

ライフサイクルは大きく分けて、以下の6つのステージにより構成されると考えた。

- a) 研究用 NIR 装置を用い、NIR メソッドを構築する。
  - b) 研究用 NIR 装置を用いて構築した NIR メソッドを生産用 NIR 装置に移設し、NIR メソッドの構築に用いていないサンプルを用いて分析法バリデーションを行う。
  - c) 構築された NIR メソッドを生産用 NIR 装置に登録し、NIR システムを商用生産に適応出来るように、システムの GMP 化対応を行う。
  - d) 製剤 PQ (Process Qualification) ならびに製剤 PV (Process Validation) ステージにおいて、NIR メソッドの妥当性を最終確認するため、参照法と NIR の両者の測定を実施。
  - e) 商用生産ステージにおいて、参照法の測定を外し、NIR による工程確認ならびに製品出荷を行う。
  - f) 定期的に NIR メソッドの妥当性確認を行うため、定められた期間ごとに参照法と NIR の両者の測定を行い、NIR メソッドの更新を行う。
- 上記それぞれの段階で洗い出した留意点を基に、分析法バリデーション、モデルトランスファーおよびメンテナンスの実施方法について事例を引きながら具体的推奨事項に示した。

## 5. NIR による RTRT の AF 記載内容の検討

5NIR による RTRT の AF 記載内容の検討次のことなどが挙げられた。

- RTRT を適用して出荷する場合は、最終製剤による出荷試験を実施しないことから、AF の記載事項は承認後の製剤の品質を恒常的に保証するための極めて重要と判断される。
- RTRT は NIR 等を用いた工程管理の結果を以って出荷試験に代えることから、これらの工程管理試験法及び管理値を AF 中で規格及び試験方法と同等に取り扱う必要

がある。

- RTRT において例えば NIR を採用した場合、継続的な性能確認及び改善が促進される記載方法が重要である。

## 6. 管理戦略の事例に基づくシナリオ作成およびライフサイクルにおける課題

コモン錠及びサクラ錠それぞれの商業生産における管理戦略を CQA の切り口から比較しながらまとめた。

コモン錠 Mock CTD では、製品の CQA (溶出性、製剤均一性、分解生成物、安定性) に対して、パラメータ・品質特性相関表等による工程理解に基づいて、中間体の CQA 及びそれらに影響する重要プロセスパラメータ (CPP) で管理する戦略を構築した。

商業生産における管理戦略として、バッチリリースにおいては、製品の規格試験 (CQA)、また工程管理として中間体の CQA および CPP の管理を行い、さらに年次証査においてこれらのトレンド解析を行い、管理戦略の妥当性を検証し、次の製造に反映する (変更管理) のが一般的な戦略である。規格外や逸脱が発生した場合には、その都度すみやかに CAPA (是正予防措置) が実施され、管理戦略の見直しがかげられることになる。一方、商業生産における製造バッチ数が増え、ある程度まとまった量のデータでトレンド解析を行うと、管理戦略を設定した当初は見えていなかった傾向や相関、特にリスクが低いと判断していた重要工程以外の工程管理値やパラメータ、あるいは原料特性との相関が見えてくる可能性がある。これがまさにライフサイクルにおける工程理解の促進である。

想定される傾向から、品質リスクマネジメントの観点あるいは生産性向上の観点から改善が必要であると判断される場合は、あらためて QbD 的な実験検討が追加で発生する可能性もある。

1 年分の結果をまとめて評価するような年次証査システムではタイムリーな対応ができないかもしれない。本来、リアルタイムで情報が更新され、過去実績と比較し、トレンド変化の有無が常に「見える化」されているのが理想的な現場の状態であり、この判断は製品ごとにその特性に応じてリスクベースで判断されるべきである。

一方、サクラ錠 Mock CTD は、溶出性・製剤均一性（含量均一性）・定量の各 CQA に対して管理戦略を設定している点はコモン錠と変わらないが、コンセプトとして RTR をベースとしている点が特徴である。この場合のポイントは、ICH Q&A にあるように、工程上問題を生じた場合の対応等を想定して、最終製品試験の規格と試験方法を同時に開発していることで、どのような場合に RTRT が成立するか、また成立しなかった場合にどのように最終製品試験と連動させるかといった関連を、ディシジョンツリーを用いて明確にしていることである。

予測モデルの計算に用いたインプット変数や予測値のトレンド解析結果を検証し、その結果をふまえて RTRT を含めた管理戦略の妥当性を検証することが必要である。通常、ロットは予測モデル計算値でリリースされるため規格試験を実施しないが、経時試験では予測モデルが適用できないため、規格試験による測定が必要となる。ここで得られるインシヤル実測値は予測モデル計算値（RTRT）と比較できる機会が得られ、予測モデルの妥当性を検証することができる。

IT 化されたモニタリングデータは、バッチリリースに必要な予測モデルの計算だけではなく、過去実績との比較による同時的なトレンド解析を可能にする機会を与える。そのようなトレンド解析からのフィードバックは、RTRT 実施のディシジョンツリーにおけるリスク評価として有用であり、製造異常の予兆を察知し、タイムリー

なアクションを可能とするものである。

## 7. 製品ライフサイクルにおける管理戦略の課題

製品ライフサイクルにおける管理戦略の課題としては次のことが挙げられる。

- 開発段階で明らかにされていない潜在的な変動因子が存在する。
- 商業生産段階で、繰り返し見直すことにより、継続的改善を行うことが重要であるが、現実はそのような体制になっていない。
- サイト変更、スケールアップ等に伴って、十分な知識が蓄積・管理されていなかったために問題が発生する。
- 製品開発部門は、3 ロットの Process Validation (PV) で技術移転が終了したと考えている（製品開発部門と製造部門（工場）の役割分担の境目が不明確）。
- 商業生産段階で、工場で蓄積された工程理解やノウハウが、新製品の処方開発、製法開発に生かされる仕組みがない。

技術移転に係る問題とその対応については、既に「医薬品製造技術移転指針」により、開発から製造における一貫性（consistency）の確保の重要性と、開発部門から製造所への技術情報の適切な受渡しを行うために、技術情報を研究開発報告書としてまとめることを推奨している（参考文献 15）。これは、医薬品品質システムガイドラインで述べられている製品ライフサイクルの技術移転段階の目標を具現化する重要な示唆となっている。

継続的改善において、将来起こり得る法的プロセスを経るような変更管理については、製品開発部門に十分な知識がフィードバックされている必要があり、商業生産段階において製品開発部門と製造所が医薬品品質システムのもと、相互に連携することが重要となる。

研究段階から将来起こりうるイベントを見据えた管理戦略の議論を開始し、初期リスク評価からの経過を含め、管理戦略に係わる知識が工場へ移転されることが望まれる。上市後に想定されるサイト変更やスケールアップなどのイベントについて、具体的なケースを想定して、中間品 CQA にフォーカスした知見を整理した形で工場へ移転することが有用である。

製品のライフサイクルを通して生じる変更の頻度や大きさを考慮すると、工程パラメータによる管理はあまり得策ではなく、中間品CQAを定義し管理することに焦点を当てた管理戦略の採用により、より迅速な変更マネジメントが可能となり、ライフサイクルを通じた製品実現の達成（管理できた状態の維持）が期待できる。

## D. 考察

### D-1 原薬の開発・製造情報に関する研究

#### D-1-1 Quality by Design の方法論による原薬研究開発

サクラミルの承認申請書モックの事例では、QbD による原薬開発が実施され、実験計画法研究によりデザインスペースが設定され、パラメータが中程度のリスクで管理可能な場合に、軽微事項で幅記載の表記を選択できるとした。

