

る。ICHガイドラインの解釈では、「有効成分」は、「目的物質」と「目的物質関連物質」を含むとみなされるから、「有効成分」の品質特性において同等／同質あるいは同種であるかどうかは、「目的物質」と「目的物質関連物質」の品質特性において同等／同質あるいは同種であるかどうか、ということになる。このうち、「目的物質関連物質」は、「目的物質から派生した物質のうち、目的物質とは理化学的には区別されるが、生物学的に匹敵する活性があり、製品の有効性に寄与し、安全性等に関しては悪影響を及ぼさないもの」を適切に位置付けるためのカテゴリーであるので、まずは、ある後続バイオ製品の「目的物質」の品質特性における「同等性／同質性」あるいは「同種性」をどのように捉えるかに依存している。

一方、「不純物」には、「製造工程由来不純物」及び「目的物質由来不純物」がある。「目的物質由来不純物」は“目的物質の分子変化体(例えば、前駆体、製造中や保存時に生成するある種の分解物・変化物など)で、生物活性、安全性及び有効性の点で目的物質のそれに匹敵する性質を持たないもの”とされているから、これも基本的に「目的物質」の種類や特性との関係付けで判断すべきことである。

なお、後続メーカーが先発メーカーにより種細胞株(MCB)及び先発の比較対照物質を譲渡され、以降の工程を独自で行うという特殊な場合の後続バイオ製品の評価作業は、先発メーカー内でのコンパリティ評価作業に準じることになると思われるが、基本的にはケース・バイ・ケースで対応、判断することになる。

3.5 後続バイオ製品の先発品に対する同等性／同質性又は同種・同効性を論ずる前提として各タイプの目的物質ごとに充たされるべき条件

ICHガイドラインは、タンパク質性バイオ医薬品

における生物活性と理化学的特性との多様な関係を医薬品品質評価の立場から科学的合理性に基づいて識別したり統合したりする概念、並びにタンパク質性バイオ医薬品が持つ固有で不可避的な不均一性を包含できる唯一の実際的かつ論理的概念として、わが国が中心となって提唱した「目的物質」、「有効成分」、「目的物質関連物質」、「目的物質由来不純物」の定義と各物質の相互の関係付けを、すべての議論や思考の出発点及びベースにすることによって作成された。ここで、注目すべきは、その基本となる「目的物質」の「構造・組成」、「物理的・化学的性質」、「生物学的性質」が、各タイプの目的物質ごとにその特徴に応じて異なることを前提とした考え方に立っている点である。

後続バイオ製品を論ずる際の成分本体に係わる「構造・組成」、「物理的・化学的性質」、「生物学的性質」に関する同等性／同質性あるいは同種性の判断基準は、このようなICHガイドラインにおける『目的物質』を定義したコンセプトを背景として、さらに必要に応じてケース・バイ・ケースで考える方向で定められるべきであると考えられる。これは、「目的物質」の種類と構造、特性などに応じて、新しく得られた物質と既存の目的物質との同等性／同質性あるいは同種性が論じられるべきことを意味している。同時に、同じレベルで「有効成分」、「目的物質関連物質」、「目的物質由来不純物」に係わる「構造・組成」、「物理的・化学的性質」、「生物学的性質」の同等性／同質性あるいは同種性が論じられるべきであることも意味している。

具体的に後続バイオ製品の同等性／同質性あるいは同種性の議論をするとき、そもそも新しく得られた目的物質において既存の目的物質との品質特性に関する同等性、同質性又は同種性が充たされなければ話の前提が成り立たない。したがって、どのような条件が充たされれば、その後の同等性／同質性あるいは同種性の議論やアプローチに入ることができるのかを明らかにしておくことが必要である。以下に各タイプの「目的物質」ごと

に、具体的にどのような品質特性のものが同等性／同質性あるいは同種性の範疇に入るのかについて考察を加えた。

(1) 予期した構造を有する後続タンパク質

(例：モノクローナル抗体)

モノクローナル抗体の場合は、本来、単一クローンの抗体産生細胞が産生する抗体で一次構造が均一(クラス、サブクラス、アロタイプ、L鎖の型、イディオタイプ、エピトープなどの点で均一)であるものを指す。したがって、元の細胞クローンすなわち種細胞株(MCB)あるいは目的物質に対する組換え遺伝子が同一でない限り同一のアミノ酸一次構造を持つ抗体分子は得られない。一方、糖鎖部分については種細胞株(MCB)や培養条件が異なれば異なることが予測される。後続メーカーにおける種細胞株(MCB)は一般に先発メーカーのそれとは異なるので同等性／同質性を論ずる前提は成り立たないことを意味している。

このような抗体が後続バイオ同種・同効製品となるための前提となる品質面からみた資格条件、すなわち化学的同種性を立証すべき品質特性の項目例としては、

- 1) タンパク質構造、特にエピトープ部分の同一性、糖鎖構造の同種性
- 2) 物理的・化学的性質
- 3) 免疫化学的性質(アフィニティー、アビディティー、免疫反応性等)
- 4) 標的抗原特異性、類似抗原に対する交叉反応性、組織学的結合性等

が考えられる。さらに、

- 5) 有害因子、不純物問題

をクリアすべきことが必須条件である。

(2) DNA塩基配列から特定の構造が期待される

後続タンパク質における同等性／同質性

DNA塩基配列から特定の構造が期待されるタンパク質の「目的物質」の典型は、インスリンやヒ

ト成長ホルモン等の単純タンパク質である。これらの後続バイオ製品の「目的物質」においては同等性／同質性を論ずることが可能である。その前提は、後続バイオ製品の品質特性における

- 1) 一次構造の同一性(アミノ酸配列)
- 2) 物理的・化学的性質の同一性
- 3) 生物学的性質、特に活性高次構造を保證する生物学的性質：臨床上の効能・効果と密接に関連した生物学的性質の同等性／同質性
にあることはいうまでもない。さらに、
- 4) 有害因子、不純物問題をクリアする必要がある。

このカテゴリーにおける、「目的物質関連物質」の典型的な具体例は、ヒトインスリンにおけるデスアミド体、ヒト成長ホルモンにおけるデスアミド体やスルホキシド体である。これらは、「目的物質」と同等の活性を持っているが、製品の安全性に関して悪影響を及ぼすことは知られていないので、「目的物質関連物質」となり、有効成分の一部とみなすことができる。しかし、その存在量については許容限度量が定められるべきものである。したがって、後続製品における存在量が先発品を上回らないことが同等性／同質性を論ずる前提となると考えられる。一方、例えば、ヒト成長ホルモンにおける2量体や多量体は、最大でも成長ホルモンの50%程度の活性しか示さず、抗原性も高いとされているので、「目的物質由来不純物」として取り扱われる。「目的物質由来不純物」についても後続製品における存在量が先発製品を上回らないことが同等性／同質性を論ずる前提となると考えられる。

(3) しかるべき翻訳後修飾(グリコフォームを含む)

から期待されるタンパク質における同種性

このカテゴリーに属する「目的物質」の典型的な例は糖タンパク質である。代表的な糖タンパク質であるエリスロポエチン(EPO)を例に「目的物質」をどのようなものとしてとらえればよいかについて考

察する。適切な糖鎖構造解析法を使って分析すると、糖タンパク質が目的物質であった場合、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きわめて多様で、不均一な糖タンパク分子の集合体となることが判明する。例えば、糖タンパク質、EPOからEPOの38位、24位、126位、83位を含むグリコペプチドをRP/LCで単離し、MSで分析すると各糖鎖結合部位に、それぞれ、多数の種類異なる糖鎖が付いていることが判明した¹⁾。実際の個別糖タンパク分子(グリコフォーム)の数は、この各糖鎖結合部位ごとの異なる糖鎖の組み合わせの数だけあり得るということであり、夥しい数になることが容易に推察される。これらを考慮すると、いかに多くの異なる糖タンパク分子が最終製品(原薬)の中に存在するかということになる。最終製品において1つ1つ異なる糖タンパク分子を単離して解析することは、当然不可能である。したがって、「糖タンパク質における目的物質」は、とりあえず翻訳後修飾で生成し、最終製品(原薬)として精製したもの、すなわち多様で不均一な分子集合体を「しかるべき翻訳後修飾で期待されるタンパク質」としてあるがまま「目的物質」とみなし、そこからスタートするしかない。

このような糖タンパク質の糖鎖付加状況は、

- ① 種、細胞、組織に特異的な糖鎖付加
- ② 細胞基材を確立する方法
- ③ 細胞培養条件
- ④ 発現タンパク質の構造的特徴

など、様々な要因により影響される。したがって、エリスロポエチン等では、同じ構造遺伝子を宿主細胞に導入したとしても、タンパク質部分は同一であるが糖鎖部分においては異なる糖鎖プロフィールを持つ製品が得られる。糖タンパク質製品は生産培養段階までに①～③の様々な要因の組合せに影響された結果、すでにきわめて多様なグリコフォームの集合体で不均一なものであるが、さらに精製方法の違いによっても最終製品の不均一性の様相は変化していく。「糖タンパク質にお

