

## 3.7 分子式及び分子量 (組成式及び式量)

## 3.7.5 生物薬品の分子式と分子量の記載

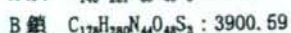
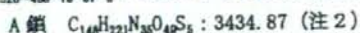
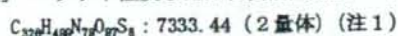
ペプチド性医薬品及びたん白質性医薬品については、その分子式及び分子量を記載する。糖たん白質性医薬品については、たん白質部分の分子式・分子量のみを記載し、糖鎖を含めた分子量(概数)は基原に記載する。ペプチド性医薬品、たん白質性医薬品及び糖たん白質性医薬品は、通例、次のように記載する。

[例] ペプチド性医薬品 (3.6 例1の場合)



注 N末端, C末端, 及び側鎖は非解離状態で計算する。また, Glu1 はピログルタミン酸として計算する。

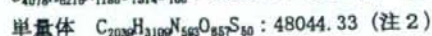
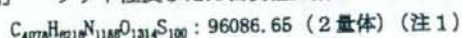
[例] ペプチド性及びたん白質性医薬品 (3.6 例2の場合)



注1 N末端, C末端, 及び側鎖は非解離状態で計算する。分子内及び分子間ジスルフィド結合は結合した状態で計算する。A鎖 M1 はホルミルメチオニンとして計算する。A鎖 T31 はグリシンアミドとして計算する。また, B鎖 K35 は結合しているものとして計算する。

注2 分子内ジスルフィド結合は結合した状態で計算する。分子間ジスルフィド結合は還元型として計算する。

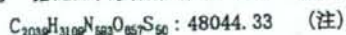
[例] ペプチド性及びたん白質性医薬品 (3.6 例3の場合)



注1 <sup>15</sup>N末端, C末端, 及び側鎖は非解離状態で計算する。N322 はヒドロキシアスパラギンとして計算する。分子内及び分子間ジスルフィド結合は結合した状態で計算する。

注2 分子内ジスルフィド結合は結合した状態で計算する。分子間ジスルフィド結合は還元型として計算する。

[例] 糖たん白質性医薬品 (3.6 例4の場合)



注 N末端, C末端, 及び側鎖は非解離状態で計算する。N322 はヒドロキシアスパラギンとして計算する。

分子内ジスルフィド結合は結合した状態で計算する。N87, 362, 389, T436 及び S285 には糖が結合していないものとして計算する。

### 3.9.1 基原の記載

生物薬品においては、水溶液の場合は、水溶液であることを明記する。分子量については、規格試験法に分子量の項がある場合は、その規格値を記載する。分子量には幅があってもよい(例:0~△)。分子量の項がない場合で、不純物等が多く混在するなどの理由により分子量を測定できない場合は、理論分子量を記載してもよい。遺伝子組換え医薬品の場合は、構造遺伝子の由来を記載する。また、遺伝子組換え糖たん白質性医薬品については、細胞の種類を明記する。遺伝子組換え医薬品を含む生物薬品は、次のように記載する。

#### [例] ペプチド性医薬品 (3.6 例1の場合)

「本品は、〈健康な〉××(種)の△△(細胞、組織又は臓器等)から得た18個のアミノ酸残基からなるポリペプチド(分子量△△)である。本品は、〈(ホルモン、酵素、サイトカイン、増殖因子、ワクチン、抗体、血液凝固因子又は阻害剤等)で〇〇活性を有する。〉

「本品は、合成された18個のアミノ酸残基からなるポリペプチド(分子量△△)である。本品は、〈(ホルモン、酵素、サイトカイン、増殖因子、ワクチン、抗体、血液凝固因子又は阻害剤等)で〇〇等の作用を有する。〉

#### [例] ペプチド性及びたん白質性医薬品 (3.6 例2の場合)

「本品の本質は、〈健康な〉××(種)の△△(細胞、組織又は臓器等)から得た31個のアミノ酸残基からなるA鎖1分子、及び35個のアミノ酸残基からなるB鎖1分子から構成される◇◇(ポリペプチド又はたん白質)(分子量△△)である。本品は、水溶液である。本品は、〈(ホルモン、酵素、サイトカイン、増殖因子、ワクチン、抗体、血液凝固因子又は阻害剤等)で〇〇活性を有する。〉

#### [例] ペプチド性及びたん白質性医薬品 (3.6 例3の場合)

「本品は、〈健康な〉××(種)の△△(細胞、組織又は臓器等)から得た449個のアミノ酸残基からなるサブユニット2分子から構成される◇◇(ポリペプチド又はたん白質)(分子量△△)である。本品は、〈(ホルモン、酵素、サイトカイン、増殖因子、ワクチン、抗体、血液凝固因子又は阻害剤等)で〇〇作用を有する。〉

#### [例] 糖たん白質性医薬品 (3.6 例4の場合)

「本品の本質は、〈健康な〉××(種)の△△(細胞、組織又は臓器等)から得た449個のアミノ酸残基からなる糖たん白質(分子量約△△)である。本品は、水溶液である。本品は、〈(ホルモン、酵素、サイトカイン、増殖因子、ワクチン、抗体、血液凝固因子、又は阻害剤等)で〇〇活性を有する。〉

#### [例] 遺伝子組換えペプチド性及びたん白質性医薬品

「本品の本質は、××の遺伝子(cDNA又はゲノムDNA等)を導入した組換え体で産生される〇〇個のアミノ酸残基からなる◇◇(ポリペプチド又はたん白質)(分子量△△)である。本品は、水溶液である。本品は、〇〇活性を有する。」

#### [例] 遺伝子組換え糖たん白質性医薬品

「本品の本質は、××の遺伝子(cDNA又はゲノムDNA等)を導入した◇◇細胞で産生される〇〇個のアミノ酸残基からなる糖たん白質(分子量約△△)である。本品は、水溶液である。本品は、〇〇作用を有する。」

**[例] 遺伝子組換え糖たん白質性医薬品 (アミノ酸置換型)**

「本品の本質は、\$鎖#番目の△(アミノ酸)を▽ (アミノ酸)に置換したxxをコードする遺伝子(cDNA又はゲノムDNA等)を導入した◇◇細胞で産生される○○個のアミノ酸残基からなる糖たん白質(分子量約△△)である。本品は、水溶液である。本品は、○○活性を有する。」

**[例] 遺伝子組換え糖たん白質性医薬品 (融合型)**

「本品の本質は、xx(1から#番目)及び\*\*(#+1から##番目)をコードする遺伝子(cDNA又はゲノムDNA等)を導入した◇◇細胞で産生される○○個のアミノ酸残基からなる糖たん白質(分子量約△△)である。本品は、水溶液である。本品は、○○活性を有する。」

**[例] 遺伝子組換え糖たん白質性医薬品 (融合型 抗体医薬品)**

「本品の本質は、xxの&&部(例:相補性決定部)及び\*\*の\$\$部(例:定常部及びフレームワーク部)をコードする遺伝子(cDNA又はゲノムDNA等)を導入した◇◇細胞で産生される○○個のアミノ酸残基からなるH鎖2分子及び○○個のアミノ酸残基からなるL鎖2分子から構成される糖たん白質(分子量約△△)である。本品は、水溶液である。本品は、○○活性を有する。」

**[例] 遺伝子組換えたん白質性医薬品 (修飾型)**

「本品の本質は、xxの遺伝子(cDNA又はゲノムDNA等)を導入した組換え体で産生される○○個のアミノ酸残基からなるたん白質(分子量△△)の▽残基に1分子の◎◎ (例:ポリエチレングリコール)が共有結合した修飾たん白質(分子量▲▲)である。本品は、水溶液である。本品は、○○活性を有する。」

**[例] 多糖類**

「本品は、(健康な)xx(種)の△△(細胞、組織、又は臓器等)から(得た▲▲ (例:ヘパリンナトリウム)の◇◇分解によって)得た○○及び◇◇(単糖)からなる◎◎ (例:グリコサミノグリカン、低分子量ヘパリン) (分子量約△△)である。本品は、○○活性を有する。」

**3.10 成分の含量規定****3.10.1 原薬の記載**

原薬は、通例、次のように記載する。

**[例] たん白質性医薬品 (溶液)**

「本品は定量するとき、1mL当たり○～○mgのたん白質を含み、たん白質1mg当たり×単位以上を含む」

**3.18 製剤試験****3.18.1.2 エンドトキシン試験の設定**

エンドトキシン規格値は、日本薬局方参考情報「エンドトキシン規格値の設定」に基づいて設定する。ただし、たん白質性医薬品の原薬でエンドトキシン試験を設定する必要がある場合には、参考情報に加え必要に応じて実測値も考慮すること。

### 3.23 その他

#### 3.23.2 「別に規定する」の定義

各条原案作成時には必要な試験項目と規格値を設定する。

しかしながら、原案審議委員会の審議を経て、1.1.2にあるように、生物薬品等の工程由来不純物、残留溶媒、経口固形製剤の溶出性などにみられるように、同一品目であっても製法が異なること等によって、一定の品質の保証に必要な値を画一的に設定することが極めて困難な場合や知的所有権の一部で保護されるべき内容等については、規格値の設定は行わず、「別に規定する」と記載し、適切かつ柔軟な各条規格とすることができる。