一変量実験から得られる立証された許容範囲 (PAR: proven acceptable range) とは異なり、QbD 開発が実施されたモックのケースでは、工程パラメータが変動した場合の影響が実験計画法研究により検討され、不適合境界 (EOF: Edge of Failure) と工程パラメータとの関係に関する知見が深まっており、リスクが十分に低減していると考えることが出来るからである。

承認申請書記載例では工程パラメータのデザインスペースと不適合境界との関連で、3通りに分類している。すなわち、A) デザインスペースを検討した範囲に不適合境界が存在し、工

程パラメータの範囲の末端が不適合境界に近い場合 (重要工程パラメータ (CPP)、かつ高リスク)、B) 不適合境界が存在するが、工程パラメータの範囲をデザインスペースよりも狭く設定することにより不適合境界と離れている場合 (重要工程パラメータ (CPP)、かつ中程度リスク)、C) 不適合境界が検討した範囲では存在しない場合 (その他の工程パラメータ、中程度リスク) である。

工程パラメータのリスクを判断する際の主要な要素として、実験計画法により設定されたデザインスペースの限界 (工程パラメータの範囲の末端) と不適合境界の「距離」が存在する。どのくらいの距離が存在したときに十分にリスクが低減したと考えるかについては、今後の議論が必要とされる場所である。工程能力指数 (Cpk) の概念を工程パラメータのリスク評価に取り入れることも有効ではないかとの提案もなされた。Cpk が 1.5 以上あれば、不良品発生率は 10 ppm 以下になり、十分にリスクは低減されていると見做すことができるのかもしれないと考察した。工程パラメータに関するリスクの程度は発生の確率、危害の重大性及び検出性の他、リスクコミュニケーションも考慮しなければならず、今後の検討課題である。

実験計画法で用いたすべての工程パラメータを承認申請書に記載せず、実験計画の検討結果およびリスク評価により、品質に影響しない、あるいは影響する可能性の低いことが確認できた工程パラメータ (Other PP, No impact) に関しては必ずしも記載を必要とせず、社内管理値としてもよいのではないかとの見解も産業界から提出された。年次報告で変更を報告する制度を有する米国とは異なり、製造プロセスが承認申請書の記載から把握できる必要があるため、品質に影響する可能性の低いパラメータであっても規制側は記載を必要と判断する場合もある。承認申請書の記載の程度は、年次報告制度等の

整備と併せて今後の検討とすべき課題である。

## D-1-2 抗体医薬品の開発と品質・安全性・有効性確保のための指針に盛り込むべき要素

抗体医薬品開発におけるプラットフォーム技術の利用に関しては以下の考察をした。

製品間で構造の共通性が高い抗体医薬品の製造及び品質評価には、複数の製品に共通して適用可能な技術(プラットフォーム技術)がある。

プラットフォーム技術を製造開発に用いる例としては、構造の類似した抗体医薬品の開発で、CHO 細胞などのように使用実績がある宿主細胞を使用する場合、自社内の使用経験を基に、セルバンクの試験設定において合理的な対応を行ったり、同様の細胞培養および精製方法を採用する場合の工程デザインの説明にも使用できるであろう。

プラットフォーム技術を特性解析、規格および試験方法に用いる例としては、他製品の経験から得られた知識・データを、共通した試験項目の選択や、規格設定しない試験項目の妥当性説明に利用することが可能かもしれない。

## D-2 製剤の開発・製造情報に関する研究

### 1. RTRT における含量均一性評価のための試験料数と評価 (Large-N) の検討

規格の設定に際しては、担保可能な品質の限度と、現実的に対応可能な試験の厳しさととの兼ね合いで決められる。試験規格を比較検討する際には単に試験の厳しさだけではなく、消費者危険、生産者危険の両者に注意を払うことが必要である。特に RTRT における試験規格については生産者危険がより重要で、従来法の試験規格と生産者危険においてある程度一致しないと、出荷後の管理の面で不都合が生じる可能性がある。また、現在まで欧米で提案されている UDU の RTRT に対する判定基準は、それぞれに正規分布の仮定、生産者危険の乖離などの欠点があ

り、さらなる改訂が望まれることが示された。今後、RTRT に関する議論が高まるにつれ、日本においても適切な判定基準の設定が望まれる。

本課題はサンプル数が多い場合に基準をどうするかという設問から出発したものの、工程理解の内容・程度を考慮し、製品および工程に応じた管理戦略の一部として設定すべきものと思われる。工程理解を想定しないで設定された薬局方の基準、あるいはその延長の基準をそのままに管理戦略に設定することは不適切であるように考える。

### 2. 近赤外スペクトル法の製剤工程管理への適用事例研究

今回の実験系では主薬濃度を目的変数に置くことで良好な検量モデルが構築できたが、主薬含量を目的変数に置いて検量モデルを構築できる場合もあると考えられる。この場合、品質特性に直結する主薬含量を直接的に測定できることから、RTRT の実施に際してシンプルな工程管理とすることができる。したがって、このような点を考慮に入れた検討および各目的にあった検量モデルの採用判断が必要である。

ICH Q-IWG PtC (参考文献 16) において示された、モデルのインパクト (工程モニタリングか、RTRT か等) に応じた保証のレベルを使い分けることが有用である。ライフサイクルにおいて生じる新たな知識に応じて、柔軟に NIR メソッドの運用が可能なことが望ましく、各社の GMP 変更管理に基づき、分析法バリデーションの適合を以って適切に NIR メソッド更新を実施していくことが重要である

### 3. NIR による RTRT の承認書記載について

リアルタイムリリース試験を適用して出荷する場合は、最終製剤 (錠剤) による出荷試験を実施しないことから、承認申請書の記載事項は承認後の製剤の品質を恒常的に保証するための

企業側のコミットメントとして極めて重要であるとの共通の認識が行政側と企業側で得られた。

行政及び企業側で一定の共通の認識は有するものの未だある程度のギャップがあることがわかった。極めて有意義な議論が行われたが、研究班内での承認申請書の記載内容の合意及び mock 作成には至らなかった。従って、本承認申請書の記載内容及び mock 作成については次年度の研究班においても継続して検討することとなった。

#### 4. 管理戦略の事例に基づくシナリオ作成

個々の品目ごとの管理戦略が開発されるのは製品ライフサイクルの製剤開発の段階（バリデーションライフサイクルの「工程デザイン」）である。そして、技術移転において製剤開発部門から製造部門に引き継がれるのは「工程の適格性確認」で、そこで開発された管理戦略が意図したとおりに稼働することを検証することとなる。管理戦略が本来の目的を果たすのは商業生産以降であり、バリデーションライフサイクルの「日常的工程確認」の段階である。管理戦略は、このバリデーションライフサイクルと関連している。これらは、最小限/QbD いずれのアプローチにおいても言えることである。

#### 5. 製品ライフサイクルにおける管理戦略

開発された管理戦略をいかに検証し、商業生産につなげていくかといった視点から実施すべき点を明確にし、製品ライフサイクルと管理戦略の展開という観点から考察していくことが重要である。

承認後の継続的改善を促進していくには、工程パラメータの変更を柔軟に実施できる方策が必要であり、その方法の1つとして、製品及び中間品 CQA による管理戦略が有効と考えられる。本邦における一変/軽微の承認申請書システムへは、中間品 CQA にフォーカスした管理

