

例えば、免疫系にしばしばみられるように、様々な生体反応につながる場合、標的が普遍的に発現している場合など

- 生理的なフィードバック機構（例えば、免疫系、血液凝固系）による制御を越えて効果が増幅されるカスケード反応やサイトカイン放出。CD3あるいはCD28 アゴニストがその例である。

作用機構に関連したリスク分析を行う際には、次のことも考慮に入れるべきであろう。

—関連する作用機構を持つものがヒトに投与された過去の例

- 薬理作用を介した重篤な毒性発現のリスクに関する動物モデル（トランスジェニック動物、ノックインあるいはノックアウト動物などを含む）での実験結果

—有効成分の分子構造の新規性。例えば、受容体との相互作用を向上させた新規な改変体

• 標的の性質

ヒトにおける標的分子については、詳細に記載すること。作用機構以上に、標的分子の性質自体もヒト初回投与試験におけるリスク要因となり得るため、解析結果に基づき、下記について考察すること。

- ヒトにおける標的分子の構造、組織分布（ヒトの免疫系細胞での発現を含む）、細胞特異性、疾患特異性、機能制御、発現量、下流の反応系への影響を含む生物学的な機能、さらに、それらの個人差や患者と健常人での差に関する知見の程度。

- 可能であれば、適切な動物種あるいはヒトにおける標的分子の遺伝子多型、および、医薬品の薬理作用への遺伝子多型の影響。

• 動物種とモデルの妥当性

標的分子、標的分子の構造上のホモロジー、分布、情報伝達経路、薬理効果の性質を考慮して、利用可能な動物種とヒトとの比較を行うこと。

治験薬の薬理作用および毒性作用の評価を通じて、利用可能な動物種/モデルの妥当性が疑わしいと考えられた場合は、リスクが増すと考えること。

2. 品質

物理化学的性質および生物薬品の場合の生物学的性質の解析に関して求められる要件は、全ての治験薬に共通である。品質特性は、それ自体がヒト初回投与試験におけるリスクの原因とはなり得ないであろう。しかし、ヒト初回投与試験に先立つリスク評価においては、品質特性も考慮すべきである。

考慮すべき要点は、以下の通り。

• 活性と力価の決定

安全な初回投与量を求めるためには、製品の活性や力価を測定する方法が、妥当であり、信頼でき、適格である必要がある。例えば、生物活性を基準として任意の単位で用量が表示され、測定系が適格でない場合や、測定系の信頼性が十分検証されていない場合は、非臨床試験で用いられた用量が正確でなく、安全な用量に関して誤った解釈がなされてしまう可能性がある。従って、生物活性の測定には、開発の早い段階から標準物質を整備することが重要で

ある。生物薬品では、機能あるいは生物活性を測定するバイオアッセイがない場合は、その正当性を示すこと。

● 使用される製品の適格性

非臨床試験に用いられる製品は、ヒト初回投与試験で用いられる製品を体現したものでなければならない。開発の早い段階においても、適切な品質特性解析を行うことが重要である。製品の特性解析においては、不均一性、分解物プロファイル、および、工程由来不純物などの評価を行うこと。薬理活性あるいは毒性を持つ可能性のある不純物には特に注意すること。有効成分および製剤の特性解析を十分に行うために、試験法の妥当性と適格性に特に注意を払うこと。

非臨床試験からヒト初回投与試験に移行する際に、もし製品の品質に違いがあるならば、特に安全性に関して、臨床、悪影響がないことを、十分に保証すること。さらに、開発の初期段階では、製造方法が変更されることがしばしばある。複雑な分子の場合は特に、製法変更により、おそらく特性解析では検出されないものの生物学的性質や臨床効果に影響し得るような微細な変化が有効成分に生じる可能性があるため、注意が必要である。

臨床に関する主要な決定は非臨床データに基づくため、非臨床試験のデータが引き続き有効であることを示すことが重要である。

次のような場合には、ヒト初回投与試験に用いる予定の製品について、追加の非臨床試験が必要となるであろう。

- 非臨床試験用と臨床試験用の製品に品質特性上の相違があり、その違いが臨床効果に悪影響を及ぼす可能性が考えられる場合。

○製造方法が変更された場合で、生物学的性質の評価を含む製品の特性解析が限られていて、非臨床試験で用いられた製品が臨床試験で用いられる製品を体現していると保証できない場合。

● 超低用量の信頼性

指定された処方、設定された用量どおりの量が投与されることを示すこと。非常に低い用量を調製するために製品を希釈して用いる場合、あるいは、製品が非常に低い用量で供給される場合には、器壁や点滴システムへの吸着のために用量の正確性が低下するリスクがある。その場合、初回臨床投与量の安全性と非臨床の安全性データを過大評価してしまう可能性がある。従って、適宜、最初に包装された製品と投与システム中の製品の互換性を調べるべきである。

3. 非臨床試験：動物モデルの妥当性の評価

ヒトと動物では、生物学的な反応において、質的および量的な違いが生じるであろう。例えば、標的分子との親和性、標的分子の組織分布、標的との結合に起因する細胞応答、細胞機能の調節機構、代謝経路、生理的バランスが崩れることに対する代償反応などにおける相違である。

ヒト由来細胞と試験に用いる動物種に由来する細胞を比較した *in vitro* 試験で作用に種特異性があることが示された場合は、ヒトの *in vivo* での反応を予測するという点で、その動物種を用いた *in vivo* 評価系の価値は下がるであろう。ただし、ヒト細胞と動物細胞で同様の反応が得られたとしても、*in vivo* で同等の結果が得られることが必ずしも保障されるわけでは

ないことに注意が必要である。

現実的に、種特異性の高い医薬品の動物実験による評価では、以下のような可能性がある。

- ・ヒトで予想される薬理作用を検出することができない
- ・薬物動態および薬力学の解析結果の誤った解釈につながる
- ・毒性作用を見出すことができない

知見の重要性に基づいて方針を決定するプロセスでは、*in vivo*, *ex vivo*, *in vitro* のデータを統合して解釈すること。

種特異性の高い医薬品では、ヒトでのリスクを非臨床試験で評価することがより難しいが、種特異性が高いことで必ずしもヒト初回投与試験におけるリスクが増すわけではない。

動物モデルの妥当性を示すためには、下記のような点についてヒトとの比較を行うことが考えられる。

- 標的分子の発現、分布、一次構造。ただし、標的分子のホモロジーが高いことは、必ずしも同等の効果が得られることを意味しない。
- 薬力学
 - ・結合と占有率、必要に応じて細胞のシグナル伝達を含めた機能発現の結果
 - ・他の機能ドメインがある場合には、動物におけるそのドメインの機能に関するデータ

(例：モノクローナル抗体のFc受容体システム)

- 代謝および他の薬物動態
- ヒトと動物の組織を用いた交差反応試験

(例：モノクローナル抗体)

適切な動物モデルを探索した過程は詳細に記載し、その妥当性を示すこと。

適切な動物種が存在しない場合は、その動物にとっての相同タンパク質の利用またはヒト型の標的分子を発現させたトランスジェニックニック動物の利用が唯一の選択であろう。医薬品と標的分子の相互作用によりヒトで予想されるものと同様の生体反応が得られる場合、データはより有用である。ヒト細胞を用いた *in vitro* 評価系の利用により、適切な追加情報が得られる。

