

5種類以上、熱傷や潰瘍の治療に、自己由来培養軟骨細胞が関節丘損傷の治療に実用化されています。国内では非自己由来の培養皮膚が承認申請予定あるいは承認申請中であり、自己由来の培養皮膚の治療も計画されています。また、皮膚に続いて、樹状細胞や軟骨細胞も細胞・組織利用医薬品などとして開発が進められています。樹状細胞について国内では、前立腺がんや多発性骨髄腫を対象にした臨床試験の開始が厚生労働省に確認申請され了承されています。これは、企業ベースで開発が進められている細胞・組織利用医薬品、言い換えれば再生医療の例です。

医師主導型で細胞治療の臨床研究が行なわれていると推定される例を、表5に示します。

培養皮膚、軟骨細胞、骨髄細胞を軟骨、骨芽細胞、血管、皮膚などに分化させて再生医療に用いようとする試み、さらに歯茎や角膜の再生、あるいはリンパ球からCTL、細胞傷害性T細胞を誘導してがん治療を行なおうとするなどの試みがあります。

表4 開発中の細胞・組織利用医薬品など(国内)

細胞	名称	供給源	対象疾患	状況
培養皮膚(真皮)	Dermagraft	非自己	皮膚潰瘍	承認申請予定
培養皮膚(真皮)	TransCyte	非自己	真皮欠損創	承認申請中
培養皮膚(表皮)	J-TEC-01	自己	熱傷	確認申請済
樹状細胞	Provenge	自己	前立腺がん	確認申請済
樹状細胞	Mylovenge	自己	多発性骨髄腫	確認申請済
軟骨細胞	J-TECACC-01	自己	外傷性軟骨欠損症、変形性関節炎	承認申請中

表5 細胞治療臨床研究の実施状況(国内)

細胞	供給源	対象疾患	方法
培養皮膚	自己	熱傷、母斑など	患者の皮膚バイオプシーより培養表皮シートを作製して自家移植片として提供
軟骨細胞	自己	軟骨損傷	アテロコラーゲンをういた自家軟骨細胞培養移植術
骨髄細胞	自己	ひざ関節症	患者自身の骨軟骨前駆細胞を体外で培養し(軟骨に分化)関節軟骨欠損部位に移植
骨髄細胞	自己	リウマチ、変形性関節症	患者から採取した骨髄細胞をセラミック製の人工関節の表面で骨芽細胞に分化させて移植
骨髄細胞	自己	閉塞性動脈硬化症	血管のもとになる細胞を骨髄から分離して患部数十カ所に筋注し、新たに血管を作る
骨髄細胞	自己	やけど、褥創	患者の骨髄細胞を培養し、皮膚を再生
骨髄細胞	自己	心筋梗塞	患者の骨髄細胞を心臓に移植し、血管を再生
骨髄幹細胞	自己	歯周病	患者から採取した骨髄幹細胞と血小板成分を粉末セラミックスと共に歯茎に注射
角膜細胞	自己	角膜潰瘍	患者から採取した角膜を培養し、コンタクトレンズの内側に貼り付けて装着(移植)
リンパ球	自己	がん	患者から採取したがん細胞とリンパ球からCTLを誘導し患者に戻す(糞子免疫療法)

## 2) 細胞由来バイオロジクスの品質・安全性・有効性の評価・管理

先端的バイオロジクスの品質、安全性、有効性などを適切に評価した上で臨床応用し、また開発を一層適正に効率よく推進させるためには、製品に関する適切な解析、評価や管理、さらには製造方法の妥当性に関する検討などが重要です<sup>2)</sup>。

### 2.1 タンパク質バイオ医薬品の場合

#### 2.1.1 ICHガイドラインの活用

細胞基材由来のタンパク質性のバイオ医薬品に関しては、新規製品開発に際して必要な技術的要件に関する国際調和 (ICH) ガイドラインがあります (図 5 参照)。具体的には、細胞基材、遺伝子安定性、ウイルス安全性、製品の安定性、特性解析/品質規格、非臨床安全性についての指針が示されています<sup>3-8)</sup>。最近、コンパラビリティ (製法の変更に伴う新旧製品の同等性/同質性評価) に関する ICH 国際ガイドラインが各極専門家間での合意に達しました。

これらのガイドラインは、細胞基材由来タンパク質性医薬品の品質・安全性とその恒常性の確保を図るために必要な要素のうち、

- 1) 目的物質の製造工程の明確化とその妥当性の評価・検証、特に、遺伝子発現構成体の構築や解析および細胞培養中の安定性、細胞基材の由来、調製およびバンク化とその特性解析および品質評価、細胞基材の安定性、
- 2) 製品の十分な特性解析や品質評価、製品の規格および試験方法や原材料の試験および工程内管理試験の設定と実施、ロット間の品質恒常性の立証、製法の変更に伴う製品の同等性/同質性評価、
- 3) 安定性試験と評価、
- 4) ウイルス安全性評価、
- 5) 非臨床における安全性評価などの要素について作成されたものです。

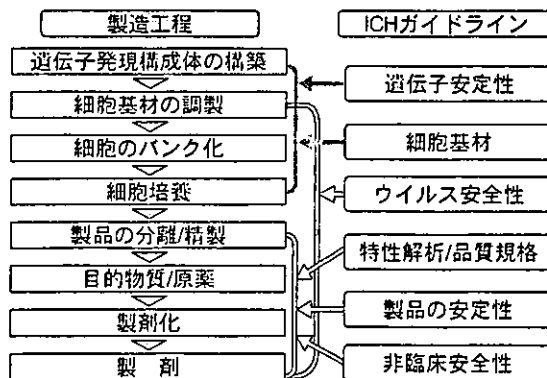


図5 細胞基材由来タンパク質性医薬品開発のためのICHガイドラインの活用

### 2.1.2 品質、安全性、有効性確保に必要な要素

次に、現時点でタンパク質性バイオ医薬品の品質、安全性などを確保するために必要とされている一般的留意事項の要点について述べます<sup>2,9)</sup>。

- 1) 採用した製造方法についてその詳細を明らかにし、それが一定の目的物質を製造する上で適正なものであることを立証し、かつ、そうした製造方法の一定性を維持していくことを保証する必要があります。このことは、遺伝子操作、生きた細胞の加工や大量培養を伴う複雑でかつ変動要因の多い人工的な製造過程を経て生産される複雑で変化しやすい高分子タンパク質の品質、有効性、安全性を確保する上で極めて重要な意味を持っています。
- 2) タンパク質性バイオ医薬品は人工的シナリオで得られる人工的産物で、かつ変化しやすい高分子タンパク質であるので、その構造、特性や品質について物理的・化学的、免疫学的、生物学的方法などを駆使して徹底的に解析する必要があります。また、目的成分の物質構造面における不可避的な不均一性問題に適切に対応する必要があります。
- 3) 最終目的物質に混入してくる可能性がある有害因子、あるいは製造工程由来不純物や目的物質由来不純物について特に注意を払う必要があります。プロセス評価や、工程内管理試験の合理的導入を図る必要があります。
- 4) バイオ医薬品の原薬および製剤および、必要に応じて中間体について適切な安定性試験および評価を行なう必要があります。
- 5) タンパク質性バイオ医薬品は、たとえばヒト型のホルモンや酵素、サイトカイン、モノクローナル抗体、ワクチンなどといった、極めて特異な化学的あるいは生物学的特徴を有するものです。したがって、毒性試験などの非臨床動物試験を実施するにあたり、従来の低分子の有機合成医薬品に用いられたようなアプローチをとることは必ずしも適切ではなく、その製品の特性や臨床上的使用目的を考慮しながらケース・バイ・ケースの原則で対処する必要があります。その際、目的とする製品の生化学、生理学あるいは薬理学的作用を十分に把握し、生物学的応答性などに関して適切な試験動物を選択することが重要です。
- 6) 臨床試験の目的や実施方法自体は他の医薬品の場合と変わりませんが、組換え医薬品や細胞培養医薬品の場合は、それ自体がタンパク質であり、また、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患者に何らかの免疫応答を引き起こし、結果的にその有効性、安全性に影響をおよぼす可能性に関して特に留意する必要があります。
- 7) 品質の恒常性を保証するための、適切な規格および試験方法を確立する必要があります。
- 8) 個々のバイオ医薬品に関して、最も適切な非臨床試験および臨床試験は、目的物質の製造方法、種類・特性、臨床適用上の対象とする効能・効果、臨床用量、臨床投