ける目的物質」とはそのような実態のものである。ちなみにLC/MSを用いて、3種の異なる種細胞からのEPOの大まかな糖鎖パターンを調べた結果では、それぞれに明らかに異なっていた^{2),3)}。したがって、理論的にも、経験的にも、また、実際の解析結果からも示されるように、当初から糖鎖構造において異なると判明している、異なる種細胞からの「目的物質」は、少なくとも分子構造上から相互にコンパラビリティの対象としては論じられないものとして区別すべきであると考えられる。一般名称においてもEPOに関しては、異なる種細胞からの製品は、エポエチンアルファ、エポエチンベータ、エポエチンガンマのごとく区別されている。先発メーカーにおいてエポエチンアルファの製法変更の際に、エポエチンベータを比較対照物質として用いることはあり得ない。逆もしかりである。したがって、これらは、もともと同等/同質製品とはいえず同種・同効製品である。したがって、EPOの後続品のように種細胞株(MCB)をはじめ根本的に異なる製造方法で生産される糖タンパク質においては、物質レベルですでに同等/同質の目的物質が得られないことは明かである。組換えEPOのアミノ酸残基は165であるが、血液凝固第Ⅷ因子のように2332個のアミノ酸残基を有する巨大タンパク質がプロセッシングされて、不均一な活性複合体を形成する場合も、その実態の複雑さは想像に難くない⁴⁾。タンパク質部分自体、既存品との同種性を論ずる以外ない。こうした複合タンパク質に特有の分子特性や品質特性を明らかにするには、比較対照物質(先発品原薬や製剤)との比較をベースとする「同等性/同質性評価作業」では不適切あるいは不可能である。そもそも適切な比較対照物質、すなわち同等/同質を試験する標準物質の入手が不可能である。したがって、製品そのものを対象に最新の解析手法を駆使した広範で徹底した検討を実施し、構造解析や品質特性を明らかにするしかない。

それでは何が同種性を評価するための前提、必

要条件になるかが問題の焦点となる。

まず、タンパク質部分において意図した構造の製品が得られているか否かである。EPOのような165程度のアミノ酸残基数のタンパク質では、基本的には周知の構造であることが立証される必要がある。血液凝固第Ⅷ因子のような巨大分子で、生物活性タンパク質(目的物質)に至るまでに様々なプロセッシングを経るものはおよそ化学構造的な評価での同一性は期待できない。そこでの評価基準は、同一の作用機序で同一の臨床効果が期待できるタンパク構造を有するという同種性である。次に、糖鎖に注目することは非常に重要である。糖鎖の付加状況(例：主な糖鎖の型や種類、糖鎖結合部位における糖鎖の有無、各結合部位における糖鎖の分子種・構造等)が影響を及ぼす可能性があるものとして、

- ① 特異的生物活性
- ② 体内動態
- ③ 安定性
- ④ 溶解性
- ⑤ 免疫原性

などがある。エリスロポエチンでは、シアル酸の付加状況や分岐鎖の状態が生物活性や体内動態に大きな影響を及ぼすことは周知の事実である。例えば、シアル酸の存在が体内動態に大きく影響し、シアル酸含量と *in vivo* 活性の間に明瞭な正の相関関係があることが知られている。また、EPOにおいては、シアル酸含量以外に、糖鎖が2本鎖に富むか4本鎖に富むかといった、分岐鎖型、サイズが活性発現や体内動態などとの関係で重要であることが知られている⁵⁾。さらに、シアル酸の1種で正常なヒト組織以外の大部分の哺乳動物に含まれるN-グリコシルノイラミン酸がヒトに対する免疫原性を有することが報告されており、エリスロポエチンではクローンの違いや培養方法の違いによりN-グリコシルノイラミン酸の含有量が異なることも報告されている。したがって、糖タンパク質では、目的物質の同種性を論ずるとき、シアル酸の種類

や含量をベースにした大まかな分子集団の解析において同等であることを示すことが、重要なポイントの1つであると考えられる。そのため、等電点電気泳動法(IEF)、キャピラリー電気泳動法(CE)、蛍光体支援糖質電気泳動法(FACE法)などのシアル酸やサイズについて比較、検討できるような方法を用いて、目的物質の評価を行うことが、本格的検討に入る前の段階として重要なことと考えられる。

さらに当然の前提として、何よりも生物活性が適切な範囲で同等もしくはそれ以上ということが肝要である。特に、糖タンパク質の場合には、*in vivo* 活性が同等以上であることが、大前提である。しかし、生物活性の同等性は必要条件ではあるが、もとより十分条件ではない。ある生物活性の同等性が複雑なタンパク質の有効性と関連する多様な生物学的機能や作用機序、安全性をすべて示すものではないことは明かであるからである。

以上をまとめると、しかるべき翻訳後修飾から期待される糖タンパク質における後続バイオ製品の同種性を論ずる場合の前提として「目的物質」において充たされるべき条件は、

- 1) タンパク質部分の一次構造の同一性/同等性/同種性(アミノ酸配列)
- 2) 物理的・化学的性質の類似性
- 3) シアル酸、分岐鎖等に関する糖鎖パターンの類似性(IEF, CE, FACE等)
- 4) 生物学的性質、特に活性高次構造を保証する生物学的性質：臨床上の効能・効果と密接に関連した生物学的性質の同等性/同質性が立証されることであると考えられる。これに加えて、
- 5) 有害因子、不純物問題をクリアする必要がある。

- (4) 生物活性分子を生産するのに必要な、意図的な加工・修飾操作から期待されるタンパク質(例：不活性前駆体→目的活性タンパク質)
本カテゴリーに該当する製品の場合、「目的物質」が、DNA塩基配列から期待されるタンパク

質(例:単純タンパク質)に相当するものか、しかるべき翻訳後修飾(グリコフォームを含む)から期待されるタンパク質に相当するものかに応じて、前項までに論述した留意事項を参考に対処するとよいと思われる。

3.6 タンパク質性後続バイオ製品の承認申請や評価を本格的に論ずるための構造、特性解析

これまで検討してきたのは、目的物質レベルで後続バイオ製品の承認申請の是非を論じることができる前提、予備調査のようなものであった。これらがクリアされてはじめて、承認申請や評価を本格的に論じることができる。すでに述べたように、後続バイオ製品の品質特性については、最新の手法でその分子構造を含め徹底して解析する必要がある。タンパク質部分については、

- 1) アミノ酸組成分析
 - 2) 末端アミノ酸及び末端アミノ酸配列分析
 - 3) スルフヒドリル基とジスルフィド結合の数と位置の解析
 - 4) ペプチド分析
 - 5) 全アミノ酸配列分析
 - 6) 高次構造解析
- などの構造や組成の解析を行う。糖鎖の構造解析については、

- 1) 糖組成分析(中性糖, アミノ糖, シアル酸等)
- 2) 結合型解析(N-結合型やO-結合型)
- 3) シアル酸分子種分析
- 4) 分岐鎖型, サイズ, 分布
- 5) 糖鎖構造解析(主要糖鎖については単糖間の結合様式に至るまで解析)
- 6) 糖鎖結合位置
- 7) 結合位置ごとの糖鎖分布, 構造解析

などが解析目標である。また、理化学的性質、生物学的性質等についても技術的に可能な範囲で徹底して解析し、後続バイオ製品の「目的物質」の

品質特性における先発品との同等性/同質性や同種性を公表された文献等を参照しながら明確にする必要がある。生物活性については可能であれば先発品の市販製剤や国際/国内標準品などとのコンパラビリティ試験結果及び公知の比活性などを勘案しながら評価することが望ましい。後続バイオ製品における品質特性の解析の程度や先発品との差異の程度が、同等性/同質性あるいは同種性を最終的に立証するための決定的な要素の1つであるとともに、品質特性以外にさらにどのような試験を実施すべきかを考えるための不可欠な要素ともなる。

実際問題としては、インスリンやヒト成長ホルモンなどの単純タンパク質の場合、徹底した品質特性解析で同等性/同質性を示すことができなければ、その先へは進めない。逆に、品質特性における同等性/同質性を明確に立証することができれば、品質特性と安全性及び有効性との関係を明快に考察することで安全性及び有効性を含めた同等性/同質性の評価に至ることも可能である。一方、糖タンパク質等の場合は、まず、目的タンパク質部分の同一性/同等性あるいは同種性が前提条件となる。その他糖鎖構造や徹底した品質特性解析は、先発品とどのような点が同等/同質であり、どのような点が異なるのかを明確にする上で重要である。これらの点がどのように安全性及び有効性に影響を及ぼすかを考察することは、どのような非臨床試験や臨床試験を行うべきかを計画する上で重要な視点を提供する。

