異なる製造方法で製造した製品を用いて得たデータが重要なものであり、開発者がこれを申請資料として利用したいとする場合には、申請資料においてその経緯を説明し、妥当性を示すことで、審査の対象資料とするという取り扱いもなされてきてはいる。こうした中で、最近、国際調和に達したCTD-Qでは、承認申請資料として提出したデータの作成(例えば非臨床試験データや臨床試験データの作成)に用いた原薬や製剤のロットに関わる製造変更は、申請資料中で明らかにするよう強調している。そして、この製法変更が原薬や製剤の品質にどのような影響を与える可能性があるかを評価すべきこと、重大と思われる製法変更については適切な原薬あるいは製剤のロットを用いた比較試験を行い、そのデータを提出するとともに、原薬や製剤の品質への影響を明らかにする必要があるとしている。今後は、こうした方針に沿って、開発途上での重大な製法変更に関わる資料の整備と評価が行われていくことになると考えられる。

##### (6-2) 製法変更にあたって必要な資料: 先発メーカーが既承認品の製法を一部変更する場合

先発メーカーが既承認品の製法を一部変更する場合に必要な資料と考えられるものを列挙した。しかしこれは、とりあえず全ての項目を網羅的に示したということであり、必ずしもこれらが全て必要であるという訳ではなく、また、これに限られるという

ことでもない。

- (1)製造方法、構造決定及び物理的・化学的性質並びに規格及び試験方法等に関する資料
- (2)安定性に関する試験成績（既承認医薬品との比較）
- (3)毒性試験のうち1種類の実験動物による単回投与毒性試験及びその他必要な試験成績（例：原体を用いて既承認医薬品との比較による抗原性試験及び発熱性物質試験成績等）
- (4)生物学的同等性に関する資料
- (5)安全性を確認する目的の臨床試験成績
- (6)新規製造工程が一定品質の製品を恒常的に製造でき、不純物や混入汚染物質を排除できる能力に関するプロセス評価／検証試験成績

これらの項目のうち、既に述べたように、製法、構造決定及び物性等に関するデータは、あらゆるものの前提なので必須であるが、その他の資料については、当該医薬品の種類、特性、製造方法の変更の程度、品質、臨床目的・適用法等を勘案して、科学的に適切で合理的な追加試験の範囲及び程度をケース・バイ・ケースで考える必要がある。この際、学問的に確立または立証されていると考えられる事項については、文献や自家データ等を適切に引用し、評価結果を明らかにすることにより、当該試験の実施を省略することができる。

例えば、製品の特性が既に十分解析されており、使用経験も豊富で、かつその *in vivo* 生物活性が臨床上期待される効能・効果と密接な関連を持つというような場合には、抗原性試験や生物学的同等性、あるいは有効成分の安全性や有効性を立証するための臨床試験の実施は必ずしも必要ではないと思われる。なおこれは、原薬の製造工程変更についてであって、製剤化の過程を変更したような場合には、生物学的同等性を含む、品質や有効性に関する検討が必要である。いずれにしても必要資料の取捨選択及び試験の範囲やその種類、項目及び試験方法の選択に際しては、その合理的根拠について十分説明できる必要がある。

(6-3) 製法変更にあたって必要な資料：後発メーカーが後発品を製造する場合

後発メーカーが後発品を製造使用とする場合に必要資料と考えられるものを列挙した。

- (1)製造方法、構造決定及び物理的・化学的性質並びに規格及び試験方法等に関する資料
- (2)安定性に関する試験成績（長期保存試験成績）
- (3)毒性試験のうち単回投与毒性試験及びその他必要な試験成績
- (4)薬理作用のうち効力を裏付ける試験成績
- (5)生物学的同等性に関する資料
- (6)効能及び安全性を確認する臨床試験成績
- (7)混入の可能性がある不純物や汚染物質に関する評価資料及びこれらが製品の品質、安全性、有効

性に及ぼす影響に関する評価資料

- (8)新規製造工程が一定品質の製品を恒常的に製造でき、不純物や混入汚染物質を排除できる能力に関するプロセス評価／検証試験成績

この場合にあっても、①当該医薬品の種類、特性、製造方法、品質、臨床目的・適用法等を勘案して、科学的に適切で合理的な追加試験の範囲及び程度をケース・バイ・ケースで定めること、②学問的に確立または立証されていると考えられる事項については、文献等を適切に引用し、評価結果を明らかにすることにより、当該試験の実施を省略できること、③必要資料の取捨選択及び試験の範囲やその種類、項目及び試験方法の選択に際しては、その合理的根拠について十分説明できること、という原則に変わりはない。しかし、先発メーカーにおける製法変更と比較してより多くの資料の整備が必要となることは否めない。なお、先発メーカーにより既承認品と同一の細胞基材や原薬が供給されるという状況を除き、モノクローナル抗体や糖タンパク質製剤の後発品の開発は事実上できないか、きわめて困難であると考えられる。

#### 4. バイオテクノロジー応用医薬品の同等性、同質性評価法としてのLC/MSを用いた糖鎖マッピング法及び糖ペプチドマッピング法の有用性評価

バイオテクノロジー応用医薬品の製造方法は、製造技術の進展に併せて、科学的、実用的、または経済的な理由により、研究開発段階や承認後等の様々な段階において、しばしば変更・改良が試みられている。糖タンパク質性医薬品における製造方法の変更は、糖鎖部分の構造や分布に影響を及ぼすことが知られており、この糖鎖構造と分布の変化は、生物活性、体内動態、溶解性、及び安定性に変化をもたらすことが予想される。従って、製法変更等によって生じる新旧糖タンパク質性医薬品の糖鎖部分の同等性／同質性(comparability)を評価することは非常に重要である。しかし、糖鎖部分には、単糖組成、分岐構造、結合様式、及び硫酸基やアセチル基などによる修飾等の違いによって生じる不均一性が存在し、糖鎖構造の類似した新旧糖タンパク質間の糖鎖部分の特性を迅速かつ簡便に比較することは容易ではない。製法変更時の同等性／同質性評価において、糖鎖の複雑な構造と不均一性をいかに迅速かつ簡便に解析するかが国際的な大きな課題となっている。

これまでに我々は、液体クロマトグラフィー質量分析法(LC/MS)を用いた糖鎖マッピングによる糖タンパク質の糖鎖の構造、及び不均一性解析法、並びに、LC/MSを用いた糖ペプチドマッピングによる部位特異的糖鎖不均一性解析法を開発し、遺伝子組換え型ヒトエリスロポエチン(EPO)等の糖タンパク質糖鎖の解析に有用であることを示してきた。これらの分析法は、糖鎖の誘導體化、及び精製過程を必要とせず、簡便かつ迅速に糖鎖構造と不均一性を詳細に解析できることから、製法変更に伴う糖鎖の構造

や不均一性の変化の解析にも応用できるものと期待される。

本研究は、国際的な重要課題となっているバイオテクノロジー応用医薬品、特に糖タンパク質性医薬品の同等性/同質性評価における、LC/MSを用いた糖鎖マッピング及び糖ペプチドマッピングの有用性評価を目的としている。本年度は、起源の異なる3種類の組換え型ヒトエリスロポエチン(EPO)を類似糖タンパク質のモデルとして糖鎖マッピング及び糖ペプチドマッピングを行い、両分析法が3種のEPO間の糖鎖の構造と不均一性の差異をどれだけ識別できるかを試験することによって、同等性/同質性評価としての有用性を評価した。

#### 4.1 糖鎖マッピング

##### 1) シアロ糖鎖の糖鎖マッピング

発現細胞の異なる3種類のEPOからNグリカナーゼFを用いて糖鎖を切り出し、NaBH<sub>4</sub>で還元して糖アルコールとした後、グラファイトカーボンカラムを用いたLC/MSによって糖鎖マッピングを行った。Fig.11は、3種のEPOの糖鎖マップである。

まず、EPO-Aで検出された主なピークについて、マススペクトルを基に糖鎖構造をアサインした結果、フコースが結合したジシアロ2本鎖 (BiNA<sub>2</sub>)、トリシアロ3本鎖 (TriNA<sub>3</sub>)、トリシアロ4本鎖 (TetraNA<sub>3</sub>)、テトラシアロ4本鎖糖鎖 (TetraNA<sub>4</sub>)、並びにラクトサミン1分子結合フコシルテトラシアロ4本鎖 (TetraLac<sub>1</sub>NA<sub>4</sub>)、及びラクトサミン2分子結合フコシルテトラシアロ4本鎖 (TetraLac<sub>2</sub>NA<sub>4</sub>)糖鎖が結合していることが確認された。

つぎに、EPO-Bの糖鎖マップをEPO-Aの糖鎖マップと比較したところ、EPO-Bからは、EPO-Aで認められた主なピーク以外に、複数のピークが溶出されていることが確認された。例えば、EPO-Aと共通で、最も結合量の多いTetraNA<sub>4</sub>(ピーク1)に続いて、ピーク2-4が溶出されている。Fig.12は、TetraNA<sub>4</sub>(ピーク1)及びピーク2-4のマススペクトルである。ピーク1で検出されたイオン(*m/z* 1227)はTetraNA<sub>4</sub>の3価イオンであり、このイオンとピーク2-4で観測された*m/z* 1241, 1255, 1269, 1283, 及び1297のイオンとの*m/z*値の差は14の倍数である。*m/z*値14は、アセチル基の3価イオンの*m/z*に一致することから、ピーク2-4は、TetraNA<sub>4</sub>が複数のアセチル基によって修飾されたものであることが示唆された。

また、EPO-Cでは、TetraNA<sub>4</sub>のピーク1が溶出される以前に、EPO-A、及びBでは確認されないピーク5、及び6が溶出されることが確認された。Fig.13はピーク5及び6のマススペクトルである。ピーク5、及び6の分子量は、TetraNA<sub>4</sub>よりもそれぞれ80Da、及び160Da大きいことから、TetraNA<sub>4</sub>に硫酸基またはリン酸基が1または2分子結合したものであることが示唆された。そこで、リン酸基の有無をアルカリホスファターゼ処理、及び<sup>31</sup>P-NMRで確認した。しかし、ピーク5、及び6は、アルカリホ

スファターゼ処理によっても消失しないこと、また、<sup>31</sup>P-NMRにおいてリン酸のシグナルが観測されないことから、リン酸基ではなく硫酸基が付加したものであることが示唆された。さらに、ピーク5をシアリダーゼ、及びβ-ガラクトシダーゼで処理した後、分取し、<sup>1</sup>H-NMRを測定したところ、GlcNAcの6位炭素に結合している水素が約0.5 ppm低磁場シフトしていることから、硫酸基が結合していることが確認された。

以上のように、糖鎖マップの主なピークの帰属を行うことによって、EPO-Bにはアセチル化糖鎖が、また、EPO-Cには硫酸化糖鎖が結合していることが明らかになった。

##### 2) シアロ糖鎖の2次元(2D)マップ

糖鎖マップ上の全ピークを帰属することによって、3つのEPO間の糖鎖の構造と分布の違いをさらに詳細に明らかにすることができると思われた。そこで、糖鎖マッピングの結果を2次元で表し (Fig.14)、マップ上のすべてのピークの糖鎖構造をマススペクトルから決定した (Table 7)。その結果、3つのEPO間には、シアロ糖鎖の分布、並びにアセチル化、及び硫酸化の違いによる明確な差が存在することが明らかになった。

