

Fig. 15 Thy-1糖鎖のプロファイリング
 赤、ポジティブイオン測定；青、ネガティブイオン測定

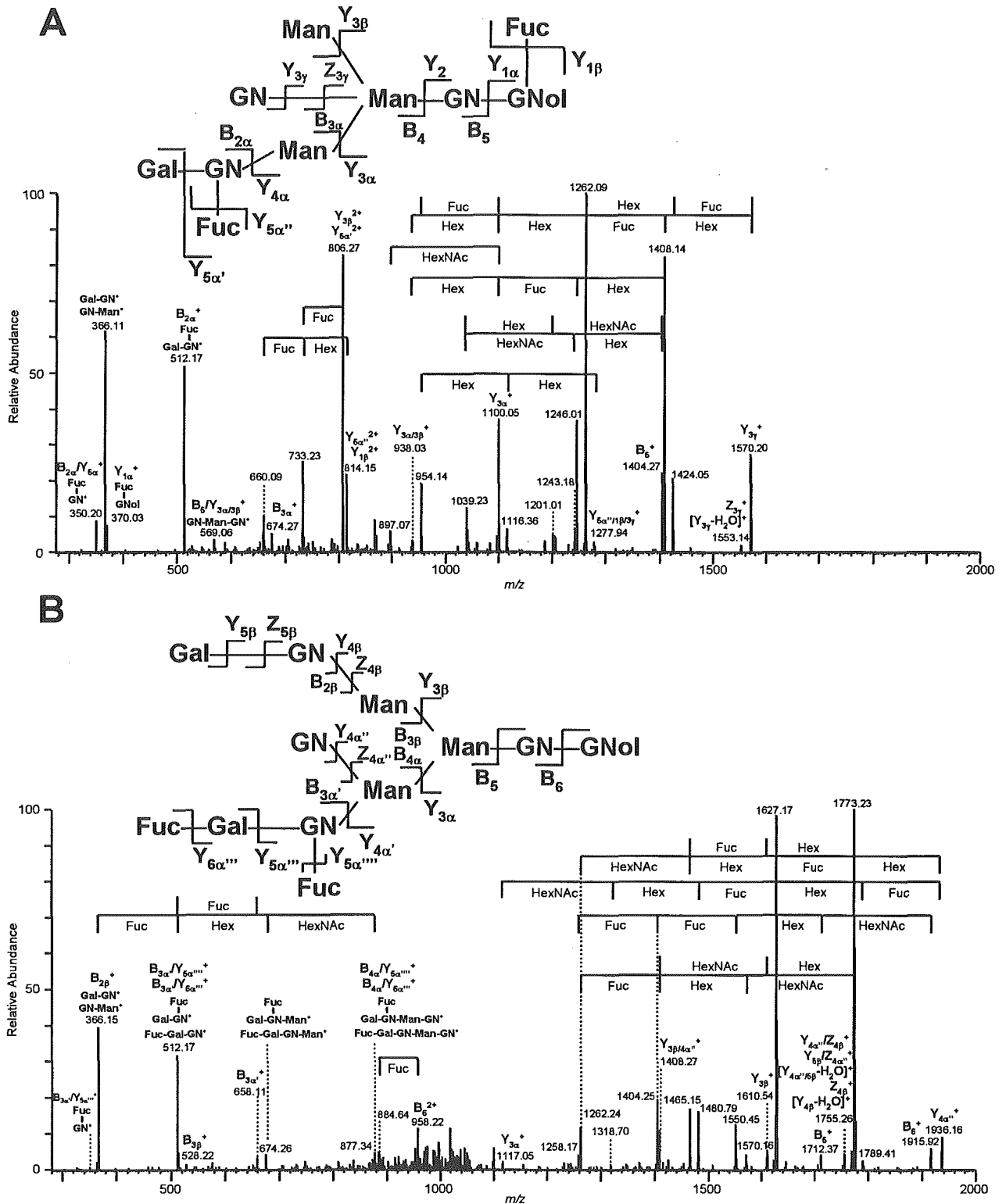
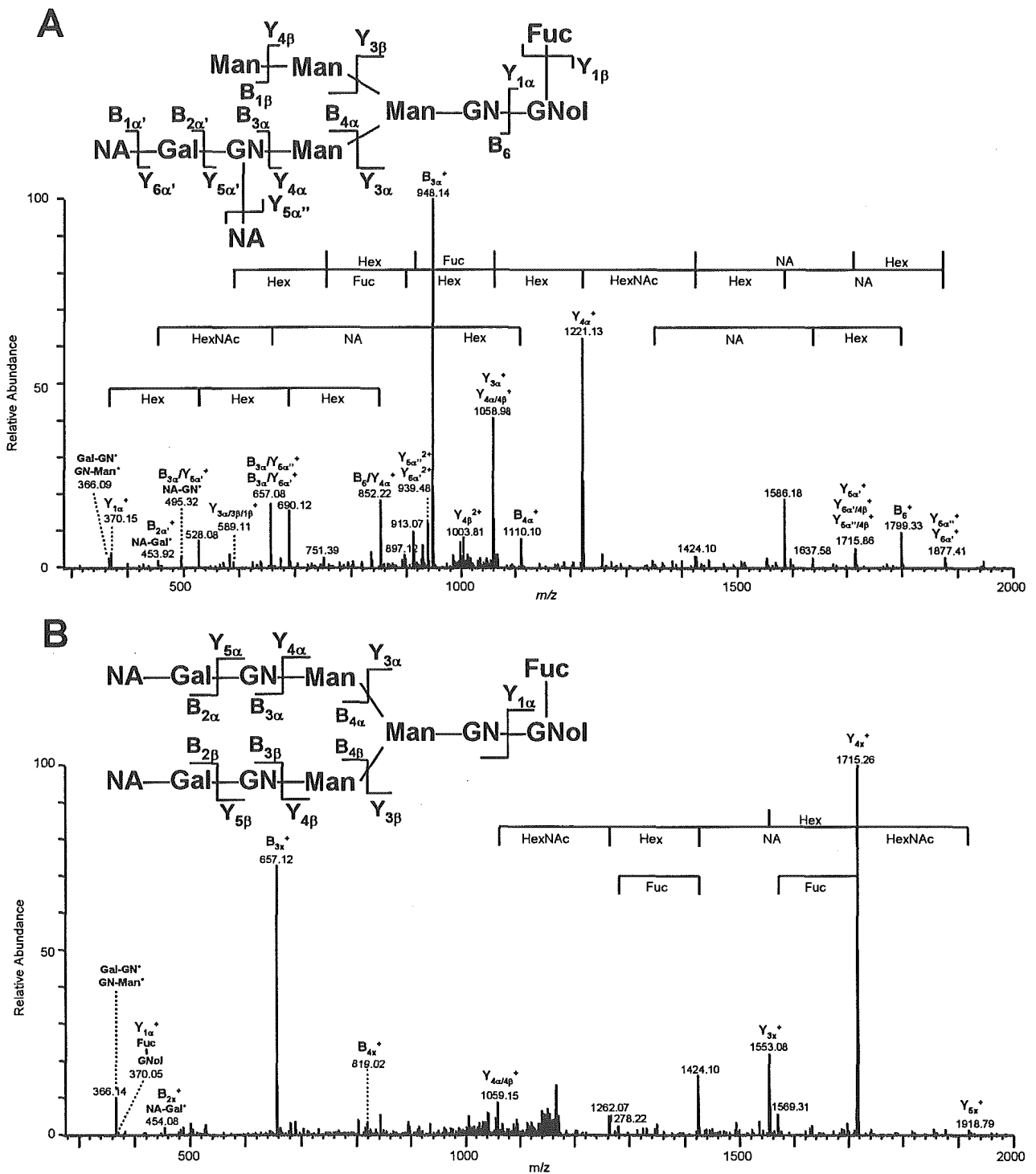