3.7 製品面からみた小括的考察

1) 製品特性や臨床適用法をより深く理解すればするほど、より一層合理的なアプローチをすることができる。したがって、「後続バイオ製品」に関し、最新の手法を用いて広範に分子特性を含む品質特性を解析することが、まず、何よりも肝要である。安定性試験も必須の品質特性解析手段である。

2) インスリン、ヒト成長ホルモン、顆粒球コロニー形成刺激因子、インターロイキン、組換えインターフェロン亜型(アルファ 2a, アルファ 2b)やそれらの誘導体のような組換え大腸菌など微生物由来の非複合タンパク質について「後続バイオ同等/同質製品」を開発することは可能と思われる。その理由として次のような科学的根拠が挙げられる：

- ① これらの「目的物質」は塩基配列からそのアミノ酸一次構造が明確に予測され、また理化学的性質、生物活性、安定性などは公知の事実である。
 - ② 類縁物質のうちで目的物質と同等の生物活性があり有効成分の範疇に入る「目的物質関連物質」や、生物活性や安全性面で目的物質に匹敵しない「目的物質由来不純物」も明らかにされている。
 - ③ これらのタンパク質の分析手法は確立している。
 - ④ こうした品質特性の解析や公知の事実をもとに臨床上の安全性及び有効性を考察することも可能である。
- 3) 糖タンパク質のような複合タンパク質について「後続バイオ同等/同質製品」を開発することは、品質特性におけるコンパラビリティの観点からは、前述のように、現実的に困難であり、臨床上の安全性及び有効性を考察することも容易ではないと考えられる。これらについては、「後続バイオ同種・同効製品」の開発として取り組む方が合理的であると思われる。

4) 「後続バイオ同等/同質製品」の製剤については、「後続バイオ同等/同質製品」の原薬が入手でき、かつ、後続品の剤型や臨床適応が既承認品と同様であるという前提のもと、コンパラビリティ的アプローチにより開発することは可能かもしれない。既承認製剤が複数の臨床適応を有する場合、「後続バイオ製品」の製剤は、使用したい各臨床適応に関して comparable と主張できる合理的根拠(例：同一作用機序による臨床適応等)を

示すか、個別に臨床試験で立証することによりはじめて、「後続バイオ同等/同質製品」となり得る。

5) 後続の複合タンパク質性製品については、当該製品そのものについて独自に品質、安全性及び有効性を評価し、「バイオ後続同種・同効製品」の開発を目指すという通常のアプローチが基本になるが、公知の事実や先発品における医薬品情報を可能な限り引用し、考察することにより実施すべき試験を取捨選択して核心的な評価作業のみに絞り込むことや、先発メーカーの流通品(製剤)や公的標準品等を活用して、それらとの比較試験により生物学的性質等に関する一定の情報を得るようなことは可能であり、かつ合理的である。

6) 新剤型、新効能に関しては、通常の開発方法に従い、その妥当性を臨床試験等で立証する必要がある。その作業は、まず原薬を「後続バイオ同等/同質製品」あるいは「後続バイオ同種・同効製品」として立証した後、臨床試験データを含む所要の申請データにより立証することによる。一方、当初から原薬も含めて当該剤型や効能について新規製造販売承認を目指すアプローチの方が効率的、合理的な場合もあり得ると思われる。

7) 医薬品の品質、安全性及び有効性確保の向上は、常に望ましいことであり、督促すべきことである。したがって、「後続バイオ製品」がたとえコンパラビリティという観点では適合しなくとも、品質、安全性及び有効性において改善が図られたことが示された場合には、「後続バイオ同種・同効製品」として製品は受け入れられてよいと考えられる。

3.8 製造工程面からみた一般的留意事項

後続バイオ製品においては品質特性解析等、製品そのものに焦点をあてた検討はもとより、製造方法そのものが新規であるので、その詳細を明らかにして、それが製品の恒常的生産を保証すること、ひいては評価された安全性及び有効性を継続的に保証することを示す必要がある。細胞等原材料や製造関連

物質の選択・入手法、評価・品質管理法、製品に混入する可能性がある不純物やウイルスを含む混入汚染物質に関する製造工程のクリアランス能力の評価・検証、重要工程の一定性(頑健性)の保証、適切なプロセス・コントロールや工程内管理試験の実施などが主な要素である。これらの各要素は、製品レベルでの品質特性に関する試験とともに、いずれもお互いに関連し合い、相互補完的に製品の品質確保と恒常性保持に寄与している。それぞれの要素が品質確保方策全体の中で、どのように位置付けられるか、その妥当性も含めて明らかにする必要がある。どのような評価・検証や判定基準が適切かは製品の種類や製造工程関連要素の個々の内容や程度に応じて異なるが、とりあえずは関連する国際ガイドラインあるいは国内ガイドラインを参照するべきである。例えば、遺伝子発現系の構築と安定発現、細胞基材の調製・特性解析、細胞基材のバンク化と品質管理、細胞の培養やその恒常性、ウイルスクリアランス評価や不純物の除去能力等の評価や工程管理を含む分離・精製工程、保存条件その他などについては、「遺伝子の安定性」、「細胞基材」、「ウイルス安全性」、「製品の安定性」、「特性解析、規格及び試験方法」及び「コンパラビリティ」に関するICHガイドラインのうち関連するものを単独で、あるいは相互補完的に参照、活用するとよい。その他の製造関連要素や資料整備に関しては原薬の場合はCTD 3.2.S.2を、製剤の場合はCTD 3.2.P.2及び3.2.P.3を参照すること。

製品が何であれ、各種工程管理を含めて厳密に規定された製造工程を確立し、その一定性を保つことは、基準を充たす製品の恒常的製造のために必要不可欠な要素である。

3.9 非臨床試験及び臨床試験に関する留意事項

(1) 後続バイオ製品の非臨床試験及び臨床試験の程度や内容の決定に影響する諸要素

後続バイオ製品に関する非臨床試験及び臨床試験の程度や内容は以下に示すような様々な要素を考慮してケース・バイ・ケースで決定していく必要がある。すなわち、

- 1) 製品の種類と特性、公知の情報の多寡
- 2) 後続製品が分子特性及び不純物プロファイルを含む品質特性において先発品と同等/同質、あるいは同種である程度
- 3) 後続バイオ製品の品質特性解析試験に用いた試験方法の解析能と限界
- 4) 新規製造工程に関するプロセス評価・検証結果(関連する工程内管理試験の結果を含む)
- 5) 品質特性と安全性及び有効性の関連性の強さ
- 6) 先発品についての既存の非臨床/臨床データの入手可能性と情報量の多寡
- 7) 目的とする臨床使用関連事項(適応症や対象患者のグループ、用法・用量(投与頻度、回数、期間を含む)、投与経路、治療域/用量・反応曲線、先発品の免疫原性や安全性などに関する過去の経験・知見や臨床使用が開始されてからの期間、薬物動態と薬力学の関係、分布、クリアランスなど)
- 8) 非臨床試験や臨床試験の比較対照物質(先発品)が入手可能か否か

などが考慮すべき諸要素の例である。

例えば、製品の特性がすでに十分解析されており、使用経験も豊富で、かつその *in vivo* 生物活性が臨床上期待される効能・効果と密接な関連を持つというような場合、「後続バイオ製品」の品質特性においていかに徹底した解析と評価がなされたかにも依存するが、有効成分の安全性や有効性を立証するための非臨床試験や臨床試験の実施は必ずしも必要ではないこともあると思われる。

この典型的な例は、インスリンやヒト成長ホルモンである。インスリンやヒト成長ホルモンはその化学構造が明確であり、理化学的性質も容易に解析できる。目的物質関連物質や不純物に関する知見も揃っており、製品中での存在量に関する分析も容易である。しかも、加熱や振とう操作、タンパク質変性処理などの強制分解処理を行った後の解析から、一次構造と高次構造(生物活性)との相関関係が立証されている。すなわち、強制分解処理の後でも一次構造が保持されている分子は、同時に活性高次構造を保持しているということである。一次構造は保持されているが活性構造は保持されていないかもしれないという、タンパク質一般に懸念されていることはこれらのタンパク質にはない。これら完全な生物活性を有する intact なタンパク質は適切な理化学的試験法で分離定量可能なことも示されている^{6), 7)}。また、インスリンやヒト成長ホルモンの使用経験はすでに長期間に及んでおり、それ自体の安全性及び有効性に関する知見は公知のこととして膨大な蓄積がある。これらのことを考え合わせると、構造決定と理化学的解析法を用いてインスリンやヒト成長ホルモンであることを明確に同定し、また、これら目的物質由来物質に関する解析をきちんと実施しておけば、少なくとも、“目的物質に関連しての非臨床試験や臨床試験の省略”は可能であることを意味している。ただし、確認のために、バイオアッセイで生物活性が既存品と同等であることを証明しておくことは必要であろう。また、工程由来不純物等に関しては、適切な検討を行う必要がある。

