

転写因子である SP1 に対するデコイ核酸や、HIV の増幅を抑制するためのデコイ核酸など様々な検討が行われている。デコイとして用いられている核酸の大きさはアンチセンス核酸や siRNA と同程度の塩基鎖であり、また転写因子のデコイとして機能させる場合には 2 本鎖の塩基配列が用いられている。

2.5 アプタマー

アプタマーとは、特定の分子に対する結合性を持ち、あたかも抗体やアゴニスト・アンタゴニストのように作用するヌクレオチドである。RNA 結合タンパク質が認識する RNA 配列を解析する目的で開発された SELEX (Systematic Evolution of Ligands by EXponential enrichment) 法による解析手法を応用して、特定のタンパク質に結合する RNA を選択する研究を通じて、選択された RNA があたかも相互作用をする分子の分子模造品 (mimic) として機能することが明らかになり、医薬品としての創製が期待されるようになった^{8,9)}。現在、大きな RNA 分子では高次構造を形成し、抗体のように振舞うことが確認されている。図 4 に SELEX 法による RNA アプタマーの選択法を示すが、目的分子に結合する RNA の選択サイクルを何度も繰り返すことにより、高い親和性を持つ RNA アプタマーを選択することができる。

最初に記載したように、日米欧で承認を受けているペガタニブは、世界初のアプタマー医薬 (化学修飾した

28 塩基からなる一本鎖 RNA) であり血管内皮増殖因子 (VEGF-165) に特異的に結合して血管新生を抑制するとされている。対象疾患は、血管新生型加齢黄斑変性症であり、日本での承認は 2008 年である。

アプタマーは、これまで述べてきたアンチセンス核酸医薬品や siRNA 等とは異なり、細胞内への送達は必要とされず、医薬品としての開発におけるハードルは低いと考えられる。基本的には抗体医薬品と同様の作用を示すと考えられるが、抗体と異なり、アプタマーは化学合成が可能であることから、抗体医薬よりもより安価に製造が可能であり、かつ生物由来原料を用いないことによる安全性面からの有利性も知られている。また、非常に高い親和性のあるアプタマーが得られることもあり、その開発競争が非常に激しくなっている。

アプタマーは体内安定性を確保するために様々な化学修飾を行うなどの試みが行われているが、一般的にどれだけの血中半減期を持つのかは十分には解明されていない。おそらく分子ごと、あるいは化学修飾の程度により大きく異なる可能性があると考えられる。抗体医薬品は血管内皮細胞に発現している特殊な Fc 受容体 (FcRn) によるリサイクルが行われることが知られており、他のタンパク質と異なり 10 数日からそれ以上の血中半減期を持つものもある。今後アプタマーがより広く一般化していくには、このような血中半減期の延長やターゲット分子への特異的結合性をどのように確認していくのか等が課題と考えられる。

3 核酸医薬品の今後の課題

これまで、現在開発が進む種々の核酸医薬品について述べてきたが、これらの製品は細胞内への送達が必須の製品とアプタマー製品のように細胞内への送達は不要な製品に大別される。細胞内への送達が必要な製品については、現在様々な DDS の開発や体内での安定性を増加させる化学修飾技術の開発が行われている。DDS としては、カチオン性リポソーム、アテロコラーゲンナノ粒子などの開発が行われているが、医薬品としての開発にはいくつかの課題が残されている。リポソームを用いた DDS の開発では、肝臓への集積性から肝毒性が大きい

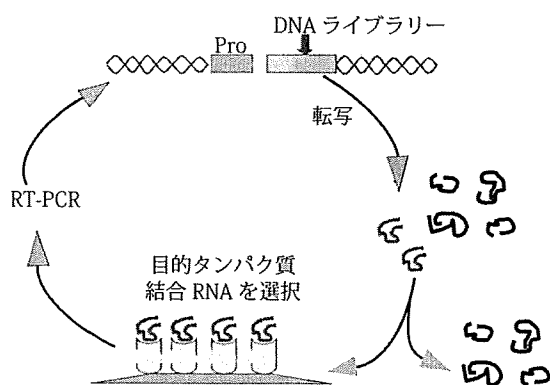


図 4 SELEX 法による RNA アプタマーの選別

な問題となっているが、逆にそれを利用して肝炎ウイルス治療用 siRNA 等の開発も行われている。

核酸医薬品の品質評価では、従来のバイオ医薬品と異なり化学合成で作製されるために、合成ペプチドと同様の評価が可能であろう。特性解析に用いる分析手法としては、HPLC, HPLC-MS, MS/MS 分析などが利用可能と考えられる。またアンチセンス核酸, siRNA, デコイ核酸では、生物活性を *in vitro* で細胞での遺伝子発現制御により確認することが必要と思われる。アプタマー製品では、目的タンパク質への結合特性解析が必要であり、これには表面プラズモン解析や結合活性を評価可能な試験が適用できると考えられる。

力価の設定及び解析は非常に重要である。特に、有効性に関連する力価の設定が重要な課題と思われる。

安全性評価の課題としては、目的分子の発現制御と目的としないタンパク質の発現制御（非特異的抑制効果）をどのように評価していくのが重要と思われる。また、このような解析では、DNA 発現解析、プロテオーム解析が有用になっていくと考えられる。アプタマー製品ではヒト細胞への反応性を評価するために、ヒト細胞パネルを用いた結合解析も有用となるであろう。

核酸医薬品は、今後も激しい開発競争が行われていくと思われるが、特にどのように核酸医薬品を目的細胞や組織に送り届けるのが重要な鍵を握ると考えられる。基礎研究において、細胞レベルで有用な作用を見出したとしても、生体に投与し、目的とする細胞へ送達する手段がなければ開発も頓挫してしまう。また、非特異的抑制効果についても様々な角度から評価することが重要である。さらに、筋ジストロフィー治療用の核酸医薬品として、正常なジストロフィンを生合成させるための核酸医薬品が3種類も EMEA のオーファン医薬品指定を受けている。このようなこれまでとまったく異なる発想の核酸医薬品の開発も活発化していくものと期待される。

一方、極めて多くの non-coding RNA が存在することが明らかになりつつあり、このような non-coding RNA の機能解明が新たな核酸医薬品のシーズになっていく可能性も考えられる¹⁰⁾。

参考文献

- 1) Hélène C, Toulmé JJ. (1990) Specific regulation of gene expression by antisense, sense and antigene nucleic acids. *Biochim Biophys Acta*. 1049, 99-125
- 2) Agrawal S. (1996) Antisense oligonucleotides : towards clinical trials. *Trends Biotechnol.* 1996 14, 376-387
- 3) Denli AM, Hannon GJ. (2003) RNAi : an ever-growing puzzle. *Trends Biochem Sci.* 28, 196-201
- 4) Song JJ, et al (2003) The crystal structure of the Argonaute2 PAZ domain reveals an RNA binding motif in RNAi effector complexes. *Nat Struct Biol.* 10, 1026-1032
- 5) Bernstein E et al (2003) Dicer is essential for mouse development. *Nat Genet.* 35, 215-217
- 6) Prody GA et al (1986) Autolytic Processing of Dimeric Plant Virus Satellite RNA. *Science.* 231, 1577-1580
- 7) 樋口ゆり子他 (2008) 炎症治療を目的とした NFκB デコイの細胞選択的ターゲティングシステムの開発. *薬学雑誌* 128, 209-218
- 8) Tuerk C, Gold L. (1990). Systematic evolution of ligands by exponential enrichment : RNA ligands to bacteriophage T4 DNA polymerase. *Science.* 249, 505-510
- 9) Nakamura Y, Ito K. (2003) Making sense of mimic in translation termination. *Trends Biochem Sci.* 28, 99-105
- 10) Mattick JS. (2004) The hidden genetic program of complex organisms. *Sci Am.* 291 (4) : 60-67