まず、シアロ糖鎖の分布を比較すると、EPO-AにはD1-10 (*m/z* 1033), F1-5 (*m/z* 1155), I1-3 (*m/z* 1276)のように、複数のジシアロ3及び4本鎖糖鎖が結合しているのに対して、EPO-Cではジシアロ3または4本鎖糖鎖の結合は確認されなかった。また、EPO-BにはわずかにD1がマイナーピークとして検出されるのみであった。

つぎに、アセチル化糖鎖の分布を比べると、EPO-Bでは複数のアセチル化テトラシアロ4本鎖糖鎖、すなわち、Ga-e, Ja-c, 及びLa,bが確認されたが、EPO-Aでは、Ga1が検出されるのみであった。EPO-Cにもアセチル化糖鎖の存在が確認されたが、テトラシアロ4本鎖グループではなく、トリシアロ4本鎖糖鎖にアセチル化が起きていることが明らかになった。

さらに、硫酸化について、EPO-Cでは、TetraNA<sub>4</sub>だけでなく、主な3及び4本鎖糖鎖に硫酸化が起きていることが明らかになった。また、わずかであるが硫酸化糖鎖はEPO-A及びBにも存在しており、EPO-Bでは、アセチル化糖鎖にも硫酸化が起きていることが確認された。

##### 3) アシアロ糖鎖マッピング

すでに我々は、エキソグリコシダーゼ消化法と糖鎖マッピングを組み合わせることによって、糖鎖構造をより詳細に解析できることを示している。そこで、アセチル化及び硫酸化されている単糖の決定、及びアシアロ糖鎖部分の構造を比較することを目的に、シアリダーゼ消化糖鎖の糖鎖マッピングを行った。

Fig.15は、3種のEPOのアシアロ糖鎖の糖鎖マッピングの結果である。シアリダーゼ処理によって

EPO-A 及び B の糖鎖パターンはほぼ同じになることが確認された。この結果から、EPO-B のアセチル化はシアル酸部分で起きていること、また、EPO-A と B の違いは、シアル酸の種類と結合数の違いによるものであることが明らかになった。

これに対して、EPO-C では、EPO-A 及び B とは異なり、シアリダーゼ処理後もアセチル化及び硫酸化糖鎖が存在することが確認された。EPO-C のアセチル化と硫酸化はシアル酸ではなく、アシアロ部分に起きていることが考えられた。そこで、さらに  $\beta$ -ガラクトシダーゼ、及び N アセチルヘキサミンニダーゼで消化後、再度糖鎖マッピングを行うことによって、EPO-C のアセチル基はガラクトースに、また、硫酸基は非還元末端側の N アセチルグルコサミンに結合していることが明らかになった。

また、3 本鎖糖鎖には 2, 4-branched 及び 2, 6-branched の 2 つの異性体が存在するが、EPO-A と C では、2 つの 3 本鎖糖鎖のピーク高さが逆転しており、分布が異なることが明らかになった。

## 4.2 糖ペプチドマッピング

### 1) 糖ペプチドマッピング

EPO には 3 本の N 結合糖鎖が Asn24, Asn38, 及び Asn83 に、また、1 本の O 結合糖鎖が Ser126 に結合している。EPO-A, -B, 及び C をエンドプロテアーゼ Glu-C で消化して 4 本の糖ペプチドを含むペプチド断片とし、LC/MS を用いて糖ペプチドマッピングを行った。Fig.16A, B, 及び C はそれぞれ EPO-A, -B, 及び C の糖ペプチドマップである。また、Table 8-11 には、各ピークの糖鎖構造をまとめた。Fig.16, 及び Table 8-11 から、Glu-C 消化物中の 4 本の糖ペプチドが、Asn38, Asn24, Ser126 及び Asn83 を含むペプチドの順に溶出され、各糖ペプチドは、ペプチドに結合している糖鎖の構造の違いに基づいてさらに細かく分離されていることが確認された。また、Fig.16A, B, 及び C の溶出パターンから、3 種の EPO の各糖鎖結合部位に付加している糖鎖の構造は異なっていることが明らかになった。例えば、EPO-C の Asn38 及び Asn83 には、3 つの EPO に共通なピークが溶出されるよりも早く、複数のピークが溶出されることが確認された。さらに、EPO-A の Asn24 のピークの形が他の EPO とは異なっていること、また、EPO-B の Asn83 のピークが他の EPO よりブロードであることが確認された。そこで、これらの違いはそれぞれ何に起因するのかをマススペクトルから解析した。

### 2) 硫酸化糖鎖

Fig.17A, D, 及び G は、それぞれ EPO-A, -B, 及び C の Asn38 糖ペプチドの拡大図である。共通ピーク A5-A16 のマススペクトルから、3 つの EPO には共通して、ジ、トリ、及びテトラシアロフコシル複合型糖鎖が結合していることが確認された。それ以外に、EPO-C ではピーク A1-A4 が検出されているが、これらのピークは、 $m/z$  値からモノ及びジ硫酸化糖鎖であることが明らかになった。硫酸化糖

鎖は、Asn83 糖ペプチドにおいてもピーク D1-D4 として検出された。先にも述べたように我々は、糖鎖マッピングを用いて、EPO-C の N 結合糖鎖が一部硫酸化されていることを見出しているが、糖ペプチドマッピングによって、硫酸化糖鎖の結合部位が Asn38 及び Asn83 であることが明らかになった。

### 3) シアロ糖鎖

Asn24 を含む糖ペプチドの拡大図を Fig.17B, E, 及び H に示す。EPO-A のピークの形状は他の EPO の形状と異なっていることから、構成糖鎖の分布が異なっていることがわかる。EPO-A では、ピーク B8 として溶出されているトリシアロ 4 本鎖糖鎖と、ピーク B11, 及び B12 のジシアロ 4 本鎖糖鎖が他の EPO に比べて多く結合していることが明らかになった。先に糖鎖マッピングを用いて、EPO-A には非還元末端のガラクトースがシアル酸によって飽和されていない糖鎖が多く存在することを見出しているが、糖ペプチドマッピングの結果、これらの糖鎖は Asn24 に結合していることが明らかになった。また、ジシアロ及びトリシアロ 4 本鎖糖鎖は EPO-B 及び C には僅かにしか結合していないことが確認された。

### 4) アセチル化糖鎖

Fig. 18 は、Fig.17 に示されている EPO-A, -B 及び C の Asn83 を含む糖ペプチドから分離されたピーク D6, D8 及び D9 のマススペクトルである。各ピークの  $m/z$  値から、D6, D8, 及び D9 はそれぞれテトラシアロ、トリシアロ、及びジシアログループであることが確認された。Asn83 に結合している主なテトラシアロ糖鎖は、Fig.18A, D, 及び G から、TetraLac<sub>2</sub>NA<sub>4</sub> であることが確認されたが、EPO-B には、それら以外にも多数の糖鎖が結合していることが分かった。これらの糖鎖のイオンの  $m/z$  値は 10.5(4 価)ずつ増加していることから、EPO-B の Asn83 には複数のアセチル化糖鎖が結合していることが明らかになった。EPO-B におけるピーク形状のブロード化は、糖鎖のアセチル化によるものと考えられる。アセチル化は Asn24 や Asn38 でも確認されたが、Asn83 が顕著であった。

Fig.18B, 3E, 及び 3H は、トリシアログループのマススペクトルである。EPO-B のアセチル化糖鎖はテトラシアログループに比べて減少しているが、逆に、EPO-C では増加していることが分かった。EPO-C のアセチル化糖鎖は D9 のジシアログループでさらに増加し、3 本鎖ではモノアセチル糖鎖が、また、4 本鎖糖鎖ではモノ、及びジアセチル糖鎖が検出された。ジシアロ 2 本鎖糖鎖にアセチル化は見られなかった。尚、ジシアロ 2 本鎖糖鎖は、主に Asn24 に見られたが、EPO-C のみ、Asn83 にも結合していることが確認された。我々は、糖鎖マッピング、及びエキソグリコシダーゼ消化法を用いて、EPO-B ではシアル酸がアセチル化されているが、EPO-C のアセチル基はシアル酸ではなくガラクトースに結合していることを明らかにしている。糖ペ

プチドマッピングの結果は、それらをよく支持しているといえる。また、糖ペプチドマッピングの結果、EPO-B のアセチル化は主に Asn83 に起きているのに対して、EPO-C では、Asn24 によく見られることが明らかになった。

#### 5) O 結合糖鎖

Fig16及びTable 11から、O結合糖鎖は3つのEPOとも共通であることが確認された。一般に、O結合糖鎖の切り出しは難しく、糖鎖マッピングを応用できる機会が少ないが、糖ペプチドマッピングでは糖鎖を切り出すことなく、O結合糖鎖の構造を解析できるので便利であることが確認された。

### 5. 生物薬品の統一力価試験法設定と標準物質の確立に関する検討

生物薬品の統一力価試験法の設定と標準物質の確立は様々な過程から成り立つ。まず有用で共通性の高い統一力価試験法を設定し、その再現性を含めた妥当性について様々な角度から検証する必要がある。次に、このような検討から妥当性が検証された統一力価試験法を用いて標準物質候補の力価を測定し、最終的にそれを標準物質として設定する。また、標準物質に関してはその安定性に関する試験も必要となる。今回、これらの点につきヒトトロンプモジュリンを具体例として検討することにより、一般的な留意事項を明らかにすることを試みた。

トロンプモジュリン (TM) は血管内皮細胞表面に存在するトロンプ受容体であり、トロンプがプロテインCを活性化する際の補助因子として発見された。その後の研究から、TM は、ユニークかつ強力な抗凝固作用を有することが明らかになり、抗血栓薬として現在国内で2社が臨床応用を目指した開発を行っている。両社のh-TMともin vitroの試験においてトロンプ依存的なプロテインC活性化能を始めとする各種抗凝固作用を有していること、また各種血栓モデル動物においても著明な血栓形成抑制作用を有することが報告されている。このような検討においてTMの有用性が認められたことから、現在、臨床試験が行われており、それらの新薬としての承認申請は間近に迫っている。

しかし現状では、TMの臨床適用の基礎となる医薬品の品質や特性を評価するうえで次の様な問題点が残されている。1つはTMの活性測定法及び力価(単位)の定義が両社で異なっていることである。また、両社ともそれぞれ独自に開発を進めた経緯から、A社は組換えヒト型(rh-TM)、B社はヒト由来h-TM(uh-TM)と由来が異なっているだけでなく精製方法やプロセッシングによるC末端側の欠失状況に違いがあり、必ずしもその特性が同一ではない可能性もある。このような現状で力価の決定をそれぞれ個別の測定法に委ねたままにしておくことは、これら医薬品の特性、品質の相互比較はもとより臨床上の相対評価を困難にし、ひいては臨床適用にあたって無用の混乱を招くことになる。さらに、今後、

国内外においてh-TMを医薬品として開発する会社が現れたり、現在開発中の2社が国外の会社と提携してh-TMを様々な国で販売するような事態になれば、このような危惧はますます深刻かつ複雑になることが予想される。このような問題は、昨今医薬品審査の国際的な調和が提唱されている状況において、その流れに逆行するものでぜひとも回避しなければならない。