「別に規定する」とは、薬事法に基づく製造販売承認書の中の規格値として別途規定されていることを意味する。

なお、法に基づく承認審査において設定する必要がないと判断され、承認書に規定されない場合も含む。

# 1. 液体クロマトグラフィー/質量分析を用いた糖タンパク質構造特性解析

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 (LC/MS) の登場によって、「煩雑」で「難しい」というイメージの強かった糖タンパク質の糖鎖解析が「短時間」で「簡単」に行えるようになってきた。また、最近では、LC/MS と生化学的手法やプロテオミクスの技術を組み合わせた様々な糖タンパク質構造特性解析方法が報告されている。本稿では、LC/MS を用いた糖タンパク質構造特性解析例として、電気泳動で単離した糖タンパク質の構造を解析した例、単離が難しい糖タンパク質を混合物のまままで解析した例、さらにグリコミクスに応用した例を紹介する。

## はじめに

液体クロマトグラフィー/質量分析 (LC/MS)<sup>1)</sup> は、混合物を分離・溶出しながらイオン化し、質量を測定する方法である。特定のイオンを選び、タンデム質量分析 (MS/MS) や多段階質量分析 (MS<sup>n</sup>) を行うと、さらに構造情報が得られる。これらの方法をタンパク質から切り出した糖鎖 (oligosaccharide) 混合物に応用すると、各糖鎖の分子量、単糖組成および配列情報が得られる。また、糖タンパク質の消化物 (ペプチド/糖ペプチド混合物) に応用すると、糖ペプチド (gly-

copeptide) の糖鎖構造情報とペプチド配列情報が得られる<sup>1)~4)</sup>。最近では、LC/MS と生化学的従来法や最新のプロテオミクスの技術を組み合わせることによって、微量糖タンパク質や糖タンパク質混合物からでも「短時間」で「簡単」に多くの糖鎖構造情報を入手することができるようになってきた。本稿では、LC/MS を用いた糖タンパク質構造特性解析例として、電気泳動で単離した糖タンパク質の構造を解析した例、単離が難しい糖タンパク質を混合物のまままで解析した例、さらにグリコミクス (glycomics) に応用した例について概説する。

### [キーワード&略語]

MS, LC/MS, 糖鎖, 糖ペプチド, グリコミクス

EIC : extracted ion chromatogram  
(エクストラクトイオンクロマトグラム)

ITMS : ion trap mass spectrometer  
(イオントラップ質量分析計)

LC/MS : liquid chromatography/mass spectrometry (液体クロマトグラフィー/質量分析)

MS : mass spectrometry (質量分析)

MS/MS : tandem mass spectrometry  
(タンデム質量分析)

MS<sup>n</sup> : multiple mass spectrometry  
(多段階質量分析)

Q/TOFMS : quadrupole/time-of-flight mass spectrometer (四重極飛行時間質量分析計)

TIC : total ion chromatogram  
(トータルイオンクロマトグラム)

The use of liquid chromatography/mass spectrometry for the structural characterization of glycoproteins  
Nana Kawasaki/Satsuki Itoh/Akira Harazono/Noritaka Hashii/Teruhide Yamaguchi : Division of Biological Chemistry & Biologicals, National Institute of Health Sciences (国立医薬品食品衛生研究所生物薬品部)

## 1 単離した糖タンパク質の構造特性解析—LC/MSと電気泳動の利用

LC/MSを用いると、電気泳動で分離されたわずかな量の糖タンパク質からでも、多くの糖鎖構造情報を引き出すことができる。ここでは、マウス脳膜画分に存在するGPI結合タンパク質をSDS-PAGEで分離し、LC/MSおよびLC/MS/MSを用いて解析した例を紹介する(図1)<sup>5) 6)</sup>。

マウス脳膜画分からGPI結合タンパク質を分画し、SDS-PAGEで分離後、クーマシー染色した(図1A)。はじめに、ゲル内トリプシン消化およびLC/MS/MS(方法a)により、20~25 kDaのバンドのタンパク質をThy-1と同定した(図1B)。

次に、ゲル内N-グリコシダーゼF消化によりN-結合型糖鎖を遊離させ、NaBH<sub>4</sub>で還元した後、LC/MSおよびLC/MS/MSによる糖鎖プロファイリング<sup>7) 2)</sup>を行った(方法b)。図1Cの実線および破線はそれぞれ、ポジティブイオンおよびネガティブイオンモードで得られたトータルイオンクロマトグラム(TIC)で、おおよそ中性糖鎖と酸性糖鎖のプロファイルを表している。主なピークの糖鎖構造はMS/MSスペクトルから推定することができる。一例として、図1DにピークaのMS/MSスペクトルを示す。糖鎖のMS/MSでは、主にグリコシド結合が開裂したBイオン(非還元末端側糖鎖断片)およびYイオン(還元末端側糖鎖断片)が生じる<sup>7)</sup>。ピークaの糖鎖構造は、生じたBおよびYイオンから、図1D中の構造式のように推定することができた。

Thy-1は、分子内に3カ所(Asn23, 74, 98)のN-結合型糖鎖結合部位をもつ糖タンパク質である<sup>8)</sup>。結合部位ごとの糖鎖構造を明らかにするため、糖タンパク質をゲルから抽出した後トリプシンで消化し、LC/MSおよびLC/MS/MSを行った(方法c)。図1EはLC/MSで得られたTICで、多くのペプチドがピーク

クとして表れている。糖ペプチドの溶出位置は、MS/MSで生じた糖鎖に特徴的なイオン(例: HexHexNAc<sup>+</sup>, m/z 366)を指標にして推定した。図1Fは、m/z 366のイオンを抽出したエクストラクトイオンクロマトグラム(EIC)である。ピークが出現した位置に糖ペプチドが溶出されていると仮定し、そのピーク周辺から糖ペプチドのMS/MSスペクトルを選び出して、糖鎖構造とペプチド部分を推定した。一例として図1Gに、ピークbの典型的MS/MSスペクトルとイオンピークの帰属結果を示す。イオンピーク間の値がヘキソース(H)およびN-アセチルヘキソサミン(HX)の質量に一致することから、これらは糖鎖に由来するイオンであることがわかる。フラグメントパターンからこの糖鎖はMan5と推定された。糖鎖構造が判明すれば、m/z 899のイオンをGlcNAcが結合したペプチドイオン([Peptide + GlcNAc + 2H]<sup>2+</sup>)と帰属できる。ペプチド部分の質量から、このペプチドはAsn23を含むペプチドと推定できた。以下同様にして、Thy-1の3カ所に結合しているN-結合型糖鎖の主な構造を、図1Hのように推定することができた。

## 2 単離が難しい糖タンパク質の構造特性解析—LC/MSとタンパク質データベースの利用

糖ペプチドのMS/MSやMS<sup>n</sup>では、糖鎖だけでなくペプチド部分も開裂するので、糖鎖が結合しているペプチドのアミノ酸配列を推定できる。したがって、分離が難しい糖タンパク質でも、混合物のままトリプシン消化してLC/MSを行うことにより、糖タンパク質ごとの部位特異的糖鎖構造情報が得られる。ここでは、IgGの糖鎖構造を解析した例を紹介する。IgGは2本のH鎖と2本のL鎖から成る糖タンパク質で、配列に多様性が見られる可変部と配列が一定している定常部から構成されている。IgGは定常部の配列の違いからIgG1~IgG4の4つのサブクラスに分類され、定常部の1カ所にN-結合型糖鎖が結合している<sup>9)</sup>。我々は、還元カルボキシメチル化したヒトIgGをトリプシン消化し、2種類の装置を用いて、存在量の多いIgG1とIgG2の糖鎖を同時に解析した。