Fig. 16 Thy-1由来フコース結合糖鎖のプロダクトイオンスペクトル



A

MDYYR K YAAI FLVTL¹SVFLH VLHS|APDVQD CPECTLQENP LFSQPGAPIL
Signal A1
QCMGCCFSR|A YPTPLR|SK|K|T MLVQK|N⁵²VTSE STCCVAK|SYN R|VTVMGGFK|V
A2 A5 A6 A7 A8
EN⁷⁸HTACHCST CYYHK|S
A9

B

MEMFQGLLLL LLLSMGGTWA|¹SK|EPLRPR|CR PIN¹³ATLAVEK|EGCPVCITVN³⁰
Signal B1 B2 B3 B4
TTICAGYCPT MTR|VLQGVLP ALPQVVCNYR|DVR|FESIR|LP GCPR|GVNPVV
B5 B6 B7 B8 B9
SYAVALSCQC ALCR|R|STTDC GGPK|DHPLTC DDR|FQDSSS S¹²¹K|APPPS¹²⁷LPS
B11 B12 B13 B14
PS¹³²R|LPGPS¹³⁸DT PILPQ
B15

Fig. 18 絨毛性性腺刺激ホルモンの一次構造及び糖鎖結合位置

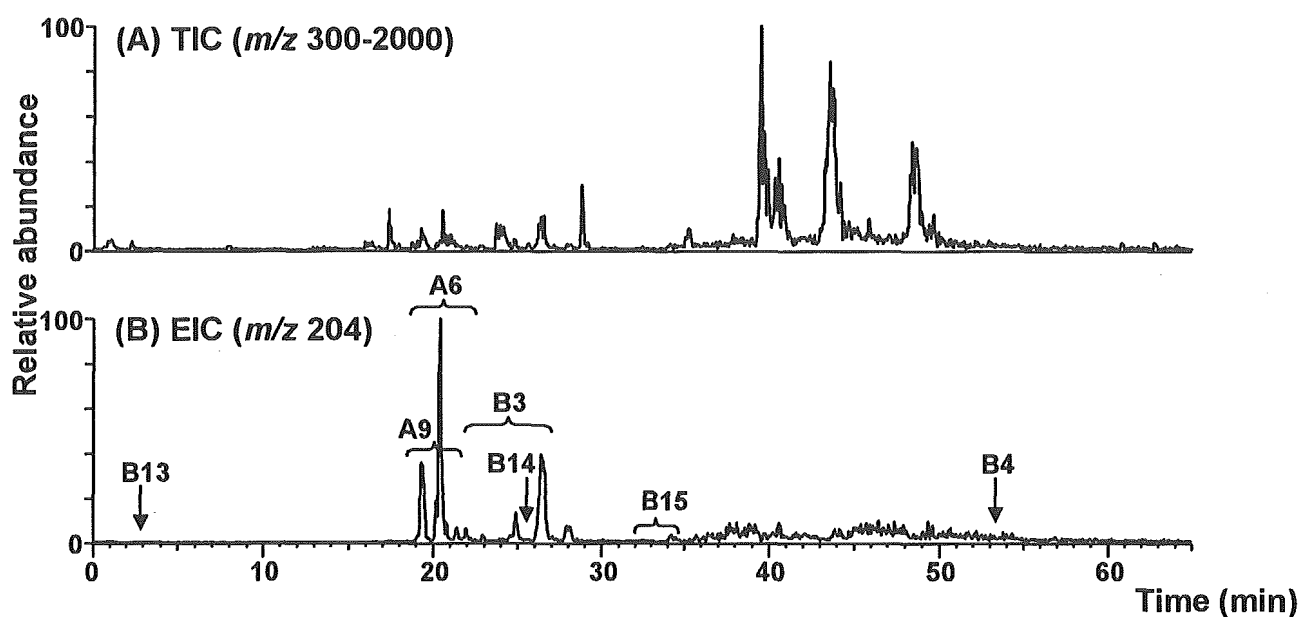


Fig. 19 LC/MSⁿによって得られたhCGのペプチドマップ

Table 6 ペプチドマッピングの分析条件

Sample: Tryptic digest of carboxymethylated hCG (1 μ g)

LC:

Column: Magic C18 (0.2 x 50 mm, 3 μ , Michrom BioResources)

Instrument: Paradigm MS4 (Michrom BioResources)

Eluent:

A, 0.1% HCOOH/ 2% CH₃CN

B, 0.1% HCOOH/ 90% CH₃CN

Gradient: 5 % of B in 10 min, 5-65 % of B in 70 min

MS:

Instrument: LTQ (Thermo Electron)

Scan program:

MS¹: m/z 300-2000

In-source CID: m/z 80-700

Data-dependent MS²⁻⁴

Spray voltage: 1.8 kV

Database search analysis:

Search engine: TurboSEQUENT (Thermo electron)

