

ポリマーフロンティア21シリーズ 23

# バイオロジクス

生体由来物質を用いた製品開発



(社)高分子学会編

THE SOCIETY OF POLYMER SCIENCE, JAPAN



NTS

# 第1講

バイオロジクスの将来展望と課題

# 1 先端的バイオロジクス開発の現状

## 1.1 バイオロジクスとは何か

本講では、バイオテクノロジーなどの先端技術を応用したバイオロジクス開発の現状を紹介するとともに、先端的バイオロジクスに関する研究や開発の成果を効率的にかつ合理的に医療上の応用に結びつけていくために不可欠な品質・安全性・有効性評価のあり方、新たなバイオ創薬に向けての将来展望や課題などについて述べていきます。

まず、バイオロジクスとは何かということですが、さまざまな考え方、切り口があると思います。たとえば、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・医療機器になります。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になると思います。

また物質面からみれば、ペプチド・タンパク質、核酸、糖質、細胞あるいは組織抽出物などとなるかも知れません。

## 1.2 バイオロジクス開発の契機

次にバイオロジクス開発の契機について述べます。一つには、その時点で明らかになった生命現象に直接関与する生体内成分や関連成分に医療上の有用性が期待される場合に、その成分自体が医薬品の候補となることです。そして、医薬品として大量にかつ高品質に生産できる製造方法、生産物の特性解析、品質評価、安定性、安全性評価、さらには薬効を十分に発揮させ、一方で副作用を極力避けるための適用法などについて研究開発が進められます。

このようにして生体内成分や関連成分自体が医薬品となった典型的な例が、ホルモン、酵素、インターフェロン、エリスロポエチン、コロニー形成刺激因子、血液凝固因子などですが、これからは天然のタンパク質の部分構造を利用した機能性人工タンパク質性医薬品なども考えられます。さらに、遺伝子治療薬や細胞組織利用医薬品などもこの範疇に入るものとして挙げられるかもしれません。

もう一つの開発の契機として、生命現象の理解と疾病の機構に関する知見に基づき、疾病原因や疾病機構を制御し、あるいは破綻の修復に寄与できると期待されるものを開発目標とする場合があります。その典型として、ワクチン、抗体類が挙げられますが、これから可能性があるものとしては、遺伝子治療薬や細胞・組織利用医薬品・医療機器、それからアンチセンス、リボザイム、siRNAなどの核酸医薬品などもあります。

また化学薬品では、分子標的薬、テラメード型医薬品などが典型的な例であると思います。

### 1.3 バイオロジクスの開発・評価・管理を支える技術

生命科学分野では学問的解明と技術開発とが相互に影響し、相乗的に寄与・触発・刺激し合う関係で進歩、加速してきていますが、これらは医薬品の探索・製造・評価・管理技術への応用にも連動しており、いかに活用するかが重要な課題になります。

図1に、具体的な技術開発を示します。遺伝子組換え技術などのBT、核酸/タンパク質/糖鎖など構造解析技術、IT、光学技術、ロボット技術、ナノテクノロジーなどが挙げられます。

また、これらをベースにして開発された各種技術を図2に示していますが、これらを医薬品の探索・製造・評価・管理技術としてさらにどう進化させ、あるいは活用していくかということが医薬品関連技術開発と活用という面でのポイントになると思います。