一方、複合タンパク質性医薬品については、エリスロポエチンの場合のように適切な *in vivo* 生物活性と臨床効果とが密接に関係していれば、*in vivo* 生物活性試験の結果は目的物質の有効性面からみた特性に関する限り、薬力学や薬物動態の総和を反映したものであるともいえる。ただ、これは安全性の観点からみた場合の薬力学や薬物動態等を必ずしも体现している訳ではない。先発品に

比較して少なくとも糖鎖構造を含めた構造上の差異があることは明かで、その意味ではある種の新規製品である。コンパラビリティ試験を実施するよりも新規の製品それ自体を対象に通常用いられる安全性及び有効性評価のためのアプローチを念頭におきつつ、「適切な規模と種類」の非臨床及び臨床試験を実施し、懸念される安全性に関する検討・評価や临床上の有効性に関する確認をした方が合理的であると思われる。ここで述べた「適切な規模と種類」の試験とは、先発品において蓄積された公知の情報や後続バイオ製品の特性等をケース・バイ・ケースで勘案して必要と考えるべき試験の規模と種類を意味している。小規模で核心をついた試験の実施が望まれる。

なお、タンパク質製剤における抗原性については、きわめて重要な安全性評価上の指標であり、事前にこれを予測できることが望ましいが、それを可能にする非臨床安全性試験の実施は現在の科学技術ではなかなか困難である。また、例数及び投与期間の限られた臨床試験において、例えば数パーセント前後の発生率である場合にリスクと便益の関係で直ちにその是非を判断することや、先発品との相対的発生率比較に関する統計学的に有意なデータを得ることは困難な場合が多い。これについては製造販売後の慎重な観察と報告を義務付けて対応するのが現実的であると思われる。いづれにしても必要資料の取捨選択及び試験の規模、範囲やその種類、項目及び試験方法の選択に際しては、その合理的根拠について十分説明できる必要がある。非臨床安全性試験の実施要項に関してはICH S6ガイドラインが参考になる。

後続バイオ製品の同等性/同質性や同種・同効性の評価に寄与する非臨床試験、臨床試験の種類としては、状況に応じて各種非臨床安全性試験、薬物動態試験、薬力学試験、薬物動態・薬力学試験、臨床試験(ケースに応じて小規模の安全性及び有効性に関する確認的試験から比較臨床試験など)、医薬品安全性監視試験などがある。

(2) 後続バイオ製品に関する安全性監視

1) 「後続バイオ製品」は、免疫原性を含めた有害反応の種類、重篤度、頻度などに関して、それ固有の安全性プロフィールを有している可能性がある。

2) 承認前の非臨床試験や臨床試験はこれらの安全性プロフィールすべてを明らかにするには十分ではない可能性がある。

3) したがって、「後続バイオ製品」の臨床上の安全性については、承認後に引き続き監視を行う必要がある。安全性はリスクと便益を勘案して評価する。

4) その一環として、承認までに、免疫原性及びまれに起こる可能性のある有害事象などを念頭において医薬品安全性監視の計画を提出する必要がある。

5) 承認前の非臨床試験及び臨床試験で安全性上の問題となるような徴候が観察された場合や、同じ種類の他の製品で安全性上の問題の存在が知られている場合は、特別なリスク管理計画が必要である。

3.10 後続バイオ製品開発段階での製造工程変更

後続バイオ製品の開発途上での製造工程等の変更にあたってどのようなデータを具体的に提出すべきかについては、2.3(5)項で述べた先発メーカーが開発段階で製法を変更しようとして行うコンパラビリティ評価作業の場合と基本的に変わらない。しかし、場合によってはすでに先発品に関して公開された情報を適切に活用することも可能である。

3.11 結論的考察

1) 「後続バイオ製品」が「後続バイオ同等/同質製品」あるいは「後続バイオ同種・同効製品」として製造販売承認を得ることは原則として可能である。

2) 製品が何であれ、医薬品として本質に関し、最重要、不可欠なことは、品質、安全性及び有効性の確保である。

3) 製品が何であれ、各種工程管理を含めて厳密

に規定された製造工程を確立し、その一定性を保つことは、基準を充たす製品の恒常的製造のために必要不可欠な要素である。

参考文献

- 1) Kawasaki N., Ohta M., Hyuga S., Hyuga M. and Hayakawa T.: Application of liquid chromatography/mass spectrometry and liquid chromatography with tandem mass spectrometry to the analysis of the site-specific carbohydrate heterogeneity in erythropoietin. *Anal. Biochem.*, 285:82-91, 2000.
- 2) 太田美矢子, 川崎ナナ, 伊藤さつき, 早川堯夫: 糖鎖含有タンパク質製剤の評価試験法に関する研究(IV)—エリスロポエチン製剤 その4. *Bull. Natl. Inst. Health Sci. (in Japanese)*, 120:89-97, 2002.
- 3) Ohta M., Kawasaki N., Itoh S., Hyuga S., Hyuga M. and Hayakawa T.: Usefulness of Glycopeptide Mapping by Liquid Chromatography/Mass Spectrometry in Comparability Assessments Of Glycoprotein Products. *Biologicals.*, 30:235-244, 2002.
- 4) 早川堯夫: バイオテクノロジー医薬品成分のアイデンティティを定めるもの: 本質, 有効性, 安全性の観点からみた相互識別の必然性(その1). *医薬品研究*, 21:531-546, 1990.
- 5) Hayakawa T., Ohta M. and Kawasaki N.: Current Analytical Procedures for Glycosylated Proteins. *Pharmaceuticals, Special Issue (Biologicals beyond 2000: Challenge for Quality Standard in an Evolving Field)*: 87-102, 2000.
- 6) 早川堯夫, 森本和滋, 内田恵理子, 川崎ナナ, 徳永裕司, 山口照英, 新見伸吾, 押澤 正: タンパク性医薬品の品質評価法の新しい流れ: 遺伝子組換えヒト成長ホルモンの力価測定における *in vivo* bioassay から理化学試験方法への移行のためのバリデーション. *医薬品研究*, 25:339-347, 1994.
- 7) 森本和滋, 日高哲郎, 本広繁徳, 七里寛江, 奥田秀毅, 坂口慶貴, 高橋 尊, 江島伸一, 長南義勝, 早川堯夫: 遺伝子組換えヒトインスリン製剤の品質管理のための定量法としての逆相高速クロマトグラフ法. *医薬品研究*, 26:404-412, 1995.

(早川堯夫)

第1節 非臨床における安全性評価概論

1. はじめに¹⁾⁻⁶⁾

細胞由来タンパク質性医薬品の有効成分である目的タンパク質は、例えばタンパク質性ホルモンやサイトカインにみられるように、生体に対して様々な生物学的作用を微量で発現する。これがもともと体内に存在するタンパク質であれば、本来、生体内に必要な場所で必要なときに必要な濃度で存在し、他の生体内機能分子と協同しながら相互に調節制御を行うことによって、生体のホメオスタシスの維持に関与している。しかし、このような機能分子が医薬品として人為的に投与される場合、ときに生理的濃度を大きく超えたり本来存在しない組織にまで分布したりすることによって、生体のホメオスタシスを乱して生体に望ましくない目的外の作用を示す可能性が生じてくる。したがって、細胞由来タンパク質性医薬品の安全性を検討する際には、前章までに採り上げられている感染性物質や不純物に起因する安全性の問題以外にも、有効成分そのものに関連した安全性、すなわち目的外の作用について非臨床試験の段階で十分に理解し、検討しておく必要がある。また、この前提として、期待する薬理効果やその作用機序に関する知見を集積しておくことも重要である。

さらに、タンパク質性医薬品では抗原性が問題となりやすいので、特に注意が必要である。この抗原性が原因となって、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(目的タンパク質の活性部位に対する抗体で、生物活性を失わしめるもの)の産生など、臨床上重篤もしくは致命的な有効性・安全性上の問題が発生するケースもある。動物とヒトの間の種差の問題から、タンパク質性医薬品を含有する製品のヒトに対する抗原性は、ヒトを対象とした臨床試験(治験)でしか最終的には確実な評価ができないものの、抗原性に関しては、まず以下に示すような可能性に着目する必要があると考えられる。