与経路、投与頻度、投与対象患者などに応じて実施することにあります。

### 2.1.3 生産過程の特徴と目的成分における変化

製造方法の明確化と一定性の保持の重要性について、もう少し触れておきます。タンパク質性バイオ医薬品の製造過程は、

- 1) 多様な人工的シナリオでデザインし、
  - 2) 不確定要素を秘める生細胞を用いて、
  - 3) 不安定な高分子タンパク質を製造し、
  - 4) 高度に精製して医薬品として利用する、
- という特徴があります。

これに関連して目的有効成分の化学構造や生物活性に変化が生じる可能性があり、その結果、医薬品の品質・安全性・有効性確保上の問題を生じる可能性があります。

### 2.1.4 製品の品質の恒常性を図るためには

したがって、製品の品質の恒常性を図るためには、まず、それぞれのケースごとに、

- 1) 採用された製造方法の詳細を明確にして、その科学的妥当性を示す
- 2) その製造方法で得た製品の物性、品質、有効性、安全性に関する詳細な検討を行なって、製品の面からその製法の妥当性を立証する
- 3) 得られた製品の品質、有効性、安全性の恒常性を、維持、保証するために必要なロット毎の品質規格、試験法を定める
- 4) 必要に応じて、適切な工程内管理試験を設定するなどの処置が必要です。

### 2.1.5 目的物質の構造・特性解析と品質評価の重要性

目的物質の製造工程の明確化、妥当性の検証と表裏一体の関係で重要なことは、最終目的物質の組成分析、構造解析、物理的・化学的性質、生物学的性質、免疫化学的性質などを含む特性解析と品質評価です。幸い、生理活性タンパク質の構造解析技術や特性・品質解析法、不純物の分離検出法などが、バイオ医薬品の開発と期を一にして発達し、生産物の構造解析や特性解析、品質評価に大きな威力を発揮しています。

タンパク質性バイオ医薬品における構造解析、特性解析、品質評価の重要性は、これが本質的には人工的な技術に基づいて生産される高分子タンパク質であることを考えれば自ずと明らかです。

### 2.1.6 製品成分の不均一性問題

ところで、目的物質に関する重要なポイントとして、生体によって生産される製品でかつ変化を受けやすいタンパク質であるという特徴をふまえたときの、医薬品原薬の基

本成分となる目的物質とは一体どのようなものとして定義すればよいのか。従来は生物活性を指標に有効成分を規定してきたタンパク質性医薬品において、分子レベルではどのような成分構成のものを有効成分と考えるべきかということがあります<sup>2,7,10)</sup>。

糖タンパク質の場合には、仮に単一の遺伝子から単一の発現タンパク質に翻訳されたとしても、糖鎖付加という翻訳後の修飾により、

- 1) 発現タンパク質各糖鎖結合部位への糖鎖付加の有無をはじめ、
- 2) 付加した糖鎖の種類多様性、
- 3) 同一糖鎖結合部位に付加した糖鎖における種類の多様性と存在量の不均一性などが生じ、

結果的に生産物の構成成分が分子種としてきわめて多様な糖鎖付加体（グリコフォーム）の集合体となります。

図6は、エリスロポエチンのタンパク質一次構造を示します。グレーで示した三つのN型の糖鎖が付く場所と、白で示した一つO型の糖鎖が付く場所があります。

エリスロポエチンのような糖タンパク質が目的物質であった場合、いかに、その糖鎖に多様性があるかを図7に示します<sup>11)</sup>。つまり、糖タンパク質製品の場合には、糖鎖付加という翻訳後の修飾により、結果的に生産物の構成成分が分子種として極めて多様であり、不均一な糖タンパク分子の集合体となるかについて私たちの研究室でLC/MSを使って調べた結果です。

エリスロポエチンの38位、24位、126位、83位の各糖鎖結合部位には、それぞれ、少なくとも図7に示すだけの異なる糖鎖が付いているということです。一個のサイト毎にこれだけ付いているということは、分子種（グリコフォーム）の数はこれらの四つの組み合わせになるので途方もない数字になるのです。

したがって、これの一個一個を目的物質と考えると、誰も分子種としては分けられません。後でこれほど多様であるということは分析できるのですが、生産物を各分子に分けて考えることはできないので、このような場合には、できた集合体をあるがままに受

