

- 冊、特別企画、pp.137-144 (2003), (株)じほう、東京
- 26) 早川堯夫: バイオ創薬におけるレギュラトリーサイエンスの新展開、衛研報告、121、(2003)
- 27) 早川堯夫: バイオテクノロジー応用医薬品、臨床試験、内藤周幸編、pp.155-179 (2003)、薬事日報社、東京
- 28) 早川堯夫、石井明子: バイオ医薬品の現状と将来、*J.Integrated Med.*, 14(2)、142-143 (2004)
- 29) 早川堯夫、石井明子: 組換え医薬品、薬学教科書シリーズ (日本薬学会編)、東京化学同人、東京 (印刷中)
- 30) 早川堯夫、永田龍二: 細胞・組織加工医薬品・医療機器の品質管理、*Clinical Neuroscience (in Japanese)* 21(10)、1195-1197 (2003)
- 31) 早川堯夫、永田龍二: バイオリジクスの品質と安全性評価、薬の安全性 (長尾 拓編)、南山堂、東京 pp.33-51 (2004)
- 32) 水口裕之、早川堯夫: 遺伝子機能解析のための遺伝子導入ベクター - ウイルスベクターを中心として、蛋白質核酸酵素、48、1653-1662 (2003)
- 33) 水口裕之、早川堯夫: アデノウイルスベクター: 最近の進歩、分子細胞治療、2、200-207 (2003)
- 34) 水口裕之、早川堯夫: アデノウイルスベクター: *Mebio*、21(4)、8-16 (2004)
- 35) 川崎ナナ、橋井則貴、伊藤さつき、日向昌司、川西 徹、早川堯夫: LC/MS を用いた糖鎖プロファイリングによるグライコーム解析、*J. Electrophoresis*、48、5-10 (2004)
- 36) 川西 徹、松木 滋: 品質にかかわるトピックの動向 - Q5E: バイオ医薬品のコンパラビリティ、医薬品研究、34、508-512 (2003)
- 37) 山口照英、内田恵理子: 生物薬品のウイルス安全性確保を目的とした核酸増幅検査 (NAT) のフィージビリティスタディ; 医薬品研究、34(12)、763-769 (2003)
2. 学会発表
- 1) 早川堯夫: バイオ医薬品における製造法変更の諸問題、第9回動物細胞工学シンポジウム、日本細胞動物工学会、2003年4月22日、東京工大、東京
- 2) 早川堯夫: 生物由来製品、第41回JAPIC講演会、(財)日本医薬情報センター (JAPIC)、2003年7月28日、薬学会館、東京
- 3) 新見伸吾、押澤 正、山口照英、原島 瑞、関泰一郎、有賀豊彦、川西 徹、早川堯夫: ラット肝細胞におけるアネキシンⅢの特異的な発現 第10回 肝細胞研究会 (2003年7月)
- 4) 原島 瑞、新見伸吾、長岡陽子、関泰一郎、有賀豊彦、川西 徹、早川堯夫: 初代培養ラット肝細胞においてプロテアソーム特異的阻害剤であるラクタシスチンはグルココルチコイド依存的なチロシンアミノトランスフェラーゼの誘導を阻害する 第10回 肝細胞研究会 (2003年7月)
- 5) Akiko Ishii-Watabe, Eriko Uchida, Akiko Iwata, Kouei Sato, Kejun Fan, Mitsuhiro Murata, Hiroyuki Mizuguchi, Nana Kawasaki, Toru Kawanishi, Teruhide Yamaguchi, Takao Hayakawa: Detection of Replication-Competent Adenoviruses Spiked in Recombinant Adenovirus Vector Products by Infectivity-PCR Combined with Glass Beads-Based DNA Extraction. 第9回遺伝子治療学会; 2003年7月
- 6) 川崎ナナ、早川堯夫: LC/MS を用いた糖鎖のプロファイリングと構造解析. 第53回電気泳動学会シンポジウム (2003年、大阪)
- 7) 川崎ナナ、伊藤さつき、蜂須賀暁子、橋井則貴、澤田純一、川西 徹、早川堯夫: 2次元電気泳動及び LC/MS を用いたグライコーム解析. 科学研究費補助金特定領域研究「糖鎖によるタンパク質と分子複合体の機能調節」第一回夏期シンポジウム (2003年、浜松)
- 8) 川崎ナナ: 糖タンパク質の質量分析. 横浜バイオテクノロジー懇談会平成15年度第1回リカレント講座「マススペクトロメトリーとプロテオミクス-蛋白質研究の最前線」(2003年8月、横浜)
- 9) 早川堯夫: バイオリジクスのトランスレーションリサーチにおける基本的要素、創薬薬理フォーラム第11回シンポジウム、2003年9月4日、東京
- 10) 早川堯夫: 創薬研究に役立つ改良型アデノウイルスベクター、創薬薬理フォーラム第11回シンポジウム、2003年9月5日、東京
- 11) Nana Kawasaki, Noritaka Hashii, Jin Yuan, Satsuki Itoh, Akira Harazono, Akiko Ishii, Toru Kawanishi, Takao Hayakawa: Isotope tag method for quantitative oligosaccharide analyses by LC/MS. 第76回日本生化学会大会 (2003年10月横浜)
- 12) Noritaka Hashii, Nana Kawasaki, Satsuki Itoh, Masashi Hyuga, Toru Mawanishi, Takao Hayakawa: Oligosaccharide profiling of cell membrane by LC/MS. 第76回日本生化学会大会 (2003年10月横浜)
- 13) Satsuki Itoh, Nana Kawasaki, Akiko Hachisuka, Reiko Teshima, Jun-ichi Sawada, Toru Kawanishi, Takao Hayakawa: Analysis of IgLON family protein in rat brain by gel electrophoresis and capillary LC/MS. 第76回日本生化学会大会 (2003年10月横浜)

- 14) Niimi S, Oshizawa T, Yamaguchi T, Harashima M, Seki T, Ariga T, Kawanishi T, Hayakawa T: Specific expression of annexin III in rat small hepatocytes. 第76回日本生化学会大会 (2003年10月)
- 15) Harashima M, Nagaoka Y, Niimi S, Seki T, Ariga T, Kawanishi T, Hayakawa T: The mechanism of inhibition of dexamethasone-dependent induction of tyrosine aminotransferase activity by lactacystin, a proteasome specific inhibitor. 第76回日本生化学会大会(2003年10月)
- 16) Kayoko Takagi, Reiko Teshima, Haruyo Okunuki, Satsuki Itoh, Nana Kawasaki, Toru Kawanishi, Takao Hayakawa, Jun-ichi Sawada: Digestive stability and allergenic potential of chicken egg white ovomucoid and their pepsin-fragments. 第76回日本生化学会大会 (2003年10月)
- 17) Teruhide Yamaguchi: Update of gene therapy in Japan. The 6th International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, Osaka, November 12, 2003
- 18) Teruhide Yamaguchi: Adenovirus Reference Material - Detectuion of RCA and AdV by Infectivity PCR. The 6th International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, Osaka, November 12, 2003
- 19) Takao Hayakawa: New Challenging Areas of Biologicals and Related Issues, The 6th International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, Osaka, November 15, 2003
- 20) Toru Kawanishi: "The Key Role of Characterization and Analytical Results in Comparability", The 6th International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (2003.11)
- 21) 早川堯夫: 米国における新薬開発の動向、第3回創薬基盤技術の開発に関するシンポジウム、大阪府/大阪医薬品協会、2003年11月18日、大阪
- 22) 山口照英: ウイルス検出に関するNATガイドライン。第3回日本医薬品等ウイルス安全性研究会シンポジウム(2003年12月)
- 23) 内田恵理子: 遺伝子治療薬に混入する可能性のある増殖性ウイルスの迅速・高感度検出法の開発。第3回日本医薬品等ウイルス安全性研究会シンポジウム(2003年12月)
- 24) 早川堯夫: バイオロジクスのウイルス安全性、第18回ヒューマンサイエンス総合研究セミナー、HS財団、2004年1月20日、東京
- 25) 早川堯夫: バイオロジクスの進展に向けて: バイオロジクスフォーラム第1回学術集会(2004年2月)
- 26) 川西 徹: ICH-Q5E-国際調和ステップ2ガイドライン、バイオロジクスフォーラム第1回学術集会(2004年2月)
- 27) 川崎ナナ: 糖鎖関連医薬品の現状と課題。第3回糖鎖科学名古屋拠点研究会(2004年、名古屋)
- 28) 早川堯夫: 国際化時代におけるバイオ創薬の推進とレギュラトリーサイエンス、第123回日本薬学会年会、2004年3月29日、大阪
- 29) 川崎ナナ: 糖タンパク質性医薬品の質量分析。日本薬学会第124年会(2004年3月大阪)
- 30) 橋井則貴、川崎ナナ、伊藤さつき、日向昌司、川西 徹、早川堯夫: 糖鎖プロファイリングを用いた差異解析に基づくグライコム解析。日本薬学会第124年会(2004年3月大阪)
- 31) 伊藤さつき、川崎ナナ、橋井則貴、蜂須賀暁子、手島玲子、澤田純一、川西 徹、早川堯夫: 2次元電気泳動とLC/MSを用いたラット脳内 GPI アンカー型タンパク質の解析。日本薬学会第124年会(2004年3月大阪)
- 32) 原園 景、川崎ナナ、川西 徹、早川堯夫: LC/MS/MSによるapolipoprotein B100の部位特異的糖鎖構造解析。日本薬学会第124年会(2004年3月)
- 33) 石井明子、内田恵理子、岩田明子、永田龍二、佐藤功栄、Kejun Fan, 村田充弘、水口裕之、川崎ナナ、川西徹、山口照英、早川堯夫: アデノウイルスベクターに混入する増殖性アデノウイルスの迅速高感度検出法の開発。日本薬学会第124年会(2004年3月)
- 34) 早川堯夫: 国際化時代におけるバイオ創薬の推進とレギュラトリーサイエンス、第123回日本薬学会年会、2003年3月29日、長崎