ファルマシア

別刷

抗体医薬品の品質・安全性確保

山口照英

Teruhide YAMAGUCHI

国立医薬品食品衛生研究所生物薬品部長

川崎ナナ

Nana KAWASAKI

国立医薬品食品衛生研究所室長

1 はじめに

21世紀に入り、バイオテクノロジー応用医薬品(バイオ医薬品)のなかで、特にモノクローナル抗体医薬品(抗体医薬品)の開発が急速に進んでいる。国内で承認される多くのバイオ医薬品が抗体医薬品であり、海外先進国でも同様の状況である。これには、ハイブリドーマ作製技術やフェージディスプレイシステムなどのモノクローナル抗体作製技術と、組換えDNA技術などを利用したヒト化/ヒト抗体作製技術の進展が大きく寄与していると考えられる。

開発が進められている抗体医薬品に求められる要件について、米国食品医薬品局(FDA)やヨーロッパ医薬品庁(EMA)では抗体医薬品に関するガイドラインを発出している。¹⁾ 我が国では抗体医薬品に関する指針などは出されていないが、基本的には日米EU医薬品規制調和会議(ICH)バイオ医薬品のガイドラインに示されている指針に準じて評価を行うことが求められる。²⁾ しかし、抗体医薬品は、構造や製法に由来する不純物などの品質特性に関して共通する特徴を有しており、抗体医薬品に求められる要件を明らかにしておくことは新規抗体医薬品開発のための有用な参考情報となるばかりでなく、承認審査の迅速化にもつながると期待できる。本稿では、モノクローナル抗体を有効成分とする抗体医薬品の品質や安全性確保において求められる要件について議論してみたい。

2 抗体医薬品の構造的特徴

日欧米で承認されているモノクローナル抗体医薬品を表1に示すが、抗体医薬品の開発のスピードは非常に速く、開発途中にある製品は更に膨大なものになるといわれている。表1で示された製品には、抗腫瘍効果を増強するために放射性同位元素やトキシンを結合させた製品、Fab断片やPEG化修飾を行った製品など、幾つかの改変型製品も含まれている。

今後有効性の更なる増強や安全性確保などの観点から様々な改変を加えたり、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つの標的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持つ製品の開発も進められている。

品質・安全性を考える上での抗体医薬品の大きな特徴は、他のバイオ医薬品と異なり、共通する基本骨格構造を持つ製品であるということである。このようなコンセプトは、すべての抗体医薬品に適用できるものではないが、基本的には培養工程や精製工程などの製造方法、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共通した基盤技術を利用できると考えられる。

3 製造工程

1. モノクローナル抗体産生細胞株の樹立

抗体医薬品は、キメラ抗体、ヒト化抗体さらにはヒト抗体と、ヒトでの抗原性をできる限り低減化する方向で開発が進められてきている。例外的に、マウス抗体など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。現在承認申請されるほとんどの抗体医薬品は、組換えDNA技術を用いて製造されたものである。組換えDNA技術を用いて製造される抗体医薬品に関しては、ICH Q5 A, ICH Q5 B, ICH Q5 D ガイドラインを参照し、³⁾ 細胞の樹立、ウイルス安全性評価、導入遺伝子の特性など安定性評価することが求められる。

多くの抗体医薬品において、標的抗原に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技術が用いられているが、抗体医薬品の臨床開発初期段階でも、ハイブリドーマ技術など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)が用いられる場合がある。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おり、製法変更にあたっては後述するICH Q5 E ガイドライン⁴⁾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。

表1 これまでに世界で認可された抗体医薬品及び融合タンパク質医薬品

分類/名称	構造	標的	主な適応疾患	承認年		
				US	EU	日本
マウス抗体						
Muromonab-CD3	IgG 2 α	CD3	腎移植後の急性拒絶反応	1986	NA	1991
Ibritumomab tiuxetan	IgG 1 κ (Y-90 標識)	CD20	B細胞性非ホジキンリンパ腫	2002	2004	2008
Iodine 131 Tositumomab	IgG 1 κ (I-111 標識)					2008
	IgG 2 α λ (I-131 標識)	CD20	非ホジキンリンパ腫	2003	NA	NA
キメラ抗体						
Abeximab	IgG 1 (Fab)	GPIIb/IIIa	心筋虚血	1994	NA	NA
Rituximab	IgG 1 κ	CD20	B細胞性非ホジキンリンパ腫	1997	1998	2001
Basiliximab	IgG 1 κ	CD25	腎移植後の急性拒絶反応	1998	1998	2002
Infliximab	IgG 1 κ	TNF α	関節リウマチ	1998	1999	2002
Cetuximab	IgG 1 κ	EGFR	頭頸部がん、結腸・直腸がん	2004	2004	2008
ヒト化抗体						
Daclizumab	IgG 1 κ	CD25	腎移植後の急性拒絶反応	1997	1999	NA
Palivizumab	IgG 1 κ	RSV F	RSウイルス感染	1998	1999	2002
Trastuzumab	IgG 1 κ	HER2	転移性乳がん	1998	2000	2001
Gemtuzumab ozogamicin	IgG 4 κ (標識化)	CD33	急性骨髄性白血病	2000	NA	2005
Alemtuzumab	IgG 1 κ	CD52	B細胞性慢性リンパ性白血病	2001	2001	NA
Omalizumab	IgG 1 κ	IgE	喘息	2003	2005	2009
Efalizumab	IgG 1 κ	CD11	尋常性乾癬	2003	2004	NA
Bevacizumab	IgG 1	VEGF	結腸・直腸がん	2004	2005	2007
Natalizumab	IgG 4 κ	α 4 integrin	多発性硬化症	2004	2006	NA
Tocilizumab	IgG 1	IL-6 R	キヤッスルマン病	NA	NA	2005
Ranibizumab	IgG 1 κ (48 K)	VEGF-A	加齢黄斑変性	2006	2007	2009
Eculizumab	IgG 2/4 κ	C5 a	発作性夜間血色素尿症	2007	2007	NA
Certolizumab pegol	Fab' + PEG	TNF α	重症クローン病	2008	NA	NA
ヒト抗体						
Adalimumab	IgG 1 κ	TNF α	関節リウマチ	2002	2003	2008
Panitumumab	IgG 2 κ	EGFR	結腸・直腸がん	2006	NA	申請中

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

抗体産生に用いる遺伝子発現ベクターの構造や特性は、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。

目的遺伝子入手のために、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ェージディスプレイなどの特殊な技術を用いた場合には、目的遺伝子の由来やクローニング法など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関するデータを示す必要がある。

3. 抗体医薬品の製造

抗体医薬品原薬の製造工程(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、並びに②製造工程由来不純物(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など)を十分に除去する能力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、最近ではほとんどのケースで無血清条件下での培養工程が採用されており、工程由来不純物として宿主由来タンパク質や DNA が想定されることが多い。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関する除去状況の評価や、必要に応じ最終製品などでの規格設定を考慮すべきであろう。

4. 抗体医薬品に共通する製造工程

最初に述べたように、抗体医薬品の構造や物理的・化学的特性には共通点が多いことや、長年の製造経験から、異なるモノクローナル抗体であっても、共通の精製工程などを適用できるというコンセプトが確立されてきている。また、精製工程を試行錯誤の上に設計するのではなく、あらかじめ最適な工程を設計可能であるとも考えられている。

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、バルクハーベスト以降のカラム工程などに導入するためのろ過、限外濃縮、及び緩衝液の調製アフィニティークロマトグラフィー工程やクロマトグラフィー各種カラムクロマトグラフィー工程、