そこで、本研究ではh-TMに関し今後臨床適用に当たって予想される危惧を回避するため、h-TMの共通力価測定法の確立、確立された共通法における力価の定義及び適切なh-TM国内標準物質の設定を行った。さらに、共通力価測定法の妥当性並びにh-TM国内標準品の安定性についても検討を行った。先ほど述べたように、両社で活性測定法は異なっており、A社は測定法A、B社は測定法Bを用いて活性測定を行っている。従って、共通力価測定法はこれらの測定法を至適化し、統一することにより設定することが望ましい。両社の方法はいくつかの点で異なっているが、その主な違いは活性化プロテインCの合成基質である。その違いにより、合成基質からの生成物の測定においてA法では蛍光法、B法では吸光度法が用いられている。そのうち吸光度法のほうがデータの相互比較の点で容易であることから、共通法としては適切と考えられ、B法を以下のように改変し共通力価測定法の確立を試みた。まず、基質のインキュベーション時間に関してB法は比較的短いことから、多数のサンプルの測定に適當ではない。そこで共通法においては基質のインキュベーション時間を延長した。さらに、B法においてプロテインCはヒト由来のものを用いているが、トロンプについてはウシ由来のものを用いているため、ヒトにおける薬効を評価するには必ずしも適當ではないという問題点もあった。そこで共通法においてはヒト由来のトロンプ及びプロテインCを用いることとした。このようにして設定した測定法の共通力価測定法としての妥当性を各種測定で得られた分散係数を基に評価した。

#### 5.1 S-2366 からパラニトロアニリン形成のタイムコース

Fig.19 は共通力価測定法を用いた uh-TM による S-2366 からパラニトロアニリン形成のタイムコースを示している。12分まで基質の切断時間と吸光度の間の良好な直線関係が得られた。そこで、共通力価測定法における基質の切断時間を10分と設定した。

#### 5.2 uh-TM と rh-TM 社内標準物質の濃度依存性

Fig.20 と Fig.21 は共通力価測定法における uh-TM 及び rh-TM の濃度依存性を示している。両 h-TM は個々の会社で定めた活性のある一定範囲において直線的な濃度依存性を示した。

### 5.3 h-トロロンピン及びh-プロテイン C のロット間再現性

Table 12 と Table 13 はそれぞれ異なるロットの h-トロロンピン及び h-プロテイン C を用い、uh-TM 社内標準物質を共通力価測定法で測定した結果を示している。これらの測定における h-トロロンピン及び h-プロテイン C のロット間の分散係数(CV)はそれぞれ 2.90%及び 6.57%であった。

### 5.4 h-TM 国内初回標準物質の測定における同時、測定日間、施設間再現性とアンプル当たりの活性の決定

Table 14 は共通力価測定法により h-TM 国内初回標準品を測定した結果を示している。これらの測定において h-TM 国内初回標準物質の活性の平均値を計算した結果、アンプル当たり 205JRS と定めた。同時、日間、施設間の分散係数(CV)は Table 15 に示した分散値からそれぞれ 1.30%、1.63%、5.02%と計算された。

### 5.5 h-TM 国内初回標準物質の安定性

Fig.22は40℃、60℃、70℃、80℃で種々の期間保存したh-TM国内初回標準物質を共通力価測定法で測定した結果を相対活性として示している。40℃で10週保存したサンプルの相対活性は試験開始時と変わらなかったが、他のサンプルでは温度及び保存期間に依存的に相対活性の低下がみられた。Fig.23に示すように、アレニウスプロットから予想される活性の低下は-20℃、103年で3.0%以下であった。

## 6. 安定性試験における品質確保基準に関する研究

医薬品の有効期間は、経時的な含量低下のように定量的な品質が経時的に変化する医薬品の場合には、通常、回帰曲線の95%信頼限界の下限値が規格値に等しくなる時点までの期間として設定される。有効期間の設定に用いるデータ数が増大するほど信頼限界の幅が小さくなり、したがって長い有効期間が設定できる。新有効成分含有医薬品の安定性試験に関するICH調和ガイドラインには、ロット間での安定性の変動が小さい場合には、試験を行ったすべてのロットから得られたデータを一括し、それに基づいて一つの有効期間の推定値を求め、その値をすべてのロットの有効期間として適用することが認められている。ロット間の変動は、各ロットについて得られる回帰曲線の傾きおよび切片に基づいて、共分散分析(ANCOVA) (吉岡資料1)をおこなうことによって検定することができる。しかし、ANCOVAの検出力は定量誤差の大きさによって大きく影響され、定量誤差が大きくなるほど検出力は著しく低下する。その結果、大きい定量誤差を含むデータほど、ロット間の安定性の差を見逃す傾向が大きくなる。

本研究ではこれまでに、ANCOVA法に代わる方法として、個々のロットで得られる有効期間の推定値についてその同等性を推定値のレンジに基づいて検定する方法(レンジに基づく方法)を提案してき

た。このレンジに基づく方法は、ANCOVA法と比較して、検出力が定量誤差の大きさによって受ける影響が著しく小さいことを前年度までに明らかにした。しかし、この結果は、回帰曲線の傾きと切片の変動を回帰の一様性の検定によって同時に評価するようにデザインされたANCOVA法をモデルとして、それに対してレンジに基づく方法を比較した研究によって得られたものであり、現在FDAが安定性試験ガイダンスに採用しているANCOVA法、すなわち、回帰曲線の傾きと切片の変動を別々に検定するANCOVA法との比較検討は行われていない。

本年度は、レンジに基づく方法をFDAが推奨するANCOVA法と比較することを目的とし、モンテカルロ法によって発生させた安定性試験データを用いて両方法にしたがってロット間変動の検定を行い、ロット間変動に対する検出力を比較検討した。

新有効成分を含有する医薬品の有効期間を設定する際には、18ヶ月までの長期安定性試験データに基づいて、その医薬品が3年以上の有効期間を有するかどうかを判断することが、しばしば求められる。そこで、本研究では0、3、6、9、12および18ヶ月時点で2回の繰り返し測定を行うと仮定して測定データをシミュレートした。3ロット中2ロットについては、規格値の下限が95%、定量誤差が0.5%の時に約3年の有効期間になるように、回帰曲線の傾きは0.1%/monthとした。残りの1ロットは、2つのロットより約6ヶ月短い有効期間を有するように、2つのロットより20あるいは30%大きい回帰曲線の傾きを有すると仮定した。Fig.24に、回帰曲線が規格の下限値を切る時点までの期間として計算した有効期間の理論値および回帰曲線の95%信頼限界の下限が規格値の下限値を切る時点までの期間として計算した有効期間の推定値の分布を示す。一般的に、500セットのデータはシミュレーションとして少ないと考えられているが、Fig.24に示すように、同じ傾きの回帰曲線をもつ2つのロットについて同様の分布が得られたことから、ANCOVA法とレンジに基づく方法の比較検討には、500セットで十分であると考えられる。

ANCOVA法とレンジに基づく方法のそれぞれで観察された $\beta$ 誤差をFig.25に示す。ANCOVA法の $\beta$ 誤差は、定量誤差の増大とともに大きくなった。一方、レンジに基づく方法の $\beta$ 誤差は、定量誤差がある値で極大値を示した。分解曲線の傾きがロット間で30%異なる場合には、定量誤差が0.3%までの範囲ではANCOVA法の方がレンジに基づく方法よりも小さな $\beta$ 誤差を示したが、定量誤差が0.5%になると、ANCOVA法の $\beta$ 誤差の方が大きくなり、さらに定量誤差が大きくなるにしたがって、両方法による $\beta$ 誤差の差が大きくなった。これらの結果から、定量誤差が0.5%以下の場合にはANCOVA法およびレンジに基づく方法はロット間の安定性の差に対して同等の検出力を持つと考えることができる。また、定量誤差が0.5%より大きい場合には、レンジに基づく方法の方が、安定性の差を見逃す確率は小さいことが明らかになった。



ロット間での分解曲線の傾きの差が 20%に減少すると、Fig.25 に示すように、ANCOVA 法およびレンジに基づく方法のいずれも  $\beta$  誤差は 30%の差の場合より増大した。定量誤差が 0.3%では、両方法の  $\beta$  誤差はほとんど同じであり、それ以下の定量誤差では ANCOVA 法が、またそれ以上の定量誤差ではレンジに基づく方法の方が小さな  $\beta$  誤差を示した。

0.5%以下の誤差の分析法を用いて安定性データが得られた場合に、レンジに基づく方法は ANCOVA 法と同等の確率でロット間の分解曲線の傾きの差を検出できることが明らかになり、ANCOVA 法に代わる方法として活用できる可能性が示された。

## 7. 不純物の安全性確認に関する Q&A 作成

原薬および製剤の不純物ガイドライン (Q3A および Q3B) は、それぞれ 1995 年 3 月、1997 年 11 月に 3 極間で合意に達し、Q3A は 1997 年 4 月に、また、Q3B は 1999 年 4 月に我が国で施行になっている。これらのガイドラインについては、現在改定作業が行われており、Q3A は 2002 年 2 月のブリュッセルでの会議で最終合意に達したが、Q3B はまだステップ 2 の段階にある。なお、Q3A の改正では、不純物の安全性確保に関する記載に関しては、従来、どのような場合に用いるべきかが必ずしも明確でなかった「8. 新たな不純物」の項が「7. 不純物の安全性確認」の項に統合されるなどの変更が加えられた。

これらのガイドラインには、新医薬品の承認申請を行う場合の原薬および製剤中の不純物量の管理ならびに不純物の安全性確認に関する指針が示されており、安全性確認が必要な不純物量の閾値が原薬の 1 日最大投与量との関連で規定されている。しかしながら、これらのガイドラインにおける不純物の安全性確認に関する記載が必ずしも具体的でないため、その解釈および運用方法を巡って一定の混乱が生じており、各社間で対応に差が見受けられている。

そこで、不純物ガイドラインの解釈および運用方法を巡る混乱を解決することを目的として、不純物の安全性確認に関する Q&A の作成に関する検討を行った。

作成された Q&A を以下に示す：

### 《 原薬および製剤中の不純物の安全性確認に関する Q&A 》

この Q&A においては、原薬の不純物ガイドライン (平成 7 年 9 月 25 日付薬審第 877 号審査課長通知「新有効成分含有医薬品のうち原薬の不純物に関するガイドライン」) を Q3A ガイドライン、また、製剤の不純物ガイドライン (平成 9 年 6 月 23 日付薬審第 539 号審査課長通知「新有効成分含有医薬品のうち製剤の不純物に関するガイドライン」) を Q3B ガイドラインと呼ぶこととする。

これらのガイドラインにおける安全性の確認 (Qualification) の規定は、個々の不純物の毒性を

評価することを目的としたものではなく、不純物を含んだ原薬あるいは製剤を医薬品として用いることの妥当性を判断することを目的としたものであることを念頭に置いて、本 Q&A を活用していただきたい。

なお、本 Q&A は、Q3A、Q3B ガイドラインの内容を解説するために作成されたものであり、これらのガイドラインには「臨床試験段階で使用するものには適用しなくてよい。」とされていることから、臨床試験で使用するものに関する事項については、各申請者の責任において対処すべきこととし、本 Q&A には含めなかった。

## I. 全般的事項

Q 1：個々の不純物 (以下、Q3B ガイドラインでは「分解生成物」と読み替える。) の含量はいずれも安全性確認の閾値以下であるが、不純物の総量としては閾値を超える場合、安全性の確認は必要か。

A 1：一般的には不要である。Q3A、Q3B ガイドラインは、個別規格を設定した不純物の規格値の上限レベルでの安全性の確認を求め、その閾値を定めているが、不純物総量については安全性の確認を要求していない。しかしながら、不純物総量の規格値を、例えば、「10%以下」のように、高いレベルに設定しようとする場合には、当然、総量についても規格値の上限のレベルでの安全性についての考察は必要と考えられる。

Q 2：安全性に懸念のある不純物が存在する場合でも、その含量が Q3A、Q3B ガイドラインで規定している閾値以下であれば安全性を確認する必要はないと考えてよいか。

