

off-target 発現を抑制するために用いられた。これは抗原提示細胞における hFIX の発現を阻止し、通常マウスにおいて長期間の hFIX の導入を障害する抗 hFIX 特異的適応免疫反応の誘導を抑制する。実際、hFIX-mir-142-3p 融合ベクターで処理した免疫応答性血友病 B マウスは治療効果を有する hFIX 活性が9ヶ月持続した。過去における導入遺伝子の組織選択的な発現は例えば肝臓特異的なプロモーターのように転写のコントロールを介して主に行われた。従って、新規の RNAi を介した転写後の調節が加わればベクターを介した組織特異的な遺伝子発現戦略の見通しが明るくなる。

これらの研究では異なる種の間で導入遺伝子が用いられたので、ヒトには同様に当てはまらないように思われる。従って、shRNA 発現カセットを含む他の導入遺伝子とベクターの組み合わせでこのアプローチの可能性を確認する必要がある。実際、shRNA 配列と miRNA 結合部位を融合させることにより、理想的には全身的な RNAi ベクターの投与からでも望ましい標的細胞にのみ RNAi トリガーの選択的および特異的に発現を起こすことが理論上は可能である。このアプローチにより有効性と選択性を最大限に得るために、例えば細胞あるいは組織特異的なベクター及びプロモーターを用いて翻訳及び転写ターゲティング戦略を組み合わせることが可能である。他方、組織選択的な発現の方法論には例えば miRNA の結合部位の理想的な数及び位置の同定など miRNA スポンジとしての同様な最適化がさらに必要である。

RNAi をベースにした発現系の中で注目すべき点は調節領域の遺伝子配列に対する小さな dsRNA が転写レベルでその発現を停止させるという報告である。そのようなプロセスが哺乳細胞で実際に起こるなら、核においてこのような dsRNA を短時間で一過性に発現させることにより遺伝子発現を止めることができるか

もしれない。これを上記の miRNA を基にした系だけでなく通常の RNAi 戦略と組み合わせることにより、疾患に関連した遺伝子の発現を調節する新規の治療アプローチを提供できる可能性がある。この戦略については現在 siRNA を核に効率よくデリバリーする技術はないのでウイルスベクターを用いることにより可能になるかもしれない。

D. 結論

1 抗血管新生治療法の現状と展望

腫瘍の成長と進行において血管新生が重要な役割を果たしていることはよく知られている。それに基づいて抗血管新生治療に関する多くの非臨床および臨床研究が行われてきた。その一つの戦略は腫瘍血管の機能を改善し、酸素および薬の腫瘍細胞に対するデリバリーを改善するというものである。ペバシズマブと化学療法との組み合わせによる結腸直腸癌患者の生存の延長はその戦略を用いた治療における典型的な成功例である。また、その他の血管新生阻害剤についても一部は臨床上の有効性が認められており、非臨床研究から多くの血管新生阻害剤が見つかっている。これら血管新生阻害剤は薬剤抵抗性をほとんど誘導しないで一般的に低毒性であることから、抗血管新生治療は長期にわたる治療法として理想的な候補であると考えられる。一方、血管新生に関与する分子特に VEGFR および EGFR を標的とした低分子化合物の治療薬の開発も進んでいる。一部の薬剤については既に承認されており、さらに単剤あるいは化学療法等との組み合わせで他の疾患に対する臨床試験が行われている。また、承認には至っていないが臨床試験において良好な結果が得られている分子標的薬剤もある。一方、非臨床試験においては有効性を示すことができたが、臨床試験においては重篤な有害事象の発現と有効性を示すことができなかったため開発が中止されたものも多い。今後の課題と

しては、異なった血管新生の阻害剤およびアプローチを組み合わせた治療法の確立、有効性が示される可能性の高い患者の選択、適切な投与量および投与スケジュールの設定、適切なエンドポイントの設定などがあげられる。これらの点が解決されれば、癌を末期の病期というよりは慢性の病気と考えることも可能になると思われる。今後の抗血管新生治療のさらなる発展に期待したい。

2 RNAi を用いた医薬品開発の現状と展望

siRNA のデリバリーにおいては様々な方法が考案され有効性が示されている。さらに、これらの方法を用いた臨床試験でも一定の成果が得られている。また、ウイルスベクターを用いた shRNA などのデリバリーについても様々な技術が開発されており期待できる。今後このような RNAi 技術は進歩をとげることが予想されるが、そのポイントになるものは臨床適応症、用いる投与ルート、標的とする細胞に着目したデリバリーのアプローチと考えられる。一方、RNAi に関連した飽和、競合、免疫反応の惹起を含めた毒性については不明の点が多く、今後も地道な基礎研究が必要と思われる。これら有効性および安全性に関する課題を克服し RNAi を用いた治療法がさらに発展して革新的な治療法となることを期待したい。

E. 健康危機情報

なし

F. 参考文献

[1] M. Benouchan, B.M. Colombo, Anti-angiogenic strategies for cancer therapy (Review), *Int J Oncol* 27 (2005) 563-571.
[2] J. Fayette, J.C. Soria, J.P. Armand, Use of angiogenesis inhibitors in tumour treatment, *Eur J Cancer* 41 (2005)

1109-1116.

[3] J. Harper, M.A. Moses, Molecular regulation of tumor angiogenesis: mechanisms and therapeutic implications, *Exs* (2006) 223-268.
[4] C.A. Hudis, Clinical implications of antiangiogenic therapies, *Oncology (Williston Park)* 19 (2005) 26-31.
[5] R.K. Jain, Antiangiogenic therapy for cancer: current and emerging concepts, *Oncology (Williston Park)* 19 (2005) 7-16.
[6] H.J. Lenz, Antiangiogenic agents in cancer therapy, *Oncology (Williston Park)* 19 (2005) 17-25.
[7] M. Milkiewicz, E. Ispanovic, J.L. Doyle, T.L. Haas, Regulators of angiogenesis and strategies for their therapeutic manipulation, *Int J Biochem Cell Biol* 38 (2006) 333-357.
[8] C.P. Neal, D.P. Berry, H. Doucas, M.M. Manson, W. Steward, G. Garcea, Clinical aspects of natural anti-angiogenic drugs, *Curr Drug Targets* 7 (2006) 371-383.
[9] A.R. Quesada, R. Munoz-Chapuli, M.A. Medina, Anti-angiogenic drugs: from bench to clinical trials, *Med Res Rev* 26 (2006) 483-530.
[10] J. Rhee, P.M. Hoff, Angiogenesis inhibitors in the treatment of cancer, *Expert Opin Pharmacother* 6 (2005) 1701-1711.
[11] A. Zakarija, G. Soff, Update on angiogenesis inhibitors, *Curr Opin Oncol* 17 (2005) 578-583.
[12] R.C. Kane, A.T. Farrell, H. Saber, S. Tang, G. Williams, J.M. Jee, C. Liang, B. Booth, N. Chidambaram, D. Morse, R. Sridhara, P. Garvey, R. Justice, R. Pazdur, Sorafenib for the treatment of advanced renal cell carcinoma, *Clin Cancer Res* 12

(2006) 7271-7278.

[13] K.T. Flaherty, Sorafenib in renal cell carcinoma, *Clin Cancer Res* 13 (2007) 747s-752s.

[14] D.J. George, Phase 2 studies of sunitinib and AG013736 in patients with cytokine-refractory renal cell carcinoma, *Clin Cancer Res* 13 (2007) 753s-757s.

[15] A. Sandler, R. Herbst, Combining targeted agents: blocking the epidermal growth factor and vascular endothelial growth factor pathways, *Clin Cancer Res* 12 (2006) 4421s-4425s.

[16] J.V. Heymach, M. Nilsson, G. Blumenschein, V. Papadimitrakopoulou, R. Herbst, Epidermal growth factor receptor inhibitors in development for the treatment of non-small cell lung cancer, *Clin Cancer Res* 12 (2006) 4441s-4445s.

[17] A.A. Adjei, Novel combinations based on epidermal growth factor receptor inhibition, *Clin Cancer Res* 12 (2006) 4446s-4450s.

[18] S.R. Shah, T.M. Tran, Lenalidomide in myelodysplastic syndrome and multiple myeloma, *Drugs* 67 (2007) 1869-1881.

[19] G.A. Silvestri, M.P. Rivera, Targeted therapy for the treatment of advanced non-small cell lung cancer: a review of the epidermal growth factor receptor antagonists, *Chest* 128 (2005) 3975-3984.

[20] M.H. Cohen, G.A. Williams, R. Sridhara, G. Chen, R. Pazdur, FDA drug approval summary: gefitinib (ZD1839) (Iressa) tablets, *Oncologist* 8 (2003) 303-306.

