

Vero細胞の培養ディッシュをそれぞれ5%炭酸ガスを
含む空气中、 $36 \pm 1^\circ\text{C}$ で3～6日間培養する。

(改正：日局 15-2 追)

薬品製造工程中の培養細胞)である。生物学的製剤基
準のマイコプラズマ否定試験法⁵⁾とは異なり、ワクチ
ンは対象としない。

技術情報

1. 目的

マイコプラズマは無細胞壁の原核生物で、人工培地に生育可能な最小の微生物である。動植物界に広く分布し、種特異的な感染を示すが、培養細胞では培養作業従事者や培養に用いる血清等を介して種を超えて感染し、細胞膜に付着して増殖する。培養細胞にマイコプラズマ汚染が生じて細胞変性を伴わないことが多く、また細菌感染で認められるような培養液の混濁も起こらないため汚染に気づかないことが多い。実験室レベルでは培養細胞のマイコプラズマ汚染は高頻度に認められる¹⁾が、マイコプラズマの感染により培養細胞の本来の機能や性質は様々な影響を受けることが知られており、汚染細胞を用いて医薬品が製造されると重大な事態を招く可能性がある^{2,3)}。したがって、医薬品の製造に用いる細胞基材については、適切な方法でマイコプラズマ否定試験を実施する必要がある。

本参考情報は、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に用いる細胞基材についてマイコプラズマ汚染を否定するために実施すべきと考えられる試験法として、A. 培養法、B. 指標細胞を用いたDNA染色法、C. ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)による検出法の3種類の試験法を示したものである。現在まで、日本薬局方(日局)の医薬品各条には本参考情報の対象となる動物細胞基材由来の医薬品は記載されていない。しかし、日局参考情報には、バイオテクノロジー応用医薬品などの新医薬品の開発、品質評価に必要となる試験法を積極的に記載することにより有用な医薬品の開発を支援し、また医薬品の安全性や品質を担保するという目的もあることから、日局13第二追補(1999)より参考情報として記載されている。本試験法の記載に至る経緯や試験法の詳細な解説は前書⁴⁾を参照されたい。ここでは、試験法の概要と日局15第二追補での改正点についてのみ示す。なお、参考情報は試験を実施する上で参考になると考えられる情報を例示したものであり、必ずしも記載に従って実施しなければならないというものではない。

2. 適用対象

マイコプラズマ否定試験の適用対象は、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に用いる細胞基材で細胞バンクを基にするもの(マスター・セル・バンク、ワーキング・セル・バンク及び医

3. 試験法の概要

A. 培養法

培養法は、マイコプラズマを人工培地で培養・増殖させて検出する方法で、カンテン平板培地と液体培地の両方を使用する。カンテン平板培地は検体(細胞懸濁液)を接種後14日間以上培養する。液体培地は検体(細胞懸濁液)を接種後3、7及び14日間培養後にカンテン平板培地に移植し、更に14日間以上培養する。培養したカンテン平板培地は100倍以上の倍率の顕微鏡で観察し、マイコプラズマの集落(目玉焼き状のコロニー)の有無を判定するというものである。培養法はマイコプラズマの直接検出法であるが、試験に要する日数は28日間以上と非常に時間がかかること、また細胞基材を汚染するマイコプラズマは人工培地では増殖しないものも存在するため、必ずしもすべてのマイコプラズマを検出できるわけではないという欠点がある。

B. 指標細胞を用いたDNA染色法

DNA染色法は、カバーガラス上に培養した指標細胞(Vero細胞)に検体(細胞培養上清)を接種して3～6日間培養後、細胞表面で増殖したマイコプラズマをDNA特異的蛍光色素で染色し、蛍光顕微鏡を用いてマイコプラズマを細胞核外の微小なDNA蛍光斑点として検出する間接検出法である。DNA染色法はマイコプラズマに特異的な検出法ではなく、細胞由来DNAも染色されるため判定には熟練を要するが、細胞基材を汚染するマイコプラズマは細胞に依存して増殖する特性を有する場合も多いため、培養法では増殖しにくいマイコプラズマでも検出できるという特徴がある。試験には陰性対照と2種類のマイコプラズマ陽性対照を用いて判定を行う。

C. ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)による検出法

PCRによる検出法は、検体(細胞懸濁液)からDNAを抽出し、マイコプラズマ特異的なプライマーを用いてPCRで増幅することによりマイコプラズマDNAを検出する方法である。プライマーにはマイコプラズマに特異的で、かつ広範囲のマイコプラズマによく保存されている領域を対象にしたものを用いる必要がある。試験の感度と特異性を増すためには2段PCR法(ネステッドPCR法)が望ましく、本参考情報には2段PCR法が使用するプライマーとともに例示されている。PCRによる検出法は、迅速、簡便で検出感度と特異性に優れた試験法であるが、検出は用

いるプライマーに依存し、また不活性菌やマイコプラズマのゲノム断片も検出されるので注意が必要である。

以上のように、A法、B法、C法の3つの試験法にはそれぞれ長所と短所があることから、判定には単独の試験ではなく、各試験を組み合わせる必要がある。基本的には従来より実績のあるA法とB法による試験を実施するが、B法はマイコプラズマ以外のDNAも検出するためB法のみ陽性を示した場合には、C法によりマイコプラズマの存在を否定することも考えられる。

4. 改正の経緯及び改正点

マイコプラズマ否定試験が参考情報として記載されてから10年が経過し、この間に記載に当たり参考にされた欧州薬局方(EP)のマイコプラズマ否定試験法が最新のEP 6.0⁶⁾で大きく改正された。また、本参考情報に対して問題点を指摘する論文⁷⁾が発表され、改正要望も寄せられたことから、試験法の改正が行われることとなった。改正に当たっては、国内外のガイドラインを参照した(表1)。改正案に対する意見公

募でも多数の意見が寄せられたため、更に必要な修正が追加された。以下に、日局15第二追補での改正に当たり検討された点及び改正点を示す。

(1) 培養法の培養条件

培養法におけるマイコプラズマの培養条件は、従来はカンテン平板培地、液体培地とも「5～10%の炭酸ガスを含む空気中(好氣的条件)」及び「5～10%の炭酸ガスを含む窒素ガス中(嫌氣的条件)」で半数ずつ培養を行うというものであった。しかし、今回の改正で、カンテン平板培地は「5～10%の炭酸ガスを含む窒素ガス中(微好氣的条件)」のみ、また液体培地の培養条件からは気相の条件が削除された。これに伴い検体の接種数も変更となり、1検体当たりの接種はカンテン平板培地では「4枚以上」から「2枚以上」へ、液体培地は「2本」から「1本以上」に修正された。これは、大部分のマイコプラズマ菌種は通性嫌気性であり、嫌気、好気の両方の条件で増殖できるが、カンテン平板培地での発育は微好気培養が好気培養よりも優れていること²⁾、また従来の培養条件はEPに準じたものであったが、EPの改正により欧米のガイドラインはいずれもカンテン平板培地は微好気

表1 国内外のガイドラインにおけるマイコプラズマ否定試験法の比較(改正点に関連する記載を抜粋)

	EP 6.0 (2008) ⁶⁾	FDA/PTC (1993) ⁸⁾	生物学的製剤基準 (1998) ⁹⁾	JIS (2003) ²⁾	日局 改正前 (1999)	日局 改正後 (2009)
培養法						
カンテン平板培地培養条件	微好気(5～10%の炭酸ガスを含む窒素ガス) 35～38℃	5～10%の炭酸ガスを含む窒素ガス又は水素ガス、酸素0.5%未満 36±1℃	5～10%の炭酸ガスを含む空気又は窒素ガス 35～37℃	密閉容器 37±1℃	好気(5～10%の炭酸ガスを含む空気)と嫌気(5～10%の炭酸ガスを含む窒素ガス)で半数ずつ、36±1℃	微好気(5～10%の炭酸ガスを含む窒素ガス) 36±1℃
液体培地培養条件	密栓培養 35～38℃	36±1℃	35～37℃	寒天液体二層培地 密栓培養 37±1℃	好気と嫌気で半数ずつ 36±1℃	36±1℃
DNA 染色法	あり	あり	—	あり	あり	あり
陽性対照	<i>M. hyorhinitis</i> ATCC 29052 (=DBS 1050) <i>M. orale</i> NCTC 10112, CIP 104969, ATCC 23714 (=CH 19299)	<i>M. hyorhinitis</i> DBS 1050 <i>M. orale</i> CH 19299	—	<i>M. hyorhinitis</i> ATCC 29052, IFO 14858 (=BTS 7) <i>M. arginini</i> ATCC 23838, IFO 14476	<i>M. hyorhinitis</i> DBS 1050 <i>M. orale</i> CH 19299	<i>M. hyorhinitis</i> ATCC 29052, ATCC 17981 (=BTS 7) <i>M. orale</i> ATCC 23714
接種量	100 CFU 又は CFU-like micro-organisms 以下	100 CFU 以下又は 100 CCU 以下	—	100 CFU	100 CFU 以下	100 CFU 以下又は 100 CCU 以下
PCR 法	NATの概論とバリデーション法について記載	—	—	2段PCR法	2段PCR法(例)	2段PCR法(例)
実施すべき試験法	培養法とDNA染色法(細胞基材の場合) NATは適切なバリデーションを実施すれば培養法又はDNA染色法の代替法となり得る	培養法とDNA染色法	培養法	培養法又はDNA染色法とPCR法	培養法とDNA染色法 DNA染色法でのみ陽性を示した場合、PCR法で否定できる	培養法とDNA染色法 DNA染色法でのみ陽性を示した場合、PCR法で否定できる

培養のみ、液体培地の培養条件は温度のみで気相条件は記載なしとなったため、国際調和も考慮して改正が行われたものである。なお、「微好氣的条件」は従来の「嫌氣的条件」と同一の条件であるが、EPの用語(microaerophilic conditions)に合わせて「微好氣的条件」に変更された。