Database: NCBIInr

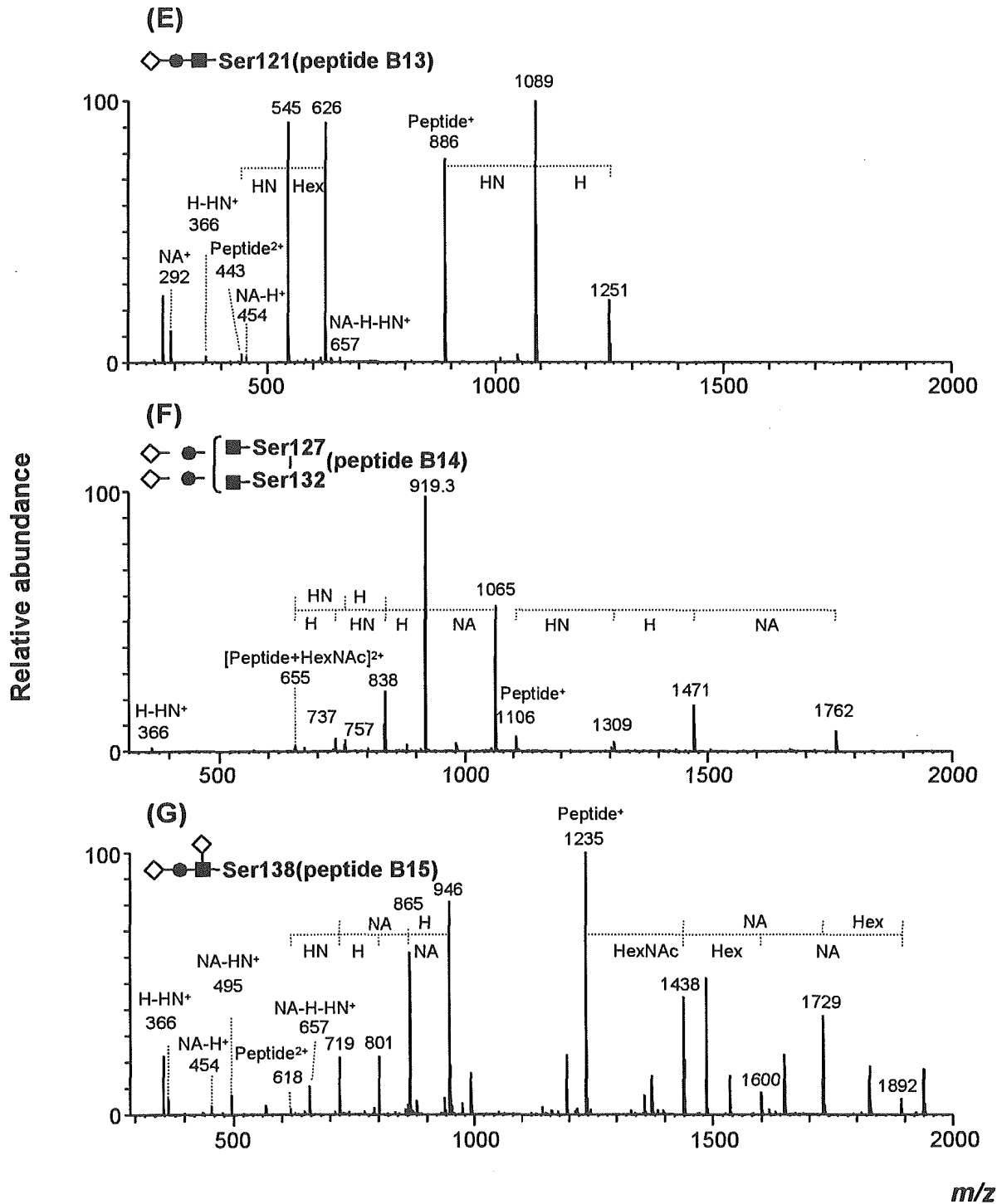


Fig. 20-2 主な糖ペプチドのMS²スペクトル

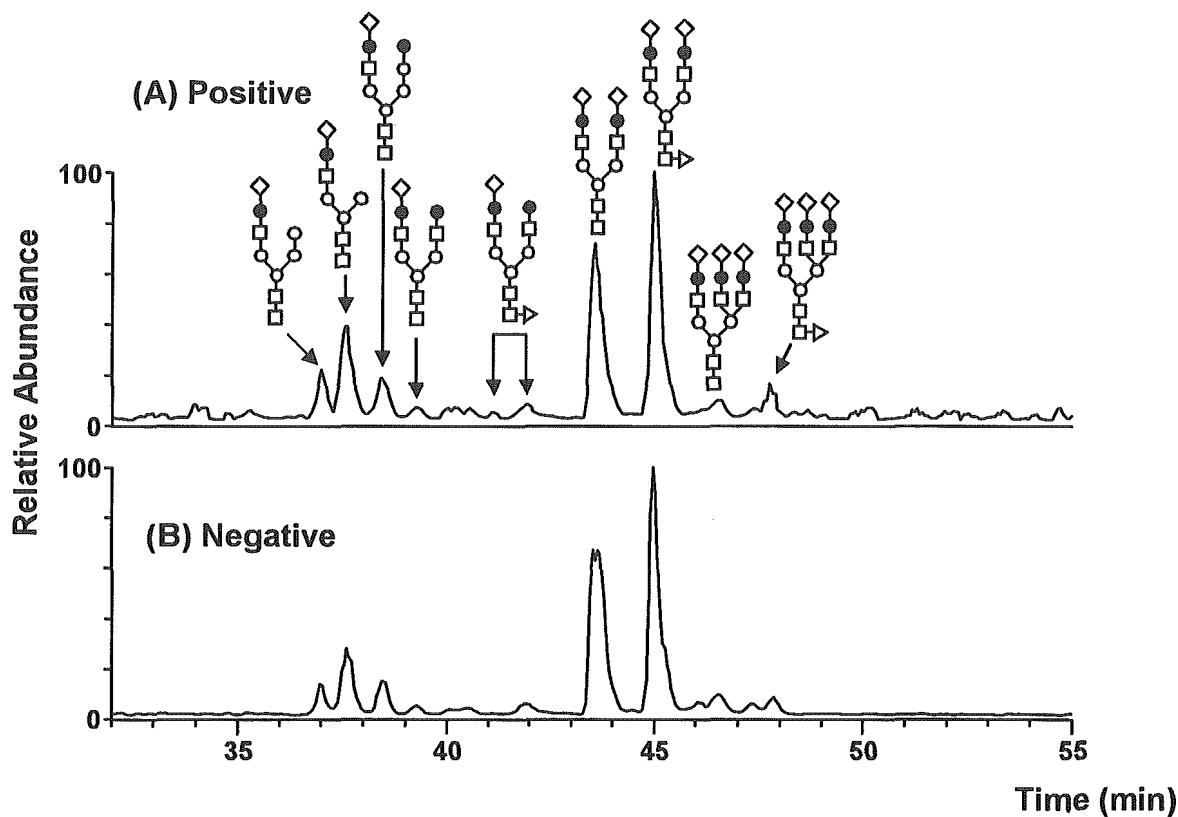


Fig. 21 LC/MSⁿによって得られたhCGの糖鎖プロファイル

Table 7 糖鎖プロファイリングの分析条件

Sample: Borohydride-reduced *N*-linked oligosaccharides from hCG (6 μ g)

