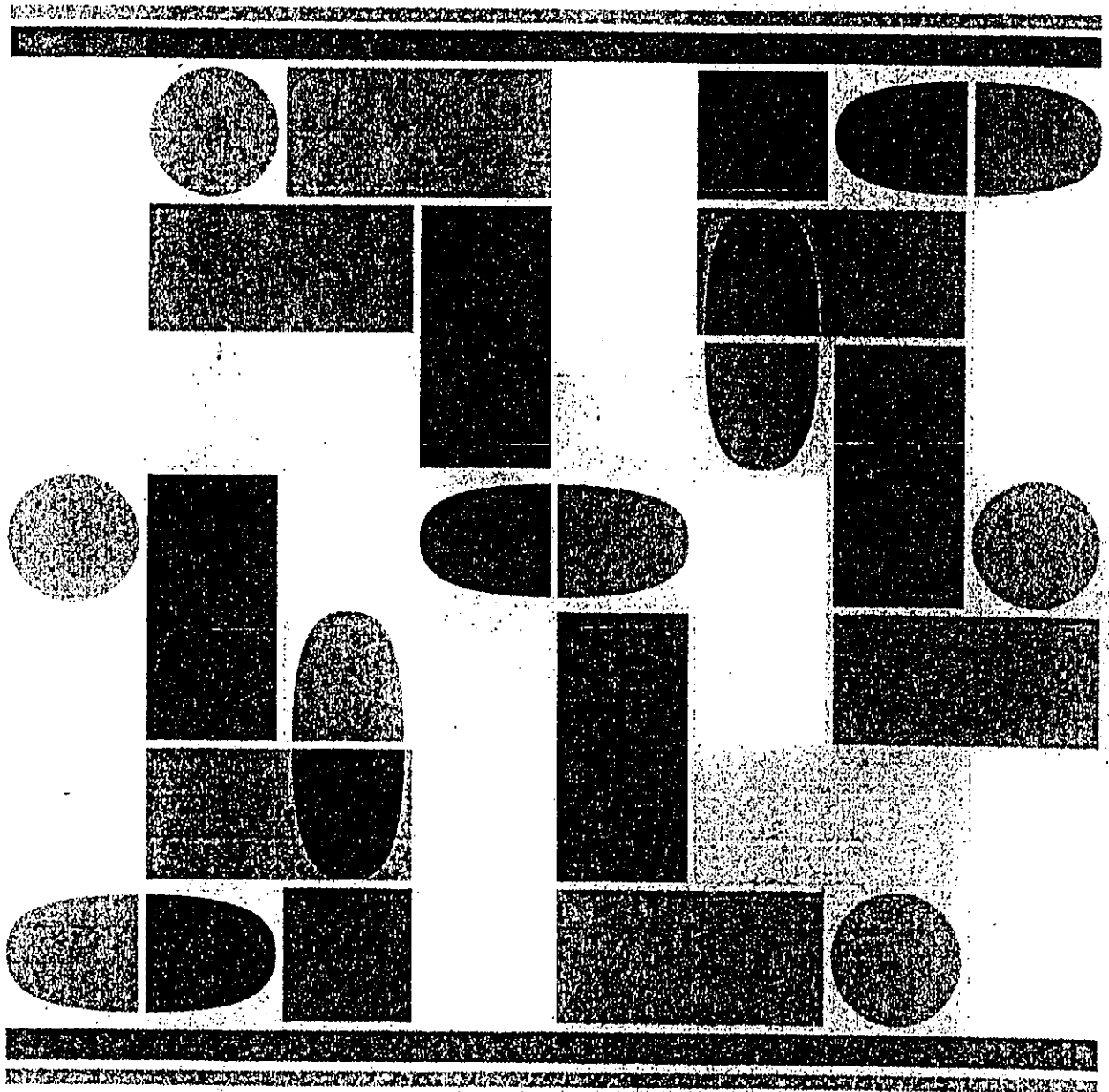


		会会報			
Kamoda S, Nomura C, Kinoshita M, Nishiura S, Ishikawa R, Kakehi K, Kawasaki N, Hayakawa T	Profiling analysis of oligosaccharides in antibody pharmaceuticals by capillary electrophoresis.	<i>J.Chromatogr A</i>	1050 (2)	211- 216	2004
Gao Y, Eguchi A, Kakehi K, Lee YC	Efficient preparation of glycoclusters from silsesquioxanes.	<i>Org Lett.</i>	6(20)	3457-3 460	2004
Matsuno YK, Kinoshita M, Kakehi K	Electrophoretic analysis of di- and oligosaccharides derived from glycosaminoglycans on microchip format.	<i>J Pharm Biomed Anal.</i>	36(1)	9-15	2004
Nakajima K, Kinoshita M, Oda Y, Masuko T, Kaku H, Shibuya N, Kakehi K.	Screening method of carbohydrate-binding proteins in biological sources by capillary affinity electrophoresis and its application to determination of <i>Tulipa gesneriana</i> agglutinin in tulip bulbs.	<i>Glycobiology.</i>	14(9)	793- 804	2004
Hayashi T, Yasueda S, Nakanishi Y, Ohta H, Kinoshita M, Miki Y, Masuko T, Kakehi K.	Capturing of acidic macromolecules from biological samples using a temperature-responsive polymer modified with poly-l-lysine.	<i>Analyst.</i>	129 (5)	421- 427	2004
Nakano M, Kakehi K, Tsai MH, Lee YC.	Detailed structural features of glycan chains derived from alpha1-acid glycoproteins of several different animals: the presence of hypersialylated, O-acetylated sialic acids but not disialyl residues.	<i>Glycobiology.</i>	14(5)	431- 441	2004
Kawabata A, Nishikawa H, Saitoh H, Nakaya Y, Hiramatsu K, Kubo S, Nishida M, Kawao N, Kuroda R, Sekiguchi F, Kinoshita M, Kakehi K, Arizono N, Yamagishi H, Kawai K.	A protective role of protease-activated receptor 1 in rat gastric mucosa.	<i>Gastroenterolo gy</i>	126 (1)	208- 219	2004
宮田直樹, 中野達也, 川崎	「日本薬局方の試験法に関する	医薬品研究	35	627-	2004

ナナ, 内田恵理子, 瀧 明 子, 長谷川式子, 山本美智 子	る研究:日本薬局方収載医薬品 などの名称,構造式,化学名の国 際調和」		(12)	637	
---------------------------------------	---	--	------	-----	--

日本薬学会編

医薬品の開発と生産



第8巻 医薬品の開発と生産

シリーズ編集小委員会

須田 晃 治	明治薬科大学薬学部 教授, 薬学博士
戸部 敏	昭和大学薬学部 教授, 薬学博士
長野 哲雄	東京大学大学院薬学系研究科 教授, 薬学博士
夏 莉 英 昭	東京大学大学院薬学系研究科 客員教授, 薬学博士
平野 和 行	岐阜薬科大学薬学部 教授, 薬学博士, 医学博士