(2) マイコプラズマ発育阻止因子の測定法

マイコプラズマ否定試験は、検体中に抗生物質などのマイコプラズマ発育阻止因子が含まれると正確な結果が得られない。そこで、マイコプラズマ発育阻止因子の有無をあらかじめ試験し、発育阻止因子を有する場合には、遠心処理や細胞の継代などの適切な方法により発育阻止因子を除去あるいは中和しておく必要がある。これまで、マイコプラズマ発育阻止因子の測定法については特に記載されていなかったが、生物学的製剤基準⁹⁾には記載がある。そこで、参考情報としての利用者の利便性を考慮し、「マイコプラズマ発育阻止因子の測定は、生物学的製剤基準に記載されているマイコプラズマ発育阻止活性の試験を参考にできる」ことが培養法の関連記載中に追記された。

(3) DNA染色法の指標菌株と接種単位

DNA染色法で陽性対照として例示された2種類の指標菌株(*M. hyorhinis* DBS 1050及び*M. orale* CH 19299)について、陽性対照として適切でないとの指摘があり、指標菌株と接種量の表示単位に関して見直しが行われた。

これら2種類の指標菌株は、いずれもFDAのガイドライン(FDA/PTC)⁸⁾で例示されている。また、EP 6.0⁹⁾では、ATCC等で保存されている同等の菌株が「試験に適していることが確認された菌株(strain)」として保存機関のコード番号で示されていることから、菌株の選択に問題はないと考えられた。しかし、マイコプラズマは長期間の継代培養により性質が変化するため、同じ菌株でも継代数や保存条件、供給元によっては試験に適さない可能性がある。そこで、日局15第二追補の改正では、EPに準じて指標菌株をATCCコード番号で表示し、「*M. hyorhinis* DBS 1050」を「ATCC 29052」、「*M. orale* CH 19299」を「ATCC 17981」に変更することにより、適切な菌株を入手可能とした。また、公的又は適当と認められた機関より入手後適切に管理された「継代数の低いもの」を使用すべきとの注意喚起を行っている。更に、ATCCから入手したものは単位が設定されていないため、「接種単位をあらかじめ設定した上で使用しなければならない」ことが追記された。

DNA染色法の指標菌のうち、*M. hyorhinis* DBS 1050株については、細胞との共存で生育しており、人工培地上でコロニーが形成できないため、「100

CFU以下」と規定されている「陽性対照としての接種量の設定」が困難であるとの指摘があった。同じ*M. hyorhinis*でもBTS-7株はカンテン平板培地で増殖しやすいことが知られ、JIS¹⁾では指標菌としてATCC 29052(DBS 1050)又はIFO 14858(BTS-7)が指定されている。これらの点を考慮して、日局15第二追補の改正では、「ATCC 29052(DBS 1050)」に加えて「ATCC 17981(BTS-7)」も指標菌の例示に追加された。また、これらの菌株は必ずこれを使用しなければならないという指定菌株ではなく、あくまで試験に適切と考えられる菌株を例示したものであることをより明確にするために、「同等の種又は株」を用いてもよいことが明記された。

一方、FDA/PTC⁸⁾では、マイコプラズマの接種単位としてカンテン平板培地でのコロニー形成に基づくCFU(コロニー形成単位)の他に、液体培地の色調変化に基づくCCU(色調変化単位)も併記されている。接種単位がCFUではカンテン平板培地でコロニー形成しないマイコプラズマの接種量の設定と使用は困難だが、液体培養で単位が設定できればコロニーを形成しないマイコプラズマでも使用可能となることから、指標菌の接種単位として、従来のCFUに加えて「CCU」が併記された。

なお、ATCCコード番号による指標菌の表示と接種単位のCFUとCCUとの併記に関する改正は、DNA染色法に限るものではなく、培養法及びPCR法についても同様に行われた。

(4) PCR法

操作法の例として記載されている2段PCR法については、マイコプラズマの種類によっては検出感度が低く反応しない場合があることや、操作法の更新を求める意見などが寄せられた。これらの意見について検討した結果、例示の2段PCR法は感度と特異性に優れた方法であり、プライマーも含めてJISとほぼ同様の方法であること、培養細胞への汚染が知られているマイコプラズマの95%以上を検出できることが確認されていること、公的細胞バンクの試験に現在も使用されている実績のある方法であることが確認された。また、この操作法の例は、本文に記載のとおりプライマーも含めて一例を示したものであり、妥当性が立証されていれば他のプライマーを用いることや、1段PCRを実施することや、反応条件等を変更することも可能であり、例示の方法に限定されたものではないことから、特に例示の記載を修正する必要はないとされた。ただし、現在汎用されているPCRの実施条件を考慮して、操作法から「ミネラルオイルの滴加」は削除された。

また、PCR法は培養法とDNA染色法を補完する方法とされているが、PCR法も第一試験とすべきと

の意見も寄せられた。PCR法は、参考情報に記載された当時は欧米のガイドラインには未記載であり、欧米ではいずれも培養法とDNA染色法の両方の実施が求められていた。日局では培養法とDNA染色法の両方の実施を基本としつつ、これらの試験法を補完するものとして迅速性、簡便性、検出感度に優れたPCR法の例が記載されたものである。EPは最新のEP 6.0⁹で初めて核酸増幅検査(NAT)法が記載され、マイコプラズマ否定試験としては従来と同様、培養法とDNA染色法の実施を求めているが、適切なバリデーションを実施することによりNATを培養法又はDNA染色法の代替法として使用することも可能としている。EPにはNATの具体的な試験法ではなく、NATのバリデーション法に関する詳細なガイドラインが掲載されている。一方、日局のPCR法は例示として記載されており、培養法又はDNA染色法の代替法となるものではない。したがって、PCR法の位置付けについては、事態の推移をみながら今後の検討課題とされた。

◇◇◇ 文 献 ◇◇◇

- 1) 小原有弘, 大谷梓, 小澤裕, 塩田節子, 増井徹, 水澤博: 培養細胞研究資源のマイコプラズマ汚染調査, *Tiss Cult Res Commun* 26: 159-163, 2007.
- 2) 日本規格協会: マイコプラズマの検出法 - 第1部: 培養による直接検出法 JIS K 3810-1; 第2部: DNA 蛍光染色による間接検出法 JIS K 3810-2; 第3部: 2段階 PCR による検出法 JIS K 3810-3, 2003.12.20
- 3) 原沢亮, 水澤博, 竹内昌男: 動物細胞・培養における“コンタミ”の簡易検出, *蛋白質核酸酵素* 40(15): 2361-2368, 1995.
- 4) 日本公定書協会: 日本薬局方技術情報 JPTI 2006, 参考情報 20 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に用いる細胞基材に対するマイコプラズマ否定試験, pp 298-304, 東京, じほう, 2006.
- 5) 厚生労働省: 生物学的製剤基準, マイコプラズマ否定試験法, pp 14-15, 1998.
- 6) *European Pharmacopoeia* 6.0: 2.6.7. Mycoplasmas, pp 159-164, 2008.
- 7) 佐々木次雄, 岩田浩明, 栃木公太, 久保田眞由美: 平成 18 年度「日本薬局方の試験法に関する研究」研究報告 - 医薬品製造用細胞基材に対するマイコプラズマ否定試験法の問題点, *医薬品研究* 39(5): 299-309, 2008.
- 8) FDA: Points to consider in the characterization of cell lines used to produce biologicals, Attachment #2: Recommended procedures for detection of mycoplasma contamination in biological products produced in cell substrates, 1993.

バイオ後続品の品質・安全性・有効性確保のための要件**

山口 照 英*

1. はじめに

バイオ後続品（欧米ではバイオシミラーと呼ぶ）の品質・安全性・有効性確保のための指針（案）に関する意見募集通知が出されました（募集期間：平成20年9月17日～平成20年10月17日）¹⁾。本稿では、バイオ後続品の開発と規制における世界的な状況、バイオ後続品開発での課題、そして、どのような社会状況からこのような指針（案）を策定するに至ったか等の経緯、更に指針（案）を策定するにあたって解決しなければならない様々な問題点を明らかにした上で、指針（案）の内容について説明します（その後本指針は平成21年3月4日に厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知として発出されています）²⁾。

2. バイオ後続品/バイオシミラー製品開発と規制における世界的状況

2.1 バイオ後続品/バイオシミラー製品の開発に関する背景

バイオ後続品の開発が世界的に進もうとしている背景としては、1990年代に作られたバイオ医薬品の多くが2010年前後に特許切れとなることを受け、化学薬品における後発品開発と同様の考え方からそれぞれのバイオ医薬品に対する後続品/バイオシミラーを開発しようといった機運が高まっているためです。

2.2 各国のバイオ後続品/バイオシミラーに関するガイドライン

各国のバイオ後続品/バイオシミラー製品開発の進展を受け、ヨーロッパのEMA、WHO、Health

Canada に対応するガイドライン作成が進められてきました。

バイオ後続品の開発に対応するための各国が示しているガイドライン（案）を Table 1 に示します。EMA が最も多くのガイドラインを発出しております。2, 3 番目は EMA が出した品質あるいは非臨床・臨床に関するガイドライン案です。4 番目は Health Canada のガイドライン案で、パブリックコメントが終了し、改訂案が出されています。

WHO はバイオシミラーに関するガイドラインを策定中で、専門家協議が何回か行われており、平成20年10月中には WHO のバイオリジカルの専門協議に提案される予定となっていました。現在のところ最終案には至っていません。

2.3 バイオ後続品規制に関する世界の動き (Table 2)

バイオ後続品規制に関する世界的な動きとしては、前述したように EMA からバイオシミラー開発のためのいくつかの指針が作成されています。また、EMA ではその指針に基づいて、組換えヒト成長ホルモン、エリスロポエチン、顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF) などのバイオ後続品の承認、あるいは認可の推薦が行われています。