### 1) イオントラップ質量分析計(ITMS)を用いた糖ペプチド解析例

図2はITMSを用いたIgGトリプシン消化物の解

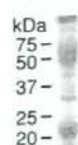
#### ※1 液体クロマトグラフィー/質量分析

液体クロマトグラフィーで分離・溶出された物質をイオン化させて質量スペクトルを測定する方法。

#### ※2 糖鎖プロファイリング

糖鎖を液体クロマトグラフィーや電気泳動法などで分離・分類し、その特徴を記載する方法。

A) SDS-PAGE



(方法 a) ゲル内トリプシン消化/LC/MS/MS

(方法 b) ゲル内 N-グリコシダーゼF消化/LC/MS/MS

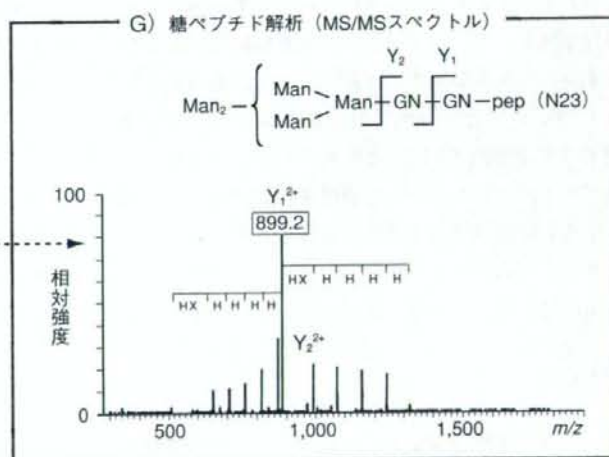
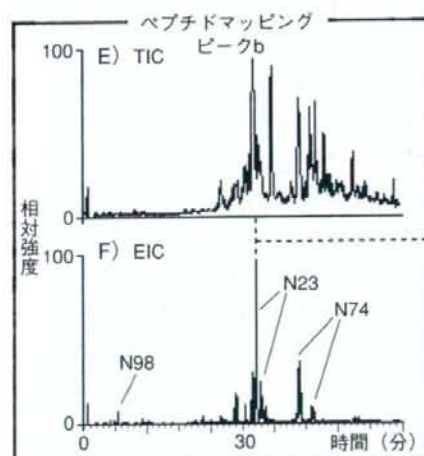
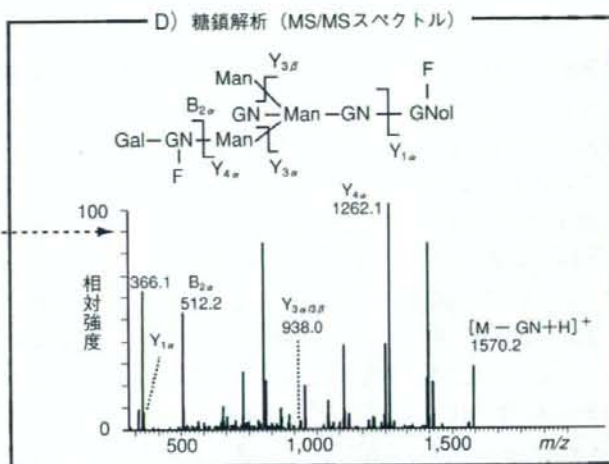
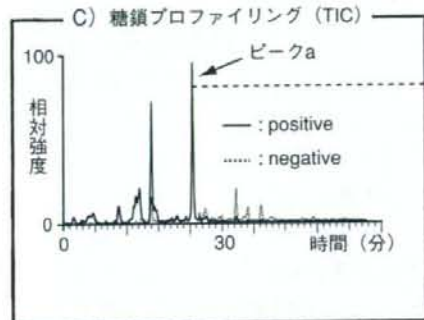
(方法 c) タンパク質抽出/トリプシン消化/LC/MS/MS

B) タンパク質同定

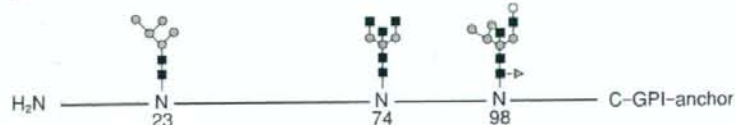
Thy-1

C) 糖鎖プロファイリング, D) 糖鎖解析

E) F) ペプチドマッピング, G) 糖ペプチド解析



H) Thy-1



- : マンノース
- : ガラクトース
- : N-アセチルグルコサミン
- △ : フコース

図1 LC/MS/MSを用いたゲル内糖タンパク質の構造特性解析 (図の解説は次ページ参照)

析例である。図2 Aおよび2 Bはそれぞれ、LC/MSで得られたTIC、およびMS/MSによって生じたHexHexNAc<sup>+</sup> (*m/z* 366)のEICである。主なピークのMS/MSスペクトルを確認し、糖鎖関連イオンが観測されていることから、ピークcとdを糖ペプチドのピークと特定した。

図2 CはピークcのMSスペクトルである。同一アミノ酸配列から成る糖ペプチドはほぼ同じ時間に溶出されることから、複数のイオンピークは糖鎖の不均一性を示していると考えられる。各イオンの糖鎖構造は、これらのイオンを前駆イオンとしたMS/MSおよびMS/MS/MSスペクトルから推定した。一例として、*m/z* 933 (3価)のMS/MSスペクトル(図2 D)、MS/MSで生じた*m/z* 1297 (2価)のMS/MS/MSスペクトル(図2 E)を示す。また、糖鎖のフラグメントから推定した糖鎖構造を図2右上に示す。糖鎖構造がわかれば、図2 Eの*m/z* 1393 (1価)が[Pepptide + GlcNAc + H]<sup>+</sup>であることがわかる。このイオンに対してMS/MS/MS/MSを行ったところ、ペプチド部分が開裂して、bイオン(N末端側断片)およびyイオン(C末端側断片)が観測された(図2 F)<sup>10)</sup>。これらのイオンとペプチドの質量から、ピークcはIgG1由来のEEQYNSTYRと帰属された。さらに、このペプチドに結合している他の糖鎖の構造は、図2 Cで検出された糖ペプチドイオンの質量とそれらのプロダクトイオンスペクトルから図2 Cのように推定された。同様に、ピークdは、MS~MS/MS/MSスペクトル(図2 G~I)から、IgG2由来EEQFNSTFRと帰属された。

タンパク質データベースとその検索エンジンを利用することによって、糖ペプチドの溶出位置とペプチドの配列を簡単に同定できることがある。一例として図2 Jに、LC/MS~MS/MS/MS/MSデータを使ってAsnにHexNAcが結合している可能性を追加してデータベース検索(検索エンジンBioWorks, Thermo Fisher Scientific社)した結果を示す。12.12分にIgG1由来糖ペプチドが検出されていることが示されている。

## 2) 四重極飛行時間質量分析計(Q/TOFMS)を用いた糖ペプチド解析例

図3にQ/TOFMSを用いた解析例を示す。LC/MSで得られたTIC(図3 A)、およびMS/MSで生じたHexNAc<sup>+</sup> (*m/z* 204)のEIC(図3 B)から、ピークeとfを糖ペプチドと特定した。図3 CはピークeのMSスペクトルである。その中の*m/z* 1399 (2価)を前駆イオンとしたMS/MSスペクトルを図3 Dに示す。低*m/z*側に糖鎖Bイオン(*m/z* 168, 186, 204および366など)、中央にペプチドbおよびyイオン、また、高*m/z*側に糖鎖が解離した糖ペプチドYイオンが検出されている。そこで、MS/MSデータからBおよびYイオンを除き、前駆イオンとしてペプチド由来イオン(ここでは*m/z* 1189)を設定してMascotデータベース検索を行ったところ、このペプチドはIgG1由来EEQYNSTYRと同定された。

図3 Eと3 FはピークfのMSおよびMS/MSスペクトルである。同様にしてこのピークは、IgG2由来糖ペプチドと同定された。IgG1とIgG2の糖鎖不均一性は、糖ペプチドの計算質量とペプチドの理論質量の差から計算した単糖組成から、図3 Cおよび3 Eのよ

### 図1 LC/MS/MSを用いたゲル内糖タンパク質の構造特性解析(前ページ図)

[サンプル] マウス脳膜画分から調製したGPI結合タンパク質のトリプシン消化物

[MS装置] LTQ (Thermo Fisher Scientific社)

A) SDS-PAGE

B) タンパク質同定結果

C) 糖鎖のLC/MSによって得られたTIC。[LC条件] カラム: グラファイトカーボンカラム (0.2 × 150 mm, 5 μm), A溶媒: 2%アセトニトリル/5 mM酢酸アンモニウム (pH 9.6), B溶媒: 80%アセトニトリル/5 mM酢酸アンモニウム (pH 9.6), グラジエント条件: 5~30%B (0~60 min)

D) ピークaの典型的MS/MSスペクトルと推定糖鎖構造

E) トリプシン消化物のLC/MSによって得られたTIC。[LC条件] カラム: C18 (0.2 × 50 mm, 3 μm), A溶媒: 2%アセトニトリル/0.1%ギ酸, B溶媒: 90%アセトニトリル/0.1%ギ酸, グラジエント条件: 5%B (0~10 min) および5~65%B (10~50 min)

F) トリプシン消化物のLC/MS/MSによって得られたイオン (*m/z* 366)のEIC

G) ピークbの典型的MS/MSスペクトル (前駆イオン: *m/z* 937)

H) Thy-1の主な糖鎖構造

[略語] H: ヘキソース, F: フコース, HX: N-アセチルヘキソサミン, Man: マンノース, Gal: ガラクトース, GN: N-アセチルグルコサミン, N23, N74, N98: Asn23, Asn74, Asn98を含む糖ペプチド