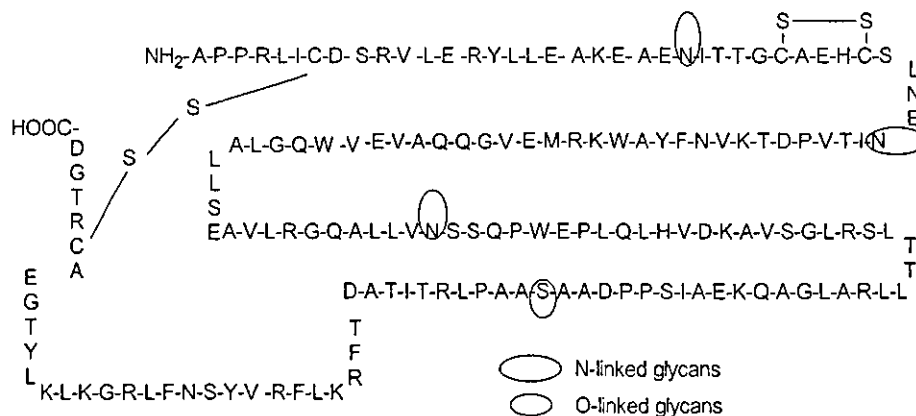


図6 エリスロポエチンの構造

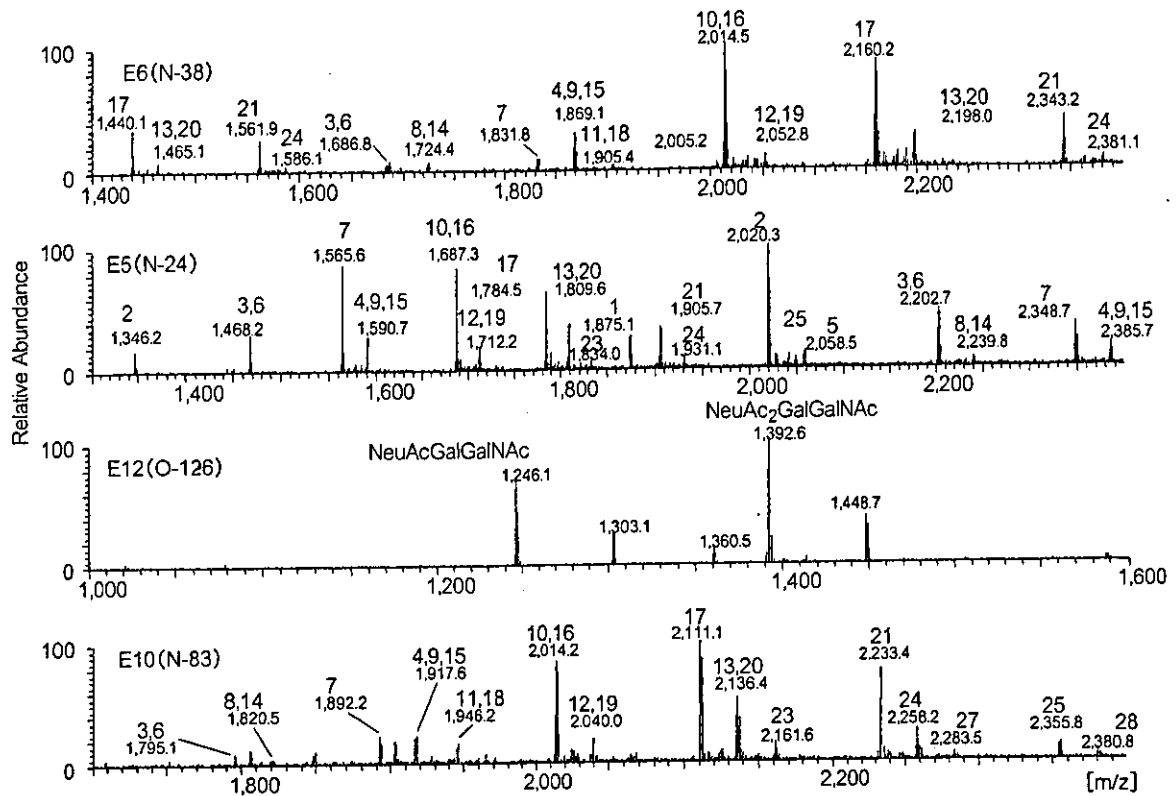


図7 エリスロポエチンの各糖鎖結合部位における糖鎖付加の多様性

け止める以外にはありません。それが、糖タンパク質における目的物質であるのです。

タンパク質性バイオ製品の成分の不均一性を示したのが図8です<sup>12)</sup>。細胞から原薬たるタンパク質が得られます。この有効成分とは一般にヘテロなものであり、仕方がないということです。目的物質が糖タンパク質のような場合がその典型的な例であります。極めてヘテロなものです。有効成分の概念ですが、目的物質から派生したものでも活性が匹敵して安全性上問題なければ、有効成分であるとみなします。目的物質に匹敵しないものは不純物であると整理しています。

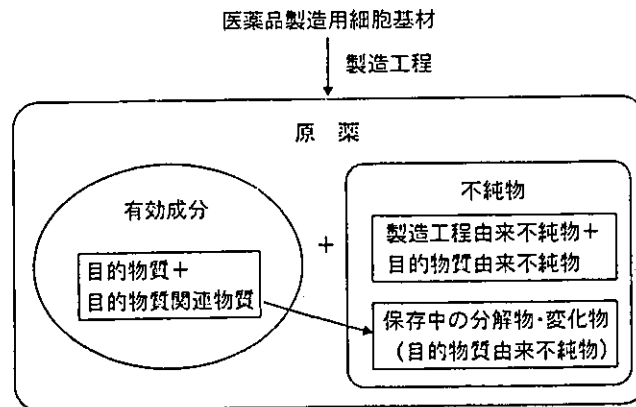


図8 タンパク質性バイオ製品の成分の不均一性

不均一性への実際的対応として重要なことは、ロット間の恒常性の確保と、これらが臨床上あるいは前臨床で用いられたロットと不均一性のパターンに関して、同等のパターンを示すことを担保することです。この同等性の担保をするという時に肝心なのは、目的物質関連物質あるいは不純物の許容量を決めておく必要があるということです。生物活性と理化学的特性との多様な関係を乗り越えるには、今のような考え方をせざるを得ません。

### 2.1.7 外来性有害因子、不純物

タンパク質性バイオ医薬品の品質確保、安全性の観点から、特に留意する必要があることの一つが不純物の問題です（図9 参照）。混在が予想される不純物には、大別して外来性の有害因子、製造工程由来不純物、目的物質由来不純物の3種類が考えられます。このうち外来性の代表的有害因子である微生物（細菌、真菌、マイコプラズマ、ウイルス）や発熱性物質の混在は、適切な試験方法あるいはクリアランス評価試験などにより否定される必要があります。

<ul style="list-style-type: none"> <li>●外来性有害因子                             <ul style="list-style-type: none"> <li>・微生物(細菌、真菌、マイコプラズマ、ウイルス)</li> <li>・発熱性物質</li> </ul> </li> <li>●製造工程由来不純物                             <ul style="list-style-type: none"> <li>・生産細胞由来(例：タンパク質、核酸、その他の細胞成分)</li> <li>・培地由来(培地成分、血清成分、抗生物質、誘発剤など)</li> <li>・目的産物の抽出、分離、加工、精製過程で用いた試薬、加工時副生成物、抗体カラムなどに由来する不純物</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>●目的物質由来不純物                             <ul style="list-style-type: none"> <li>・変異体、誤切断産物、ジスルフィド異性体、凝集体（重合体：2量体および多量体）、デスアミド体、酸化生成物、その他の分解産物</li> </ul> </li> </ul>
--	---

図9 外来性有害因子、製造工程由来不純物、目的物質由来不純物

### 2.1.8 バイオ医薬品の品質確保と恒常性確保に必要な要件

工程管理に関連して、図10 にバイオ医薬品の品質確保と製造の恒常性確保に必要な要件を示しています<sup>12)</sup>。まず、製品の特性・品質解析結果は、同時に製造工程全体の妥当性に関する最も重要なデータでもあります。また、規格および試験方法の設定に際して最も基礎となるデータを提供します。

しかし、一度だけの製品の特性・品質解析結果のみで製造工程の妥当性や製造の恒常性を担保することはできませんし、また、規格および試験方法のみに依存して品質の恒常性確保を望むこともできません。この製造工程について、さらにさまざまな角度から妥当性を評価/検証すること、その一定性・継続性をプロセス・コントロールで保証す

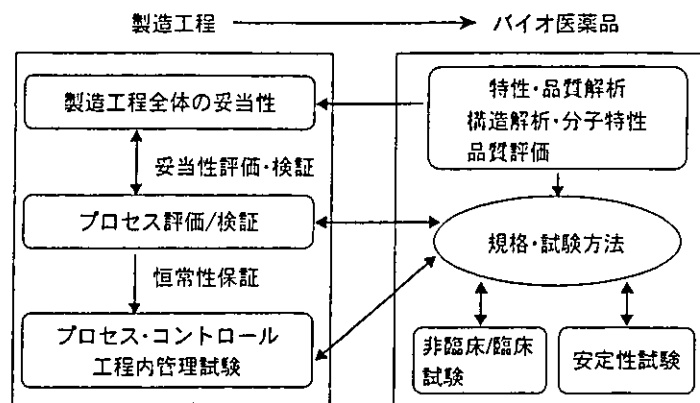


図10 バイオ医薬品の品質確保と恒常性確保に必要な要件

ることを通して、医薬品の品質の恒常性確保に寄与することになります。

プロセスの妥当性評価/検証のうち、承認申請時において、製品の品質保証や品質の恒常性を立証するのに最も直接的に関わるのが、製造・精製工程のプロセス評価です。その最大の目的は、目的物質がその生物学的特性を損なうことなく純化されているか、また、有害因子や不純物が安全性からみて許容できるレベルにまで不活化・除去されているか、またその再現性があるかを立証することにあります。ウイルスクリアランス試験や不純物の添加回収、除去試験は典型的なプロセス評価試験です。次に、承認から許可に至る間では実生産スケールでのプロセスの妥当性の検証、いわゆるプロセスバリデーションが行なわれます。このプロセスの妥当性評価/検証の結果を受けて、その恒常性を保証していこうとする方策がプロセス・コントロールです。プロセス・コントロールはハード面およびソフト面におけるさまざまな操作指標や性能指標をモニタし、管理することによって実施されます。

プロセス・コントロールの一環として、製品に関して製造工程のある段階で工程内管理試験を設定することがあります。対象は、有害因子や不純物、あるいは安定化剤などが添加される前の目的物質などです。工程内管理試験や規格は、承認事項になります。このプロセス評価/検証やプロセス・コントロール、特に工程内管理試験をふまえて、製品段階での規格および試験方法の設定の必要性や規格値が定められることとなります。この方策によれば、工程内管理試験で設定した規格・試験に関しては、最終製品での規格および試験方法で設定する必要はなく、重複を避けることが可能になるという訳です。