WHO ではバイオシミラー一般名称に関する専門家会議が行われ、その後、指針案作成に関する専門家会議が数度にわたって開催されています。また、2008年5月には韓国でジョイント・ミーティングが行われています。

FDA は、バイオシミラーに関するガイドラインを作成中ですが、具体化はしていません。

* 国立医薬品食品衛生研究所生物薬品部 東京都世田谷区上用賀 1-18-1 (〒158-8501)

** 当協会主催の第27回新薬審査に関する最近の動向について（平成20年10月16日：大阪、21日：東京）における講演による。

Table 1 各国のバイオ後続品／バイオシミラーに関するガイドライン

• Guideline on similar biological medicinal products 2005 CHMP/437/04/
• Guideline on Similar Biological Medicinal Products containing Biotechnology-Derived Proteins as Active Substance: Quality Issues; 22 Feb. 2007 EMEA/CHMP/BWP/49348/2005
• Guideline on similar biological medicinal products biotechnology-derived proteins as active substance; non-clinical and clinical issues; 22 Feb. 2006 EMEA/CHMP/BWP/42832/2005
• Draft guidance for sponsor: Information and Submission Requirements for Subsequent Entry Biologics (SEBs); Minister of Public Works and Government Services Canada 2008

Table 2 バイオ後続品規制に関する世界の動き

• EMEA でバイオシミラー（バイオ後続品）開発のための指針作成
• 組換えヒト成長ホルモン，エリスロポエチン，G-CSF バイオ後続品の承認・認可推薦
• WHO でバイオ後続品の一般名称に関する専門家会議開催（2006.9 及び 2006.11）
• WHO バイオ後続品開発のための指針作成に関する専門家会議（2007.4）
• FDA：バイオ後続品に関するガイドライン作成との情報はあるものの，具体化はしていない
• 日本：バイオ後続品開発のための指針作成班がスタート（2007.5）
• 日本：意見公募のための指針案公表（2008.9）

このような世界各国のバイオ後続品に関する開発状況を受け，日本では厚生労働省の依頼を受けてバイオ後続品開発のための指針作成班が設置され，2007年5月から1年余りの検討を経て，意見公募のための指針案¹⁾を公表しました。

また，EUで承認されたヒト成長ホルモンのバイオシミラー製品が2006年4月に承認されました。このバイオシミラーの開発に対し，専門誌である『Nature Biotechnology』にバイオシミラーが初めて認可されたことを紹介する記事が掲載されました²⁾。

これ以外にも様々な科学雑誌にバイオシミラーについて大きく取り上げられるような状況となっており，医薬品の規制だけでなく，学術的な観点からもバイオ後続品はどのようにあるべきか，あるいはどのような発展を遂げていくかといったことが議論されています。

2.4 EUでのバイオシミラー製品の審査状況

EMEAでの具体的な承認状況については，Table 3に示すようにヒト成長ホルモンは2品目，エリスロポエチンは5品目，G-CSFは1品目が承認を受け，3品目が認可の推薦となっています。

3. バイオ後続品開発での課題

このように世界的にバイオ後続品が開発されている状況で，日本でもガイドラインの作成を進めていますが，バイオ後続品開発にあたってどのような課題があるかについて，最初に検討を行いました。

3.1 複雑な構造

一般的に，バイオ医薬品は複雑な構造を持ちます。例えば，アスピリンに対しヒト成長ホルモン (Fig. 1)

Table 3 EUでのバイオシミラー製品の審査状況（2008年3月）

Omnitrope	somatropin	承認
Valtropin	somatropin	承認
Binocrit	epoetin alfa	承認
Epoetin alfa Hexal	epoetin alfa	承認
Abseamed	epoetin alfa	承認
Silapo	epoetin zeta	承認
Retacrit	epoetin zeta	承認
Tevagrastim	filagrastim	承認
Filagrastim Ratiopharm	filagrastim	認可推薦
Ratiograstim	filagrastim	認可推薦
Biograstim	filagrastim	認可推薦

は、非常に大きな巨大分子です。またバイオ医薬品は一次構造、二次構造、三次構造、製品によっては四次構造まであります。

更に糖鎖、N末の修飾、N末やC末アミノ酸の欠失、あるいは糖鎖の不均一性及び代謝等により様々な不均一性があります。このような生体での修飾だけではなく、例えば、PEG等による改変などの人工的な改変による不均一性も存在する可能性がありますし、様々な生物活性を持つ可能性があります。

Fig. 2 に組織プラズミノゲン活性化因子 (tPA) の模式図を示しますが、tPA は様々なドメインから構成されています。これらのドメインには Fibronectin (FN) ドメイン、EGF-ドメイン、二つのクリン

グルドメイン、プラスミン結合ドメイン、活性中心であるセリンプロテアーゼドメインがあり、かつ、そのドメインごとに異なる生物活性を持っていたり、あるいはそれぞれのドメインごとに他の分子との相互作用をすることが知られています。

したがって、それぞれのドメインについては、一つの活性だけでその全体を把握することは難しいケースが往々にしてあり、それぞれのドメインに関連する活性及び他のタンパクとの相互作用を総合的に解析することにより、一つのタンパク質分子としての特性解析が可能になってきます。このような複雑性を持っているところがバイオ医薬品の大きな特徴です。

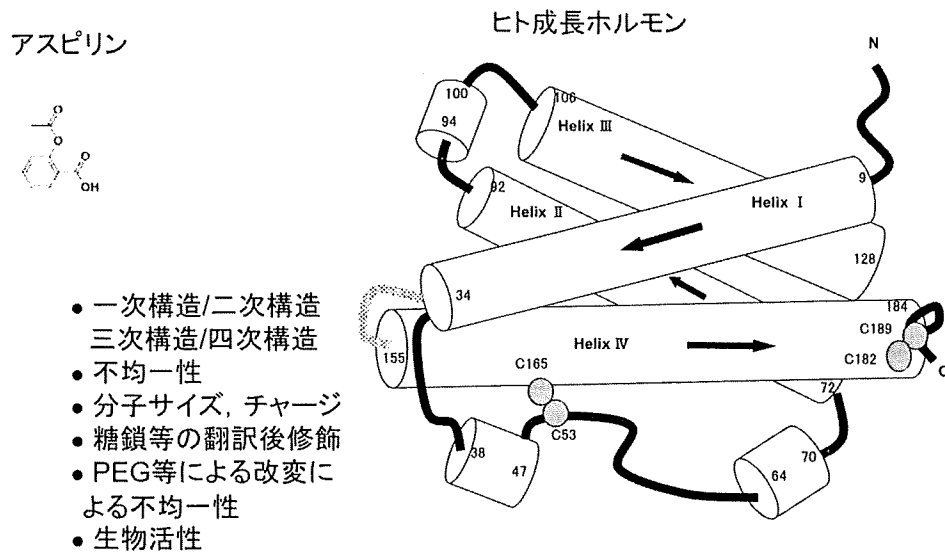


Fig. 1 非常に複雑な構造を持つバイオ医薬品

各ドメインは異なる機能を持つ

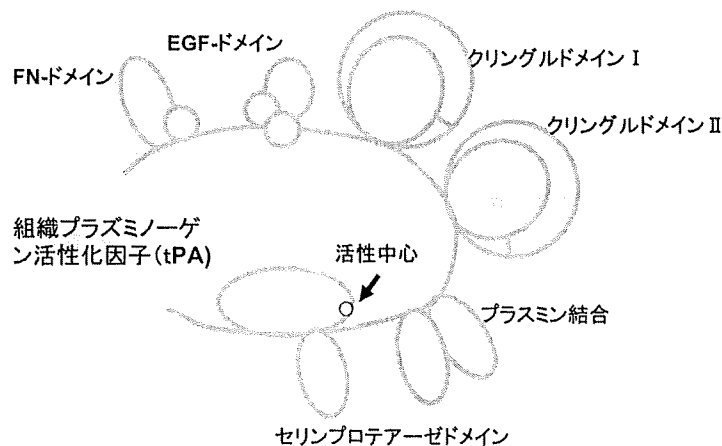
 ⇔ 多面的な機能解析の必要性


Fig. 2 複数のドメイン構造を持つバイオ医薬品

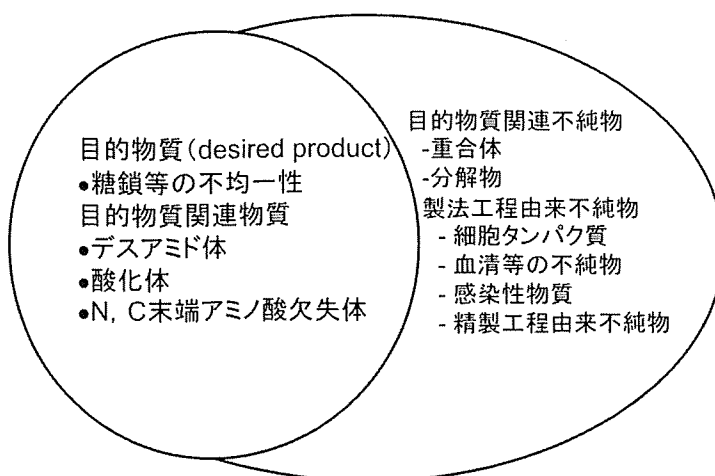


Fig. 3 バイオ医薬品は多様な分子から構成される→バイオ後続品の品質特性評価の重要なポイント

3.2 バイオ後続品の品質特性評価の重要なポイント (Fig. 3)

バイオ医薬品には目的物質 (desired product) があり、例えば、コードしている DNA のアミノ酸配列により目的物質のタンパク質構造が規程されますが、糖鎖付加等による何らかの修飾が行われることにより不均一性が生じます。