[21] E.P. Rock, V. Goodman, J.X. Jiang, K. Mahjoob, S.L. Verbois, D. Morse, R. Dagher, R. Justice, R. Pazdur, Food and Drug Administration drug approval summary: Sunitinib malate for the treatment of

gastrointestinal stromal tumor and advanced renal cell carcinoma, *Oncologist* 12 (2007) 107-113.

[22] D. Strumberg, J.W. Clark, A. Awada, M.J. Moore, H. Richly, A. Hendlisch, H.W. Hirte, J.P. Eder, H.J. Lenz, B. Schwartz, Safety, pharmacokinetics, and preliminary antitumor activity of sorafenib: a review of four phase I trials in patients with advanced refractory solid tumors, *Oncologist* 12 (2007) 426-437.

[23] M.H. Cohen, G.A. Williams, R. Sridhara, G. Chen, W.D. McGuinn, Jr., D. Morse, S. Abraham, A. Rahman, C. Liang, R. Lostritto, A. Baird, R. Pazdur, United States Food and Drug Administration Drug Approval summary: Gefitinib (ZD1839; Iressa) tablets, *Clin Cancer Res* 10 (2004) 1212-1218.

[24] P. Maione, C. Gridelli, T. Troiani, F. Ciardiello, Combining targeted therapies and drugs with multiple targets in the treatment of NSCLC, *Oncologist* 11 (2006) 274-284.

[25] P.G. Richardson, C. Mitsiades, T. Hideshima, K.C. Anderson, Lenalidomide in multiple myeloma, *Expert Rev Anticancer Ther* 6 (2006) 1165-1173.

[26] M.H. Cohen, J.R. Johnson, Y.F. Chen, R. Sridhara, R. Pazdur, FDA drug approval summary: erlotinib (Tarceva) tablets, *Oncologist* 10 (2005) 461-466.

[27] M. Ponz-Sarvisé, J. Rodríguez, A. Viudez, A. Chopitea, A. Calvo, J. García-Foncillas, I. Gil-Bazo, Epidermal growth factor receptor inhibitors in colorectal cancer treatment: what's new?, *World J Gastroenterol* 13 (2007) 5877-5887.

[28] K.V. Rao, Lenalidomide in the treatment of multiple myeloma, *Am J*

Health Syst Pharm 64 (2007) 1799-1807.

[29] A. Morabito, E. De Maio, M. Di Maio, N. Normanno, F. Perrone, Tyrosine kinase inhibitors of vascular endothelial growth factor receptors in clinical trials: current status and future directions, *Oncologist* 11 (2006) 753-764.

[30] P. Martin, C.M. Kelly, D. Carney, Epidermal growth factor receptor-targeted agents for lung cancer, *Cancer Control* 13 (2006) 129-140.

[31] W.S. Siegel-Lakhai, J.H. Beijnen, J.H. Schellens, Current knowledge and future directions of the selective epidermal growth factor receptor inhibitors erlotinib (Tarceva) and gefitinib (Iressa), *Oncologist* 10 (2005) 579-589.

[32] C. Gridelli, P. Maione, F. Del Gaizo, G. Colantuoni, C. Guerriero, C. Ferrara, D. Nicoletta, D. Comunale, A. De Vita, A. Rossi, Sorafenib and sunitinib in the treatment of advanced non-small cell lung cancer, *Oncologist* 12 (2007) 191-200.

[33] A.R. de Fougères, Delivery vehicles for small interfering RNA in vivo, *Hum Gene Ther* 19 (2008) 125-132.

[34] C. Huang, M. Li, C. Chen, Q. Yao, Small interfering RNA therapy in cancer: mechanism, potential targets, and clinical applications, *Expert Opin Ther Targets* 12 (2008) 637-645.

[35] G. Liu, F. Wong-Staal, Q.X. Li, Development of new RNAi therapeutics, *Histol Histopathol* 22 (2007) 211-217.

[36] S. Akhtar, I.F. Benter, Nonviral delivery of synthetic siRNAs in vivo, *J Clin Invest* 117 (2007) 3623-3632.

[37] A. de Fougères, H.P. Vornlocher, J. Maraganore, J. Lieberman, Interfering with

disease: a progress report on siRNA-based therapeutics, *Nat Rev Drug Discov* 6 (2007) 443-453.

[38] T. Nguyen, E.M. Menocal, J. Harborth, J.H. Fruehauf, RNAi therapeutics: an update on delivery, *Curr Opin Mol Ther* 10 (2008) 158-167.

[39] P.Y. Lu, M.C. Woodle, Delivering small interfering RNA for novel therapeutics, *Methods Mol Biol* 437 (2008) 93-107.

[40] M. Ebbesen, T.G. Jensen, S. Andersen, F.S. Pedersen, Ethical perspectives on RNA interference therapeutics, *Int J Med Sci* 5 (2008) 159-168.

[41] A. Aigner, Applications of RNA interference: current state and prospects for siRNA-based strategies in vivo, *Appl Microbiol Biotechnol* 76 (2007) 9-21.

[42] T.I. Novobrantseva, A. Akinc, A. Borodovsky, A. de Fougères, Delivering silence: advancements in developing siRNA therapeutics, *Curr Opin Drug Discov Devel* 11 (2008) 217-224.

[43] D.R. Corey, Chemical modification: the key to clinical application of RNA interference?, *J Clin Invest* 117 (2007) 3615-3622.

[44] N. Hokaiwado, F. Takeshita, A. Banas, T. Ochiya, RNAi-based drug discovery and its application to therapeutics, *IDrugs* 11 (2008) 274-278.

[45] D. Grimm, M.A. Kay, Therapeutic application of RNAi: is mRNA targeting finally ready for prime time?, *J Clin Invest* 117 (2007) 3633-3641.

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Mizuho Harashima, Shingo Niimi,

- Hitomi Koyanagi, Masashi Hyuga, Seiji Noma, Taiichiro Sekai, Toyohiko Ariga, Toru Kawanishi, Takao Hayakawa: Change in Annexin A3 by regulatory factors of hepatocyte growth in primary cultured rat hepatocytes, *Biol. Pharm. Bull.* 29, 1399-1343 (2006)
- 2) Satsuki Itoh, Nana Kawasaki, Noritaka Hashii, Akira Harazono, Yukari Matsuishi, Takao Hayakawa and Toru Kawanishi: N-linked oligosaccharide analysis of rat brain Thy-1 by liquid chromatography with graphitized carbon column/ion trap-Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry in positive and negative ion modes. *J. Chromatogr. A*, 1103, 296-306, (2006)
- 3) Akira Harazono, Nana Kawasaki, Satsuki Itoh, Noritaka Hashii, Akiko Ishii-Watabe, Toru Kawanishi, and Takao Hayakawa: Site-specific N-glycosylation analysis of human plasma ceruloplasmin using liquid chromatography with electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Anal. Biochem.* 348, 259-68 (2006)
- 4) Hama S., Akita H., Ito R., Mizuguchi H., Hayakawa T., Harashima H.: Quantitative comparison of intracellular trafficking and nuclear transcription between adenoviral and lipoplex systems. *Mol. Ther.*, 13(4), 786-94 (2006)
- 5) Sakurai F., Kawabata K., Koizumi N., Inoue N., Okabe M., Yamaguchi T., Hayakawa T., Mizuguchi H. Adenovirus serotype 35 vector-mediated transduction into human CD46-transgenic mice. *Gene Ther.*, 13, 1118-1126 (2006).
- 6) 早川堯夫: 第十四改正日本薬局方第二追補について、*医薬品研究*, 37, 27-41(2006)
- 7) Kida S, Maeda M, Hojo K, Eto Y, Gao JQ, Kurachi S, Mizuguchi H, Hayakawa T., Mayumi T, Nakagawa S, Kawasaki K. : Design and synthesis of a Tat-related gene transporter: A tool for carrying the adenovirus vector into cells, *Bioorg Med Chem Lett.* 16(3),743-5 (2006)
- 8) Koizumi N, Kawabata K, Sakurai F, Watanabe Y, Hayakawa T., Mizuguchi H: Modified Adenoviral Vectors Ablated for Coxsackievirus-Adenovirus Receptor, alphav Integrin, and Heparan Sulfate Binding Reduce In Vivo Tissue Transduction and Toxicity, *Hum Gene Ther.*, 17(3):264-79 (2006)
- 9) Nukiwa M, Andarini S, Zaini J, Xin H, Kanehira M, Suzuki T, Fukuhara T, Mizuguchi H, Hayakawa T., Saijo Y, Nukiwa T, Kikuchi T: Dendritic cells modified to express fractalkine/CX3CL1 in the treatment of preexisting tumors, *Eur J Immunol.*, 36(4), 1019-27(2006)
- 10) Kawabata K, Sakurai F, Koizumi N, Hayakawa T., Mizuguchi H: Adenovirus Vector-Mediated Gene Transfer into Stem Cells, *Mol Pharm.*, 3(2), 95-103 (2006)
- 11) 新見 伸吾, 原島 瑞, 日向 昌司, 野間 誠司, 川西 徹, 早川 堯夫: 血管新生療法 の現状と展望、*医薬品研究*, 37(10), 641-670 (2006): Shingo Niimi, Mizuho Harashima, Masashi Hyuga, Seiji Noma, Toru Kawanishi, Takao Hayakawa : State and Perspective of therapeutic angiogenesis
- 12) 福永悟史、鹿野真弓、田中克平、早川堯夫 : 細胞組織利用製品の品質確保、再生医療、5, 27-32 (2006)
- 13) Sakurai F, Murakami S, Kawabata K, Okada N, Yamamoto A, Seya T, Hayakawa T, Mizuguchi H.: The short consensus repeats 1 and 2, not the cytoplasmic domain, of human CD46 are crucial for infection of subgroup B adenovirus serotype 35, *J. Control Release*, 113, 271-278(2006)
- 14) Kurachi S, Koizumi N, Sakurai F, Kawabata K, Sakurai H, Nakagawa S,