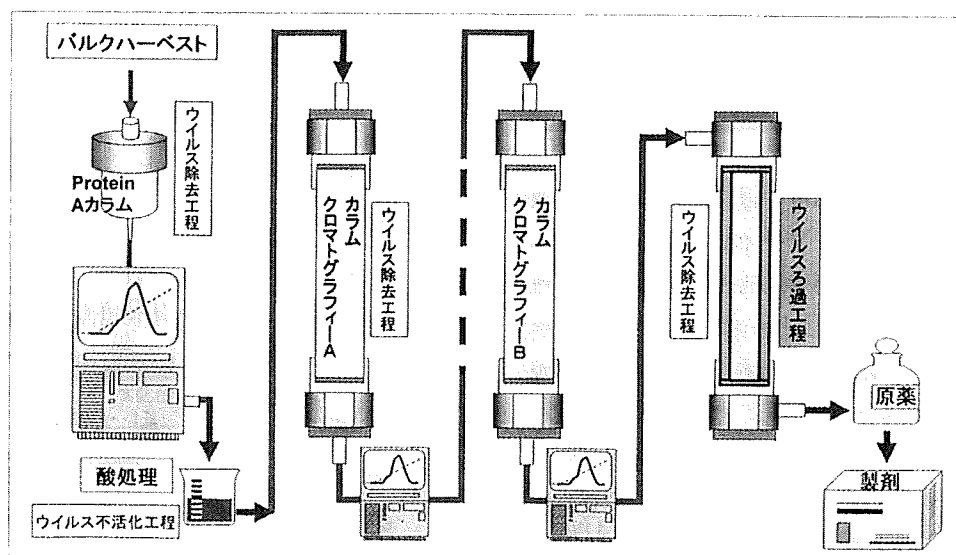


図1 代表的な抗体医薬品の精製工程とウイルスクリアランス

並びにウイルス除去膜工程が挙げられる。各工程には様々なバリエーションがあり、必ずしもすべての工程において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は、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、共通する評価工程があると考えられているが、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。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。

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 Q5 A ガイドライン²⁾に準拠することが求められる。ICH Q5 A ガイドラインには、生産細胞のウイルス試験やバルクハーベストの試験から、製造工程でのバリデーションに至るまでの評価に必要な要件が記載されている。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に共通する特性やそれに基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において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も、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、ウイルスろ過工程における抗体濃度や緩衝液系などの設定では、場合によっては共通化が可能である。また、ウイルスクリアランス評価では、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について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と思われる。

承認申請にあたって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要求されるが、各カラムクロマトグラフィー工程のウイルスのキャリーオーバーやカラムのサニテーションなどは、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医薬品と異なり、一般的に投与量が多いという特徴を持っており、臨床効果を高めるために更なる大量投与を行うケースも想定される。したがって今後、より生産性の高い細胞基材を用いた抗体医薬品の開発が進む可能性が高いと考えられる。このような細胞基材の使用にあたっては、あらたな情報の入手や経験を積み重ねていくことが必要であろう。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い。より高い生産能を持つ細胞基材の使用は、有効成分含量の高いバルクハーベストが得られることとなり、不純物などの低減化につながる可能性があることから、

むしろ積極的な取り組みが推奨される。

4 特性解析

1. 一般的要件及び構造

抗体医薬品の品質特性解析では、他のバイオ医薬品と同様にICH Q6Bガイドライン⁶⁾に従い、抗体の物理的・化学的特性及び生物学的特性/免疫学的特性などについて明らかにすることが求められる。特に抗体医薬品に関連する構造特性解析として、1次構造及び高次構造を明らかにすることが求められる。DNA配列によりコードされる1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しておくことが重要で、また抗体のクラス、サブクラス及び軽鎖の種類、C末端やN末端のプロセッシングの確認も重要である。さらに、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。¹⁰⁾

2. 不均一性

抗体医薬品に共通する特徴として、製品中に翻訳後修飾やプロセッシングの違いによる多様な分子が含まれることが挙げられる。このような抗体医薬品の不均一性は、等電点電気泳動(IEF)、イオン交換クロマトグラフィー、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てあらゆる角度から解析し、ロット間での不均一性の恒常性について示すことが重要である。分子量が大きいことから、従来の分析手法によりこれらの分子の多くを分離することは困難であるかもしれないが、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、幾つかの分子を分離することが可能となってきている。すべてのマイナーピークの特長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。

モノクローナル抗体に生じる不均一性の原因の1つに、C末端アミノ酸のプロセッシングが挙げられる。H鎖C末端のリシン残基は、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。したがって、リシン残基の欠失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

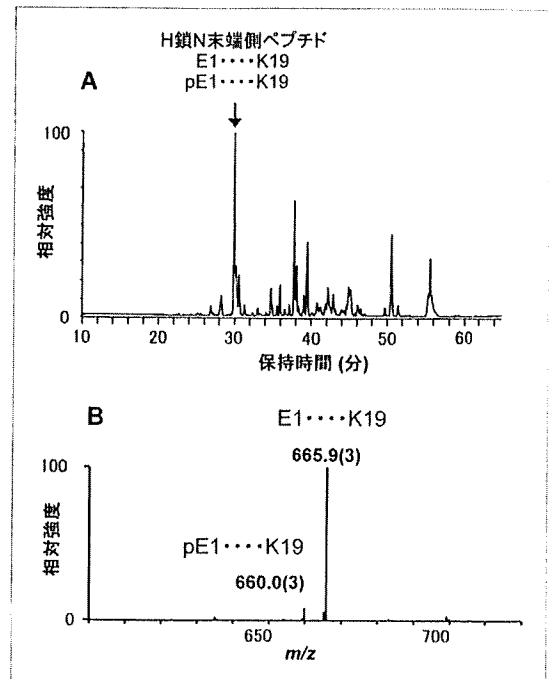


図2 N末端の不均一性

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。pE1: ピログルタミン酸。

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、その一部が縮合しピログルタミン酸になっていることがあり、この解析には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もう1つの大きな要因として、翻訳後修飾としての糖鎖の不均一性が挙げられる。H鎖Fc部分に1つのN型糖鎖結合のコンセンサス配列があり、可変部にもコンセンサス配列が出現する場合があることが知られている。抗体のFc部分に見いだされる糖鎖構造は基本的に二本鎖構造であり、末端のガラクトース残基の結合数によりG0、G1、G2構造と呼ばれている(図3)。抗体医薬品の糖鎖に関しては、G0~2糖鎖を含むすべての糖鎖の構造を明らかにすると共に、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。

特に抗体依存性細胞性細胞障害(ADCC)活性を持つ抗体医薬品では、Fcコンセンサス配列に結合する糖鎖へのフコスの結合の有無が活性に大きく影響することが知られており、フコース結合の有無やその他の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。¹²⁻¹⁴⁾ また、げっ歯類宿

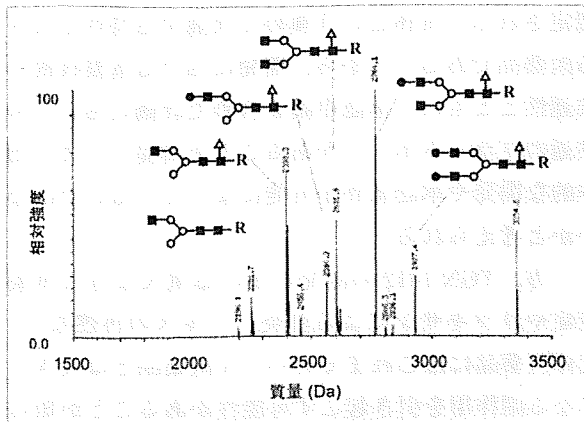


図3 糖鎖の不均一性

コンセンサス糖鎖結合ペプチドのマスマスペクトルと糖鎖推定構造。
■, GlcNAc; ●, Gal; ○, Man; △, Fuc.