執 筆 者

荒川 義 弘	東京大学医学部附属病院臨床試験部 助教授, 薬学博士 [SBO 39~44]
石井 明 子	国立医薬品食品衛生研究所生物薬品部 主任研究官, 薬学博士 [SBO 28~30]
伊藤 喬	昭和大学薬学部 助教授, 薬学博士 [SBO 20]
井上 純 一 郎	東京大学医科学研究所 教授, 薬学博士 [SBO 37, 38]
宇野 一	ハーバード大学公衆衛生学大学院 Research Fellow, 臨床統計学博士 [SBO 57, 59, 60]
漆谷 徹 郎	国立医薬品食品衛生研究所医薬基盤研究施設 プロジェクト長, 薬学博士 [SBO 17]
遠藤 泰 之	東北薬科大学薬学部 教授, 薬学博士 [SBO 25, 26]
小野 俊 介	金沢大学大学院自然科学研究科 助教授, 薬学博士 [SBO 8, 9, 11]
加賀 谷 肇	済生会横浜市南部病院 薬剤部長, 薬学博士 [SBO 45~48]
門田 佳 子	済生会横浜市南部病院薬剤部医薬品情報課 主任, 臨床薬学博士 [SBO 45~48]
小池 博 之	三共(株)研究開発統轄本部 副本部長, 医学博士 [SBO 18]
根東 義 則	東北大学大学院薬学研究科 教授, 薬学博士 [SBO 23, 24]
芝中 安 彦	ノバルティスファーマ(株)筑波研究所 マネージャー, 医学博士 [SBO 36]
白神 誠	日本大学薬学部 教授, 薬学博士 [SBO 4~6]
高倉 喜 信	京都大学大学院薬学研究科 教授, 薬学博士 [SBO 31]
高橋 史 朗	北里大学薬学部 講師, 臨床統計学博士 [SBO 56, 58, 59]
高柳 輝 夫	第一製薬(株)取締役研究開発業務部長, 薬学博士 [SBO 15]
竹内 正 弘	北里大学薬学部 教授, 理学博士 [SBO 56~60]
田中 洋 和	摂南大学薬学部 教授, 薬学博士 [SBO 27]
富岡 清	京都大学大学院薬学研究科 教授, 薬学博士 [SBO 12, 14]
豊島 聰	医薬品医療機器総合機構 理事, 薬学博士 [SBO 7]
中里 博 志	元雪印乳業(株)技術研究所 主幹 [SBO 49~55]
中島 元 夫	ノバルティスファーマ(株)筑波研究所 主幹研究員, 薬学博士 [SBO 36]
長野 哲雄	東京大学大学院薬学系研究科 教授, 薬学博士 [SBO 19, 20]
夏 莉 英 昭	東京大学大学院薬学系研究科 客員教授, 薬学博士 [SBO 1, 3]
仁科 博 史	東京大学大学院薬学系研究科 助教授, 理学博士 [SBO 32]
野瀬 清	昭和大学薬学部 教授, 薬学博士 [SBO 33~35]

早川 堯夫	国立医薬品食品衛生研究所 副所長, 薬学博士 [SBO 28~30]
福田 敬	東京大学大学院薬学系研究科 客員助教授, 保健学博士 [SBO 2]
伏見 環	医薬品医療機器総合機構 安全部長, 薬学修士 [SBO 10]
本多 利雄	星薬科大学薬学部 教授, 薬学博士 [SBO 21, 22]
室伏 良信	ファイザー(株) 知的財産部長, 薬学博士 [SBO 16]
山田 安彦	東京薬科大学薬学部 教授, 薬学博士 [SBO 13]

第13章 組換え医薬品

SBO 28 組換え医薬品の特色と有用性を説明できる。

組換え医薬品
recombinant DNA-derived
product, biotechnology
product

組換え DNA 技術 (recombinant DNA technology):
酵素などを用いて試験管内
で異種の DNA の組換え分
子を作製し、それを生細胞
に移入し、増殖させる技術。

タンパク質の生産

バイオテクノロジー
biotechnology

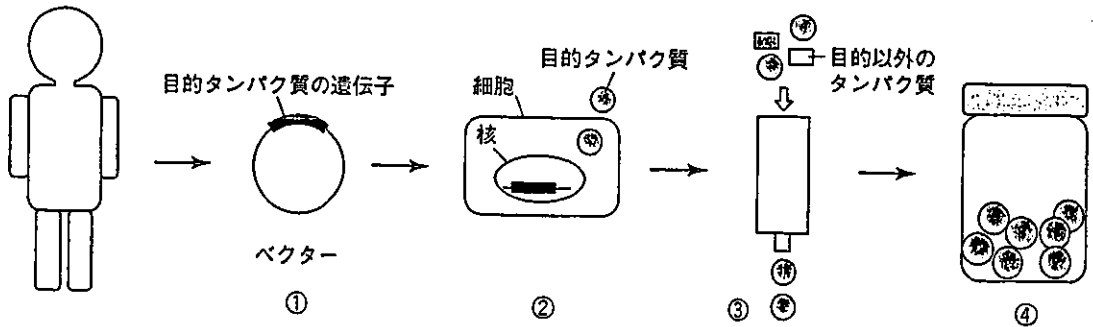
組換え医薬品の特色

28・1 組換え医薬品とは

組換え医薬品とは、組換え DNA 技術を応用して製造されるペプチドまたはタンパク質を有効成分とする医薬品をさす。組換え DNA 技術が実用化されるまでは、天然に微量にしか存在しないタンパク質や材料の入手が困難であるタンパク質を医薬品として利用することはきわめて難しかった。1980 年代以降、組換え DNA 技術を始めとするバイオテクノロジーを応用してタンパク質の生産が可能となったことから、従来の手法では大量に入手することが困難であった生物活性を有するタンパク質が生産され、医薬品として用いられている。

28・2 組換え医薬品の特色

組換え医薬品には、ホルモンや酵素、サイトカイン、血液凝固因子のように、天然に存在するものと同じ構造をもつ組換えタンパク質を医薬品とする場合と、ワクチンやモノクローナル抗体のように生体反応を制御するために設計されたタンパク質を医薬品とする場合がある。いずれにおいても、組換え医薬品では生命科学の基礎的知見に基づいて医薬品の候補となるタンパク質を選定するため、合理的アプローチによる創薬が可能である。開発の過程では、タンパク質の品質を確保する製造プロセスの研究、すなわち ① 最適な遺伝子発現が実現されるための発現系の構築、② 生産用細胞株の樹立・適切な細胞培養法の確立、③ タンパク質の活性を保持しつつ安全性が確保されるための精製法の確立、④ 精製された目的タンパク質の適切な製剤化、などが重要となる (図 28・1)。また、組換え医薬品では、組換え DNA 技術を用いたアミノ酸残基の置換などにより、作用の持続性や作用の特異性などの点で、医薬品としてより望ましい性質をもつものに改変していくことが可能である。製剤化の観点では、タンパク質であるために、現在のところ経口投与は不可能で、注射による投与が必要である。



- ① 目的タンパク質の遺伝子クローニング、発現ベクターへの組込み
- ② 細胞への遺伝子導入、タンパク質生産細胞株 (生産株) の樹立、細胞培養によるタンパク質の生産
- ③ 目的タンパク質の精製
- ④ 目的タンパク質の製剤化