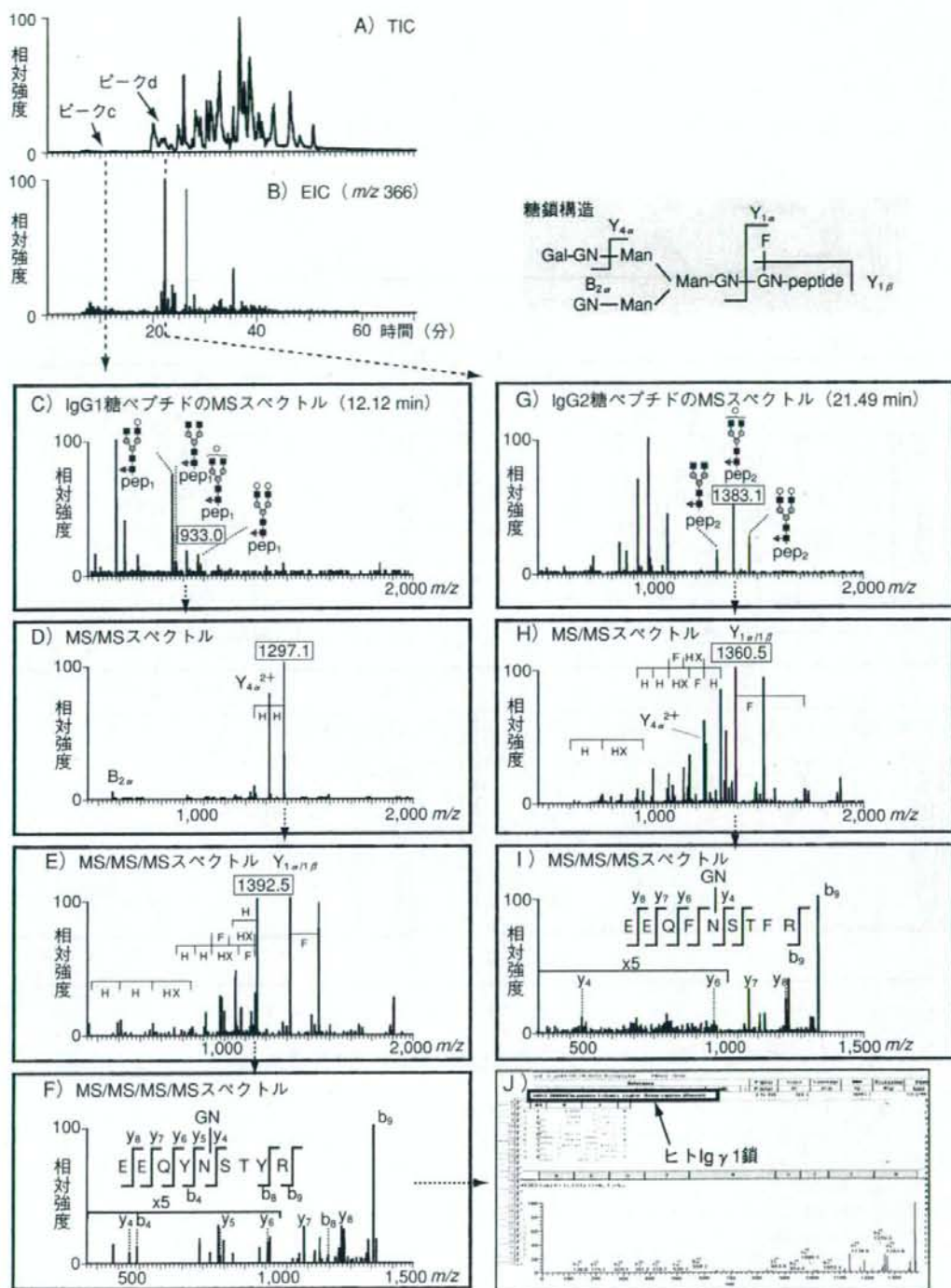


図2 LC/MS~MS/MS/MSを用いた糖タンパク質混合物の部位特異的糖鎖構造解析 (1) ITMS  
 [サンプル] ヒトIgGトリプシン消化物。[MS装置およびLC条件] 図1Eに準ずる。A) LC/MSによって得られたTIC。B) LC/MS/MSによって得られたイオン ( $m/z$  366) のEIC。C) ピークcのMSスペクトル。D) ピークcの典型的MS/MSスペクトル (前駆イオン:  $m/z$  933)。E) ピークcの典型的MS/MS/MSスペクトル (前駆イオン:  $m/z$  1297)。F) ピークcの典型的MS/MS/MS/MSスペクトル (前駆イオン:  $m/z$  1392)。G) ピークdのMSスペクトル。H) ピークdの典型的MS/MSスペクトル (前駆イオン:  $m/z$  1383)。I) ピークdの典型的MS/MS/MSスペクトル (前駆イオン:  $m/z$  1360)。J) データベース検索エンジンを用いたピークcの同定結果

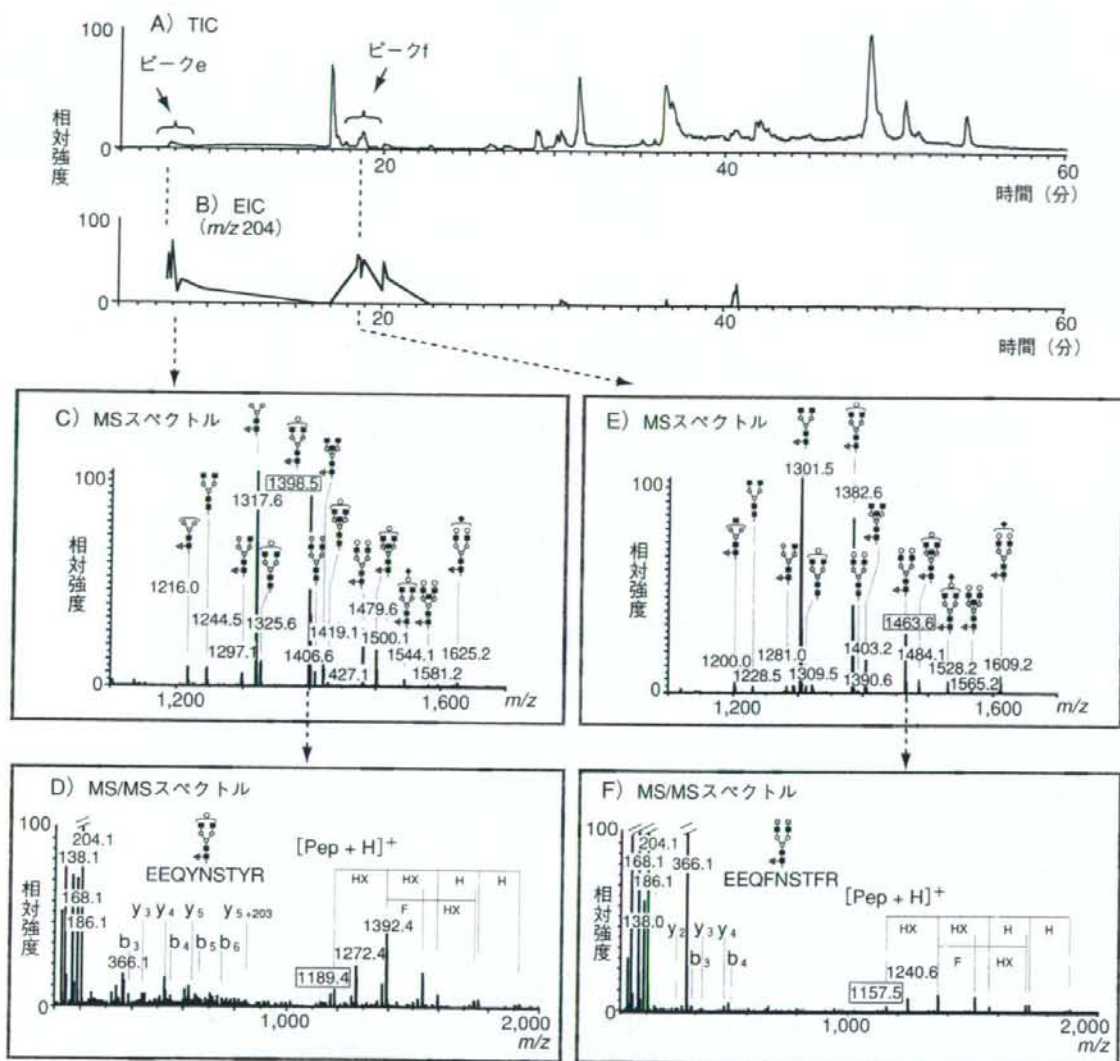


図3 LC/MSおよびMS/MSを用いた糖タンパク質混合物の部位特異的糖鎖構造解析 (2) Q/TOFMS

〔サンプル〕 ヒト IgG トリプシン消化物

〔MS装置〕 QSTAR-Pulser i (Applied Biosystems社)

〔LC条件〕 カラム: Monolith C18 (0.1 × 150 mm), A 溶媒: 2% アセトニトリル/0.1% 酢酸, B 溶媒: 90% アセトニトリル/0.1% 酢酸, グラジエント条件: 5% B (0 ~ 5 min) および 5 ~ 80% B (5 ~ 80 min)

A) LC/MSによって得られたTIC

B) LC/MS/MSによって得られたイオン ( $m/z$  204) のEIC

C) ピーク e の MS スペクトル

D) ピーク e の典型的 MS/MS スペクトル (前駆イオン:  $m/z$  1399)

E) ピーク f の MS スペクトル

F) ピーク f の典型的 MS/MS スペクトル (前駆イオン:  $m/z$  1464)

うに推定された。

以上のようにMS装置の種類によって異なるマススペクトルが得られるが、データの取り扱いを工夫する

ことによって、糖ペプチドを同定し糖鎖構造を推定することができる<sup>5) 11)~18)</sup>。現在では、全血清のトリプシン消化物から直接IgG1とIgG2の糖鎖を解析する