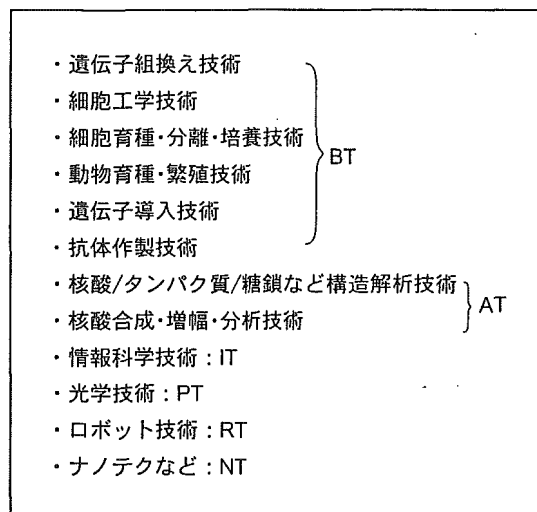


図1 技術開発

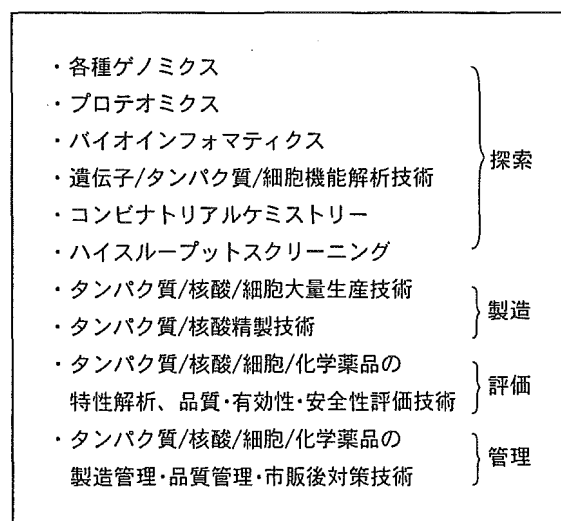


図2 医薬品の探索・製造・評価・管理技術

### 1.4 開発されたペプチド・タンパク質性医薬品

1980年代以降、バイオテクノロジーのいち早い応用により、大腸菌や動物細胞を用い、従来の手法では入手することが困難であったさまざまなタンパク質性の医薬品が開発されてきました。

図3に、日本で承認された細胞基材より生産されるタンパク質性の医薬品を示しています。インスリンや成長ホルモンなどのホルモン類、組織プラスミノゲン活性化因子などの酵素類、各種インターフェロン、エリスロポエチン、顆粒球コロニー形成刺激因子類、インターロイキン、成長因子、それから血液凝固因子類、沈降B型肝炎ワクチンを中心とするワクチン類、さらに各種モノクローナル抗体類が開発され、それぞれが他に代え難い、極めて特徴ある医薬品として医療に役立っています<sup>1)</sup>。

<p>&lt;ホルモン&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・インスリン：4種</li> <li>・インスリン誘導体：2種</li> <li>・グルカゴン</li> <li>・成長ホルモン：6種</li> <li>・ソマトメジンC (インスリン様成長因子；IGF)</li> <li>・ナトリウム利尿ペプチド</li> </ul>	<p>&lt;インターロイキン&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・インターロイキン-2：2種</li> </ul>
<p>&lt;酵素&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・ウロキナーゼ</li> <li>・プロウロキナーゼ</li> <li>・組織プラスミノゲン活性化因子(t-PA)：7種</li> <li>・グリコセレブロシダーゼ</li> </ul>	<p>&lt;成長因子&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・塩基性線維芽細胞成長因子(bFGF)</li> </ul>
<p>&lt;インターフェロン&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・インターフェロン-α &amp; 誘導体：6種</li> <li>・インターフェロン-β &amp; 誘導体：3種</li> <li>・インターフェロン-γ &amp; 誘導体：3種</li> </ul>	<p>&lt;血液凝固因子&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・血液凝固第VII因子(活性型)</li> <li>・血液凝固第VIII因子：2種</li> </ul>
<p>&lt;エリスロポエチン&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・エポエチンα</li> <li>・エポエチンβ</li> </ul>	<p>&lt;ワクチン&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・沈降B型肝炎ワクチン：8種</li> <li>・沈降pre-S2抗原・HBs抗原含有肝炎ワクチン</li> <li>・不活化A型肝炎ワクチン</li> </ul>
<p>&lt;顆粒球コロニー形成刺激因子(G-CSF)&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・G-CSF：2種</li> <li>・G-CSF誘導体</li> </ul>	<p>&lt;モノクローナル抗体&gt;：MoAb</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・キメラ抗CD20モノクローナル抗体</li> <li>・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</li> <li>・キメラ抗腫瘍壊死因子(TNF)αモノクローナル抗体</li> <li>・ヒト化抗RS(Respiratory Syncytial)ウイルス抗体</li> <li>・ヒト化抗上皮成長因子(EGF)受容体(HER2)モノクローナル抗体</li> <li>・マウス抗CD3モノクローナル抗体</li> <li>・抗ヒトミオシンモノクローナル抗体</li> </ul>