LC:

Column: Hypercarb (0.2 x 150 mm, Thermo Electron)

Instrument: Paradigm MS4 (Michrom BioResources)

Eluent:

A, 5mM NH₄OAc, pH 9.6/ 2% CH₃CN

B, 5 mM NH₄OAc, pH 9.6/ 80% CH₃CN

Gradient: 5-40 % of B in 60 min

MS:

Instrument: LTQ (Thermo Electron)

Scan program:

MS¹: *m/z* 450-2000

Data-dependent MS²⁻⁴

Spray voltage: 1.8 kV

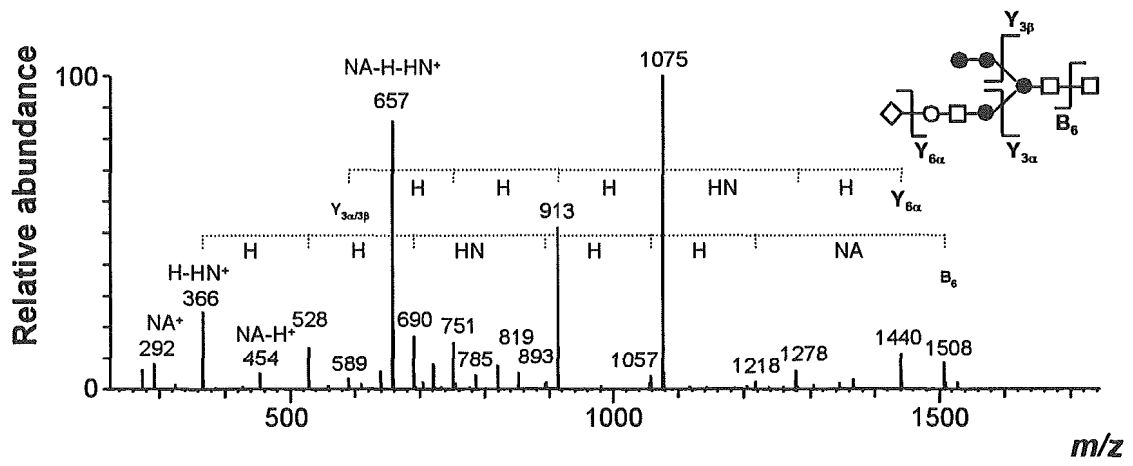


Fig. 22 糖鎖のMS²スペクトル

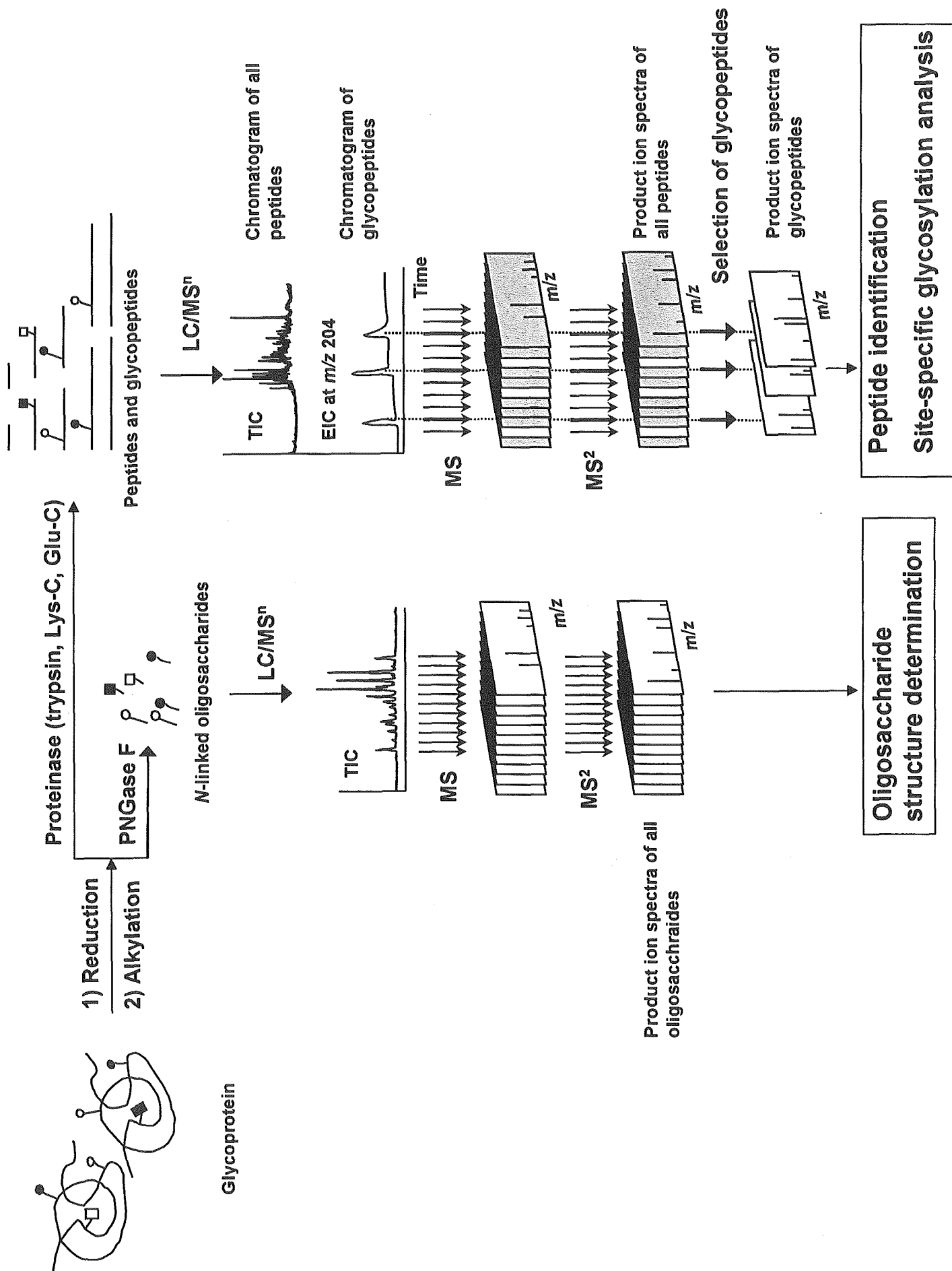


Fig. 23 LC/MSⁿを用いた糖タンパク質性医薬品の構造特性解析のためのストラテジー

Table 8 認可された抗体医薬

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 (株)	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		キメラ (TNF- α)	クローン病 慢性関節リウマチ	1998
Synagis [®] (Palibizumab)	MedImmune社/ Abott社		ヒト化 (RSV)	RSV 小児感染	1998
Simulect [®] (Basilicimab)	Novartis社		ヒト化 (IL-2)	腎移植	1998
Herceptin [®] (Trastuzumab)	Genentech社/ Roche社	日本ロシュ (株)	ヒト化 (HER2)	乳癌	1998
Mylotarg [®] (Gemtuzumab)	Cellutech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（文献35より許可を得て転載）