用いられた全てのモデルの妥当性と限界については、注意深く考察し、添付する書類に全て記載すること。

4. 非臨床・臨床試験：ヒト初回投与量の設定

初回投与量の設定はヒト初回投与試験の被験者の安全確保において、重要な要素である。用量設定には利用可能な全ての情報を考慮し、ケースバイケースの原則に基づいて行わなければならない。原理の異なるいくつかの方法が利用可能である。

一般には、最も感受性の高い適切な動物種を用いて実施された非臨床安全性試験により求められた最大無作用量 No Observed Adverse Effect Level (NOAEL) を、allometric factor または薬物動態学的解析に基づいて補正したものが、最も重要な情報となる。適切な投与量は、分子の特性や臨床試験のデザインに応じて、適切な safety factor を用いてさらに補正することにより算出される。

上記 1. に従いリスク要因があると考えられ

た治験薬では、用量設定のためにその他の方法を考慮するべきである。薬力学に関する解析が用量設定のための有用な情報となり得る。MABEL (Minimal Anticipated Biological Effect Level: 最小予測生物学的影響量) を用いる方法が推奨される。MABEL は、ヒトで最小限度の生物学的影響が得られると予測される用量である。この方法を用いる場合は、*in vitro* 試験などから明らかになるように、ヒトと動物の間で治験薬の作用機構に関して生じ得る感受性の違いを考慮する必要がある。下記のように MABEL からヒト初回投与量を算出する際には、*safety factor* を適用しうる。

MABEL の算出には、以下のような薬物動態/薬力学 (PK/PD) データから利用可能な全ての *in vitro* および *in vivo* の情報を利用すること。

- i) ヒトおよび適切な動物種由来の標的細胞における *in vitro* での標的分子との結合および占有率
- ii) ヒトおよび適切な動物種由来の標的細胞における *in vitro* での用量反応曲線と、適切な動物種における *in vivo* での用量反応
- iii) 適切な動物種への薬理量の投与可能な限り、MABEL 算出のために上記データを PK/PD モデルに統合して解析すること。

ヒトで有害反応が生じる可能性をさらに限定するため、MABEL からのヒト初回投与量算出には、*safety factor* が適用される場合もある。その際には、有効成分の新規性、生物活性、作用機構、種特異性の程度、用量反応曲線の形、MABEL 算出の不確かさなどのリスク要因を考慮する。用いた *safety factor* の妥当性を示す

こと。

使用した方法 (例: NOEL、MABEL) により算出されたヒト初回投与量が異なる場合は、正当性が示されない限り、最も低い用量を用いること。

癌患者を対象に従来型の細胞毒性を持つ治験薬の試験を行うような特別な状況では、他の方法を取ることも考えられる。

2. EMEA ガイドラインの特徴

このガイドラインは、TGN1412 の事故を受けた今後の対策の一環として作成されている。TGN1412 事故の検証にあたった専門家グループからの報告書では、

- ・新規な作用機構を持つ生物薬品
- ・種特異性の高い新薬
- ・免疫系に直接作用する新薬

の3種類を、ヒト初回投与試験で有害反応のおこるリスクが高い、あるいは、非臨床試験でのリスク評価が難しい医薬品として挙げ、これらハイリスク薬の品質および非臨床・臨床試験に関する推奨事項が述べられていた。EMEA ガイドラインもドラフトの段階では、上記3種類に限定してはいないが、リスクの高い医薬品 (化学薬品および生物薬品) を適用対象としていた。ドラフトをもとに、パブリックコメントやワークショップを含めた議論を経て策定されたガイドラインでは、全ての化学薬品および生物薬品を適用対象とし、リスク要因として考えるべきことを述べた形となっている。リスクの程度に関する判断基準は、個々の医薬品によって異なる、という意見が採用されたものと思われる。遺伝子治療薬と細胞治療薬はドラフト

の段階から一貫して適用対象外となっている。

EMEA ガイドラインでは、ヒト初回投与試験で有害事象の発生が懸念されるのは、作用機構、標的の性質、あるいは、動物モデルの妥当性を考えたときに、リスクが高いという知見がある場合、または、それらが明確でない場合、の2通りであるとされた。このように、非臨床試験から臨床試験への移行に焦点を絞り、ヒト初回投与試験で有害事象が生じるリスク要因に関する考え方を明確に記載した点が EMEA ガイドラインの最も重要な特徴である。

TGN1412 の臨床試験で初回投与量の設定が適切でなかった可能性が高いことを受け、EMEA ガイドラインでは、リスク要因のある医薬品のヒト初回投与量の算出には MABEL を基準とした方法が推奨され、さらに、MABEL の算出のための方法が示された。これまで、マイクロドーズ試験のような特殊な場合を除き、臨床投与量は毒性を指標に NOAEL を基準として考えられていたが、リスクの高い医薬品では、薬理作用を基準にヒト初回投与量を算出することを考えるべきであるということが明確に記載されている点も、本ガイドラインの特徴である。

ただし、ヒト初回投与量の設定に MABEL を基準とすることが推奨されるのは、ヒト初回投与試験で有害反応が生じるリスクが高いと考えられる場合であり、全ての治験薬について初回投与量を MABEL 以下とすることが求められているのではない。初回投与量を低く設定することは、臨床試験に必要な被験者数の増加と開発期間の延長につながることも考え、安全性を重視しつつ、個々の医薬品の特性に応じて、最も適切な初回投与量設定を考えるべきであ

ろう。

適切な動物種がない場合の相同タンパク質やトランスジェニック動物の利用について、ICH S6 ガイドラインでは、“should be considered”とされているが、EMEA ガイドラインのドラフトでは、“is strongly recommended”とされた。確定した EMEA ガイドラインでは、“may be the only choice”と、やや表現が弱められている。相同タンパク質やトランスジェニック動物を用いた評価では、有用な情報が得られる場合があるものの、ヒトでの作用を完全に予測し得るものではない等の意見が採用されたものと思われる。TGN1412 の開発過程では、TGN1412 が作製される以前に、マウス抗ラット CD28 抗体 JJ316 (サブクラスは IgG1) を用いて CD28 アゴニスト抗体の有効性や作用機構が検討されていた。JJ316 は TGN1412 の相同タンパク質であると考えられることもできるが、ラットでは問題となる有害反応が生じていなかったことを考えると、TGN1412 の安全性評価においては、相同タンパク質は有用でなかったと言える。

EMEA ガイドラインでは医薬品の品質に関する留意事項も具体的に記載されている。特に、バイオ医薬品では、医薬品の製造のために細胞を利用すること、有効成分が複雑な構造を持つことなどから、製品の品質が製造工程の影響を受けやすい。すなわち、生産用細胞株、培養条件、精製工程などにより、糖鎖などの修飾部分も含めた最終製品の構造、分解物、不純物プロファイルなどが変動する可能性があり、これらの変化が製品の薬理作用や毒性に影響することも考えられる。有効成分が糖タンパク質である場合は、得られる有効成分が複数の糖鎖構造

を持つものの集団であり、構造上の不均一性を示すために、製造工程の変動により特に品質に差が生じやすい。抗体も糖タンパク質であり、糖鎖構造が生物活性に影響することが知られている。その一方で、バイオ医薬品の開発段階では、発現効率や精製効率の向上、混入汚染物質の不活化効率の向上、あるいは、コスト削減などのために、製造工程に変更が加えられることが少なくない。基礎研究から非臨床試験、臨床試験と移行するに従い、必要な製品の量も増えるため、スケールアップは必至である。