図3 日本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

### 1.5 医薬品生産への応用

一方、最近、バイオテクノロジーの医薬品生産への応用はさらに大きな広がりを見せています。すなわちバイオテクノロジーにより、

- 1) 生命現象や疾病の仕組みの解明が飛躍的に進み、それをもとにした新しい医薬品の設計が可能になってきています。また、
  - 2) 遺伝子治療用医薬品、核酸医薬品の創製、
  - 3) 細胞治療用医薬品の創製、
  - 4) 動物あるいは植物工場によるタンパク質性医薬品や細胞治療用医薬品の開発、
  - 5) 分子標的医薬品、テーラーメイド型医薬品の開発、
- などが推進されてきているのです。

### 1.5.1 開発中のタンパク質性バイオ医薬品

図4は、現在日本において開発中と推定されるタンパク質性バイオ医薬品をリストアップしたものです。厚生労働省に申請中のものが8品目くらい、臨床試験中のものが各種ホルモン、インターフェロン類、インターロイキン類、それから特に目立つのがヒト抗体類ですが、30数品目、臨床準備中のものが10品目くらいあるということです。

<ul style="list-style-type: none"> <li>・厚生労働省に申請中</li> <li>組換え血清アルブミン</li> <li>α-ガラクトシダーゼ(アガルシダーゼベータ)</li> <li>組換えエポエチン イブシロン</li> <li>組換えIL11誘導体(オブレルベギン)</li> <li>組換え血液凝固第IX因子(ノナコグアルファ)</li> <li>組換えヒトインスリンアナログ (インスリングラルギン)</li> <li>組換えヒト卵胞刺激ホルモン(フォリトロピンβ)</li> <li>抗ヒトがん細胞モノクローナル抗体: プリツマブ</li> <li>・臨床試験中</li> <li>インスリンアナログ(インスリンデテミル)</li> <li>ヒト卵胞刺激ホルモン(ホリトロピンα)</li> <li>ヒト副甲状腺ホルモンアナログ</li> <li>PEG-トロンボポエチン</li> <li>ケラチノサイト増殖因子</li> <li>幹細胞因子</li> <li>インターフェロンβ-1a</li> <li>PEG-インターフェロンα-2a</li> <li>PEG-インターフェロンα-2b</li> <li>インターロイキン-2</li> <li>インターロイキン-10</li> <li>インターロイキン-11</li> <li>インターロイキン-12</li> <li>可溶性TNE受容体</li> <li>組換え骨形成タンパク(BMP2)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・臨床試験中(続き)</li> <li>抗血小板モノクローナル抗体: アブシキシマブ</li> <li>ヒト化抗RSV(多核体ウイルス)モノクローナル抗体</li> <li>ヒト化抗CD40リガンドモノクローナル抗体</li> <li>ヒト化抗血小板モノクローナル抗体</li> <li>ヒト型抗インターロイキン6レセプター モノクローナル抗体</li> <li>抗ヒト化TNFαモノクローナル抗体</li> <li>ヒト化抗IgE抗体</li> <li>抗CD33モノクローナル抗体-カリケアマイシン結合体</li> <li>ヒト化抗腫瘍関連抗原モノクローナル抗体</li> <li>ヒト化抗CD33モノクローナル抗体</li> <li>ヒト化抗HIVモノクローナル抗体</li> <li>キメラ抗ガングリオシドモノクローナル抗体</li> <li>・臨床準備中</li> <li>インターロイキン-4</li> <li>神経成長因子-β</li> <li>α-L-イズロニダーゼ</li> <li>α-ガラクトシダーゼA</li> <li>α-ガラクトシダーゼA</li> <li>抗vWFモノクローナル抗体</li> <li>ヒト成長ホルモン受容体アンタゴニスト</li> <li>レプチン: 肥満遺伝子産生タンパクOB</li> <li>ヒト化抗II型志賀様毒素モノクローナル抗体</li> <li>がんワクチン(HER2p63)</li> <li>ヒト化抗IL-2受容体αモノクローナル抗体</li> </ul>
---	--