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

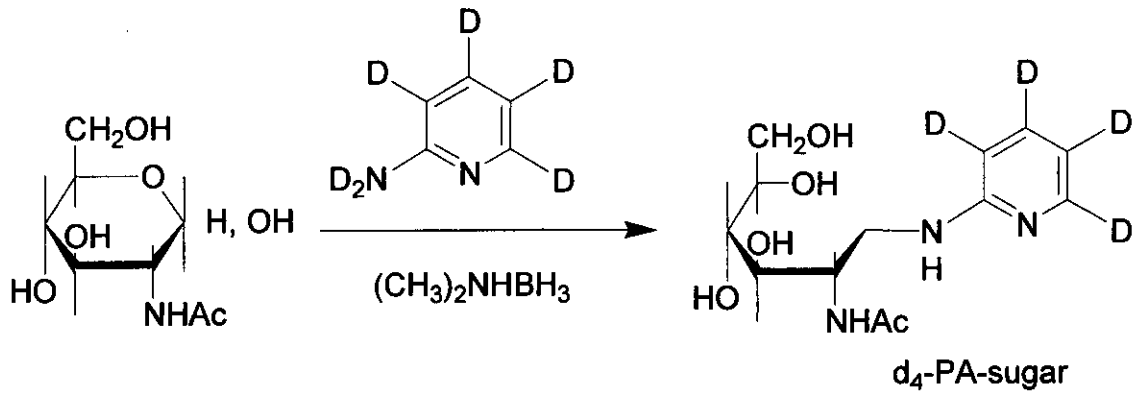


Fig. 1 糖鎖の安定同位体標識化

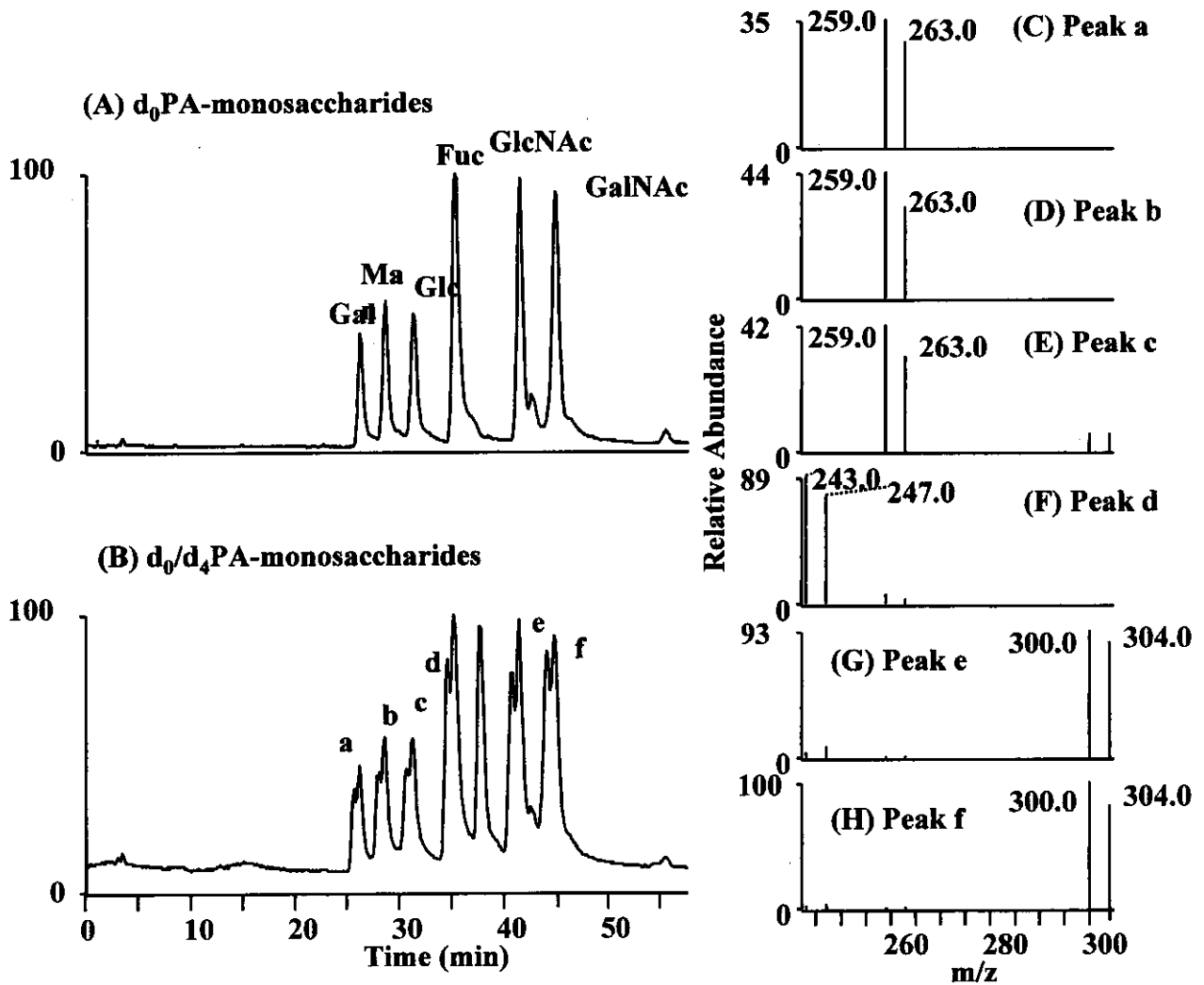


Fig. 2 CapGCC-LC/MSを用いた単糖分析

(A) $d_0\text{PA}$ -単糖のクロマトグラム、(B) $d_0/d_4\text{PA}$ -単糖のクロマトグラム、(C)-(H) ピーク a-f のマススペクトル

Table 1 CapGC-LC/MS を用いた PA 単糖分析における PA 糖鎖安定同位体の影響

Ion (m/z)	SIM ion intensity (peak area ratio %) derived from d ₀ -PA and d ₁ -PA-monosaccharides											
	d ₀ PA-Fuc	d ₁ PA-Fuc	d ₀ PA-Gal	d ₁ PA-Gal	d ₀ PA-Man	d ₁ PA-Man	d ₀ PA-Glc	d ₁ PA-Glc	d ₀ PA-GlcNAc	d ₁ PA-GlcNAc	d ₀ PA-GalNAc	d ₁ PA-GalNAc
243	86.6	-	-	-	88.6	-	87.6	-	-	-	-	-
244	11.7	-	-	-	9.9	-	11.1	-	-	-	-	-
245	1.7	0.7	-	-	1.5	0.4	1.3	0.8	-	-	-	-
246	-	4.6	-	-	-	2.9	-	4.1	-	-	-	-
247	-	82.6	-	-	-	78.7	-	79.3	-	-	-	-
248	-	10.4	-	-	-	14.4	-	13.4	-	-	-	-
249	-	1.7	-	-	-	3.6	-	2.4	-	-	-	-
259	-	-	87.4	-	-	-	-	-	-	86.0	-	85.5
260	-	-	11.0	-	-	-	-	-	-	12.3	-	12.9
261	-	-	1.6	0.7	-	0.4	1.3	0.8	-	1.7	0.4	1.6
262	-	-	-	4.1	-	2.9	-	4.1	-	-	4.1	-
263	-	-	-	83.1	-	78.7	-	79.3	-	-	81.0	-
264	-	-	-	10.5	-	14.4	-	13.4	-	-	-	-
265	-	-	-	1.6	-	3.6	-	2.4	-	-	12.5	-
300	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2.0	-
301	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
302	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
303	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
304	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
305	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
306	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

10 pmol PA or d₁PA-monosaccharide was injected

Table 2内部標準単糖を用いた CapGCC-LC/MS による d₀-PA-単糖分析の再現性(RSD)

	d ₀ -PA-monosaccharides (pmol)								
	0.05			0.5			5		
	IS(-)	IS(A)	IS(B)	IS(-)	IS(A)	IS(B)	IS(-)	IS(A)	IS(B)
Gal	16.2	15.5	5.7	11.6	8.3	2.1	5.0	5.5	2.3
Man	12.7	15.3	4.7	9.7	7.1	1.8	7.2	4.6	1.7
Glc	12.9	17.5	3.9	8.9	7.6	4.8	10.9	5.1	1.1
Fuc	23.9	17.3	4.2	9.9	7.6	1.9	5.4	6.1	0.8
GlcNAc	15.2	7.7	3.5	9.0	5.6	2.0	5.4	6.0	1.2
GalNAc	16.0	21.0	9.4	11.4	7.4	4.7	9.8	3.5	1.5

Note. n=5. IS, internal standard. A, PA-rhamnose; B, d₄-PA-monosaccharides.**Table 3**