主細胞を用いる場合には、異種糖鎖抗原である Gal α -1-3 Gal が結合しアナフィラキシーが引き起こされるという報告¹⁴⁾もあることから、Gal α -1-3 Gal 残基の有無の確認、また存在が確認された場合には、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。

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、品質特性としても可能な限り様々な角度から評価しておくことが求められる。

また、有効性に及ぼす糖鎖の影響を評価するために、可能であれば糖鎖の一部あるいはすべてを除去した抗体分子を用いて、生物活性や体内動態に与える糖鎖構造の影響について評価しておくことが望ましい。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

表2 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確認を含む抗原特異性
親和性に関する解離定数(K_d)
補体結合活性や補体活性化能、他のエフェクター活性の有無
細胞傷害活性や 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(活性単位/質量)

場合には、糖鎖に関する規格試験の設定を考慮し、糖鎖の恒常性を担保することが必要になってくる。ただし、糖鎖試験と生物活性試験については相互補完的な面からの合理的な判断も可能である。

4. 特異性と交差反応性

上述したように、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一方で、安全性の観点から、目的外の標的分子との反応性や目的外のヒト組織に対する傷害活性について十分考慮する必要がある。実験動物を用いた交差反応性試験には当然限界があり、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など技術的な限界があることから、交差反応性の解析は容易ではない。しかし免疫組織学的手法を用いて、可能な範囲で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は、安全性確保の点から不可欠である。

今後様々な技術的進歩—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。

5 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¹⁵⁾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ことから、確認試験設定では、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、例えば ELISA 試験のように高い免疫学的特異性を利用した試験法など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ることが望ましい。抗体医薬品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が適切であろう。一方、治療手段としてエフェクター活性などを利用している場合には、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となる。

抗体医薬品の糖鎖は、前述したように、免疫系細胞の活性化など生理活性の制御に重要な役割を果たしていることから、ADCC 活性や補体依存性細胞障害(CDC 活性)を持つことが知られている抗体医薬品では、これらの生物活性や糖鎖に関する規格設定の必要性を考慮するべきである。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も、糖鎖に関する規格設定が必要である。さらに Gal α 1-3 Gal を持つ場合には、その存在量の規格試験が必要となると考えられる。糖鎖構造に関しては、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るべきである。

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。したがって、製造工程における不均一性を恒常的に担保するために、IEF, イオン交換クロマトグラフィー, CE など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。

6 製法変更に伴う同等性・同質性評価

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標的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を評価するための細胞や動物を用いた非臨床試験からでは、臨床効果を予測することが困難な場合が多く、複数の製品を評価する必要があるためと考えられる。

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特性/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。

7 おわりに

抗体医薬品の開発は今後も拡大し、さらに抗体作製技術を基盤とした多様な製品が開発されてくると

想定される。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、TGN 1412 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、抗体医薬品にはこれまでのバイオ医薬品とは大きく異なる副作用を引き起こす可能性があることが知られてきており、新規抗体医薬品開発段階や承認後においては、十分な配慮と注意が必要である。^{15,16)}

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, 1991.
- 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), Cited: Available from: 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), Cited: Available from: http://www.pmda.go.jp/ich/q/q5b_98_L_6.pdf
- 7) 医薬審第 6 号「生物製品(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), Cited: Available from: http://www.pmda.go.jp/ich/q/q5c_98_L_6.pdf
- 8) 医薬審第 873 号「生物製品(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), Cited: Available from: http://www.pmda.go.jp/ich/q/q5d_00_7_14.pdf
- 9) 医薬審第 571 号「生物製品(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), Cited: Available from: http://www.pmda.go.jp/ich/q/q6b_01_5_1.pdf
- 10) 薬食審発第 0426001 号「生物製品(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ともなう同等性/同質性評価について」(ICH ガイドライン Q5E).
- 11) Aalberse R.C., Schuurman J., *Immunology*, 105, 9-19(2002).
- 12) Natsume A. et al., *J. Biochem.*, 140, 359-368(2006).
- 13) Greenwood J. et al., *Eur. J. Immunol.*, 23, 1098-1104(1993).
- 14) Chung H. et al., *New Engl. J. Med.*, 358, 1109-1117(2008).
- 15) 山田照英, 石井明子, 毒性質問答, 1-32, 2008.
- 16) Perceau G. et al., *Br. J. Dermatol.*, 155, 1053-1056(2006).

早期臨床開発段階での
バイオ医薬品の品質・安全性確保

山口 照英 石井 明子

臨床評価 別刷

Vol.36, No.3 2009

早期臨床開発段階での バイオ医薬品の品質・安全性確保

山口 照英 石井 明子
国立医薬品食品衛生研究所生物薬品部

Quality and safety issues of biotechnological products used in early clinical studies

Teruhide Yamaguchi Akiko Ishii-Watabe
Division of Biological Chemistry and Biologicals National Institute of Health Sciences

Abstract

In the last decade, an increasing number of second-generation (engineered) protein products such as humanized monoclonal antibodies, fusion proteins or chemically modified proteins, have been developed. In the development of such products, selection of the optimal product from several candidates is a critical step. However, the pharmacological effects and safety profiles of these non-natural protein products in humans are difficult to predict. In addition, non-clinical study data on these products are not sufficient, due to species specificity or technical limitations. Therefore, early exploratory clinical studies might be one possible approach for improving the development success rate of engineered protein products.

To ensure the quality and safety of biotechnological products, the following two hurdles must be overcome : 1) establishing a robust manufacturing process and 2) setting specifications based on data from product characterization and non-clinical/clinical studies. In the early development stage, however, the production process might not be fully established or information for setting the specifications might be limited. Here we discuss approaches for ensuring the quality and safety of biotechnological investigational products used for early and exploratory clinical studies. One of the indispensable tests is the viral safety evaluation of the master cell bank and unprocessed bulk. Studies on biological properties and the potency of products using human cell/tissue preparations should be useful for predicting the safety profile of the products. When the manufacturing process of the investigational product has been changed, comparability studies should provide sufficient assurance that no resulting product differences will have an adverse impact on the product characteristics. The discussions herein will hopefully be useful in current efforts to develop new biotechnological products.

Key words

biotechnological products, quality, safety, manufacturing process, IND

Rinsho Hyoka (Clinical Evaluation) 2009 ; 36 : 611-27.

1. 序論

21世紀に入ってバイオ医薬品の開発は急速に広がっており、特に抗体医薬品や改変タンパク質医薬品など、旧来のバイオ医薬品とは異なる製品の開発が進んでいる。第二世代のバイオ医薬品とも言えるこれらの製品では、同時に複数の医薬品候補分子について開発が進められることが多く、適切な医薬品候補分子の選択が開発戦略において重要な位置を占めている。しかし、天然型のタンパク質医薬品と異なり、非天然型のタンパク質医薬品ではヒトにおける薬理作用や免疫反応性などの安全性の予測が容易ではないことに加え、タンパク質医薬品全般に言えることであるが標的分子との相互作用の種特異性が高いことなどにより、動物モデルでの評価では開発候補品の選択に十分な有効性や安全性の情報が得られないことも多い。一方で、医薬品開発において、開発候補品の特性に関する知識や、治療標的の妥当性について、より早くヒトのデータを入手することが有益な場合があることが認められている¹⁾。このような背景のもと、バイオ医薬品開発の効率化を目指して、臨床試験を早期に実施して開発候補品のヒトでの安全性や有効性を評価していくことが検討され始めており、臨床開発初期に用いるバイオ医薬品について如何に品質や安全性を確保していくかが大きな課題となっている*。