このような事情を背景に、EMEA ガイドラインでは、非臨床試験で用いられた製品と臨床試験で用いる製品の品質特性に差がないことに注意すべきであること、製造工程に変更が加えられた場合や、製法変更の有無によらず品質特性に差が検出された場合に、臨床試験用の製品を用いた追加の非臨床試験が必要とされる場合があることが明記されている。開発の各段階で製品の品質の一定性を確保するためには、ガイドラインに示されているように、早い段階から適切な標準品を作成することが有効であると思われる。

C-3 抗体医薬品の品質特性解析

1. 抗体医薬品の構造的特徴

モノクローナル抗体は単一の抗体産生細胞が産生する抗体(免疫グロブリン)分子であり、特定の抗原に対する特異性を持つものと規定することができる。世界で承認されているモノクローナル抗体医薬品に加え、開発途中にある製品を含めると非常に膨大なものになるといわれている。これまで開発されてきた抗体医薬品は、IgG1、IgG2、IgG4 のサブクラスがあり、かつ抗腫瘍効果を増強するために放射線標識やトキシンを結合させた抗体医薬品、Fab 断片

や PEG 化修飾を行った製品など、いくつかの改変体製品も既に市場に出されている。

一方で、ヨーロッパ医薬品庁(EMEA)でオーファンドラッグの承認を受けた抗体医薬品は40品目近くに上り、詳細な特徴は不明ながら多様な製品が開発中であることが分かる。これらの製品すべてが医薬品になるとは考えられないが、開発動向を把握する上では有用な参考情報と思われる。今後、単にモノクローナル抗体のみを有効成分とするのではなく、有効性の更なる増強や、安全性確保などの観点から、さまざまな改変を加えたり、さらには修飾したりする製品が開発されてくると考えられる。また2価抗体のように同時に2つのターゲット分子に結合する能力を有し、複数の機能を持つというこれまでにないコンセプトをもつ製品の開発も進められている。このような開発動向も視野に、抗体医薬品の品質・安全性確保の要件を考えてみたい。

抗体医薬品の品質・安全性を考える上での大きな特徴は、他のバイオ医薬品と異なり基本的に共通する骨格構造を持つ製品であるという点である。最新の開発中の製品ではこのようなコンセプトの適用が必ずしも適用しにくいものもあるが、基本的には培養工程や精製工程などの製造方法の確立、不純物の除去やウイルス安全性評価、さらにはそのバリデーションを含めて非常に共通した基盤技術が適用可能であるということを意味している。たとえば、製法開発において、既に承認を受けている類似した抗体医薬品や先行して開発している類似抗体医薬品がある場合に、共通する基盤技術を開発に利用することが考えられる。

2. 製造工程

2.1.モノクローナル抗体産生細胞株の樹立

現在、殆どのモノクローナル抗体医薬品はキメラ抗体やヒト化抗体、あるいはヒトモノクローナル抗体としてヒトでの抗原性をできる限り低減化する方向で製品化されており、異種抗体を用いた製品の開発はほとんど行われていない。例外的に、マウス抗体等の開発も続けられているが、短期的な使用に限定されているようであり、そのような製品の開発では抗原性についての妥当性を示す必要があると考えられる。現在承認申請されてくる抗体医薬品は組換えDNA技術を用いてモノクローナル抗体産生細胞を作製し、この細胞を用いて製造を行う最新の科学技術が使われている。組換えDNA技術を用いて製造されるモノクローナル抗体医薬品に関しては、組換えDNA技術を用いて製造される医薬品のガイドライン、ICH Q5A、ICH Q5B、ICH Q5D ガイドライン(5,6,8)を参照して細胞の樹立、ウイルス安全性評価、導入遺伝子や製造にわたっての遺伝的安定性を評価することが求められるであろう。

多くのターゲットとする抗原への結合する超可変領域や可変領域を得るためにハイブリドーマ作製技術や関連する技術が用いられているが、場合によってはモノクローナル抗体の臨床開発初期段階にも、ハイブリドーマ技術等を用いて製造されたモノクローナル抗体(ヒト化あるいはヒト抗体を産生する先端技術が用いられている)を用いていることもある。このような場合、臨床開発の進展に伴って組換えDNA技術を用いた製造へと変更が行われている。製法変更に当たっては後述するICH Q5Eガイドライン(10)にしたがって旧製法で得られた製品との同等性・同一性評価が必要となる。

2.2. 抗体医薬品製造に用いられる組換えDNA

技術及び細胞バンクの樹立

抗体産生にも用いる発現システムについては、用いる遺伝子発現ベクターの構造や特性、さらに宿主細胞に関する情報を含めて明らかにしておくことが求められるであろう。

生産クローンを得るために用いる目的遺伝子を得るために細胞融合やウイルスによる形質転換、さらには遺伝子ライブラリーやファージディスプレイなどの特殊な技術を用いる場合には、このような目的遺伝子を得るための前処理工程について、目的遺伝子の由来やクローニング法について理解可能な程度の情報を明らかにするとともに、製造期間にわたっての安定性についてもデータを示す必要がある。

2.3. モノクローナル抗体の製造

モノクローナル抗体原薬の製造工程(細胞培養や精製工程)の確立及びその恒常性を示すために、1)製品の不均一性に関して恒常性のある製造が担保されていることや2)製品及び製造関連不純物(例えば宿主由来タンパク質、DNA、プロテインA、細胞培養に用いる成長因子等)の十分な除去能を持つことなどを明らかにする必要がある。生産細胞基材の開発や培養技術の飛躍的な進展から、殆どのケースで無血清条件下での培養工程が採用されている。従って、製造の確立において問題となる工程由来不純物の多くが宿主由来タンパク質やDNAである。しかし、無血清培養であっても、細胞培養で用いる増殖因子や種々の添加剤についても、除去状況の評価や必要に応じて最終製品等での規格設定を考慮すべきであろう。

抗体医薬品の開発段階及び製造工程バリデーションを実施する際には、遺伝的安定性、培養工程及びハーベストの最適化(イーロードや製

品の品質など)について注意を払う必要がある。また、適切な工程管理を行い、必要に応じて重要工程の設定も考慮すべきであろう。

2.4. 抗体医薬品に共通する製造工程

最初に述べたように、モノクローナル抗体の構造、物理化学的特性については、長年の工業的に抗体産生及び製造工程の経験によって、非常に理解が進んでいる。すなわち、異なるモノクローナル抗体であっても、共通の精製工程等を適用できるというコンセプトが確立されてきている。しかも、精製工程を試行錯誤の上に設計するのではなく予め最適な工程を設計可能であるとも考えられている。この抗体医薬品に共通して適用できるコンセプトについては EMEA のモノクローナル抗体に関するガイドラインではプラットフォーム工程と呼ばれている。