戦略が取りやすいかもしれない。このような仕組みを実現するには、申請・審査だけでなく GMP 調査を通じた企業と当局とのリスクコミュニケーションも欠かせない。企業側においては、医薬品品質システムやリスクマネジメントの導入、年次照査の導入により GMP のレベルアップをはかること、当局側においては、それらの情報からリスクを察知し評価できる調査員を育成することが課題である。企業と当局の双方の努力と協力が求められる。

#### 6. ライフサイクルにおけるプロセスバリデーションについて

ICH 文書ではプロセスバリデーションについての記述が断片的であり、系統的な理解が困難であった。本研究の成果も踏まえ、平成 24 年 11 月の ICHQ-IWG によりプロセスバリデーションと継続的工程確認に関する考慮点が示された（参考文献 16）。

この中で、プロセスバリデーションはライフサイクルを通じ行なわねばならないことを強調している。米国 FDA ガイダンス（参考文献 17）EU のガイドライン案（参考文献 18）ともにライフサイクルにおけるプロセスバリデーションが強調されている。我が国の現行バリデーション基準からも工程の定期照査などライフサイクルの概念も読み取れるものの記載の明確化が望まれる。

### E. 結論

#### E-1 原薬の開発・製造情報に関する研究：

QbD により研究開発が実施された場合の研究開発レポートのモック（サクラミルモック）が Q11 ガイドラインに沿う論旨で完成するとともに、サクラミル承認申請書のモックを作成した。

デザインスペースが設定された場合の承認申

請書の製造方法の記載方法は各社のポリシーと工程パラメータのリスクの程度により各種の方法が存在する。本研究では工程パラメータと不適合境界との関係に着目してリスクを考察し、軽微変更届出事項としての幅記載も選択肢としてありうることを結論した。

さらに抗体医薬品に関しても製法確立の要件、プラットフォーム技術、品質評価にあり方について調査研究を行った。また、将来の指針作成に有用な要素を調査した。

## E-2 製剤の開発・製造情報に関する研究

21年度当初は、NIRによる製造工程のモニタリング及び工程内試験は、RTRTの手法としての実用化はあまり普及しておらず、総合的な管理戦略の浸透およびNIRに対する科学的な理解が求められていた。又、都道府県の薬務行政関係者、輸出又は海外において業務を行わない製薬企業関係者からは、『最近のICHガイドラインはわれわれには関係がない』との発言が聞かれていた。

このような状況で、ICH Q-IWGの議論と並行し、具体的な課題をとりあげ実験データを含め、事例研究を進めてきた。これらの成果は国際調和された考え方の国内への具体的な導入だけでなく、Q-IWGのPtC作成の議論に反映され一定の成果があがったものとする。さらに、今後の国際調和により一層貢献できると期待される。

### 参考文献

1. The International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH) 日米 EU 医薬品規制調和国際会議 <http://www.ich.org/cache/compo/276-254-1.html>
2. 平成 18-20 年度厚生労働科学研究費補助金

(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)、医薬品製造開発・承認審査の迅速かつ効率的なプロセス構築に関する研究

分担研究報告書、重要工程におけるデザインスペースの設定及び Control Strategy としての Real Time Release 等の研究

3. Sandell, D.; Vukovinsky, K; Diener, M.; Hofer, J.; Pazdan, J.; Timmermans, J. Development of a Content Uniformity Test Suitable for Large Sample Sizes. *Drug Information Journal* 2006, 40, 337-344
4. PhRMA CMC Statistics Expert Team (Bergum, J.; Vukovinsky, K. E.), A PROPOSED CONTENT UNIFORMITY TEST FOR LARGE SAMPLE SIZES. *Pharmaceutical Technology* 2010, Nov 2, 72-79
5. Holte, O.; Horvat, M; the Ph. Eur. PAT working group, Evaluation of Uniformity of Dosage Units using Large Sample Sizes. *Pharmaceutica* 2011, 23, 286-293.
6. 第十六改正日本薬局方 参考情報「近赤外吸収スペクトル測定法」, 2011.
7. USP 34 –NF 29 1<sup>st</sup> Supplement, “Near-infrared Spectroscopy”, 2011.
8. Phr.Eur. 7.0, “Near-infrared Spectrophotometry”, 2011.
9. European Medicines Agency, “Guideline on the Use of Near Infrared Spectroscopy by the Pharmaceutical Industry and the Data Requirements for New Submissions and Variations (Draft)”, 2012.
10. The Pharmaceutical Analytical Science Group, “Guidelines for the Development and Validation of Near Infrared (NIR) Spectroscopic Methods”, 2001.

11. 平成 20 年度 厚生労働科学研究費補助金  
「原薬等の製造工程管理と物質特性の変動  
に関する研究 –Minimal approach とし  
ての原薬・製剤開発研究のあり方に関して  
–」
12. 平成 20 年度 厚生労働科学研究費補助金  
「医薬品製造開発・承認審査の迅速かつ効  
率的なプロセス構築に関する研究 –重要  
工程におけるデザインスペースの設定及び  
Control Strategy としての Real Time  
Release 等の研究–」
13. JLRobert, YHiyama, GFrance,  
JMorenas ,  
ICHQIWG の活動報告, ISPE ストラスブ  
ール会議 2009 年 10 月
14. KPugh, GFrance, EMEA PAT team 活  
動報告, ISPE ストラスブール会議  
2009 年 10 月
15. 平成 17 年度厚生労働科学研究, 科学とリス  
クマネジメントに基礎をおいた医薬品及び  
医療機器の品質管理監督システムに関する  
研究、「医薬品製造技術移転指針」(齊藤泉  
座長)
16. ICH Quality Implementation Working  
Group, “Points to Consider (R2)”, 2011.
17. Guidance for Industry, Process  
Validation: General Principles and  
Practices, US DHHS, FDA,  
CDER/CBER/CVM January 2011 CGMP  
Rev1
18. Guideline on Process Validation(Draft),  
EMA, 29 March 2012,  
EMA/CHMP/CVMP/QWP/70278/2012-R  
ev1

#### F. 健康危機管理情報

なし

#### G. 研究発表

誌上発表

- 奥田晴宏、品質に関するトピックの動向  
Q8(R1): 製剤開発 (補遺) 医薬品研究, 40  
(10), 660-666 (2009)
- Ando, T., Hiyama, Y., Matsuda, Y.,  
Nakanishi, T., Okuda, H., Inside  
ICH-MHLW, working groups ramp up  
quality-based implementation,  
Pharmaceutical Technology, 33 (9), 72  
(2009)
- 奥田晴宏、第一部 品質・規格等のデー  
タ評価、第 1 章 総論、医薬品評価概説、  
pp 9-18, 東京化学同人 (2009)
- 奥田晴宏、第一部 品質・規格等のデー  
タ評価、第 2 章 化学薬品の品質評価、  
医薬品評価概説、pp 19-48, 東京化学同人  
(2009)
- Ohno, A., Kawasaki, N., Fukuhara, K.,  
Okuda, H., Yamaguchi, T. :  
Time-dependent changes of oxytocin  
using <sup>1</sup>H-NMR coupled with  
multivariate analysis: A new approach  
for quality evaluation of protein/peptide  
biologic drugs, Chem. Pharm. Bull., 57,  
1396-1399 (2009)
- Ohno, A., Kawasaki, N., Fukuahra, K.,  
Okuda, H., Yamaguchi, T. : Complete  
NMR analysis of oxytocin in phosphate  
buffer, Magn. Reson. Chem., 48, 168-172  
(2010)
- Sakai-Kato K., Nanjo K., Kawanishi T.,  
and Okuda H., "Rapid and sensitive  
method for measuring the plasma  
concentration of doxorubicin and its  
metabolites" Chem. Pharm. Bull. Chem  
Pharm Bull (Tokyo). 2012;60(3):391-6.