- Hayakawa T, Mizuguchi H: Characterization of capsid-modified adenovirus vectors containing heterologous peptides in the fiber knob, protein IX, or hexon. *Gene Ther.* 14, 266-274 (2007)
- 15) Kanayasu-Toyoda T, Suzuki T, Oshizawa T, Uchida E, Hayakawa T, Yamaguchi T: "Granulocyte colony-stimulating factor promotes the translocation of protein kinase Ciota in neutrophilic differentiation cells.", *Journal of Cell. Physiol.*, 211, 189-196(2007)
- 16) 早川堯夫:局方の国際調和と日本薬局方の今後の動向、医薬品研究、37(10), 676-696 (2006)
- 17) 早川堯夫:第十五改正日本薬局方の概要、医薬品各条(生物薬品)及び今後の動向、医薬品研究、37(10), 769-788 (2006)
- 18) Mizuguchi H., Funakoshi N., Hosono T., Sakurai F., Kawabata K., Yamaguchi T., Hayakawa T. : Rapid construction of small interfering RNA-expressing adenovirus vectors on the basis of direct cloning of short hairpin RNA-coding DNAs. *Hum. Gene Ther.*, 18, 74-80 (2007)
- 19) Koizumi N., Yamaguchi T., Kawabata K., Sakurai F., Sasaki T., Watanabe Y., Hayakawa T., Mizuguchi H.: Fiber-modified adenovirus vectors decrease liver toxicity through reduced interleukin 6 production, *J. Immunol.*, 178(3):1767-73 (2007)
- 20) 早川堯夫: Biotechnology (品質)に関するガイドラインの動向について、医薬品研究、38(1), 14-23 (2007)
- 21) Sakurai F., Akitomo K., Kawabata K., Hayakawa T., Mizuguchi H. : Downregulation of human CD46 by adenovirus serotype 35 vectors, *Gene Ther.*, 14(11):912-9. (2007)
- 22) Kawai H, Suzuki T, Kobayashi T, Ishii-Watabe A, Sakurai H, Ohata H, Honda K, Momose K, Hayakawa T, Kawanishi T: Caspase Cascade Proceeds Rapidly After Cytochrome c Release From Mitochondria in Tumor Necrosis Factor-alpha-Induced Cell Death, *J Pharmacol Sci.* 103(2):159-167 (2007)
- 23) 175) 早川堯夫:細胞基材の品質・安全性評価、バイオ医薬品の開発と品質・安全性確保、早川堯夫監修, pp.51-67 (2007), エル・アイ・シー, 東京
- 24) 早川堯夫、福永悟史:感染性物質概論、バイオ医薬品の開発と品質・安全性確保、早川堯夫監修, pp.125-150 (2007), エル・アイ・シー, 東京
- 25) 早川堯夫:生物由来製品の指定、バイオ医薬品の開発と品質・安全性確保、早川堯夫監修, pp.249-261 (2007), エル・アイ・シー, 東京
- 26) 早川堯夫:製品の特性解析・品質規格及び安定性、バイオ医薬品の開発と品質・安全性確保、早川堯夫監修, pp.265-284 (2007), エル・アイ・シー, 東京
- 27) 川崎ナナ、早川堯夫:糖鎖構造解析、バイオ医薬品の開発と品質・安全性確保、早川堯夫監修, pp. 308-329 (2007), エル・アイ・シー, 東京
- 28) 堤康央、石井明子、早川堯夫:機能性人工タンパク質 バイオ医薬品の開発と品質・安全性確保、早川堯夫監修, pp.369-378 (2007), エル・アイ・シー, 東京
- 29) 早川堯夫:コンパラビリティ及び後続品の評価<概論>、バイオ医薬品の開発と品質・安全性確保、早川堯夫監修, pp.381-399 (2007), エル・アイ・シー, 東京
- 30) 永田龍二、早川堯夫:非臨床における安全性評価ガイドライン、バイオ医薬品の開発と品質・安全性確保、早川堯夫監修, pp.403-422 (2007), エル・アイ・シー, 東京
- 31) 早川堯夫、安藤 剛:細胞・組織利用医薬品等の品質及び安全性の確保、バイオ医薬品の開発と品質・安全性確保、早川堯夫監修, pp.445-478 (2007), エル・アイ・シー, 東京

- 32) 早川堯夫、前田大輔、水口裕之：遺伝子治療用医薬品の品質、安全性等の確保、バイオ医薬品の開発と品質・安全性確保、早川堯夫監修, pp.551-562 (2007), エル・アイ・シー, 東京
- 33) 水口裕之、早川堯夫：アデノウイルスベクター バイオ医薬品の開発と品質・安全性確保、早川堯夫監修, pp.563-577 (2007), エル・アイ・シー, 東京
- 34) 石井明子、鈴木琢雄、川西 徹、山口照英、早川堯夫：植物を用いた医薬品の現状と品質・安全性の確保、バイオ医薬品の開発と品質・安全性確保、早川堯夫監修, pp.702-718 (2007), エル・アイ・シー, 東京
- 35) Xin H, Kanehira M, Mizuguchi H, Hayakawa T, Kikuchi T, Nukiwa T, Saijo Y. : Targeted-Delivery of CX3CL1 to Multiple Lung Tumors by Mesenchymal Stem Cells. *Stem Cells*, 25(7):1618-26 (2007)
- 36) Kawabata K., Tashiro K., Sakurai F., Osada N., Kusuda J., Hayakawa T., Yamanishi K., Mizuguchi H. : Positive and negative regulation of adenovirus infection by CAR-like soluble protein, CLSP., *Gene Ther.*, in press.
- 37) 早川堯夫：品質に関するトピックの動向 (Quality Strategy Discussion) . 医薬品研究、14、1199-1207(2007)
- 38) 早川堯夫：バイオロジクス開発に関する規制と今後の動向. PHARMASTAGE、7、1-4 (2007)
- 39) 新見 伸吾、原島 瑞、日向 昌司、山口照英、早川堯夫、癌に対する抗血管新生療法の現状と展望 (その1) 医薬品研究、39(1)、1-37(2008)
- 40) Moriuchi A, Yamasaki H, Shimamura M, Kita A, Kuwahara H, Fujishima K, Satoh T, Fukushima K, Fukushima T, Hayakawa T, Mizuguchi H, Nagayama Y, Abiru N, Kawasaki E, Eguchi K.: Induction of human adiponectin gene transcription by telmisartan, angiotensin receptor blocker, independently on PPAR-gamma activation. *Biochem Biophys Res Commun.*, 18:356(4):1024-30. (2007)
- 41) Murakami S., Sakurai F., Kawabata K., Okada N., Fujita T., Yamamoto A., Hayakawa T., Mizuguchi H.: Interaction of penton base Arg-Gly-Asp motifs with integrins is crucial for adenovirus serotype 35 vector transduction in human hematopoietic cells. *Gene Ther.*, 14, 1525-1533 (2007)
- 42) Kanehira M., Xin H., Hoshino K., Maemondo M., Mizuguchi H., Hayakawa T., Matsumoto K., Nakamura T., Nukiwa T., Saijo Y. Targeted delivery of NK4 to multiple lung tumors by bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Cancer Gene Ther.*, 14(11), 894-903(2007)
- 43) 早川堯夫：想像力と創造力、*Drug Delivery System*, 22, 617 (2007)
- 44) Mizuguchi H., Hayakawa T., et al: Efficient differentiation into osteoblastic lineage from mouse bone marrow stromal cells by polylysine-modified adenoviral Runx2 expression (SCD-2008-0344), *Stem Cells and Development*, submitted
- 45) 新見 伸吾、原島 瑞、日向 昌司、山口照英、早川堯夫、癌に対する抗血管新生療法の現状と展望 (その1) 医薬品研究、39(1)、1-37(2008)
- 46) Fuminori Sakurai, Shin-ichiro Nakamura, Kimiyo Akitomo, Hiroaki Shibata, Keiji Terao, Kenji Kawabata, Takao Hayakawa, Hiroyuki Mizuguchi: Transduction properties of adenovirus serotype 35 vectors after intravenous administration in nonhuman primates, *Mol. Ther.*, 16(4):726-33 (2008)
- 47) Shibata H, Yoshioka Y, Ohkawa A, Minowa K, Mukai Y, Abe Y, Taniai M, Nomura T, Kayamuro H, Nabeshi H, Sugita T, Imai S, Nagano K, Yoshikawa T, Fujita T, Nakagawa S, Yamamoto A, Ohta T, Hayakawa T, Mayumi T, Vandenabeele P, Aggarwal BB,