多くの抗体医薬品の共通する製法としては、図 1 に示すように、バルクハーベストを以降のカラム工程等に導入するためのろ過や限外濃縮、緩衝液の調整等を行い、ついでプロテイン A カラムによるアフィニティークロマトグラフィー工程を行っている。さらに、複数のイオン交換クロマトグラフィーや疎水性クロマトグラフィーなどのカラムクロマトグラフィー工程による精製を経て、ウイルス除去膜工程を行うことが良く行われている。さまざまなバリエーションがあり、必ずしも全てが同様の工程が採用されているわけではないが、欧米のモノクローナル抗体製品に関するガイドラインもこのような製法の共通性を前提に記載されている。

また、ウイルスクリアランス工程についてもプロテイン A クロマトグラフィー工程と溶出後の酸性処理工程、ウイルス除去膜工程、さら

には特定のカラムクロマトグラフィー工程などを評価対象とすることが広く行われている。しかし、このことはモノクローナル抗体製品の工業化に当たって必ずしも同一の精製工程が適用可能であることを意味しているわけではない。むしろ、製造業者はそれぞれ製品の特徴に応じて製造工程を最適化しておくことが求められる。

2.5. ウイルス安全性と伝達性海綿状脳症

ウイルス安全性に関しては、ICH Q5A ガイドライン(5)に準拠することが求められる。ICH Q5A ガイドラインでは、生産細胞のウイルス試験からバルクハーベストの試験のみならず、製造工程でのバリデーションについても記載されている。基本的には抗体医薬品においても他のバイオ応用医薬品と同様な要件が求められると考えられるが、モノクローナル抗体製品に共通する特性やそれとづく製造工程の高い類似性から、開発段階では、より効率的・合理的なアプローチが可能となるであろう。特に同一の宿主細胞を用いる場合などでは、セルバンク試験などでは共通の試験が適用できるであろうし、またウイルスバリデーションの設計に当たっては効率的な試験デザインが可能と考えられる。

ウイルスクリアランス工程として評価の対象となるプロテイン A クロマトグラフィー工程やウイルスろ過工程などは抗体濃度や緩衝液系などの設定は共通化が可能な場合が考えられる。また、ウイルスクリアランス工程ではクロマトグラフィー工程によるウイルス除去工程と溶出後の酸性処理時間のデザインなどを合理的に設定することが可能と思われ、また一度十分な評価を行っておくことにより除去

工程と不活化工程を分けて評価することも可能になると思われる。承認申請におけるデータとしては製品ごとに評価を行うことが必要と考えられるが開発初期においては企業の経験等を参考にすることも可能であろう。

承認申請データとしては抗体医薬品ごとに十分なウイルスクリアランスのバリデーションを行うことが必要であるが、各カラムクロマトグラフィー工程のウイルスのキャリアオーバーやカラムのサンテーションなどは他の製品での経験やデータを利用することも可能と考えられる。

一方、抗体医薬品は従来のバイオテクノロジー一応用医薬品と異なり、一般的に投与量が多いことも特徴であり、かつより臨床効果を高めるために大量投与を行うケースも想定される。したがって、今後より効率的あるいは生産性の高い細胞基材を用いたモノクローナル抗体医薬品の開発が進む可能性が高いと考えられるが、CHO や NSO 細胞等の多くの経験のある細胞基材と異なり、あらたに情報や経験を積み重ねていく必要がある。このことは新規有用細胞の使用を避けるべきということではなく、より高い生産能は有効成分の含量の高いバルクハーベストが得られることを意味しており、不純物等の低減化につながる可能性もあり、積極的な取り組みはむしろ推奨されるべき点も多い。

開発過程及び製造工程でウシ由来原材料や TSE の伝播のリスクのある動物種由来の原材料を用いた場合には、「生物由来原料基準」を参照し、妥当性を評価しておくことが必要となる(11)。

3. 特性解析

3.1. 一般的要件

モノクローナル抗体医薬品の品質特性解析では、他のバイオテクノロジー一応用医薬品と同様に ICH Q6B ガイドライン(6)に従い、抗体の生化学的/物理化学的特性及び生物学的/免疫学的特性等について明らかにすることが求められる。抗体医薬品に特に関連する事項について述べてみたい。構造解析では、一次構造、高次構造、物理化学的特性に関して特性解析を行うことが求められる。DNA 配列によりコードされる一次構造についてはペプチドマッピングやアミノ酸配列分析により確認をしておくことが必要であり、特に後述する C 末端や N 末端のプロセッシングの確認からも重要である。

また、抗体のクラス、サブクラス、軽鎖の構造決定をまず明らかにするべきである。また、IgG4 サブクラスに属するモノクローナル抗体では、一本鎖抗体の存在比についても明らかにしておく必要がある(12)。

3.2. 不均一性

モノクローナル抗体の共通する特徴として翻訳後修飾やプロセッシングにより、製品中に多様な分子集合体が含まれることがあげられる。このようなモノクローナル抗体製品の大きな不均一性については、等電点電気泳動 (IEF)、イオン交換クロマトグラフィー (IEC)、キャピラリー電気泳動 (CE) など、できる限り多様な手法を用い、あらゆる角度から解析することが必要である。また、ロット間での不均一性の恒常性について示すことも重要である。モノクローナル抗体はその分子量の大きさから、通常の分析手法では十分な分離能を得ることは困難かもしれないが、最新の液体クロマトグラフィーや CE を用いることにより、不均一性に

基づく複数のピークを分離することも可能となってきた。全てのマイナーピークについての特性まで明らかにすることは不要と思われるが、可能な限り分子の不均一性を明らかにし、特にメジャーピークについては構造や可能であれば生物活性についても明らかにすることが望ましいといえる。

モノクローナル抗体の不均一性の特徴の一つは C 末端アミノ酸のプロセッシングによる差異があげられる。C 末端のリジン残基は、しばしばあるいは完璧にカルボキシペプチダーゼ B 様活性により分解を受けることが知られている。従って、リジン残基の除去の程度について明らかにすることが必要である。また、H 鎖 N 末端のアミノ酸はグルタミンやグルタミン酸であることが多く、その一部が自発的に縮合しピログルタミン酸になっていることがあり、このような解析には N 末端ペプチドの質量分析が有用である(図 2)。

抗体医薬品に不均一性を与える要因として翻訳後修飾としての糖鎖の結合があげられる。抗体の代表的な糖鎖構造として、重鎖 Fc 部位に 1 つの N 型糖鎖のコンセンサス結合部位があることがよく知られており、軽鎖にはこのようなコンセンサス糖鎖はない。抗体のコンセンサス糖鎖結合部位に見出される糖鎖構造は基本的にパイアンテナリー構造であり、末端のガラクトース残基の結合の有無により G0、G1、G2 構造と呼ばれている(図 3)。抗体医薬品の糖鎖構造に関しては、コンセンサス糖鎖結合部位の糖鎖構造を含め、全ての糖鎖構造の特性解析を行うと共に、シアル酸の結合の有無についても考慮を払う必要がある。

特に ADCC 活性を持つ抗体医薬品ではコンセンサス糖鎖のフコースの結合の有無が大きく影響することが知られており、結合の有無ばかりでなく結合の有無に基づく不均一性の程度とその恒常性についても明らかにしておく必要がある(13, 14)。また、げっ歯類細胞を宿主として用いる場合には、異種抗原である Gal α 1-3Gal によるアナフィラキシーの報告(15)もあることから、Gal α 1-3Gal 残基の有無、存在が確認できた場合には存在量とロットごとの恒常性についても十分に解析しておくことが必要となるであろう。