目的物質関連物質とは、不均一性の中で deletion が生じた場合、目的物質と構造は少し異なるものの、活性は目的物質とほとんど同じであり、かつその差異が有効性、安全性に影響を与えないものと ICH Q6B ガイドラインで定義されています。更に目的物質の分解産物あるいは関連物質の不純物として重合体や分解物があり、これは目的物質由来不純物とされています。

それ以外にも製法工程由来不純物、例えば、細胞タンパク質や血清等の不純物、感染性物質及び精製工程由来不純物も含めてバイオ医薬品の品質特性を捉える必要があります。また感染物質の存在を否定することも重要なポイントとなります。

3.3 バイオ後続品開発における抗体産生 (Table 4)

バイオ医薬品を開発する際に実際に生じた事例として、免疫原性の問題があります。ヨーロッパで最初に承認されたオムニトロープ開発の初期段階で、投与された 60% という非常にたくさんの被験者で抗体産生が見られました。

オムニトロープはヒト成長ホルモンですが、ヒト

Table 4 バイオ後続品開発における抗体産生

- オムニトロープ開発段階での抗体産生
- 臨床開発初期では投与された被験者の 60% に抗体産生
- ECP が抗体産生を促進している？
- ECP 低減化にむけて製法変更
- 最終製剤の抗体産生は、対照としたジェノトロピンと同等

成長ホルモンは生産基剤の *E. coli* 由来タンパク質 (ECP) によって抗体産生が促進される可能性が以前から指摘されているため、不純物による抗体産生ではないかと疑われました。ECP 低減化に向けた製法変更を途中で行ったところ、最終製品では抗体産生は起きていないと審査レポートでは報告されています¹⁾。

この事例は、不純物プロファイルによっては被験者に高い抗体産生を誘導する可能性があることを示していますので、バイオ後続品の開発においては、このような抗体産生による影響は十分に調べなければなりません。

3.4 バイオ後続品 (Table 5)

バイオ後続品の開発にあたっては、目的とするバイオ医薬品に対する類似性を明らかにしておく必要があると考えられます。ただし、目的とするバイオ医薬品と同じ細胞基材を用いることが必要かどうかという点があります。それ以外にも、目的とするバイオ医薬品の遺伝子発現構成体等に関し、得られ

Table 5 バイオ後続品

<ul style="list-style-type: none"> • 単純タンパク質医薬品 <ul style="list-style-type: none"> - 細胞基材の同一性は不要か？ - コードする遺伝子の同等性は不要か？ (N末 met の除去方法, シグナル配列) • 糖タンパク質医薬品 <ul style="list-style-type: none"> - 細胞基材の同一性の必要性 (CHO, SP2/0) - コードする遺伝子の同等性の必要性 (cDNA, ゲノム DNA) - 糖鎖修飾や PEG 等の改変による不均一性の同等性/同質性
--


る情報は非常に限定的でしかありません。情報が不十分な中で、開発を進めるため、どのように細胞基材の選択や遺伝子発現構成体を作製していくかが問題となります。

多くの糖タンパク質医薬品では、CHO や SP 2/0 などの細胞が使われています。こういった細胞を用いる製造では、糖鎖による不均一性が存在することとなりますので、その同等性/同質性をどのように証明していくか、あるいは同等であることの判断基準というマージン、つまり差異があってもどのくらいの幅であれば同等といえるかといった点が非常に大きな課題となります。

3.5 細胞基材の同一性 (Table 6)

先行バイオ医薬品が CHO 細胞で製造していると分かっているケースでも、実際の CHO 細胞には様々なストレインが存在します。接着細胞や浮遊細胞、無血清化細胞等、それぞれのサブストレインごとに特性はかなり異なってきますが、サブストレインの情報までは公開されていないケースが多いので、先行バイオ医薬品と同一のサブストレインにすること

Table 6 細胞基材の同一性

<ul style="list-style-type: none"> • CHO 細胞でも多くのストレインが存在する <table style="display: inline-table; vertical-align: middle; margin-left: 10px;"> <tr> <td style="border-right: 1px solid black; padding-right: 5px;"> <ul style="list-style-type: none"> - CHO-K1 - CHO-DUKX - CHO-DG44 - CHO-Pro5 </td> <td style="padding-left: 5px;"> <ul style="list-style-type: none"> 接着細胞 浮遊細胞 無血清化細胞 </td> </tr> </table> • 開発過程で細胞特性の改変 (無血清化, 浮遊細胞への馴化) 	<ul style="list-style-type: none"> - CHO-K1 - CHO-DUKX - CHO-DG44 - CHO-Pro5 	<ul style="list-style-type: none"> 接着細胞 浮遊細胞 無血清化細胞
<ul style="list-style-type: none"> - CHO-K1 - CHO-DUKX - CHO-DG44 - CHO-Pro5 	<ul style="list-style-type: none"> 接着細胞 浮遊細胞 無血清化細胞 	
		
<ul style="list-style-type: none"> • 公知の情報のみでは先行メーカーと同一細胞/同一ストレインを用いることが困難 • ストレインごとに至適培地も異なる 		

はかなり困難です。

更に、開発段階で細胞特性の改変を行っていることが多く、例えば、最初は CHO-K1 で製造していたものを途中から無血清化、浮遊細胞へ馴化をしているケースもあります。したがって、公知の情報のみでは先行バイオ医薬品と同一細胞/同一ストレインを用いることはかなり困難であり、かつ、ストレインごとに至適培地や培養条件も異なるため、培地組成に由来する工程由来不純物も異なってくると考えられます。

一方で、精製工程により糖鎖の不均一性プロファイル、あるいは特性プロファイルが変わることが考えられます。例えば、Fig. 4 に示すように、バルクハーベストでは糖鎖の不均一性があっても、精製工程で特定の分子種だけを回収するような製法を採用した場合には、糖鎖の不均一性はもとと大きく異なってくることとなります。

3.6 バイオ後続品に求められるデータ (Fig. 5)

バイオ後続品を実際に開発する際、多くの先行バイオ医薬品のデータはブラックボックス、つまり鍵がかかった状態となっています。このように鍵がかかっている状態の中で先行バイオ医薬品と同じ製法を用いることはほぼ不可能と考えられますので、製法については独自に開発する必要があります。品質特性についても、新薬と同様に独自に十分な解析を行うことが必要であり、更に目的とするバイオ医薬品との類似性を評価することが必要です。これらのデータを踏まえ、非臨床・臨床試験をどの程度行えば良いかが決まってくると考えられます。

3.7 製法工程の違いによる不純物プロファイルの差異

同等性/同質性の評価において参考となると考えられているガイドラインは、製法変更による同等性/同質性を示すための ICH Q5E ガイドライン⁹⁾です。ただし、Q5E は製造メーカーの旧製法のデータと新製法のデータを逐次比較評価しながら、新製法による製品と旧製法の製品との同等性/同質性を立証するためのものです。したがって、Fig. 6 に示すように二つの製品を並べて、head to head で比較することができるという点で、比較方法が大きく異なってくる可能性があります。

一方、バイオ後続品の開発では、Fig. 7 に示すように先行バイオ医薬品の製法の多くの部分もブラッ

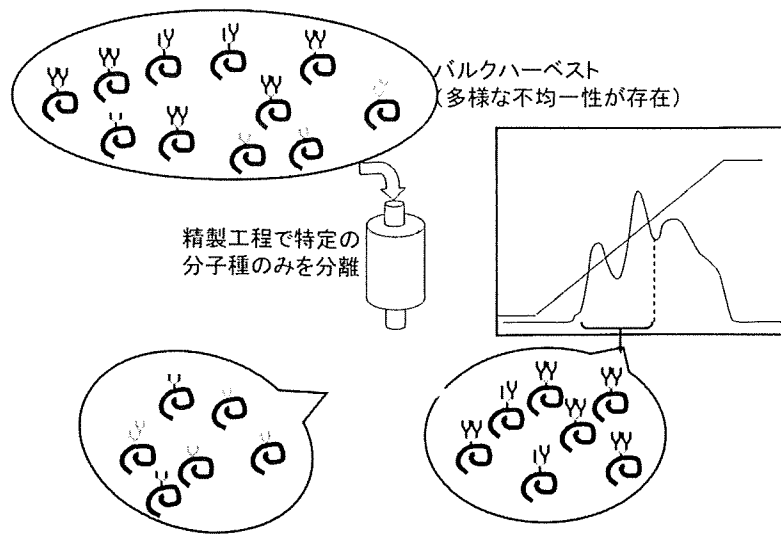


Fig. 4 精製工程により糖鎖等の不均一性プロファイルが異なる

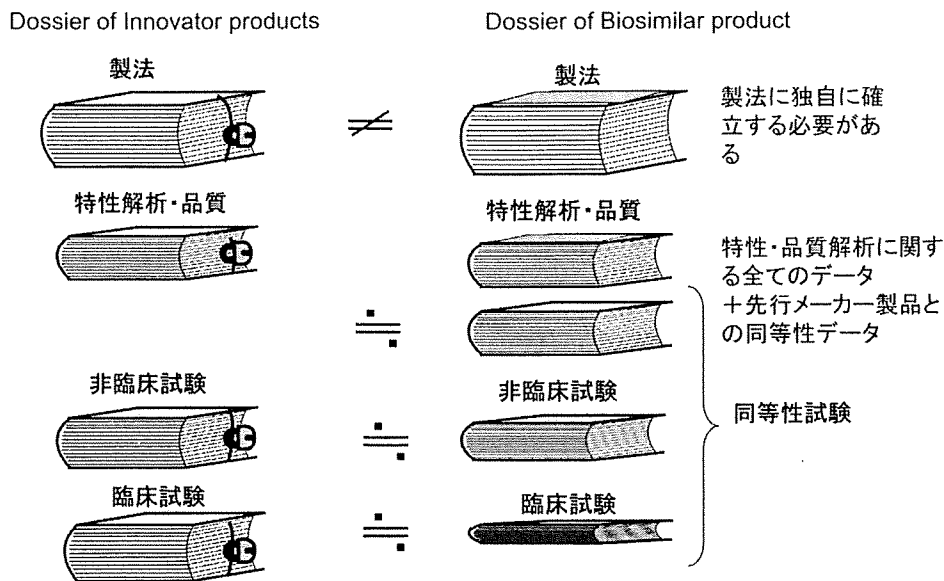


Fig. 5 バイオ後続品に求められるデータ

クボックスの中に入れており、対照バイオ医薬品の製法の情報が不明のまま、不純物を含めてどのように比較試験を行い、同等製/同質性を評価し、その安全性あるいは有効性を確保していくかが課題となります。