内部標準単糖を用いた CapGCC-LC/MS による単糖組成分析

Glycoprotein	Monosaccharide	mol/mol^a	mol/mol
Fetuin	Fuc	0.3	0^b
	Gal	10.4	12
	Man	7.6	9
	GlcNAc	14.7	15
	GalNAc	3.4	3
Erythropoietin	Fuc	3.4	4.1^c
	Gal	12.8	13.8
	Man	8.1	8.7
	GlcNAc	15.6	17.2
	GalNAc	1.5	0.9

^aValues were expressed as mol detected in 1 mol glycoprotein. ^bRef, *Anal. Biochem.* 197, (1991) 132-136; ^cRef, *J. Biol. Chem.* 262 (1987) 12059-12076

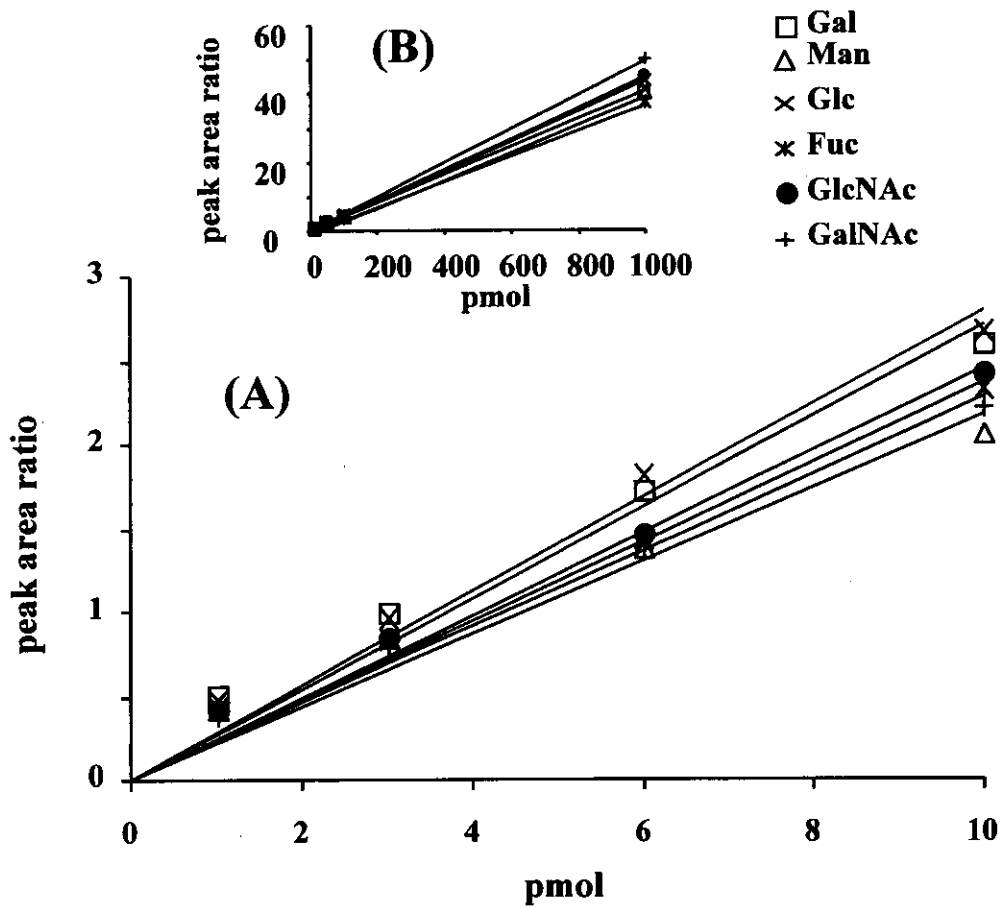


Fig. 3 安定同位体標識単糖及びCapGCC-LC/MSを用いた単糖分析法の定量性

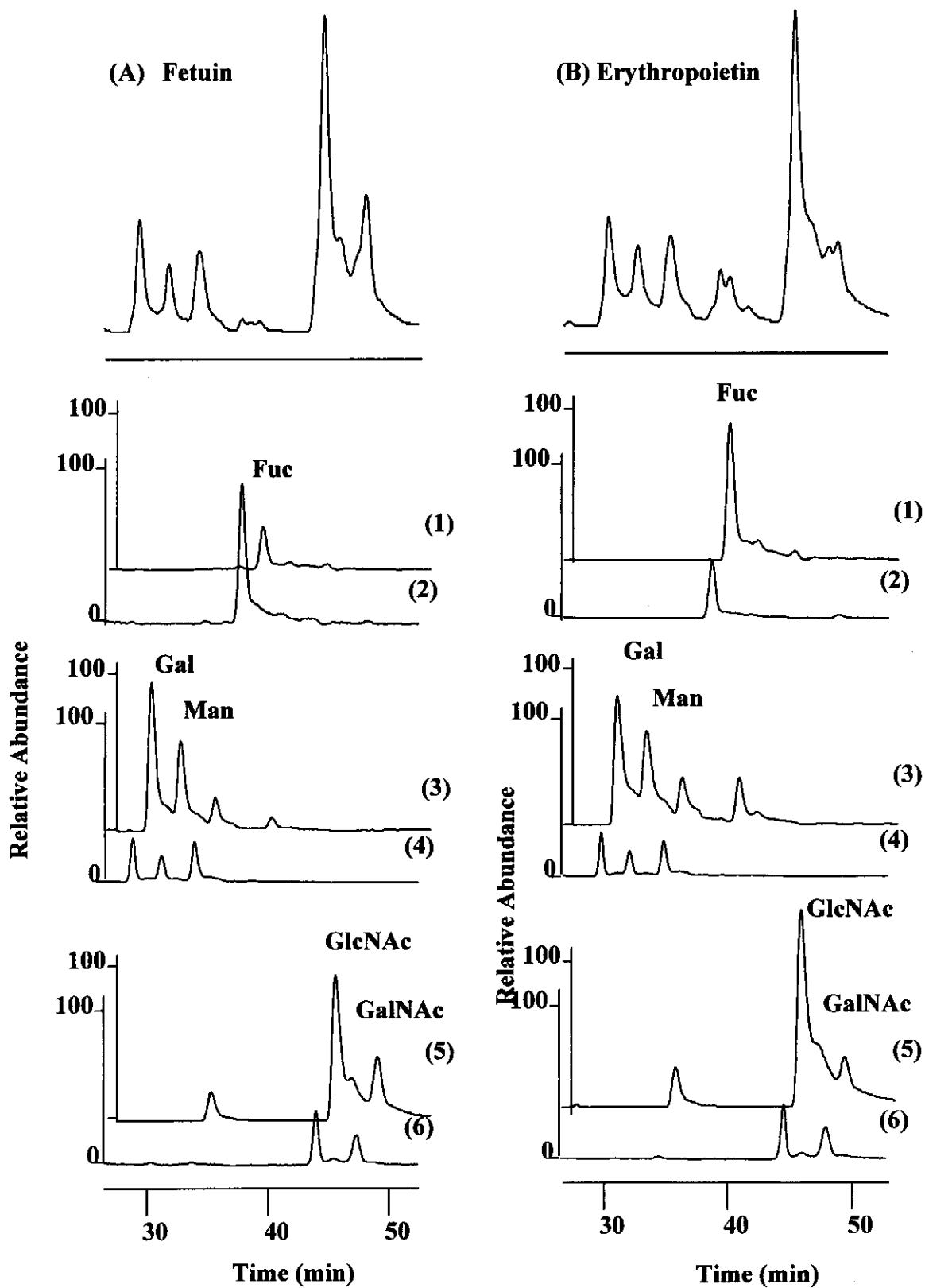


Fig. 4 フェツイン(A)及びエリスロポエチン(B)の単糖組成分析
 マスクロマトグラム m/z243 (1), 247 (2), 259 (3), 263 (4), 300 (5), 304 (6)