図 28・1 組換え医薬品の生産

28・3 組換え医薬品の製造

組換え医薬品の製造(図28・1)においては、まず、組換えDNA技術を用いて目的タンパク質をコードする遺伝子をクローニングし、遺伝子発現ベクターに組込む。つぎに、構築された発現ベクターを細胞に導入して、樹立したタンパク質生産細胞の培養を行うことによって目的タンパク質を発現させる。つづいて、生産されたタンパク質を精製して適切な製剤化を施し、医薬品とする。組換えタンパク質の生産には、大腸菌、酵母、動物細胞などが用いられる。

28・3・1 大腸菌による組換えタンパク質の生産

大腸菌は、増殖速度が速く培養コストも低いため、組換えタンパク質の生産性は高いが、糖鎖付加などの翻訳後修飾は起こらないという制約がある。また、高発現されたタンパク質の多くが菌体内に不溶化した状態で蓄積するため、タンパク質の回収後にS-S結合を正しく形成させるための還元・再酸化処理を行うなど高次構造の再構成が必要な場合がある。したがって、分子量が比較的小さく、糖鎖が活性に影響を与えないタンパク質の生産に適している。

翻訳後修飾: mRNA から翻訳された後にタンパク質が受ける種々の修飾。糖や脂質などの付加、特異的プロテアーゼによる切断などが知られている。

28・3・2 酵母による組換えタンパク質の生産

酵母は単細胞真核生物であり、生育特性が優れていること、ヒトに対して比較的無害であること、正しい高次構造をもつタンパク質が比較的容易に生産できるなどの利点があるが、組換え細胞が不安定であること、巨大な糖鎖がタンパク質に付加される場合があることなどが欠点である。したがって、糖鎖がなく、大腸菌で製造した場合に高次構造の再構成が困難なタンパク質の生産に適している。

糖タンパク質 (glycoprotein): 翻訳後修飾により特定のアミノ酸残基に糖鎖が結合しているタンパク質。糖タンパク質の機能における糖鎖の役割は完全には解明されておらず、医薬品としての作用に糖鎖が必須であるタンパク質と、糖鎖修飾がなくても糖鎖付加型と同様の作用を示すタンパク質がある。

28・3・3 動物細胞による組換えタンパク質の生産

動物細胞では、タンパク質への糖鎖付加などの翻訳後修飾が起こるため、糖タンパク質の生産が可能である。また、正しい高次構造をもつタンパク質を発現させることができるため、高分子量のタンパク質の生産にも適している。ただし、糖タンパク質に付加される糖鎖の構造を人工的に制御することは現在の技術では不可能である。培養に動物由来血清が必要な場合が多いことや、高密度培養が難しいことなどから、製造コストは高い。

28・4 組換え医薬品の有用性

組換え医薬品であるインスリンが糖尿病の治療に不可欠である例からも明らかのように、組換え医薬品は高度な生理機能をもつという点で、非常に有用性が高い。組換えDNA技術により、タンパク質の一次構造を自由に改変することが可能であるため、医薬品としての機能に改良が加えやすいという利点もある。また、疾患の治療に必要なタンパク質が明らかである場合、組換えタンパク質を生産することによって医薬品を創り出せる可能性が高く、最新の生命科学の知見や技術を医療に反映させやすい医薬品であるともいえる。

組換え医薬品の有用性

関連する SBO

SBO 18, 29, 30

現在、わが国で用いられている組換え医薬品には、酵素、ホルモン、血液凝固因子、サイトカイン、ワクチン、モノクローナル抗体がある。酵素、ホルモン、サイトカインのように生体に存在するタンパク質を組換え医薬品とする場合でも、作用の特異性や持続性を改善するために、アミノ酸残基の置換などにより一次構造を変えた改変体が医薬品として用いられる場合もある。

29・1 酵 素

酵 素
enzyme

血栓溶解作用をもつ組織プラスミノゲンアクチベーター (t-PA) が、急性心筋梗塞における冠動脈血栓の溶解に用いられている。血中半減期を増加させた改変型 t-PA として、遺伝子組換えにより一部のドメインを欠損させ、さらに一部のアミノ酸を改変したものも実用化されている。酵素としては t-PA のほかに、グリコセレブロシダーゼがゴースェ病の治療薬として用いられている。

29・2 ホルモン

ホルモン
hormone

インスリン、成長ホルモン、グルカゴン、ソマトメジン C、ナトリウム利尿ペプチドなどがある。糖尿病の治療に用いられるインスリンは組換え医薬品として最初に開発されたもので、剤形の違いによって速攻型、中間型、長時間型など、作用時間の異なる多数の製剤が臨床で用いられている。最近では、一部のアミノ酸を置換することによって皮下投与後の吸収速度を高めた超速攻型の改変体も実用化されている。成長ホルモンは下垂体性小人症やターナー症候群などにおける低身長の治療に用いられる。

29・3 血液凝固因子

血液凝固因子
coagulation factor

血友病の治療に用いられる血液凝固因子類としては、第Ⅶ因子、第Ⅷ因子が組換え医薬品として実用化されている。ヒト血漿から精製した血液凝固因子を治療に用いる場合にはウイルス感染などが懸念されるが、組換え医薬品を用いることで感染の危険性は実質的に解消した。

29・4 サイトカイン

サイトカイン
cytokine

エリスロポエチン、顆粒球コロニー刺激因子、インターロイキン 2、インターフェロン類が代表的なものである。赤血球増加作用をもつエリスロポエチンは、透析施行中の腎性貧血などの治療に用いられる。好中球の分化増殖促進作用をもつ顆粒球コロニー刺激因子は、癌化学療法時の好中球減少症の治療、造血幹細胞の末梢血中への動員などに用いられる。細胞傷害性リンパ球の活性化作用をもつインターロイキン 2 は、血管肉腫、腎臓癌の治療に用いられる。ウイルスや細胞の増殖抑制作用をもつインターフェロンは、肝炎、多発性骨髄腫、腎臓癌などの

治療に用いられる。

29・5 ワクチン

B型肝炎ワクチンが代表的なもので、B型肝炎ウイルス表面抗原の組換えタンパク質を免疫原として用いるものである。組換え型のワクチンでは、生ワクチンや不活化ワクチンのようにウイルスから調製したタンパク質を接種する場合と比較して、ウイルスの復帰変異などによる感染の危険が避けられるために、安全性が高いという利点がある。

ワクチン
vaccine

29・6 ヒト型化モノクローナル抗体

抗体は、特定の標的分子に結合してその機能を阻害し、免疫応答を惹起することのできるタンパク質である。組換えDNA技術を応用して、マウスモノクローナル抗体をヒト型化した抗体の作製が可能になったことから、ヒト型化モノクローナル抗体が医薬品として応用されるようになった。代表的なものとしては、転移性乳がん治療薬の抗EGF受容体モノクローナル抗体、リンパ腫治療薬の抗CD20モノクローナル抗体、RSウイルス感染症治療薬の抗RSウイルスモノクローナル抗体、関節リウマチ治療薬の抗TNF α モノクローナル抗体、腎移植後の急性拒絶反応治療薬の抗CD25モノクローナル抗体などがある。