化学薬品に関しては、通常のフェーズ I 試験の前段階に限定的な投与量で実施される早期探索的臨床試験を含め開発初期における品質・安全性確保の要件について様々な議論が行われ、その一つとしてマイクロドーズ臨床試験の実施に関するガイダンスも公表されている。しかし、バイオ医薬品の品質・安全性確保に求められる要件は、高分子のもつ複雑な物質特性、不安定性、品質の一定性を確保するための原薬製造工程の恒常性の重要

性、さらには、ウイルス等の感染因子に対する安全性確保など、化学薬品とは大きく異なっている。そのため、化学薬品の品質・安全性確保の手法をそのままバイオ医薬品に応用することは適切ではない。

バイオ医薬品の品質・安全性確保は、1) 頑健な製造方法の構築と工程管理法の確立、2) 製品の特性解析・非臨床試験・臨床試験・安定性試験結果などに基づいた規格及び試験方法の設定等により達成される。承認申請製品の品質・有効性・安全性確保を目指して、バイオ医薬品開発はステップバイステップで進められるものであり、開発ステージの進行とともに、製法や品質特性、安全性に関するデータが蓄積されていくものである。従って、臨床開発初期、すなわち治験開始に当たって求められるデータと承認申請データパッケージとして求められる要件は自ずと異なってくる。バイオ医薬品の臨床開発の初期段階では、製法や各種試験法が十分に確立されていないことも少なくない。しかしその一方で、前述のように抗体医薬品などでは同時に複数の候補品について開発を進めていることも多く、同時平行して開発が進められる複数の開発候補品について、承認時と同様のデータを得るには膨大なリソースと時間が必要である。このようなバイオ医薬品開発の特色を考慮したときに、臨床開発初期の段階で求められる安全性評価や、安全性を担保するための品質評価・製法等について考察することは、バイオ医薬品開発の効率化や成功率向上のためにも有用であると考えられる。

承認申請要件としてのバイオ医薬品の品質・安全性確保についてはこれまで十分に議論が重ねられているが、バイオ医薬品の臨床開発初期における品質・安全性に関する議論は十分とは言えない状況である。欧米では治験薬の品質・安全性確保に関するガイドラインの整備が進められており、我が国においてもバイオ医薬品開発推進のため、

* 治験に用いられる医薬品候補物質は薬事法上の「医薬品」ではないが、本稿では治験に用いられるものを含めてバイオ医薬品と記載する。

議論を進めることが望まれる。本稿では、臨床開発初期におけるバイオ医薬品の品質・安全性確保に関する議論の端緒として、バイオ医薬品の開発、製法と品質特性、安全性について概説した上で、製法と品質特性の観点から臨床開発初期（主としてフェーズI）におけるバイオ医薬品の品質・安全性評価に関する試案を考察した。また、バイオ医薬品の早期探索的臨床試験についても考察を加えた。

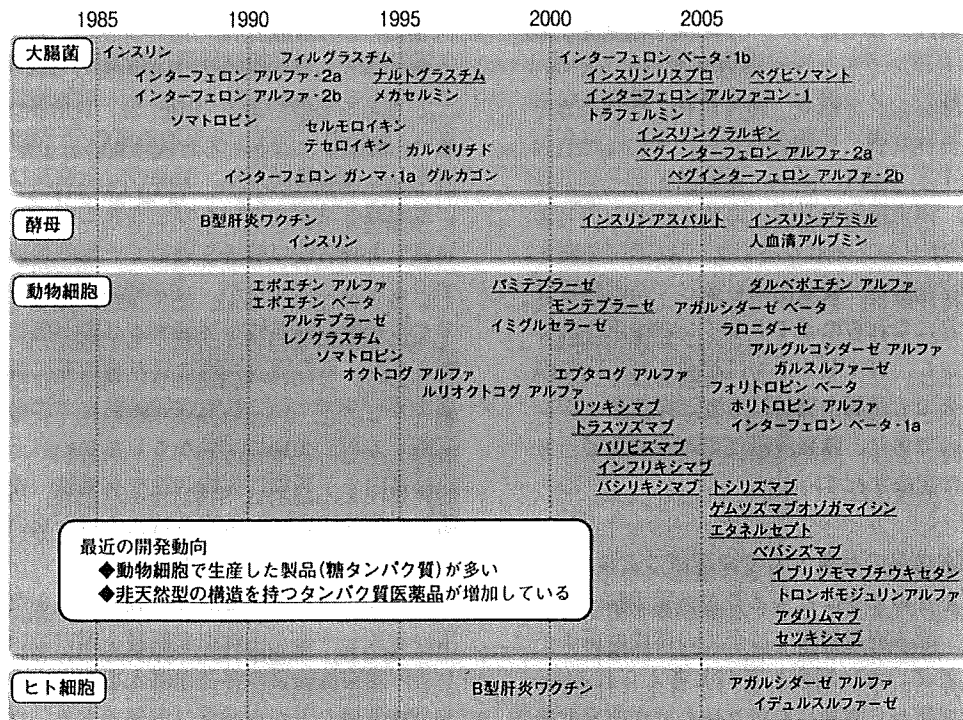
2. バイオ医薬品の開発

1980～90年代のバイオ医薬品開発では、大腸菌やCHO細胞等に目的とするタンパク質の遺伝子を導入してヒト有用タンパク質のコピーを製造する、いわゆる天然型タンパク質製品が主であった。これまでにインスリンや成長ホルモン、エリスロポエチンなど数多くの有用タンパク質が開発され、疾病治療に不可欠な存在となっている。そ

の後21世紀に入って、それまでの天然型製品に加えて、抗体医薬品や改変タンパク質医薬品など非天然型組換えタンパク質製品の開発が急速に進んできている（Fig. 1）。現在、各社のパイプラインに存在するバイオ医薬品の多くも非天然型製品であることから、今後もこのような開発傾向が続くものと推定される。

一般的にバイオ医薬品の製法開発では、遺伝子組換えにより作製した目的タンパク質発現細胞の様々なクローンから、最も生産性が高く、かつ製造期間を通じて安定した製造を行える生産細胞を選択することが行われる。従来の多くのバイオ医薬品は、有用な生物活性を持つ生体由来タンパク質を見出し、天然のタンパク質と同一の一次構造をもつ製品を大量に製造することを目指してきており、目的とするタンパク質に関してはそれほど大きな選択の幅があったわけではなかった。このような場合、より適切な翻訳後修飾やタンパク質の安定性などを考慮することはあっても、わずか

Fig. 1 Approval year of biotechnological products in Japan, and cell substrates used for their production



な例外を除いて一次構造の異なる改変タンパク質製品を開発することはまれであった。

一方、現在最も活発に開発が進められている抗体医薬品や改変タンパク質医薬品では、一次構造の異なる一連の候補群から最適な製品を開発するといったストラテジーがよく取られており、このために早期に臨床試験を実施し、ヒトでの有効性や安全性に最も優れた製品を早い時期に選択することが開発を効率よく進める上で有用と考えられている。従って、本稿で考察しようとしている臨床開発初期における製品群の品質・安全性確保の合理的手法は、従来のバイオ医薬品はもとより、これから開発が進む非天然型のバイオ医薬品を効率的に開発するために重要であると言える。

2.1 バイオ医薬品の製法と品質特性

バイオ医薬品の承認申請時に必要な品質・安全性・有効性に関するデータについては、品質特性解析、非臨床試験、臨床試験に関連するICHガイドライン²⁻⁸⁾を始め様々な国内指針や基準^{9, 10)}が出されている。これらのガイドラインや基準は承認申請時ばかりでなく、バイオ医薬品開発におけるロードマップとしての役割も果たしている。例えば細胞バンクの樹立、特性解析、製造工程全体での恒常性評価、管理方法などについてはICHガイドライン(Q5A, Q5D)を参照することが可能であり、宿主細胞の選択、マスターセルバンク(MCB)/ワーキングセルバンク(WCB)を樹立した際の特性解析、製造期間を通じての細胞特性の評価などにこれらのガイドラインが準用されている。しかし、ガイドラインに記載されている内容はあくまでも承認申請時に必要となるデータに関するものであり、開発段階で求められるデータについては記載されていない。