- Nakamura T, Yamagata Y, Tsunoda S, Kamada H, Tsutsumi Y.: Creation and X-ray structure analysis of the tumor necrosis factor receptor-1-selective mutant of a tumor necrosis factor-alpha antagonist, *J Biol Chem.* 283(2):998-1007(2008)
- 48) 早川堯夫: バイオ医薬品等をめぐる最近の動向と話題、ヒューマンサイエンス, 19, 32-37 (2008)
- 49) 早川堯夫: バイオ医薬品等をめぐる最近の動向、ジャピックジャーナル (*JAPIC J*), 11 (5), 41-64 (2008)
- 50) 新見 伸吾, 原島 瑞, 日向 昌司, 山口 照英, 早川堯夫、癌に対する抗血管新生療法の現状と展望 (その2) 医薬品研究, 39(1), 359-387(2008)
- 51) 早川堯夫: 医薬品の品質管理について、大阪医薬品協会会報、712, 1-31 (2008)
- 52) 嶽北 和宏、廣瀬 志弘、鹿野 真弓、早川 堯夫: 薬事承認と病理・再生医療の早期実用化に向けた細胞・組織利用製品の審査、病理と臨床 (印刷中)
- 53) Satsuki Itoh, Akiko Hachisuka, Nana Kawasaki, Noritaka Hashii, Reiko Teshima, Takao Hayakawa, Toru Kawanishi, and Teruhide Yamaguchi: Glycosylation analysis of IgLON family proteins in rat brain by liquid chromatography and multiple-stage mass spectrometry, *Biochemistry*, 47, 10132-54 (2008)
- 54) Sakurai F., Nakamura S-I., Akitomo K., Shibata H., Terao K., Kawabata K., Hayakawa T., Mizuguchi H.: Adenovirus serotype 35 vector-mediated transduction following direct administration into organs of nonhuman primates, *Gene Ther.* in press
- 55) Huang H., Sakurai F., Higuchi Y., Kawakami S., Hashida M., Kawabata K., Hayakawa T., Mizuguchi H. Suppressive effects of sugar-modified cationic liposome/NF- κ B decoy complexes on adenovirus vector-induced innate immune responses. *J. Control. Release.*, in press.
- 56) Tashiro K., Kondo A., Kawabata K., Sakurai H., Sakurai F., Yamanishi K., Hayakawa T., Mizuguchi H. Efficient osteoblast differentiation from mouse bone marrow stromal cells with polylysine-modified adenovirus vectors. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 379, 127-132 (2009)
- 57) Yamada K, Kinoshita M, Hayakawa T, Nakaya S, Kakehi K.: Comparative Studies on the Structural Features of O-Glycans between Leukemia and Epithelial Cell Lines. *J Proteome Res.* 8(2):521-537 (2009)
- 58) Kinoshita M, Ohta H, Higaki K, Kojima Y, Urashima T, Nakajima K, Suzuki M, Kovacs KM, Lydersen C, Hayakawa T, Kakehi K.: Structural characterization of multi-branched oligosaccharides from seal milk by combination of off-line HPLC-MALDI-TOF MS and sequential exoglycosidase digestion. *Anal Biochem.*, in press.

2. 学会等発表

1. Satsuki Itoh, Nana Kawasaki, Noritaka Hashii, Akira Harazono, Yukari Nakajima, Akiko Hachisuka, Reiko Teshima, Jun-ichi Sawada, Takao Hayakawa, Toru Kawanishi: Glycosylation analysis of IgLON family glycoproteins in rat brain by LC/MSⁿ (II). 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress (2006, 6, 19) Kyoto
2. 原園 景、川崎ナナ、伊藤さつき、橋井則貴、中島 紫、山口照英、早川堯夫、川西徹: LC/MSを用いた血清糖タンパク質の部位特異的糖鎖解析. *Pharmacotherapy シンポジウム* (2006, 6, 30)

- 東京
3. 日向昌司、新見伸吾、野間誠司、川西 徹、山口照英、早川堯夫、原島 瑞、高山和子、原 真由美、関 泰一郎、有賀豊彦：トロポンボモジュリンはマウス乳癌細胞の浸潤能を亢進する。第7回ファーマコヘマトロジーシンポジウム (2006, 6, 30) 東京
 4. 原島 瑞、新見伸吾、小柳仁美、日向昌司、関泰一郎、有賀豊彦、川西 徹、山口照英、早川堯夫：初代培養ラット肝細胞において増殖抑制条件では Annexin A3 の発現が抑制される。第13回肝細胞研究会 (2006, 7) 旭川
 5. 伊藤由真、渡邊武紀、長友俊介、関泰一郎、新見伸吾、川西 徹、山口照英、早川堯夫、有賀豊彦：マウス胎児肝の形成過程における Annexin A3 の発現。第13回肝細胞研究会 (2006, 7) 旭川
 6. Seiji Noma, Masashi Hyuga, Shingo Niimi, Toru Kawanishi, Takao Hayakawa: Thrombomodulin stimulates proliferation of human umbilical vein endothelial cells. 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress (2006, 6) Kyoto
 7. Mizuho Harashima, Shingo Niimi, Kayo Harada, Masashi Hyuga, Taiichiro Sreki, Toyohiko Ariga, Toru Kawanishi, Takao Hayakawa: Expression of annexin A3 increases in rat liver regeneration. 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress (2006, 6) Kyoto
 8. Kanayasu-Toyoda T., Suzuki T., Oshizawa T., Uchida E., Hayakawa T., Yamaguchi T.: Granulocyte colony-stimulating factor promotes the translocation of protein kinase C α in neutrophilic differentiation cells. 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress (2006. 6. 21) Kyoto
 9. Hayakawa T.: Concepts of Safety Assessment of Genetically Modified Food -With a particular emphasis on safety assessment of recombinant additives-, 三極酵素協会講演会、(2006.6.1) 東京
 10. Hayakawa T.: Some Aspects of Development, Evaluation and Control of Biologics in Japan, PMDA:1st International Symposium on Biologics (2007.1.15) 東京
 11. Hayakawa T.: International Harmonisation on Analytical Procedures and/or Acceptance Criteria of Drugs -PDG and ICH Q4B Activities. 2006 PDA Asia-Pacific Congress (2006. 11.14) Tokyo
 12. 早川堯夫:局方の国際調和と日本薬局方の今後の動向、公定書協会講演会 (2006.2.17, 2.23) 東京、大阪
 13. 早川堯夫: 第十五改正日本薬局方の概要、医薬品各条(生物薬品)及び今後の動向公定書協会講演会 (2006.5.19, 5.29) 東京、大阪
 14. 早川堯夫: Biotechnology (品質)に関するガイドラインの動向について、第14回 ICH 即時報告会、公定書協会講演会 (2006.7.26) 東京
 15. 早川堯夫: Quality に関するトピックの動向(1) Quality Strategy Discussion, 第15回 ICH 即時報告会、公定書協会講演会 (2006.12.21) 東京
 16. 早川堯夫: 医薬品の品質確保、東京医薬品工業協会講演会 (2007.3.13) 東京