3.8 既承認バイオ医薬品が複数の効能を持つ場合 (Table 7)

バイオ後続品の開発の際のもう一つの大きなポイントは、対照とするバイオ医薬品が複数の効能を持つ場合に、どのような条件でこれらの効能について

の承認が得られるかです。例えば、日本ではヒト成長ホルモンは、5品目が承認されており、それぞれの製品は異なる効能を持っています。

例えば、ジェノトロピンの製品のバイオ後続品を開発しようとする時、最終的には Table 7 に示すような複数の効能を取得できる可能性があります。しかし、他の製品のバイオ後続品では同様の効能についての承認は得ることができないと考えられます。

また、複数の効能がある場合、それぞれの効能をどのように、どのようなデータで認めていくかとい

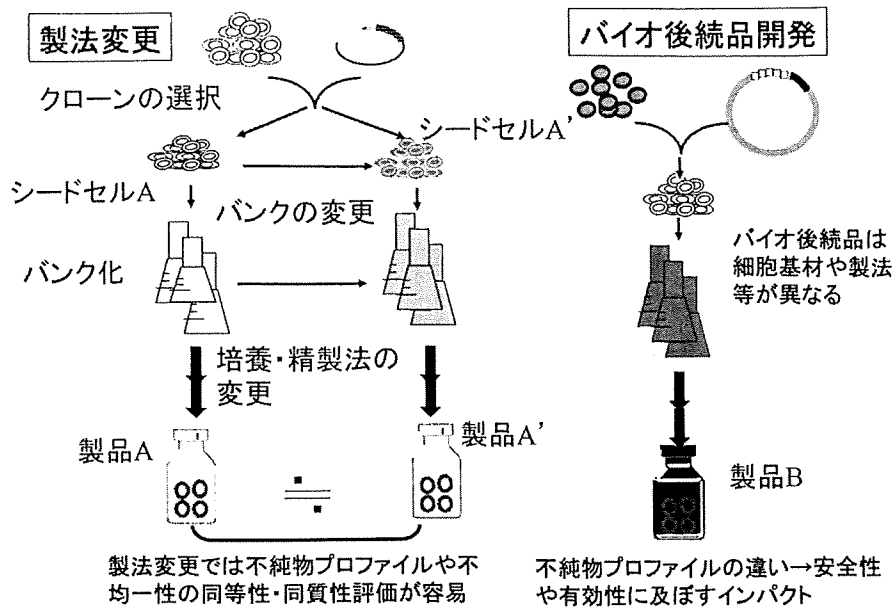


Fig. 6 製法工程の違いによる不純物プロファイルの差異

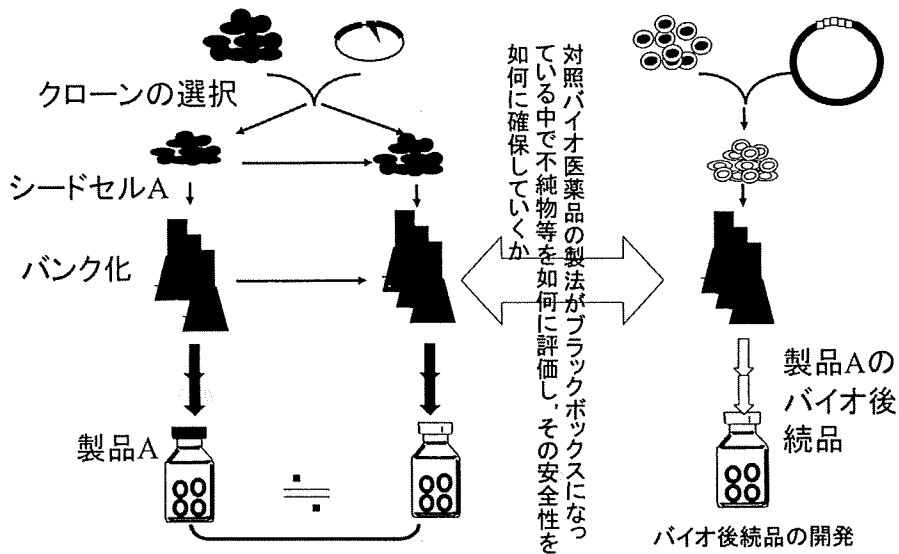


Fig. 7 製法工程の違いによる不純物プロファイルの差異

った点も大きな課題となります。

したがって、バイオ後続品の開発の際に非常に重要なポイントとなるのは、様々な制限のある中でその品質・安全性・有効性において対象とする既承認バイオ医薬品との比較、つまり同等性/同質性をいかにして明らかにできるかにかかっていると考えられます。

4. バイオ後続品の品質・安全性・有効性確保のための指針の論点

4.1 バイオ後続品指針作成

バイオ後続品の指針の作成では、開発における基礎から非臨床、臨床開発をカバーすることとしました。バイオ後続品は既承認タンパク質医薬品の特許期間の終了、あるいは再審査期間の終了を待って開発が可能となることから、既承認医薬品等の開発から10~15年の科学の進歩があり、その科学進歩を

Table 7 既承認バイオ医薬品が複数の効能を持つ場合

ヒト成長ホルモン (INN: ソマトロピン)	効能				
	Dwarfism	Turner's syndrome	Prader-Willi syndrome	hGH- deficiency	Weight-loss (HIV)
ジェノトロピン /E. coli	○	○	○	○	
ノルディトロピン /E. coli	○	○			
ヒューマトローブ /E. coli	○	○		○	
サイゼン/CHO 細胞	○				○
グロージェクト /E. coli	○	○			

適切に取り込んで開発を行わなければならないと考えられます。

バイオ後続品として、理論的にはすべてのバイオ製品の開発が可能と考えられますが、目的物質あるいは目的物質関連物質について規定することが比較的容易で、かつ品質特性解析のアプローチが容易な組換えタンパク質を最初に取り上げることとしました。また、これに関する基本原則あるいは考え方について、他の製品を開発する際に逐次参照すれば良いと考えました。

4.2 バイオ後続品の同等性評価

バイオ後続品の開発にあたっては、前述したように、製法あるいは品質特性解析データの多くの部分がブラックボックスの中にあるため、新薬と同様に独自に恒常性、頑健性のある製法を開発し、得られた製品について十分な品質特性解析を行う必要があります。

その上で目的とする既承認タンパク質医薬品との比較試験により同等性/同質性評価がどの程度できるかによって、その後の非臨床あるいは臨床のデータの必要度が異なってくると考えられます。

この同等性/同質性評価については、原薬の入手が困難な場合が多いと考えられます。特殊な例として、親会社から子会社へ移管する場合は、これらのデータを得ることができる可能性があるかもしれませんが、このような例外を除いて基本的には情報や原薬の入手は非常に困難であると考えられます。したがって、様々な制約のある中で製剤や製剤から精製した原薬相当品を用いて同等性/同質性評価を行

う必要があると考えられます。

5. バイオ後続品

我が国で開発可能なバイオ後続品は、国内で既に承認されている組換えタンパク質医薬品（バイオテクノロジー応用医薬品；対照バイオ医薬品）と同等/同質の医薬品としております。

海外では、例えば、WHOやHealth Canadaのガイドライン案では、国内で承認されていない医薬品についてもバイオシミラーの開発が可能という内容の案が作成されています。EUではEU内で承認されたもの、FDAも今のところは国内で承認されたもののみと考えられているようです。

5.1 同等性/同質性

対照バイオ医薬品に関して同等/同質であるとの考え方のコンセプトとしては、ICH Q5Eの概念が適用可能と考えております。対照とする先行バイオ医薬品である既承認薬とバイオ後続品の品質特性が全く同一であることを意味するのではなく、品質特性において対照バイオ医薬品と高い類似性を示した上で、もし何らかの差異があったとしても、最終製品の安全性、有効性に関して何らかの影響を及ぼすことがないことを科学的に判断できるものです。

なお、Q5Eの概念が適用できると述べましたが、Q5Eそのものは同じ製造業者が製法変更をした際に、必要なデータをhead to headで比較しながら評価するためのガイドラインであるのに対し、バイオ後続品の開発では、ほとんどのデータがブラックボックスの中にあるといった制約がありますので、

手法的には多くの制限を受けながらそのコンセプトを適用していく必要があると考えられます。

5.2 バイオ後続品と後発品の差異

また、バイオ後続品といわゆる化学薬品の後発品との差異がこの指針作成の大きなポイントです。つまり、化学合成医薬品の後発品と同様のアプローチは適用できません。その理由は前述したように、バイオ医薬品は非常に巨大な分子であり、目的とする製品の品質特性解析だけではその品質特性を規定することができない、という化学薬品とは異なる特徴をもっているからです。

したがって、バイオ後続品は後発品と異なる新たな評価が必要と考え、今回の指針作成の検討に至りました。したがって、いわゆる化学薬品の後発品とは異なる新たな承認申請区分を設けることが明記されています。