- K. Sakai-Kato, K. Ishikura, Y. Oshima, M. Tada, T., Suzuki, A. Ishii- Watabe, T. Yamaguchi, N. Nishiyama, K. Kataoka, T. Kawanishi, H. Okuda, "Evaluation of intracellular trafficking and clearance from HeLa cells of doxorubicin-bound block copolymers." *Int J Pharm.* 2012 Feb 28;423(2):401-9.
  - Ohno A, Kawanishi T, Okuda H, Fukuhara K., A New Approach to Characterization of Insulin Derived from Different Species Using (1)H-NMR Coupled with Multivariate Analysis. *ChemPharm Bull (Tokyo).* 2012;60(3):320-4.
  - 奥田晴宏、医薬品各条の改正点② 新規収載及び既収載医薬品、*薬局* 62(6) 2667-2674 (2011)
  - 奥田晴宏 第16改正日本薬局方の主な改正点について *東京都病院薬学会雑誌* 61, 8-14 (2012).
  - 檜山行雄 ICH ガイドライン (Q8, Q9, Q10) の実践の展望について, *薬剤学* 69(3) 210-216 (2009)
  - 檜山行雄 ICHQ トリオの実践・運用に際し留意すべき点、1-7、石川英司監修 『承認申請をふまえた ICH Q8・9・10 の実例と留意点』、サイエンス&テクノロジー(2010)
  - 檜山行雄、医薬品の品質と ICH、製剤機械技術ハンドブック第2版、869-888(2010)
  - Yukio Hiyama, International Harmonization and Scientific Development of Quality Practices, Proceedings of EDQM International Conference on Quality of Medicines in a Globalized World( Prague, Czech Republic, October 2010), 15-17
  - 小出達夫、香取典子、檜山行雄、奥田晴宏、PAT による医薬品品質管理の課題と展望、*PHARM TECH JAPAN*, vol 28, 651-654(2012)
  - 奥田晴宏 承認申請書記載事項について—厚生労働科学研究を実施した立場から、薬事法における一変と軽微変更に関する課題、pp39-52、じほう、(2012)
- 口頭発表
- 奥田晴宏、Q トリオは日本の医薬品品質保証システムに何をもたらしたか、何をもたらさずか? 固形製剤処方研究会シンポジウム(2009.11、大阪)
  - 奥田晴宏、化学薬品各条のこれから、第6回 医薬品レギュラトリーサイエンスフォーラムシンポジウム (2009.12、東京)
  - 奥田晴宏、檜山行雄 ICHQ8-Q10 における RTR、第9回医薬品品質フォーラム (2010.1、東京)
  - 奥田晴宏、製剤設計から商用生産までの一貫性に関する規制の現状と未来に向けた新しい技術の投入に関する期待、製剤機械技術研究会20周年記念大会 (平成22年10月、東京)
  - 奥田晴宏、ICH Q-trio: 医薬品開発と品質保証の新しいあり方、ISPEレギュラトリー委員会SAM&GMP部会大会、(平成22年11月、山陽小野田市)
  - Watson, T., McDermott, T., Okuda, H., Montgomery, F., Lepore, J., Nasr, M., Regulatory roundtable discussion: API around the Pacific Rim The 2010 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (2010.12, Honolulu, USA)
  - Yukio Hiyama, Regulatory Update—Japan, ISPE Regulatory Affairs Committee presentation, March 31,



2009 (Brussels)

- 檜山行雄 Enhanced Approach 適用の課題と展望、ISPE 日本本部年次大会 PQLI ワークショップ 2009 年 4 月 17 日 (東京)
- 檜山行雄 ICH 品質ガイドラインの実践における課題 -リアルタイムの品質管理への期待-、日本薬剤学会第 24 年会、学術シンポジウム 1、高度品質保証の「実現」ICHQ トリオへの挑戦、PAT の活用、2009 年 5 月 21 日 (静岡)
- 小出達夫、『QbD による医薬品開発と承認申請～Enhanced approach を採用するためには何が必要か～』インターフェックス ジャパン 7 月 2 日 (東京)
- 岡崎公哉、P2 Mock - Q8 Enhanced Approach - 「2.3 品質に関する概括資料 サクラ錠」、第 13 回東日本製剤懇談会、2009 年 8 月 7 日 (星薬科大学)
- Yukio Hiyama Global Challenges - Japan and beyond、PQLI-Global Realisation and Implementation of the ICH Quality Vision, ISPE, October 1, 2009(Strasbourg)
- 松永浩和、リアルタイムリリースの実現に向けて-厚生労働科学研究班の活動紹介-、第 9 回医薬品品質フォーラム、平成 22 年 1 月 28 日 (東京)
- Tatsuo Koide, Toru Kawanishi, Yukio Hiyama, Study on influence of particle sizes of ingredients on pharmaceutical

manufacturing process control using NIR(Near Infrared) and its chemical imaging techniques, FIP/AAPS Congress, New Orleans, November 2010

- 檜山 行雄, ICH Q8、Q9、Q10 の実践導入について、大阪医薬品協会技術研究会講演、大阪、平成 23 年 1 月
- Yukio Hiyama, Process Validation and Continuous Process Verification, APEC DIA シンポジウム April 2011(ソウル)
- Tatsuo Koide, Noriko Katori, Haruhiro Okuda, Yukio Hiyama, Evaluation of Homogeneity and Content Uniformity on Low-Content API Tablets Using NIR and ATR-IR Chemical Imaging Techniques, World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, Istanbul, March 2012
- 檜山 行雄, Quality by Design のイントロダクション, 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス財団研修会講演、東京、平成 23 年 11 月

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

#### J. 参考情報

なし

## 抗体医薬品の品質評価のためのガイダンス（案）

### 1. はじめに

医薬品開発過程に必要な製法確立、特性解析、規格及び試験方法の設定、非臨床・臨床試験による有効性・安全性の評価は、関連する国内通知や ICH ガイドラインにしたがって実施され、製造販売承認申請（以下「承認申請」という。）の際には申請対象となる医薬品の品質・有効性・安全性が確保されていることを示すデータが提示される必要がある。これらは目的とする有効成分の特性に応じて製品ごとに個別に実施されるもので、通知やガイドラインには重要な一般原則が示されているものの特定の製品群についての具体例は示されておらず、特にバイオ医薬品ではケースバイケースの対応が求められることが多い。しかし、バイオ医薬品の中でも、国内外で多くの製品が承認され、一定の経験が積み重なってきているモノクローナル抗体医薬品（以下「抗体医薬品」という。）では、目的物質の構造の共通性が高いことから、製造、特性解析、規格及び試験方法の設定においては、共通した基盤技術の適用が可能とされている。

抗体医薬品の開発では、遺伝子組換えによるキメラ抗体やヒト化抗体作製技術、ヒト抗体遺伝子導入動物やファージディスプレイ法等を利用したヒト型抗体作製技術、さらには、組換えタンパク質の大量生産／精製技術といった最新の技術が利用されている。このような抗体医薬品製造技術の進展を踏まえ、抗体医薬品の製法開発や品質特性解析等について、製品間で共通の事項に関する考え方を示すことは、抗体医薬品の品質・安全性・有効性確保に有用と考えられる。