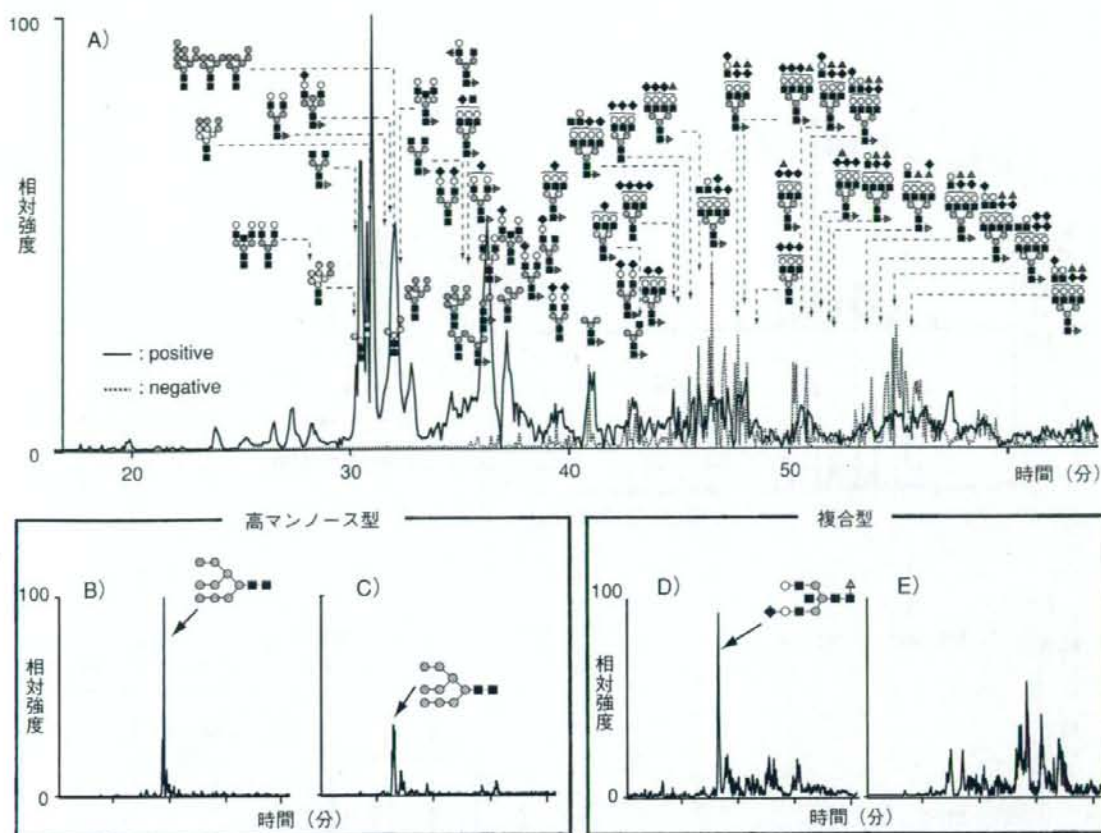


図4 LC/MS~MS/MS/MS/MSを用いたグリコーム解析

(MS装置およびLC条件) 図1 Cに準ずる

- A) 10% FCS添加培地で培養したHL-60細胞由来N-結合型糖鎖のLC/MSにより得られたTICと推定糖鎖構造
- B) 無血清培地で培養した細胞の高マンノース型糖鎖のプロファイル
- C) 10%ヒト血清添加培地で培養した細胞の高マンノース型糖鎖のプロファイル
- D) 無血清培地で培養した細胞の複合型糖鎖のプロファイル
- E) 10%ヒト血清添加培地で培養した細胞の複合型糖鎖のプロファイル

ことも可能である。

### 3 細胞由来糖鎖の解析—LC/MSを用いたグリコーム解析

細胞に存在する全糖鎖のセットはグリコームとよばれる。グリコームは、分化、発生や疾患などに伴って変動することから<sup>19) 20)</sup>、グリコーム解析(グリコミクス)を基盤とした創薬・診断ターゲットの探索に注目が集まっている<sup>1) 2) 21)</sup>。図1 Cで紹介したLC/MS~MS<sup>n</sup>を用いた糖鎖プロファイリングは、グリコミクスの技術としても利用可能である。ここでは、ヒト培養細胞株HL-60を使って、培養条件が

細胞全体のN-結合型糖鎖の分布に及ぼす影響を調べた例を紹介する。

通常の培養条件である10% FCSを含む培地で培養したHL-60細胞から酵素を使ってN-結合型糖鎖を切り出し、NaBH<sub>4</sub>で還元した後、細胞1×10<sup>6</sup>個相当の糖鎖を用いて、LC/MS~MS/MS/MS/MSを行った。図4 AはLC/MSで得られたTICで、実線および破線はそれぞれ、ポジティブイオンおよびネガティブイオンモードで得られた糖鎖プロファイルを表している。主なピークの糖鎖構造は、プロダクトイオンスペクトルから、図4 Aのように推定された。

図4 B~Eは、無血清培地、およびヒト血清を含む

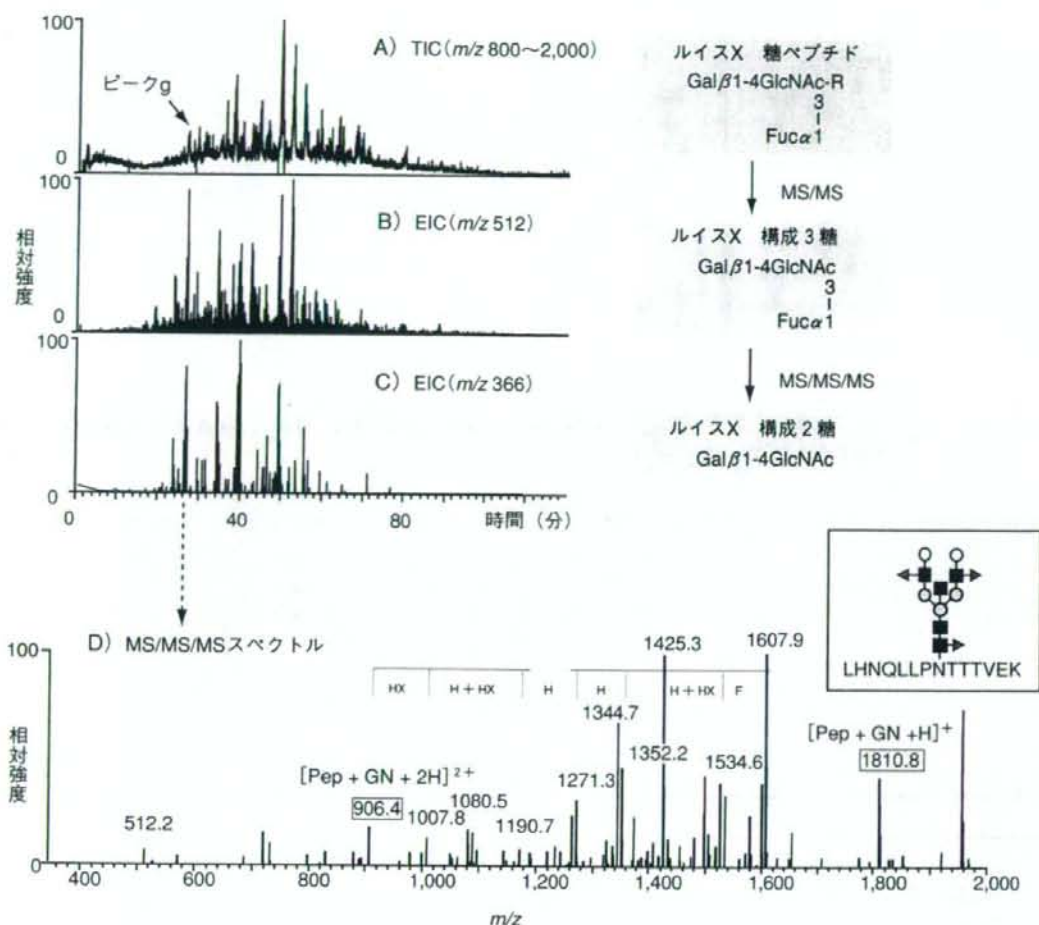


図5 LC/MS~MS/MS/MSを用いた特定の糖鎖が結合したペプチドの特異的検出と同定  
 [サンプル] マウス腎臓ホモジネートトリプシン消化物のレクチンカラム吸着成分  
 [MS装置] 図1に準ずる  
 [LC条件] カラム: C18 (0.2 × 50 mm, 3 μm), グラジエント条件: 5~65% B (0~120 min), その他: 図1 Eに準ずる  
 A) LC/MSによって得られたTIC  
 B) LC/MS/MSによって得られたイオン ( $m/z$  512) のEIC  
 C) LC/MS/MSで生じたイオン ( $m/z$  512) を前駆イオンとしたLC/MS/MS/MSによって得られたイオン ( $m/z$  366) のEIC  
 D) ピークgの典型的MS/MS/MSスペクトルと推定糖鎖構造

培地で培養したときのHL-60細胞の高マンノース型および複合型糖鎖のプロファイルを表したものである。高マンノース型糖鎖のプロファイルを比較すると、無血清培地 (図4 B) では、ヒト血清で培養した場合 (図4 C) に比べ、Man9糖鎖の割合が増加していることがわかった。また、複合型糖鎖のプロファイルを比べると、無血清培地 (図4 D) で培養した場合、ヒト血清で培養したとき (図4 E) にはほとんど検出さ

れないbisected二本鎖糖鎖が出現することがわかった。今回の結果は、培養条件によって、細胞の糖鎖プロファイルが変化することを示している。このように、LC/MS~MS<sup>n</sup>は、10<sup>6</sup>個程度の細胞からでも、その細胞のグリコームの特徴を明らかにすることが可能である。

#### 4 糖鎖構造特異的糖ペプチドの検出と同一 LC/MS を用いたグライコプロテオミクス

タンパク質などの機能やいくつかの疾患と、ある種の部分糖鎖構造との間に、何らかの関連があることが明らかになってきた。現在、その糖鎖構造を有するタンパク質を特異的に検出し同定することに関心が集まっている。糖ペプチドのMS<sup>n</sup>では、糖鎖構造に特徴的なイオン（診断イオン）が生じることがある。例えば、硫酸基 ( $m/z$  80), ルイス x [Gal $\beta$ 1-4 (Fuc $\alpha$ 1-3) GlcNAc<sup>+</sup>,  $m/z$  512], ルイス a [Gal $\beta$ 1-3 (Fuc $\alpha$ 1-4) GlcNAc<sup>+</sup>,  $m/z$  512], シアリルルイス x およびシアリルルイス a ( $m/z$  803), HNK-1 ( $m/z$  622), およびジシアル酸 ( $m/z$  583) などがそれである<sup>22)</sup> <sup>23)</sup>。これらの診断イオンを利用すると、全糖ペプチドの中から、その部分構造をもつ糖ペプチドだけを特異的に検出することができる。さらに、図2で紹介した方法によって、選び出した糖ペプチドのペプチド配列と糖鎖構造を推定することができる。図5に、マウス腎臓に存在するルイス x 構造をもつ糖鎖のコアタンパク質を同定した例を示す。