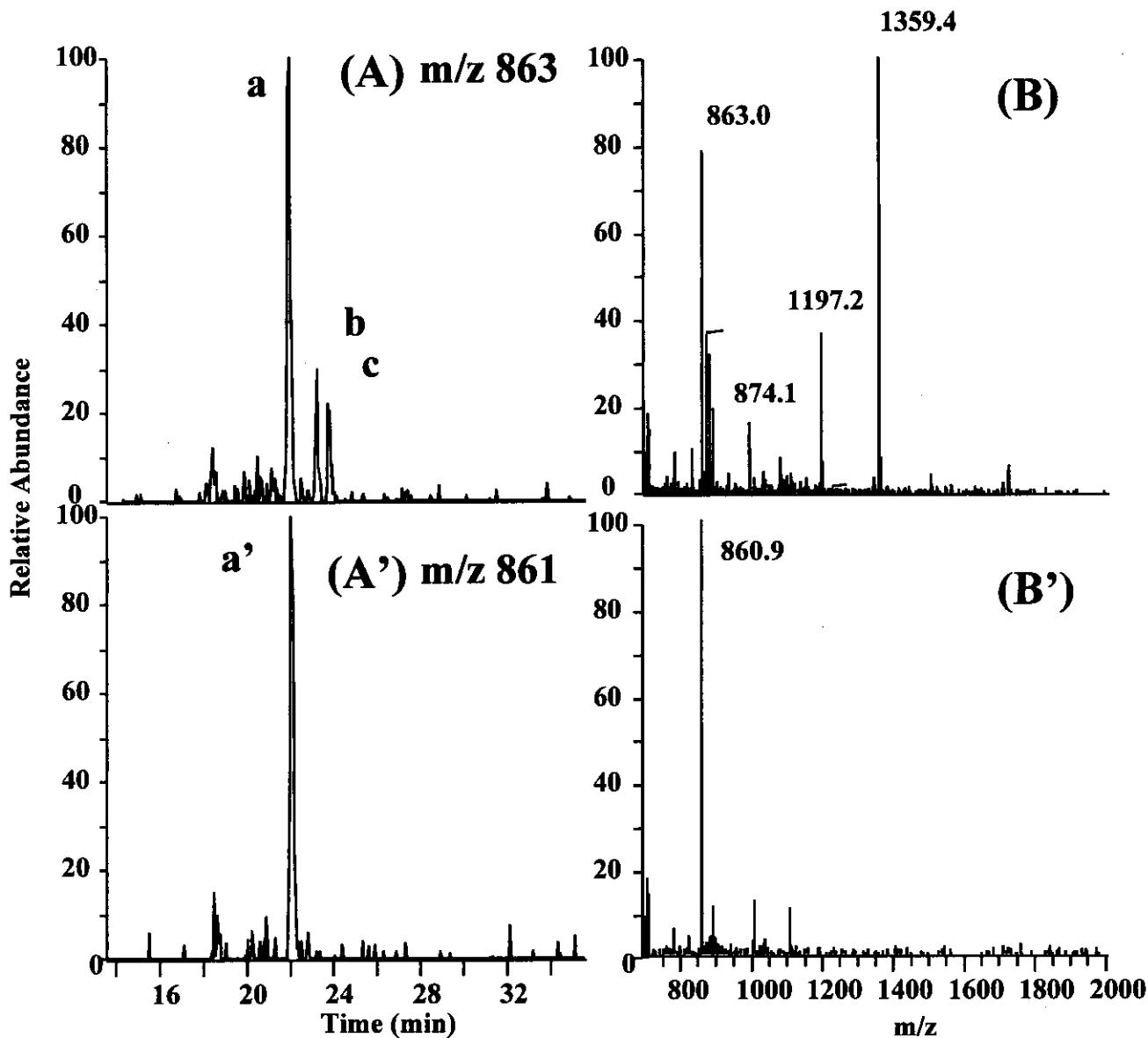


Fig. 5 uhCG由来 d_4 -PA化アジアロ2本鎖糖鎖のCapGCC-LC/MS

(A), (A'), マスクロマトグラム; ピークa, a'のマススペクトル(B), (B')

(A), (B), positive ion mode; (A'), (B'), negative ion mode

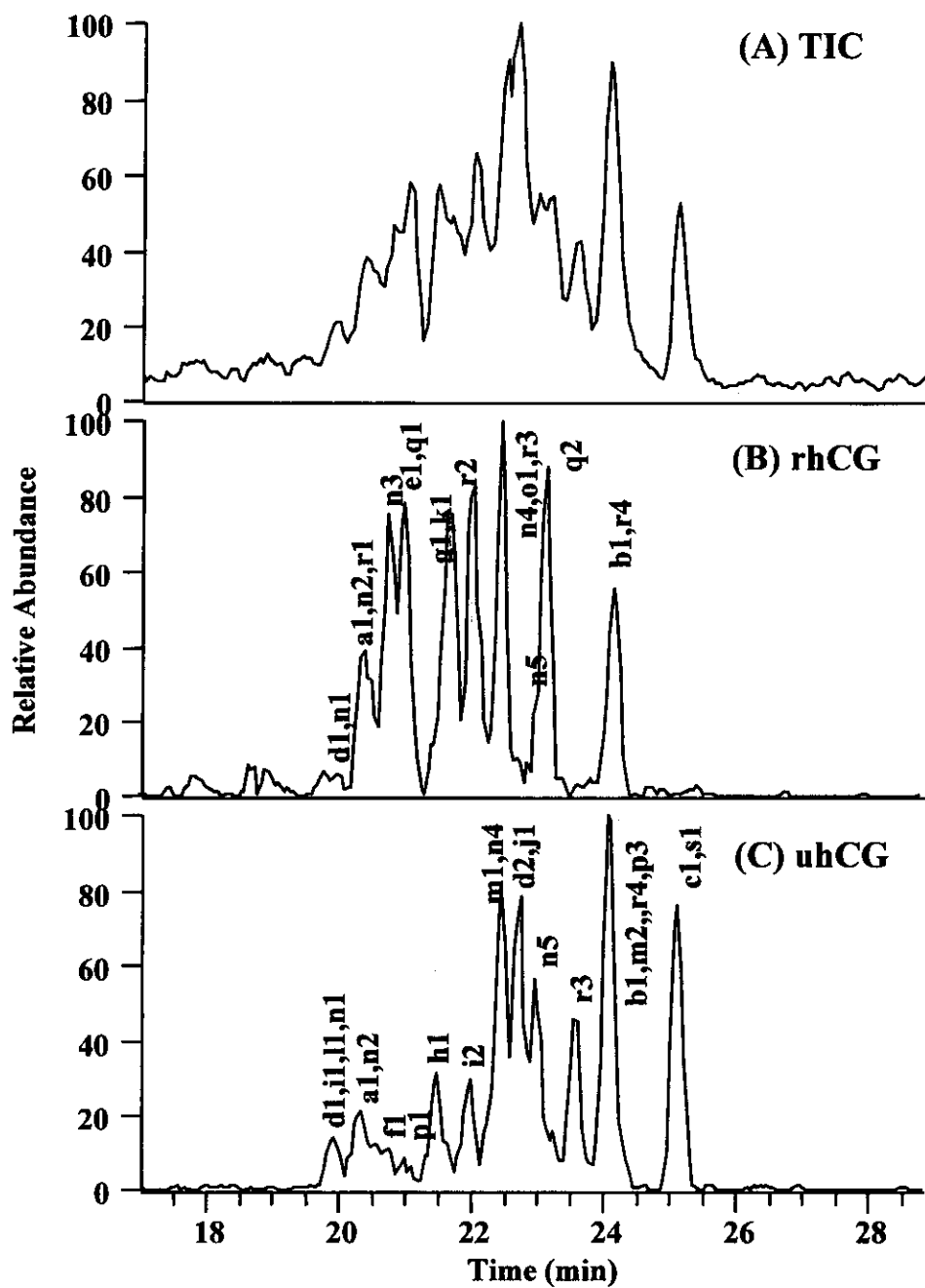


Fig. 6 PA化hCG由来糖鎖のプロファイル

(A), d_4 PA-uhCG 及び d_0 PA-rhCG 混合物のTIC; (B), d_4 PA-uhCGのTIC; (C), d_0 PA-rhCG のTIC