なお、薬審1第10号通知⁹⁾との整合性が必要とされていますが、この通知はバイオ細胞を用いて作られるバイオ医薬品に関する指針です。この中で新薬とはシードセル（種細胞）が異なれば新薬とすると記載されており、この通知を適用しますとバイオ後続品は新薬として扱う必要があるため、バイオ後続品に関してはこの通知を適用せず、別のカテゴリーに入れると明記されています。

5.3 適用範囲 (Table 8)

バイオ後続品の指針の適用範囲は、前述したように高度に精製され、十分な特性解析が可能な組換えDNAタンパク質医薬品/ポリペプチドを対象としています。

ただし、細胞培養由来、あるいは生体から分離されるタンパク質医薬品で、高度に精製され、特性解析が可能であれば、本指針に示す基本的な原則は適用可能と考えられます。したがって、組換えDNA

Table 8 適用範囲

- | |
|---|
| <ul style="list-style-type: none"> • 対照バイオ医薬品は国内で既に承認されているバイオテクノロジー応用医薬品 • 高度に精製され、十分な特性解析が可能な組換えDNAタンパク質医薬品/ポリペプチド • 次のような製品に対しても本指針で示す基本原則が適用可能 • 細胞培養由来/組織・体液から分離されるタンパク質医薬品で、高度に精製され、特性解析可能な医薬品 |
|---|

タンパク質医薬品以外の製品に関して開発する場合も、本指針の必要な箇所を参照することによりバイオ後続品の開発が可能な場合があると書かれています。

5.4 バイオ後続品開発における一般原則

(Table 9)

前述したように、バイオ後続品は、新規遺伝子組換えタンパク質医薬品と同様に、独自に製法を確立し得られた製品について品質特性を詳細に明らかにしなければなりません。これに加えて品質特性の比較試験により対照バイオ医薬品と類似性が高いことを示す必要があります。更に非臨床・臨床試験を含めて対照バイオ医薬品と同等/同質であることを示すことが求められます。

更に、バイオ後続品の全開発段階を通じて、同一の製品を対照バイオ医薬品として用い、比較試験を実施する必要があります。3.8項で述べたヒト成長ホルモンは、五つの製品が国内で承認されていますが、ヒト成長ホルモンのバイオ後続品を開発するのであれば、品質特性から臨床開発までの全開発期を通じてこれらの既承認製品から一つの製品を選び比較評価をしていく必要があります。

もちろん開発段階において、最初はAという製品に対するバイオ後続品を開発していても、途中からBという製品に変更することも想定されます。その場合もデータとしては最終的に選択したBの製品に対して比較試験データを作る必要があると考えられます。

5.5 バイオ後続品における同等性/同質性評価の目標 (Table 10)

同等性評価において困難さが想定される事項として、一つは、本来であれば品質特性の比較評価では

Table 9 バイオ後続品開発における一般原則

- | |
|---|
| <ul style="list-style-type: none"> • 新規遺伝子組換えタンパク質医薬品と同様に、独自に製法を確立し、品質特性を詳細に明らかにすること • 品質特性について対照バイオ医薬品と類似性が高いことを示すこと • 非臨床試験及び臨床試験を含め、同等/同質であることを示すこと • バイオ後続品の全開発期間を通じて同一の製品を対照バイオ医薬品として比較試験を実施すること |
|---|

Table 10 バイオ後続品に関する同等性/同質性評価の目標

- 対照バイオ医薬品の入手が困難→品質特性比較の限界
- 製剤での品質特性の比較試験では限界的なデータ
- 科学的に妥当性の示された手法を用いて可能な範囲で解析を行い、得られたデータを提出すること
- 品質特性の比較試験をまとめて記載すること
- 非臨床試験は品質特性のデータや対照バイオ医薬品との比較データを参考に合理的な試験を設定
- 臨床試験は、品質特性、非臨床試験結果、並びに対照バイオ医薬品との比較に基づき、かつ対照バイオ医薬品に関する種々の知見も考慮して、必要かつ合理的な試験をデザインすること

原薬を用いて試験を行うことが望ましいと考えられますが、後続品の対照バイオ医薬品の原薬は入手が困難と考えられます。したがって、原薬が得られるのであればそれを使用し、得られない場合は科学的に妥当性の示された手法を用い、可能な範囲で精製された製品について比較するか、あるいは製剤を用いて品質特性の比較評価を行うことが求められます。また、全ての特性について比較評価を行うことを求めるものでなく、可能な範囲での限定的なデータ比較でやむを得ないとしています。

もう一つは、品質特性の比較試験の結果は概要にまとめて記載することです。これは実際に審査をする上で、比較評価という項目を設けて記載していただく方が望ましいと考えております。開発段階においては、独自に取得すべき品質特性のデータと比較データを同時に取る可能性もありますが、記載に際しては別々にした方が良いと考えられます。

非臨床試験は、品質特性のデータや対照バイオ医薬品との比較データを参考とし、合理的な試験をデザインする必要があります。

臨床試験は更に非臨床試験、品質特性試験のデータ、あるいは対照バイオ医薬品との比較データを含めて合理的かつ必要なデータを取得する必要がありますので、試験デザインも含めて考えなければいけません。

5.6 バイオ後続品の製法・品質特性解析

バイオ後続品の製法・品質特性解析に関する事項

Table 11 バイオ後続品の製法・品質特性解析

- 恒常性・頑健性の高い製造方法を独自に確立
- 新規バイオ医薬品と同様に十分な特性解析を実施
- 製法開発：宿主・ベクター系、セルバンクシステム、培養・精製工程
- 特性解析
- 製剤設計
- 安定性試験

として、Table 11に記載されている項目は、新規バイオ医薬品の開発において必要とされる項目と同一です。

5.7 製法開発 (Table 12)

製法の開発については、対照バイオ医薬品の製法に関して限定的な情報しかありません。また、宿主・ベクター系、セルバンクシステム等を同一にすることはかなり困難と考えられます。したがって、有効成分の特徴や対照バイオ医薬品との品質特性に係る同等性/同質性評価結果に基づき、製法を最適化する必要があります。

実際の開発では製法を確立し、品質特性試験を行うと同時に対照バイオ医薬品との比較試験を行うと考えられますが、比較試験の結果、品質特性に差異が認められた場合、更に製法を再度見直しを行い、できるだけ品質特性の同等性が高い製品を得られるように製法の最適化が行われる必要があると考えられます。

5.8 宿主・ベクター系 (Table 13)

宿主・ベクター系に関する対照バイオ医薬品の情報は限定的ですが、実際には対照バイオ医薬品がどのような細胞を用いているかが分かれば、同種宿主細胞を用いた開発が望ましいと考えられます。ただし、サブストレインまで合致させることは困難と考えられます。また血清や無血清培地での添加剤などに由来する不純物の混入やその安全性の評価について

Table 12 製法開発

- 対照バイオ医薬品の製法に関しては限定的な情報
- 宿主・ベクター系、セルバンクシステム、培養・精製工程を全て同一にすることは不可能
- バイオ後続品の有効成分の特徴や対照バイオ医薬品との品質特性に係る同等性/同質性評価結果に基づき、製法を最適化すること

Table 13 宿主・ベクター系

- 対照バイオ医薬品の同種宿主細胞を用いた開発が望ましい
- ストレインまでは合致させることは困難
 - 無血清
 - 目的タンパク質発現制御
 - HCP の差異につながる可能性
- 宿主が同一であっても、遺伝子発現構成体の挿入部位や培養条件等、さまざまな要因によって糖鎖の不均一性は大きく変動

ては、情報が限定的であればあるほど、独自に評価しなければならない点が多いと考えられます。

しかし、宿主が同一であったとしても遺伝子発現構成体の挿入部位や培養条件等、例えば、糖タンパクであれば糖鎖の不均一性について、あるいは単純タンパクであっても目的タンパク質の不均一性、いわゆるデスマイド体やスルホキシド体関連物質の含量は、様々な要因によって変動することを十分に考慮しなければなりません。

5.9 培養・精製工程 (Table 14)

培養・精製に関しても、情報の不足から対照バイオ医薬品とは異なる工程を採用せざるを得ません。したがって、製造工程由来不純物プロフィールについては対照バイオ医薬品と異なる可能性が高く、その類似性を明らかにすることは必ずしも容易ではありません。

特に、製剤しか入手できない場合に、製剤に添加剤がありますと、そこから精製したとしても、不純物についての類似性を推定することはかなり困難になると考えられます。

このように不純物の除去状況、不純物に関する経験や情報をできる限り考慮した上で、必要な工程管理試験や規格試験を設定することが必要です。

Table 14 培養・精製工程

- 対照バイオ医薬品とは異なる製造工程
- 不純物プロフィールについて対照バイオ医薬品とバイオ後続品との類似性を明らかにすることが必ずしも容易でない
- 単に不純物の異同でなく、特性解析の結果に基づいて独自に安全性を評価
- 不純物の除去状況、不純物に関する経験や情報から、必要かつ合理的な工程内管理や規格及び試験法を設定すること

Table 15 特性解析

新規バイオ医薬品と同様のデータ

- ① 構造・組成
- ② 物理的・化学的性質
- ③ 生物活性
- ④ 免疫学的性質
- ⑤ 不純物（目的物質由来不純物及び製造工程由来不純物）等

5.10 特性解析 (Table 15)

品質特性についても、新規バイオ医薬品と同様に十分な解析を行わなければなりません。したがって、構造・組成、物理的・化学的性質、生物活性、免疫学的性質、不純物等に関して十分な解析を行いデータを提出していただく必要があります。

5.11 製剤設計 (Table 16)

製剤設計に関して、対照バイオ医薬品と剤型や投与経路は同一であることが求められます。ただし、臨床での利便性から対照バイオ医薬品と異なる剤型を選択することが可能な場合もあります。これについては、指針の作成の過程で様々な議論がありました。例えば、先発医薬品が凍結乾燥品で用時溶解である場合、バイオ後続品も同様に凍結乾燥品とするか、溶液とした場合に、臨床で非常に利便性が高く、臨床での混乱が全くないのであれば、溶液剤としての選択も可能と考えられます。