マウス腎臓にはルイス x をもつ糖鎖が多く存在する<sup>24)</sup>。マウス腎臓ホモジネートのトリプシン消化物から、*Aleuria aurantia* lectin (AAL) アフィニティークロマトグラフィーによりフコースが結合した糖ペプチドを回収し、LC/MS~MS/MS/MSを行った。図5 A および 5 B は、LC/MS で得られた TIC と MS/MS によって生じたルイス x 構成 3 糖 (Gal + Fuc + GlcNAc) に相当するイオン ( $m/z$  512) の EIC である。さらに、 $m/z$  512 のイオンを前駆イオンとして MS/MS/MS を行い、生じたルイス x 構成 2 糖 (Gal + GlcNAc) に相当するイオン ( $m/z$  366) を指標にしてルイス x 結合糖ペプチドの溶出位置を特定した (図 5 C)。図 5 D はピーク g の MS/MS/MS スペクトルである。フラグメントパターンから、このペプチドにはルイス x が結合していることが確認された (図 5 D 右上に推定構造を示す)。また、図 5 D の  $m/z$  906 のイオンが [peptide + GlcNAc + 2H]<sup>2+</sup> と帰属された。そこで、このイオンを前駆イオンとして MS/MS/MS/MS を行い、図 2 J で紹介したデータベース検索を行った結果、このペプチドは  $\gamma$ -グルタミ

ルトランスフェラーゼの LHNQLLPN\*TTTVEK ("HexNAc 結合) と同定された。同様にして、複数のルイス x 結合糖タンパク質を同定することができた。このように、LC/MS~MS/MS/MS とタンパク質データベースをうまく利用することによって、任意の糖鎖をもつペプチドを特異的に選び出し、ペプチド配列を推定することが可能になってきた。

#### おわりに

本稿で紹介したように、LC/MS を利用することによって、微量で単離が難しい糖タンパク質からでも、多くの構造情報入手できるようになってきた。また、従来のようにタンパク質単位で糖鎖を解析するのではなく、特定の糖鎖単位でタンパク質を解析することも可能となってきた。しかし、LC/MS~MS<sup>n</sup> で得られる構造情報には限界があり、現段階では LC/MS~MS<sup>n</sup> 単独で糖鎖や糖ペプチドを同定することは難しい。また、MS には再現性・定量性に関する課題も残されている。より確かな構造情報・質的情報を得るためには、プロテオミクスの技術や、糖鎖構造解析分野で蓄積されてきた技術、すなわち糖鎖の誘導体化と LC、エキソグリコシターゼ消化法、レクチンや抗体を利用した方法などをうまく組み合わせていくことが重要であると思われる。

#### 文献

- 1) Morelle, W. et al.: Proteomics, 6: 3993-4015, 2006
- 2) Wührer, M. et al.: J. Chromatogr. B. Analyt. Technol. Biomed. Life Sci., Oct 16, [Epub ahead of print], 2006
- 3) Wührer, M. et al.: J. Chromatogr. B. Analyt. Technol. Biomed. Life Sci., 825: 124-133, 2005
- 4) Zaia, J.: Mass Spectrom. Rev., 23: 161-227, 2004
- 5) Itoh, S. et al.: J. Chromatogr. A., 1094: 105-117, 2005
- 6) Itoh, S. et al.: J. Chromatogr. A., 1103: 296-306, 2006
- 7) Domon, B. & Costello, C. E.: Glycoconjugate. J., 5: 397-409, 1988
- 8) Parekh, R. B. et al.: EMBO J., 6: 1233-1244, 1987
- 9) Dwek, R. A. et al.: J. Anat., 187: 279-292, 1995
- 10) Roepstorff, P. & Fohlman, J.: Biomed. Mass Spectrom., 11: 601, 1984
- 11) Demelbauer, U. M. et al.: Rapid Commun. Mass Spectrom., 18: 1575-1582, 2004
- 12) Hakansson, K. et al.: Anal. Chem., 73: 4530-4536, 2001
- 13) Harazono, A. et al.: Glycobiology, 15: 447-462, 2005
- 14) Hui, J. P. et al.: Glycobiology, 12: 837-849, 2002

- 15) Krokhin, O. et al. : Rapid Commun. Mass Spectrom., 18 : 2020-2030, 2004
- 16) Nemeth, J. F. et al. : Biochemistry, 40 : 3109-3116, 2001
- 17) Wada, Y. et al. : Anal. Chem., 76 : 6560-6565, 2004
- 18) Wührer, M. et al. : Rapid Commun. Mass Spectrom., 18 : 741-1748, 2004
- 19) Kannagi, R. et al. : Cancer Sci., 95 : 377-384, 2004
- 20) Zak, I. et al. : Acta Biochim. Pol., 47 : 393-412, 2000
- 21) Bosques, C. J. et al. : Nat. Biotechnol., 24 : 1100-1101, 2006
- 22) Hashii, N. et al. : Rapid Commun. Mass Spectrom., 19 : 3315-3321, 2005
- 23) Satomi, Y. et al. : Rapid Commun. Mass Spectrom., 18 : 2983-2988, 2004
- 24) Yamashita, K. et al. : Arch. Biochem. Biophys., 240 : 573-582, 1985

#### <著者プロフィール>

川崎ナナ：北海道大学薬学部修士課程修了後、厚生労働省国立医薬品食品衛生研究所生物薬品部に入所。1998年から生物薬品部室長、薬学博士。研究テーマは、LC/MSなどを用いたバイオ医薬品および細胞治療薬の特性解析および品質・安全性評価技術の開発。

山口照英：神戸大学理学部大学院（細胞生化学）修了、東京都臨床医学総合研究所で白血球活性化酸素生成酵素の生化学に関する研究に従事し、その後国立医薬品食品衛生研究所生物薬品部でバイオ医薬品の品質・安全性などに関する研究を行う。2002年から遺伝子細胞薬部長として、遺伝子治療薬や細胞治療薬の品質・有効性に関する基盤研究を実施。2006年から生物薬品部長としてバイオ医薬品の品質・安全性などに関する研究を行っている。



## 薬の名前

# ステムを知れば薬がわかる

Stems used in drug names : For the better understanding of pharmacological actions of drugs

### 第7回

国立医薬品食品衛生研究所

川崎ナナ, 内田恵理子

NANA KAWASAKI, ERIKO UCHIDA

National Institute of Health Sciences

名古屋市立大学大学院薬学研究科

宮田直樹

NAOKI MIYATA

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Nagoya City University

## はじめに

本連載第6回(本誌2007年1月号)では、化学薬品類のステムの中で、中枢神経系に作用する薬のステム、

「-ampanel」：アミノヒドロキシメチルイソキサゾールプロピオン酸(AMPA)受容体拮抗薬

「-fylline(-phylline)」：N-メチルキサンチン系中枢神経興奮薬

「-racetam」：ピラセタム系脳機能改善薬

「-piprazole」：フェニルピペラジン系向精神薬

「-azepam」：ジアゼパム系抗不安薬・鎮静薬

「-azenil, -carnil, -quinil」：ベンゾジアゼピン受容体作用薬

「-bamate」：プロバンジオールおよびベンタンジオール系精神安定薬

「-perone」：4'-フルオロ-4-ピペリジノブチロフェノン系精神安定薬

「-peridol」：ハロペリドール系抗精神病薬

「-peridone」：リスベリドン系抗精神病薬

「-pidem」：ゾルピデム系催眠鎮静薬

「-pride」：スルピリド系抗不安薬・鎮静薬

「-spirone」：Buspirone系抗不安薬

「-zafone」：Alozafone系抗不安薬

を紹介した。

今回は、生物薬品類のステムの第2回目として、免疫機能を調節する薬のステム、

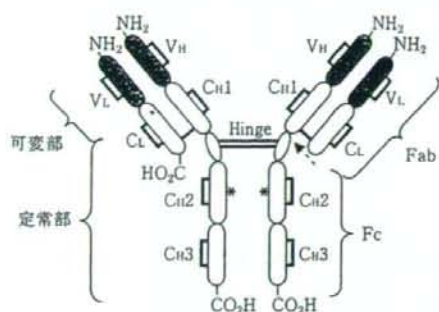
「-mab」：モノクローナル抗体

「-cept」：受容体分子

を紹介する。

## 「-mab」：モノクローナル抗体

「-mab」は、モノクローナル抗体(monoclonal antibody)を表すステムである。モノクローナル抗体とは、一種類の抗原決定基とだけ反応する免疫グロブリンで、一次構造が均一である。免疫グロブリンは作用と構造から、IgG, IgM, IgA, IgD, およびIgEの5つのクラスに分類される。ヒトのIgGはさらにIgG1, IgG2, IgG3, およびIgG4の4つのサブクラスに分けられる。モノクローナル抗体を本質とする医薬品は抗体医薬品と呼ばれ、その多くはIgG1である。