A 2：安全性に懸念のある不純物が含まれる場合、その含量が Q3A、Q3B ガイドラインで規定している閾値以下であっても、その限度値を安全性が確保できるレベルに設定する必要がある。いずれのガイドラインも、安全性に懸念のある場合には、安全性確認の閾値を低くすることを奨めている。

Q 3：「作用が強く、0.1% (別紙 1 に示された閾値) 未満のレベルでも毒性又は薬理作用を示すと予測される不純物については、構造決定を試みる。」とあるが、「毒性又は薬理作用を示すと予測される場合」とは、どのような場合か。

A 3：開発段階での安全性試験や臨床試験における注意深い観察から、動物あるいは患者に認められた有害事象が医薬品中に含まれる毒性の強い不純物に起因すると考えられる場合の対処を求めた記載である。そのような不純物は、未知のものである場合、既に文献的に毒性又は薬理作用を示すことが知られているものである場合、あるいは、ある医薬品群や類似薬効群の医薬品中に含まれていて、患者における副作用の発現に関与したものである場合などが考えられる。

## II. 開発段階の臨床試験および安全性試験の結果を

## 活用した不純物の安全性確認

開発段階の臨床試験および安全性試験は、医薬品自体の有効性と安全性を評価するために行われるものであり、当該医薬品中に含まれている不純物の安全性確認を目的に行われるものではないが、Q3A、Q3B ガイドラインでは、承認申請される原薬や製剤の安全性が開発段階の臨床試験および安全性試験で十分確かめられていることを前提にして、これらの試験にどのようなロットが用いられ、それらのロット中にどのような不純物がどれくらい含まれているかが明確にされている場合には、これらの情報を不純物の安全性確認に活用できることとされている。

## 原薬に関する事項

Q 4：「既に安全性試験や臨床試験で十分安全であることが確かめられている新原薬中に存在している全ての不純物については、試験に用いられた試料中に存在するレベルまでは安全性が確認されたものと考えることができる。」とあるが、不純物の安全性の確認は、安全性試験の結果のみで、あるいは臨床試験の結果のみで行ってもよいか。

A 4：両者を用いて行ってもよいし、そのいずれかのみを用いて行ってもよい。なお、不純物の安全性確認に臨床試験の結果を用いる場合は、使用したロット中における当該不純物の存在レベルまでは安全性が確認されたとしてよい。一方、開発段階の安全性試験の結果を用いる場合は、原薬の無毒性量レベルにおける当該不純物の投与量を基に、ヒトと動物の種差などを考慮に入れて、適切な安全域が確保されるようにする必要がある。

Q 5：「既に安全性試験や臨床試験で十分安全であることが確かめられている新原薬中に存在している全ての不純物については、試験に用いられた試料中に存在するレベルまでは安全性が確認されたものと考えることができる。」とあるが、不純物の安全性確認にはどの安全性試験の結果を用いるのが適切か。

A 5：原則的には、反復投与毒性試験および *in vitro* の遺伝毒性試験が適切と考えられるが、当該医薬品の特性などを考慮して適切な安全性試験の結果を選択すべきである。

Q 6：反復投与毒性試験における原薬の無毒性量のレベルにおいて動物に投与された不純物の1日当たりの量が、ヒトの1日最大投与量以上であれば、安全性は確認されたと考えてよいか。

A 6：ヒトと動物の種差などを考慮に入れて、適切な安全域が確保されるようにする。

Q 7：開発の過程で分析法が改良されて、それまで見つからなかった新たな不純物が検出されるようになることがある。既に臨床試験に用いた原薬中に安全性の確認が必要な閾値を超えるレベルの不純物が存在することが分かった場合、どのように対処したらよいか。

A 7：既に実施した臨床試験において患者が示した

症状や徴候（特に、有害事象の発現状況）を調べ直し、安全性試験の成績も含めて、当該不純物との関連を考察する必要がある。不純物の安全性に関して懸念されるようなことが見出されなければ、その存在レベルまでは当該不純物の安全性は確認されたものと考えることができる。

Q 8：既に海外で臨床試験が行われて、あるいは市販されて、ヒトに投与されている場合、その情報を基に安全性に関する考察を加えることによって、安全性を確認したこととしてよいか。

A 8：海外での臨床データを安全性確認のための情報として活用してもよい。ただし、活用に当たっては、民族差などを考慮し総合的に評価する。

Q 9：生物学的製剤は Q3A、Q3B ガイドラインの対象となっていないが、生物学的製剤中の不純物の安全性を確認するにはどうしたらよいか。

A 9：生物学的製剤中の不純物の安全性確認の考え方については、「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性」ガイドライン (S6) を参照する。

Q 10：医薬品添加物に由来する不純物については、どのレベルまでの検討が要求されるか。

A 10：添加物由来の不純物に関しては Q3A、Q3B ガイドラインの対象とされていない。しかしながら、添加物又はその不純物が原薬と反応して生成したものについては、Q3B ガイドラインの対象とされている。

Q 11：「安全性試験や臨床試験に用いられた原薬のロット中に存在するよりも高いレベルの不純物を含む場合についても、既に行った適切な安全性試験において実際に投与された不純物の量を求め、それに基づいて考察することにより安全性の確認を行うことができる。」とあるが、どのように考えたらよいか。

A 11：不純物の安全性確認に臨床試験の結果を用いる場合は、使用したロット中における当該不純物の存在レベルから1日当たりの投与量を算出し、そのレベルまでは安全性が確認されたとしてよい (Q51 参照)。一方、不純物の安全性確認に安全性試験の結果を用いる場合は、原薬の無毒性量のレベルにおける当該不純物の投与量を基に、ヒトと動物の種差などを考慮に入れて、適切な安全域が確保されるようにする必要がある。

Q 12：「安全性試験や臨床試験に用いられた原薬のロット中に存在するよりも高いレベルの不純物を含む場合についても、既に行った適切な安全性試験において実際に投与された不純物の量を求め、それに基づいて考察することにより安全性の確認を行うことができる。」とあるが、動物種の異なる試験がある場合、どの動物種のデータを用いるのが適切か。

A 12：既に開発段階で行われた反復投与毒性試験の結果を用いて不純物の安全性の確認を行う場合には、

特定の動物種を選ぶのではなく、実施した全ての安全性試験から種差を考慮して総合的に判断する必要がある。

Q13：「既に安全性試験や臨床試験で十分安全であることが確かめられている新原薬中に存在するすべての不純物については、試験に用いられた試料中に存在するレベルまでは安全性が確認されたものと考えることができる。」とあるが、複数の反復投与毒性試験が、不純物含量が異なるロットを用いて実施された場合どのように評価したらよいか。

A13：当該医薬品を患者に投与した場合に、安全性を確保できるかどうかを念頭に評価すべきである。適切な投与期間をもつ反復投与毒性試験について、各々の試験での原薬の無毒性量レベルにおける用量とその原薬中の不純物の含量から、当該不純物の一日当たりの投与量を求め、これを規格に設定した限度値のレベルにおける最大一日摂取量と比較して、ヒトと動物の種差などを考慮に入れても、適切な安全域が確保されていると評価しうるかどうかを検討すればよい。

Q14：原薬自体には安全性の確認が必要な不純物は存在せず、原薬を室温で長期保存したときに出現する分解生成物のみが問題となる場合、保存条件を適切に設定する（例えば、-20℃で保存する）ことにより、その分解生成物の出現を回避できる場合の取り扱いはどうか。

A14：分解生成物が出現しない保存条件を採用して承認申請を行う場合には、その分解生成物は製剤の製造に用いられる原薬中には実際には存在しないので、原薬の規格にはその限度値を設定しなくてもよく、したがって、安全性の確認は行わなくてもよいと考えられる。

Q15：本ガイドラインに基づいて、臨床試験や安全性試験で安全性が確認された不純物の濃度レベルを、規格値として設定してよいか。

A15：安全性に懸念のある場合（Q2参照）を除いて、不純物の規格値は、実生産工程を反映したロット中の不純物含量の実測値とそのばらつき（通常2σあるいは3σ）を基に、安定性試験の結果を考慮して、品質の恒常性が担保できるように設定する。この品質の恒常性担保の観点から見て、実生産工程を反映したロット中の不純物含量の実測値ははるかに小さいにもかかわらず、安全性が確認された値であるという理由で、臨床試験や安全性試験により安全性が確認された不純物の濃度レベルをそのまま規格値とすることは適切とは言えない。

#### 製剤に関する事項

Q16：Q3Bガイドラインには、6. 分解生成物の安全性の確認の項に「既に安全性試験や臨床試験で十分安全であることが確かめられている新製剤中に存在するすべての分解生成物について、試験で用いられた試料中に存在するレベルまでは安全性が確認さ

れたものと考えることができる。」との記載がある一方で、7. 新たな分解生成物の項では、「新たな分解生成物が出現し、その量が安全性確認の必要な閾値を超えた場合、分解生成物の安全性確認のためのフローチャートに従って安全性の確認を行う。」とされており、矛盾があるように思われる。〔安全性試験や臨床試験の結果を活用した安全性の確認〕と〔安全性確認の閾値を超えているかどうかを判断するための分解生成物の含量の見極め〕のいずれを先行して考慮することが妥当か。

A16：何ら矛盾はない。前者は、既に行われた安全性試験や臨床試験に用いられて安全性が確かめられた製剤中の分解生成物量のデータを活用して、規格に設定した限度値のレベルでの分解生成物の安全性確認を行う方法について述べたものである。

一方、後者は、開発が進んだ段階で、既に行われた安全性試験や臨床試験に用いられた製剤中には含まれていなかった新たな分解生成物が出現（閾値を超えて増加した場合も含む）し、新たな限度値を設定する必要性が出てきた場合の安全性確認の方法について記載したものである。

実際には、実生産工程を反映した製剤ロット中に存在する分解生成物の種類とその含量の測定を先行して行い、その実測値を基に規格に設定した限度値が安全性確認の閾値を超える場合には、限度値のレベルでの安全性を上記のいずれかの方法により確認する。

Q17：「最大一日投与量」について、パッチのような経皮吸収剤や外用剤などの場合は、一日に貼付又は塗布する最大量と考えてよいか。

A17：経皮吸収剤や外用剤などの場合は、一日に貼付又は塗布する最大量と考えてよい。

Q18：経口投与を目的としない剤形についても、別紙1に示された報告、構造決定および安全性の確認が必要な閾値が適用されるのか。

A18：その通りである。別紙1の閾値は、投与経路に関わりなく、経口投与以外の製剤にも適用される。ただし、妥当な理由があれば、ケースバイケースで閾値の変更が可能である。

Q19：ガイドラインでは、投与量に基づいて閾値が設定されているので、投与量に大きな幅がある製剤では閾値が複数にまたがることになる。このような場合、より厳しい方の閾値を適用するのが妥当か。また、生体への吸収量は、投与量ばかりでなく投与経路によっても大きく異なると考えられるが、経口投与、経皮投与、静脈投与など、投与経路の異なるものを一律に考えてよいか。

A19：投与量に大きな幅がある製剤では、より厳しい閾値を適用するのが妥当と考えられる。また、投与経路の異なるものについては、その投与経路に応じて安全性の確認を行うべきであり、一律に考えるのは適切でない。

Q20：外用剤や注射剤などで色調に変化があった場合、どのような対処が必要か。

A20：色調に変化があった場合には、何らかの分解生成物の増加が懸念される。変化が認められた試料の分析を行った結果、分解生成物の含量が構造決定や安全性確認の閾値以下である場合には、特に対処の必要はない。閾値を超える新たな分解生成物が出現した場合や既知の分解生成物の増加が認められた場合には、新たな分解生成物の構造決定を行うとともに、安全性確認のためのフローチャートに従って、規格に設定する限度値のレベルでの当該分解生成物の安全性の確認を行う必要がある。