なお、保存条件及び有効期間が対照バイオ医薬品と同一であることは必須条件ではありません。例えば、先発品が安定化剤としてアルブミンを用いており、後続品の製剤設計としてアルブミンは用いない場合で、保存条件が常温から4℃となるといったことも想定されます。そういった差異はやむを得ないと思われれます。

Table 16 製剤設計

- 原則的に対照バイオ医薬品と剤形や投与経路は同一であること
 - 臨床での利便性から対照バイオ医薬品と異なる剤形を選択することが可能な場合もある
- 保存条件及び有効期間が対照バイオ医薬品と同一であることは必須条件でない
- 異なる添加剤を用いることが可能な場合もある
 - 対照バイオ医薬品の持つ全ての製剤を提供することは必須条件ではない

有効期間が対照バイオ医薬品と同一である必要はありませんが、例えば対照バイオ医薬品の有効期間が3年であるところが後続品は6カ月、あるいは1年というように極端に短い場合は、何らかの考慮が必要になると考えます。

5.12 安定性試験 (Table 17)

安定性試験は、新薬と同等に、実保存条件・実時間での長期保存試験は実施する必要があります。また少なくとも6カ月以上の試験のデータが申請時には必要となります。

5.13 品質特性に関する同等性/同質性の評価試験 (Table 18)

品質特性においては、単なる目的物質だけではなく、目的物質関連物質、目的物質由来不純物、工程由来不純物を含めた品質特性全般にわたる対照バイオ医薬品との同等性/同質性評価が必要となります。

ただし、目的物質関連物質や不純物プロフィールを含め、品質特性の一部に関しては、製法の違い等により違いが存在する場合も想定されます。また、このような品質特性を評価する際には、複数のロットを用いて同等性/同質性を評価することが有用であると思われます。

品質特性に関する差異があった場合、あるいは同等性/同質性が十分に認められた場合、それぞれの

差異について有効性や安全性への影響の有無を評価した上で、非臨床・臨床で実施すべき試験を選択し、試験をデザインしていく必要があります。

5.14 同等性/同質性評価試験 (Table 19)

同等性/同質性試験は、可能であれば原薬を用いた試験の実施が望ましいと思われませんが、原薬を入手するのはなかなか難しいと思いますので、一般的には、製剤あるいは製剤から抽出した目的タンパク質、あるいは目的物質を含む分画を用いて試験を行う必要があると考えられます。

しかし、対照バイオ医薬品にアルブミン等の添加剤が含まれている場合は、品質プロフィールを維持したままでの抽出は困難であると考えられます。

それに対し、バイオ後続品の品質特性の比較試験では、生物活性や他の適切な手法による試験によって品質特性の比較が可能であればそのような試験の実施が望ましいと思われれます。構造解析だけではなく、様々な試験例えば、免疫学的な試験等によって同等性/同質性評価を行うことが非常に有用なデータになる可能性もあると思われれます。

5.15 構造解析、物理化学的特性の比較試験 (Table 20)

構造解析、物理化学的特性の比較試験に関しまして、バイオ後続品として認められる範囲がどこまでかという点があります。対照バイオ医薬品と一次

Table 17 安定性試験

<ul style="list-style-type: none"> • 実保存条件・実時間での長期保存試験 • 承認申請時には少なくとも6ヶ月以上の試験データを提出すること • 保存条件及び有効期間が対照バイオ医薬品と同一であることは必須条件でない
--

Table 18 品質特性に関する同等性/同質性の評価試験

<ul style="list-style-type: none"> • 目的物質、目的物質関連物質、目的物質由来不純物、工程由来不純物を含めた品質特性に関する対照バイオ医薬品とバイオ後続品との同等性/同質性評価を行うこと • 目的物質関連物質や不純物プロフィールを含めてその品質特性に違いが存在する可能性 • 複数ロットを用いて同等性/同質性の評価 • 認められた品質特性に差異が、有効性や安全性にどのような影響があるかを評価し、その結果に基づいて非臨床・臨床で実施すべき試験を選択
--

Table 19 同等性/同質性評価試験

<ul style="list-style-type: none"> • 可能であれば原体を用いた試験 • 一般的には、製剤あるいは製剤から抽出した目的タンパク質を用いた試験 • 対照バイオ医薬品にアルブミン等の添加剤が含まれている場合→品質特性プロフィールを維持したままでの抽出が困難 • 生物活性や他の適切な試験による品質特性の比較が重要

Table 20 構造解析、物理化学的特性の比較試験

<ul style="list-style-type: none"> • 対照バイオ医薬品と一次構造上の違いがある場合には、バイオ後続品とは判断されない • 糖鎖やプロセッシング等による不均一性の差異についても比較 • 高次構造や翻訳後修飾による不均一性の差異に基づく有効性や安全性への影響については、生物活性、体内動態、免疫学的特性等の結果と併せて評価
--

構造上の違いがある場合は、後続品とは判断されません。

WHOのバイオシミラー作成のガイドライン会議の中で、発展途上国で、一次構造で1~数個のアミノ酸の違いがあった場合でもバイオシミラーと認めているケースがありますが、日本では認められません。

更に糖鎖やプロセッシング等による不均一性の差異についても比較する必要があります。

また、翻訳後修飾による不均一性の差異による有効性や安全性への影響については、生物活性や体内動態、免疫学的性質等の結果と併せて評価することが必要と考えられます。

5.16 生物活性等の比較試験 (Table 21)

バイオ後続品では生物活性の比較データは非常に重要です。生物活性は高次構造や翻訳後修飾の不均一性、あるいは体内動態の同等性/同質性を評価する上で有用な情報が得られます。

バイオ医薬品は、一つの分子の中に多数のドメイン構造があることから、可能な限り複数の手法を用いて解析することが有用であると考えられます。細胞の増殖や分化、受容体結合活性、酵素活性等の様々な生物活性が考えられ、特に有効性に関連する *in vitro* 生物活性を含めて評価することが必要です。

その場合用いる試験法は、比較データとして対照バイオ医薬品との差異を検出可能な精度を有する方法である必要があります。この点が非常に重要で、感度の悪い方法は比較試験としては不適切です。

もし、公的な標準品が入手可能ならば、標準品に対する値付けをしておくことが求められます。この場合の公的な標準品とは、生物活性の測定や特定の

Table 21 生物活性等の比較試験

- 生物活性は、高次構造や翻訳後修飾の不均一性の同等性/同質性を評価する上からも重要
- 可能な限り複数の手法の測定法を用いて解析すること。特に多様な生物活性を有するバイオ後続品で有用（細胞の増殖や分化、受容体結合活性、酵素活性等の臨床効果と密接に関連する *in vitro* での生物活性）
- 対照バイオ医薬品との差異を検出可能な精度を有する方法を用いること
- 公的な標準品が入手可能ならば、標準品に対する値を求めること

物理化学試験に用いる標準品ですので、対照とする先行バイオ医薬品の代わりに公的標準品を用いることは不可能です。

5.17 免疫反応性等に関する比較試験 (Table 22)

免疫反応性に関する比較試験では、工程由来不純物や翻訳後修飾などの評価をして下さい。

前述したヒト成長ホルモンの開発経緯での事例によっても明らかなように、不純物によっては免疫反応性を増加させる可能性があり、一方で逆に抑制する場合もあります。したがって、免疫反応性の比較試験から品質特性の違いを見い出すこともあり得ます。また、免疫反応性試験で出現した抗体の解析が、臨床試験において抗体産生が見られた場合の参考情報ともなります。

5.18 規格及び試験方法 (Table 23)

規格試験に関しては、独自に行った特性解析試験と対照バイオ医薬品との同等性/同質性評価の結果から適切な規格試験を設定する必要があります。また、対照バイオ医薬品が日本薬局方等の公定書に記載されている場合は、これに準拠することが望ましいと考えられます。

ただし、バイオ医薬品は化学薬品と異なり、公定書においても必要な規格試験が設定されている訳ではなく、いわゆる minimum requirement として記載されている場合も多いことを考慮する必要があります。したがって、必要な規格を更に補完したり、

Table 22 免疫反応性等に関する比較試験

- 工程由来不純物や翻訳後修飾、さらには目的物由来不純物等が免疫反応性に影響する可能性
- 不純物によっては免疫反応性を増加させるばかりでなく、むしろ抑制する場合もある
- 免疫反応性試験により不純物の品質特性の評価に有用な情報を得られることもある

Table 23 規格及び試験方法

- 特性解析結果+対照バイオ医薬品との同等性/同質性評価の結果から規格試験を設定
- ICH Q6B ガイドライン
- 対照バイオ医薬品が日本薬局方等の公定書に記載されている場合はこれに準拠すること
- バイオ医薬品の公定書では必要な全ての規格が設定されている訳ではない
- 製造工程管理試験との相互補完性

製造工程管理試験による相互補完性が重要になってくると考えられます。

5.19 非臨床試験 (Table 24)

非臨床試験は品質特性のデータに基づいてどのような試験を行うべきか考える必要がありますが、非臨床試験においては二つのアプローチが考えられます。

一つは対照とする先行バイオ医薬品と不純物プロファイルが異なると考えられるバイオ後続品では、不純物プロファイルの安全性については、バイオ後続品の不純物の除去状況等を考慮し、独自の安全性試験を行うのが合理的な場合もあります。

一方、薬理試験のように対照バイオ医薬品と比較することが適切な場合が考えられます。特にこのような比較試験で行う場合、糖タンパク質では糖鎖の不均一性が体内動態に影響するので、糖鎖の不均一性がどの程度影響しているかを十分考慮した上で、試験デザインを実施することが必要になると考えられます。

5.20 毒性試験 (Table 25)