Table 9 開発中の抗体医薬品（2003年1月時点）

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
発売中	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

（文献14より許可を得て転載）

Table 10 ヒト抗体マウスの改良

	KM マウス (Kirin/Medarex社)	TC マウス (Kirin)	HuMab マウス (Medarex社)	通常マウス
重鎖遺伝子	ヒト V _H (81) 全種類	ヒト V _H (81) 全種類	ヒト V _H (4)	マウス V _H 全種類
軽鎖 κ 遺伝子	ヒト V _K (38) 全種類	ヒト V _K (76) 全種類×2	ヒト V _K (38) 全種類	マウス V _K 全種類
定常領域 サブクラス	IgM, D, G1~G4, A1~A2, Eすべて	IgM, D, G1~G4, A1~A2, Eすべて	IgM, D, G1	マウス定常領域 すべて
安定性	OK	軽鎖2番染色体断片が 不安定	OK	OK
ハイブリドーマ 取得効率	よい	ハイブリドーマが不安定なため、 取得効率低下	V _H が少数のため、 抗原への反応性弱い	よい

（文献3より許可を得て転載）

Table 11 抗体医薬品の製造技術

システム	抗体の型	回収源
トランスジェニック動物		
マウス	IgG	乳汁
ヤギ	IgG	乳汁
ニワトリ	IgG	卵
植物		
タバコ	sIgA, IgG	葉
メイズ (トウモロコシ)	IgG	種子
大豆	IgG	さや, 種子, 幹, 葉
米	scFv	種子
小麦	scFv	種子

(文献 41 より許可を得て転載)

Table 12 oval cells、肝細胞、胆管上皮細胞のマーカ―

マーカ―	Oval cells	肝細胞	胆管上皮細胞
CK7	+	-	+
CK19	+	-	+
Albumin	±	+	-
CYP1A ₂	-	+	-
AFP	+	-	-
CK8	+	+	+
CK18	+	+	+
OV-6	+	-	+

“+”陽性、“-”陰性、“±”陽性及び陰性

Table 13 増殖因子が neovascularization (血管新生) の各プロセスに及ぼす作用

	血管新生	動脈形成	血管発生
VEGF-A	+	+	+
FGF-2	+	+	+
HGF	+	+	?
MCP-1	+	+	?
TGF- β	+	+	+
GM-CSF	?	+	+
PDGF-BB	+	+	?

(参考文献 68 を元に一部改変)

Table 14 血管新生療法としてタンパク質を用いた臨床試験

タンパク質	試験の種類	試験のタイプ	N	デリバリー	結果
FGF-1	フェーズ I OL	CABA 補助療法	20	IM 注射	安全、投与部位における毛細血管紅潮
FGF-2	フェーズ I OL	CABA 補助療法	8	ヘパリン・アルギン酸	安全
FGF-2	フェーズ I/II DBR	CABA 補助療法	24	ヘパリン・アルギン酸	虚血域サイズの低下、3年間効果持続
FGF-2	フェーズ I OL、投与量決定、 ブラセボコントロール	単独療法	25	IC 注入	耐性、低血圧
FGF-2	フェーズ I OL、投与量決定	単独療法	52	IC 注入	安全、高投与量で低血圧 狭心症、心筋かゝん流の改善
FGF-2	フェーズ II DBR	単独療法, FIRST 試験	337	IC 注入	ETT あるいは SPECT において安全/無効 ブラセボと比較し症状の短期間改善
VEGF-A ₁₆₅	フェーズ I OL	単独療法	15	IC 注入	低投与量で低血圧、SPECT による障害サイズの低下
VEGF-A ₁₆₅	フェーズ I OL	単独療法	14	IV 注入	安全、明らかに効果無し
VEGF-A ₁₆₅	フェーズ II DBR	単独療法 VIVA 試験	178	IC + IV 投与	コントロールと比較し、ETT、症状、SPECT における 改善無し
GM-CSF	フェーズ I/II DBR	単独療法	21	IC + IV 注入 2週間 注入	GM-CSF グループにおいて側副フローインデックス (流 動指数) の改善

(参考文献 66,67 を元に一部改変) IM (intramuscular)(筋肉内)、OL (open label) (非盲検)、DBR (double-blind randomized)(無作為二重盲検)、
IC (intracoronary) (冠動脈内)、IV (intravenous) (静脈内)、SPECT (single photon emission computed tomography) (単光子放出コンピューター断層撮影)

Table 15 血管新生療法として遺伝子治療を用いた臨床試験

増殖因子	試験の種類	試験のタイプ	N	デリバリー	結果
VEGF	単独療法	フェーズ I	5	プラスミド (VEGF ₁₆₅)、IM	安全、心筋かん流の改善
	単独療法	フェーズ I	20	プラスミド (VEGF ₁₆₅)、IM	安全、症状の改善
	単独療法 NOVA ガイド	フェーズ I	13	プラスミド (VEGF ₁₆₅)、IM	安全、心筋かん流の改善
	単独療法 NOVA ガイド	フェーズ I	6	プラスミド (VEGF-2) IM	安全、実行可能
	単独療法 NOVA ガイド	フェーズ I/II DBR 投与量 決定、ブラセボコントロール	29	プラスミド (VEGF-2) IM	安全、狭心症のクラスの下
	CAGB 補助療法/単独療法	フェーズ I	21	アデノウイルス (VEGF ₁₂₁) IM	耐性、
	血管形成術およびステント挿 入 KAT 試験に付随して実施	フェーズ II DBR	103	アデノウイルス (VEGF ₁₂₁) あるいはプ ラスミド リポソーム (VEGF ₁₆₅) 局 所 IC	安全、臨床的再狭窄率における 違い無し、Ad-VEGF グループに おける心筋かん流の改善
FGF	単独治療 AGENT 1 および 2 試験	フェーズ I DBR、漸増用量、 ブラセボコントロール	131	アデノウイルス (FGF-4) IC	安全、副作用無し、ETT,かん流 改善の傾向

(参考文献 67 を元に一部改変)