Q21：日本薬局方などの公定書収載の原薬（不純物の規格は、TLC法を用いて設定されているものが多い。）を用いて、新剤形医薬品を開発した場合、原薬がQ3Aガイドラインに従ったものとなっていないため、製剤についてもQ3Bガイドラインに準じたものとするのは難しい。この場合、製剤はQ3Bガイドラインの対象外と考えてよいか。

A21：Q3A、Q3Bガイドラインは、新有効成分含有医薬品の原薬ならびに製剤中の不純物について規定したものであり、既承認の原薬を用いて製造される製剤については、基本的には対象外と考えてよい。しかしながら、新剤形医薬品を開発した際に、新たな分解生成物が出現した場合には、Q3Bガイドラインに準じて、当該分解生成物の構造決定、規格の設定、ならびに規格値の上限のレベルにおける安全性の確認を考慮すべきである。

Q22：製剤中において、添加物の影響で原薬が分解したり、原薬が添加物と反応したりして、新たな分解生成物ができるケースがある。このような場合の分解生成物の安全性確認のための追加毒性試験はどのように実施すればよいか。

A22：分解生成物が安全性確認の閾値を超えた場合には、フローチャートに従って安全性の確認をする必要がある。

Q23：「安全性試験や臨床試験に用いられたロットについて、各試験に用いられた時点での分解生成物の実際の含量に関する情報を記載することが有用である。」との記載に関して、長期にわたる安全性試験および臨床試験の間には分解生成物の量が増加することが起こり得る。その場合に、「用いられた時点での分解生成物の実際の含量」とは、試験終了後に回収した製剤を分析した結果を指すのか、それとも、試験の実施中に定期的に分析し、用いられた時点での分解生成物のプロファイルに関する情報を得おくべきであるのか。

A23：各試験に用いられた時点における分解生成物の種類と量に関する情報は、分解生成物の安全性を確認する上で有用と考えられるため、各試験の実施中に定期的に試料の分析を行うことが望ましい。しかしながら、それほど不安定でないものについては、製造直後と試験終了時の分析結果から各試験に用い

られた時点における分解生成物の量を推定することでもよいと考えられる。

Q24：「安全性試験や臨床試験に用いられた製剤ロット中に存在するよりも高いレベルの分解生成物についても、安全性の確認が可能な場合がある。」とあるが、具体的にはどのような場合を想定しているのか。

A24：臨床試験や安全性試験における用量とその製剤中の分解生成物の含量から、その分解生成物の一日当たりの摂取量を求め、これを規格に設定した当該分解生成物の限度値のレベルにおける最大一日摂取量と比較して、安全性の確認を行うことになるが、例えば、Q51で示すように、不純物を0.2%含む製剤を用いて行った臨床試験において、最大用量の200 mg/dayでも安全性に問題が認められず、申請する製剤の用量は100 mg/dayとされる場合には、申請する製剤の当該分解生成物の限度値が臨床試験における分解生成物含量の2倍の0.4%に設定されたとしても、この臨床試験の結果から安全性が確認されたとすることができる（Q8参照）。

### Ⅲ. フローチャートに従った追加毒性試験の実施に関する事項

開発段階の臨床試験や安全性試験の結果では安全性の確認が十分でなく、新たにフローチャートに従って安全性確認のための追加毒性試験を実施する場合に関する事項

#### 遺伝毒性試験に関する事項

Q25：フローチャートでは、*in vitro*の遺伝毒性試験として突然変異試験と染色体異常試験が示されているが、それぞれ「細菌を用いる復帰突然変異試験」および「ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験」と解釈してよいか。また、ICHの遺伝毒性試験ガイドダンスに従って、「ほ乳類の培養細胞を用いる染色体異常試験」の代わりに「マウスリンフォーマTK試験」を用いて差し支えないか。

A25：解釈の通りでよい。また、「ほ乳類の培養細胞を用いる染色体異常試験」の代わりに「マウスリンフォーマTK試験」を用いて差し支えない。

Q26：フローチャートでは、遺伝毒性のための最小限のスクリーニング試験を実施すべきことが記載されているが、「最小限のスクリーニング試験」の意味を示して欲しい。

A26：ここで言う「最小限のスクリーニング試験」とは、不純物の遺伝毒性に関する安全性が確保される最小限の試験の意味であり、菌株数や処理の軽減を念頭に置いているものではない。したがって、原則として、ICHの遺伝毒性試験ガイドダンスを満たす試験内容とする必要がある。

Q27：フローチャートでは、遺伝毒性のための最小限のスクリーニング試験として突然変異試験と染色体異常試験が挙げられているが、両者とも必要か、

それともいずれか一方の試験でもよいか。

A27：原則として、両試験とも必要であり、それらの試験によって、遺伝毒性に関して安全性が確認できることが重要である（Q26 参照）。

Q28：遺伝毒性検出のための試験として、*in vitro* 染色体異常試験の代わりに *in vivo* の小核試験を実施してよいか。

A28：フローチャート記載の2つの *in vitro* 試験は、ハザードの検出という意味からも必要である。これを実施しないで *in vivo* の小核試験のみを行う場合は、*in vitro* の染色体異常試験の実施が不適切であるなどの試験の変更が妥当なことを示す必要がある。

Q29：*In vitro* の染色体異常試験の代わりに不定期 DNA 合成試験で評価してよいか。

A29：不定期 DNA 合成試験は、染色体異常誘発性を検出する方法ではなく、DNA 傷害性により誘導される反応を検出する試験であり、染色体異常試験の代替とはならないと考えられる。なお、安全性確認の追加データとして示すことは有用である。

Q30：不純物を含む原薬（製剤）について遺伝毒性試験を行う場合、その最高用量は原薬（製剤）の遺伝毒性試験と同様にせざるを得ないが、それでもよいか。

A30：基本的に原薬（製剤）の遺伝毒性試験の最高用量と同じにしてよい。ただし、類似化合物の構造などから推定して不純物の遺伝毒性が強く懸念される場合には、不純物を高濃度に含有する原薬あるいは不純物単体での遺伝毒性試験が必要になることもある。

Q31：単離した不純物で遺伝毒性試験を実施する場合、最高用量としてどの程度を設定すればよいか。

A31：原則として、遺伝毒性試験ガイドラインの最高用量設定に準ずることが望ましいが、ケースバイケースの判断も可能である。

Q32：不純物の安全性の確認で、「対象となる分解生成物を含む製剤又は原薬を用いて行う」とあるが、遺伝毒性試験に用いる場合、例えば、錠剤を粉碎し、DMSO などに懸濁しても賦形剤が多く残り、試験系への影響が懸念される。原薬の場合と異なり、製剤では分解生成物を単離して遺伝毒性試験をする必要はないのか。

A32：製剤であっても、常に分解生成物を単離して遺伝毒性試験を実施する必要はない。しかしながら、賦形剤が試験系に影響を及ぼすような場合は、単離した分解生成物を用いるか、適切な方法により賦形剤を除去することにより、試験を実施することが望ましい。実施方法については、ケースバイケースで適切な方法を採用すべきである。

Q33：遺伝毒性試験の結果は、規格値の設定にどのように反映したらよいか。特に、陽性の結果が出た

場合には、無影響濃度から設定することが可能か。

A33：遺伝毒性試験の結果が陰性の場合（安全性に懸念がない場合）には、実生産工程を反映したロット中の不純物含量の実測値を基に、安定性試験の結果を考慮して、品質の恒常性を担保できるようなレベルに限度値を設定すべきである（Q5 参照）。

一方、不純物に起因すると考えられる遺伝毒性が認められた場合には、原則として、まず、そのような不純物が含まれないようにするための方策を検討することが望ましい。その不純物の含有が避けられない場合は、無影響濃度や臨床での用法・用量などを総合的に考察し、安全性が確保できるレベルに限度値を設定する必要がある（Q2 参照）。

## 一般毒性試験に関する事項

### 1) 原薬、製剤共通の事項

Q34：不純物の安全性確認のためのフローチャートに従って、不純物の安全性確認のための追加毒性試験を実施する場合、一般毒性試験と遺伝毒性試験の両方が必要か。

A34：フローチャートには不純物の安全性確認のための一般的な指針が示されており、原則的には、一般毒性試験（反復投与毒性試験）と遺伝毒性試験の両者とも実施することが望ましいが、当該医薬品の特性などを考慮して、不純物の安全性を確認するのに最適と考えられる毒性試験を選択する。その他の特定の毒性試験を実施する必要があるかどうかについては、ケースバイケースで考慮すればよい。

Q35：不純物の安全性確認のためのフローチャートでは、「必要な場合、他の特定の毒性試験」の実施の必要性を考慮するとされているが、どのような場合にどのような試験が必要とされるのか、具体例を示して欲しい。

A35：当該不純物が、既知の毒性物質や患者に副作用を引き起こしたことがある物質に関連している（あるいは、類似している）ような場合には、その毒性学的特性に応じた試験の実施が必要である。また、用法に応じた試験の実施を考慮すべき場合もある（例えば、外用剤における皮膚一次刺激性試験、静注剤における血管刺激性試験、タンパク質などの高分子医薬品における抗原性試験など）。

Q36：不純物の安全性確認のために行う反復投与毒性試験に用いる動物の性および動物数はどのようにして決めたらよいか。

A36：原則として、非臨床医薬品ガイドラインに従う。なお、安全性確認済みの原薬（製剤）と安全性未確認の不純物を含む原薬（製剤）との毒性学的な比較が可能と判断される場合には、ケースバイケースで適切に対応することが可能である。

Q37：フローチャートの注 b) に「一般毒性試験を実施する場合には、安全性の未確認のものと安全性の確認済みのものの比較ができるような試験計画を立てる。」とあるが、必ず両者を同時に比較する試験

を行う必要があるか。

A37：原則的には、少なくとも1群の既知群を設定すべきであるが、使用動物、用量、投与期間などに留意し、科学的に妥当な比較が可能であれば、以前の試験結果との比較でもよい。

Q38：フローチャートに反復投与毒性試験の投与期間は最短14日間、最長90日間と記載されているが、臨床投与期間に対応した投与期間を設ける必要はないか。

A38：原薬（又は製剤）中の不純物について、その安全性を確認できるのであれば、臨床投与期間に対応した投与期間を設ける必要はない。

Q39：フローチャートに反復投与毒性試験の投与期間は最短14日間、最長90日間と記載されているが、投与期間はどのように決めればよいか。

A39：原則として、臨床投与期間および既知データ（毒性発現と投与期間の関連性）を考慮し、安全性確認済みの原薬（製剤）と安全性未確認の不純物を含む原薬（製剤）とを毒性学的に比較できるように投与期間を設定する。

Q40：臨床検査薬など、単回しか投与しない医薬品の場合でも、反復投与毒性試験が必要か。

A40：単回しか投与しないことが明らかな医薬品の場合は、単回投与毒性試験でよい。

Q41：従来実施していた単離した不純物での単回投与毒性試験は必要ないか。

A41：Q3A、Q3Bガイドラインでは特に要求されていない。

Q42：不純物の安全性確認のために行う反復投与毒性試験では、安全性確認の対象となる不純物の含量を特別に多くした試料で実施してもよいか。

A42：実施してもよい。Q46を参照のこと。

Q43：単離した不純物を用いて反復投与毒性試験を実施する場合、投与量はどのような基準で設定したらよいか。

A43：不純物の含量と、原薬の反復投与毒性試験における用量や臨床用量を考慮して用量を設定する。反復投与毒性試験や臨床試験で用いられた原薬中の不純物含量から考えて、あまりにかけ離れた用量を設定することは適切ではない。