これまでの製品ではグルコシルノイラミン酸による有害事象については報告がないが、今後大量投与を行うような抗体医薬品の開発ではその安全性について考慮することも必要であろう。

3.3. 生物活性や免疫学的特性について

抗体医薬品の生物活性や免疫学的特性は薬理作用と重複することも多いと考えられるが、構造や不均一性との関係なども考慮し、品質特性として可能な限りさまざまな角度から評価しておくことが求められる。有効成分のみならず、分離可能な主要な目的物関連物質の生物活性も評価しておくことが有用である。

また、糖鎖の生物活性に及ぼす影響を評価するために、適用可能であれば糖鎖の一部あるいは全てを除去した抗体分子を用いて生物活性を評価しておくことが望ましい。このような解析により糖鎖構造が生物活性や体内動態に与える影響についても明らかにできるかもしれない。糖鎖の有無が体内動態に影響する可能性のあるときには、モデル動物を用いた生物活性の評価が有用な場合もある。いずれにしても、糖鎖が生物活性や体内動態に重要な役割を担

っていることが明らかになった場合には、後述する糖鎖に関する規格試験の設定を考慮し、糖鎖の質的、量的な恒常性を担保することも必要になってくる。ただし、糖鎖試験と生物活性試験は相互補完的な面があり、試験設定においては合理的な判断も可能である。

3.4. 特異性と交差反応性

上記したようにモノクローナル抗体が認識するエピトープ（アミノ酸配列や相当する構造単位）を明らかにすることが求められるが、一方安全性の観点から目的としていないエピトープとのモノクローナル抗体の反応性や目的外のヒト組織に対する傷害性について十分考慮することが必要となる。交差反応性については、動物での試験では当然限界があり、また、霊長類を用いたとしても必ずしもヒトに外挿できるわけではない。従って、技術的な限界から、十分な交差反応性の解析は容易ではないと考えられるが、可能な範囲で、免疫組織学的手法を用いて各ヒト組織に対する交差反応性についても明らかにすること安全性確保の点から有用である。

交差反応性について評価すべきヒト組織に関して、EMEA では次のような組織・器官の解析を行うことが推奨されている；扁桃、胸腺、リンパ節、骨髄、血球細胞、肺、肝臓、腎臓、膀胱、脾臓、平滑筋組織を含む胃、腸、膵臓、parotid(耳下腺)、甲状腺、副甲状腺、副腎、下垂体、脳、末梢神経、心筋、骨格筋、卵巣、精巣、皮膚、血管。これは、例示と考えてよいであろうが、今後さまざまな技術的進歩—例えばES細胞やiPS細胞の利用により様々なヒト細胞が利用できるようになれば、有用な評価法となってくると期待される。

4. 規格試験法

抗体医薬品の規格試験法の設定では、ICH Q6B ガイドライン(6)の原則に従って従来のバイオ医薬品と同様の対応が求められる。特に、抗体医薬品で特に考慮すべき事項としては、確認試験、力価、糖鎖、不均一性の恒常性に関して特別な考慮が必要と考えられる。

抗体医薬品は、共通の基本構造を持つという高い類似性があることから、確認試験設定での特別な配慮が求められる。すなわち、ペプチドマッピングのような非常に特異性の高い試験法を設定するか、高い免疫反応（例えばELISA試験）のように免疫学的特異性を利用した試験法等を考慮すべきであろう。特に、複数のモノクローナル抗体製品を製造あるいは開発している場合には、このような特性の高い確認試験が有用である。

抗体製品の力価/生物活性の規格設定では、可能な限り臨床効果に密接に関連する指標を用いて設定することが望ましいと考えられる。目的とするモノクローナル抗体の主作用が単に目的分子との結合や中和活性のみである場合には、目的物質との結合性を規定する（ELISA試験のようなアッセイ法）力価試験が適切であろう。一方、治療効果としてエフェクター活性等を持つ場合には、細胞を用いたアッセイ法や他のエフェクター効果に関連するアッセイ法を考慮することが望ましい。また抗体医薬品であっても、比活性は製造の一定性を担保するための重要なパラメーターであることから、その設定を行うべきであろう。

抗体医薬品の糖鎖は免疫系細胞の活性化等の生理活性の制御に重要な役割を果たしていることが知られている。従って、抗体医薬品の

生物活性として ADCC 等の部位への結合活性の恒常性に影響する可能性がある。ADCC 活性や CDC 活性が知られている抗体医薬品では、これらの生物活性の規格設定の有無を考慮し、糖鎖についての規格設定の必要性を考慮すべきであろう。また、糖鎖が体内動態に影響を与えることが明らかにされている場合には糖鎖に関する規格設定が必要となろう。また、異種抗原として知られている Gal α 1:3Gal を持つことが明らかな場合には、製造における恒常性が十分に担保されない限り、その存在量の規格試験が必要となると考えられる。

また、糖鎖構造に関して、少なくとも G0、G1、G2 の存在量や存在比に関する試験の設定の必要性を考慮すべきであろう。このような規格試験法は、製造における恒常性を担保することに役立つ。

抗体医薬品は極めて高い不均一性を持つことが知られている。従って、製造工程における不均一性の恒常性を担保するために、IEF、イオン交換クロマトグラフィー (IEC)、キャピラリーゾーン電気泳動等のタンパク質の荷電の不均一性を指標とする規格を設定することが望ましいと考えられる。

5. 製法変更に伴う同等性・同質性評価

製法工程変更後の同等性・同質性評価に関しては、他のバイオ医薬品と同様に ICH Q5E ガイドライン(9)で示されている点に従って評価を行うことが求められる。抗体医薬品開発の特徴として、臨床開発中においてもかなりの頻度で製法変更が行われていることが挙げられる。これは、抗体医薬品の開発戦略としてターゲットとする抗原は非常に明確であるが、抗原との親和性や生物活性などの細胞や動物を用いた非

臨床試験では臨床効果の評価が困難な場合が多いためと考えられる。

抗体医薬品の製法変更での同等性・同質性評価では臨床効果と密接に関連する生物活性/免疫学的特性について特に考慮すべきである。また、糖鎖構造を含む製品の不均一性についても特に配慮すべきであろう。

D. 結論

1) EMEA の「開発バイオ治療薬のウイルス安全性評価指針」(案)は、臨床開発段階の製品についてウイルス安全性確保の要件を明らかにしようとしたものであるが、ウイルス安全性のデータの取り扱いや、新たなウイルス安全性試験の活用など、承認申請での評価においても有用な情報が含まれている。我が国における、バイオ医薬品のウイルス安全性評価においても貴重な情報が得られた。

2) TGN1412 の事故を教訓に、今後、主として医薬品の開発側には、臨床試験の安全性を担保するための新たな試験法の開発や、非臨床試験系の妥当性に関するより確実な検証が求められ、規制側には、被験者の安全を確保しつつ、新薬創出の妨げとならならないよう、非臨床・臨床試験に求められる要件を整理していくことが望まれる。その際には、非臨床試験で全てを明らかにすることは困難であること、医薬品のヒトにおける有効性・安全性は臨床試験を経て明らかにされるものであり、市販後調査なども含めた総合的な対応が必要であると考えられる。