- 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 精製工程で除去しきれなかった、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 製品中の夾雑タンパク質(目的タンパク質由来ではないもの)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(目的タンパク質・目的タンパク質由来不純物・夾雑タンパク質など)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。

その上で、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、精製スキームなど)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)

を車軸の両輪として実施した上で、

- ③ 適切な非臨床安全性評価・試験の実施，ならびにその中での抗原性に関する注意深い観察および得られた結果に対する十分な考察をあらかじめ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. タンパク質性医薬品の非臨床における安全性評価^{1), 3)-7)}

2.1 非臨床安全性試験の一般的目的と実施原則

動物などを用いて実施される非臨床安全性試験の主な目的としては，一般に以下のようなものが挙げられる。

- ① 当該医薬品をヒトに適用する際の用量および用法を設定するための安全性情報を可能なかぎり得ておくこと。
- ② 医薬品として期待される「目的の作用」以外の望ましくない作用(毒性)が発現するおそれのある臓器・組織を可能なかぎり特定し，かつその毒性の種類・程度・可逆性や発現機序を検討しておくこと。
- ③ 臨床試験を含めた臨床使用時にモニタリングすべき具体的な安全性評価項目を見いだしておくこと。
- ④ 承認・上市前にヒトでの知見を十分に得ることが事実上困難なケースが多い安全性(例えば，がん原性，生殖・発生毒性，遺伝毒性)に関する情報を得ておくこと。

したがって，新医薬品の研究開発の全段階を通じて，*in vitro* および *in vivo* での非臨床安全性試験の実施は，安全性薬理試験も含めて一般的に必要不可欠なものである。これはタンパク質性医薬

品においても例外ではなく，バイオ医薬品では一般的に種差が比較的大きいという理由のみで非臨床安全性試験や安全性薬理試験を実施しないという考え方は適切とはいえない(2.2(3)項参照)。

上記①～④いずれも，理想的にはヒトでの臨床試験の開始前に徹底的に調べられることが望ましいが，一方で，日米EU医薬品規制調和国際会議(ICH)M3「医薬品の臨床試験のための非臨床安全性試験の実施時期についてのガイドライン」⁸⁾にあるとおり，がん原性試験のように試験期間が長期に及ぶ試験については，一定の条件を満たせば当該非臨床安全性試験の完了前に臨床試験を開始してよいとされている場合もある。また，臨床試験開始後に新たに得られた知見から非臨床試験等を追加実施することが必要となる場合もあるし，第4章で詳細に述べられているとおり，開発途中や承認・上市後に製造方法を変更した際ならびに最終製品に重大な変更(例えば添加物に関する大きな変更)を加えた際にも，最終製品のコンパリティ(同等性/同質性)を確認する目的で非臨床安全性試験等を実施する必要が生じる場合がある。例外的に，すでに長期間にわたって臨床的に広く使用されている医薬品と構造的および薬理的に同等/同質であると判断されるバイオ医薬品では，非臨床安全性試験を一部簡略化してもよいケースもあり得る⁷⁾。

医薬品・医療機器の製造販売承認申請等の際，申請資料として添付することを求められている非臨床安全性試験に関する資料は，その信頼性を確保するため，「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準」(Good Laboratory Practice: GLP)または「医療機器の安全性に関する非臨床試験の実施の基準」(医療機器 GLP)に従って当該試験を計画・実施，試験成績を収集し，それに基づいて作成した資料でなければならないとされている(表1)^{9), 10)}。しかし，資料作成のために実施すべきGLP適合試験が申請時点における医学・薬学等の学問水準からみて技術的に実施不可

表1 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準(GLP)の概略⁹⁾

<第1章 総則>(第1条～第4条)

- 本基準で対象とする「医薬品の安全性に関する非臨床試験」とは、「急性毒性・亜急性毒性・慢性毒性・催奇形性その他の毒性」、すなわち「単回投与毒性・反復投与毒性・遺伝毒性がん原性・生殖発生毒性・局所刺激性・その他の毒性」^{11)①}に関する試験のうち、試験施設において試験系を用いて行われるものをいう。また、安全性薬理試験も原則として本基準に従う¹⁸⁾。
- 試験委託者は、委託する試験がこの基準に従って実施されなければならないことを受託者に事前に通知するとともに、当該試験がこの基準に従って実施されていることおよび実施されたことを確認しなければならない。また、これらの通知・確認については文書により記録し、これを保存しなければならない。

<第2章 職員及び組織>(第5条～第8条)

- 試験施設の運営管理者、試験責任者および試験従事者、ならびに信頼性保証部門および信頼性保証部門責任者の満たすべき要件、およびそれぞれの責務を定める。

<第3章 試験施設及び機器>(第9条・第10条)

- 試験施設の満たすべき要件を定める。試験施設は資料保存施設も有しなければならない。
- 試験成績の収集・測定または解析に使用される機器、施設的环境を保持するために使用される機器、その他試験を行うために必要な機器の満たすべき要件を定める。これら機器の保守点検および修理を行った場合には、その日付・内容および実施者を文書により記録し、これを保存しなければならない。

<第4章 試験施設内における操作>(第11条・第12条)

- 試験の適正な実施に必要な事項、信頼性保証部門の業務、試験従事者の健康管理等の実施方法および手順を記載した標準操作手順書を作成しなければならない。その他、標準操作手順書の変更の手順や標準操作手順書からの逸脱等に関する規定を定める。
- 動物の飼育管理に関して必要な規定を定める。

<第5章 被験物質等の取扱い>(第13条・第14条)

- 被験物質及び対照物質の取扱いに関して必要な規定を定める。

<第6章 試験計画書及び試験の実施>(第15条・第16条)

- 試験ごとに試験計画書を作成し、運営管理者(試験が委託された場合には、試験委託者および運営管理者)の承認を受けなければならない。試験計画書を変更する際には、その日付、変更箇所および理由を文書により記録し、これを保存しなければならない。
- 試験は試験計画書及び標準操作手順書に従って適切に実施されなければならない。また、すべての生データは、その記入者および日付とともに、適切に記録されなければならない。生データを訂正する場合には、理由・訂正者および日付を記載の上、適切に変更する。

<第7章 報告及び保存>(第17条・第18条)

- 試験ごとに最終報告書を作成しなければならない。最終報告書には、予見することができなかった試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態および試験計画書に従わなかった事項も明記する。最終報告書を訂正する場合には、その日付および理由その他必要な事項を文書により記録する。
- 試験関係資料は資料保存施設において適切に保存しなければならない。資料保存施設には、資料保存施設管理責任者が許可した者以外の者は立ち入ることができない。

能な場合、および製品の種類や用法等から科学的合理性からみて GLP 適合試験を実施する意味がないと考えられる場合には、当該資料を申請時の添付資料として提出する必要はない¹¹⁾。例えば、タンパク質性医薬品で必要とされることの多い特殊な試験系の中には、GLP に完全に従って実施することが困難なものがある。このような場合には、GLP に適合していない部分を明確にし、製品の安全性評価全体における当該試験の重要性や位置付けについて評価した上で、非 GLP で作成された非臨床安全性試験に関する資料として、添付資料ではなく参考資料の形で申請時に提出することとなる。

2.2 「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」に関するガイドライン

バイオテクノロジーを応用したタンパク質性医薬品の非臨床安全性試験や評価のあり方についてはバイオ医薬品開発に並行して議論されてきた。わが国においても 1986 年の国際毒科学シンポジウム(東京)を契機¹²⁾に本格的議論が始められ、1987 年早々には日米欧バイオ医薬品関連の産・官・学が参加したコールドスプリングハーバー国際シンポジウムにおいて、化学薬品等とは異なる視点で、かつ製品の特性等に適切に対応したケースバイケースの原則でフレキシブルに非臨床安全性試験が実施・評価されるべきとの見解が示され¹³⁾、国内行政的にも同様の趣旨が通知された¹⁴⁾。その後、厚生科学研究班等を通じて個々のケースや個々の試験のあり方についての詳細な論議が重ねられ⁵⁾、その成果は第 1 回 ICH で公表された¹⁵⁾。そこでは、少なくともバイオ医薬品開発先進国の日米欧は科学的一般原則や留意事項に関して共通の認識と基盤に立っていることが確認された¹⁶⁾。また、一律のガイドラインですべての個別ケースに適用することは合理的ではないことも確認され

た。そうした経緯の延長線上で ICH での本格的論議が S6 トピックとして 1995 年の第 3 回 ICH より開始された。その成果であるガイドラインは 1997 年に国際調和に達し、2000 年にわが国でも通知、施行されることとなった⁷⁾。

現在 ICH では、S6 をその後の当該分野での経験や知識の蓄積、学問・技術の進歩を踏まえて見直そうとする動きもあるが、具体的な検討スケジュールや内容については今後の検討を待つ必要がある。そこで本項では、現行の ICH S6 ガイドラインの内容を中心に紹介しながら、必要に応じ関連する事項について簡単に解説する。