図4 日本において開発中のタンパク質性バイオ医薬品

### 1.5.2 遺伝子治療用医薬品

表1は、日本における遺伝子治療臨床研究の実施状況です。

がん治療を中心に約17のプロトコールが実施または計画中であり、いまだ試行錯誤の状態です。しかし、一度ブレイクスルーすると、飛躍的に進展する可能性がある分野であると思います。

表1 遺伝子治療臨床研究の実施状況(国内)

実施年	ベクター	遺伝子	対象疾患	方法	実施施設	例数
1995	レトロ	ADA	ADA欠損症	ex vivo(リンパ球)	北海道大学	1
1998	レトロ	GM-CSF	腎がん	ex vivo(がん細胞)	東京大学	4
1998	アデノ	p53	肺がん	in vivo(組織内)	岡山大学	8
2000	アデノ	p53	食道がん	in vivo(組織内)	千葉大学	3
2000	レトロ	MDR-1	乳がん	ex vivo(造血幹細胞)	(財)癌研究会	1
2000	リポソーム	IFN-β	悪性グリオーマ	in vivo(組織内)	名古屋大学	2
2000	アデノ	p53	肺がん	in vivo(組織内)	東京慈恵会医科大学	1
2000	アデノ	p53	肺がん	in vivo(組織内)	東北大学	1
2000	アデノ	HSV-tK	前立腺がん	in vivo(組織内)	岡山大学	1
2000	アデノ	p53	肺がん	in vivo(組織内)	東京医科大学	2
2001	プラスミド	HGF	慢性閉塞性動脈硬化症・パージャーカー病	in vivo(組織内)	大阪大学	4
承認済	レトロ	HSV-tK	同種造血幹細胞移植後の再発白血病	ex vivo(末梢血T細胞)	筑波大学	
承認済	アデノ	IL-2, リンフォクチン	神経芽腫	in vivo(組織内)	東京大学	
承認済	リポソーム	β型インターフェロン	進行性悪性黒色腫	in vivo(組織内)	信州大学	
承認済	レトロ	ADA	ADA欠損症	ex vivo(造血幹細胞)	北海道大学	
承認済	レトロ	γC鎖	X連鎖重症複合免疫不全症(X-SCID)	ex vivo(造血幹細胞)	東北大学	
申請中	センダイウイルス	FGF-2	閉塞性動脈硬化症・パージャーカー病	in vivo(下肢部筋肉内)	九州大学	
承認済	アデノ	HSV-tK	前立腺がん	in vivo(組織内)	神戸大学	

### 1.5.3 核酸医薬品

核酸医薬品は、タンパク質をコードせず、核酸そのものが機能を持つものです。一般にゲノム医学を背景に、特定の遺伝子発現を制御するよう設計した塩基配列を有するものです。アンチセンス、リボザイム、デコイ、siRNA (small interfering RNA) などがこの範疇に含まれます。海外では、サイトメガロウイルス (CMV) 性網膜炎を対象にしたアンチセンスが医薬品となっています。さらに、海外では少なくとも18品目以上のアンチセンス医薬品について臨床試験が行なわれているということです(表2参照)。

表3に示すように、リボザイムについてはVEGF受容体、EGF受容体、あるいはHCVをターゲットにしたものなどが臨床試験の段階にあります。DNAワクチンについては海外で、エイズ、B型肝炎、インフルエンザなどの感染症や、がんを対象とした臨床試験

表2 アンチセンス医薬品(海外)