バイオ医薬品の品質・安全性確保のためには、品質特性をどのようにとらえるかがまず第一に重要である。臨床開発初期では全ての特性解析データが得られていない場合も多いと考えられるが、複数の候補品から開発品を絞り込む様な開発戦略

をとる場合に、多くの候補品はドロップアウトしていくことになるため、全ての候補品についてどこまで品質特性を明らかにしておくべきかが製品開発の迅速化につながる重要なポイントである。以下に、バイオ医薬品の特性と臨床開発初期における品質・安全性確保において特に配慮すべき点を述べる。

化学薬品と異なり、バイオ医薬品は非常に複雑な高分子であり、目的タンパク質やその関連物質からなる不均一性を持つことから、有効成分に関しては不均一性の解析をどの程度行っておくべきかが重要なポイントとなる。抗体医薬品などの糖タンパク質製品では糖鎖の不均一性や特定の糖鎖構造が有効性や安全性に大きく影響することもあり、不均一性を含めた糖鎖構造を明らかにすることが品質特性のみならず体内動態や生物活性への影響を予測するために非常に重要である。従って、糖鎖構造が有効性・安全性に影響する製品では、開発初期においても安全性や有効性に関連する特定の構造の糖鎖の存在や存在比率を明らかにしておく必要がある。

また、バイオ医薬品の品質特性は、目的タンパク質のみならず目的物質関連物質や不純物も含めてとらえる必要がある(Fig. 2)。目的物質関連物質は、製品中に存在する目的物質の分子変化体で、同等の生物活性があり、製品の安全性及び有効性に悪影響を及ぼさないものとされている。非臨床試験や生物活性の解析を通じて一定の評価はされているものではあるが、臨床試験の結果を踏まえてその判断の妥当性を評価する必要が出てくる場合もある。目的物質関連物質の構造等に関する詳細なデータについては治験開始前までに必ずしも取得しておく必要はないかもしれない。一方、目的物質由来不純物は生物活性や有効性、安全性に関して目的物質に匹敵する特性を持たないものであり、含量等の評価が必要である。

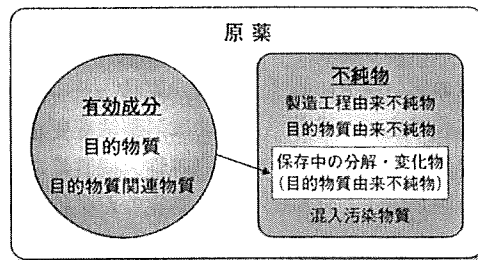
さらに、バイオ医薬品は、製造に生きた細胞を用いること、また生物由来原料を用いていることから、感染性物質の存在や混入を否定することが安全性確保の上から非常に重要である。ウイルス

等の感染性物質は微量でも重大な安全性上の問題を生じさせる可能性があることから、被験者の安全性確保のため治験初期の製品であっても、十分な解析を行いその存在を否定しておかなくてはならない。ただし、必ずしも複数のロットを用いた検討である必要は少なく、開発初期では治験に用いるロットについての試験が実施されていればよいと考えられる。また、製品の安定性に関しては、最低限目的とする臨床開発期間での安定性を担保するデータが得られていればよいと考えられる。

バイオ医薬品の品質・安全性確保のためには品質特性解析のみならず、頑健性の高い製造方法の

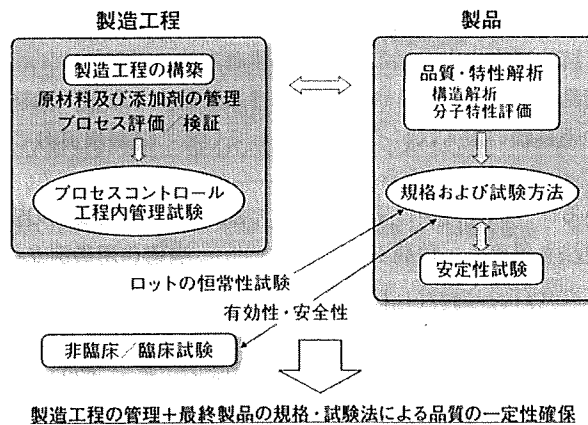
構築と、品質の恒常性を担保するための適切な工程管理法の確立も重要である (Fig. 3)。これは、1) 培養工程の変動が組換えタンパク質産生細胞の特性に影響するなど、製造方法の違いにより糖鎖などの不均一性が大きく変化する可能性があること、2) バイオ医薬品のような複雑な高分子製品ではロットごとに品質特性の全てを明らかにすることが困難であること、3) 特に、各ロットに含まれる不純物の全てを試験することは現実的でない上、微量でも免疫原性に影響を与える可能性があるなどの理由による。従って、製造工程の中で特に品質に影響を与えられと考えられる重要工程では、重要中間体を設定して工程内管理試験を行うことが

Fig. 2 Drug substance of biotechnological products



- 目的物質関連物質 …… 目的物質の分子変化体のうち目的物質に匹敵する特性を持つもの
- 目的物質由来不純物 …… 目的物質の分子変化体のうち目的物質に匹敵する特性を持たないもの (例: 前駆体, 切断体, 脱アミド体, ジスルフィド結合ミスマッチ体, 酸化体, 凝集体)
- 製造工程由来不純物 …… 細胞基材, 細胞培養液, 抽出・分離・加工・精製工程に由来する不純物 (例: 宿主細胞由来タンパク質, 核酸, 血清由来成分, 抗生物質, クロマトグラフ用担体)
- 混入汚染物質 …… 製造工程に本来存在しないはずの外来性物質 (例: 外来性の化学物質, 生化学的な物質, ウイルス等の微生物類)

Fig. 3 Elements for ensuring product quality and consistency of biotechnological products



有用である (Fig. 3)。

ただしバイオ医薬品の品質・安全性確保に必要なこれらの要素のうち、臨床開発初期では、治験薬の製造に用いるセルバンクに関する解析データや使用する治験薬の特性解析データを取得しておくことが望ましいが、品質の恒常性に関するデータまでは必須ではないであろう。

バイオ医薬品の開発において、製造方法や関連する試験法などは、最終的に臨床効果を評価する試験を実施するまでに確定する必要があるが、開発過程では、品質の向上や生産効率改善といった様々な要因により製造工程の見直しが行われている。例えば、シアル酸の付加が体内動態に大きく影響することが知られている糖タンパク質製品では、血中半減期が想定される期間よりも短い場合に、より最適なシアル酸付加がされるようなシードセルの再選択やシアル酸付加率の高い画分のみを選択的に精製するような精製工程の変更が行われることも想定される。しかし培養工程や精製工程の変更は品質特性に大きな影響を及ぼすことがあり、例えば不純物の除去効率を改善するためのカラム工程の追加により、異なる不均一性プロファイルを持つ目的タンパク質が得られるようになる可能性もあるため注意が必要である。また、初期の臨床試験で被験者に治験薬に対する抗体の出現が見られるケースもあり、その大きな要因として宿主細胞由来タンパク質のアジュバント効果が関与していると考えられる例が知られている¹¹⁾。製法の見直し・変更により宿主細胞由来不純物を低減化することによって、抗体産生を引き起こさないようにしたとされる製品もある¹²⁾。こういったアジュバント効果を持つ不純物の混入はバイオ医薬品の安全性確保における大きな課題であり、古くから検討が行われている¹³⁾。開発途中に不純物の低減化を目的として製法を見直し、精製工程の追加や培養工程の変更などを行った場合、目的とする不純物の低減化のみを評価するだけではなく、品質特性そのものの評価が必要となる。