Table 16 血管新生療法として細胞を用いた臨床試験

細胞のタイプ	試験の種類	試験のタイプ	患者数	デリバリー	結果
自家未分画BM細胞	フェーズI	CAGB 虚血心筋補助	5	IM	安全
	フェーズI	選択の無い患者への単独治療	10	IM NOGA 法併用	実行可能
	フェーズI 無作為コントロールと標準的なMI治療との比較	単独治療 MI, ステントを用いたPCI BOOST 試験	60	IC	安全 LV機能の改善
自家BM 由来単核球細胞 (フィコールにより分画) CD133+, CD34+, CD45+, CD117+ その他の前駆細胞が混合された組成	フェーズI、MIの標準治療に対する比較	単独治療 MI, PTCA	20	IC	安全、改善
	フェーズI	単独治療 虚血心筋	8	IM NOGA 法併用	安全
	フェーズI OL 非無作為コントロール	単独治療 虚血心筋	20	IM NOGA 法併用	安全、心筋かん流改善
	フェーズI 非無作為コントロール	単独治療 MI、ステント血管形成術	20	IC	安全、改善
自家BM 由来単核球細胞または循環血液由来前駆細胞	フェーズI 非無作為コントロール	MI, ステント血管形成術 TOPCARE-AMI 試験	59	IC	安全、前駆細胞グループとの間において差無し
Ac133+BM細胞	フェーズI	CAGB 補助	6	IM	安全

(参考文献 67 を元に一部改変) MI (myocardial infarction) (心筋梗塞) PCI (percutaneous coronary intervention) (経皮冠動脈インターベンション) PTCA (percutaneous transluminal coronary angioplasty) (経皮経管冠動脈形成術) LV (left ventricular) (左心室)

Table 17 日米EUで承認されている改変型タンパク質医薬品

分類	一般名	承認年	適応疾患	改変目的	改変部位	付加された主な機能
アミノ酸配列改変型	インスリン Lispro	1996	糖尿病	PK	B28Pro→Lys, B29Lys→Pro	速効性(多量体形成抑制、血中移行促進)
	インスリン Aspart	2000	糖尿病	PK	B28Pro→Asp	速効性(多量体形成抑制、血中移行促進)
	インスリン Glulisine	2004	糖尿病	PK	B3Asn→Lys, B29Lys→Glu	速効性(多量体形成抑制、血中移行促進)
	インスリン Glargin	2000	糖尿病	PK	A鎖のC末端のAsn→Gly, B鎖のC末端にArg2個付加	持続性(中性pHでの溶解性低下による徐放化)
	インスリン Detemir	2005	糖尿病	PK	B30Thr欠損, B29LysにC14脂肪酸結合	持続性(アルブミンとの結合による)
	t-PA Reteplase	1996	急性心筋梗塞	PK	Fドメイン, EGFDメイン, K1ドメイン欠損, 糖鎖なし	血中半減期延長(3分→90分)、血栓溶解速度上昇
	t-PA Tenecteplase	2000	急性心筋梗塞	PK	PドメインとK1ドメインの3アミノ酸置換	ファイブリン結合特異性上昇, PAI-1抵抗性上昇
	t-PA Pamiteplase	-	急性心筋梗塞	PK	K1ドメイン欠損, Arg275→Glu	血中半減期延長
	インターフェロンα	1997	C型肝炎	PD	各サブタイプで出現頻度の高いアミノ酸に置換	比活性上昇
	G-CSF Nartograstim	-	好中球減少症	PD	N末端付近5アミノ酸置換	比活性上昇
糖鎖改変型	グルコセレブロシダーゼ	1994	ゴーシェ病	PK	シアル酸を酵素的に除去し、糖鎖末端をマンノースに	標的細胞(マクロファージ)への取り込み促進
	エリスロポエチン	2001	貧血	PK	アミノ酸置換によりN型糖鎖付加部位を2箇所追加	血中半減期延長
PEG結合型	インターフェロンα	2002	C型肝炎	PK	PEG修飾(40kDaの分岐型PEG, 1箇所, Lys)	血中半減期延長
	インターフェロンα	2001	C型肝炎	PK	PEG修飾(12kDaのPEG, 1箇所, Lys他)	血中半減期延長
	G-CSF Pegfilgrastim	2002	好中球減少症	PK	PEG修飾(20kDaのPEG, 1箇所, N末端)	血中半減期延長
	成長ホルモン誘導体 Pegvisomant	2003	先端巨大症	PD+PK	9アミノ酸置換+PEG修飾(5kDaのPEG, 4-6箇所, Lys)	GHアンタゴニストとしての作用+血中半減期延長
	融合タンパク質					
サイトカイン+毒素	Denileukin Diftitox	1999	皮膚T細胞リンパ腫	PD+PK	IL2 + Diphtheria toxin	IL2受容体に結合
膜タンパク質細胞外ドメイン+Fc	Etanercept	1998	関節リウマチ	PD+PK	TNFR + Fc	TNFiに結合+血中濃度持続
膜タンパク質細胞外ドメイン+Fc	Alefacept	2003	尋常性乾癬	PD+PK	LFA3 + Fc	CD2に結合+血中濃度持続
膜タンパク質細胞外ドメイン+Fc	Abatacept	2005	関節リウマチ	PD+PK	CTLA4 + Fc	CD80/CD86に結合+血中濃度持続

PD=pharmacodynamics: 薬効に関わる機能を改変
PK=pharmacokinetics: 体内動態を改変

Table 18 日米欧の承認(許可)申請資料パッケージの比較

資料パッケージ			日本(現行)	米国	EU
SPC/Labeling (製品特性概要書)			承認書 (承認申請書)	許可状 (表示, 添付文書)	承認裁定書 (SPC, 表示, 添付文書)
Assessment Report			審査報告書 (公開概要書)	審査報告書 (Review Report)	審査報告書 (EPAR)
Summaries Expert Report Gaiyo (概要)			承認事項設定根拠 資料概要	申請概要欄(SBA) 総括概要 資料概要	専門家報告書 要約表 資料概要
品質	安全性	有効性	添付資料 (Full Report)	試験報告書 (Full Report)	試験報告書 (Full Report)
バッチ	被験動物	被験者	生データ (Raw Data)	Case Report Forms (Raw Data)	総括報告書(統計的に まとめたもの)
GMP	GLP	GCP	○ ○ ○	○ ○ ○	○ ○ ○
ドラッグマスターファイル (DMF)			—	DMFs	EDMF

SPC: Summary of Product Characteristics, EPAR: European Public Assessment Report, EDMF: European Drug Master File. は、承認や一部変更の対象