モノクローナル抗体
monoclonal antibody

関連するSBO
SBO 19, 28, 30

マウスモノクローナル抗体の作製とヒト型化

抗原を免疫したマウスの脾細胞と、マウス骨髄腫細胞を融合させると、抗体産生細胞が得られ、それぞれの細胞からは単一の抗体が産生される。目的とする抗原特異性をもつ抗体を産生する細胞を培養することにより、均一な構造をもつ抗体を大量に得ることができるが、この方法で生産されるモノクローナル抗体はマウス由来タンパク質であるために、ヒトに対して抗原性を示す。その点を解決するために、組換えDNA技術を用いてマウスモノクローナル抗体的可変領域以外または抗原認識部位以外の部分をヒト抗体に置換したものがヒト型化抗体である。このヒト型化抗体は2種類に分けられ、マウス抗体的可変領域を残して不変領域をヒト抗体に置換したものをヒト/マウスキメラ型抗体、マウス抗体の抗原認識部位のみを残して他のすべての部分をヒト抗体に置換したものをヒト化抗体とよぶ。わが国ですでに医薬品として用いられているヒト型化モノクローナル抗体5品目のうち、3品目はキメラ型抗体、2品目はヒト化抗体である。

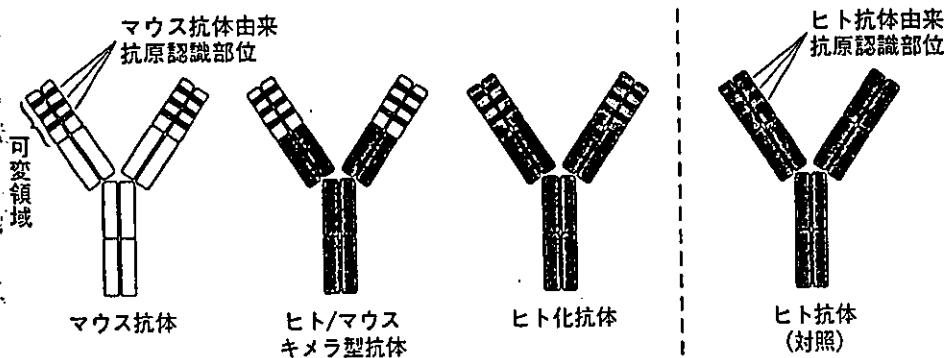


図29・1 マウスモノクローナル抗体のヒト型化

30・1 組換え医薬品の安全性

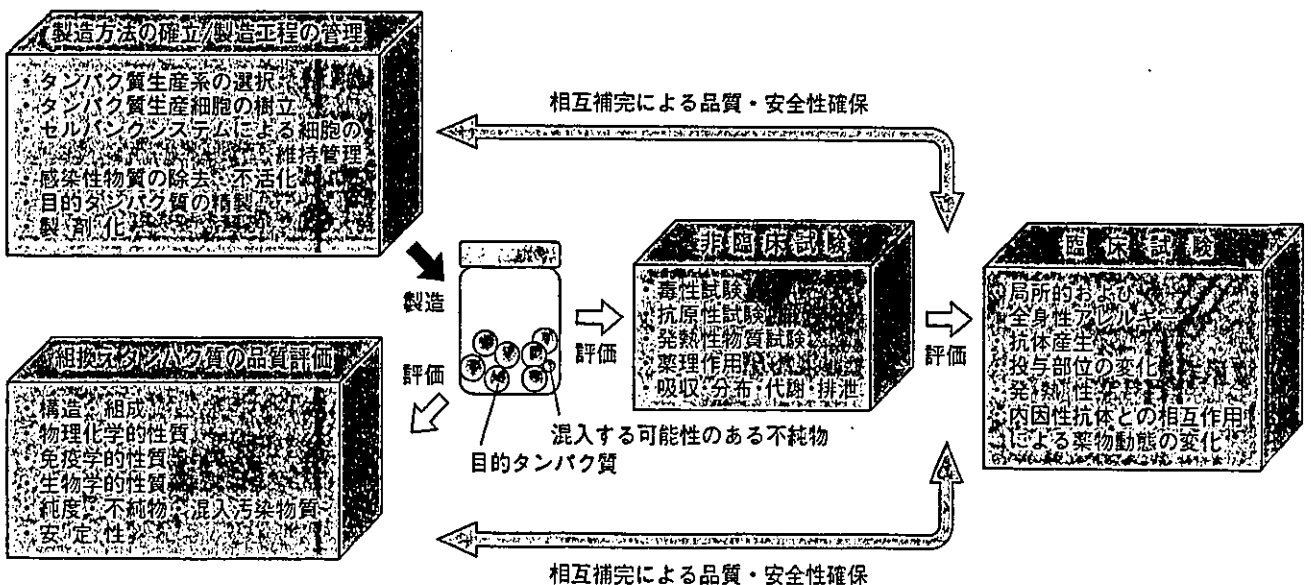
組換え医薬品の安全性

組換え医薬品は、構造の変化しやすい高分子タンパク質であること、その製造に細胞・血清などの生体由来材料を利用し、かつ、細胞のタンパク質合成能という生体反応を利用していることから、安全性の確保においては化学合成医薬品と異なる配慮が求められる。組換えタンパク質の製造方法が最終製品の品質・安全性に大きく影響するため、目的に応じた組換えタンパク質の製造方法の確立とその適切な管理が重要となる。また、生産された組換えタンパク質には、不可避的な構造の多様性や不均一性が認められる場合が多いため、医薬品としての品質を物理化学的性質、生物学的性質などさまざまな側面から評価することによって目的の構造と活性を有するタンパク質が得られたことを検証することが、安全性の面からみても大切なことである。さらに、製造工程由来の不純物（目的物質由来不純物、製造方法由来不純物など）や汚染物質（感染性物質など）が最終製品に混入する可能性があり、これらの不純物も高分子である場合が多いことから、有効成分そのものに関する安全性と同時に、不純物に関する安全性も十分に検証することが望まれる。非臨床試験、臨床試験においては、医薬品となる個々のタンパク質の性質に応じて考慮すべき項目が異なり、すべての組換え医薬品に適用できる画一的なプロトコールは存在し得ないことから、対象とする組換え医薬品の作用面や物性面の特徴・特殊性や臨床での適用法などを考慮して、科学的根拠に基づき、医薬品ごとに合理的かつ柔軟に対応していくことが望ましい（図30・1）。

図 30・1 組換え医薬品の安全性確保のための方策。組換えタンパク質の製造方法の確立および製造工程の管理、組換えタンパク質の品質評価、非臨床試験、臨床試験での評価が相互補完し合って、全体として組換え医薬品の安全性などが確保される。

30・2 有効成分に関連する安全性

タンパク質は本来、生体内で適時適切な場所で適量発現され、他の生体内機能



分子と協調的に働きながら生体の恒常性維持のために働いているものである。しかし、タンパク質を医薬品として人為的に投与する場合は、生理的濃度を越えた状態や、本来存在しない組織にまで存在する状態が生じることになり、目的外の作用の発現や、生体のホメオスタシスの乱れを招く可能性がある。したがって、期待する薬効やその効果発現のための作用機序はもとより、目的外の作用についても医薬品開発の段階で十分に検討しておくことが必要とされる。