このようにバイオ医薬品開発の特徴として、開

発途中において製法変更等がしばしば行われることがあげられる。品質や生産効率の点で問題が生じない場合でも開発の進展に伴って製造スケールの拡大が行われるが、製造スケールの拡大により製品の品質特性が変化することもあることから、開発途中における製法変更とその影響評価はバイオ医薬品には避けられない課題である。製法変更を行った場合に、旧製法で得られた製品の品質評価や非臨床試験、臨床試験のデータを承認申請データとして用いるためには、ICH Q5Eガイドライン「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とともなう同等性/同質性評価」に従った新旧製品の同等性/同質性評価が必要となる (Fig. 4)。従って、製法変更や同等性/同質性評価のことも念頭に、開発ステージの進行に合わせて必要とされるデータを取得していくことが合理的と考えられる。FDAのフェーズI用治験薬のcGMPガイドラインでは、製法変更を行う場合を想定し、旧製品との同等性/同質性を評価するために治験初期の製品を安定した条件で保存しておくことが望ましいとされている。

上記の点を考慮すると、臨床開発初期に求められるデータが、臨床開発後期あるいは承認申請において必要となるデータパッケージとして求められるデータとは異なることは当然と考えられる。すなわち、臨床開発の初期では、治験中の被験者の安全性確保を最優先とすることは言うまでもないが、品質の恒常性や試験法のバリデーションについては必ずしも求められないと思われる。また、製造方法の頑健性や工程管理試験などは、開発候補品が確定した後、治験の進行にともなって確立していくことが現実的であろう。

2.2 バイオ医薬品の安全性—バイオ医薬品の有害作用事例からの考察

バイオ医薬品の投与により生じる有害作用には、有効成分に起因するものと、不純物に起因するものがある。ここでは、バイオ医薬品の有害作用の事例やバイオ医薬品に特徴的な安全性の懸念事項

についてまとめることにより、臨床開発初期における安全性確保において考慮すべき事項について考察する。

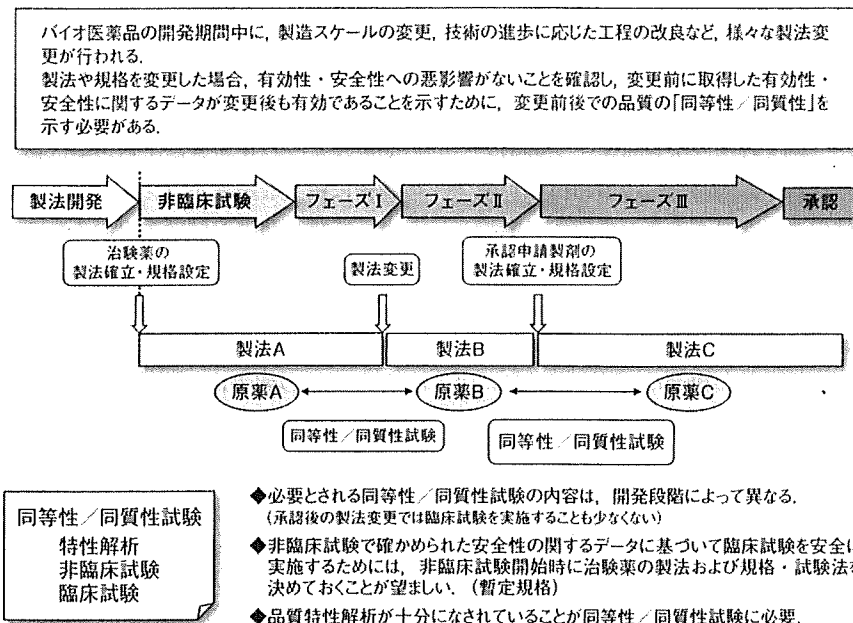
バイオ医薬品の有効成分に起因する有害作用として、1) インスリンによる低血糖やt-PAによる出血傾向、リツキシマブによるHBV再活性化に伴う劇症肝炎など、有効成分の過剰な薬理作用によるもの、2) インターフェロンによる発熱、ムロモナブ-CD3 (OKT3) によるサイトカイン放出反応のように有効成分が複数の薬理作用を持つことに起因するもの、あるいは3) TNF α 阻害薬による結核の再燃のように標的分子が複数の生理活性を持つことに起因するものなどがあげられる。このような有効成分そのものによる有害作用は、ある程度発生が避けられず、目的とする臨床効果と有害作用発生のリスクとベネフィットを勘案しながら開発を進めるか、あるいは臨床試験に当たって適切なモニタリングを行うことにより、有害作用がみられた場合にその重篤化を避けるようにするといった対応が求められている。ただし、これらの有害作用の多くはその製品開発の段階からある

程度予測されている場合が多く、予め対処が可能なケースも多い。

従って、有効成分そのものに由来する有害作用が想定されるバイオ医薬品の臨床開発に際しては特に、①有効成分について得られている様々な情報、さらには②ヒト細胞を用いた解析を含む非臨床試験などから推測されるヒトにおける標的、目的とする薬理作用、非特異的な作用などを考慮した試験デザインが求められるであろう。投与量を考える上では、臨床効果と密接に関連した生物活性を定量的に評価し得る適切な生物学的試験法が確立されていることが重要となる。

ただし、改変タンパク質医薬品や抗体医薬品では、文献等の情報が豊富にある場合は稀であり、特性解析や非臨床試験では検出できなかった作用がヒトで生じる可能性もある。特定の受容体に対する抗体医薬品を開発しようとする場合に、*in vitro*での阻害作用やノックアウト動物での文献情報等が安全性評価の参考になる場合もあると想定されるが、ヒトにおける*in vivo*での作用に関する予測性の限界や種による差異などがあることを十

Fig. 4 Process change and comparability studies during the development of biotechnological products



分に認識しておく必要がある。また、TGN1412による事故でも明らかになったように、霊長類を用いた非臨床試験のデータもヒトでの作用を予測するには不十分な場合がある。特にOKT3やTGN1412のようにアゴニスト作用を有する製品ではサイトカイン放出に起因するインフュージョン反応が起こる危険性について特に配慮が必要であろう。

さらに、有効成分のみならず不純物に起因する有害作用に注意を払う必要がある。次節(2.3)で詳しく述べるが、初期の臨床試験では投与量が限られているものの、ウイルス等の感染性因子の混入は、少量でも重大な影響を及ぼすことがあるため、安全性確保における最も重要な課題である。

また、生産基材として用いる大腸菌や酵母由来の不純物がアジュバント効果を持つことが知られており、不純物が製品の免疫原性増強に関わることがある。非天然型バイオ医薬品の場合は生体でない分子であるため免疫原性は目的物質の構造と関わる問題でもあるが、投与された医薬品に対する抗体が産生された場合、薬効の減弱という問題のみならず、生体内タンパク質との交差反応により生体内タンパク質の作用阻害が生じた場合は、重篤な有害作用につながる危険がある。既承認バイオ医薬品での経験から、組換えタンパク質の一次構造がヒトタンパク質と完全に一致していても、投与された患者にある頻度で抗体が生じることが知られている¹⁴⁾。例えばエリスロポエチン製剤では、製剤中の不純物が原因となって中和抗体が産生され、内在性のエリスロポエチンまでもが中和されて重篤な有害作用が生じた例が知られている¹⁵⁾。また、目的物質由来不純物である凝集体が存在すると抗体が生じやすいことが多くのタンパク質で報告されている¹⁶⁾。患者における医薬品に対する抗体の産生には、医薬品側の要因のみでなく、患者側の要因も関わるため複雑である。例えば、第Ⅷ因子を欠損している患者では医薬品として投与されるヒト第Ⅷ因子に対する免疫反応が生じ抗体が産生されやすい¹⁷⁾。バイオ医薬品の免疫原性評価については、2006年にEMAからガイ