名称	標的RNA	対象疾患	状況
Vitravene	CMV IE2	サイトメガロウイルス性網膜炎	上市済
Genasense	Bcl-2	慢性リンパ性白血病、多発性骨髄腫	フェーズⅢ
		急性骨髄性白血病	フェーズⅡ
ISIS2302	ICAM-1	クローン病	フェーズⅢ
		乾癬、潰瘍性大腸炎	フェーズⅠ
ISIS3521	PKC $\alpha$	非小細胞肺癌	フェーズⅢ
ISIS104838	TNF $\alpha$	乾癬(局所投与)	フェーズⅡ
		慢性関節リウマチ(静脈または皮下投与)	フェーズⅡ
		慢性関節リウマチ(経口投与)	フェーズⅠ
EPI-2010	アデノシンA1受容体	喘息(経肺投与)	フェーズⅡ
GEM231	PKA	がん	フェーズⅡ
GEM92	HIV gag	HIV感染症	フェーズⅡ
GTI2040	リボヌクレオチド還元酵素	腎臓がん	フェーズⅡ
ISIS2503	H-ras	がん	フェーズⅡ
ISIS5132	c-rafキナーゼ	がん	フェーズⅡ
ISIS104803	HCV	HCV	フェーズⅡ
MG98	DNAメチルトランスフェラーゼ	頭頸部がん	フェーズⅡ
Oncomyc-NG	c-myc	がん	フェーズⅡ
Resten-NG	c-myc	心再狭窄症	フェーズⅡ
AP-12009		がん(脳腫瘍など)	フェーズⅠ/Ⅱ
LE-AON	c-Raf	がん	フェーズⅠ/Ⅱ
AVI-4557	P450		フェーズⅠ
GTI2501	リボヌクレオチド還元酵素	がん	フェーズⅠ

表3 リボザイムおよびDNAワクチン

臨床試験中のリボザイム(海外)

臨床試験中のDNAワクチン(海外)

名称	標的RNA	対象疾患	状況
ANGIOZYME	FIt-1(VEGF受容体)	転移性大腸がん、転移性乳がん	フェーズⅡ
HERZYME	HER-2(EGF受容体2型)	乳がん、卵巣がん	フェーズⅠ
HEPATAZYME	HCV	C型肝炎(皮下投与)	フェーズⅠ

対象疾患
エイズ
B型肝炎
インフルエンザ
がん

が進められています。

#### 1.5.4 細胞・組織利用医薬品など

表4に示す細胞・組織利用医薬品などとは、医療に供する医薬品や医療用具がヒトまたは動物の細胞・組織から構成されたものをいいます。現在までに海外では培養皮膚が



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験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	Provence	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-TECAC-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ヵ所に筋注し、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
骨膜細胞	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(養子免疫療法)