(1) ICH S6 ガイドラインの目的および適用範囲

タンパク質性医薬品においては、目的タンパク質の構造の多様性や不均一性、作用発現の動物種特異性、抗原性・免疫原性、予期しない部位での作用発現の可能性などの物性面や作用面での特徴・特殊性から、従来の医薬品(特に化学合成医薬品)における非臨床安全性試験の種類・項目および試験方法をそのまま機械的に適用することは必ずしも妥当ではなく、従来とは異なる観点や方法で試験を実施するべき場合が多い。このため、細菌・酵母・昆虫・植物および哺乳動物細胞を含む種々の発現系を用い、特性解析がなされた細胞から製造される医薬品(細胞由来タンパク質性医薬品やトランスジェニック動植物由来医薬品も含む。ただし、体外診断用医薬品、遺伝子治療用医薬品および細胞・組織利用医薬品は除く)を直接の対象として、これらバイオテクノロジー応用医薬品において別途検討するべき非臨床安全性試験の内容や考え方を示した ICH S6 「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」ガイドラインが既述のように厚生労働省から 2000 年に公表されているが、その構成を表 2 に示した⁷⁾。この S6 ガイドラインは、化学合成医薬品を主な適用対象として従前から国内で適用されていた「医薬品毒性試験法ガイドライン」¹⁷⁾ およびその

表2 ICH S6「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」ガイドラインの構成^{7), 23)}

1	緒言 (Introduction)
1.1	背景 (Background)
1.2	目的 (Objectives)
1.3	適用範囲 (Scope)
2	被験物質の規格 (Specification of the Test Material)
3	非臨床安全性試験 (Preclinical Safety Testing)
3.1	一般原則 (General Principles)
3.2	生物学的活性/薬力学 (Biological Activity/Pharmacodynamics)
3.3	動物種/モデルの選択 (Animal Species/Model Selection)
3.4	動物数/性別 (Number/Gender of Animals)
3.5	用法/用量の設定 (Administration/Dose Selection)
3.6	免疫原性 (Immunogenicity)
4	個別留意事項 (Specific Considerations)
4.1	安全性薬理試験 (Safety Pharmacology)
4.2	曝露評価 (Exposure Assessment)
4.2.1	薬物動態・トキシコキネティクス (Pharmacokinetics and Toxicokinetics)
4.2.2	試験法 (Assays)
4.2.3	代謝 (Metabolism)
4.3	回投与毒性試験 (Single Dose Toxicity Studies)
4.4	反復投与毒性試験 (Repeated Dose Toxicity Studies)
4.5	免疫毒性試験 (Immunotoxicity Studies)
4.6	生殖・発生毒性試験 (Reproductive Performance and Developmental Toxicity Studies)
4.7	遺伝毒性試験 (Genotoxicity Studies)
4.8	がん原性試験 (Carcinogenicity Studies)
4.9	局所刺激性試験 (Local Tolerance Studies)
	注釈 (Notes)

後新たにまとめられた「安全性薬理試験ガイドライン」¹⁸⁾を含む他のICH非臨床安全性ガイドライン(表3)を補完する位置付けにある。

S6ガイドラインは、バイオテクノロジー応用医薬品の登場以来蓄積されてきた多くの経験を精査・評価した結果を踏まえて作成されたもので、科学的に妥当な非臨床安全性試験を計画・立案し、安全性評価を適切に行うための一般的な原則を示すことを目的としている。その基本的考え方によれば、バイオテクノロジー応用医薬品、すなわち

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全製品いずれにも画一的に適用可能な非臨床安全性試験のプロトコルなるものは存在せず、対象とする製品の特性や臨床上の適用法などを考慮しながら製品ごとにケースバイケースで合理的かつ柔軟に対応することが重要であるとされている。非臨床での安全性評価は当該製品の臨床における安全性や有効性の適正な評価に役立つ知見を得ることを最終的な目標としていることから、実施すべき試験の種類や項目について個々の製

表3 非臨床安全性に関するICHガイドライン(2007年2月現在)

○ S1	医薬品のがん原性試験に関するガイドライン (厚生省医薬安全局審査管理課長通知, 医薬審第1607号, 1999)
○ S1A	医薬品におけるがん原性試験の必要性に関するガイダンス (厚生省薬務局審査課長通知, 薬審第315号, 1997)
○ S1B	医薬品のがん原性を検出するための試験に関するガイダンス (厚生省医薬安全局審査管理課長通知, 医薬審第548号, 1998)
○ S1C	医薬品のがん原性試験のための用量選択のガイダンス (厚生省薬務局審査課長通知, 薬審第544号, 1996)
○ S1C(R1)	「医薬品のがん原性試験のための用量選択」補遺 (厚生省医薬安全局審査管理課長通知, 医薬審第551号, 1998)
○ S2	医薬品の遺伝毒性試験に関するガイドライン (厚生省医薬安全局審査管理課長通知, 医薬審第1604号, 1999)
○ S2A	医薬品のための遺伝毒性試験の特定項目に関するガイダンス (厚生省薬務局審査課長通知, 薬審第444号, 1996)
○ S2B	遺伝毒性試験: 医薬品の遺伝毒性試験の標準的組合せ (厚生省医薬安全局審査管理課長通知, 医薬審第554号, 1998)
○ S3A	トキシコキネティクス(毒性試験における全身的暴露の評価)に関するガイダンス (厚生省薬務局審査課長通知, 薬審第443号, 1996) ²⁴⁾
○ S3B	反復投与組織分布試験ガイダンス (厚生省薬務局審査課長通知, 薬審第442号, 1996) ²⁵⁾
○ S4	単回及び反復投与毒性試験ガイドライン (厚生省薬務局新医薬品課長審査課長通知, 薬新薬第88号, 1993) 反復投与毒性試験ガイドラインの一部改正 (厚生省医薬安全局審査管理課長通知, 医薬審第655号, 1999)
○ S5	医薬品の生殖毒性検索のための試験法ガイドライン (厚生省薬務局審査課長通知, 薬審第470号, 1994) [S5(R1)により廃止]
○ S5(R1)	医薬品の生殖発生毒性試験に係るガイドライン (厚生省薬務局審査課長通知, 薬審第316号, 1997)
○ S5(R2)	医薬品の生殖発生毒性試験についてのガイドラインの改正 (厚生省医薬安全局審査管理課長通知, 医薬審第1834号, 2000)
◎ S6	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 (厚生省医薬安全局審査管理課長通知, 医薬審第326号, 2000) ⁷⁾
○ S7A	安全性薬理試験ガイドライン (厚生労働省医薬局審査管理課長通知, 医薬審発第902号, 2001) ¹⁸⁾
S7B	心室再分極遅延(QT間隔延長)の潜在的可能性に関する非臨床的評価 (ICHにて日米EUがStep 4合意, 2005) [英文]
S8	医薬品の免疫毒性試験に関するガイドライン (厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知, 薬食審査発第0418001号, 2006)
○ M3	医薬品の臨床試験実施のための非臨床安全性試験の実施時期についてのガイドライン (厚生省医薬安全局審査管理課長通知, 医薬審第1019号, 1998) ⁸⁾
○ M3(R1)	医薬品の臨床試験実施のための非臨床安全性試験の実施時期についてのガイドラインの改正 (厚生省医薬安全局審査管理課長通知, 医薬審第1831号, 2000) ⁸⁾

表中の◎・○印は、細胞由来タンパク質性医薬品が適用対象に含まれているものを示す。
S7B 以外の上記ガイドラインは、独立行政法人 医薬品医療機器総合機構ホームページ内「ICH 情報」
http://www.pmda.go.jp/ich/ich_index.html から閲覧可能。

品ごとに最新の科学的知見に基づきながら合理的な選択をまず行い、非臨床安全性試験を新たに実施する必要があると判断された場合には、その時点で科学的に最も適切と考えられる試験方法を採用して実施する必要がある。逆に実施しなかった試験については、実施しなくてよいとする判断の正当性を十分説明できるだけの科学的・合理的な根拠が必要であろう。

バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床安全性評価にあたってS6ガイドラインで推奨されているこの基本的考え方は、S6ガイドラインの直接の適用対象である細胞由来タンパク質性医薬品を含めたバイオテクノロジー応用医薬品にとどまらず、ヒトや動物の組織から抽出したタンパク質を含有する医薬品や血漿分画製剤、ならびに化学合成されたペプチドやオリゴヌクレオチドを含有する製剤にも適用され得る。一方、体外診断用医薬品・抗生物質・アレルゲンエキス・ヘパリン・ビタミン・輸血用血液製剤(全血製剤・赤血球製剤・血漿製剤・血小板製剤)、さらに従来の細菌/ウイルスワクチン、DNAワクチン、遺伝子治療用医薬品および細胞・組織利用医薬品はS6ガイドラインの適用対象外とされている。しかし、S6ガイドラインで示されているケースバイケースという基本的考え方自体は、本来、化学合成医薬品も含めて医薬品全体に共通する基本原則であることを忘れてはならない。そもそもガイドラインや指針等は、医薬品の研究開発を効率化することによって有効で安全な新医薬品を患者のもとに一刻でも早く届ける目的で作成されている。にもかかわらず、個々の製品の特性・対象疾患・臨床上の適用法など製品ごとに異なる重要な要素を一切考慮することなく、製造販売業者と規制当局との間で十分なコミュニケーションもないまま、業者がガイドラインにある一般論をただ機械的に適用しながら研究開発を進めれば、開発段階で実施した試験が審査段階では結局不必要になったり、逆に本来実施すべき試験の追加を規制当局から

求められたりするという状況に陥りやすい。また、規制当局が申請者に対して意義に乏しい試験を求めるようなことを避けるためには、ガイドラインの趣旨・内容を十分踏まえた上で審査を行う必要がある。ガイドラインの解釈・適用/運用を企業側・当局側の双方が適切に行わないかぎり、医薬品研究開発の成果を社会に速やかに還元するというガイドラインのそもそもの存在意義^{21), 3), 19)-21)}が失われ、「ガイドラインは医薬品の開発を妨げるもの」という誤った主張・認識が社会に蔓延する事態につながるものが懸念される。S6ガイドラインについても、個々の事例をみると、承認申請に必要な非臨床安全性試験項目や試験成績の解釈に関して、いまなお製造販売業者と規制当局の間で乖離がみられるケースも少なくないようであり、個別例に応じた関係者間の緊密な対話と相互理解による問題解決が望まれる²¹⁾。一方、S6ガイドライン解説が本節も含めて多数発表されているが^{1), 22)}、これらは国際的なICH等での公的な議論や確認の手順を経ているものではない。また中には、誤訳と思われるものや、ICHでの議論の成果であるS6ガイドライン²³⁾に記載されていない事項を、根拠となる参考文献を当該箇所でも引用することもなく、ガイドラインの内容と誤読される文脈内で独自に追記しているもの、科学的にみてある事例には適用できるが必ずしも一般化できない記述、あるいはガイドラインの内容からみて厳密性・一般性を欠いた記述などが散見される「解説」も存在する。「解説」を参照する際には、あくまでそうした限界や問題点があるという前提でみる必要があると思われる。また、併せて必ずS6ガイドラインの英語原文²³⁾にあたることを強く推奨する。

(2) 製品の品質特性と安全性

本書の他章でも折に触れ述べられているように、品質と安全性はきわめて密接な関係がある。安全性評価の対象として考慮すべき製品の構成要素と

しては、有効成分(目的物質および目的物質関連物質)、目的物質由来不純物(分解物・変化物、添加剤との付加体など)、製法由来不純物(宿主細胞由来の核酸・タンパク質・多糖体、細胞培養工程での発現誘導剤や培地成分、精製・加工工程での試薬や抗体カラム漏出成分など)、感染性物質(ウイルス、マイコプラズマなど)やエンドトキシンなどの有害汚染物質などがある。このうち、不純物類、感染性物質、有害汚染物質については、非臨床安全性試験で評価するというアプローチではなく、可能なかぎり原材料の吟味、精製工程での除去・不活化などで最終製品で安全性上の問題が生じないようにしておく方が望ましい。また、ウイルスなどの感染性物質の安全性については、第2章で詳述したようなしかるべき評価試験を実施することになる。ただし、ウイルス安全性対策はヒトや動物細胞、昆虫、トランスジェニック動物や植物などのバイオ医薬品製造基材の種類に応じて考慮する必要がある。さらにエンドトキシンなどのように製品の品質試験で許容量を規定して安全性を保證することが合理的なものもある。

ある製品について適切な非臨床試験(薬理試験や毒性試験)計画を立案し、合理的な試験を実施、評価するためには、当該製品の品質特性があらかじめ十分解析されている必要があることはいうまでもない。ICH Q5E「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)の製造工程の変更にもなる同等性/同質性評価」ガイドライン(厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知、薬食審査発第0426001号、2005)によれば、バイオ製品の品質特性とは、「製品の品質を現すのに相応しいものとして選択された分子特性又は製品特性であり、当該製品の同一性、純度、力価、安定性及び外来性感染性物質の安全性などを併せて規定されるものである。規格及び試験方法で評価されるのは、品質特性から部分的に選択された一連の項目である」と定義されている。品質特性がより明らかにされていればいるほど、非臨床試験

はより合理的、効果的に実施できる。

臨床試験開始の根拠や承認申請時の評価データとするような非臨床試験に使用される検体の品質特性は、臨床試験に供せられた製品と同等/同質である必要がある。非臨床試験に使用した製品の製造方法(製造工程や製剤処方)を変更して、新たな製造方法による製品でさらに必要な非臨床試験や臨床試験を実施して開発を継続し、承認申請しようとする場合には、少なくとも旧製品と新製品の品質特性におけるコンパラビリティ(同等性/同質性)が立証される必要がある。開発段階で臨床試験のフェーズを上げていく途上での製法変更や承認/市販後に製法変更する場合にも、当然、コンパラビリティ評価試験が必要である。なお、新旧製品の品質特性の比較試験のみでコンパラビリティ(同等性/同質性)が立証されない場合には、適切な非臨床試験の追加実施が必要となる。

(3) 非臨床安全性試験の実施にあたって考慮すべき主な事項

化学合成医薬品と同様、バイオ医薬品(ここでは、直接的にはS6ガイドラインの適用範囲とされているものを指す。2.2(1)項参照)の非臨床安全性試験においても、①適切な動物種を選択、②用いる動物の例数・性別および週齢、③用いる動物の生理的状態、④投与量・投与経路・投与方法など動物への投与計画、⑤試験使用条件下での試料の安定性、などについて、試験実施前に十分考慮しなければならない。

1) 生物学的活性/薬理作用およびその作用機序

非臨床安全性試験を実施する前に、当該医薬品の品質特性はもとより、生物学的活性/薬理作用およびその作用機序についても可能なかぎり知見を得ておくことはきわめて重要である。また、生物活性のうち、どの活性が臨床効果と関連しているかを知っておくことも重要である。*In vitro* 試験を活用することによって、当該製品で目的とす

る作用に関する生物学的活性の評価や作用機序の基礎的な検討を行うことができる場合も少なくない。この際、ヒトを含めた哺乳動物の培養細胞系または初代培養細胞を用いれば、細胞の表現型や増殖に及ぼす直接的な効果に関する情報を得る上で有用であろう。また、当該バイオ医薬品がヒトや各種動物において示す *in vivo* 生物学的作用の特徴を予測したり、各動物種の当該バイオ医薬品に対する相対的な感受性の違いを定量的に評価できる可能性がある。さらに、試験を計画する際に、例えば、当該医薬品の受容体占有率や受容体との親和性、あるいはまた薬理作用などに関する知見が得られるようにしたり、その後に実施する *in vivo* での薬理試験および毒性試験で用いるべき動物種の選択に役立つようにすることも考えられる。これらの *in vitro* 試験と *in vivo* 試験の成績を総合すれば、ヒトで起こり得る事象にあてはめ、予測する上で有用な情報の1つとなるであろう。その作用機序を含めて、薬理作用を明らかにするための *in vivo* 試験の成果が、臨床試験における製品の適用法の妥当性を裏付ける根拠となることも多い。

モノクローナル抗体医薬品に関しては、その抗原特異性および補体結合性について評価するとともに、標的組織以外の組織への反応性や細胞毒性などを含めて、その抗体の免疫学的特性全般にわたって詳細に検討するべきである。このような組織交差反応性試験は、ヒトの一連の組織を用いた適切な免疫組織化学的方法によって実施する必要がある(第3章参照)。

2) 適切な動物種および動物モデルの選択

バイオ医薬品の多くには動物種や組織特異性があるため、非臨床安全性試験において適切な動物種を選択することが特に重要である。安全性評価試験計画の策定にあたり、種あるいは組織特異性を十分考慮することなく、化学合成医薬品での標準的な非臨床安全性試験で汎用される動物種(例えばラット・イヌ)を採用しても安全性試験とし