本ガイダンスは、抗体医薬品の製造、特性解析、規格及び試験方法の設定において、共通する留意事項を明らかにし、抗体医薬品の承認申請に必要とされる事項の例を挙げることにより、抗体医薬品の合理的な開発の推進と審査の効率化を図ることを目的としている。なお、本ガイダンスの対象となる抗体医薬品は、他の関連する全ての通知やガイドラインの適用も受ける。本ガイダンスでは、基本的に承認申請時において必要とされる申請資料を中心に記載しているが、開発ステージに合わせて本ガイダンスの考え方や要件を参照することが望ましい。

### 2. 適用範囲（対象）

本ガイダンスは、遺伝子組換え技術を用いて構築された動物細胞又はヒト細胞を生産用細胞基材として製造される治療用医薬品又は体内診断用医薬品に用いられるモノクローナル抗体医薬品を適用対象とする。

本ガイダンスにおいて、抗体医薬品とは、基本構造としてイムノグロブリンの骨格を持つモノクローナル抗体（IgG、IgM 等）を指し、これらに薬理活性を持つ低分子化合物、放射性同位元素配位性キレート、ポリエチレングリコール等による化学的修飾を施したモノクローナル抗体も適用対象とする。

ハイブリドーマ由来非組換え抗体、ポリクローナル抗体、Fab、F(ab')<sub>2</sub>、scFv、diabody（二重特異性抗体）などの低分子化抗体、Fc 融合タンパク質・ペプチドは適用対象外であるが、本ガイダンスの考え方は適用可能である。

### 3. 抗体医薬品の製造方法の開発、特性解析、規格及び試験方法の設定において考慮すべき基本的事項

抗体医薬品は、従来のバイオ医薬品と異なり、開発初期には開発候補品として様々なモノクローナル抗体が作製され、開発の進展とともにそれら候補物質の中から開発製品を選択することが多い。さらには、開発の進展に伴って宿主細胞の変更など大幅な製法変更が行われることもある。一方で、従来のバ

イオ医薬品と異なり、精製法や特性解析手法、さらには規格試験の設定において、製品間で共通する技術的要素も多く、そのためにより合理的な開発が可能とも考えられている。本ガイダンスでは、抗体医薬品の安全性や有効性の確保を目的として、製法の確立や品質の一定性確保に必要と考えられる基本的事項を記載している。

なお、本ガイダンスで示された解析手法や評価法は例示であり、これらのすべての試験を実施しなければならないということではなく、それぞれの製品の特徴等を踏まえ、品目ごとに科学的に妥当な試験を実施することによりよい。

### 3.1. 開発の経緯

抗体医薬品では標的分子（抗原）は明確であるが、開発段階では親和性やエピトープが異なる様々なモノクローナル抗体が作製されることが多い。候補となるモノクローナル抗体からの開発製品の選択に当たっては、品質特性解析や非臨床試験のみならず臨床試験を実施して判断される場合もある。承認申請時には、このような開発の経緯について、開発製品の選択経緯を含めて説明する必要がある。

### 3.2. 原薬の製造方法の確立

バイオ医薬品の品質・安全性確保には、製造工程の管理と製品の品質試験の双方が不可欠であるが、バイオ医薬品の中でも分子量が大きく複雑な構造を持つ抗体医薬品は、翻訳後修飾や高次構造を含めて目的物質の構造特性を確定することが容易ではないため、製造方法の理解と管理が特に重要である。

#### 3.2.1. モノクローナル抗体生産のための遺伝子発現構成体の構築

モノクローナル抗体作製法には、マウスを免疫して得られた B 細胞と骨髄腫細胞との細胞融合によりハイブリドーマを作製してモノクローナル抗体を取得し、マウスハイブリドーマから得られたモノクローナル抗体の遺伝子及びアミノ酸配列をもとに遺伝子組換えによりキメラ型又はヒト化抗体を作製する方法、ヒト抗体遺伝子導入動物を免疫して目的とする抗原に対するヒト型抗体産生細胞から取得する方法、ファージディスプレイ等を利用してヒト型抗体断片を取得する方法等がある。抗体断片を取得した場合は、必要に応じてイムノグロブリン骨格の付加等の改変が行われる。これらの他、ヒト B 細胞を利用したヒト型モノクローナル抗体作製技術のように、新たな技術も開発されてきている。本ガイダンスの適用対象となる遺伝子組換え技術を用いて製造される抗体医薬品の製造過程では、得られた抗体の遺伝子を組換えタンパク質発現に適したベクターに挿入して遺伝子発現構成体を構築する。

遺伝子発現構成体の分析は、ICH Q5B ガイドライン「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」（平成 10 年 1 月 6 日付け医薬審第 3 号厚生省医薬安全局審査管理課長通知）にしたがって実施し、承認申請書には、目的タンパク質をコードする遺伝子の由来が明確になるよう、遺伝子発現構成体の作製について、遺伝子の入手方法、作製の経緯、構造等を記載する。

#### 3.2.2. 細胞基材の樹立

抗体医薬品生産の出発材料であるセル・バンクの調製、特性解析、管理方法は、ICH Q5D 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）製造用細胞基材の由来、調製及び特性解析」（平成 12 年 7 月 14 日付け医薬審第 873 号厚生省医薬安全局審査管理課長通知）にした

がって実施する。また、セル・バンクは生物由来原料基準（平成 15 年厚生労働省告示第 210 号）に適合することを示す必要がある。承認申請書には、マスター・セル・バンク（MCB）及びワーキング・セル・バンク（WCB）調製の経緯を記載すると共に、それらの管理方法として、(1)特性解析試験及び純度試験の試験項目、分析方法、管理基準、(2) 保存方法及び保存中の安定性に関する情報、(3)更新方法等を記載する。

動物細胞を用いる抗体医薬品の製造では、主に CHO 細胞や、SP2/0 細胞、NS0 細胞等のマウス骨髄腫細胞等が用いられる。これらの細胞で製造された遺伝子組換えタンパク質には、*N*-グリコシルノイラミン酸（NeuGc）やガラクトース  $\alpha$ 1-3 ガラクトース（Gal $\alpha$ 1-3Gal）のような非ヒト型の糖鎖が付加されている例が知られている。これまで、抗体医薬品に付加された NeuGc に関連する有害作用の報告はないが、Fab 領域に糖鎖を持つ抗体医薬品では、Gal $\alpha$ 1-3Gal に対する IgE を保有する患者で過敏症反応が生じる可能性があり、宿主細胞の選択に当たっては抗体への非ヒト型糖鎖の付加に関する知見を考慮することが必要な場合もある。

医薬品生産への応用実績がない新規の細胞株を用いる場合には、細胞選択の経緯、樹立方法等について情報を示し、その妥当性を説明する必要がある。

### 3.2.3. 培養及び精製

一般に、バイオ医薬品の品質確保のためには、恒常性と頑健性のある製法の確立が求められる。抗体医薬品の製法においても、このための培養及び精製工程の管理が特に重要である。抗体医薬品の原薬の製造工程の確立及びその恒常性を示すためには、①目的物質の不均一性の恒常性が保たれていること、②製造工程由来不純物を除去する十分な能力を持つこと等を明らかにする必要がある。また頑健性を示すためにいくつかの条件（プロセス・パラメータ）を変動させたときの品質の恒常性を確認することも有用である。

品質特性に影響を与える工程は重要工程とし、必要に応じて工程内管理試験を設定する。また、最終製品の品質への影響が大きい中間体は重要中間体と定め、品質試験及び管理基準を設定して工程管理することが、最終製品の品質確保のために有用である。タンパク質に化学的修飾を施したものを原薬とする製品では、修飾前のタンパク質を重要中間体とし、工程内管理試験を設定して品質管理を行うことが必要であろう。