3) 抗体医薬品の開発は今後も拡大していくと考えられ、また抗体作成技術を基盤とした多様な製品も開発されてくると想定される。これらの製品の品質や安全性評価に当たっても、従来のバイオ医薬品を適用することができると考

えられる。一方で抗体という極めて共通する特性を有する医薬品であることから、開発における基盤技術の共通性ととも、承認申請を含めた評価においても共通のプラットフォームがあることを前提に、より効率的な開発や承認審査が可能になってくるのではないかと考えられる。

一方抗体薬品は、TGN1412 の開発における重大な有害事象発症やリツキサンによる肝炎ウイルスの再燃などこれまでのバイオ医薬品とは大きく異なる副作用も知られてきており、開発段階や承認後にも十分な配慮と注意が必要である(16, 17)。

E. 参考文献

1. Guidance for Industry for the Submission of Chemistry, Manufacturing and Controls Information for a Therapeutic Recombinant DNA-derived Products or Monoclonal Antibody Products for In Vivo Use, CDER/CBER, FDA, 1995.
2. Point to Consider in the Manufacturing and Testing of Monoclonal Antibody Products for Human Use. CBER, FDA 1997
3. Guideline; Production and Quality Control of Monoclonal Antibodies (EMEA, 3AB4A, 1994)
4. Draft guideline; Guideline on Production and Quality Control of Monoclonal Antibodies and Related Substances. EMEA/CHMP/BWP/157653/2007, 2007
5. 医薬審第 329 号 「ヒト又は動物細胞株を用いて製造されるバイオテクノロジー応用医薬品のウイルス安全性評価」について (ICH ガイドライン Q5A) .
http://www.pmda.go.jp/ich/q/q5a_00_2_22.pdf
6. 医薬審第 3 号「組換え DNA 技術を応用したタンパク質生産に用いる細胞中の遺伝子発現構成体の分析について」(ICH ガイドライン Q5B) .
http://www.pmda.go.jp/ich/q/q5b_98_1_6.pdf
7. 医薬審第 6 号「生物薬品(バイオテクノロジー応用製品/生物起源由来製品)の安定性試験について」(ICH ガイドライン Q5C) .
http://www.pmda.go.jp/ich/q/q5c_98_1_6.pdf
8. 医薬審第 873 号「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)製造用細胞基剤の由来、調製及び特性解析」について (ICH ガイドライン Q5D) .
http://www.pmda.go.jp/ich/q/q5d_00_7_14.pdf
9. 医薬審第 571 号「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)の規格及び試験方法の設定について」(ICH ガイドライン Q6B) .
http://www.pmda.go.jp/ich/q/q6b_01_5_1.pdf
10. 薬食審査発第 0426001 号「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う同等性/同質性評価について」(ICH ガイドライン Q5E) .
11. 生物由来原料基準; 厚生労働省告示第 210 号. 2003
12. Aalberse, RC. Schuurman, J.: IgG4 breaking the rules. *Immunology* 105, 9-19, (2002)
13. Natsume A, et al: Fucose removal from complex-type oligosaccharide enhances the antibody-dependent cellular cytotoxicity of single-gene-encoded bispecific antibody comprising of two single-chain antibodies linked to the antibody constant region. *J. Biochem.* 140, 359-368. (2006)
14. Greenwood J, Clark M, Waldmann H.: Structural motifs involved in human IgG

antibody effector functions. *Eur J Immunol.* 23, 1098-1104. (1993)

15. Chung H. et al.: Cetuximab-Induced Anaphylaxis and IgE Specific for Galactose α 1,3-Galactose. *New Engl. J. Med.* 358, 1109-1117 (2008)
16. 山口照英、石井明子：次世代バイオ医薬品の開発にあたっての非臨床試験・臨床試験に

ついて。-TGN1412 事故が医薬品開発に与えたインパクト。「毒性質問箱」1-32、2008

17. Perceau G, et al: Late lethal hepatitis B virus reactivation after rituximab treatment of low-grade cutaneous B-cell lymphoma. *Br J Dermatol.* 155, 1053-1056 (2006)