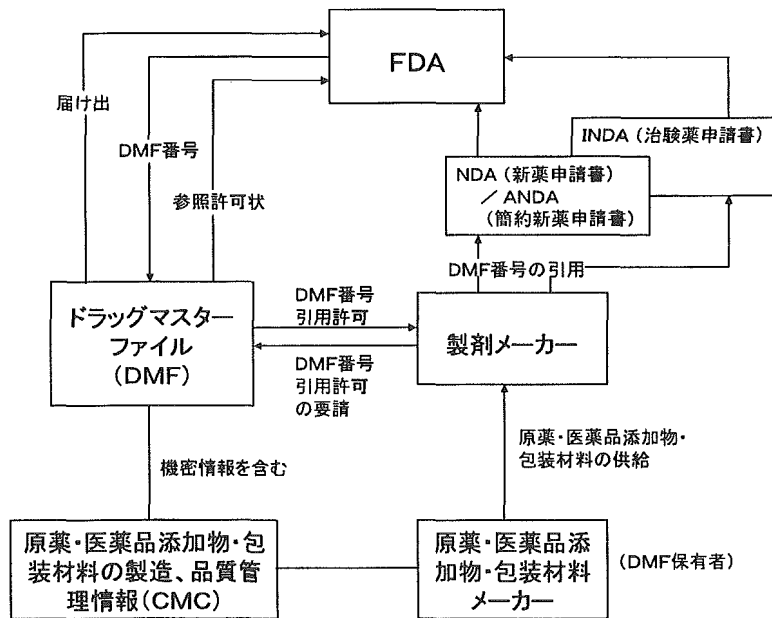


Fig. 24 DMFに関連するFDAと原薬メーカー及び製剤メーカーの関係

Fig. 25 MF利用時の承認審査対応フロー(案)

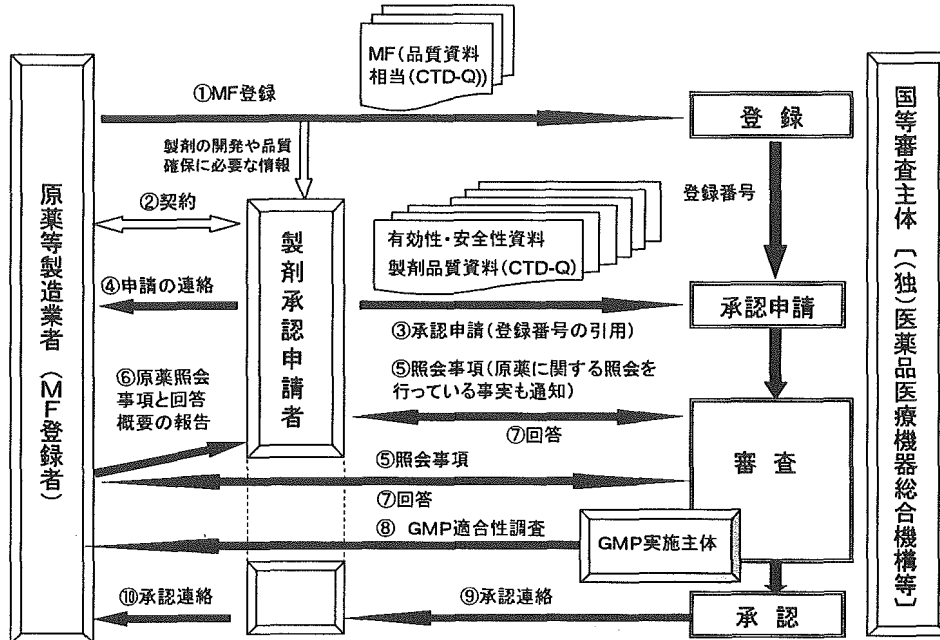


Fig. 26 MFの変更登録フロー(案)