承認申請時には、製造方法の恒常性を確認するために、プロセス・バリデーション／プロセス評価として、パイロット又は実生産スケールで製造した結果（工程内管理試験の結果、その他の重要なプロセス・パラメータ、精製工程での不純物の除去状況等を含む）を示す。また、添加回収実験等による不純物クリアランス試験等、実験室スケールでの試験結果が、製造方法の恒常性を保証するためのデータとなる場合もある。

承認申請書には、原材料、品質に影響を及ぼす可能性のある試薬類、重要工程、重要中間体、主要な装置、重要なプロセス・パラメータ（温度、pH、時間等）等を適切に記載する。特別な機能を有する装置のうち、生産培養用のバイオリクターやカラム等の品質に影響を及ぼす機器に関してはその詳細（性能、容量等）を記載する。工程内管理試験を設定した重要工程については、その試験項目、分析方法、適否の判定基準（\*脚注）を記載する。また、単離・保存される重要中間体が設定されている場合は、保存条件及び保存期間を記載する。さらに、重要中間体について工程内管理試験が設定されている場合は、その試験項目、分析方法、適否の判定基準（\*脚注）を記載する。

承認申請書に記載されたプロセス・パラメータの目標値／設定値は、原則として《一部変更承認申請》対象であるが、最終製品の品質・安全性に悪影響を与える可能性が極めて低いことが明らかな場合、『軽微変更届出』対象となる場合がある。他のバイオ医薬品にも共通することであるが、抗体医薬品の製造工程において、『軽微変更届出』対象とすることが許容されず、ほぼ全てのケースで《一部変更承認申請》対象とすることが求められるプロセス・パラメータの例として、ウイルス除去／不活性化工程や無菌工程の重要パラメータがあげられる。

\*脚注・・・処置基準が記載されることもある。

### 3.2.3.1. 培養工程

培養方法は、目的物質の産生量のみならず、目的物質の構造・活性等への影響、目的物質の不均一性等の品質恒常性への影響等を考慮して開発する必要がある。WCB 解凍後の培養に関して、ステップごとに、使用される培地及び添加物、培養スケール、培養容器・設備、培地の供給及び回収方法、温度や pH 等のプロセス・パラメータを明らかにすることが重要である。また、工程内管理試験として実施する項目とその管理基準を明らかにする。培養に用いられる培地に血清や動物由来原材料等が用いられる場合には、原材料が生物由来原料基準に適合していることを示す必要がある。

### 3.2.3.2. 精製工程

精製方法の開発においては、目的物質の不均一性の恒常性、有効成分の純度、目的物質関連物質の含量、目的物質由来不純物及び製造工程由来不純物の除去状況等を考慮する必要がある。特に、抗体分子は糖鎖構造等において不均一性を持つため、一定の品質特性を持つモノクローナル抗体を精製するためには、工程の恒常性を十分に評価しておく必要がある。承認申請時には、ステップごとに、クロマトグラフィー樹脂の種類及びカラムスケール、カラムへの負荷が許容されるタンパク質量（必要に応じて、タンパク質溶液の電気伝導度）等、平衡化液及び溶出液、流速、目的物質の画分の選定条件、温度等のプロセス・パラメータを示す必要がある。また、工程内管理試験として実施する項目とその管理基準を明らかにする。必要に応じ、許容されるカラム使用回数についてスケールダウンしたモデル等を用いて検討する。

製造工程由来不純物については、原薬の規格及び試験方法の中に項目を設けて管理する場合の他、工程内管理試験として規格を設定して除去状況を管理する場合があり、工程内管理試験により最終製品での残存量が十分に管理可能とするデータが得られていれば、原薬での規格設定は不要とすることも可能である。さらに精製工程で恒常的に十分に除去されることが示された不純物については、工程内管理試験や原薬における試験が設定されないケースも想定される。精製工程の不純物除去能を明らかにした上で、不純物残存量の管理方法を明らかにする必要がある。抗体医薬品原薬に含まれる可能性のある製造工程由来不純物は、宿主細胞由来タンパク質及び DNA、アフィニティーカラムの担体として用いられるプロテイン A、BSA 等の血清成分、培地成分、MTX 等の添加物等である。また無血清培養技術の進歩により、多くの抗体医薬品の培養に血清を含まない合成培地が使用されているが、このような合成培地であっても生物由来原料から製される添加物を用いる場合は、感染性物質に関する安全性が評価されたものを用いる必要がある。

抗体医薬品の一般的な精製工程は、例えば、プロテイン A アフィニティークロマトグラフィー、低 pH 処理によるウイルス不活化、その他のクロマトグラフィー工程（陽イオン交換クロマトグラフィー、

陰イオン交換クロマトグラフィー等)、ウイルス除去フィルターによるろ過、濃縮工程、最終ろ過等から構成される。抗体医薬品製造においては、多くは無血清培地が使用されているが、細胞培養にウシ血清を用いた場合は、血清由来のウシ IgG と目的物質の分離を考慮する必要がある。

### 3.2.4 ウイルス安全性

動物細胞又はヒト細胞を用いて生産される抗体医薬品では、ICH Q5A ガイドライン「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」(平成 12 年 2 月 22 日付け医薬審第 329 号厚生省医薬安全局審査管理課長通知)にしたがってウイルス安全性評価を実施する。CHO 細胞やマウス骨髄腫細胞を用いた場合は、ICH Q5A ガイドラインのケース B (げっ歯類のレトロウイルス (又は、げっ歯類の A 型粒子及び R 型粒子のような非病原性であるとされているレトロウイルス様粒子) のみが細胞又は未加工/未精製バルク中に存在するケース) に相当すると考えられる。この場合、実施すべき試験は、細胞株における内在性ウイルス試験及び外来性ウイルス試験、未加工・未精製バルクにおける外来性ウイルス試験、精製工程に関するウイルスクリアランスの工程評価試験及び工程特性解析試験である。

#### 3.2.4.1. 細胞株のウイルス安全性評価

MCB、WCB、及び医薬品製造のために *in vitro* 細胞齢の上限にまで培養された細胞 (CAL: Cells At the Limit of *in vitro* cell age used for production) についてウイルス安全性評価を実施する。

#### 3.2.4.2. ウイルスクリアランスの工程評価及び工程特性解析

3.2.3.2. で述べた抗体医薬品で一般に用いられる精製工程のうち、ウイルススクリアランスに関して評価対象とされる工程は、主として、プロテイン A アフィニティークロマトグラフィー及びそれに続く低 pH 処理、ウイルス除去フィルターによるろ過であり、これに加えて陰イオン交換クロマトグラフィーでウイルススクリアランス能が評価されることが多い。ウイルススクリアランス工程として設定した工程は、重要工程とすべきである。CHO 細胞やマウス骨髄腫細胞を用いた場合に、工程評価試験に使用される特異的モデルウイルスとしては、マウス白血病ウイルス (Murine Leukemia Virus) 等がある。

各工程のウイルススクリアランス指数を総計することにより、製造工程全体のウイルススクリアランス能を評価するが、求められる総ウイルススクリアランス値について明確な基準があるわけではない。総ウイルススクリアランス値よりも、それぞれの工程の頑健性やウイルススクリアランスの機構 (除去/不活化) が重要である。可能であれば 2 つ以上のウイルススクリアランス工程を採用し、そのうち少なくとも 1 つはウイルススクリアランス能に関して頑健性のある工程であることが望ましい。