## 2 先端的バイオロジクスの解析、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。

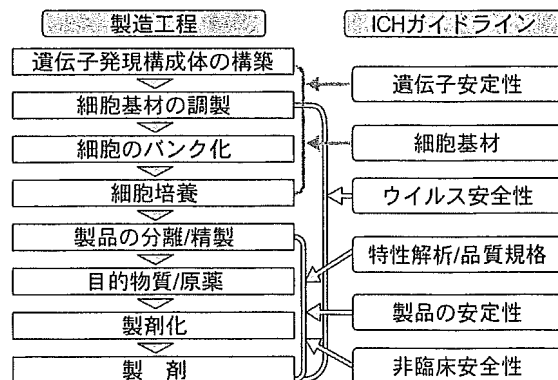


図5 細胞基材由来タンパク質性医薬品開発のためのICHガイドラインの活用

### 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、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

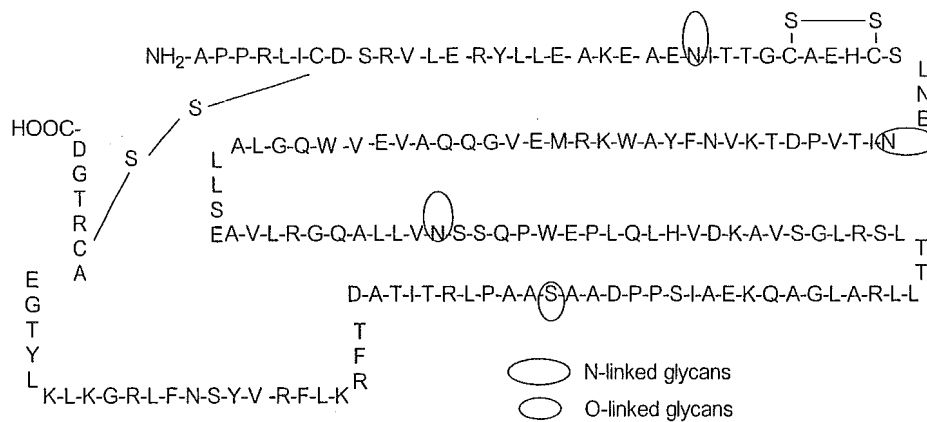


図6 エリスロポエチンの構造

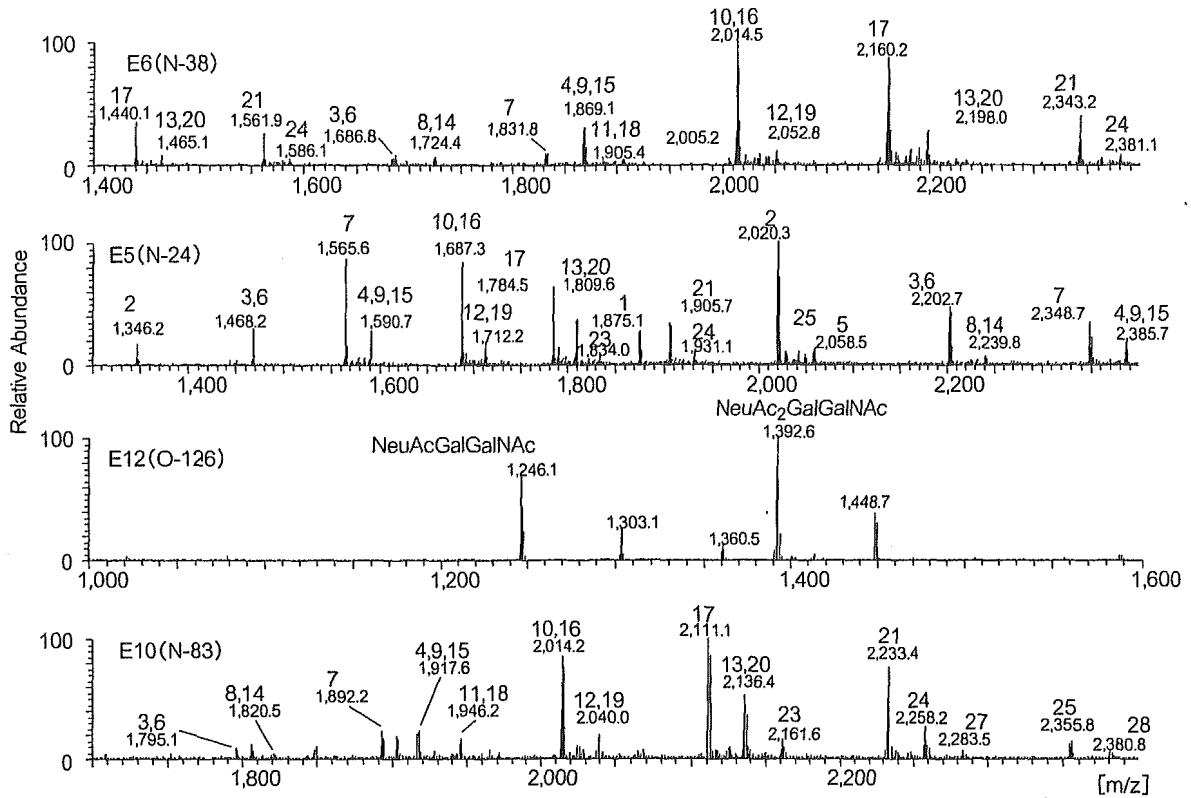


図7 エリスロポエチンの各糖鎖結合部位における糖鎖付加の多様性

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はありますが、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。