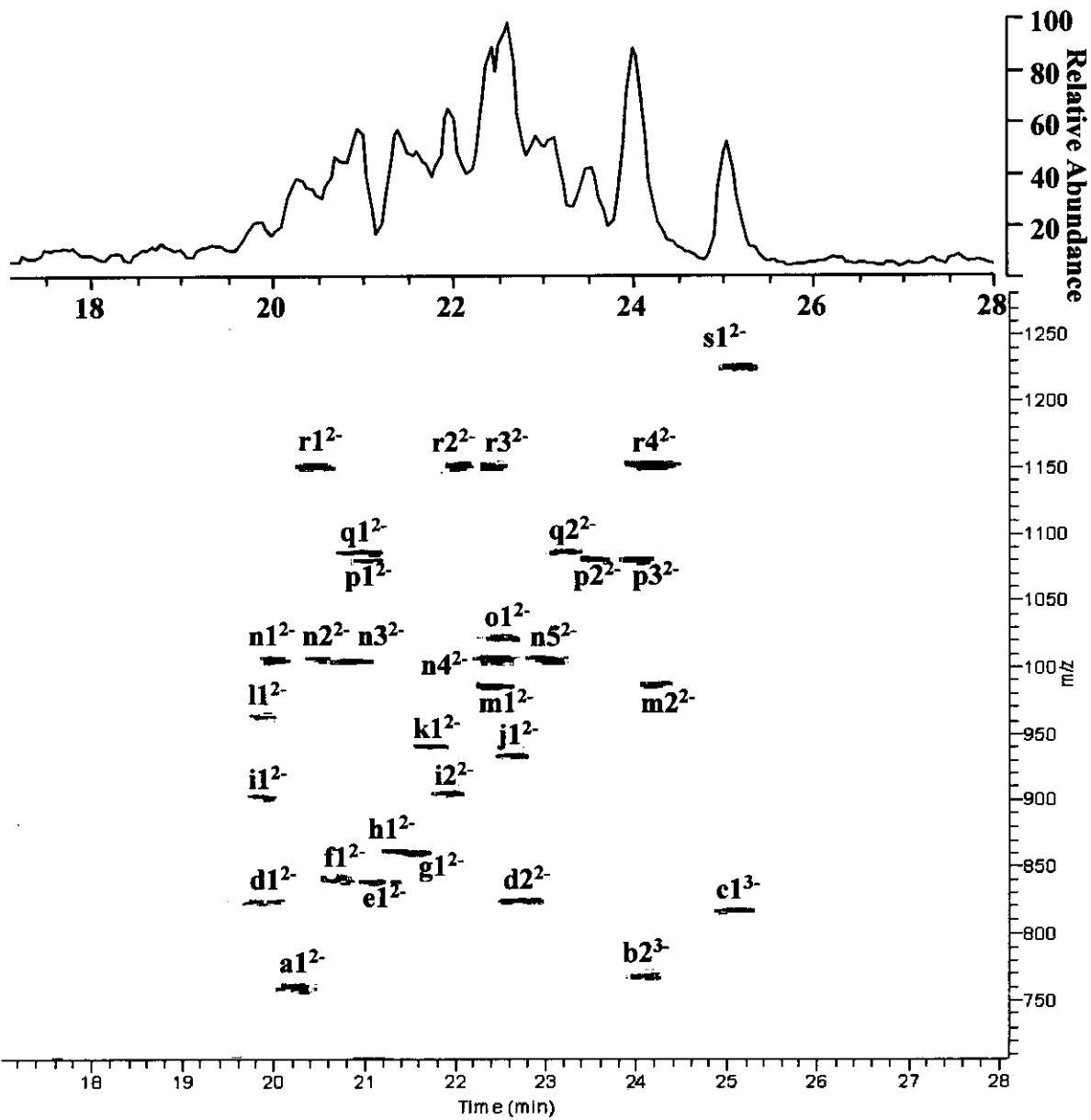


Fig. 7 d₀PA-rhCG 及び d₄PA-uhCG 混合物のTICの2D表示

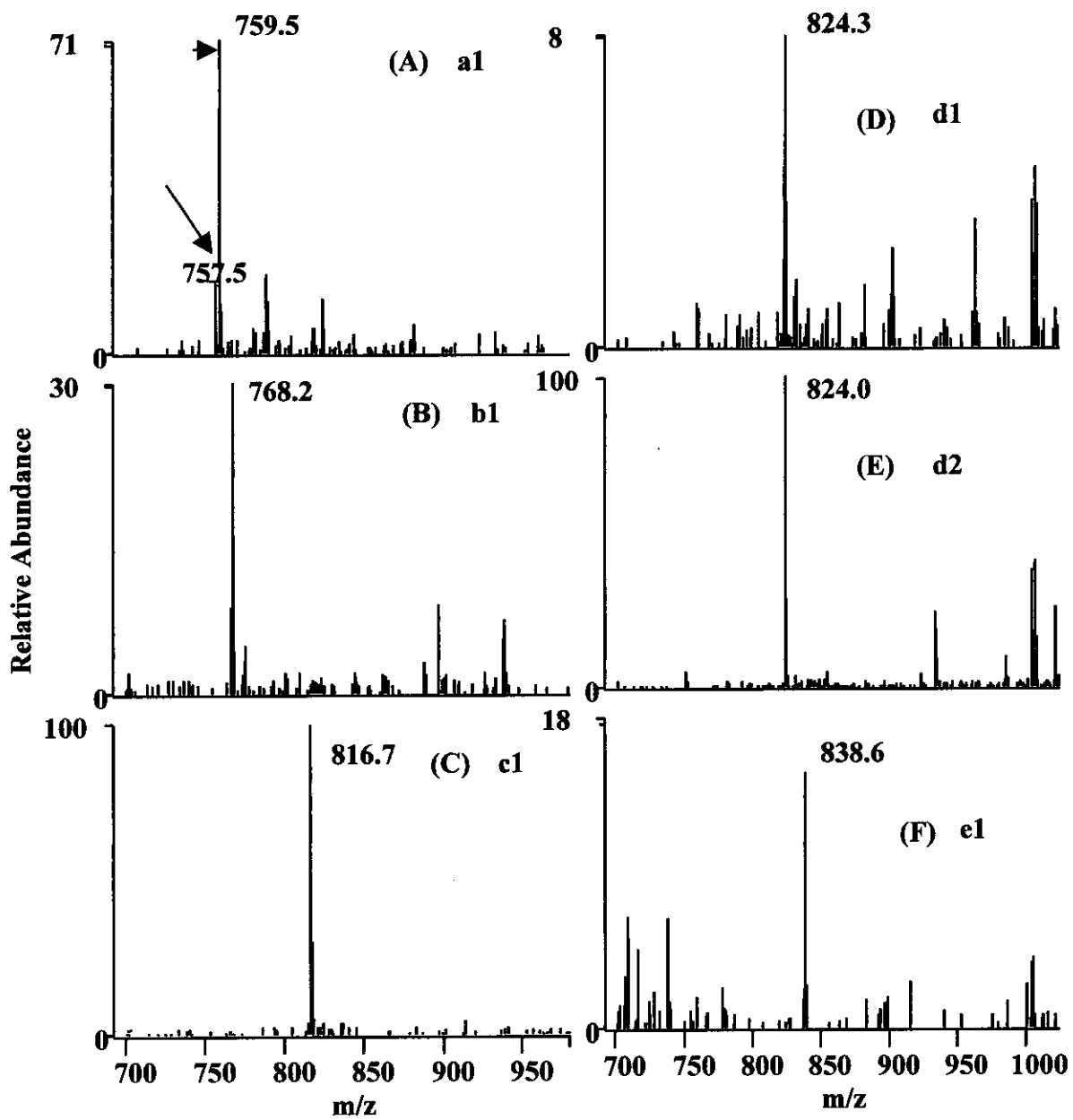


Fig. 8 Fig. 7中のピーク a~s のマススペクトル

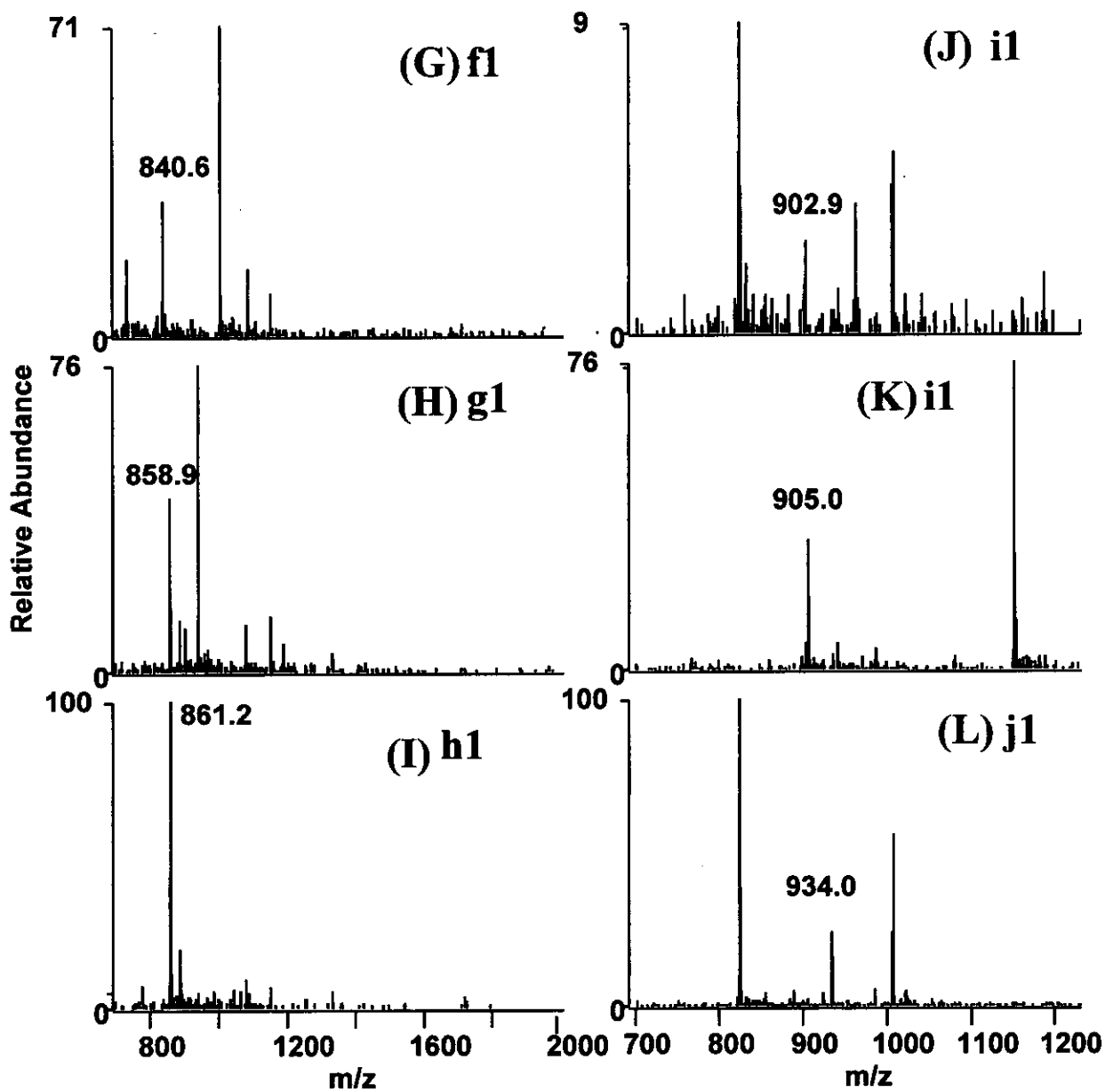


Fig. 8 つづき

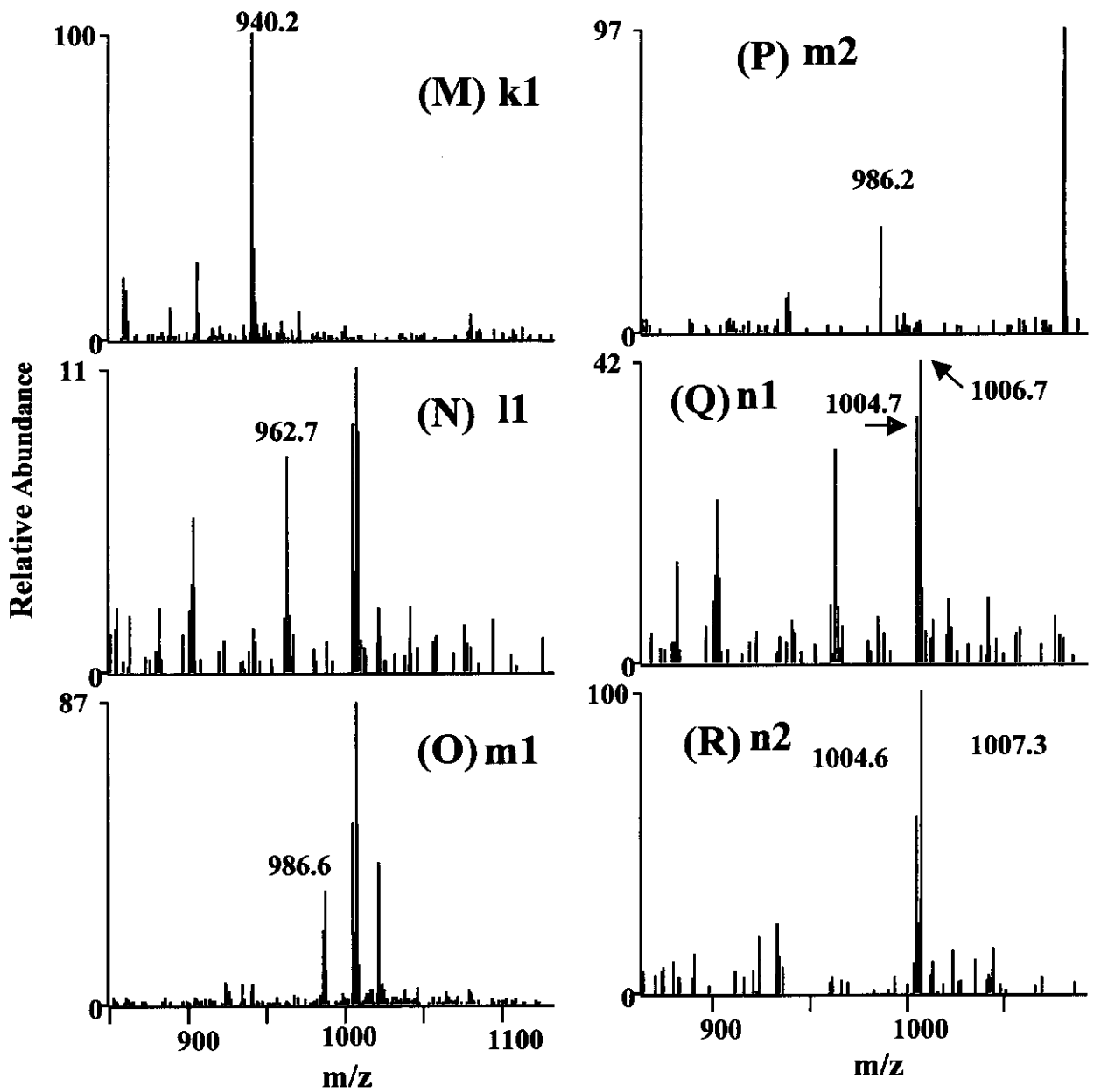


Fig. 8 つづき

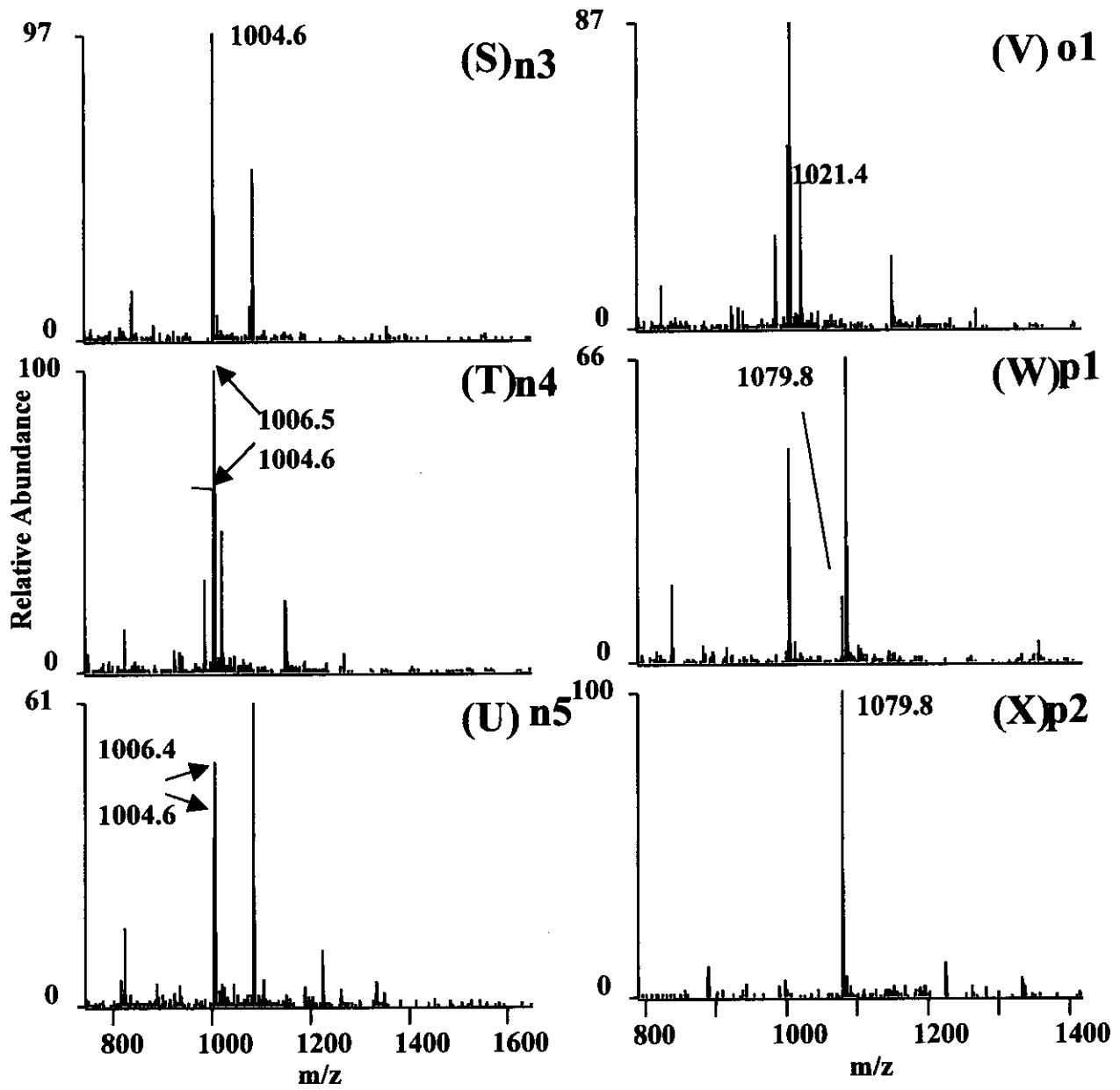


Fig. 8 つづき

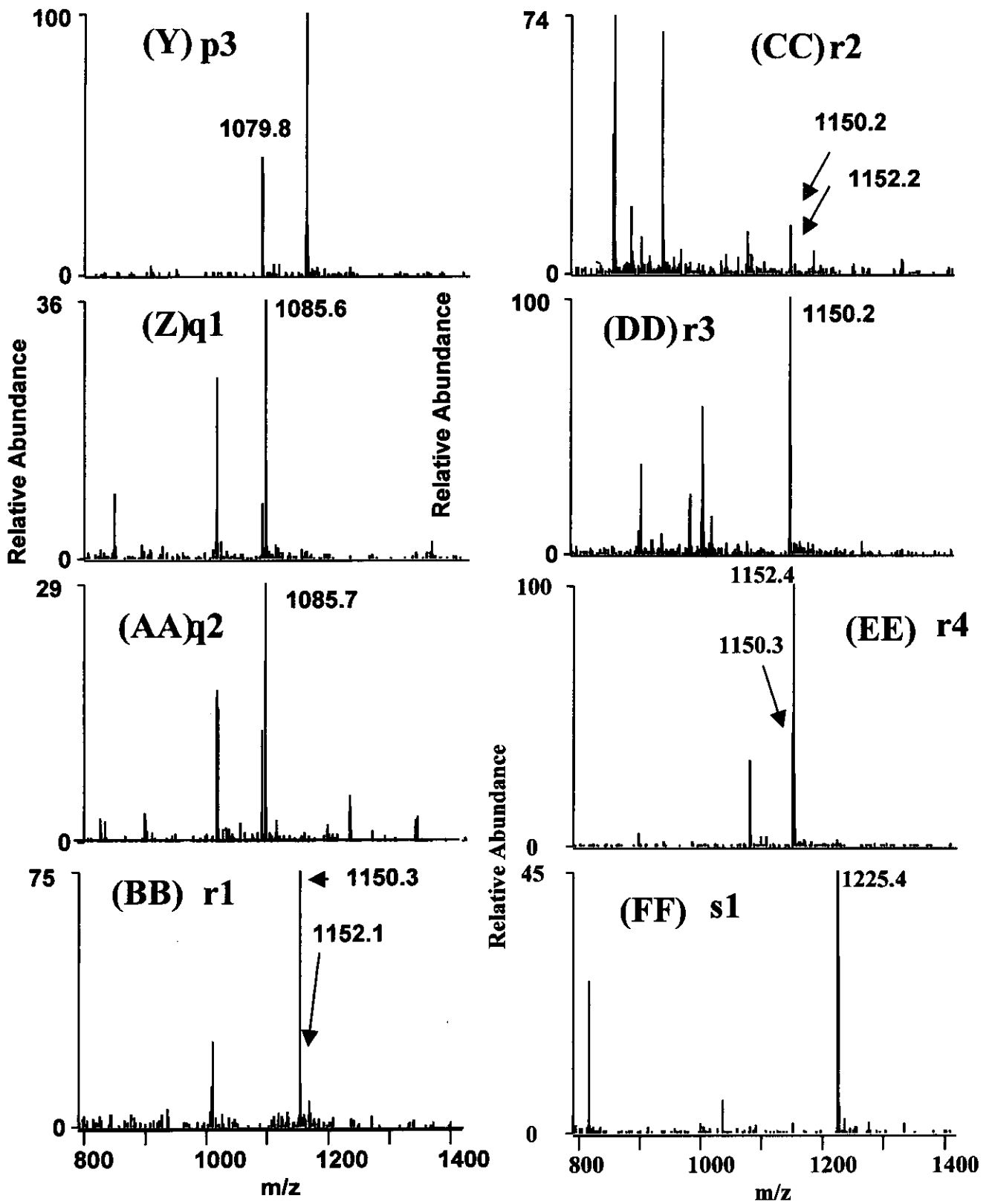


Fig. 8 つづき

Table 4 Fig. 7 で検出されたピーク a-s の帰属

Peak No.	Carbohydrate composition	Deduced structure	Theoretical mass (d ₀ PA-sugar)	Observed <i>m/z</i>		
				d ₀ PA-rhCG		d ₄ PA-uhCG
				M ²⁻	M ³⁻	M ²⁻
a1	[Hex] ₅ [HexNAc] ₃	Hybrid(1)	1517.5	757.5		759.5
b1	[Hex] ₅ [HexNAc] ₄ [NeuNAc] ₂	Bi(1)NA ₂	2303.1		768.2	
c1	[Fuc] ₁ [Hex] ₅ [HexNAc] ₄ [NeuNAc] ₂	FBi(1)NA ₂	2449.3		816.7	
d1	[Hex] ₄ [HexNAc] ₃ [NeuNAc] ₁	Mono(1)NA	1646.6			824.3
d2	[Hex] ₄ [HexNAc] ₃ [NeuNAc] ₁	Mono(1)NA	1646.6			824.0
e1	[Hex] ₆ [HexNAc] ₃	Hybrid(2)	1679.6	838.6		
f1	[Hex] ₆ [HexNAc] ₃	Hybrid(2)	1679.6			840.6
g1	[Hex] ₅ [HexNAc] ₄	Bi(1)	1720.7	858.9		