### 2.1.9 安定性

次に安定性ですが、タンパク質性バイオ医薬品の安定性試験の目的は、その他の医薬品の場合と同様に、

- 1) 品質保証可能な保存条件、保存期間の設定
- 2) 医薬品が経時的にどのような変化を受ける可能性があるか



について検討していくことにあります<sup>2,8)</sup>。

試験の実施計画や評価に際して第一義的に重要な点は、実保存期間、実保存条件での安定性試験データが、貯法を決める場合はもとより、分解物の確認やその後の処置などのことを考える際にも、基本になるということです。試験の実施にあたっては、対象となる製品の同一性、純度、生物活性における変化を検出/測定できる検証された適切な理化学的試験方法（各種電気泳動法、高分解能クロマトグラフィ、ペプチドマッピングなど）、生化学的方法、免疫化学的方法を駆使してデータを集積する必要があります。

分解物・変化物に関しては、長期保存試験で有意に生成するような分解物などがある場合にその特性解析や定量、安全性上の問題について考慮する必要があります。その許容量は、前臨床や臨床試験で用いた試料でのレベルを勘案して設定し、その根拠を明らかにする必要があります。

## 2.2 遺伝子治療用医薬品の場合

次に、遺伝子治療用医薬品の品質および安全性の確保に関する規制環境について述べます。1995年11月15日から、当分の間、安全性および品質確保のため必要な基本的要件を定め、ガイドラインとして運用するものとして、指針が通知されています<sup>13,14)</sup>。

しかし、遺伝子治療用医薬品の種類や特性、臨床上の適用法は多種多様であり、また、本分野における科学的進歩や経験の蓄積は日進月歩です。したがって、本指針を一律に適用したり、本指針の内容が必要事項全てを包含しているとみなすことが必ずしも適切でない場合もあることから、個々の医薬品についての試験の実施や評価に際しては、品質・安全性の確保という目的を踏まえ、その時点の学問の進歩を反映した合理的根拠に基づき、ケース・バイ・ケースの原則で柔軟に対応することとされています。

## 2.3 細胞・組織利用医薬品などの場合

一方、図11に示すように、細胞・組織利用医薬品などに関しては、細胞・組織を取り扱う際の基本的要件を示すとともに、細胞・組織利用医薬品などの品質および安全性、

1. 目的、基本原則及び定義	3. 製造段階における安全性確保対策
2. 細胞・組織採取について	4. 職員及び組織並びに管理体制等
2.1 細胞・組織を採取する医療機関等について	5. 使用段階における安全性確保対策
2.2 細胞・組織採取に関する説明、同意等	5.1 製品情報提供
2.3 無対価での細胞・組織の提供	5.2 説明と同意
2.4 ドナー及びドナー動物の選択基準及び適格性	5.3 患者等の試料等の保存
2.5 採取作業の適切性の確保	5.4 患者等に関する情報の把握
2.6 細胞・組織の採取に関する記録	6. 個人情報の保護
	7. 見直し

図11 細胞・組織利用医薬品等の取扱い及び使用に関する基本的考え方

並びに細胞・組織の取り扱いに関する科学的および倫理的妥当性を確保することを目的として「細胞・組織利用医薬品等の取扱い及び使用に関する基本的考え方（以下、基本的考え方と略す）」が定められています<sup>15,16)</sup>。「基本的考え方」では、製品の品質、安全性確保に関する技術的要件のほか、倫理面で考慮すべき要件も記載されています。たとえば、細胞・組織採取については、医療機関の倫理委員会での審査、ドナーに対する説明・同意、ドナーの選択基準や適格性に関する事項が盛り込まれています。また、使用段階においては、患者に対する説明と適用についての同意、患者の試料などの保存といった必要性が挙げられています。なお、自家移植の場合には、ドナーもレシピエントも同一人物になるので、それを勘案した合理的な取り扱いがなされることになります。

それから、個人情報の保護。関係者はドナーや患者などに関する個人情報を漏らしてはならないことが規定されています。これらは、先端的バイオロジクスの臨床応用における特に倫理面での一般的考え方の参考にもなるものであると思います。さらに「基本的考え方」を必要に応じて見直すとの規定が盛り込まれています。

また、図 12 に示す「ヒト由来細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針」もあり、これには、ヒト由来の細胞・組織を加工した医薬品または医療用具（細胞・組織加工医薬品等）の品質および安全性確保のために必要な基本的要件が定められるとともに、確認申請にあたって添付すべき資料の内容が示されています<sup>17)</sup>。この指針に示された主要項目、すなわち、製造方法から非臨床試験などの総括に至る基本的枠組みは遺伝子治療薬の場合と同じです。

- |   |
|---|
| <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 目的及び定義</li> <li>2. 製造方法</li> <li>3. 細胞・組織加工医薬品等の安定性</li> <li>4. 細胞・組織加工医薬品等の非臨床安全性試験</li> <li>5. 細胞・組織加工医薬品等の効力又は性能を裏付ける試験</li> <li>6. 細胞・組織加工医薬品等の体内動態</li> <li>7. 非臨床試験等の内容の総括</li> <li>8. 臨床試験</li> <li>9. 確認及び報告</li> </ol> |
|---|

図12 ヒト由来細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針

## 2.4 細菌、マイコプラズマ、真菌の混入否定試験

その他、どのようなバイオ製品においても一般的に留意すべき重要事項として、細菌、真菌、マイコプラズマの混入否定に関する試験が挙げられます。

原材料の段階をはじめとする製造工程の適切な段階、未精製バルクの段階から最終製

品に至る適切な製品レベルでの試験の実施を考慮する必要があります。

### 2.5 ウイルス安全性確保に関する基本的方策

もう一つの重要事項に、ウイルス安全性確保があります。そこでこれから、医薬品製造におけるウイルス面からみた安全性確保に関する基本的方策について簡単に述べていきます。

医薬品の有効成分、添加剤、その他製造過程において使用される試薬などが、ヒトや動物などに由来する場合において、留意すべき安全性上の極めて重要な課題の一つにウイルス汚染の可能性があります。これに対して慎重かつ科学的合理性に基づいた安全性確保措置をとることにより、不測の事態を未然に防ごうとすることは、社会的要請として重要であることは言うまでもありません<sup>5,18)</sup>。

図13は、ヒト・動物から原材料、医薬品製造基材、未加工/未精製バルク、原薬、製剤という、ヒト・動物由来原材料/製品が関係する医薬品製造とウイルス安全性の概念的な流れを示しています<sup>19)</sup>。

次に、医薬品などのウイルスに対する総合的な安全性確保を図るための必要な基本的方策について述べます。

- 1) ウイルス汚染の可能性について熟知すること、
- 2) 原材料およびその起源たるヒトや動物の適格性に関して慎重に吟味すること、
- 3) 医薬品の製造基材と定めた段階のものにおいて徹底的な解析とスクリーニングを行なうこと、ただしこの場合、原材料などにおける検討・評価と相互補完的に実施することが合理的なことも多いと思います。
- 4) ウイルスが存在した場合、どの程度ヒトへの有害性が高いかを検討・確認すること、
- 5) ウイルスが存在しないような製造関連物質を選択すること、
- 6) 必要に応じて製造工程の適当な段階の製品における外来性ウイルス否定試験の実

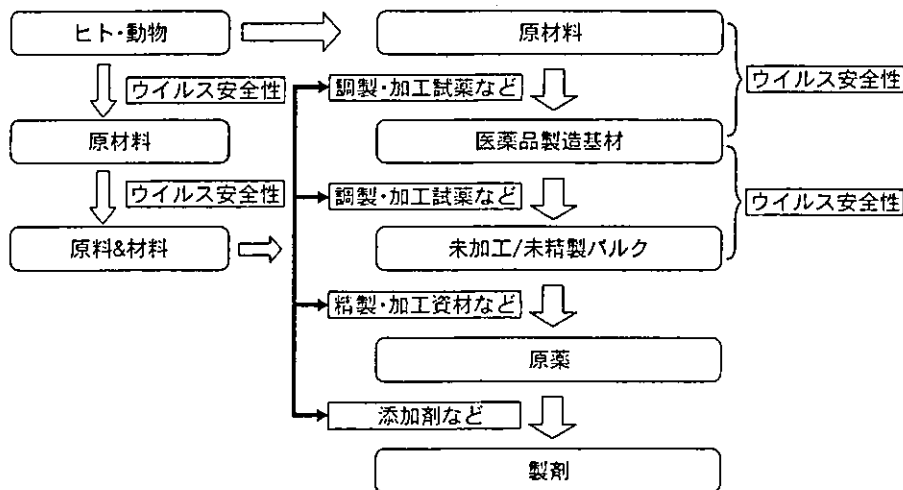


図13 ヒト・動物由来原材料/製品が関係する医薬品製造とウイルス安全性の概念図

- 施を考慮すること、
- 7) 工程中にウイルスの除去・不活化に関する効果的な方法を用いること。各種の方法の組み合わせによるより高いウイルスクリアランスの達成を図ること、
  - 8) 周到なウイルスクリアランス試験計画を立て、
  - 9) 試験を実施し、評価すること、
- などが挙げられます。