—:ジスルフィド結合, \*:N-結合型糖鎖, - - -:パライン作用部位

図1 IgG1の構造

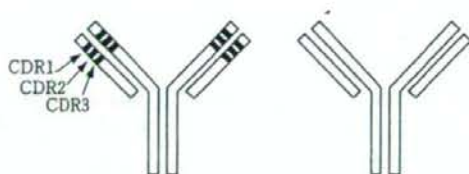
5つのクラスの基本構造は共通である。図1にIgG1の基本構造を示す。IgG1は2本のH鎖(Heavy chain)と2本のL鎖(Light chain)の計4本のポリペプチド鎖から構成される。H鎖とL鎖の分子量はそれぞれ約50,000と約25,000で、抗体1分子には合計16本のジスルフィド結合が存在する。H鎖とL鎖ともにN末端から約110番目までのアミノ酸残基部分(図1のV<sub>L</sub>およびV<sub>H</sub>部分)は、抗原特異性を決定する部分で、可変部と呼ばれる。可変部の中でも一次構造に特に著しい多様性が見られ、抗原分子と相補的な立体構造を形成して抗体の特性を決める部分は、相補性決定部(complementarity-determining region, CDR)と呼ばれる。CDRの立体構造保持に働く枠組み領域はフレームワーク部と呼ばれ、両者はモザイク状に配置している。H鎖とL鎖の残りの部分(図1のCL, CH1, CH2, およびCH3部分)は抗原特異性とは無関係に一定しているので、定常部と呼ばれる。IgG1にパラインを作用させると、H鎖のほぼ中央にあたる225と226番目のアミノ酸残基の間が切断される。L鎖とH鎖の可変部を含むN末端半分をFab、また、H鎖の定常部からなるC末端半分をFcと呼ぶ。

モノクローナル抗体は、従来は主にマウスなどの異種動物を用いて、免疫グロブリンを産生するB細胞と増殖能力を持つ腫瘍細胞の細胞融合技術によって製造されていた。しかし、現在医薬品として用いられるモノクローナル抗体は、遺伝子組換え技術によってCHO細胞などを用いて製造されている。特に最近では、異種で作製した



マウスモノクローナル抗体

キメラモノクローナル抗体



ヒト化モノクローナル抗体

ヒトモノクローナル抗体

図2 モノクローナル抗体の構造

モノクローナル抗体の免疫原性を低減し、よりヒト抗体に近づけるため、ヒト抗体と異種抗体を融合したモノクローナル抗体の開発が活発である。モノクローナル抗体は種によって、異種モノクローナル抗体(主にマウスモノクローナル抗体)、キメラモノクローナル抗体、ヒト化モノクローナル抗体、およびヒトモノクローナル抗体の4つの型に分類される(図2)。キメラモノクローナル抗体は異種モノクローナル抗体の可変部とヒト抗体の定常部を融合した分子である。ヒト化モノクローナル抗体はヒト抗体のCDRのみを異種モノクローナル抗体のCDRと置き換えたモノクローナル抗体である。しかし、これらは異種抗体断片を含むため、HACA(human anti-chimeric antibody)やHAHA(human anti-human antibody)反応が引き起こされる。そこで、すべての領域がヒト型から構成される完全ヒトモノクローナル抗体の開発も進められている。ヒトモノクローナル抗体は、ファージディスプレイ法やトランスジェニック法によって製造されている。

抗体医薬品は、抗原との結合による抗原の直接的な機能阻害作用だけでなく、抗体依存性細胞傷害(ADCC)活性や補体依存性細胞傷害(CDC)活性を持つ。現在、抗がん剤、感染症治療薬、抗血栓剤などの循環器用薬、免疫抑制剤、自己免疫疾患治療薬(クローン病)、慢性関節リウマチ治療薬、抗アレルギー剤、抗炎症剤、血管形成異常に対する治療薬として上市あるいは開発されている。抗体医薬品の売り上げは年間1,000億円ともいわれ、今



表1 構造遺伝子の種によって分類されるサブシステム

ヒト
マウス
ラット
ハムスター
霊長類
キメラ
ヒト化
ラット・マウスハイブリッド

表2 対象疾患および標的的部位によって分類されるサブシステム

細菌	バクテリア
骨	骨
心臓血管	心臓血管
炎症性病変	炎症性病変
免疫調節	免疫調節
ウイルス	ウイルス

\* 暫定サブシステム

表3 腫瘍の種類によって分類されるサブシステム

大腸がん
精巣がん
卵巣がん
乳がん
黒色腫
前立腺がん
その他腫瘍全体

後その数は増大すると予想されている。

モノクローナル抗体のステム「-mab」は、構造遺伝子の由来(種)によってサブシステムに分類される(表1)。さらに、対象疾患や標的的部位、または対象とする腫瘍の種類によってもサブシステムがつけられる(表2、表3)。

放射性ラベル化合物や合成化合物が共有結合したモノクローナル抗体には、抗体名の後にその化合物の名前をつける。モノクローナル抗体を放射性同位体のキャリアとして用いる場合は、放射性同位体のINNを抗体名の前につける(例、Technetium(<sup>99m</sup>Tc)Pintumomab)。また、毒素(toxin)を共有結合したモノクローナル抗体には、「-toxa-」をつける。

### (1)「-omab」：マウスモノクローナル抗体

「-omab」は、マウスモノクローナル抗体(mouse monoclonal antibody)を示す。JANにはIburitumomab Tiuxetan(イブリツモマブ チウキセタン)が収載されている(図3)。イブリツモマブはB細胞性の悪性リンパ腫に多く発現しているCD20を認識するIgG1で、腫瘍を標的とすることを示すサブシステム「-tu(m)-」を持つ。金属キレート剤であるチウキセタンが共有結合したイブリツモマブ チウキセタンは、放射性同位元素と組み合わせることによって、CD20を認識し、B細胞を死滅させる。イブリツモマブ チウキセタンはCD20陽性のB細胞性非ホジキンリンパ腫治療薬として2002年に米国で承認されている。日本では希少疾病用医薬品等指定品目の1つとなっている。

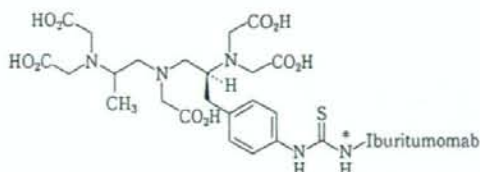


図3 Iburitumomab Tiuxetan(イブリツモマブ チウキセタン)の構造(日本承認申請中)

他に「-omab」をサブシステムに持つ品目として41種類の抗体がINNに収載されている。

### (2)「-ximab」：キメラモノクローナル抗体

「-ximab」は、キメラモノクローナル抗体(chimeric monoclonal antibody)を示す。現在、日本で承認されている医薬品には、以下の3品目がある。

Basiliximab(Genetical Recombination)(バシリキシマブ(遺伝子組換え))

Infliximab(Genetical Recombination)(インフリキシマブ(遺伝子組換え))

Rituximab(Genetical Recombination)(リツキシマブ(遺伝子組換え))

バシリキシマブは活性化T細胞表面のインターロイキン(IL)-2受容体 $\alpha$ 鎖(CD25)を標的とするIgG1で、IL-2によって誘導されるリンパ球の分化・増殖を抑制する。腎移植後の急性拒絶反応抑制薬として2002年に承認された。免疫機能調節薬を示すサブシステム「-li-」を持つ。

インフリキシマブは腫瘍壊死因子(TNF- $\alpha$ , Tumor necrosis factor- $\alpha$ , 本稿で紹介するステム48(1)「TNF- $\alpha$ 阻害薬」を参照)を標的とするIgG1で、クローン病治療薬として利用されている(2002年承認)。また、現在、ベーチェット病による難治性網膜ぶどう膜炎治療薬として希少疾病用医薬品の指定を受けている。免疫機能調節薬を示すサブシステム「-li-」を持つ。

リツキシマブはCD20を標的分子とするIgG1で、2001年にCD20陽性のB細胞性非ホジキンリンパ腫の治療薬として承認された。腫瘍を標的とすることを示すサブシステム「-tu-」がつけられている。

これ以外にJANに収載されている医薬品として以下の品目がある。

Abciximab(Genetical Recombination)(アブキシマブ(遺伝子組換え))

Cetuximab(Genetical Recombination)(セツキシマブ

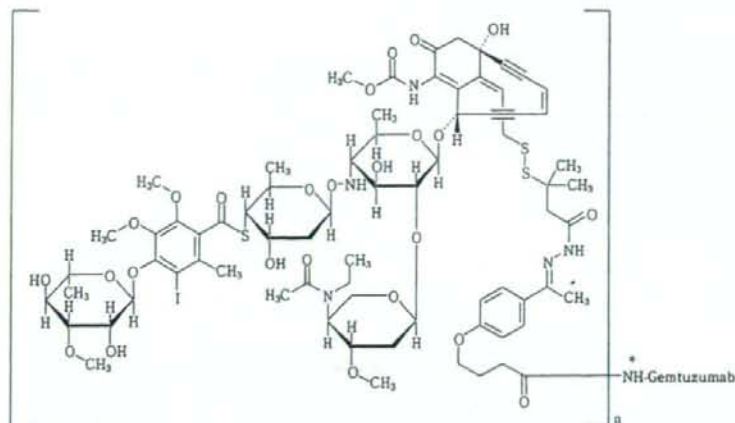


図4 Gemtuzumab Ozogamicin(ゲムツズマブ オゾガマイシン)の構造(2005年日本承認)

(遺伝子組換え)

アブシキシマブは血小板膜に発現するインテグリン  $\alpha 2 \beta 3$  を認識するIgG1で、Fab部分のみからなる。米国では1994年に経皮的冠動脈形成術後の再狭窄治療薬として承認されている。サブシステム「-ci-」は心臓血管を標的とすることを意味する。