てあまり意味をなさないケースが多い。ここでいう「適切な動物種」とは、標的組織に当該医薬品の受容体が存在し、目的とする薬理学的活性を示す動物種のことである。なお、モノクローナル抗体医薬品の場合における「適切な動物種」とは、標的組織に目的のエピトープ(抗原決定基)を発現し、かつヒトと類似した組織交差反応性を示すような動物種に相当する。このような動物種を用いることで、標的組織におけるエピトープへの結合や予期しない組織交差反応性によって引き起こされる毒性の評価を効果的に行うことができる。また、目的のエピトープを発現していないが、組織交差反応性がヒトとほぼ同等である動物種を毒性評価に用いるということにはそれなりの理もある。しかし、そこから何らかの有用な情報が得られる可能性はあるものの、その結果の解釈には注意を要する。

「適切な動物種」は、前述のように *in vitro* 試験で得られた知見や免疫化学的試験、各種機能試験などの結果から決めることが可能である。受容体あるいはエピトープの分布を知ることができれば、*in vivo* で発現する可能性がある毒性についての有力な手がかりとなる。適切な動物種が存在するにもかかわらず、それ以外の動物種を用いて非臨床安全性試験を実施することは、誤った結論が導かれる可能性が高いため、何か特別な合理的理由がないかぎり推奨できない。

安全性評価にあたっては通常2種類の適切な動物種を使用した試験を計画、実施する必要がある。しかし、例えば適切な動物種が1種類しか確認されていない場合や当該医薬品の生物学的特性が十分に解明されている例などで、その妥当性が十分に説明できれば、1種類の適切な動物種を用いた試験のみでもよしとされることもある。また、短期間の非臨床安全性試験は2種類の動物種で実施する必要があった場合でも、例えば、当該試験で2種類の動物種が同様の毒性プロファイルを示した場合などのように、その妥当性を明らかにでき

れば、その後に行われる長期間の非臨床安全性試験を1種類の動物種のみで実施することができる場合もある。

適切でない動物種を用いた毒性試験については、誤った結論に導かれる可能性があるため勧められない。

適切な動物種があいにく1種類も存在しない場合、ヒト型受容体を発現させたトランスジェニック動物を用いたり、相同タンパク質(実験動物種でのヒト型タンパク質に相応するタンパク質)等を試料にして試験を実施するという方策も考えられる。しかし、仮に動物においてヒト型受容体を発現させ、当該医薬品で目的の生理学的反応を引き起こすことに成功した場合であっても、例えば、① 当該医薬品とヒト型受容体の分子レベルでの相互作用から始まり薬理作用発現に至るまでの情報伝達経路/作用機序は依然としてその動物種に特有であり、ヒトとは異なるケースが多いこと、② 遺伝子改変による影響は挿入遺伝子の発現のみにとどまらず、さらに生体系に様々な変化をもたらしている可能性があるが、これらについて解析することは容易ではないため、遺伝子改変を行っていない当該動物種(宿主)で蓄積された背景データも安易に参考にできないこと、③ そのため、その動物種本来のホメオスタシスが生体内で保たれていない可能性があること等を踏まえると、トランスジェニック動物を用いた非臨床試験の結果の解釈やヒトへの外挿はきわめて慎重に行う必要があると思われる。言い換えれば、ヒト型受容体を発現したトランスジェニック動物から得られる情報は、リガンドである医薬品との受容体相互作用以降の生体内反応がヒトのそれと類似しているという背景データが存在している場合に有効に活用できるということである。一方、ヒト型の試料に相応する動物種型相同タンパク質を用いるケースにおいては、それによって有益な情報が得られる場合もなくはないが、相同タンパク質と臨床で用いられる予定のヒト型製品の間では、製造

方法はもとより、不純物・混入物質の種類や程度、薬物動態および厳密な意味での薬理作用機序等が異なっている可能性が高い。そのため、試料の調製については製造工程の段階から十分に検討・確認を行う必要がある上に、試験結果の解釈やヒトへの外挿に際しても注意が必要である。このような非臨床安全性試験を計画する際には、製品の安全性評価全体における当該試験の重要性、試験を実施するまでに必要となるであろう労力や費用、得られる結果の有用性などをまず総合的に評価し、当該試験を実施する必要性や意義について科学的・合理的な判断を行うべきである。適切な動物種が存在せず、トランスジェニック動物や相同タンパク質の使用ができない場合でも、少なくとも動物1種類を用いて毒性試験(例えば14日間以内の反復投与毒性試験)を実施し、生命維持を司る重要な器官系(例えば心血管系・呼吸器系など)の機能¹⁸⁾への作用を含めた評価を行うことは、そこから得られる情報が限定的でありその解釈も慎重に行うべきではあるものの、ヒトで発現する可能性のある安全性問題に関する知見をもたらすことも否定できないため、とるべき方策の1つである。

ヒト疾患と類似していると考えられる病態動物モデル、例えば誘発性または自然発症性病態モデル動物、遺伝子ノックアウトモデル動物、トランスジェニック動物などの開発が進んでいる。病態動物モデルを用いた効力を裏付ける薬理試験や薬物動態試験によって、臨床試験実施前における臨床適応の絞り込みやヒトでの用法・用量の設定、適切な製剤処方・剤型の選択などに関して、通常の実験動物で得られる知見に加え、さらに有用な知見がもたらされる場合がある。加えて、安全性上の問題、例えば病態の進行に当該医薬品が悪影響を及ぼす可能性について、動物レベルでの評価ができる場合もあるし、非臨床安全性試験や臨床試験においてモニタリングすべき安全性検査項目を見いだせる場合もある。場合によっては、病

態モデル動物を用いた試験が、通常の実験動物による試験に代わるものとして採用されることもある。ただし、病態動物モデルを用いて非臨床安全性試験を実施する際には、これらの病態動物モデルでは試験結果を評価する際の参考として利用できる背景データが現時点では不足していることが多いことに留意する必要がある。病態動物モデルの試験を有効に活用し、意味あるものにするには、対照群や背景データが整備されていることがきわめて重要である。安全性を示すためにこのような病態動物モデルを用いる場合には、その科学的妥当性を明確にする必要がある。

3) 用いる動物の例数および性別

それぞれの投与量群で使用する動物数によって、毒性の検出能力は直接的に左右される。用いる動物の例数が少ない場合には、毒性の重軽症度とは無関係に発現頻度のみを観察することになり、毒性事象を的確に観察できない可能性につながる。ヒト以外の霊長類を用いた試験においては例数が少ないことを余儀なくされる場合も多いが、そのことによる毒性試験としての限界は、観察の頻度を増やしたり、観察期間を延長することにより、ある程度補うことが可能であるかもしれない。

用いる動物の性別に関して、一般的には雌雄両方を用いるべきであるが、一方を省略する場合には、その科学的・合理的な妥当性を示さなければならない。

4) 投与量・投与経路・投与方法など動物への投与計画

動物への投与経路および投与回数は、臨床適用で予定される投与方法に可能なかぎり近いものとするべきことが原則である。しかし、当該医薬品の実験動物種での薬物動態および生物学的利用率、さらには実験動物の福祉や安全面から投与し得る投与量なども考え併せる必要がある。例えば有効成分が動物体内から速やかに消失したり、あるいは

溶解性が低いような場合、これを補完するために、非臨床安全性試験における投与回数を臨床試験で予定される投与回数に比べて増やすこともあり得る。そうした場合には、臨床投与量と比較して実験動物に対する投与量がどの程度であるかを明らかにしておく必要がある。また、投与量・濃度・製剤処方・剤型および投与部位による影響も考慮する必要がある。臨床で予定されている投与経路以外の投与経路に変更して非臨床安全性試験を実施することが妥当であると判断されるケースもある。例えば、生物学的利用率が不十分であったり、投与経路の面、あるいは動物種のサイズや生理学的な面などで問題があり、臨床で予定されている投与経路を変更せざるを得ないケースがそれにあたる。

非臨床安全性試験における投与量は、実験動物の福祉や安全面に配慮しつつ、毒性用量および無毒性用量 (No Observed Adverse Effect Level ; NOAEL) を含み、用量-反応関係に関する情報が得られるように設定する必要がある。非臨床安全性試験で検討を行う最高投与量を設定する際には、予想される薬理/生理作用、試験に適した試料の調製可能性、および臨床で予定している適応を考慮しなければならない。さらに、細胞に対する当該医薬品の親和性や力価がヒト細胞に比べて非臨床安全性試験に用いる動物種の細胞で低い場合には、さらに高い投与量での試験の実施が必要となることもある。一方、毒性がほとんどないか全くないような医薬品では、明確な NOAEL を具体的に求めることができないことがある。このような場合には、臨床適用で予定されている投与量・投与回数を踏まえて、当該非臨床安全性試験での投与量設定の妥当性について科学的・合理的に説明する必要がある。高用量の設定を妥当なものとするためには、予想される薬理作用・生理作用、適切な検体の入手可能性、臨床上で予定している使用目的・使用方法なども勘案する必要がある。実験に用いた動物種の細胞の当該医薬品に対する親