そしてこれらの方策を、段階的にかつ複数以上、相互補完的に活用していくことによって、医薬品のウイルス面での安全性を確保、向上させることが重要です。さらに、事前に予測あるいは検知できないウイルスなどによる健康被害の発生とその対応に備えて、医薬品製造基材の貯留保管、感染症発生の有無などの追跡調査、各種記録や検査試料をしかるべき期間保存する措置、その他関連情報の積極的収集と情報提供なども、必要に応じて実施すべきであります<sup>9)</sup>。

そして医薬品製造業者は、それぞれの製品や製造工程について、ウイルスに対する安全性を保証するための総合戦略の中で採用したアプローチを説明し、その妥当性を示す必要があるのです。

典型的な具体例として、表6を示します。細胞基材に由来するタンパク質性医薬品の場合の例であり、ウイルス試験の内容としては、レトロウイルスおよび内在性ウイルス試験およびいわゆる外来性ウイルスに関する試験は、全てマスターセルバンク (MCB) レベルで徹底して実施することとなります。また、培養終了後の細胞では、レトロウイルスが培養により発現してこないかということと、培地に生物由来の成分を使用する場合などでは、細胞大量培養中に外来性ウイルスが迷入することがないことを確認するため、*in vitro*、*in vivo* 試験などを実施します。

表6 各細胞レベルで一度は実施すべきウイルス試験

	MCB	WCB	CAL
レトロウイルスおよび内在性ウイルス試験			
感染性試験	+	-	+
電子顕微鏡観察	+	-	+
逆転写酵素活性	+*1	-	+*1
その他細胞種特異ウイルス試験	適宜実施	-	適宜実施
非内在性ウイルスまたは外来性ウイルス試験			
<i>in vitro</i> 試験	+	-*2	+
<i>in vivo</i> 試験	+	-*2	+
抗体産生試験	+*3	-	-
その他細胞種特異ウイルス試験	適宜実施	-	-

\*1: レトロウイルス感染性試験が陽性のときは不要

\*2: CAL (イン・ビトロ細胞数の上限の細胞) で試験が実施されるときは不要

\*3: たとえばマウス、ラット、ハムスターでの抗体産生試験、通常、げっ歯類由来の細胞に対し適用する

次に、図14に示すウイルスクリアランス工程評価試験について示します。これは、未精製バルクから精製バルクにかけての、目的物の精製工程でのウイルス不活化/除去に関する評価試験に関することです<sup>5)</sup>。

ウイルスクリアランス試験の目的は、(原材料などに存在する可能性がある既知および未知の)ウイルス不活化や除去に有効であると考えられる工程について評価すること、それらの各工程をあわせて全体としてウイルスがどの程度減少したかの実験的検証を行ない、定量的に評価することにあります。

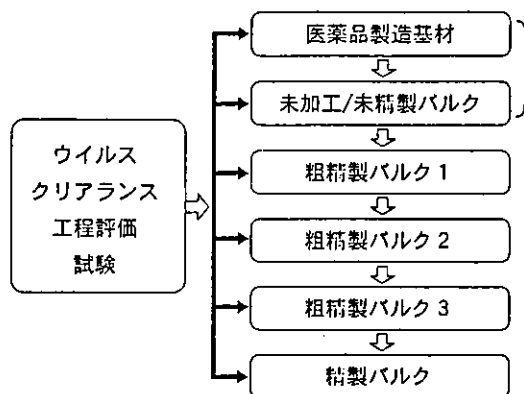


図14 ウイルスクリアランス工程評価試験



バイオリジクスの将来展望と課題という点に話を進めていきます。

図15に、バイオ創薬の適正かつ効果的な進展に必要なさまざまな要素と考えら

- ・生命科学の進歩
- ・医薬品関連技術開発と活用
- ・創薬資源供給体制の整備
- ・基礎研究、基盤研究、開発研究の効率的連携
- ・科学的妥当性、倫理的妥当性、社会的理解・認知、経済的許容性の確保と規制環境の整備
- ・産・学・官の連携
- ・国際共同活動と規制・基準の国際調和
- ・品質・有効性・安全性確保
- ・トランスレーショナルリサーチの推進
- ・適正使用

図15 バイオ創薬の適正かつ効果的な進展に必要な要素

れるものを挙げてあります。

これらの要素をいかに充実させ、活用していくかが、ゲノム・バイオ時代における医薬品の適正かつ効果的な進展の動向を握ると考えられますので、簡単に述べてみます。

### 3.1 生命科学の進歩

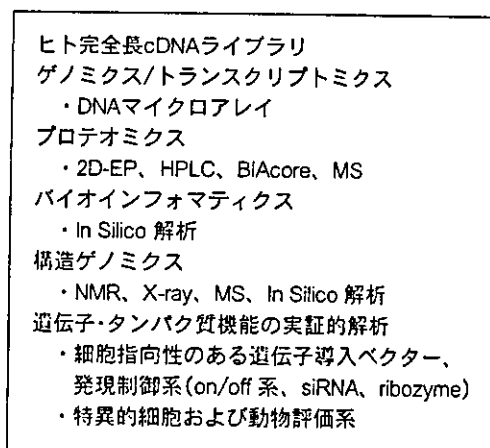
まず、生命科学の進歩です。従来より、医薬品の開発、とりわけバイオ創薬は、生命科学分野における学問的解明と技術開発の進展を基盤に進められてきました。生命科学の進歩といえ、今はまさに、ヒトゲノムを構成する DNA 塩基配列が詳細に解析されたときにあたります。これを大きな契機として、疾患に関連する遺伝子やタンパク質を新たに見い出したり、さまざまな生命現象の中で機能している遺伝子やタンパク質の動きをより詳細に調べ、新たな機能遺伝子/タンパク質を見い出すといった、いわゆる「生命の設計図」に隠されている「新たな遺伝子やタンパク質の探索とその機能解明」、さらには医薬品開発や医療技術などへの応用が、それぞれの国や地域の将来をかけた国際的競争の的となっています。

### 3.2 医薬品関連技術開発と活用

こうした生命科学の進歩と並んで、バイオ創薬の進展に必要な要素は、医薬品関連技術開発と活用です。

図 16 は、ポストゲノム時代におけるバイオ創薬におけるステージとそれぞれに用いられる技術基盤と要素について整理した図です<sup>1,19)</sup>。大きく分けて二つのステージがあります。新たな遺伝子やタンパク質の探索とその機能解明という第 1 のステージ、明らかにした遺伝子やタンパク質の機能の活用や制御に基づく創薬という第 2 のステージです。