h1	[Hex] ₅ [HexNAc] ₄	Bi(1)	1720.7			861.2
i1	[Hex] ₅ [HexNAc] ₃ [NeuNAc] ₁	Hybrid(1)NA	1807.7	902.9		
i2	[Hex] ₅ [HexNAc] ₃ [NeuNAc] ₁	Hybrid(1)NA	1808.7			905.0
j1	[Fuc] ₁ [Hex] ₅ [HexNAc] ₄	FBi(1)	1866.8			934.0
k1	[Hex] ₆ [HexNAc] ₄	Hybrid(3)	1882.8	940.2		
l1	[Hex] ₅ [HexNAc] ₅	Bi(1)-GN	1924.9			962.7
m1	[Hex] ₆ [HexNAc] ₃ [NeuNAc] ₁	Hybrid(2)NA	1970.8			986.8
m2	[Hex] ₆ [HexNAc] ₃ [NeuNAc] ₁	Hybrid(2)NA	1970.8			986.2
n1	[Hex] ₅ [HexNAc] ₄ [NeuNAc] ₁	Bi(1)NA	2011.9	1004.7		1006.7
n2	[Hex] ₅ [HexNAc] ₄ [NeuNAc] ₁	Bi(1)NA	2011.9	1004.6		1007.3
n3	[Hex] ₅ [HexNAc] ₄ [NeuNAc] ₁	Bi(1)NA	2011.9	1004.6		
n4	[Hex] ₅ [HexNAc] ₄ [NeuNAc] ₁	Bi(1)NA	2011.9	1004.6		1006.5
n5	[Hex] ₅ [HexNAc] ₄ [NeuNAc] ₁	Bi(1)NA	2011.9	1004.6		1006.4
o1	[Hex] ₇ [HexNAc] ₄	Hybrid(4)	2044.9	1021.4		
p1	[Fuc] ₁ [Hex] ₅ [HexNAc] ₄ [NeuNAc] ₁	FBi(1)NA	2158.0			1079.8
p2	[Fuc] ₁ [Hex] ₅ [HexNAc] ₄ [NeuNAc] ₁	FBi(1)NA	2158.0			1079.8
p3	[Fuc] ₁ [Hex] ₅ [HexNAc] ₄ [NeuNAc] ₁	FBi(1)NA	2158.0			1079.8