F. 研究業績

<論文発表>

1. Watanabe, K., Hyuga, S., Hyuga, M., Sekiguchi, A., Endo, M., Tsuda, T., Oikawa, T., Yamaguchi, T., and Hanawa, T., Unkeito, a traditional Kampo formula, exhibits a selective estrogen receptor modulator-like activity. - Prevention of osteoporosis in ovariectomized mice - *J. Trad. Med.*, (in press)
2. Nana Kawasaki, Satsuki Itoh, and Teruhide Yamaguchi: LC/MS of oligosaccharides. *Glycoscience Lab. Manual.*, Ed. Naoyuki Taniguchi, (in press)
3. Nana Mukai, Taichi Akahori, Motohiro Komaki, Toshie Kanayasu-Toyoda, Akiko, Ishii-Watabe, Akiko Kobayashi, Teruhide Yamaguchi, Mayumi Abe, Teruo Amagasa, Ikuo Morita: A comparison of the tube forming potentials of early and late endothelial progenitor cells. *Exp. Cell Res.* (in press)
4. Noritaka Hashii, Nana Kawasaki, Satsuki Itoh, Yukari Nakajima, Toru Kawanishi, and Teruhide Yamaguchi: Alteration of N-glycosylation in the kidney in a mouse model of systemic lupus erythematosus: Relative quantification of N-glycans using an isotope tagging method. *Immunology*, 2008, (in press)
5. 川崎ナナ, 橋井則貴, 杉本直樹, 高倉大輔, 秦 艶, 細山沙織, 戸井田敏彦, 山口照英: ヘパリン純度試験に関する研究(3) 過硫酸化コンドロイチン硫酸標準品の品質評価. *医薬品研究*, (印刷中)
6. 川崎ナナ, 橋井則貴, 杉本直樹, 高倉大輔, 秦 艶, 細山沙織, 戸井田敏彦, 山口照英: ヘパリン純度試験に関する研究(4) 過硫酸化コンドロイチン硫酸標準品の品質評価. *医薬品研究*, (印刷中)
7. 川崎ナナ, 橋井則貴, 山口照英: 文部科学省特定領域研究「糖鎖によるタンパク質と分子複合体の機能解析」(Functional Glycomics) 研究成果公開発表シンポジウム「第3の生命鎖:糖鎖の謎が今,解る」(監修:古川鋼一) (印刷中)
8. 川崎ナナ, 石井明子, 山口照英: 糖鎖と生物薬品. *Journal Applied Glycoscience.* (印刷中)
9. 掛樋一晃, 木下充弘, 橋井則貴, 川崎ナナ, 寺尾敏光, 河合健蔵, 余田 光, 山口照英: ヘパリンナトリウム純度試験に関する研究(第3報) キャピラリー電気泳動法によるヘパリンナトリウム不純物の分析. *医薬品研究* (印刷中)
10. K. Satoh, A. Iwata-Takakura, A. Yoshikawa, Y. Gotanda, T. Tanaka, T. Yamaguchi & H. Mizoguchi, A new method of concentrating hepatitis B virus (HBV) DNA and HBV surface antigen: an application of the method to the detection of occult HBV infection, *Vox Sanguinis*, 95, 174-180, (2008)
11. Harazono, A., Kawasaki, N., Itoh, S., Hashii, N., Matsuishi-Nakajima, Y., Kawanishi T. and Yamaguchi, T.: Simultaneous glycosylation analysis of human serum glycoproteins by high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. B* 869: 20-30 (2008)
12. 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, 10132-10154, (2008)
13. Nana Kawasaki, Satsuki Itoh, Noritaka Hashii, Akira Harazono, Daisuke Takakura, Teruhide Yamaguchi: Mass spectrometry for analysis of carbohydrate heterogeneity in characterization and evaluation of glycoprotein products. *Trends in Glycosci. Glycotech.* 20, 97-116 (2008)
14. Takuo Suzuki, Norimasa Tamehiro, Yoji Sato, Tetsu Kobayashi, Akiko Ishii-Watabe, Youichi Shinozaki, Tomoko Nishimaki-Mogami, Toshihiro Hashimoto, Yoshinori Asakawa, Kazuhide Inoue, Yasuo Ohno, Teruhide Yamaguchi, and Toru Kawanishi: The novel compounds that activate farnesoid X receptor: the diversity of their effects on gene expression. *J. Pharmacol. Sci.* 107(3), 285-294 (2008)
15. Mizuho Harashima, Kayo Harada, Yoshimasa Ito, Masashi Hyuga, Taiichiro Seki, Toyohiko Ariga, Teruhide Yamaguchi, Shingo Niimi. Annexin A3 Expression Increases in Hepatocytes and is Regulated by Hepatocyte Growth Factor in Rat Liver Regeneration, *J. Biochem.* 143, 537-545 (2008)
16. Tanabe S, Sato Y, Suzuki T, Suzuki K, Nagao T, Yamaguchi T. Gene expression profiling of human mesenchymal stem cells for identification of novel markers in early- and late-stage cell culture. *J Biochem.* 144, 399-408, (2008)
17. 山口照英, 内田恵理子: 日米 EU 医薬品規制調和国際会議遺伝子治療専門家会議の活動と遺伝子治療薬の規制に於ける国際動向. *Drug Delivery System*, 22, 651-659 (2008)
18. 山口照英, 石井明子: 細胞・組織加工医薬品の品質と安全性確保への提言 *PHARMASTAGE*, 7, 1-6 (2008)
19. 原園 景, 川崎ナナ, 伊藤さつき, 小林 哲, 石川リカ, 高井俊紀, 古賀明子, 岡本寿美子, 山口秀人, 濱詰康樹, 佐藤貴之, 窪田雅之, 掛樋一晃, 木下充弘, 島 圭介, 山田真希, 山口照英: 質量分析法を用いたペプチド及びタンパク質性医薬品の確認試験法に関する研究. *医薬品研究* 39(10), 627-646 (2008)
20. 川崎ナナ, 橋井則貴, 山口照英: 糖鎖異常の網羅的解析. *蛋白質核酸酵素増刊号「糖鎖情報の独自性と普遍性*. 53, 1690-1696 (2008)
21. 橋井則貴, 川崎ナナ, 高倉大輔, 伊藤さつき, 川原信夫, 正田卓司, 杉本直樹, 齋島由二, 品川麻衣, 榎葉信久, 宮田一義, 塚本秀樹, 千秋和久, 長谷川泰介, 河合健蔵, 余田光, 木下充弘, 掛樋一晃, 合田幸広, 奥田晴宏, 棚元憲一, 山口照英: ヘパリン純度試験に関する研究 (第1報) ¹H-NMR によるヘパリンナトリウム純度試験に関する研究. *医薬品研究*, 39, 651-659 (2008)
22. 橋井則貴, 川崎ナナ, 高倉大輔, 伊藤さつき, 福原 潔, 品川麻衣, 榎葉信久, 有村雅敏, 辰巳昌史, 奥田晴宏, 山口照英: ヘパリン純度試験に関する研究 (第2報) ¹H-NMR によるヘパリンカルシウム純度試験に関する研究. *医薬品研究*, 39, 660-664 (2008).
23. 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)
24. 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(6), 359-387 (2008)
25. Satsuki Itoh, Daisuke Takakura, Nana Kawasaki, and Teruhide Yamaguchi: Glycopeptide analysis using LC/MS and LC/MS/MS, in *The Protein Protocols Handbook* (John Walker, ed.) Humana, Totowa, NJ. (2007)
26. Uchida E, Kogi M, Oshizawa T, Furuta B, Satoh K, Iwata A, Murata M, Hikata M, Yamaguchi T. Optimization of the virus concentration method using polyethyleneimine-conjugated magnetic beads and its application to the detection of human hepatitis A, B and C viruses. *J Virol Methods.* Jul;143(1):95-103. (2007)
27. Kanayasu-Toyoda, T, Suzuki, T., Oshizawa, T., Uchida, E., Hayakawa, T., Yamaguchi T: Granulocyte Colony-Stimulating Factor Promotes The Translocation of Protein Kinase C ϵ in Neutrophilic Differentiation Cells, *Journal of Cellular Physiology.* 211, 189-196 (2007)

28. Noritaka Hashii, Nana Kawasaki, Yukari Matsuishi, Masashi Toyoda, Yoko Katagiri, Satsuki Itoh, Akira Harazono, Akihiro Umezawa, and Teruhide Yamaguchi: Study on the quality control of cell therapy product: Determination of N-glycolylneuraminic acid incorporated into human cells by nano-flow liquid chromatography/Fourier transformation ion cyclotron mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, 1160, 263-269 (2007)
29. Yamaguchi, T., Uchida, E.: Regulatory Aspects of Oncolytic Virus Products. *CCDT Journal*, 7, 203-208 (2007)
30. 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)
31. 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, 1767-1773 (2007)
32. Ishii-Watabe, A., Kobayashi, T., Suzuki, T., Yamaguchi, T., Kawanishi, T.: Influences of the recombinant artificial cell adhesive proteins on the behavior of human umbilical vein endothelial cells in serum-free culture. *Biologicals*, 35, 247-257 (2007)
33. Kanayasu-Toyoda T, Ishii-Watabe A, Suzuki T, Oshizawa T, and Yamaguchi T. A new role of thrombopoietin enhancing ex vivo expansion of endothelial precursor cells derived from AC133 positive cells. *J Biol Chem.*, 282, 33507-33514 (2007)
34. Niimi, S., Harashima, T., Yamaguchi, T.: Study of hepatocytes using RNA interference. *Journal of Organ Dysfunction*, 3, 164-182 (2007)
35. 川崎ナナ, 伊藤さつき, 原園 景, 橋井則貴, 山口照英: 液体クロマトグラフィー/質量分析法を用いた糖タンパク質構造解析. *実験医学増刊号*, 25, 1127-1136 (2007)
36. 川崎ナナ, 橋井則貴, 伊藤さつき, 山口照英: 細胞治療薬の品質・安全性評価における糖鎖解析の重要性と LC/MS の応用可能性. *News Letter 糖鎖フラッシュ号, Functional Glycomics*, 9, 35-41 (2007)
37. 山口照英: Gene Therapy Discussion Group の動向について. *医薬品研究*, 38, 50-59, (2007)
38. 内田恵理子, 石井(渡部) 明子, 山口照英: 遺伝子治療薬及び細胞治療薬のウイルス安全性確保. *臨床ウイルス学会誌*, 35, 278-290 (2007)
39. 山口照英, 石井明子: 次世代バイオ医薬品の開発にあたっての非臨床・臨床試験についてー TGN1412 事故が医薬品開発に与えたインパクト. 「谷本学校毒性質問箱」, サイエンス社, 東京, 10, 1-34, (2007)
40. 山口照英, 内田恵理子: 日米 EU 医薬品規制調和国際会議遺伝子治療専門家会議の活動と遺伝子治療薬の規制に於ける国際動向. *Drug Delivery System*, 22(6), 651-659 (2007)
41. 山口照英: ICH 遺伝子治療専門家会議ー 2006 シカゴ会議報告ー. *医薬品研究*, 38, 277-285, (2007)
42. 山口照英: ヒト細胞治療薬の品質と安全性確保について. *Bio Clinica*, 27, 67-74 (2007)
43. 山口照英, 土屋利江: 細胞組織利用医薬品・医療機器の安全性とその有用性評価. *YAKUGAKUZASSHI*, 127, 839-840 (2007)
44. 川崎ナナ, 伊藤さつき, 山口照英: 抗体の LC/MS. 「抗体医薬品の最前線」, 105-115, 植田充美監修, シーエムシー, 東京 (2007)
45. 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*, 702-718, 早川堯夫監修, 株式会社エル・アイ・シー, 東京 (2007)
46. Minamisawa S, Uemura N, Sato Y, Yokoyama U, Yamaguchi T, Inoue K, Nakagome M, Bai Y, Hori H, Shimizu M, Mochizuki S, Ishikawa Y.: Post-transcriptional downregulation of sarcolipin mRNA by triiodothyronine in the atrial myocardium. *FEBS Lett*, 580, 2247-2252 (2006)
47. 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)