●第1ステージ  
新規遺伝子やタンパク質の探索および機能解明



●第2ステージ  
明らかにした遺伝子/タンパク質の機能の活用や制御に基づく創薬

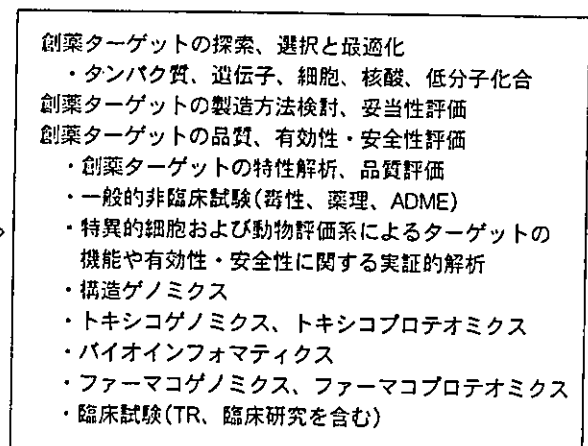


図16 ポストゲノム時代のバイオ創薬における二つのステージと技術基盤

各ステージでは、従来用いられてきた創薬関連技術に加え、新たな技術が用いられます。この中で私たちがこれから特に注目しなければならないと考えているのは、各種「ゲノミクス」や「プロテオミクス」に加えて、「遺伝子やタンパク質機能の実証的解析」や「特異的細胞および動物評価系による実証的解析」に関わる技術開発です。バイオ創薬の第一ステージである遺伝子やタンパク質機能解明については、「ゲノミクス」、「プロテオミクス」などといった包括的・網羅的な研究展開が行なわれています<sup>1,19)</sup> (図17参照)。しかし、これだけでは絞り込み、推定はできても遺伝子機能を最終的に実証し、医薬品開発や医療技術への応用にもっていくことはできません。

絞り込まれた、「個別遺伝子やタンパク質の機能を実証的に解析する」必要があります。その際の有力な手段の一つは、標的細胞や動物に候補遺伝子(群)を導入して発現させ、その機能を直接評価するか、あるいは細胞中ですでに働いている endogenous な標的遺伝子の機能を抑制することにより逆に標的遺伝子機能を評価するという実証的解析が重要な手段となります。しかし、実証的解析系の開発は極めて遅れています。これは高効率・高発現・標的細胞指向性のある画期的な遺伝子導入技術や発現制御技術、それから評価系の開発が遅れているためです。したがってこの分野のブレイクスルーは、遺伝子機能解明研究、ひいてはバイオ創薬などにとって非常に重要であり、日本独自で開発できれば、国際競争の中でもアメリカやヨーロッパと対等になると考えています。

そこで私たちは、現行のベクターで最も遺伝子導入効率が高いとされているアデノウイルス(Ad)ベクターを用いて、新規遺伝子・タンパク質機能の実証的解析のための画

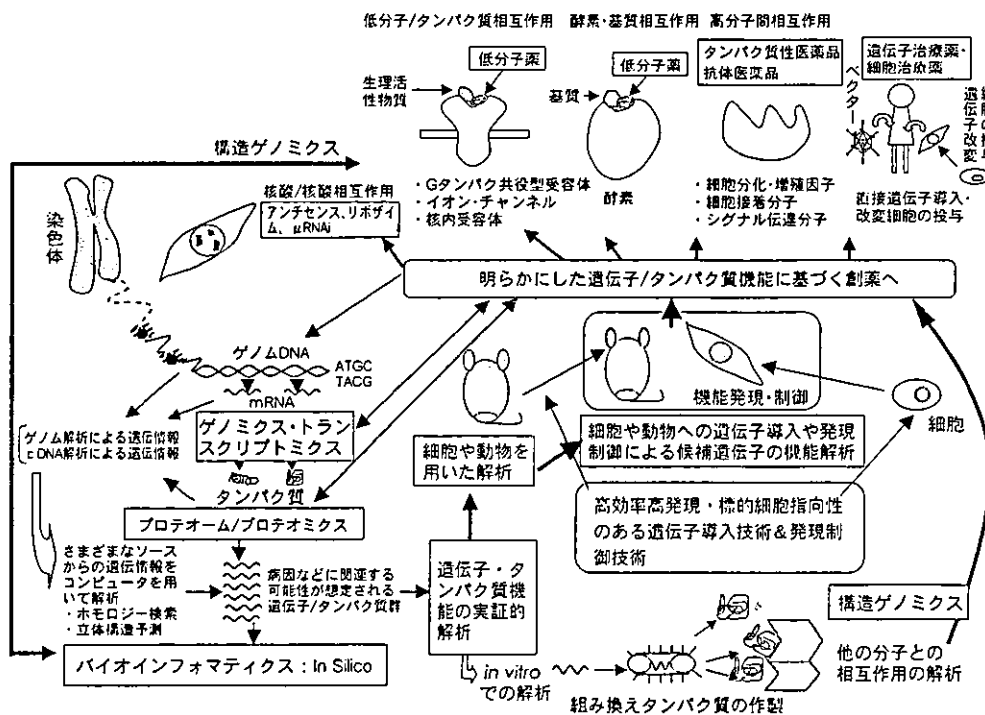


図17 ゲノム解読から創薬・革新的医療技術への応用

期的遺伝子導入系作成および遺伝子発現制御技術開発、またその技術を活用した特異的細胞および動物評価系作成に関する研究を行なっている訳です<sup>19-21)</sup>。

### 3.2.1 画期的遺伝子導入系の作製および遺伝子発現制御技術開発

その大きな課題の一つは、任意の（汎用性または特定の）標的細胞指向性を持った遺伝子導入系の作製技術開発です。既存で汎用されるアデノウイルス5型は、このファイバ部分が CAR と呼ばれるレセプターを介して細胞に入っていくことが知られています（図 18 参照）。したがって、Ad ベクターの標的細胞指向性を制御するための大きなポイントの一つは、このファイバ部分の改変にあると考えました。そこで、たとえば細胞表面のインテグリンを標的とするリガンド、RGD あるいはヘパラン硫酸を標的とするポリリジンペプチドでファイバ部分を改変した Ad ベクターを作製し、CAR のない細胞でも遺伝子導入できるような技術開発を試みました<sup>22-26)</sup>。

図 19 は、RGD 配列をファイバに導入した Ad-RGD ベクターを、従来型ベクターと比較した例ですが、CAR の発現が乏しいヒトの細胞では、グレーで示したように 100～1,000 倍の遺伝子導入活性を示しました。これ以外にも CAR の発現が乏しい各種ヒトの細胞やマウスの細胞で同様の結果が得られています<sup>22,23)</sup>。

また、図 20 で示すようにヘパラン硫酸を標的とするポリリジンペプチドでファイバ部分を改変した Ad ベクターでは、ヒトやマウスの細胞での遺伝子発現を 100 倍以上増加させることができました<sup>24)</sup>。