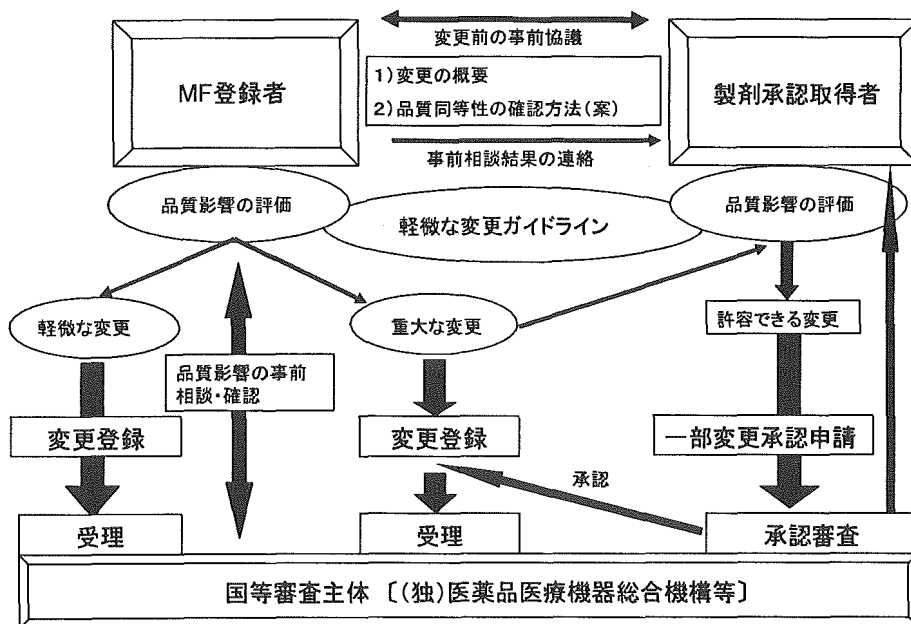


Table 19 医薬品マスターファイル登録項目と記載内容の関係および開示の有無

施行規則案(登録項目の範囲)		資料として登録できるデータの項目		制限パートの例	申請者(開示)パートの例
第〇条	法第14条の11第1項に規定する原薬等登録原簿に登録できる事項は、次のとおりとする。(案)		原薬等の製造及び管理に関し、いかなる変更について報告する旨の誓約書		
			CTDを基にしたデータ項目		
1	原薬等製造業者の氏名及び住所	3. 3. S. 1	一般情報		
2	製造業許可・認定区分、許可・認定番号	3.3.S.1.1	名称(INN、化学名、開発コード等)		○
3	連絡担当責任者	3.3.S.1.2	構造(構造式、分子式、分子量)		○
		3.3.S.1.3	一般特性(性状、溶解性等物理的・化学的性質)		○
		3. 3. S. 2	製造		○
		3.3.S.2.1	製造業者	○	○
4	原薬等の名称	3.3.S.2.2	製造方法及びプロセス・コントロール(製造フローとその説明、工程管理など)	○	○
5	原薬等の性状	3.3.S.2.3	原材料の管理	○	○
6	製造方法及び製造工程管理	3.3.S.2.4	重要工程及び重要中間体の管理	○	○
		3.3.S.2.5	プロセスバリデーション/プロセス評価	○	○
		3.3.S.2.6	製造工程の開発の経緯	○	○
7	品質管理試験、規格及び試験方法	3. 3. S. 3	特性		○
8	安定性、貯法、有効期限	3.3.S.3.1	構造及びその他の特性の解明(構造決定に関する元素分析、NMR等)		○
		3.3.S.3.2	不純物(類縁物質、分解経路、残留溶媒等)		○
		3. 3. S. 4	原薬の管理		○
		3.3.S.4.1	規格及び試験方法		○
		3.3.S.4.2	試験方法(分析方法)		○
		3.3.S.4.3	試験方法(分析方法)のバリデーション		○
		3.3.S.4.4	ロット分析		○
		3.3.S.4.5	規格及び試験方法の妥当性(設定根拠)		○
		3. 3. S. 5	標準品又は標準物質		○
		3. 3. S. 6	容器及び栓栓系	○	○
		3. 3. S. 7	安定性		○
		3.3.S.7.1	安定性のまとめ及び結論		○
		3.3.S.7.2	承認後の安定性試験計画の作成及び実施		○
		3.3.S.7.3	安定性データ		○

登録証(案)

原薬等名称
 原薬等製造業者の氏名及び住所
 登録番号
 登録資料項目(登録項目を明示)
 性状 製造方法・工程管理
 品質管理試験、規格及び試験方法
 安定性、貯法、有効期限

類縁物質等の安全性/薬効関係データは必要に応じて承認申請本体に記載することとなる

容器材質は他のMF参照できる

				原薬等製造者 限定パートの例	申請者開示 パートの例
	添加剤製造業者の氏名及び住所 製造業許可・認定区分、許可・認定番号(あれば)	3. 2. P. 4	添加剤の管理		
	連絡担当責任者	3.3.P.4.1	規格及び試験方法		○
		3.3.P.4.2	試験方法(分析方法)		○
		3.3.P.4.3	試験方法(分析方法)のバリデーション		○
		3.3.P.4.4	規格及び試験方法の妥当性(設定根拠)		○
		3.3.P.4.5	ヒト又は動物起源の添加剤		○
		3.3.P.4.6	新添加剤		○
	添加剤の名称		性状等		○
	添加剤の性状		製造方法及びプロセス・コントロール	○	
	製造方法及び製造工程管理				
	品質管理試験、規格及び試験方法				

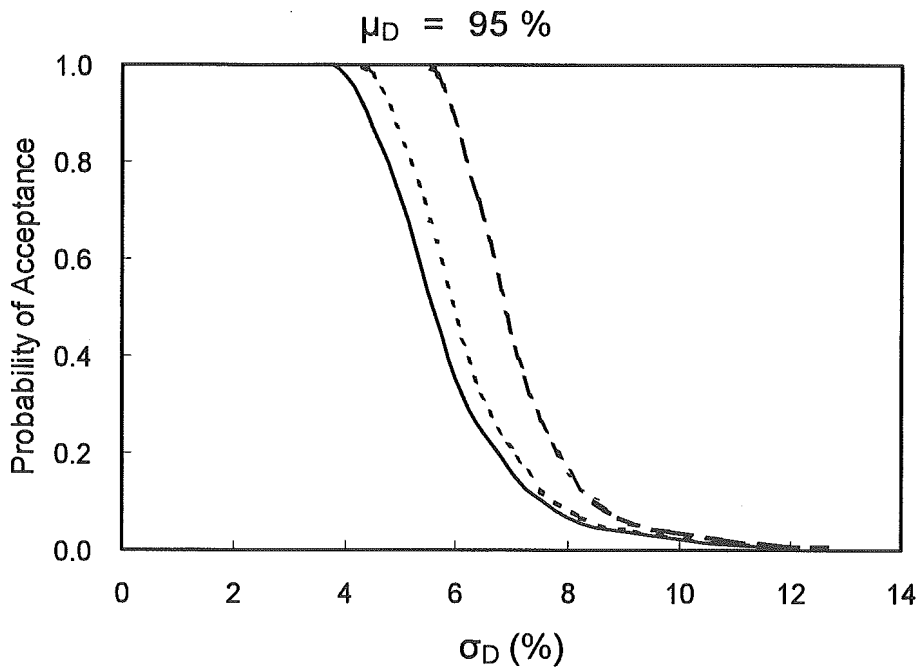
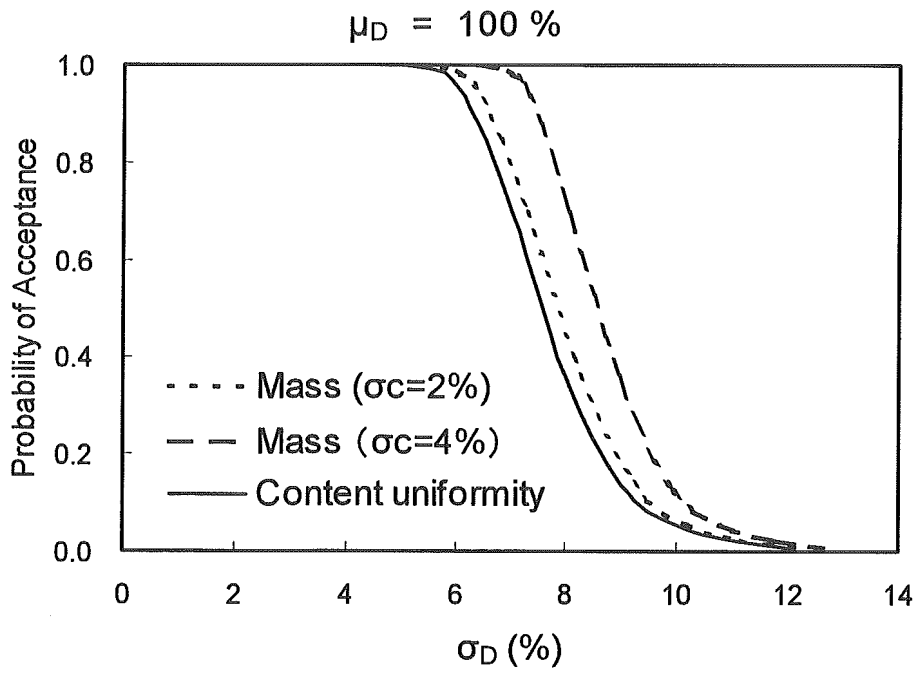


Fig. 27 OC curves of content uniformity and mass variation tests for products containing 100 % and 95 % of drug with 2 and 4 % SD's (σ_c) of drug concentration, respectively. σ_D shows SD of drug contents of individual units.