Q44：不純物の安全性確認のために行う反復投与毒性試験では、TK測定は必要か。

A44：不純物に対するTK測定は原則として不要である。本ガイドラインの目的から考えて、不純物が確実に投与されたことが保証できるならば、生体内での不純物濃度の測定は必要ない。臨床用量においては不純物としての投与量は微量になるため、その生体内濃度は検出限界を下回ることが多いことが予想される。なお、単離した不純物を用いる場合は、

ケースバイケースで必要性を考慮する。

## 2) 原薬の試験に関する事項

Q45：Q3Aガイドラインには、7. 不純物の安全性確認の項では、「単離した不純物を用いて行ってもよい。」と肯定的な記載がある一方で、8. 新たな不純物の項では、「単離した不純物を用いる試験を行ってもよいが、このような試験は必ずしも臨床との関連性があるとは限らない。」と否定的な考え方も述べている。この両者の関係はどのように理解すればよいか。

A45：Q3Aガイドラインにおける安全性の確認（Qualification）の規定は、個々の不純物の毒性を評価することを目的としたものではなく、不純物を含んだ原薬を医薬品として用いることの妥当性を判断することを目的としている。したがって、臨床での使用に関連のある不純物を含む原薬で安全性の確認を行うのが原則とされている。技術上の問題から単離した不純物で試験を行う方が適切な場合もあるが、試験の結果を評価する際には、臨床での用量との関連について十分な考察が必要である。

Q46：不純物の安全性確認のための追加毒性試験としては、不純物を単離して行う方法よりも、不純物を含んだ丸ごとの原薬を用いて行う方法を推奨しているが、どのような試料を用いてどのように評価するのかを示して欲しい。例えば、加速条件下で得られた劣化品を用いて試験を行ってもよいか。

A46：規格に設定した規格値の上限のレベルでの不純物の安全性について十分評価できる場合には、必ずしも特別に処理した試料を用いて試験を行う必要はないが、それが困難な場合には、原薬を加速条件下あるいは苛酷条件下などで強制的に劣化させて不純物含量を高めた試料（劣化品）を用いて評価を行ってもよいが、劣化させるための処理により通常では認められない不純物が生成している可能性もあるので、評価の際には劣化品特有の不純物に起因する毒性に注意する必要がある。

Q47：「不純物の含量がQ3Aガイドラインで規定されている安全性確認の必要な閾値を超えるようになった場合、その存在レベルでの不純物の安全性の確認を行う。」とあるが、この「不純物の含量」とは、実生産工程を反映したロットでの新たな不純物の含量と考えてよいか。

A47：実生産工程を反映したロットにおいて安全性確認の閾値を超えて認められた全ての不純物について、その安全性を評価する必要がある。また、原薬の規格に設定した規格値の上限が安全性確認の閾値を超えている場合には、実生産工程を反映したロット中の不純物含量の実測値は閾値を超えていなくても、規格値の上限のレベルにおける当該不純物の安全性を確認する必要がある。

Q48：原薬を強制的に劣化させるなどにより、不純物含量の高い試料を意図的に作製し、これを用いて

反復投与毒性試験や遺伝毒性試験を行った場合、この試料中の不純物含量を基に規格値を設定してもよいか。

A48：適切でない。安全性に懸念のある場合（Q2 参照）を除いて、不純物の規格値は、実生産工程を反映したロット中の不純物含量の実測値とそのばらつきを基に、安定性試験の結果を考慮して、品質の恒常性を担保できるように設定すべきである。意図的に作製し、反復投与毒性試験や遺伝毒性試験に用いられた不純物含量の高い試料は、設定された規格値の上限のレベルにおける不純物の安全性を確認する目的にのみ用いるべきである。

Q49：新たな複数の不純物を含んだ原薬について不純物の安全性確認のための追加毒性試験を行い、原薬よりも毒性が強い、あるいは原薬とは異なる新たな毒性（あるいは、強い薬理作用）を示す所見が得られた場合には、これらの不純物の構造を明らかにする必要があるか。

A49：新たな不純物が含まれることにより、毒性が明確に増強された場合には、原薬中に強い毒性を有する不純物が出現したことが示唆されるため、これらの不純物を特定し構造を明らかにする必要がある。このような場合には、これらの不純物の含量を減らすか、新たな不純物を含む原薬で安全性試験を実施し、当該不純物の含量の実測値を基に設定した規格値の上限のレベルでの安全性を確認する必要がある。

### 3) 製剤の試験に関する事項

Q50：製剤中の分解生成物の場合、保存期間とともに増加することが考えられるが、例えば、加速条件や過酷条件下などで分解生成物を意図的に増加させた試料（劣化品）を用いて試験を行ってもよいか。

A50：製剤を加速条件下あるいは苛酷条件下などで処理して強制的に劣化させて分解生成物の含量を高めた劣化品を用いてその安全性の評価を行ってもよい。ただし、劣化品を用いる場合には、劣化させるための処理により通常では認められない分解生成物が生成している可能性もあるので、評価の際には劣化品特有の不純物に起因する毒性に注意する必要がある（Q46 参照）。

## IV. ケーススタディ

Q51：ある不純物を 0.2% 含む原薬を用いて製剤を造り、50, 100 および 200 mg/day の用量で臨床試験を実施した結果、安全性に問題がなかった。最終的に、申請医薬品の用量が 100mg/day となった場合、この臨床試験の結果からは、当該不純物の規格値としてはどの程度まで許容されるか。

A51：不純物の規格値は、実測値とそのバラツキを基に、安定性試験の結果を考慮に入れて設定し、臨床試験の結果は設定した規格値の上限のレベルにおける安全性の確認に用いるべきである（Q12 参照）。

本ケースでは、問題とされる不純物は、それぞれ 0.1mg/day (50mg/day x 0.2% = 0.1mg/day)、0.2mg/day および 0.4mg/day が投与されているので、

0.4mg/day のレベルまでは安全性が確認されたと考えてよい。したがって、申請医薬品の用量が 100mg/day となった場合、その医薬品の製造に用いる原薬中に当該不純物が 0.4mg/day まで含まれていても安全性に問題はないと考えることができるので、原薬中における当該不純物の規格値の上限が、実測値などに基づいて、 $0.4\text{mg/day} \div 100\text{mg/day} \times 100 = 0.4\%$  以下のレベルに設定されるのであれば、安全性が確認されたものと考えてよい（Q24 参照）。

Q52：単回投与毒性試験で使用した原薬ロットには、不純物 A が見かけ上（原薬と感度係数が同じと仮定して計算した値として）0.2% 含まれており、一方、反復投与毒性試験で使用した別の原薬ロットには、不純物 A はなく、見かけ上 0.3% の新たな不純物 B が含まれていた場合、不純物 A の規格値については単回投与毒性試験の結果を、不純物 B の規格値については反復投与毒性試験の結果を、それぞれ考慮して安全性の確認を行ってもよいか〔実生産工程を反映したロットでは、不純物 A および B がそれぞれ 0.2% 含まれており、規格設定不純物であるとする〕。

A52：実生産工程を反映したロットでは、不純物 A および B ともに 0.2% 含まれているわけであるから、その含量の実測値などに基づいて設定した不純物 A および B の規格値上限のレベルでの安全性を確認する必要がある。その場合、単回投与の医薬品を除いて、反復投与毒性試験の結果から、適切な安全域を確保して安全性を確認する必要があり、不純物 A を単回投与毒性試験で評価するのは適切とは言えない。

Q53：既に十分に安全性を確認できている原薬について、その後精査を行ったところ、有効成分の含量は 99% 程度と問題のないレベルであったが、5 種の不純物が各々 0.2% の含量で混在していたことが分かった場合、「試験に用いられた試料中に存在するレベルまでは安全性が確認されたものと考えてことができる。」と理解してよいか。

A53：不純物ガイドラインが求めているのは、不純物の規格に設定した限度値のレベルでの安全性を確認することを通じて、実際に患者に投与される不純物のレベルでの安全性を確保することである。上記の質問では、「既に十分な安全性を確認できている原薬」と「その後の精査を行ったときの原薬」ならびに「現在製造されている原薬」との間で、不純物プロファイルの同等性が確保されているという前提が成り立つ場合には、仮に、混在する 5 種の不純物の規格値をいずれも「0.2% 以下」に設定するのであれば、これらの不純物については安全性が確認されたものと考えてことができる。

Q54：原料の購入先を変更したら、原薬中に不純物が混在するようになった。製剤にも混入することになるが、この製剤は 1950 年代に認可された薬であり、どのような安全性試験が行われたか明らかでない。このような場合、どうしたらよいか。

A54：ICH の不純物に関するガイドラインは、直接

には、新有効成分含有の原薬ならびに製剤を対象としたものであり、既承認の原薬を用いて製造される製剤は対象外と考えられる。しかしながら、上記のように混在の事実が把握できた場合には、何もしないのは適切な対応とは言えず、情報をできるだけ集めて、混在するようになった不純物が安全性の点で問題としなくてもよいものかどうか、評価を試みるべきであろう。その結果、安全性について懸念があることが分かった場合には、一変などにより、原薬に当該不純物の規格を設定する必要がある。

なお、新剤形医薬品を開発した場合の新たな分解生成物については、Q3B ガイドラインに準じて、規格値の設定ならびに安全性の確認を考慮すべきである(Q21 参照)。

Q55:「安全性試験や臨床試験に用いられた原薬のロット中に存在するよりも高いレベルの不純物を含む場合についても、既に行った適切な安全性試験や臨床試験において実際に投与された不純物の量を求め、それに基づいて考察することにより安全性の確認を行うことができる。」とあるので、例えば、0.5%の不純物 A を含む新原薬で安全性試験や臨床試験が行われていて、安全性に問題がなかった場合は、実生産工程を反映したロット中の不純物 A の含量が、安全性確認の必要な閾値を超えていても、開発段階のロットと同程度以下(0.5%以下)であれば、安全性を確認するための新たな試験は必要ないと考えてよいか。

A55: このケースでは、不純物 A の安全性については、開発段階の臨床試験から 0.5%のレベルまでは確認できていると考えられるので、不純物 A の規格値を「0.5%以下」と設定するのであれば、安全性を確認するための新たな試験は必要ないと考えられる。

しかしながら、通常行われるように、実生産工程を反映したロットの実測値とそのばらつきを基に、安定性試験の結果を考慮して、例えば、規格値を「1.0%以下」と設定するのであれば、規格値の上限のレベル(1.0%)における不純物 A の安全性は、まだ確認されていないことになり、安全性を確認するための新たな試験が必要とされる。

## V. 用語の定義

本Q&Aで使用されている用語の定義を示す:

**閾値:** Q3A、Q3B ガイドラインの threshold の訳語である。

**限度値:** 規格限度値の意味で用いている。閾値のことではない。

**安全性試験:** 開発段階で行われる原薬あるいは製剤自体の安全性を評価するための毒性試験を指す。本Q&Aでは、「フローチャートに従った不純物の安全性確認のための追加毒性試験」とは区別して用いている。

**1日総投与量:** Q3A、Q3B ガイドラインでは、不純物について、1日当たりの投与量(1日総投与量)を基に、その安全性について考察することが求められている。

## 8. 新しい品質規格を用いた製品の評価法

医薬品の製造・輸入業者は医薬品の新規あるいは一部変更の承認申請を行う際、申請者は申請内容を薬事法施行規則の様式に従い規制当局に提出しなければならない。承認申請書には品質に関わる事項として、申請内容に応じ、「成分及び分量又は本質」欄、「製造方法」欄、「貯蔵方法及び有効期間」欄、及び「規格及び試験方法」欄への記載が要求されている。一方、承認申請に当たっては、有効成分の種類、投与経路、剤形などに応じて定められた資料を提出し、その時点における医学薬学等の学問水準に基づき、倫理性、科学性及び信頼性の確保された資料により申請に関わる品質、有効性、安全性を立証するための根拠を示さなければならない。新有効成分含有医薬品の場合、品質に関する資料として提出を要する資料は、物理的・化学的性質並びに規格及び試験方法等に関する資料及び安定性に関する資料である。前者には 1.構造決定、2.物理的・化学的性質等、3.規格及び試験方法の資料が、後者には 1.長期保存試験、2.苛酷試験、3.加速試験の資料が必要である(平成11年4月8日医薬発481)。

一方、昨年日米EU医薬品規制調和国際会議(ICH)合意に基づき、「生物薬品(バイオテクノロジー応用医薬品/生物起源由来医薬品)の規格及び試験方法の設定」に関するガイドラインが発出される等、生物薬品に関して規格設定の考え方が新しくなりつつある。

本研究では ICH ガイドラインなどを基に生物薬品の承認申請に際して主に添付資料に記載すべき品質に係る事項に関して検討を行った。又併せて資料概要及び申請書に記載すべき事項に関して、それらの文書の位置付けとともに検討した。

### 8.1 品質確保の基本的な考え方

バイオテクノロジー応用医薬品/生物起源由来医薬品(以下生物薬品)の品質は①十分な当該医薬品の特性解析、②非臨床試験・臨床試験・安定性試験で用いたロットの理化学的および生物化学的分析、③適切な規格及び試験方法の設定、④製造工程の評価と工程内管理試験の設定、⑤製造工程のGMPに基づく管理により確保される(Fig.26)。さらに、特に定められた生物医薬品に関しては、製造後に検定の対象となる。これらの各項目は相互に関連しており、十分な医薬品の特性解析、ロット分析は医薬品の規格試験法が適切に設定される前提である。生物薬品の品質の恒常性は、その医薬品の持つ本質的な多様性から、医薬品(原体または製剤)の規格及び試験方法のみでは確保し得ず、適切に評価された製造工程が伴って初めて保たれる。製造工程を十分に評価し、重要中間体・重要工程が明確にされ、必要な工程内管理試験を設定することが重要である。一方、適切に工程内試験が設定される事により、ある種の規格及び試験方法は省略しうる場合がある。

従って、最終製品の規格及び試験方法のみならず、製造工程に関しても、申請に際しては十分な資料が



提出される必要がある。

## 8.2 生物薬品の承認申請に際し添付資料において留意すべき事項に関する考察

生物薬品の承認申請に際して添付資料に関して留意する事項を各項目ごとに考察する。なお、生物薬品は極めて多様であり、原則として個々の医薬品によって添付される資料は異なると考えるべきである。ここでは、主としてバイオテクノロジー応用医薬品を想定し、記載すべき標準的な事項を考察した。

### (1) 全般的事項

生物薬品に関しては品質確保に際して特にケースバイケースの判断が要求される。その際の考慮すべき指針として各種の ICH ガイドラインが通知されている。それら通知に沿って品質確保の措置が図られていることを確認する事が重要である。

### (2) 構造及び特性

#### (2.1) アミノ酸配列

①全アミノ酸配列、②ジスルフィド結合(Cys-S-S-Cys)の位置、③糖鎖付加等の翻訳後修飾、④糖や脂質等のアミノ酸以外の構成成分がある場合は、その組成及び構造(調べられているのであれば、アミノ酸等との結合部位も)を明らかにする。アミノ酸配列に関しては、ペプチドマッピングを実施し、エドマン分解やマスペクトルにより、原則として全領域のアミノ酸配列を決定するか、あるいは極めて高い精度で塩基配列から推定されるアミノ酸配列と一致している事を明らかにする必要がある。糖鎖付加等の翻訳後修飾も、ICH ガイドライン Q6B で規定している目的物質の恒常性を明らかにするためにも必須の情報である。

#### (2.2) 特性

生物活性を含む特性に関する情報の記載が必要である。また、海外において承認申請中または承認されている同種の生物薬品がある場合には、その使用状況、副作用の発生状況等について詳細に記載する。

### (3) 製造方法

生物薬品の品質の恒常性は適切に評価された製造工程により確保されることから、製造方法の詳細をわかり易く示す事は極めて重要である。以下、(3.1)および(3.3)から(3.8)においてセルバンクの調製までに留意すべき事項を記載した。医薬品製造用細胞基材(以下細胞基材)中に含まれる遺伝子発現構成体の性質、細胞基材の特性や関連する事項が医薬品の性質や安全性に大きな影響を与える。各項目の内容は、(3.8)を除きいずれも ICH ガイドラインで要求されている事項である。

また、(3.2)で生物起源由来物質の安全性確保情報の記載に関する留意事項を、(3.9)、(3.10)で培養および精製工程の記載に関する留意事項を記載した。

#### (3.1) 目的物質の構造遺伝子(遺伝子組換え技術応用医薬品、一部の細胞培養技術応用医薬品)

全塩基配列、由来、特徴、単離又は合成方法に関して、適切な情報を記載する。

#### (3.2) 生物由来医薬品における生物材料

起源(採取部位、採取方法も含めて)、由来、材料中に混在する可能性のあるウイルス等に関する適切な情報が記載され、必要に応じて、適切な方策がとられている事を記載する。ヒト・動物由来成分やウシ等反芻動物由来物が原料に用いられている場合並びに細胞・組織利用医薬品やヒト由来細胞・組織加工医薬品については、各種関連通知に準拠した適切な対応をしている事を記載する。生物起源由来物質は基本的には未知の危険因子を含むことを前提とすべきであり、その個々の医薬品に応じた適切な処置が必要である。

#### (3.3) 宿主(遺伝子組換え技術応用医薬品)、種細胞(細胞培養技術応用医薬品)

由来、特徴(病原性、毒素産生性、生存能力、栄養要求性、薬剤耐性の有無等)に関して、十分な情報を記載する。

#### (3.4) ベクター(遺伝子組換え技術応用医薬品)

由来(起原、入手方法、構築方法)、特徴(サイズ、制限酵素地図、薬剤耐性遺伝子、栄養要求性、複製単位、伝達性、プロモーター等)に関して、十分な情報を記載する。

#### (3.5) 発現ベクター(遺伝子組換え技術応用医薬品)

構築方法を適切かつ具体的に記載する。ベクター以外に由来する DNA 断片(目的物質の構造遺伝子以外)が含まれている場合は、その由来、特徴(例えば、制限酵素地図、発現調節機構、薬剤耐性遺伝子等)を記載する。

#### (3.6) 組換え体(種細胞株)(遺伝子組換え技術応用医薬品)

宿主への遺伝子導入方法、組換え体の選択及び同定方法、並びに種細胞株確立までの操作に関して、具体的に記載する。組換え体の性質に関する必要な情報を記載する。

#### (3.7) セル・バンク・システム

マスター・セル・バンク(MCB)、ワーキング・セル・バンク(WCB)の作製・更新・保存方法を具体的に記載する。さらに MCB、WCB の管理試験(例えば、構造遺伝子の全塩基配列確認、制限酵素消化パターンの確認、目的物質の生産性、増殖能、薬剤耐性、栄養要求性、発現ベクター保持率、異種微生物試験または微生物否定試験、ウイルス否定試験等)の試験方法、判定基準及び実測結果を具体的に記載する。In vitro 細胞齢の上限まで培養された細胞(CAL)を用いた遺伝的安定性、ウイルス等汚染評価及びそれらを踏まえた培養条件の妥当性を記載す

る。

### (3.8) ウイルス・バンク・システム

マスター・ウイルス・バンク(MVB)、ワーキング・ウイルス・バンク(WVB)の作製・更新・保存方法および管理試験の試験方法及び判定基準、実測値を具体的に記載する。遺伝子治療用医薬品やワクチンの製造時にバンク化されたウイルスが使用される場合にはウイルスに関してもバンクシステムの作製管理に関する情報の記載が必要と考える。

### (3.9) 培養工程

①MCB から主培養工程に至る過程の具体的な培養条件(例えば、接種細胞数、培地組成、培養スケール、培養温度、培養時間等)、②培養上清又は菌体の回収・保存方法、③主培養工程における工程内管理試験及び規格値/適否の判定基準、④精製工程への受入れ基準を適切に設定し、記載する。

### (3.10) 精製工程

①適切な精製段階における精製の状況(回収率、精製率、活性収率、比活性等)、②不純物(混入微生物等、外来性因子を含む)の除去効率、③発現産物の化学的・酵素的処理方法と最終目的物の単離方法(実施されている場合)を記載する。また、ヒト・動物由来の製品である場合、又はヒト・動物細胞を用いて製造されている場合には、ウイルスクリアランス評価試験の結果を記載する。

精製中間体の適切に設定された保存条件及びCritical stepでの適正に設定された工程内管理試験及び規格値/適否の判定基準に関して記載する。

### (4) 構造決定並びに物理的・化学的及び生物学的性質等

#### (4.1) 構造・組成

アミノ酸組成(予測される組成に一致していること)及びアミノ酸配列(遺伝子の塩基配列から推定される配列に一致していること)を記載する。例えば、N末端アミノ酸配列分析、C末端アミノ酸分析、ペプチドマッピング、アミノ酸組成等の解析結果、ジスルフィド結合の位置と数を記載し、目的の構造に一致している事を確認する。必要であれば、翻訳後修飾、アミノ酸以外の成分に関して組成・構造を確認し、記載する。

#### (4.2) 物理的・化学的性質

①分光学的性質(UV等)、②等電点(等電点電気泳動、等電点クロマトグラフィー等)、③分子量(SDS-PAGE、サイズ排除クロマトグラフィー、質量分析等)、④高次構造(CD等)に関する検討結果を記載する。また電気泳動パターン(PAGE、SDS-PAGE等)及び各種クロマトグラムを記載する。

#### (4.3) 免疫化学的性質

同一性、均一性や純度検定、定量等に应用する際

の免疫学的手法(イムノアッセイ、免疫電気泳動、中和反応等)を適切に実施する。上記試験法及び精製に抗体を用いた場合は、その抗体の作製法、免疫学的性質を記載する。

抗体が目的物質の場合、その免疫学的性質(例えば、親和性、交叉反応性)を十分に特性解析する。さらに関連するエピトープを有する標的分子を生化学的に規定し、可能であればエピトープ自身を規定し、記載する。

#### (4.4) 生物学的性質

目的物質の有する生物学的性質(*in vitro*での知見、*in vivo*での知見)を記載する。代表的な生物学的活性評価法として、臨床効果を可能な限り反映した適切な方法を設定する。比活性を既存薬や文献値と比較し、問題がないことを明らかにする。

#### (4.5) 苛酷条件下での変化

苛酷条件下で生じる目的物質の変化(物理的・化学的性質、生物活性等)を記載する。

#### (4.6) 不純物

最終産物に混入する可能性のある不純物の除去状況又は混在状況、並びに毒性及び副作用との関連性に関する考察等を記載する。

### (5) 規格及び試験方法

1)原薬及び製剤に関して、医薬品の品質の恒常性を担保する上で、適切な規格項目、試験方法及び規格値/適否の判定基準を設定する。

規格に設定することを考慮すべき項目の例を以下に挙げる。ただし、これ以外の項目についても、規格化が必要な場合があるし、逆に、項目によっては、規格化の必要がない場合もある。また、工程内管理試験の内容や工程バリデーションの結果によっては、規格化が不要となる項目もある。