前述したように毒性試験においては、不純物プロファイルが異なる場合、対照バイオ医薬品とバイオ

後続品との毒性プロファイルを直接比較することは必須ではなく、むしろ独自に行った方が合理的な場合も多いと考えられます。ただし不純物プロファイルの違いが存在することを考慮した上で、毒性プロファイルと直接比較することも可能と考えられます。

バイオ後続品の毒性を確認するために適切な動物種における反復投与試験が有益です。特に不純物プロファイルに工程由来等の特定の不純物プロファイルに大きな差異がある場合は、その不純物に着目した試験が必要と考えられます。

5.21 薬理試験 (Table 26)

薬理試験に関しては、特に薬効と密接に関連する *in vitro* での生物活性が、薬理試験として準用できる場合もあり、前述した品質特性での *in vitro* 試験あるいは生物活性試験と相互補完的になる可能性もあります。

5.22 臨床試験 (Table 27)

臨床試験においては、品質特性及び非臨床試験の結果を踏まえて適切な比較試験をデザインすることが求められます。

最初に PK 試験、あるいは PD 試験又は PK/PD 試験により目的とする臨床エンドポイントにおける同質性/同等性が保証できる十分なデータが得られた場合は、それ以上の臨床試験は省略できる場合がありますので、この段階で最終的な承認申請ができる可能性のある製品もあると考えられます。

Table 24 非臨床試験

- 対照バイオ医薬品と不純物プロファイルが異なるバイオ後続品→バイオ後続品のみを対象として試験を行うのが合理的な場合 (安全性評価試験)
- 対照バイオ医薬品との比較試験が適切な場合 (薬理試験)
- 糖タンパク質では、糖鎖の不均一性が体内動態に影響

Table 25 毒性試験

- 不純物プロファイルが異なる場合、対照バイオ医薬品とバイオ後続品との毒性プロファイルを直接比較することは必須ではない
- 不純物プロファイルの違いが存在することを考慮した上で、対照バイオ医薬品とバイオ後続品との毒性プロファイルとの直接比較も可能
- バイオ後続品の毒性を確認するために適切な動物種における反復投与試験が有益
- 不純物プロファイルが大きく異なっている場合等では、非臨床・臨床開発を通じて、その違いに着目した試験の実施が必要となる場合がある

Table 26 薬理試験

- 対照バイオ医薬品とバイオ後続品との薬理作用が同等/同質であることを直接比較すること
- 臨床効果と密接に関連する *in vitro* での生物活性試験を薬理試験として準用できる場合もある

Table 27 臨床試験

- バイオ後続品は、品質特性及び非臨床試験結果のみによって、対照バイオ医薬品との同等性/同質性を検証することは困難
- 原則的には、臨床試験により同等性/同質性を評価
- PK 試験, PD 試験又は PK/PD 試験により目的とする臨床エンドポイントにおける同等性/同質性を保証できる十分なデータが得られた場合には、それ以上の臨床試験を省略できることもある

Table 28 PK試験, PD試験又はPK/PD試験

- 原則的に、対照バイオ医薬品との薬物動態の同等性/同質性を適切にデザインされたクロスオーバー試験により確認
- 長半減期あるいは抗体産生が起こるバイオ後続品ではクロスオーバー試験が不適切である可能性
- 健常人ではなく患者を対象とする方が適切な場合もある
- 対照バイオ医薬品の目的とする効能における投与経路と同様の投与経路で検討を行うこと。複数の投与経路がある場合は、それぞれの投与経路で試験
- 薬物パラメーターの同等性・同質性の許容域を予め設定しておくこと

5.23 PK試験, PD試験又はPK/PD試験

(Table 28)

PK, PD試験については、他のバイオ医薬品と同様に、一般的にはクロスオーバー試験が必要と考えられます。しかし、長期の半減期をもつもの、あるいは抗体産生が起こる可能性があるバイオ後続品では、クロスオーバー試験が不適切である可能性があります。その場合は、健常人ではなく患者を対象とする方が適切な場合もあります。したがって、製品の特性や投与方法や期間等を踏まえ、こういった試験をデザインするか考慮しなければならないと考えられます。

大事なポイントは、このような比較試験を行う場合に、薬物パラメーターの同等性/同質性の許容域、つまりマージンをあらかじめ設定し、そのマージンの妥当性を示し、どれだけの幅であれば同等/同質とするのかの科学的妥当性を説明する必要があります。

5.24 臨床有効性の比較 (Table 29)

臨床開発においては、ステップ・バイ・ステップ

Table 29 臨床有効性の比較

- 対照バイオ医薬品の有効性に関する同等性/同質性を確認するために、適切な比較試験をデザインし、その妥当性を説明すること
- ① 必要かつ妥当な症例数
- ② 臨床的に確立されたエンドポイント
- ③ 事前に同等性・同質性のマージンを設定
- ④ 適切な代替エンドポイントの適用も可

の開発が必要となりますので、各段階で適切な比較試験をデザインしていく必要があります。どの程度の症例数が必要かは、それぞれの製品ごとに異なるため、ケース・バイ・ケースの判断が必要で、それまでに行われている様々な試験も考慮する必要があります。

比較試験では、臨床的に確立されたエンドポイントを対象として試験を行わなければなりません。しかし非常に長いエンドポイントを持っている場合は適切な代替エンドポイントの適用も可能と考えられます。

5.25 複数の効能・効果 (Table 30)

複数の効能・効果がある対照バイオ医薬品について、他の効能・効果の試験においても同様の作用が期待できることを説明できる場合は、有効性試験を他の効能・効果に外挿することが可能となる場合もあります。

この点についても、ケース・バイ・ケースの判断が必要であり、どの程度の外挿が可能であるかは製品ごとに異なってくると考えられます。

5.26 臨床安全性の確認 (Table 31)

PK試験, PD試験のようないわゆる第I相の試験で十分なデータが得られた場合は、それ以降の試験を省略できる可能性があります。その場合、臨床的安全性をすべて説明できるわけではありませんので、必要に応じて免疫原性の検討を含む安全性に関し臨床試験の実施を考慮する必要があります。特に不純物プロファイル等の解析結果から安全性に懸念がある場合は、その点を十分説明できるような症例数を設定する必要があると考えられます。

そして臨床試験実施中は抗体の出現の有無についてしっかりフォローし、もし抗体が出現した場合は中和抗体の有無、抗体のクラス、親和性等について

Table 30 複数の効能・効果

- 対照バイオ医薬品が複数の効能・効果を持つ場合
- 他の効能・効果においても薬理学的に同様の作用が期待できることが説明できるのであれば、対照バイオ医薬品の他の効能・効果をバイオ後続品に外挿することが可能となる場合もある (同一の受容体を介した作用、作用機構が同一等)

Table 31 臨床安全性の確認

- 必要に応じて免疫原性の検討を含む安全性に関する臨床試験の実施を検討すること
- 有効性を比較するための臨床試験を実施する際に、安全性（有害事象の種類、その頻度）を同時に検討するような試験計画としても差し支えない
- 不純物プロファイル等の解析結果から安全性の懸念がある場合には、十分な症例数を設定すること
- 抗体の出現の有無及びその他の免疫原性について、科学的に妥当な判断が可能な試験を行うこと
- 抗体が出現した場合→中和抗体の有無、抗体のクラス、親和性、特異性について解析すること→安全性への影響について検討すること

解析し、安全性への影響について十分な説明をする必要があります。

5.27 製造販売後調査 (Table 32)

バイオ後続品においては、基礎、非臨床、臨床を通じてのデータのすべての情報が新薬と同様に得られるわけではありません。したがって、市販後の調査が非常に重要となってきますので、市販後に安全性プロファイルについて引き続き調査することが必要です。また、その有害事象のトレーサビリティを確保することが重要なため、対照バイオ医薬品からバイオ後続品に変更することは可能ですが、一連の治療期間内に混用することは基本的に避ける必要があります。

6. 検討班のメンバー (Table 33)

最後に当検討班のメンバーを紹介します。

Table 32 製造販売後調査

- 臨床試験で全ての情報が得られるわけではない
- バイオ後続品は不純物プロファイルの差異や免疫原性の差異がある可能性
- 製造販売後に安全性プロファイル等について引き続き調査することが必要
- 有害事象のトレーサビリティを確保することが重要
- 対照バイオ医薬品や同種・同効医薬品をバイオ後続品に変更は可能
- 一連の治療期間内に混用（代替）することは基本的に避けること

Table 33 検討班のメンバー

- 東海大学医学部
- 安藤 潔
- 国立成育医療センター
- 横谷 進
- (独)医薬品医療機器総合機構
- 荒戸照世
- 井口豊崇
- 厚生労働省医薬食品局審査管理課
- 中垣俊郎
- 益山光一
- 村山一成
- 国立医薬品食品衛生研究所
- 山口照英
- 川西 徹
- 川崎ナナ
- 石井明子
- 新見伸吾
- 内田恵理子

7. 質疑応答

質問 1 バイオ後続品の開発中、又は市販後において、対照薬の効能が追加された場合も、自動的にバイオ後続品にも追加されると考えてよろしいでしょうか？レセプターへの親和性などメカニズムは同じとした場合です。

回答 効能ごとの臨床比較試験を実施しないケースであっても、効能ごとの承認申請は必要と考えます。

質問 2 ものの本質が同等性/同質性から同一と考えられる場合、不純物プロファイルが重要な評価すべき点と考えます。複数ロットの実施は、基本的にこれだけで良いのでしょうか？

回答 不純物プロファイルのみならず、目的とする有効成分の不均一性等も考慮する必要があります。ただ複数ロットの入手が必ずしも容易ではないので、その点は合理的な判断も可能と考えます。

不純物の安全性等は、そのプロファイルの比較をしても十分な評価は難しいと考えられます。むしろ独自に安全性を評価することが合理的である可能性が高いと考えております。