17. 小泉直也、川端健二、櫻井文教、佐々木朋美、西島美妙江、山口朋子、早川堯夫、渡邊善照、水口裕之；高い遺伝子導入効率と安全性を合わせ持つアデノウイルスベクターの開発。遺伝子・デリバリー研究会第6回シンポジウム(2006.5)東京
18. Fuminori Sakurai, Kenji Kawabata, Takao Hayakawa, Hiroyuki Mizuguchi. Adenovirus serotype 35 vector-mediated transduction in mouse hematopoietic stem cells isolated from human CD46-transgenic mice. 9th Annual Meeting of the American Society of Gene Therapy. (2006. 6. 5.31-6.4) Baltimore, USA
19. Hiroyuki Mizuguchi, Naoya Koizumi, Kenji Kawabata, Fuminori Sakurai, Takao Hayakawa; Development of modified adenovirus vectors with reduced innate immune response. 9th Annual Meeting of American Society of Gene Therapy. (2006. 5.31-6.4) Baltimore, USA
20. 櫻井文教、穐友絹美代、川端健二、中村紳一朗、柴田宏昭、寺尾恵治、早川堯夫、水口裕之；霊長類を用いた35型アデノウイルスベクターの機能評価。第22回日本DDS学会(2006.7.7,8)東京
21. 村上さや香、櫻井文教、川端健二、岡田直貴、藤田卓也、山本昌、早川堯夫、水口裕之；35型アデノウイルスベクターを用いた遺伝子導入における $\alpha 1$ インテグリンの関与に関する検討。第21回日本DDS学会(2006.7.7,8)東京
22. 小泉直也、川端健二、櫻井文教、佐々木朋美、西島美妙江、山口朋子、早川堯夫、渡邊善照、水口裕之；自然免疫誘導能を減弱させ安全性に優れたアデノウイルスベクターの開発。第21回日本DDS学会(2006.7.7,8)東京
23. 倉知慎之輔、小泉直也、櫻井晴奈、佐々木朋美、櫻井文教、川端健二、中川晋作、早川堯夫、水口裕之；非特異的遺伝子導入抑制を目指したファイバー欠損アデノウイルスベクターの開発とその特性評価。第21回日本DDS学会(2006.7.7,8)東京
24. Fuminori Sakurai, Kenji Kawabata, Takao Hayakawa, Hiroyuki Mizuguchi : Adenovirus Serotype 35 Vector-mediated Gene Transfer Into Human and Mouse Hematopoietic Progenitors. The First FIP-APSTJ Joint Workshop on Gene Delivery. (2006. 7. 10-12). Sapporo
25. Naoya Koizumi, Kenji Kawabata, Fuminori Sakurai, Takao Hayakawa, Yoshiteru Watanabe, Hiroyuki Mizuguchi; Elimination of innate immune responses by capsid-modification of adenovirus vectors. 第12回日本遺伝子治療学会(2006.8.24-26) Tokyo
26. 山下 学、櫻井文教、川端健二、早川堯夫、水口裕之；タイトジャンクション関連タンパク coxsackie and adenovirus receptor によるがん転移抑制。第65回日本癌学会総会(2006.9.28-30)横浜
27. 佐々木朋美、川端健二、櫻井文教、早川堯夫、水口裕之；受容体との結合性を欠損した各種改変型アデノウイルスベクターにおける遺伝子導入効率の検討。第65回日本癌学会総会(2006.9.28-30)横浜
28. 川端健二、田代克久、櫻井文教、長田直樹、楠田 潤、早川堯夫、山西弘一、水口裕之；アデノウイルス受容体 CAR と相同性を有する新規可溶性タンパク質 CLSP (CAR-like soluble protein) によるアデノウイルスベクターの感染制御。第56回

- 日本薬学会近畿支部総会 (2006.10.28) 京都
29. 櫻井文教、穂友絹美代、川端健二、中村紳一朗、柴田宏昭、寺尾恵治、早川堯夫、水口裕之: カニクイザルにおける 35 型アデノウイルスベクターの遺伝子導入特性. 日本薬学会第 127 年会 (2007.3.28-30) 富山
 30. 水口裕之、船越直子、細野哲二、櫻井文教、川端健二、山口照英、早川堯夫; 簡便な siRNA 発現アデノウイルスベクター作製法の開発. 日本薬学会第 127 年会 (2007.3.28-30) 富山
 31. 川端健二、田代克久、櫻井文教、早川堯夫、水口裕之; アデノウイルス感染制御に関与する CAR-like soluble protein (CLSP) の局在解明. 日本薬学会第 127 年会 (2007.3.28-30) 富山
 32. 田代克久、川端健二、櫻井晴奈、倉知慎之輔、櫻井文教、中川晋作、早川堯夫、山西弘一、水口裕之; アデノウイルスベクターを用いたマウス胚様体への遺伝子導入法の確立 Efficient gene transduction into mouse embryoid bodies with adenovirus vectors. 日本薬学会第 127 年会 (2007.3.28-30) 富山
 33. Hayakawa T: Evaluation of Subsequent-entry Protein Products -A View from Japan, *Biosimilar 2007*, Washington DC, USA (2007.9)
 34. Hayakawa T: Current Topics in Japan with Respect to Evaluation and Control of Biotechnology Products, *PMDA:2nd International Symposium on Biologics*, Tokyo, Japan (2008.1)
 35. Hayakawa T: Regulation of Biopharmaceutical Products from a Japanese Perspective including Subsequent-Entry Protein Products, *WCBP 2008: Symposium on the Interface of Regulatory and Analytical Sciences for Biotechnology Health Products*, Washington DC, USA (2008.1)
 36. Hayakawa T: Observations in GMP Inspections on Biologics Manufacturing Sites by PMDA, *WCBP 2008: Symposium on the Interface of Regulatory and Analytical Sciences for Biotechnology Health Products*, Washington DC, USA (2008.1)
 37. Hayakawa T: A View from Japan Regarding Evaluation and Control of Subsequent-Entry Protein Products, *Biogenerics 2008*, Boston, USA, (2008.3)
 38. 早川堯夫: バイオロジクス、特にバイオ医薬品の安全性評価について、第 23 回日本実験動物学会 (2007.5)
 39. 早川堯夫: バイオ医薬品をめぐる最近の動向、第 129 回薬事研究会、東京 (2007.12)
 40. 早川堯夫: 医薬開発の進展に必要な要素、近畿大学薬学総合研究所・大学院薬学研究科ハイテクリサーチセンター第 1 回シンポジウム、大阪、(2007.12)
 41. 早川堯夫: 医薬品の品質管理について、平成 19 年度医薬品総括製造販売責任者講座、大阪 (2007.12)
 42. 早川堯夫: 細胞・組織加工医薬品等をめぐる最近の話題～ヒト細胞・組織加工医薬品等の品質・安全性評価指針 1314 号改正案、バイオロジクスフォーラム第 5 回学術集会 (2008.1)
 43. 早川堯夫: ヒト細胞・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の改訂、第 7 回日本再生医療学会総会、名古屋 (2008.3)
 44. Hayakawa T: Points to Consider on Effective Development of Cells/Tissue-Based Products,

- BIOJAPAN 2008*, Regenerative Medicine, Stem Cell, Yokohama, JAPAN (2008.10)
45. Hayakawa T: Some Aspects of Evaluation and Control Regarding Subsequent-Entry Protein Products, *AusBiotec 2008*, Melbourne, Australia (2008.10)
46. Hayakawa T: Current Topics in Japan on Evaluation and Control of Biotechnology Products, *WCBP 2009: Symposium on the Interface of Regulatory and Analytical Sciences for Biotechnology Health Products*, San Francisco, USA (2009.1)
47. 早川堯夫: ヒト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について、(財)先端医療振興財団 シンポジウム(2008.10)
48. 早川堯夫: バイオ医薬品の現状と将来、近畿大学卒業後研修会、(2008.11)
49. 早川堯夫: 再生医療実用化に向けて、BTJ プロフェッショナルセミナー、東京、(2008.11)
50. 早川堯夫: 再生医療実用化に向けたガイドライン、第8回医薬品等ウイルス安全性シンポジウム、東京 (2008.12)
51. 早川堯夫: バイオロジクスにおける品質とは一改めて思いつくままに、バイオロジクスフォーラム第6回学術集会、東京 (2009.2)
52. 早川堯夫: iPS細胞等も考慮した細胞製品の指針の整備状況について、第2回 iPS細胞研究産業応用懇話会、京都(2009.2)
53. 早川堯夫: 再生医療の規制基準動向、レギュラトリーサイエンスの視点、第4回再生医療の技術動向に関する調査委員会、東京 (2009.3)
- H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得 なし
 2. 実用新案登録 なし
 3. その他 なし