ドラインが出されており、臨床開発初期での安全性確保に関連して参考にできる点も多い¹⁸⁾。

医薬品の投与に伴い生じる懸念があるインフュージョン反応にも不純物が関与している場合がある。例えば、酵母を用いて生産された製品では、患者が酵母由来タンパク質に対する抗体を持っている場合にインフュージョン反応が生じる可能性がある。目的タンパク質に非ヒト型糖鎖が結合している場合に、これに対するIgEを有する患者でインフュージョン反応が生じる例も知られている¹⁹⁾。

不純物が関与する安全性上の問題を解決するには、不純物含量を一定以下にする製法を確立することが有用である。宿主細胞由来タンパク質等の不純物については混入量に関する定められた基準がないが、同一の宿主細胞を用いた製品開発の経験が参考になると思われる。宿主細胞由来DNAの混入量については、WHOのガイドラインで10 ng/doseが上限とされている¹⁹⁾。

2.3 臨床開発初期におけるバイオ医薬品の品質・安全性確保の要点と欧米における規制の動向

前節(2.2)で述べたようにバイオ医薬品の臨床開発初期段階での最も重要なポイントはウイルス等の感染性因子に対する安全性確保である。血液製剤によるHIVやHCVの感染事例を持ち出すまでもなく、ウイルスによる汚染は被験者の安全性確保に重大な影響を与えてしまう。また、感染によっては被験者の健康被害のみならず公衆衛生の観点からも重大な事態を招きかねない²⁰⁾。

ただし、これまで細胞培養技術や組換えDNA技術を用いたバイオ医薬品でウイルス感染による有害事象の報告はない。この大きな要因として、血液製剤での事故を他山の石としてバイオ医薬品の開発当初からウイルス安全性確保のために様々な取り組みが行われてきたことがあげられる。その取り組みの一つが、ICHのバイオワーキンググループにより取りまとめられたウイルス安全性ガイドライン(Q5A)に基づいた原材料や製造工程、

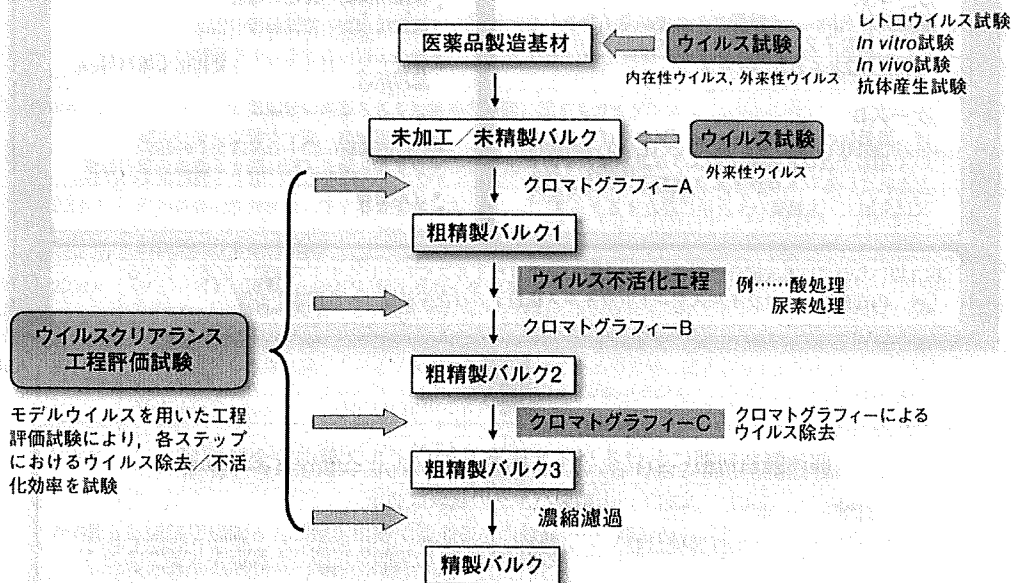
製品での試験である (Fig. 5)。また我が国では、原材料のウイルス安全性確保として生物由来原料基準により上乘せの規制がかけられている。その他、日本薬局方参考情報「日局生物薬品のウイルス安全性確保の基本要件」や関連通知等に基づく様々な取り組みにより安全性確保が図られている²¹⁾。しかしながら、求めている対策やデータが承認申請時を基準に書かれているために、臨床開発初期ステージでの要件として求めると過剰な要求になってしまう。そのため例えば、被験者の安全性確保の観点から十分と考えられる安全性確保対策を講じた上で、承認申請時に求められる複数ロットの試験や、工程評価試験法のバリデーションなど、開発ステージの進展に応じて整備していく事項に関しては、開発初期では必ずしも必要とはされないと考えて差支えないであろう。

このような観点から、開発初期において求められるウイルス安全性や他の感染性物質に対する安全性確保をまとめたのがFig. 6である。開発初期においても基本的な考え方はICH Q5Aガイドラインの記載と変わりはなく、治験に用いる製品の原材料および治験薬の製造工程の解析による安全

性評価を柱とするべきである。マスターセルバンク (MCB) や治験薬の未加工/未精製バルクのウイルス試験は必須となるであろう。ウイルスクリアランス工程評価試験に関しては、治験薬の製造工程のウイルスクリアランス能に関する評価は必要と考えられるが、臨床開発初期ではウイルスクリアランス工程評価試験法のバリデーションまでは必須とされないであろう。また、ウイルスクリアランス試験やセルバンクのウイルス試験の多くが専門の委託試験として実施されているが、適切に評価された社内データの活用も可能であろう。また未加工/未精製バルクのウイルス試験の3ロットの試験は最終的な臨床試験の開始までに行えばよいと考えられる。

その他の要素として、ウイルス試験に関して開発企業の経験等を参考にすることも有用と思われる。例えば、既承認製品と同様の工程を用いる場合には、その経験を参考にすることも可能であろう。あるいは、同一の宿主細胞を用いて生産された製品が既に承認申請されている様なケースでは、承認を受けた製品と同一宿主細胞を用いて新たな製造を行う場合に、既承認製品で実施されたウイ

Fig. 5 Virus safety evaluation for biotechnological products



ルス安全性試験を参考とすることができるであろう。非常に頑健性のある精製工程（ウイルス除去ナノフィルトレーション等）での経験値は、他の製品の製造においても参考とすることができると考えられる。すなわち、一定の要件を満たす治験薬においては、ウイルスクリアランス工程評価試験の削減が可能なケースも想定される。

ウイルス安全性に関する要件を含め、製法関連のデータとして治験開始時に求められるデータについての試案をTable 1に示す。セルバンクに関しては、感染性因子の他、遺伝子コピー数などの遺伝子構成体に関する試験、あるいは細胞純度や

細胞特性解析試験を実施しておくことが望ましい。ただ、細胞バンクの評価としての目的タンパク質発現の安定性試験や核型分析については、同じ細胞基材の使用経験などを参考に、臨床初期までにデータを明らかにしておくことは必ずしも必要ではないであろう。

製品の特性解析試験に関しては、目的タンパク質の構造解析、物理的・化学的性質、生物学的性質、免疫化学的性質（抗体が目的物質の場合は抗原等との結合特性）の解析、純度、製造工程由来不純物、目的物質由来不純物、混入汚染物質、物質量等の解析を実施すると共に、治験開始時には暫定

Fig. 6 Virus safety evaluation for biotechnological products used in early clinical studies