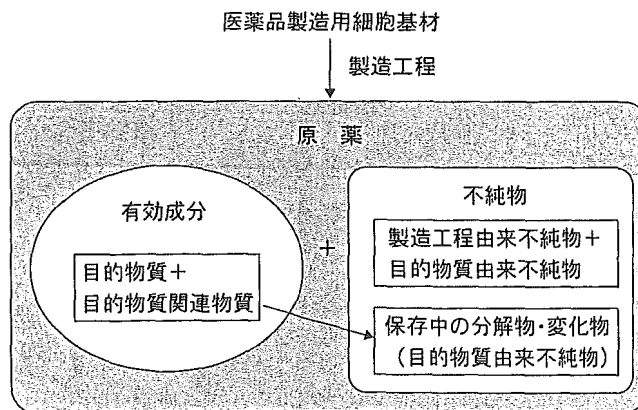


図8 タンパク質性バイオ製品の成分の不均一性

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

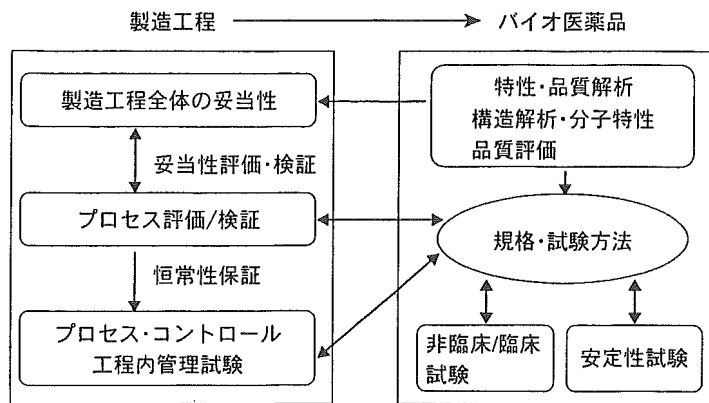


図10 バイオ医薬品の品質確保と恒常性確保に必要な要件

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となります。

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。

1. 目的及び定義
2. 製造方法
3. 細胞・組織加工医薬品等の安定性
4. 細胞・組織加工医薬品等の非臨床安全性試験
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
6. 細胞・組織加工医薬品等の体内動態
7. 非臨床試験等の内容の総括
8. 臨床試験
9. 確認及び報告

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

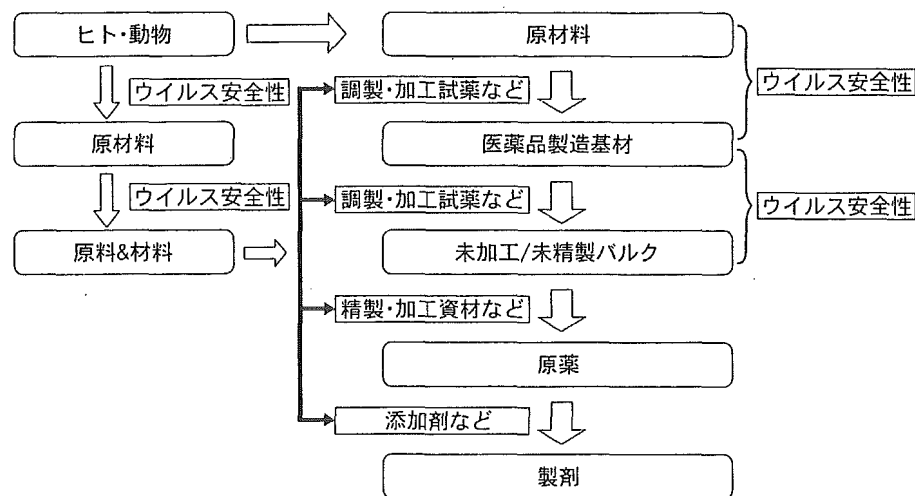


図13 ヒト・動物由来原材料/製品が関係する医薬品製造とウイルス安全性の概念図

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・ピトロ細胞齢の上限の細胞)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