48. 山口照英：ICH 遺伝子治療専門家会議シカゴミーティングと今後の展望. *ファルマシア*, 42(4), 357-360 (2006)
49. 山口照英：医薬品各条の改正点－生物薬品. *薬局*, 57, 89-95 (2006)

<政策提言>

1. ICH 見解 「生殖細胞への遺伝子治療用ベクターの意図しない組み込みリスクに対応するための基本的な考え方」平成18年10月
2. 「血液製剤のウイルスに対する安全性確保を目的とした核酸増幅検査(NAT)の実施に関するガイドライン」平成16年8月3日(薬食発第0803002号)
3. 医薬発1314号改定「ヒト(自己)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」作成(平成20年2月8日)
4. 医薬発1314号改定「ヒト(同種)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」作成(平成20年9月12日)(薬食発第0912006号)
5. 薬食監麻発第0327027号「ヒト(自己)由来細胞・組織化更衣薬品等の製造管理・品質管理の考え方について」作成
6. 「生物由来原料基準」平成17年厚生労働省告示第262号
7. 「生物由来原料基準」平成17年厚生労働省告示第177号

<特許出願等>

1. 佐藤陽治、山口照英、長谷川哲也、細野哲司、佐藤光利 特願2006-109854「細胞の心筋細胞分化活性検出用マーカー」
2. 川崎ナナ、橋井則貴、山口照英 特願2007-322161「同位体標識法とLC/MSⁿを利用した糖鎖比較定量法」

表1 治験製品でのウイルス安全性試験で考慮すべき事項

製造細胞の特性
製造細胞の履歴や使用実績
どの程度製造細胞の特性解析ができていますか
製造時に使用しているヒトや動物由来原材料とその量
ウイルス迷入の可能性
製品の開発ステージ
製造メーカーの持つ製造細胞の経験の程度
製造メーカーが採用している各製造工程の経験の程度

表2 開発段階のバイオ医薬品のウイルス安全性確保

治験開始前までにマスターセルバンク(MCB)のウイルス検査を実施することが必要
臨床開発段階では未加工/未精製バルクのウイルス試験のバッチ数を削減できることもある
ウイルス不活化/除去能の評価: ウイルスクリアランスに寄与する工程を明らかにすること
臨床開発段階でのウイルススクリアランス評価において社内データの活用

表3 一般的考慮事項

主として用いられているのはCHO、NS0、SP2/0細胞などの内在性レトロウイルスを持つ細胞
レトロウイルスの存在を前提としたウイルス安全性確保対策
代替法の活用:PCRや細胞アッセイ法
MAP/HAP/RAP試験等の代替法として 採用するには当該製品に十分適応出来ることのバリデーションが必要

表4 抗体医薬品の生物活性や免疫学的特性

抗体が認識するエピトープの特性解析を含む抗原特異性
親和性に関する解離常数(Kd)
補体結合活性や補体活性化能、他のeffector活性の有無
細胞傷害活性や抗体依存性細胞傷害活性(ADCC)の有無
パラトープ(paratope) (抗原結合領域; エピトープを認識し、結合するモノ クローナル抗体の領域)の同定
抗体の免疫反応性: 比活性(unit活性単位/質量)

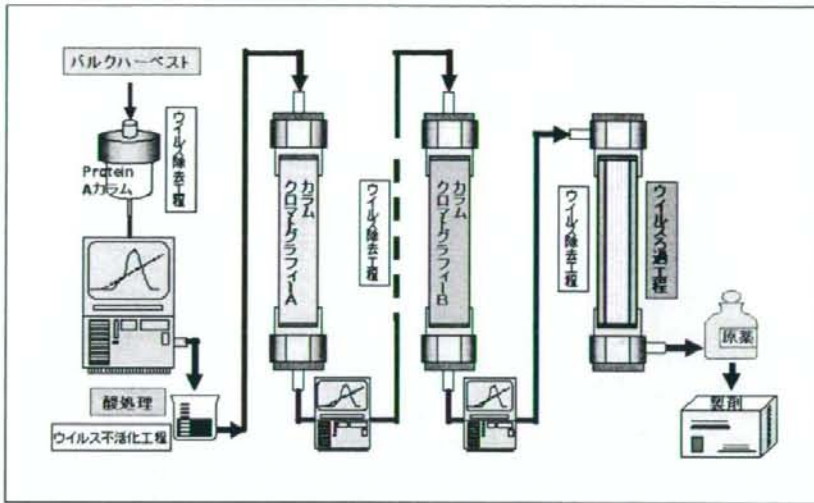


図1 代表的な抗体医薬品の精製工程とウイルスクリアランス

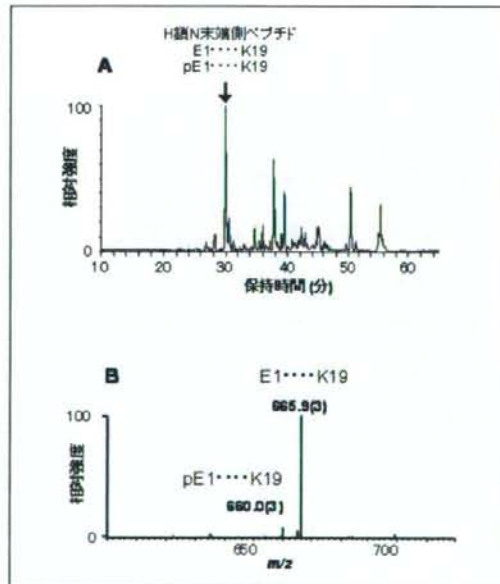


図2 N末端の不均一性

A ペプチドマップとH鎖N末端側ペプチドの保持時間

B N末端側ペプチドのマスマスペクトル