q1	[Hex] ₆ [HexNAc] ₄ [NeuNAc] ₁	Hybrid(3)NA	2174.0	1085.6		
q2	[Hex] ₆ [HexNAc] ₄ [NeuNAc] ₁	Hybrid(3)NA	2174.0	1085.7		
r1	[Hex] ₅ [HexNAc] ₄ [NeuNAc] ₂	Bi(1)NA ₂	2303.1	1150.3		1152.1
r2	[Hex] ₅ [HexNAc] ₄ [NeuNAc] ₂	Bi(1)NA ₂	2303.1	1150.2		1152.2
r3	[Hex] ₅ [HexNAc] ₄ [NeuNAc] ₂	Bi(1)NA ₂	2303.1	1150.1		
r4	[Hex] ₅ [HexNAc] ₄ [NeuNAc] ₂	Bi(1)NA ₂	2303.1	1150.3		1152.4
s1	[Fuc] ₁ [Hex] ₅ [HexNAc] ₄ [NeuNAc] ₂	FBi(1)NA ₂	2449.3			1225.4

Hex: hexose, HexNAc: *N*-acetyl-hexsamine, NeuNAc, NA: neuraminic acid, Fuc, F: fucose, mono: monoantennary, bi: biantennary, GN: bisecting GlcNAc

Table 5 Table 4 に示した糖鎖の構造

Abbreviation	Structure ^a	Theoretical mass ^b
Hybrid(1)		1440.3
Hybrid(2)		1602.5
Hybrid(3)		1440.3
Hybrid(4)		1805.6
Mono(1)		1278.2
Bi(1)		1643.5
Bi(1)-GN		1846.7
FBi(1)		1789.7

^a Man, mannose; Fuc, fucose; Gal, galactose; GlcNAc, *N*-acetylglucosamine.

The structure are based upon the known structure of hCG.

^b Average mass value.