医薬品の製造方法の評価に関する国際動向研究

分担研究者 川西 徹 国立医薬品食品衛生研究所薬品部長

要 旨

ICHの品質分野のガイドラインのテーマとして、医薬品ライフサイクル全体を通じた製造科学とリスク管理に基づいた新しい品質管理システム構築が提案され、その方針に基づいて、Q8、Q8Annex、Q9、10 という一連の品質ガイドラインの国際調和活動が進んできた。さらに現在原薬の製法に関するガイドライン Q11 の国際調和作業が、バイオテクノロジー応用医薬品（バイオテク応用医薬品）の専門家も参加する形で開始された。Q8 製剤開発ガイドラインでは、新しい製剤開発・品質管理アプローチ（QbD アプローチ）の概念が提案され、Q8Annex でこのアプローチについてより詳細に説明された。ただしバイオテク応用医薬品への適用についてはICHの場ではほとんど議論がないままに経過している。そこでバイオテク応用医薬品原薬の製法開発におけるQbDアプローチの適用について国際動向を調査するとともに、その可能性を考察した。QbD アプローチは一般的な概念としてはバイオテク応用医薬品の製法開発においても共通して適用できるものであり、欧米では生産培養工程、カラムクロマトグラフィー工程等についての検討が行われており、またモノクローナル抗体の製法に絞った検討を行うためのコンソシアムが立ち上がっている。しかし、タンパク質性医薬品原薬の品質特性を構成する有効成分、不純物、安定性等の要素は、化成品に比較して複雑であり、品質特性と工程パラメータとの関係の解析、とりわけ、相互作用を示すような複数のパラメータとの関係の解析が可能と思われるケースは限定的であることが予想される。また、有効性・安全性に悪影響を及ぼさない品質特性の変動幅を臨床データでの確認なしに保証することが困難という特性を加味して考えると、バイオテク応用医薬品原薬の品質管理におけるデザインスペースの活用は限定的なものと考えられる。一方製造工程のリアルタイムモニタリング手法のような PAT（Process Analytical Technology）関連技術の活用は、バイオテク応用医薬品の品質管理法としても有用性は高く、技術開発および品質管理システムへの積極的な応用が期待される。

- A. 研究目的 医薬品の規格および試験法、不純物、安定性、
ICH 品質分野の国際調和活動では、化学合成 分析バリデーション等の主要な技術テーマに

関する各ガイドラインの国際調和は終了し、さらにCTD-Qとして、新医薬品の製造販売承認申請に際して提出する資料に記載すべき品質関連の項目がリストアップされた。同時に、バイオ医薬品については、規格および試験法、遺伝子発現構成体の分析、細胞基質、ウィルス安全性評価、安定性試験に関する各ガイドライン、さらには製法変更時の同等性・同質性評価ガイドラインが作成された。このように、ICH品質分野では製品の品質特性に関する主要な技術課題についての国際調和ガイドライン作成はほぼ完成したといえる。

引き続き数年前より新たなテーマの検討が開始され、化成品品質グループを中心として、2003年7月のブラッセル会議GMPワークショップにおいて、「製造科学とリスク管理手法を統合したアプローチによる、医薬品のライフサイクル（開発から市販後）全般に適用する新しい品質管理システムの構築」が提案され、今後品質の中心テーマにすることに三極は合意した。その後この合意に従い、「製剤開発に関するガイドライン」(Q8) および「品質リスク管理に関するガイドライン」(Q9)の国際調和が進みステップ4に達するとともに、「製剤開発 Q8 付属書」(Q8(R1)) および「医薬品品質システムに関するガイドライン」(Q10)も専門家会議の間での合意（ステップ2）に至った。さらにこれに続いて今現在、化学合成医薬品およびバイオテク応用医薬品の両方を適用対象とした原薬製法ガイドラインの作成に向けた動きが始まっている。

そこでバイオテク応用医薬品原薬の製法開発における QbD アプローチの適用について国際動向を調査するとともに、その可能性を考察した。

B. 研究方法

医薬品の品質に関する既存の ICH 国際調和ガイドライン、米国 FDA の関連文書、EMEA

CHMP の関連文書、インターネットによる検索によって得られる米国および欧州の関連情報、また医薬品の品質、有効性、安全性確保を図る過程あるいは関連する評価技術の開発研究を行う過程で蓄積されてきた経験や知見等を参考に、QbD アプローチをバイオテク応用医薬品の製法開発に適用する場合の可能性および問題点を考察した。

C. 研究結果および考察

(1) ICH-Q8 ガイドライン作成の背景

ICH 品質分野において、新しい品質システム構築が提唱された背景としては、FDA の新しい戦略があるものと思われる。

米国 FDA は、ゲノム創薬等新しい医薬品開発手法が生まれ、医薬品開発が活発化しているにもかかわらず、近年、承認される医薬品数が減少傾向にあることに危機感を表明するとともに、2004年に“Challenge and Opportunity on the Critical Path to New Medical Products”（平成18年度分担研究報告書資料1）という文書を発表し、医薬品開発および承認審査を妨げる要因を解析し、これを克服するための戦略を打ち出した。これとほぼ時を同じくして、医薬品の品質管理においても新しい考え方を打ち出し、“Pharmaceutical CGMPs for the 21st century- A risk-based approach”（平成18年度分担研究報告書資料2）として公表し、品質リスク管理に基づくアプローチによる、新しい総合的品質システム構築を提唱した。その後、後者の品質管理システム構築の提案は、前者の総合的な医薬品開発促進策の提案の一部に組み込まれ、“Critical Path Initiatives”という国家計画として FDA によって再編成されている（“Critical Path Opportunities Initiated During 2006”（2006）（平成18年度分担研究報告書資料3））。

FDA の医薬品品質管理についての危機意識

は以下のようなものである。医薬品はヒトに投与される商品であり、特に健康にかかわるがゆえに、歴史的に極めて厳しい規制体制が確立されてきた。このことが要因の一つとなり、医薬品の開発製造コストが高騰し、承認までの時間が延長し、医薬品開発は困難になってきている。また一度開発、承認されても、品質の向上あるいは製造コストの改善等を目指した製法変更は、規制当局による承認あるいは届出が必要となるため、実施までに時間、経費がかかる。そのため製造工程の変更を避ける傾向にあり、工業製品の中でも製造管理は旧態依然のシステムで行われていることが少なくない。一方規制側からみると、製法変更に関する承認審査のために大きなリソースが必要とされるため、規制コストの増大を招いている。このような問題を解決するために、医薬品の品質管理に製造科学と品質リスク管理の考えを導入した新しい開発アプローチを導入し、品質管理システムを近代化させる必要がある。

FDA はこの新しいアプローチを “Quality by Design (QbD)” 的アプローチと称しているが、その意味するところは、環境要因、工程上の要因、原材料、品質特性といった工程上の重要な要素を確認し、これら要素が医薬品の性能や品質へ及ぼす影響を解析、それに基づき品質管理システムを構築するアプローチである。このアプローチをとる目的は、製造工程を科学的に解析することにより、生産される製品の品質を評価あるいは改善する能力を高め、最終製品の規格試験に頼らずに品質確保を行うことを可能とする新しい製造管理手法を構築することにあるとされる。その際、製品の品質特性を近赤外やラマン分光あるいはイメージングによってリアルタイムにモニタリングする手法 (Process Analytical Technology (PAT)) は、品質を保証する上で重要な製造段階をモニターするための分析手法となり、これらの手法を活用すれば、最終製品のロット試験なしにリアルタ

イムの出荷が可能となる。したがって、PAT は QbD アプローチを実現させるために極めて有力な技術と位置づけられる。

ICH の Q8 以降のガイドラインがテーマとして取り上げられていることについては、以上の FDA の新たな戦略が背景にあると考えられ、このような方向は、医薬品の世界同時開発を目指す医薬品開発企業の向かう方向にも合致したため、これら新しい ICH 品質ガイドライン作成が推進されているものと考えられる。

(2) ICH Q8 ガイドラインについて

2-1 Q8 製剤開発ガイドライン

ICHQ8「製剤開発ガイドライン」は、CTD に示された承認申請時に必要とされる添付資料の中で、3.2.P2 「製剤開発の経緯」の項において推奨されるべき記載内容に関するハイレベルな指針として作成された。

製剤開発研究の目的は、第一に適正な品質を有する医薬品を設計することであり、第二に意図した機能を有する医薬品を一貫して供給できる製造工程を設計することである。この目的を達成する過程においては、科学的手法と品質リスク管理の適用が推奨される。製剤開発研究や製造経験を通して得られた情報の理解により、製造管理法、及び規格が確立されるが、製造工程の理解が深まるにつれ、最終製品の規格試験による品質保証は、製剤設計及び工程の設計による品質保証に置き換えることが可能となる。さらに製造方法に関する科学的理解が深まり、製造管理においてその範囲では品質の一定性が保証されるデザインスペースを確立することができれば、その範囲での運用は規制上の製法変更とはみなされず、承認事項一部変更のための規制手続きの必要がなくなり、製法変更の手続きの弾力的な運用が可能となる。