前述したようにアフィニティークロマトグラフィー工程と低 pH 処理工程をウイルス除去と不活化工程として独立して評価可能な場合には、それぞれのウイルススクリアランス値を加算し、総ウイルススクリアランス値に組み入れることが可能であろう。

#### <開発初期段階におけるウイルス安全性評価>

承認申請データとしては製品ごとに十分なウイルス安全性評価を行うことが必要であるが、開発初期段階、すなわち、初期の臨床試験に用いる治験薬の評価に関しては、同一の親細胞から調製した細胞基材を用いる場合等では、セル・バンクの試験において共通の試験が適用できるであろう。また、ウイルススクリアランス工程評価試験の設計に当たっては効率的な試験デザインが可能と考えられる。例えば、

抗体医薬品生産の宿主細胞としてこれまでに十分な使用実績がある CHO 細胞等では、開発初期段階でのウイルス安全性試験に対して自社における他の抗体医薬品の開発経験を活用する等、合理的な対応が可能なケースも想定される。また、プロテイン A クロマトグラフィー工程やウイルス除去フィルターによるろ過工程等における抗体濃度や緩衝液系等の設定について、共通化が可能な場合が多いと考えられる。文献や開発から得られた経験から、ウイルスクリアランス能を期待できる製造工程については、開発初期段階の製品において一部のウイルスクリアランス試験が省略できるかもしれない。

一方、タンパク質の大量発現に適した新たな細胞株の開発も進められているが、医薬品生産への応用実績が少ない細胞では、内在性ウイルスの評価等、開発初期段階から安全性確保のための十分な検討が必要である。

### 3.2.5. プロセス・コントロール

製造のプロセス・コントロールとしては、操作パラメータの管理と工程内管理試験（適否の判定基準又は処置基準で管理する試験）等が含まれる。また、プロセス・パラメータのモニタリングを行うことで、製造実績を重ねる中で、製造工程の恒常性について有用な情報が得られる場合がある。これらに加えて、汚染物質の混入に対する防止策を講ずるとともに、必要に応じて、適切な段階での混入汚染物質に対する工程内管理試験又はモニタリングを設定する。

### 3.2.6. 製法変更

バイオ医薬品の開発段階では、製造工程の改良やスケールアップのため、製法変更が実施されることが少なくない。特に抗体医薬品の場合には、開発過程でヒト抗体産生ハイブリドーマから遺伝子組換え細胞に細胞基材が変更されるケースもあることや、大量生産が必要であること等の理由により、製法変更が繰り返される場合が多い。製法が変更された場合、旧製法で製造された製品を用いて得られた非臨床・臨床試験データを、新製法製品でのデータとして用いるため、製法変更前後での品質の同等性／同質性評価が必要である。また、バイオ医薬品製造に関する最新技術の採用や、感染性物質に関する新たな情報等から、承認後にも製法が変更されることがある。この場合も、製法変更前後の製品に関して同等性／同質性評価が必要である。同等性／同質性評価は、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もなう同等性／同質性評価」（平成 17 年 4 月 20 日付け薬食審査発第 0426001 号厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知）にしたがって実施する。

抗体医薬品の品質の同等性／同質性評価で大きな課題となるのは、目的物質の不均一性や不純物の除去状況である。品質特性の差異が認められた場合、その差異が有効性や安全性にどのような影響を及ぼすかについて、非臨床試験や臨床試験での確認が必要な場合もある。

## 3.3. 特性解析

原薬及び製剤について、ICH Q6B 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）の規格及び試験方法の設定」（平成 13 年 5 月 1 日付医薬審発第 571 号厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知）を参考に特性解析を実施し、構造、物理的・化学的性質、免疫化学的性質、生物学的性質、純度及び不純物を明らかにする。

### 3.3.1. 構造

抗体医薬品の開発においては、モノクローナル抗体の基本骨格構造を念頭に徹底した構造解析を行わなければならない。ヒト抗体は、構成する定常領域の違いにより、IgG、IgD、IgE、IgA、及びIgMの5種類のクラスに分類され、IgG抗体はさらにIgG1、IgG2、IgG3及びIgG4の4つのサブクラスに分類される。IgGの基本構造は、同一H鎖2分子と同一L鎖2分子から構成される4本鎖構造(H<sub>2</sub>L<sub>2</sub>体)である。

抗体医薬品の構造解析では、H鎖及びL鎖について、他のバイオ医薬品と同様に、アミノ酸組成及びアミノ酸配列、N末端及びC末端アミノ酸配列、ペプチドマップ、スルフヒドリル基及びジスルフィド結合、並びに糖鎖構造を明らかにする。また、N末端及びC末端アミノ酸配列のプロセッシングの程度、Fc領域以外にも糖鎖が結合する場合には糖鎖の結合位置の解析等も必要となるであろう。細胞傷害活性を持つ化合物や放射性同位元素配位性キレート等が共有結合した修飾抗体においては、化合物の結合数及び結合位置を明らかにする。抗体医薬品の高次構造については、現時点での物理的・化学的分析技術では明確に示すことは困難であるとされているが、円二色性分析や示差走査熱量測定等による分析を補助的に用いることも有用である。さらに、製法変更前後における高次構造の同等性評価については、生物活性による評価に置き換えることも可能である。

### 3.3.1.1. アミノ酸組成及びアミノ酸配列

#### 3.3.1.1.1 アミノ酸組成及びアミノ酸配列分析

アミノ酸組成分析及びアミノ酸配列分析は、目的物質のアミノ酸組成及び配列が、目的物質をコードする遺伝子配列から推定されるアミノ酸組成及び配列に一致することを確認するために実施する。抗体のような高分子タンパク質では、アミノ酸組成分析やアミノ酸配列分析に加えて、N末端及びC末端アミノ酸配列分析やペプチドマッピング等の結果を統合して全一次構造を明らかにする。ペプチドマッピングと質量分析法(MS)を組み合わせることにより目的とするアミノ酸配列を確認することも可能である。

#### 3.3.1.1.2. N末端及びC末端アミノ酸、N末端及びC末端アミノ酸配列

末端アミノ酸分析は、N末端及びC末端アミノ酸の種類及び不均一性の確認のために行う。目的物質をコードする遺伝子配列から推定される末端アミノ酸配列と比較して不均一性が認められた場合は、各分子体の割合を適切な分析方法により測定しておくべきである。抗体医薬品のH鎖N末端はグルタミンやグルタミン酸残基であることが多い。MSを用いたペプチドマッピング等を用いて、ピログルタミン酸の形成の有無を確認し、ピログルタミン酸の形成が確認された場合は、その割合を求める。また、ほとんどの抗体医薬品において、H鎖C末端のリシンの大部分は欠失しており、C末端アミノ酸の不均一性を確認する必要がある。

#### 3.3.1.1.3. ペプチドマップ

ペプチドマッピングは、タンパク質性医薬品のアミノ酸配列を確認することを目的とした特性解析法の一つである。通常、ジスルフィド結合を還元アルキル化した後、トリプシン等で消化し、生じたペプチド断片を逆相HPLCにより分離・回収する。各ペプチドのアミノ酸組成をMSにより、又は、アミノ酸配列をタンデム質量分析(MS/MS)やエドマン分解により確認し、目的物質のアミノ酸配列が遺伝子配列から推定されるアミノ酸配列に一致することを確認する。液体クロマトグラフィー質量分析(LC/MS)を用いたペプチドマッピングにより、N末端及びC末端アミノ酸配列の不均一性、ジスルフィド結合、