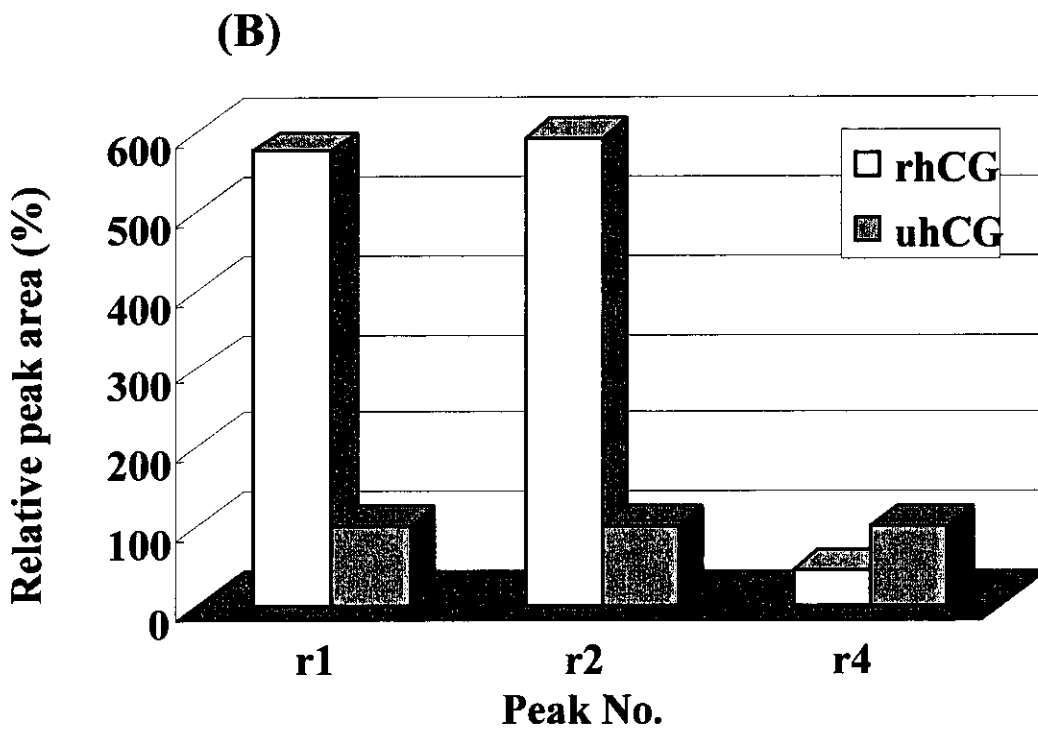
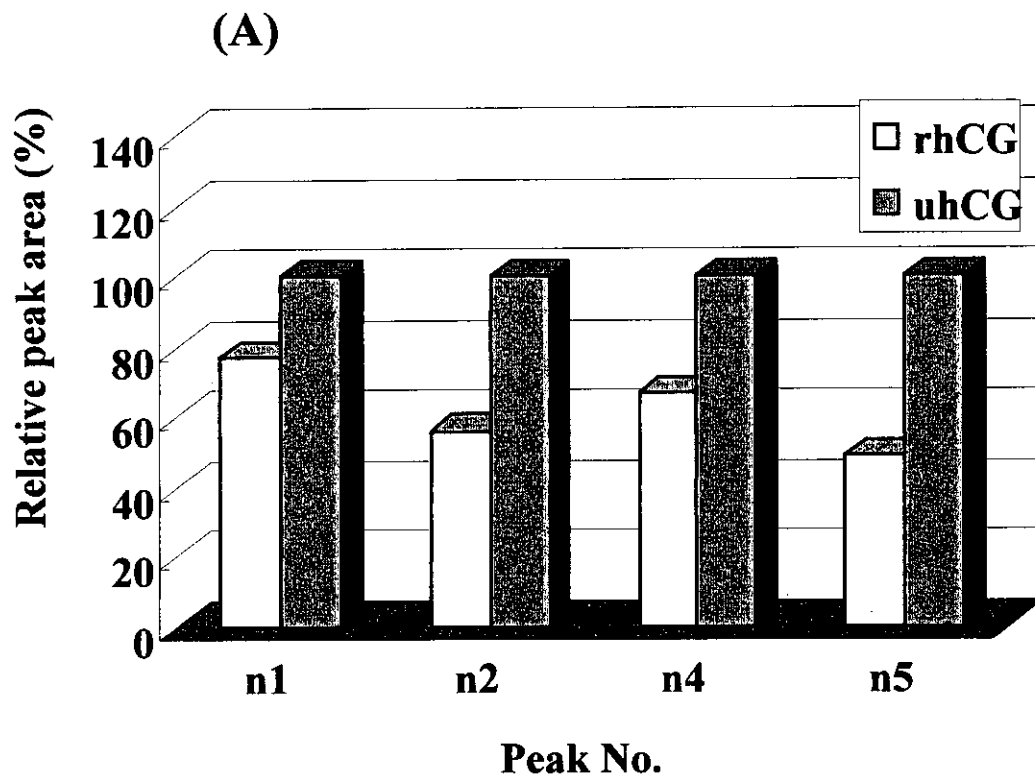


Fig. 9 rhCG及びuhCGに共通して結合している糖鎖の相対結合比

(A) mono-, (B) di-sialylated biantennary

Table 6 認可された抗体医薬品³⁵⁾

商品名 (抗体名)	企業	日本での 販売元	タイプ (抗原)	適応症	認可 (年)
Repro® (Abciximab)	Centocor社/ Eli Lilly社		キメラ (gp II b III a)	PTCA 後再狭窄	1994
Rituxan® (Rituximab)	IDEC社/Roche 社/Genentech社	全薬工業	キメラ (CD20)	ノンホジキン リンホーマ	1997
Zenepax® (Daclizumab)	Roche社		ヒト化 (IL-2R)	腎移植	1997
Remicade® (Avakine)	Centocor社	田辺製薬	キメラ (TNF- α)	クローン病 慢性関節リウマチ	1998
Synagis® (Palivizumab)	MedImmune社/ Abott社	ダイナボット	ヒト化 (RSV)	RSV小児感染	1998
Simulect® (Basilicimab)	Novartis社	ノバルティス ファーマ	ヒト化 (IL-2)	腎移植	1998
Herceptin® (Trastuzumab)	Genentech社/ Roche社	日本ロシュ	ヒト化 (HER2)	乳癌	1998
Mylotarg® (Gemtuzumab)	Celltech社/ AHP社		抗癌剤-コンジュゲート (CD33)	急性骨髄性白血病	2000
Zevalin® (Iritumomab)	IDEC社/ Schering AG社		⁹⁰ Y-コンジュゲート (CD20)	ノンホジキン リンホーマ	2002
Bexxar® (Tositumomab)	Coulter社/ SKB社		¹³¹ I-コンジュゲート (CD20)	ノンホジキン リンホーマ	2002

PTCA：経皮的冠動脈拡張術、RSV：呼吸器多核体ウイルス

Table 7 開発中の抗体医薬品 (2003年1月時点)¹⁴⁾

段階	数					
	合計	キメラ抗体	ヒト化抗体	完全ヒト抗体	マウス抗体	その他
特許中	11	4	5	0	2	0
申請中	3	0	1	1	1	0
フェーズIII	20	1	9	2	8	0
フェーズII	60	7	25	15	4	9
フェーズI	35	5	13	6	6	5
合計	129	17	53	24	21	14

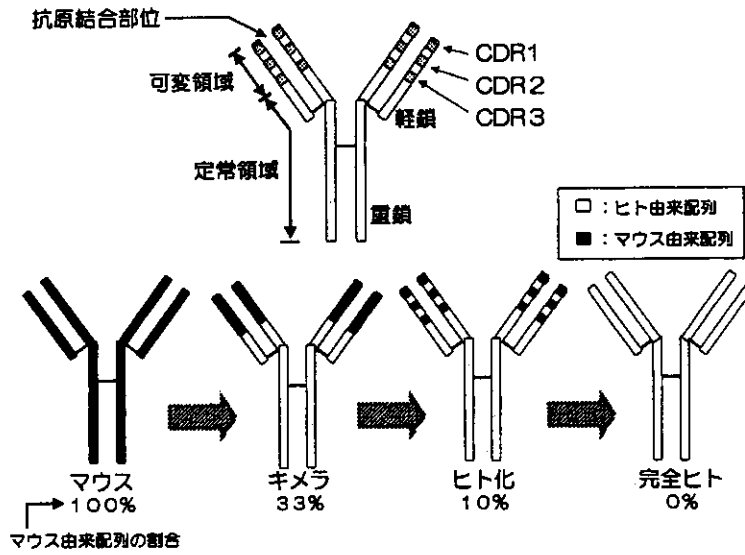


Fig. 10 抗体の構造（上段）およびマウスモノクローナル抗体のヒトに対する抗原性低減技術の進展（下段）¹⁸⁾

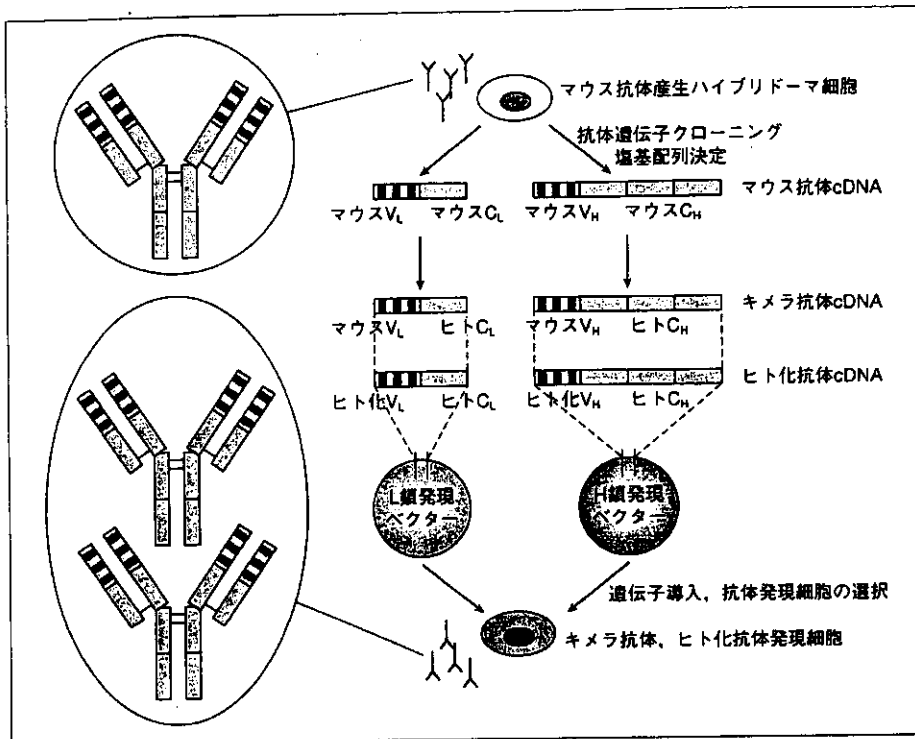


Fig. 11 キメラ抗体、ヒト化抗体発現の概略²²⁾