有効成分
active ingredient

30・3 製造工程由来不純物に関連する安全性

組換え医薬品に混入する可能性のある不純物としては、生産細胞由来タンパク質・核酸などの製造方法由来不純物、目的タンパク質の凝集体・分解物などの目的物質由来不純物の2種類が考えられる。不純物を完全に除去することが難しい場合も想定されることから、不純物の混在については、製造方法や物質特性を考慮したうえで試験対象を定め、安全基準を定めて評価を行うことが求められる。また、汚染物質としては、微生物や発熱性物質などの外来性有害因子が考えられる。外来性有害因子の中でもウイルス、細菌、真菌、プリオンなどの感染性物質については、医薬品の安全性に重大な影響を与えるため、ヒトに感染性や病原性を示す感染性物質が存在しない製造用細胞系および製造関連物質を選択すること、製造工程中に感染性物質の除去・不活化の工程を組入れること、製造工程の適当な段階で製品の感染性物質否定試験を実施することなどにより、最終製品中には含まれない状態にすることが必須である。

不純物
impurities

汚染物質
contaminants

セルバンク (cell bank): 特性解析され、均一な性質をもつ細胞の集団が保存されたもの。組換え医薬品の製造では、セルバンクは、遺伝子組換えによって樹立された“種細胞”, 種細胞を必要最小限度増やして凍結保存し生産のもととなる細胞銀行とした“マスターセルバンク (MCB)”, MCBの一部をさらに必要最小限度培養して調製した“ワーキングセルバンク (WCB)”から構成される。

30・4 製造工程の管理と生産されたタンパク質の品質評価

組換え医薬品製造の中核となるのは、組換えタンパク質生産細胞の樹立とタンパク質生産である。一定の品質を確保した組換えタンパク質を供給するためには、常に同じ性質をもつタンパク質生産細胞を使用する必要があることから、組換えタンパク質生産細胞はセルバンクシステムによって厳密に管理されている。生産されたタンパク質の特性解析や品質評価の結果は、製造工程全体の妥当性に関する最も重要なデータともなる。

品質評価
quality evaluation

種特異性: タンパク質の構造や作用発現機構が動物種によって異なる場合に、評価に用いる動物の種類によってヒトタンパク質である組換え医薬品の作用に量的および質的な差が生じる。

30・5 非臨床試験, 臨床試験による安全性確保

非臨床試験, 臨床試験の目的は、一般の医薬品の場合と同じく、その安全性と有効性を確かめることにある。しかし、組換え医薬品の非臨床試験を行う際には、タンパク質の作用に種特異性があること、ヒトタンパク質が動物に対して抗原性を示すことに留意して評価を行う必要がある。また、組換え医薬品とそれに混入する不純物の多くが高分子であるので、目的有効成分や不純物が免疫反応をひき起こし、結果的にその有効性, 安全性に影響を及ぼす可能性に関して留意する必要がある。そのため、臨床試験では特に、局所および全身性アレルギー, 抗体産生, 投与部位の変化, 内因性抗体あるいは組換えタンパク質の投与により生じる抗体との相互作用による薬物動態の変化, 発熱性について詳細に検討することが求められる。

関連する SBO

SBO 1, 11, 28, 29

参考図書

早川 堯夫, 山崎 修道, 延原 正弘 編, “バイオ医薬品の品質・安全性評価”, エル・アイ・シー (2001).

バイオリジクスの品質と安全性評価

I. バイオリジクス概論

バイオリジクスとは、起源・製造方法面からみれば、「生物由来の医薬品・医療機器または生物機能を利用して製造した医薬品・医療機器」となる。機能面からみれば、「生体内機能分子としての作用を発現させようとするもの」、「生体内機能分子の作用を促進または制御するもの」、「生体細胞・組織などの再生・修復または代替に資するもの」といえる。物質面からみれば、「ペプチド・タンパク質、核酸、糖質、細胞・組織、あるいは臓器抽出物など」ということになる。古典的なバイオリジクスとしては、組織・臓器や体液等由来のホルモン、酵素、血液凝固因子類のようなペプチド・タンパク質性の医薬品およびそれを利用した医療機器のほかに、ワクチン・抗毒素類、全血製剤や赤血球・血小板製剤があり、また広い意味ではヘパリンやコンドロイチン硫酸のような糖質なども含まれ得る。微生物の生産する抗生物質や抗腫瘍薬なども生物由来の医薬品ととらえることが可能であるが、本章の対象としては取り扱わない。

1980年代以後、生命科学の進歩および遺伝子組換え技術、細胞工学技術、あるいは細胞分離・培養技術、動物育種・繁殖技術、核酸分析・合成技術などのバイオテクノロジーを中心とする先端技術の飛躍的な発展を背景に、遺伝子組換え技術を用いて改変された大腸菌や動物細胞など、および有用物質生産細胞株として選抜あるいは加工された培養細胞によるヒトタンパク質などの恒常的な大量生産が可能となった。その結果、ヒトインスリンやヒト成長ホルモンなど、従来の方法では生体から高純度の医薬品として安定供給できる量を得ることが困難であったホルモン・酵素類が大量に供給されるようになり、さらに、血液を原材料とする限りにおいてはウイルスなどの感染性病原因子の混入が理論上完全には否定し得なかったヒト血液凝固因子類などがバイオテクノロジーを応用して生産できるようになった。また、インターフェロンをはじめとするサイトカイン類、エリスロポエチン、コロニー形成刺激因子などの分化・増

殖・成長因子が臨床の場に提供され、さらに最近では細胞膜上のタンパク質などを標的とした抗体類なども新たに医薬品として開発・実用化されている。また、バイオテクノロジーの応用により元の構造の一部を改変し、例えば生体内での血中半減期の延長や作用特異性の向上など、新たな機能を人為的に付加した改変型ペプチド・タンパク質性医薬品も開発されている。

上記のような細胞基材から生産されるタンパク質性医薬品以外にも、新しいタイプのバイオテクノロジー応用医薬品として、「遺伝子治療用医薬品」、アンチセンスやリボザイムなどの「核酸医薬品」、細胞や組織そのものを医薬品として応用した「細胞・組織利用医薬品」、トランスジェニック動物（人為的に外来遺伝子を導入した動物）やクローン動物（遺伝子レベルでみてまったく同一の動物個体群）またはトランスジェニック植物に生産させたタンパク質や細胞などを有効成分とした「動物工場/植物工場由来医薬品」が注目を浴びている。このうち遺伝子治療用医薬品は、一般にベクター（目的遺伝子の担い手、本来の病原性を消失させてヒト細胞への感染性のみを保持したウイルス由来のものやプラスミドなど）に目的とするタンパク質の遺伝子を組み込み、これをヒトに投与することにより生体内での目的タンパク質の発現を期待するものである。アンチセンス医薬品は、標的とするタンパク質の遺伝子またはmRNAに相補的な配列をもつ核酸を有効成分とし、これをヒトに投与することにより標的タンパク質の発現抑制を期待するものである。またリボザイム医薬品は、特定の配列のRNA鎖を認識して切断するなどの酵素活性をもつRNA分子を有効成分とする医薬品で、アンチセンス医薬品と同様に標的タンパク質の発現抑制を期待するものである。バイオロジクスの分類を表3-1に示す。