このように Q8 ガイドラインは「製剤開発の経緯」の項の記載方法のガイドラインであるばかりでなく、医薬品製剤の品質管理における科

学的手法と品質リスク管理の本格的導入を推奨する先進的/先導的ガイドラインである。これは、化成規格および試験法ガイドライン(Q6A)においてスキップテストあるいはパラメトリックリリースとして萌芽的に導入された、最終製品規格試験に代わる工程管理による品質管理手法を、さらに品質管理法として様々な工程で導入することを推奨するガイドラインといえる。その際、デザインスペースという概念を導入し、製法変更の弾力的運用を可能にする方法の導入を図ったガイドラインでもある。

2-2 Q8Annex 製剤開発 Q8 付属書

Q8 ガイドラインは、新しい製造工程開発・品質管理手法を提案する先進的/先導的ガイドラインであるが、それを現すための象徴的言葉であり、Q8 ガイドライン作成の過程の議論において汎用されていた「QbD アプローチ」という用語そのものは Q8 文書中では用いられておらず(文書中では“to design a quality product”, “quality should be built by design”と表現されている)、その定義についても文書化されないうままにあった。また、規制上に柔軟性をもたすための「design space デザインスペース」の概念についても、用語集の中で「品質を確保することが立証されている入力変数(原料の性質など)と工程パラメータの多元的な組み合わせと相互作用; このデザインスペース内で運用することは変更とみなされない; デザインスペース外への移動は変更とみなされ、通常は承認事項一部変更のための規制手続きが開始されることになる; デザインスペースは申請者が提案し、規制当局がその評価を行って承認する」と説明されているものの、その具体例、設定方法、さらには規制への具体的な取り込み等について、必ずしも統一的な理解がされていないままに合意に至ったと思われる。

そこで、次のステップとして、経口固形製剤、

注射剤、経口液剤を例に、具体例や設定方法について明確にし、さらには従来行われてきた製造工程開発の手法(この文書では「最小限アプローチ」あるいは「基本となるアプローチ」と称せられる)とリスク管理手法を導入して製造科学に基づいて行う「体系的アプローチ(QbD アプローチ)」を比較検討、まとめるという方向で Q8 を補足する複数の付属書の作成が開始された。しかしこの付属書を作成する過程で、QbD アプローチの中でも、規制上の弾力性を持たせるうえで要となる概念である「デザインスペース」の定義、具体例、設定方法へ議論の中心が移り、ステップ2ガイドラインは製剤別の具体例あるいは設定方法の例示というより、デザインスペースの概念の明確化、設定の考え方、CTD フォーマットにおける記載法に議論の中心が移り、ステップ2 文書においても、記述の相当部分がこの点に割かれることとなった。

さらに、製剤毎に具体例を検討するとされていた、注射剤あるいは経口液剤については、付属書作成は立ち消えとなってしまった。さらに当初「QbD アプローチ」とともにまとめられていた「最小限アプローチ」についても最小限の記述にとどめられ、「QbD アプローチ」と対比した表一つに概念がまとめられたのみとなった。

(3) バイオテク応用医薬品の開発における欧米で行われている QbD アプローチについての議論

3-1 デザインスペースの定義の試み

QbD アプローチはまず標的製品プロファイル(製剤の望ましい品質、ひいては安全性及び有効性を保証するために理論的に到達すべき製剤の品質特性についての先を見越した要約)の考察が始まる。次に望ましい品質、安全性、有効性に影響を及ぼす品質特性からなる重要品質特性(CQA)の特定に進む。CQAの特定

削除: (R1)

削除: (資料1)

には、Q9で用意されているような各種リスク評価法を用いることとなる。その際、研究室レベルでのデータ、関連物質に関して得られている文献データ、非臨床試験の経験、臨床試験の経験が重要となる。特定したCQAについては、さらに開発過程でも品質上、非臨床データ、臨床データ等をもとに、CQAを精査してゆく(Q8Annexでは示されていないが、ここで最終的に確認されたCQAをProduct Design Spaceと称する論文もある)。

続いて、(1)CQAに影響を及ぼす原料特性及び工程パラメータをリスクアセスメントで特定する；(2)デザインスペースの理解・定義に役立つようなデータをとるために実験計画法(design of experiments(DOE))を利用して、研究をデザインする；(3)研究が実行され、デザインスペースの定義および重要性が決定される。(3)においては故障モードとその影響の解析(Failure mode and effects analysis(FMEA))の手法がしばしば解析に用いられる。(平成20年度分担当研究報告書資料1)

デザインスペースの解析例としては、(1)培養工程の原料特性、培養液のパラメータ、操作パラメータに関する解析、(2)精製工程、特にカラムクロマトグラフィーへの、遊離液のグラジエント条件、pH、流出速度、温度、ベッドサイズ等のパラメータの解析、などがあげられる。

3-2 バイオテック応用製品におけるQbDアプローチ研究の新しい流れ

もう一つの新しい流れとしては、FDAのQbDに対する積極的な取り組みに対応するものとして、業界側が抗体医薬を特定したQbDアプローチ研究が開始されたことである。これは、7つの製薬大手企業(Amgen, Genentech, Abbotto Bio Mediimmune(AstraZeneca), GlaxoSmithKline Bio, Eli Lilly Bioそして

Pfizer Bio)が参加してコンソーシアムを立ち上げ、ICH Q8-10に示された考えを反映させた、架空ではあるが現実的なモノクローナル抗体の製造工程プログラムを検討するというものである(平成20年度分担当研究報告書資料2)。

近年に市販され、今後も開発されるであろう抗体医薬の多くは遺伝子組換え技術を利用して開発したキメラ抗体、ヒト化抗体、あるいはヒト抗体であり、またその多くはIgGである。したがって相補性決定領域(CDR)以外は構造上極めて類似している。そのため、製造工程は共通性の高いものであり、標準的製造工程を考える際の材料として最適である。

昨年暮れに公表された、EMEAの「モノクローナル抗体およびその関連製品の開発、製造、特性解析、および規格に関するガイドライン」(平成20年度分担当研究報告書資料3)においても、「Platform manufacturing」という概念であらわされた考えが打ち出されており、モノクローナル抗体の製造工程のように、製品間で共通性の高い製造工程については、バリデーションデータなどは共有化可能な場合があることが示されている。

上記の活動を反映した学術集也会企画、開催されつつある(平成20年度分担当研究報告書資料4)。

(4) Q8 および Q8(R1)ガイドラインにおけるQbDアプローチのバイオテック応用医薬品原薬の製法開発への適用

Q8(R1)付属書では、製剤開発における旧来のアプローチ:最小限アプローチにおいて必要な要素は、以下のようにまとめられている。

- (1)投与経路、剤形、生物学的利用能、用量、安定性などを考慮した、品質、安全性、有効性に関連する標的製品プロファイルの定義
- (2)当該製剤の重要品質特性(CQA)の特定；この特定により品質に影響を及ぼす製剤特性の研究や管理が可能となる

削除:資料2

削除:資料3

書式変更: フォント: 太字

削除: 1

書式変更: フォント: 太字

削除: 資料4

- (3)原薬、添加剤などの品質特性の特定及び望ましい品質を製剤に付与する添加剤の種類と量の選択
- (4)適切な製造工程の選択
- (5)管理戦略の決定

QbD アプローチでは、以上の要素に加えて下記の要素が必要とされている。

- (6)製剤処方及び製造工程の体系的な評価、理解、洗練；これには以下に挙げるような作業が含まれる
 - ・従前の知識、実験、リスクアセスメントなどを通じ、製剤の CQA に影響を及ぼしうる原料特性及び工程パラメータの特定
 - ・原料特性及び工程パラメータと製剤の CQA を関連づける機能的関係の特定
- (7)適切な管理戦略を確率するための、品質リスクアセスメントと組み合わせた深い工程理解の活用；これにはたとえばデザインスペース及び/又はリアルタイムリリースについての提案が含まれる。

以上の要素が満足されるような開発アプローチがとられることによって、製品ライフサイクルの全期間を通じた継続的な改善およびイノベーションが実現する、とされている。

これを原薬に移し替えると、QbD アプローチをとる際、標的製品プロファイルの設定、あるいは CQA を特定するにあたっては、(1)有効成分の特定(定義)が可能な特性、(2)不純物(有効成分に由来する不純物、および工程由来不純物)の特性、(3)混入物質の特性、(4)安定性を考える必要があろう。これらの点について、バイオテク応用医薬品原薬の場合は、化成品原薬とは以下のような違いがある。