①起原又は本質、②性状、③確認試験(例えば、理化学的試験、生物学的試験、免疫化学的試験)、④1次構造確認試験(アミノ酸組成分析、末端分析、ペプチドマッピング等)、⑤糖鎖等、アミノ酸以外の構成成分に関する組成・構造(特に、生体内での有効性、安全性に関わる項目)、⑥示性値(pH、浸透圧比等)、⑦純度試験(目的物質関連物質、不純物(例えば、分解・変化物、宿主由来たん白及び宿主DNAを含む))、⑧乾燥減量又は水分、⑨強熱残分、灰分又は酸不溶性灰分、⑩エンドトキシン試験(又は発熱性物質試験。特段の理由がない限り、エンドトキシン試験を優先して設定する)、⑪無菌試験、⑫異常毒性否定試験、⑬その他の製剤試験(不溶性異物検査、不溶性微粒子試験、実容量試験、質量偏差試験等)、⑭含量、定量法

2)規格試験に用いられる標準品、標準物質について詳細を記載する。新規生物薬品の場合、国際あるいは国内標準品が設定されておらず、自家標準物質を設定しなければならないケースが殆どであり、自家標準物質を確立するまでの経緯と更新する際の手続

きに関してわかりやすい説明が必要である。例えば、目的物質がバイオテクノロジー応用たん白性医薬品で、自家標準物質を確立している場合、資料概要の記載は、以下の記載例を参考にする。

#### <記載例>

##### ①自家一次標準物質

記載内容例：自家一次標準物質を確立した目的

###### (i)初代自家一次標準物質

記載内容例：確立方法、ロット番号、実測値(品質、特性解析結果)\* \*\*、国際標準品(天然型)があればそれとの関係(活性単位等)

###### (ii)更新された自家一次標準物質の実測値

記載内容例：実測値(規格試験項目以外の品質、特性解析結果もあれば示す)\* \*\*

###### (iii)自家一次標準物質の規格及び試験方法

記載内容例：作製・更新方法、規格及び試験方法\*\*\*、規格項目設定根拠及び規格値設定根拠の妥当性、貯蔵方法及び有効期間

##### ②自家常用標準物質

記載内容例：自家常用標準物質を確立した目的

###### (i)自家常用標準物質の実測値

記載内容例：実測値(規格試験項目以外の品質、特性解析結果もあれば示す)\* \*\*

###### (ii)自家常用標準物質の規格及び試験方法

記載内容例：作製・更新方法、規格及び試験方法\*\*\*、規格項目設定根拠及び規格値設定根拠の妥当性、貯蔵方法及び有効期間

\*：必要に応じて試験方法も追記

\*\*：自家一次標準物質又は自家常用標準物質の規格及び試験方法が、原薬、製剤等の規格及び試験方法とほぼ同様であっても、試験方法中、例えば比較対照に用いた物質が異なる等の相違点がある場合には、それらの点は省略せずに明示すること。規格値/適否の判定基準については必ず明示すること

\*\*\*：自家一次標準物質又は自家常用標準物質を更新する場合の規格及び試験方法

##### (6)製剤設計

活性保持等を目的として製剤学的に工夫がなされている製剤については、製剤設計に関する検討結果及び最終的な処方に至った経緯を説明する。また、原薬についても、添加物や緩衝化剤等、活性保持等を目的とした工夫がされている場合には、その処方の根拠及び目的を説明する。

##### (7)安定性

貯蔵方法、有効期間は、長期保存試験の成績を踏まえて設定する。また、各種規格値設定時に安定性試験成績を考慮している場合、原則として長期保存試験成績を用いていることが必要である。長期保存試験及び加速試験を行う際に、試験項目として当該医薬品の特性を考慮した試験項目を設定するとともに適切な試験方法を選択する。

なお、生物薬品は低温保存される場合が多い。医療現場での利便性を考えて一時的に室温で保存することを想定するケース、あるいは凍結乾燥注射剤を注射用水などで再溶解して使用するケースなどでは、その医療現場での想定される使用実態に応じた条件において十分な安定性の確認を行なう。

#### 8.3 申請書記載事項に関する考察

我が国の薬事制度では、医薬品の製造販売に関わる規制は「承認」と「許可」の2段階で実施されている。「承認」によりその物が医薬品として保健衛生上適当かどうかの点について判断がなされる。一方、「許可」により、その物が実際に製造可能かどうか判断され、承認を受けていなければ、その品目の製造・輸入許可は与えられない。

製造許可は構造設備、品質・製造管理などが基準に適合しており、当該医薬品を実際に製造できることを確認して与えられる。製造承認申請をおこなう段階では実生産レベルのデータは要求されず、実生産を反映したパイロットレベルのデータに基づいて申請してよいとされている(Fig.27)。

薬事法で承認対象とされている事項は承認申請書記載事項である。従って、製造工程に関しても承認を要すると判断される事項は添付資料中の記載だけではなく、承認申請書に記載しなければならない。一方、製造スケールに関わるパラメーターなどについては、添付資料でパイロットレベルのデータを詳細に記載したとしても、申請書には必ずしも記載を要しない。なお、承認申請書記載事項の一部を変更するにはその変更部分について予め承認を求めなければいけないことに注意する必要がある。

その他、申請書作成に当たって、下記の事項に留意する。

- 1)資料概要中の記載との整合性
- 2)原薬及び製剤の製造方法として、資料概要に記載されている必要事項を詳細に記載する。また、品質の恒常性維持のために必要な工程内管理試験の試験方法及び判定基準を製造方法の一部として記載する(存在する場合)
- 3)血液製剤においては、原材料として用いる血液の別(国内献血由来血液、輸入血液)を記載する。

#### 8.4 添付資料概要記載事項に関する考察

我が国では新医薬品は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(以下審査センター)における審査ならびに審議会(薬事・食品衛生審議会薬事分科会)を経て、厚生労働大臣が承認する。審議会では資料概要と審査センターが作成した審査報告書に基づき審議が行なわれる。審議会資料として以外にも以下の点で資料概要は意義が大きい。即ち、審査センターの審査官は資料概要を申請資料の全体を概観するために用いている。適切な概要を用いる事により、承認後においても承認申請された各新医薬品間の比較が容易となり、評価の適正化を図ることができる。

審議会での審議に供するため、又審査の効率化、適正化のためにも、添付資料概要には、結論のみの記載に留まらず、「2.生物薬品の承認申請に際し添付資料において留意すべき事項に関する考察」の内容に関して可能な限りデータを示して記載すべきである。

## 9. 新しい品質評価基準の公定規格への反映—薬局方国際調和—

薬局方は、我が国のみならず欧米諸国においても、世紀を越えて医薬品の品質評価基準の基本とされているものであり、その国際調和はICHにおいても当初から医薬品品質分野の最重要課題とされているものである。日米欧の薬局方国際調和は、ICHに先立ち、1990年に日米欧の薬局方の自主的な活動として開始され、一般試験法（理化学試験法、製剤試験法、微生物関連試験法、物性試験法及びバイオ医薬品関連試験法）及び医薬品添加剤各条について、12年余りにわたり継続されている。

本研究は、薬局方国際調和の最近の動向を調査、整理するとともに、調和成果の日本薬局方への反映における問題点を考察し、国際的動向を踏まえた医薬品品質評価に欠くことの出来ない国際調和された新しい品質評価基準の日本薬局方への反映の推進に資することを目的として行った。

### 9.1 薬局方国際調和の概要

薬局方調和は、日米欧の薬局方が1990年2月に会合して薬局方検討会議（Pharmacopoeial Discussion Group, PDG）を組織して以来、ほぼ半年毎に会合を持ち、薬局方調和の方針、手順、調和項目の選定等薬局方調和の推進に必要な事項を協議するとともに、調和項目別の調和進捗状況を確認し、より効率的な薬局方調和の推進を図っている。

薬局方調和は、現在80前後の項目について進められている。医薬品添加物各条の調和から始まった薬局方国際調和は、その後原薬及び製剤の試験に用いられる一般試験法にも対象を拡大し、微生物試験法、理化学試験法、製剤試験法、物性試験法、生物薬品関連試験法の調和も進められている。一般試験法のうちのICH品質規格ガイドライン（Q6A Guideline）策定に関連して医薬品業界団体からの強い調和要望があった試験法調和の一部については、ICH品質専門家会合の協力の下に、三極調和がはかられた。

薬局方国際調和の第一段階ともいえる当初の約10年間は、試行錯誤期間ともいうべき期間であり、関係者の努力にもかかわらず、各薬局方が置かれている環境やその編纂方針の大きな違いが障害となり、調和の成果がほとんど形に現れることなく経過し、PDGは薬局方利用者から十分な成果が見られないとの評価を受けることとなった。PDGは、このような状況を打破し薬局方利用者に関与する薬局方調和とする方策として、それまでの全面的な調和を目指す方向にとらわれることなく、調和が困難な部分を明示的に除外した部分的調和という現実的な方針に方

向変換し、薬局方国際調和推進をはかることとし、その成果をあげ始めている。これとともに、薬局方利用者の一翼を担う医薬品業界団体との連携による調和の推進も緒についている。

なお、薬局方調和は、原則として専門家の会合によることなく、薬局方間の文書による意見交換によりPDGにおいて合意された手順に沿って進められ、PDG会合において進捗状況を確認し、調和の推進に必要な措置をとることとしているが、文書交換では調和困難な問題が専門家の会合において解決を見た経験から、今後は必要に応じた専門家会合の開催を視野に入れている。

薬局方調和の方針、手順、及び調和の現状は、次のとおりである。

### 9.2 薬局方国際調和の方針

PDGは1994年に「薬局方国際調和の方針」をまとめ、公表した（日本薬局方フォーラム4巻4号65頁）。これによると、PDGによる薬局方国際調和は、各薬局方の考え方、試験方法、判定基準、医薬品各条を一致させることが最終目的であり、その重要性は認識するが、一致が困難な現実を踏まえ「調和(harmony)であり、必ずしも一致(unison)ではない」とし、一致に到達できない場合には、客観的な同等性(objective comparability)と薬局方間の差異を明確にして調和するとされている。しかし、「客観的な同等性」の理解には幅があり、調和後の薬局方間互換性に問題を生じかねないことから2000年6月に「医薬品の適否判定に差異を生じない試験結果が得られること」を判断基準として調和することを申し合わせた。

薬局方国際調和の透明性の確保については、調和案を各薬局方の定期刊行物に掲載し、周知をはかるとともに、調和案に対する薬局方利用者の意見を集め、調和に反映することとしている。また、我が国においては、合意署名文書は写真版で日本薬局方フォーラムに掲載されている。

なお、「薬局方国際調和の方針」は、公表以来8年を経過しており、その間に「全面調和」から「部分的調和」への方向変換のみならず、PDG、各薬局方及びそれらの環境にも様々な変化があったため、薬局方国際調和の現状に整合しない面があるとの指摘もあり、2002年中に見直しを開始することとされている。

### 9.3 薬局方調和の手順

1999年4月に改定合意された調和手順の概要は次のとおりであるが、再改定が検討されており、早ければ2002年中に再改定合意が見込まれる。

各項目の調和に要する連絡調整はPDGが項目毎に指定する薬局方（Coordinating Pharmacopoeia, CP）が担当することとされている。なお、PDGが関与するのはStage 5迄であり、Stage 6以降は各薬局方がそれぞれの薬局方所定の改正手順により進めることとされている。