表3-1 バイオロジクス（医薬品）の分類

<p><古典的バイオロジクス></p> <ul style="list-style-type: none"> ○組織・臓器や尿などから抽出したペプチド・タンパク質性医薬品 ○血液製剤（全血製剤、赤血球・血小板製剤、血漿分画製剤） ○ワクチン・抗毒素類 <p><バイオテクノロジーなどを用いて生産される先端的バイオロジクス></p> <ul style="list-style-type: none"> ○細胞基材より生産されるペプチド・タンパク質性医薬品（遺伝子組換え技術応用医薬品、細胞培養技術応用医薬品） ○遺伝子治療用医薬品 ○細胞・組織利用医薬品（細胞・組織加工医薬品も含む） ○動物工場/植物工場由来医薬品（ペプチド・タンパク質性医薬品や細胞・組織利用医薬品） ○核酸医薬品（アンチセンス、リボザイムなど）
--

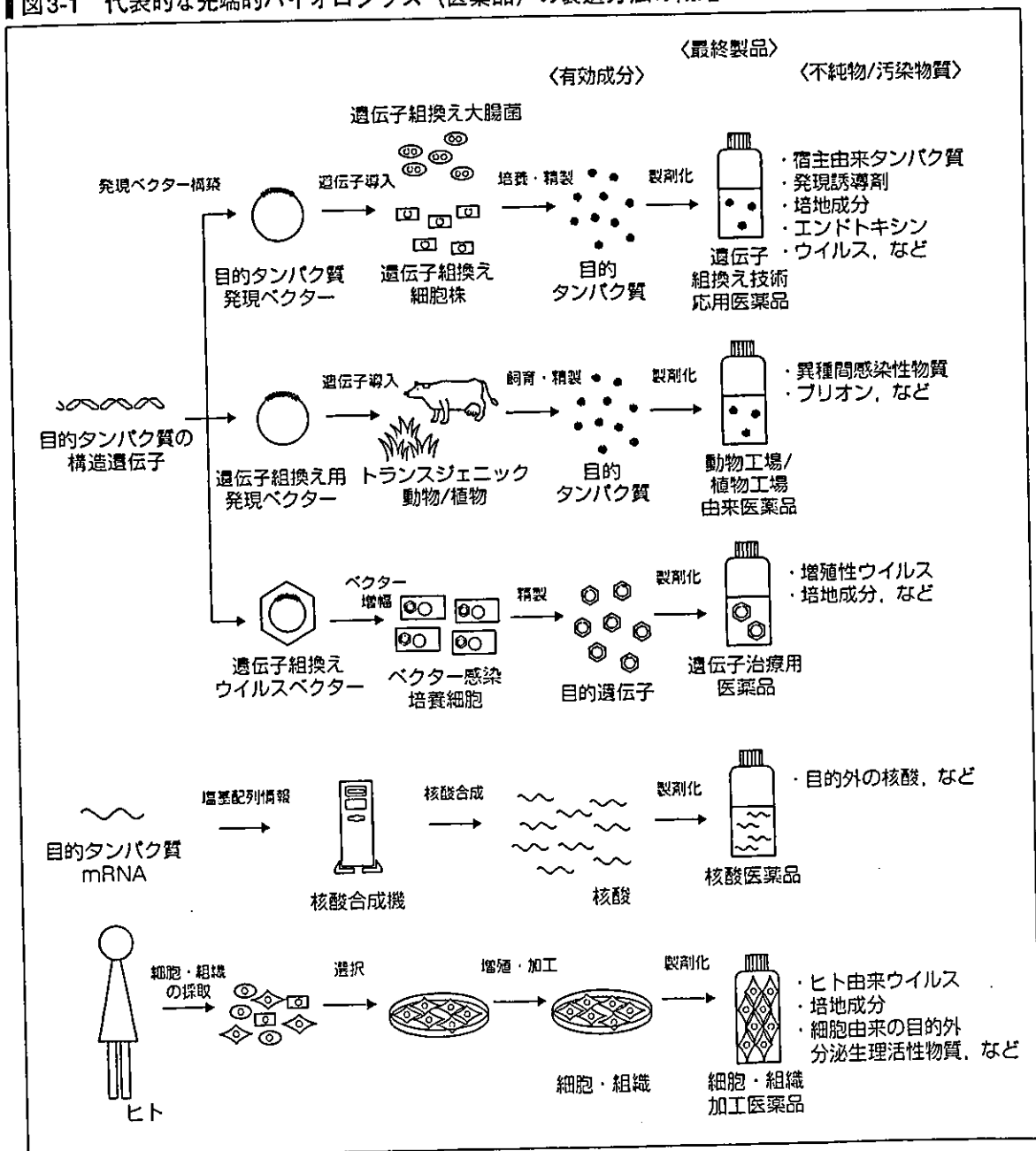
注) この分類はあくまで便宜的なものである。また、上記の区分は必ずしも各々独立しておらず、製品によっては複数の区分にまたがる場合もある。

II. バイオロジクスの品質・安全性確保

バイオロジクスは有効成分および最終製品の構造、組成、特性、品質、安定性、毒性、薬理および体内動態のあらゆる面において化学合成医薬品とは異なる際立った特徴をもつ。すなわちバイオロジクスは、細胞基材由来ペプチド・タンパク質性医薬品、遺伝子治療用医薬品、細胞・組織利用医薬品などのように医薬品製造用基材や製造方法、そして有効成分の本質や不純物、外来性有害因子の種類や混在の可能性の有無などが異なるいくつかのカテゴリーに分類さ

第3章
品質と安全性評価
の
バイオロジクスの

図3-1 代表的な先端的バイオロジクス（医薬品）の製造方法の概略



れる(図3-1)。また同じカテゴリーに属する製品であっても、製造方法は製品間で本質的にすべて異なっている。しかも、採用された製造方法如何で品質、安全性および有効性に重大な影響が及ぶ可能性があることもバイオロジクスの特徴である。このため、各々のバイオロジクスの製造方法や特性、品質その他の特徴・特殊性が、医薬品としての臨床上の有効性や安全性にどのような影響を及ぼす可能性があるか十分に検討しておくことがきわめて重要である。

本項では、先端技術を用いて生産されるバイオロジクスを採り上げ、その特徴・特殊性や安全性確保の面で留意すべきと考えられる事項について概説する。なお、バイオロジクスの品質・安全性確保上のポイントは、

- ①原材料の採取段階も含めた製造工程の厳密な管理
- ②各バイオロジクスに特徴的な有効成分および目的物質由来不純物や製造工程由来不純物・汚染物質などの特性・品質解析や品質管理
- ③各バイオロジクスに特徴的な有効成分および目的物質由来不純物や製造工程由来不純物・汚染物質などに関わる安全性の確認
- ④感染性物質に関わる安全性の確保

である。より詳細な情報については、表の脚注に示したホームページ(ガイドライン類)や章末参考文献を参照されたい。

A 細胞基材より生産されるペプチド・タンパク質性医薬品の品質・安全性確保

現在までのところ、医療現場で広く用いられている先端的バイオロジクスの大半は、遺伝子組換え微生物細胞あるいはヒトまたは動物由来の組換え(または非組換え)培養細胞を医薬品製造用基材として、細胞大量培養技術を用いて製造されるペプチド・タンパク質性の医薬品である。わが国では1983年以後このカテゴリーに属する種々の医薬品が承認されている(表3-2)。