次に、複数の目的遺伝子を搭載した遺伝子導入系の作製技術開発について述べます。これが達成されると、

- 1) 複数の遺伝子を同時発現させて共同作業や相互作用を伴うタンパク質の機能解析、

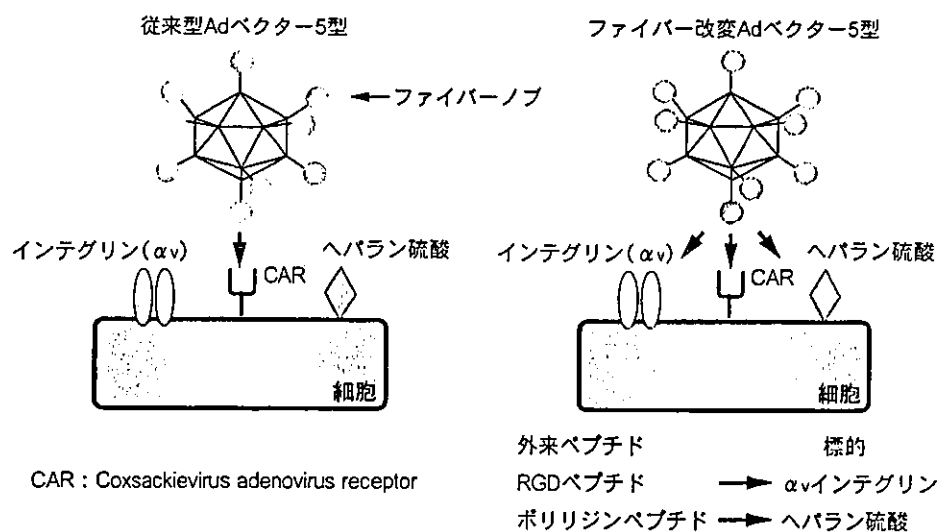


図18 ファイバー部分の細胞表面受容体に対するリガンドペプチドを改変することによる Adベクター5型の標的細胞指向性の制御の試み



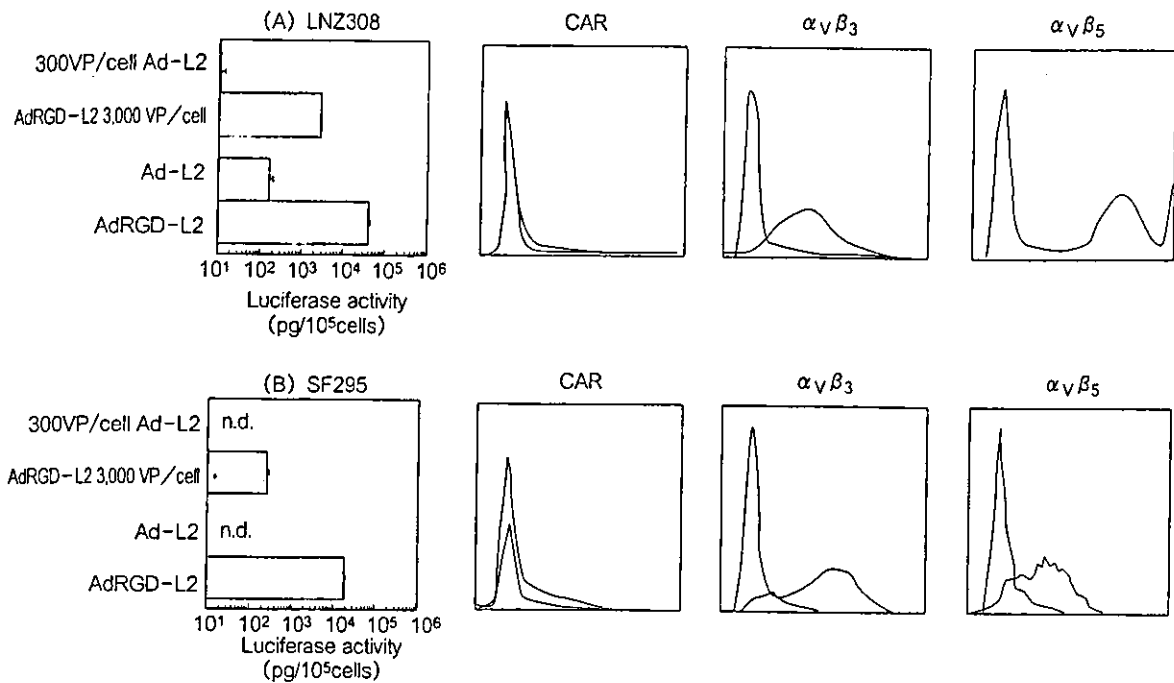


図19 RGD配列をファイバーに付与したアデノウイルスベクターによるCAR(-)細胞への遺伝子導入活性の増強

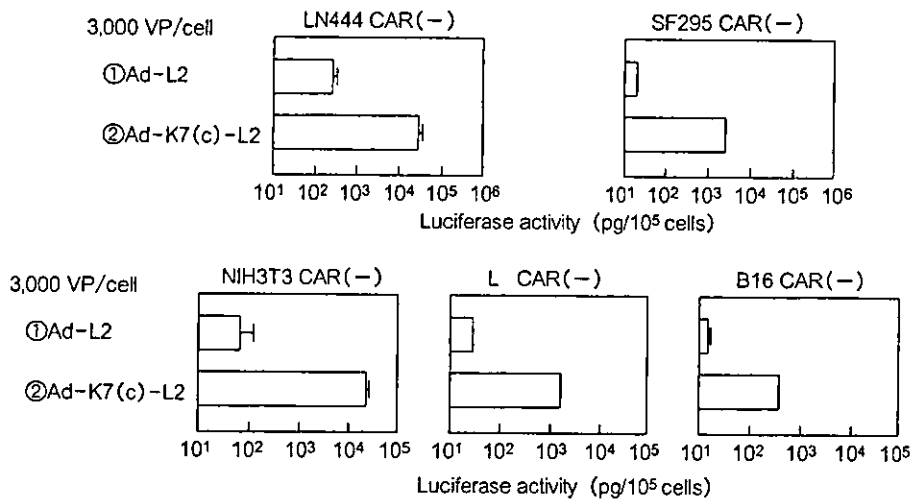


図20 ヘパラン硫酸を標的とするポリリジンペプチドでファイバー部分を改変したADベクターにおけるヒトやマウスの細胞での遺伝子発現

- 2) 実例は後述しますが目的遺伝子発現程度の任意な調節、ひいては
  - 3) 遺伝子機能の定量的解析、
- が可能になると期待されます。

結果だけ述べると、三つまで遺伝子をのせることができました (図 21 参照)。また、それを利用して、一方に目的遺伝子とテトラサイクリン応答性のプロモータ、他方に転

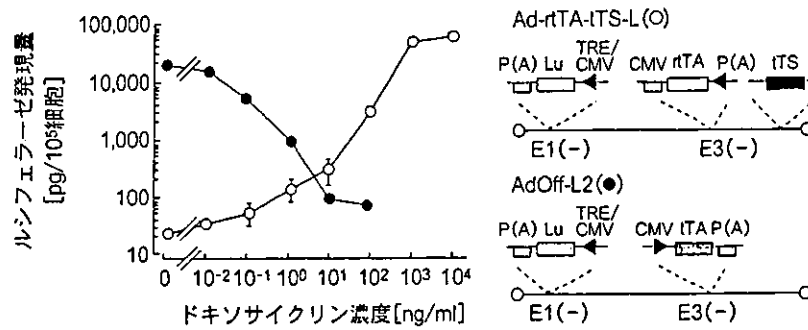
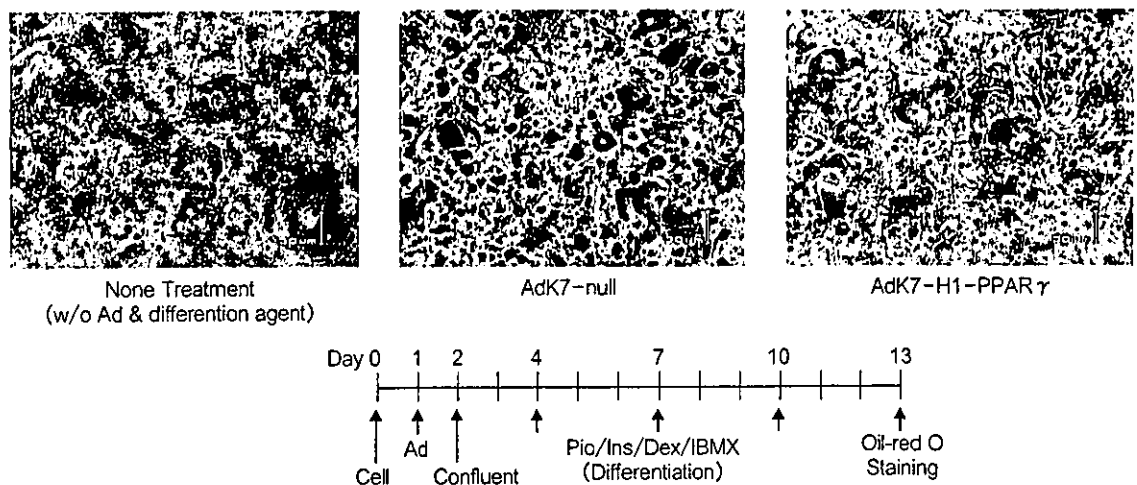


図21 発現制御型アデノウイルスベクターを導入したSK HEP-1細胞における遺伝子発現の制御

写活性化遺伝子を搭載すると、たとえばドキシサイクリンで用量依存的に発現を Off、On にしたり、さらには発現程度を任意に調節できる発現制御型のベクターを構築することに成功しました<sup>27-30)</sup>。

Onシステムでは、最高2,500倍にわたる制御が可能になったという例を示しています。これは *in vitro* での例ですが、*in vivo* でも同様な結果が得られています<sup>30)</sup>。一方、成熟した細胞内や動物体内ですでに機能している特定遺伝子の機能発現を制御することによる遺伝子やタンパク機能解明や評価系作成のための技術基盤も非常に重要です。