セツキシマブはEGF受容体を認識するIgG1で、米国では大腸がん治療薬として2004年に承認された。腫瘍を標的とするサブシステム「-tu-」を持つ。

2006年6月現在、INNにはこれらの品目を含む15品目が記載されている。

### (3)「-zumab」：ヒト化モノクローナル抗体

「-zumab」は、ヒト化モノクローナル抗体(humanized monoclonal antibody)を示す。現在、日本で承認されている医薬品には、以下の4品目がある。

Gemtuzumab Ozogamicin(Genetical Recombination)  
(ゲムツズマブ オゾガマイシン(遺伝子組換え))

Palivizumab(Genetical Recombination)(パリビズマブ(遺伝子組換え))

Tocilizumab(Genetical Recombination)(トシリズマブ(遺伝子組換え))

Trastuzumab(Genetical Recombination)(トラスツズマブ(遺伝子組換え))

ゲムツズマブは急性骨髄性白血病細胞の細胞表面抗原CD33を認識するIgG4で、腫瘍を標的とする抗体を示すサブシステム「-tu-」を持つ。図4にゲムツズマブのリジン残基にオゾガマイシンがアミド結合したゲムツズマブ

オゾガマイシンの構造を示す。この医薬品は、白血病細胞のCD33に結合して細胞内に取り込まれると、リソソーム内で分解されてオゾガマイシンを遊離し、細胞を傷害する。ゲムツズマブ オゾガマイシンは再発または難治性のCD33陽性の急性骨髄性白血病治療薬として2005年に承認された。

パリビズマブはRSウイルス(respiratory syncytial virus)Fタンパク質を認識するIgG1で、小児RSウイルス感染治療薬として2002年に承認された。サブシステム「-vi-」はウイルスを標的としていることを示す。

トシリズマブはIL-6受容体を認識するIgG1で、2005年、わが国において世界に先駆けてキャッスルマン病治療薬として承認された。キャッスルマン病は腫瘍リンパ節から大量のIL-6が産生されるリンパ増殖性疾患で、症状および病態にIL-6が関わっている。トシリズマブはIL-6とその受容体の結合を競合的に阻害する。免疫機能調節作用を示すサブシステム「-ii-」を持つ。関節リウマチ治療薬としての承認申請に向けて、臨床第Ⅲ相試験が実施されている。

トラスツズマブは乳がんに過剰発現するHER2を認識するIgG1で、HER2陽性転移性乳がん治療薬として2001年に承認された。HER2に結合してシグナルが細胞内に伝わるのを阻害するとともに、免疫細胞を呼び寄せがん細胞を破壊する。腫瘍を標的とすることを示すサブシステム「-tu-」を持つ。

「-zumab」を持つ他の品目としてJANには以下の2品目が記載されている。

Omalizumab(Genetical Recombination)(オマリズマブ)

ブ(遺伝子組換え))

Bevacizumab (Genetical Recombination) (ベバシズマブ(遺伝子組換え))

オマリズマブはヒトIgEモノクローナル抗体を認識するIgG1で、米国では2003年にぜんそく治療薬として承認されている。免疫機能調節作用を示すサブシステム「-li-」を持つ。本邦では承認申請中である。

ベバシズマブはVEGFを認識するIgG1で、米国では大腸がん治療薬として2004年に承認されている。作用部位が心臓血管系であることを示すサブシステム「-ci-」を持つ。日本では承認申請中である。

2006年6月現在、INNにはこれらの品目を含む47品目が収載されている。この数は今後さらに増大することが予想される。

#### (4) 「-umab」：ヒトモノクローナル抗体

「-umab」は、ヒトモノクローナル抗体(human monoclonal antibody)を示す。JANには以下の2品目が収載されている。

Adalimumab (Genetical Recombination) (アダリムマブ(遺伝子組換え))

Regavirumab (レガビルマブ)

アダリムマブはTNF- $\alpha$ を認識するIgG1で、免疫機能調節作用を示す「-li(m)-」を持つ。クローン病および慢性リウマチ治療薬として2003年に米国で承認されている。わが国ではインフリキシマブおよびエタネルセプト(後述)に続く第3のTNF- $\alpha$ 阻害薬として承認申請中である。

レガビルマブはヒトヘルペスウイルスを認識するIgG1で、ウイルスに作用することを示す「-vi(r)-」を持つ。免疫低下時におけるサイトメガロウイルス感染症、悪性腫瘍、後天性免疫不全症候群等を対象とした希少疾病用医薬品等指定品目であったが、現在では取り消されている。

他に「-umab」をサブシステムに持つ品目として29種類の抗体がINNに収載されている。

#### 「-cept」：受容体分子

「-cept」は、受容体分子(receptor molecule)に共通のシステムである。受容体のターゲット分子を示す文字を「-cept」の前に挿入する。

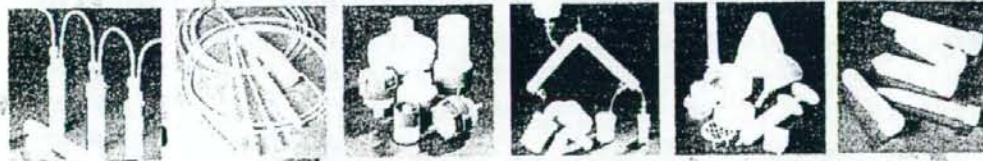


## PFA 専門メーカー・サビレックス

あらゆるニーズにお応えします。

### テフロン・PFA製品シリーズ

サビレックス製品は耐熱性に優れ、耐薬品性と高品質、使い易いデザイン、豊富な製品群により、研究者・技術者の方々のニーズに必ずお応え致します。



カタログ製品の加工、オリジナル品の製作にも、小ロットより対応致します。

詳しくは下記へお問い合わせ下さい。

サビレックス製品日本総代理店

**INOX 東栄株式会社**

本 社 〒103-0023 東京都中央区日本橋本町1-2-6 共同ビル本町  
TEL.03-5205-2861 FAX.03-5205-2862  
大阪営業所 TEL.06(6908)4880 FAX.06-6906-1285  
札幌営業所 TEL.011(709)0101 FAX.011-709-0033  
ホームページ: www.labinox.co.jp メールでのお問い合わせは: webmaster@labinox.co.jp

DM資料請求カードNo.4

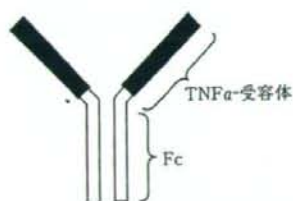


図5 Etanercept(エタネルセプト)の構造(2005年日本承認)

(1) 「-nercept」: TNF-α阻害薬

「-nercept」は、TNF-α阻害薬(Tumor necrosis factor antagonist)に共通のステムである。

TNF-αは、活性化マクロファージなどが産生するサイトカインの一種で、当初は腫瘍部位に出血性の壊死を誘導する因子として発見されたが、現在では、炎症を通じた生体防御制御に関わる因子と考えられている。体内にはTNF-αの受容体として、細胞表面のTNF-α受容体(単量体)と可溶性TNF-α受容体(単量体)が存在する。細胞表面の受容体にTNF-αが結合すると炎症反応が惹起される。関節リウマチ患者の関節内では、TNF-αが異常に増加し、可溶性TNF-α受容体が不足しているため、炎症反応が増大されて関節軟骨や骨の破壊が進行するといわれている。

TNF-α阻害薬は可溶性TNF-α受容体よりも強い力でTNF-αと結合し、TNF-αが細胞表面のTNF-α受容体に結合するのを阻止する作用を持つ。TNF-α阻害薬として日本で承認されているものにEtanercept(エタネルセプト)がある。なお、TNF-α阻害薬として他にインフリキシマブがあるが、インフリキシマブには前述したように、キメラモノクローナル抗体のステム「-ximab」が与えられている(ステム47(2)参照)。

エタネルセプトは、TNF-α受容体とIgG1のFc領域から構成されるサブユニットがホモダイマーを形成した遺伝子組換え型融合糖タンパク質である(図5)。可溶性受容体より強くTNF-αと結合し、炎症を抑制する。日本ではリウマチ疾患治療薬として2005年に承認された。

「-nercept」をステムに持ち、INNに収載されているその他の品目にLenercept, Onercept, および Pegsunerceptがある。



図6 抗原提示細胞およびT細胞の結合、ならびにAlefaceptおよびAbataceptの作用機構

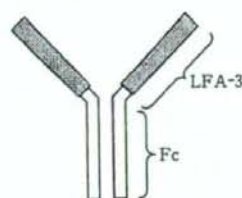


図7 Alefaceptの構造(日本未承認)

(2) 「-lefacept」: リンパ球機能関連抗原3(LFA-3)

「-lefacept」はリンパ球機能関連抗原3(Leukocyte function antigen-3, LFA-3)を示すステムである。

体内へ侵入した外来異物は、断片化され、抗原提示細胞表面の主要組織適合抗原(MHC)に捕捉されて細胞表面に提示される。T細胞は、このMHC複合体を異物と認識して活性化する。乾癬は、異物が無いのにT細胞が活性化し、IL-1やTNF-αなどのサイトカインが放出され、皮膚などに炎症反応が惹起されている疾患である。LFA-3は抗原提示細胞表面に発現し、T細胞表面のCD2と結合するタンパク質で、抗原提示細胞とT細胞の結合に不可欠な分子の1つである(図6)。

INNにはステム「-lefacept」を持つ医薬品としてAlefaceptが収載されている。Alefaceptは、図7に示すように、LFA-3のCD2結合部位とIgG1のFc部分を融合した2量体タンパク質で、T細胞表面のCD2に結合し、T細胞が抗原提示細胞に結合して活性化することを抑制