遺伝子組換え技術応用医薬品や細胞培養技術応用医薬品は、遺伝子組換え操作を施した大腸菌、酵母、動物細胞や、動物またはヒト由来の非組換え培養細胞などから生産される。その際、どのような細胞基材や培養条件あるいは目的タンパク質の発現誘導条件を選択するかについては医薬品製造業者の任意なシナリオに委ねられており、実際に各社各様である。さらに、細胞基材を培養して目的とする発現タンパク質を産生させた後の製造工程に関しても、精製/処理のスキームや製剤化の方法を採用するにあたって幅広い選択肢が存在する(表3-3)。つまり、これらの医薬品の製造方法全般にわたって、多様なシナリオが存在するということである。

さらに、細胞という生き物を用いて医薬品を生産するという不確定要素を秘めた製造方法であることも留意しておく必要がある。例えば、細胞株(種細胞

表3-2 わが国で承認された細胞基材より生産されるペプチド・タンパク質性医薬品の分類
(ワクチン・抗毒素類は除く。2003年8月現在)

分類	製造過程での遺伝子組換え技術応用の有無	製造用細胞基材
<酵素> ウロキナーゼ (組織培養) ウロキナーゼ前駆体 グリコセレブロンダーゼ 組織プラスミノゲン活性化因子 (t-PA)	× × ○ ○/×	ヒト培養細胞 ヒト培養細胞 動物培養細胞 動物培養細胞/ ヒト培養細胞
<ホルモン> インスリン グルカゴン 成長ホルモン ソマトメジンC (インスリン様成長因子: IGF) ナトリウム利尿ペプチド	○ ○ ○ ○ ○	大腸菌/酵母 大腸菌 大腸菌/ 動物培養細胞 大腸菌 大腸菌
<サイトカイン> インターフェロン- α , β , γ インターロイキン-2 エリスロポエチン 顆粒球コロニー形成刺激因子 (G-CSF) G-CSF誘導體 塩基性線維芽細胞成長因子 (bFGF)	○/× ○ ○ ○ ○ ○	大腸菌/ ヒト培養細胞 大腸菌 動物培養細胞 大腸菌/ 動物培養細胞 大腸菌 大腸菌
<血液凝固因子> 血液凝固第VII因子 (活性型) 血液凝固第VIII因子	○ ○	動物培養細胞 動物培養細胞
<抗体> キメラ抗CD20モノクローナル抗体 キメラ抗CD25 (インターロイキン-2受容体 α)モノクローナル抗体 キメラ抗腫瘍壊死因子 (TNF) α モノクローナル抗体 ヒト化抗RS (Respiratory Syncytial) ウイルス抗体 ヒト化抗上皮成長因子 (EGF) 受容体 (HER2)モノクローナル抗体 マウス抗CD3モノクローナル抗体	○ ○ ○ ○ ○ ×	動物培養細胞 動物培養細胞 動物培養細胞 動物培養細胞 動物培養細胞 動物培養細胞

第3章
品質と安全性評価
の

表3-3 遺伝子組換え技術を応用して細胞基材より生産されるペプチド・タンパク質性医薬品の製造方法におけるシナリオの多様性

- 宿主細胞の選択
- 目的タンパク質 (第1次発現産物) の構造遺伝子 (アミノ酸を実際にコードする遺伝子配列) の由来や塩基配列の選択
 例・アミノ酸配列のデザインを人為的に改変するかどうかの選択。
 ・前駆体や融合タンパク質として産生させるか、単純タンパク質とするか、あるいは、翻訳後修飾を受ける複合タンパク質とするかどうか、などの選択。
- 発現ベクター (目的タンパク質を発現させる目的で宿主細胞に導入されるベクター) の種類や構築方法の選択
- 構造遺伝子の発現を調節する塩基配列 (プロモーターなど) の選択
- 組換え体 (宿主細胞に発現ベクターが導入された細胞) の作製・選抜方法、および選抜された組換え体のバンク化 (単一の性質をもつ細胞を分注した複数のバイアル/アンブルからなるセルバンク-これが医薬品製造用基材にあたる-) の方法の選択
- 培養方法や目的タンパク質の発現条件の選択
- 培養後の精製/処理方法や製剤化の方法の選択

株セルバンク)は、保存管理法が不適切な場合には変化する可能性がある。また、大量培養中における細胞の変異も考えられる。培養中に生きた細胞内で起こる事象に関しては、人為的な制御が不可能もしくは困難な点が少なからずある。医薬品生産に関連して培養細胞内で起こる事象とは、例えば、遺伝子発現(複製、転写)、遺伝子からのタンパク質の発現(翻訳)、発現タンパク質のプロセッシング、糖鎖付加その他の翻訳後修飾、高次構造形成などである。これらは、最終的に採用された遺伝子発現構成体(遺伝子組換え技術応用医薬品の製造に用いられる、目的タンパク質の構造遺伝子を含む発現ベクター)の種類、培養細胞の種類、細胞の培養条件、目的産物の発現誘導条件などにより大きな影響を受ける。人為的にコントロールできるところもあるが、発現タンパク質のプロセッシング、糖鎖付加その他の翻訳後修飾、高次構造形成などは、前述した発現ベクター、細胞の種類、培養条件などの諸条件に応じてその挙動が変動する可能性を秘めた細胞任せの部分の大きいところである。それに加えて、目的産物は一般に物理的・化学的にも、また生物活性の面からみても不安定で変化しやすい高分子活性タンパク質であるという点や、変化のしやすさが製造方法、製剤化、保存方法とも密接に関連しているという点にも着目する必要がある。

ところで、ペプチド・タンパク質性医薬品の物性面での大きな特徴としてあげられるのは、最終製品中の目的成分が多様な分子種から構成される不均一なものとなる可能性が高いことである。どのような不均一性のものが得られるかは、用いられた遺伝子発現ベクター、細胞の種類、培養条件、精製方法などに影響されるが、中でも培養細胞内で起こる遺伝子発現、翻訳、プロセッシング、翻訳後修飾などや製造工程中でのタンパク質の不安定さに起因する一部の構造変化などの影響が大きい。

一方、目的成分とは別に、最終製品に混入する可能性のある不純物や汚染物質(例えば、目的物質由来/製造方法由来不純物、感染性物質やエンドトキシン)の種類や量も製造方法と密接に関係する。

このようにペプチド・タンパク質性医薬品の場合、多様な人工的シナリオにより、不確定要素を秘める生細胞を用いて不安定な高分子タンパク質を生産し、高度に精製して医薬品として利用するという背景を考えると、目的有効成分に制御不能で不可避的な不均一性が生じたり、それとは別に化学構造や生物活性が変化したり、望ましくない不純物などが生成・混入することによって、製品の品質・安全性・有効性確保上の問題を生じる可能性が常に存在することに留意しておく必要がある。

これを別の観点からみると、同一の目的産物を有効成分とした医薬品の生産

を目指したとしても、製造業者が異なれば製造方法は当然異なるので、最終製品に含まれる目的産物の構造、組成や不均一性、不純物などの種類や混在量が個々の製品間で異なるケースがあり、またそれが品質・安全性などの確保上、問題となる可能性があるケースが少なからずあるということである。また同一の製造業者でも、製造方法を何らかの理由で変更した場合には同様の事態が発生する可能性が考えられる。