21塩基対からなる2本鎖RNAをsiRNAと呼んでいます。これが、配列特異的に細胞内の特定のmRNAの分解を促進して遺伝子発現を阻害するという現象を利用します<sup>31)</sup>。図22は、前駆脂肪細胞から成熟脂肪細胞への分化過程において、マスターレギュレーターとして働くことが明らかとなっているPPAR $\gamma$ に対するsiRNAを搭載したAdベクター



Pio; Pioglitazon Ins; insulin Dex; dexamethazone IBMX; isobutylmethylxanthine: phosphodiesterase inhibitor

図22 前駆脂肪細胞から成熟脂肪細胞への分化過程でマスターレギュレーターとして働く Peroxisome Proliferator-Activated Receptor  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ )に対するsiRNA発現Adベクターを用いた3T3-L1細胞の脂肪細胞への分化抑制<sup>32)</sup> (口絵参照)

にそのような作用がみられるかを見たものです<sup>32)</sup>。この脂肪細胞への分化は、一目瞭然、PPAR $\gamma$ に対する siRNA 発現 Ad ベクターによって抑制させることが明らかです。

こうして機能が明らかにされた新たな遺伝子やタンパク質は、第二のステージである創薬研究の宝庫となります。たとえば、図 23 に示すように新規ホルモン、酵素、細胞分化・増殖因子、細胞接着因子、シグナル伝達因子などの中には、かつてのインスリン、成長ホルモン、t-PA、エリスロポエチン、G-CSF などのように、それ自体やその一部修飾体が創薬ターゲット分子となり、タンパク質性医薬品として開発されるものも多いと期待されます。受容体類の機能解明は、新たな生体内リガンドの発見にも繋がり、これらが創薬ターゲット分子となる可能性も多々あると思われる。また、受容体類を含む生体内タンパク質性機能分子やリガンド、あるいは異常となった標的分子の機能を制御する抗体医薬品の開発も従来以上に加速、増大すると考えられます。

一方、新機能遺伝子自体が遺伝子治療に利用されたり、細胞治療のための細胞改変に利用されることも考えられます。この際、先に述べた画期的遺伝子導入系の技術開発がバックボーンになるはずで、遺伝子を制御する核酸医薬品であるアンチセンス、デコイ、リボザイム、siRNA などの開発も新規遺伝子が見い出され、その機能と疾病などとの関係が明らかになればなるほど創薬目的が明確になり、開発が活発になることは自明の理です。

当然日本としては、一つでも多くの新しい遺伝子やタンパク質を探索しその機能を明らかにして、国際競争に遅れをとることがないようにする必要があります。

創薬ターゲット分子が医薬品として実用化されるためには、図 16 で示した第 2 ステージでの検討が必要になります。基本的には、従来と同様に、創薬ターゲット分子の探索、選択と最適化、製造方法の検討、特性解析、品質確保、非臨床、臨床における有効性・安全性評価などが必要となります。これらの過程では従来用いられてきた手法に加え、

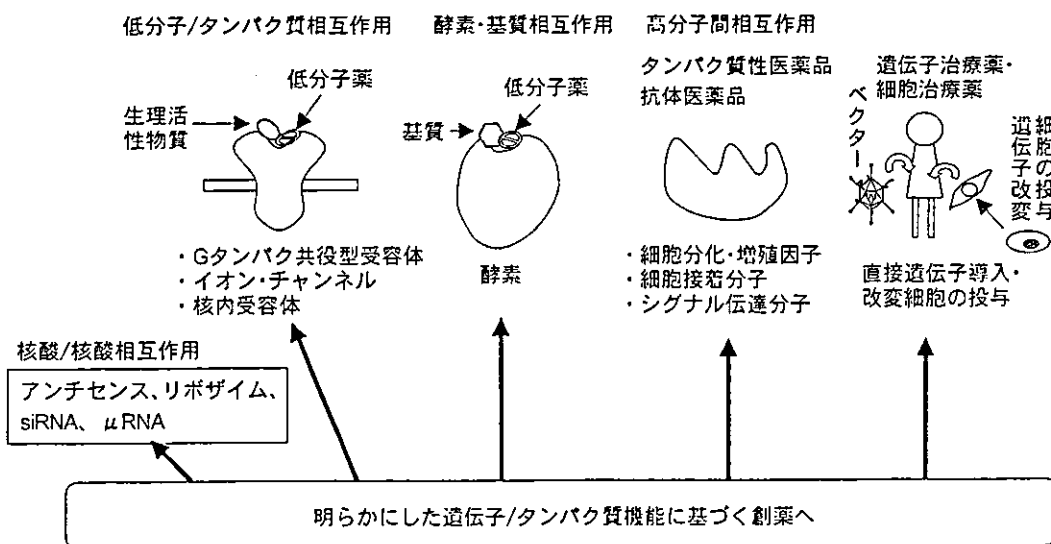


図23 ゲノム解読から創薬・革新的医療技術への応用

構造ゲノミクス、バイオインフォマティクス、トキシコゲノミクス（トキシコプロテオミクス）、ファーマコゲノミクス（ファーマコプロテオミクス）などの手法が効果的に活用されることが予測されます。また、新規遺伝子・タンパク質機能解析や医薬品候補化合物探索、医薬品への実用化を効率的に実施するには、目的とする機能や薬効・安全性を特異的にかつ効果的に評価できる細胞および動物評価系や疾患モデル動物の存在が不可欠です。

そして、これらを迅速に作製する基盤技術開発および評価系の開発、具体的には、

- 1) 成熟した細胞で特定の遺伝子・タンパク質の発現および機能発現抑制状態を簡便・迅速に創出する技術開発、
- 2) 従来型トランスジェニック動物/ノックアウト動物に代わり、成熟動物個体で特定の遺伝子・タンパク質発現および機能発現抑制状態を簡便・迅速に創出する技術開発、
- 3) 任意の遺伝子・タンパク質を任意な程度に発現した細胞、実験動物、すなわち新たなタイプのトランスジェニック細胞・動物およびノックアウト細胞・動物や疾患モデル動物の作製などが創薬研究の共通基盤として必要です。前述した画期的遺伝子導入系などを駆使して新たな創薬基盤技術を開発し、有用な実証的評価系を構築することは、日本がポストゲノム時代における創薬の世界的競争に後塵を拝さないための重要な要素であると考えられます。

バイオ創薬の進展のためには、必要な新技術をいかに開発し、評価し、適正に位置づけていかに有効に活用していくかという課題があります。画期的遺伝子導入技術をそういった目でみると、遺伝子・タンパク質機能の実証的解析、評価系作製ということに加えて、有効性・安全性の高い遺伝子治療用ベクター作製や遺伝子改変細胞治療薬の創製の基盤とすること、さらには、プロテオミクスやゲノミクスとの双方向的解析によって、ある特定の遺伝子やタンパク質が他の遺伝子やタンパク質の発現に与える影響、あるいは相互作用の解明、などに活用できるようにしていくことが重要であると思います（図24参照）。

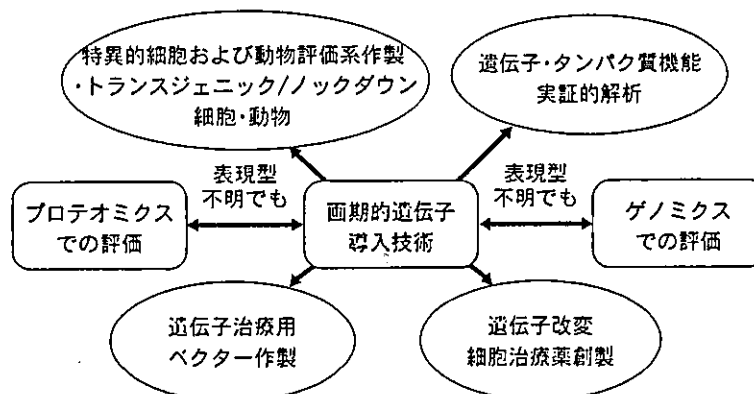


図24 画期的遺伝子導入技術の活用