(1)有効成分として特定が可能な特性：化成品原薬においては、NMR あるいは赤外スペクトルといった構造解析によって有効成分を特

定(定義)できる。しかしバイオテク医薬品では、構造解析からの定義、構造解析以外の物理化学的特性からの定義、そして生物学的特性からの定義を併用することになる。即ち、多くのバイオテク応用医薬品においては、高次構造解析手法の限界により構造解析データのみから有効成分を特定することは困難である。したがって有効成分を定義する上で、構造解析+物理化学的特性の分析に加えて、生物活性値を合わせて物質を定義せざるを得ない製品がほとんどである。ここで生物活性試験と臨床効果との関係が明瞭な物質の場合は、生物活性から有効性(あるいは安全性)へのインパクトを予測することは可能と考えられるが、生物活性と臨床効果の関係が明瞭でない物質の場合は、有効性・安全性に悪影響を及ぼすことのない変動幅を設定することは必ずしも容易でないが、バイオテク応用医薬品の中には、このように生物活性と臨床効果の関係が明瞭でないものが少なくない。

さらにペプチドの N-末、C-末における翻訳後修飾に由来する分子多様性、あるいは糖タンパク質に代表されるような複合タンパク質のもつ分子多様性ゆえに、有効成分を定義(特定)するために構造の特性をパターンとして表現せざるを得ない。ただし、このパターンは赤外スペクトルのように同一性が明確に判定できるものではなく、同等性/同質性を判定する上での判定基準が明確に設定しにくいパターンである。

また有効成分には、目的物質と同様の生物活性を示す目的物質関連物質も含まれることから、有効成分一つをとっていても、有効性、安全性へ悪影響を及ぼさない品質特性の範囲について境界を明確化することは困難である。

(2)不純物の特性：化成品不純物の多くは、液クロ、ガスクロでの定量的な解析が比較的容易であり、不純物混入の安全性へのインパクトについては、ICH 不純物ガイドラインで設定さ

れている基準量から整理することができよう。さらに、毒性を確認する必要があるほどの量の不純物が含まれている場合でも、動物実験によって安全性へのインパクトを予測することは比較的容易である。一方、多くのバイオテク応用医薬品の場合、含有される可能性のある目的物質由来不純物については、開発中に行うロット分析によって特定し、CQA の絞り込みも可能かもしれないが、不純物個々の生物作用は種特異的である場合が多いので、動物実験でヒトに対する有効性・安全性へのインパクトを定量性を含めて予測するには限界がある。さらに特にヒトに対する抗原性を示す可能性は、極低レベルでもあるので、安全性へのインパクト予測は困難であり、化成品 ICH 不純物ガイドラインを適用することはできない。したがって例え不純物に関する CQA と工程パラメータとの関係は求められても、その変動の安全性へのインパクトを量的に求めることは困難である。

(3)混入物質の特性： 無菌性の評価については、化成品でもバイオテク応用製品でも、同様と考えられる。しかし、デザインスペースを設定する際に必要な、種々条件を変えての検討を、ウイルスあるいはプリオンに関する製造工程の除去能について行うことは、コスト的にも定量的評価の困難さを考えても現実的ではない。したがって、ウイルスあるいはプリオン除去に関係するような工程パラメータについてのデザインスペースの設定は困難かと思われる。

(4)安定性： 化成品原薬の実時間、実保存条件での安定性については、加速試験結果からの外挿が可能な場合が多く、安定性という要素をデザインスペースの設定に加味することは比較的容易と考えられる。一方、タンパク質性医薬品の場合、加速試験条件の安定性データからの実時間安定性の予測性は特定のタンパク質製品を除いて十分とはいえない。したがって、実時間、実保存条件での安定性データが基本である。そのため、原料特性および工程パラメータ

と安定性との関係の解析は、化成品と比べて格段に制限されると考えられる。

(5)バイオテク応用医薬品のデザインスペース設定の可能性

以上のように、有効成分、不純物、混入物質、安定性 という品質特性パラメータを特定する上で配慮すべき要素に関して、バイオテク応用医薬品の場合、多様であり、工程パラメータと品質特性パラメータの関係の解析が困難なものも少なくないと思われる。さらにパラメータ間の相互作用についても、科学的な解析が可能なものも必ずしも多くないことが予想される。

また有効性・安全性へ悪影響を及ぼさない品質特性の変動幅を、臨床データなしに求めることは、多くのバイオテク応用医薬品では困難である。したがって、デザインスペースの設定の検討において、判定基準となる CQA は、第三相臨床試験に用いたロットの品質特性に縛られることとなり、設定できてもデザインスペースは限定的なものになるものと思われる。

ただし、例えば、生産培養工程のように、細胞個々がおかれる物理的、化学的環境要因について、要因（温度、攪拌条件、スケール、溶液中の物質濃度等）間の相互作用を数式で表現できるような製造工程においては、例えばスケールアップ時の温度あるいは攪拌条件等の工程パラメータに関するデザインスペースを、リスク管理手法を応用して求めることは可能と考えられる。

また同様に精製工程のカラムクロマトグラフィなどについても、物理的、化学的解析から、パラメーター間の相互作用の関係を数式で表現できるケースがあり、そのような場合は、工程パラメータに関するデザインスペースの設定は可能と考えられる。

(6)バイオテク応用医薬品の製造工程におけ

る PAT について

QbD アプローチのメリットとして、リアルタイムモニタリング手法を導入して、製品ロット試験を行わずして、リアルタイム出荷を実現することが挙げられている。このポイントについては、化成品とバイオテク応用医薬品の間に相違はない。ただし、原薬は、最終製剤からみると、中間体の一つとみなせ、リアルタイム出荷は、製剤におけるほどの実質的なインパクトはない。しかし、リアルタイムモニタリング手法の採用は、原薬の品質向上に役立つと考えられる。

例えば生産培養工程において、細胞の生育状態、培養液中の成分濃度、あるいは目的タンパク質の生成量、目的物質関連物質や不純物量等をリアルタイムモニタリングし、フィードバック的に培養時間、培養条件等を適宜調節すれば、生産効率の向上、不純物量の低下、原薬の一定性確保という視点から、より合理的な生産管理が可能と考えられる。したがって、培養工程における各種リアルタイムモニタリング手法、精製工程における不純物、混入物質等のリアルタイムモニタリング手法の開発・導入は、製品の一定性確保および品質向上に資するところ甚だ大と思われる。

同様のことは、クロマトグラフィーによる精製工程においても当てはまることであり、流出物のリアルタイムモニタリングを行い、フィードバック的に流出条件を調節するようなシステムにすることで、製品の品質向上も期待できる。

D. 結論

バイオテクノロジー応用医薬品開発への QbD アプローチの具体的な検討は米国を中心に開始されている。製造工程でいえば、生産培養工程、および精製工程のカラムクロマトグラフィーなどについては、具体的な成果もでてい

る。また共通性の高い製造工程で生産可能な抗体医薬を例にとった検討は、有用な情報を提供するものと思われる。

しかし、バイオテク応用医薬品の場合、品質解析手法の限界、分子多様性の存在、解析すべきパラメータの多様性、非臨床試験による安全性予想の限界等のため、品質特性の変化のヒトにおける安全性、有効性への影響予測は、化学合成医薬品に比べると格段に難しい。したがってデザインスペースの適用は限られたものになる可能性が高い。

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Suzuki, T., Nishimaki-Mogami, T., Kawai, H., Kobayashi, T., Youichi Shinozaki, Sato, Y., Hashimoto, T., Asakawa, Y., Inoue, K., Ohno, Y., Hayakawa, T., and Kawanishi, T.: Screening of novel nuclear receptor agonists by a convenient reporter gene assay system using GFP derivatives, *Phytomedicine*, **13**, 401-411 (2006)
- 2) Kawanishi, T.: Regulatory perspectives from Japan - comparability of biopharmaceuticals, *Biologicals*, **34**, 65-68 (2006)
- 3) Kawai, H., Suzuki, T., Kobayashi, T., Ishii-Watabe, A., Sakurai, H., Ohata, H., Honda, K., Momose, K., Hayakawa, T., Kawanishi, T.: Caspase cascade proceeds rapidly after cytochrome c release from mitochondria in tumor necrosis factor-alpha-induced cell death, *J Pharmacol Sci.*, **103**, 159-67 (2007)
- 4) Ishii-Watabe, A., Kanayasu-Toyoda, T., Suzuki, T., Kobayashi, T., Yamaguchi, T., Kawanishi, T.: Influences of the recombinant artificial cell adhesive proteins on the behavior of human