そうした中で製品の品質・安全性を確保し、その恒常性を保証する前提としては、まず、その製造方法で得た製品の分子特性、品質、安全性などに関する必要な検討を行い、どのような製品が得られたかを明らかにして、意図する製品の範囲のものが得られたことを確認することが何よりも重要である。目的とする製品が得られたことが立証できれば、それはとりもなおさず、採用した製造方法がとりあえず妥当であることを意味する。こうした製品面からの評価に加えて、バリデーションなどさまざまな角度からの検討によって、採用した製造方法が細胞基材の段階から培養工程、精製工程、製剤化に至るまで目的にかなう妥当なものであり、かつ品質・安全性の保証された製品の安定した生産が続けられるものであることを確認しておく必要がある。また、いったん妥当性が立証された製造方法は、その詳細を明確にしておき、その一定性の維持・管理を行うための適切な方策を講じておく必要がある。例えば、細胞基材由来のタンパク質性医薬品（遺伝子組換え技術応用医薬品や細胞培養技術応用医薬品）の製造用基材となるセルバンクについては、適切な調製法によるバンクの確立、徹底した特性解析、厳密な管理を行い、以後必要な際には定められた方法により再調製して一定の特性をもつセルバンクを用いるための方策を明らかにしておくことが重要である。もちろん、以降の培養工程や精製工程を含む製造工程全体も、使用する各種試薬やクロマトグラフ用カラムの担体、装置などの製造用資材の品質や管理法、手順などを含めて厳密に一定性を維持する必要がある。さらにII-F項で述べるように、細胞基材にもともと存在する可能性がある感染性物質のみならず、製造に用いられる培地や試薬など、生物由来の原料または材料からの感染性物質の混入についても特段の配慮が必要である。

製品レベルでその品質、有効性、安全性の恒常性を維持、保証するための方策も必要である。それには、ロット毎の品質規格、試験法を適正に定めることや、必要に応じて、工程内管理試験の設定を含む適切なプロセスコントロールを行うことが欠かせない重要事項となる。

生物学的な作用の面からみると、タンパク質性医薬品は一般的に化学合成医薬品に比べて微量で作用を示すものが多く、その作用も組織や部位、濃度に応じて多彩であることがしばしばである。また、作用に動物種特異性を示すケー

表3-4 バイオロジクスを適用対象としたICHガイドライン¹

- 組換えDNA技術を応用したタンパク質生産に用いる細胞中の遺伝子発現構成体の分析 (1998年1月)²
- 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) 製造用細胞基材の由来, 調製及び特性解析 (2000年7月)³
- ヒト又は動物細胞株を用いて製造されるバイオテクノロジー応用医薬品のウイルス安全性評価 (2000年2月)⁴
- 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 (2001年5月)⁵
- 生物薬品 (バイオテクノロジー応用製品/生物起源由来製品) の安定性試験 (1998年1月)⁶
- 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評価 (2000年2月)⁷

- 1 <http://www.nihs.go.jp/dig/ich/ichindex.htm>
- 2 <http://www.nihs.go.jp/dig/ich/quality/q5d/iyakusin-873.pdf>
- 3 <http://www.nihs.go.jp/dig/ich/quality/q5b/q5bstep4j.html>
- 4 <http://www.nihs.go.jp/dig/ich/quality/q5a/iyakusin329.pdf>
- 5 <http://www.nihs.go.jp/dig/ich/quality/q5c/q5cstep4j.html>
- 6 http://www.who.int/mhlw.go.jp/~hourei/cgi-bin/t_docframe.cgi?MODE=tsuchi&DMODE=CONTENTS&SMODE=NORMAL&KEYWORD=&EFSNO=3572
- 7 <http://www.nihs.go.jp/dig/ich/safety/s6/iyakusin-326.pdf> (準末参考文献3)

スやタンパク質としての抗原性が問題となるケースが多いという特徴も持っている。安全性確保上、次項で述べるような点に留意しておく必要がある。

バイオロジクスの品質・安全性などを確保するための一般的留意事項について、日米EU医薬品規制調和国際会議 (International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use ; ICH) の場で三極の規制当局関係者および製薬業界の専門家を集めて議論が続けられており、合意に至った事項についてはガイドラインとして厚生労働省から各種公表されている (ICHガイドライン)。細胞基材由来のタンパク質性医薬品 (および一部の生物起源由来タンパク質性医薬品) に関してこれまでに公表されているICHガイドラインを表3-4に示す。また、医薬品開発途上や承認後に製造方法の変更を行う場合に、変更前後の製品の医薬品としてのcomparability (同等性/同質性) をいかに評価するかに関する議論が現在進行している。

B 細胞基材より生産されるペプチド・タンパク質性医薬品の非臨床安全性評価

1. 概 論

不純物や感染性物質に起因する安全性の問題とは別に、有効成分そのものに関連した安全性上の問題がある。多くのホルモンやサイトカインに代表されるようにペプチド・タンパク質性医薬品中の目的タンパク質は多種多様な生物学的作用を微量で示し、生体内で必要なときに必要な場所で必要な濃度存在し、他の生体内機能分子と協同作業あるいは相互調節制御的作業を営みながら生体

のホメオスタシスの維持に関与している。そのため、これらの機能分子が医薬品として人為的に投与された場合、目的タンパク質自体が生体内で本来の生理的濃度をはるかに超えた状態または本来存在しない組織にまで存在する状態が生じることにより目的外の作用が発現したり、生体のホメオスタシスの乱れを招いて生体に望ましくない作用を発揮する可能性がある。したがって、期待する薬効やその効果発現のための作用機序はもとより、目的外の作用についても医薬品開発段階（非臨床試験段階）で十分に理解を深めておく必要がある。

さらに、特にタンパク質性医薬品では抗原性についても注意が必要である。これらの抗原性は、アレルギーやアナフィラキシー（即時型 I 型アレルギー反応、具体的な症状としてはショックなど）、アナフィラキシー様症状（臨床所見からはアナフィラキシーと区別できないが、発現機序において IgE が関与しないもの）あるいは中和抗体（インヒビター）の産生など、臨床上重篤もしくは致命的な問題につながるケースもある。種差の問題から、製品のヒトに対する抗原性は最終的には臨床試験でしか確実な評価はできないが、

- ①目的タンパク質自体およびそれと同等な生物学的作用を示す目的タンパク質関連物質の抗原性
- ②精製工程により除去できなかった、あるいは製品の保存中に凝集、変性などの構造変化を起こして生成する目的タンパク質由来不純物の抗原性
- ③製品中の（目的タンパク質由来ではない）夾雑タンパク質や夾雑リポ多糖類などの不純物の抗原性
- ④製品中のタンパク質と添加剤（ヒト血清アルブミンや糖類など）との相互作用により形成される反応付加体の抗原性

の4点については、臨床試験の実施前に、

- ①製品の製造工程（細胞基材、培養工程に用いる培地成分、精製スキーム等々）の選択の妥当性に関する十分な検討
- ②品質面に関する徹底的な試験、解析（問題となる不純物混在量の上限值を規定するなど、保存中の変化も考慮した適切な品質規格の設定）

を行った上で、

- ③適切な非臨床安全性試験の実施、およびそこでの抗原性に関する注意深い観察と十分な考察

を行っておくことが望ましい。なお、添加剤や不純物がアジュバント（免疫増強物質）として作用するケースもあるので、この点にも注意が必要である。

2. 非臨床安全性試験—ICHガイドライン—

動物などを用いた非臨床安全性試験の主な目的は、まず、特に臨床試験開始前の段階において、