糖鎖の結合位置と糖鎖構造、人為的修飾、並びに分子変化体の解析を同時に行うことができる。

### 3.3.1.2. スルフヒドリル基及びジスルフィド結合

IgG は L 鎖内、H 鎖内、L 鎖-H 鎖間、及び H 鎖間に複数のジスルフィド結合を持つ。スルフヒドリル基及びジスルフィド結合解析は、それぞれジスルフィド結合していないチオール基の割合を明らかにすること、及び目的とするジスルフィド結合が形成されていることを確認するために実施する。スルフヒドリル基は、5、5'-ジチオビス (2-ニトロ安息香酸) (DTNB 試薬) を用いた比色定量法 (エルマン反応) 等によって定量することができる。ジスルフィド結合は、例えば、還元アルキル化処理された抗体及び非還元抗体をトリプシン等で消化した後、LC/MS を用いたペプチドマッピングを行い確認する。

IgG 骨格を持つ抗体の中でも IgG2 サブクラスでは、ヒンジ領域、CH1 領域、及び CL 領域のシステイン間で形成されるジスルフィド結合に不均一性が存在することが知られているため、不均一性の有無についても注意を払う必要がある。IgG3 のヒンジ領域には 11 箇所のジスルフィド結合があるため、IgG3 骨格を持つ抗体医薬品を開発する場合にも、ジスルフィド結合の不均一性には注意を要する。また、非改変型のヒンジ領域を持つヒト IgG4 では、H 鎖間のジスルフィド結合が切断された抗体 (半量体: HL 体) が生じる可能性があるため、原薬中の HL 体の割合を明らかにする。

### 3.3.1.3. 糖鎖

抗体医薬品の多くは糖タンパク質である。IgG を基本骨格とするモノクローナル抗体では、通常、H 鎖の CH2 ドメインの 1 箇所に共通して N 結合型糖鎖が結合している (コンセンサス糖鎖)。コンセンサス糖鎖の基本構造は、ガラクトースが 0~2 分子結合したフコシル 2 本鎖糖鎖 (慣用的に G0~G2 と呼ばれる) である。このコンセンサス糖鎖の有無を確認した上で、結合糖鎖の構造と各糖鎖の結合の割合を明らかにする必要がある。特に、抗体依存性細胞性細胞傷害 (Antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity ; ADCC) 活性又は補体依存性細胞傷害 (complement-dependent cytotoxicity ; CDC) 活性を利用している抗体医薬品では、それぞれ N 結合型糖鎖のトリマンノシルコア部分に  $\alpha$ 1-6 結合しているフコース又は非還元末端ガラクトースがその細胞傷害活性等を制御することが知られていることから、糖鎖構造が ADCC 活性や CDC 活性に及ぼす影響についても様々な角度から検討すべきである。また、可能であれば抗体の糖鎖構造と体内動態の関連を明らかにしておくことも有用である。

可変部に N 結合型糖鎖のコンセンサス配列 (Asn-Xaa-Ser/Thr ; Xaa は Pro 以外のアミノ酸残基) が存在する場合、N 結合型糖鎖が結合している可能性があるため、糖鎖の有無を確認する。可変部の糖鎖構造は G0~G2 とは異なる場合も多く、糖鎖構造の詳細と主な糖鎖の不均一性について明らかにする必要がある。抗体医薬品では他のバイオ医薬品と比較して投与量が多いことや、細胞基材によっては非ヒト型糖鎖含量が従来より多くなる可能性も考えられることから、非ヒト型糖鎖を持つ糖鎖が結合している場合は、その割合を明らかにするとともに、安全性への影響を考慮すべきであろう。動物細胞で生産される遺伝子組換えタンパク質に付加される非ヒト型糖鎖としては Gal $\alpha$ 1-3Gal や NeuGc が知られており、Gal $\alpha$ 1-3Gal については抗体医薬品投与時のアナフィラキシー発症との関連が報告された例がある。

抗体の糖鎖解析法として、単糖に加水分解して分析する方法 (単糖組成分析)、糖鎖を酵素等で切り出して分析する方法 (オリゴ糖分析)、トリプシン等で糖ペプチドとして分析する方法 (糖ペプチド解析) 及び糖タンパク質のまま解析する方法 (グリコフォーム分析) 等が適用可能であろう。Fc 部分のコンセンサス糖鎖については、これまでシアル酸の結合による生物活性への影響についてはあまり知られ

ていない。一方、Fc 部分 (CH2 ドメイン) のコンセンサス糖鎖以外に糖鎖結合を持つ場合、シアル酸が体内動態に影響を与える可能性もあり、シアル酸を含む糖鎖についての解析を実施することが有用であると考えられる。

#### 3.3.1.4. 人為的修飾

放射性同位元素を配位させるためのキレート化合物、細胞傷害活性を有する化合物、ポリエチレングリコール等の高分子等、修飾剤を共有結合させた修飾抗体では、修飾剤の結合数と結合位置を明らかにする。また、非修飾抗体や遊離した修飾剤の含量等も明らかにする。修飾剤の結合数と結合位置の解析には、修飾抗体のペプチドマップと未修飾抗体のペプチドマップの比較が有用である。

### 3.3.2. 物理的・化学的性質

分子量・分子サイズ、アイソフォームパターン、電気泳動パターン、液体クロマトグラフィーパターン、及び分光学的性質を明らかにする。物理的・化学的性質の解析は、目的物質の不均一性を含む物性を明らかにし、品質の恒常性を評価する上で重要である。抗体医薬品において不均一性が存在する要因として、凝集、断片化、N 末端グルタミン又はグルタミン酸残基のピログルタミン酸形成、H 鎖 C 末端リシン残基の欠失、アスパラギン酸残基の異性化、アスパラギンの脱アミド化、メチオニン残基の酸化、ジスルフィド結合異性体等のポリペプチド鎖上に生じた分子変化 (分子変異体の存在)、糖鎖の不均一性等が知られている。

#### 3.3.2.1. 質量スペクトル

目的物質の質量を測定する他、質量が異なる分子変異体や糖鎖構造の異なる分子を識別することが可能である。抗体医薬品を非還元状態で測定する場合、分子量が大きいため同位体の存在によりイオンピークがブロードになるが、C 末端リシンの脱離 (128Da)、糖鎖のガラクトース残基数 (162Da) の違いによる分子種の違いを識別できる。

#### 3.3.2.2. 電気泳動パターン

分子量の違いで分子種を分離する SDS ポリアクリルアミド電気泳動 (SDS-PAGE) 及びキャピラリーゲル電気泳動と、等電点の違いにより分離する等電点電気泳動及びキャピラリー等電点電気泳動がある。

還元条件下で IgG の SDS-PAGE を行うと、50~60kDa に H 鎖、25~30kDa に L 鎖が検出される。非還元条件下で行った場合は 150~200kDa に目的とする 4 本鎖構造を持つ抗体 (H<sub>2</sub>L<sub>2</sub> 体) が検出される他に、凝集体、断片、半量体 (HL 体)、及びジスルフィド結合の誤りによって生じた分子が検出される。

抗体医薬品の等電点電気泳動及びキャピラリー等電点電気泳動では、C 末端リシン残基の有無、脱アミド体、及びシアル酸結合数等の違いによって生じたアイソフォームが分離される。後述するイオン交換 HPLC を用いて分析した結果を含め、分子の荷電からみた不均一性について明らかにすべきである。

#### 3.3.2.3. 液体クロマトグラフィーパターン

目的物質の不均一性や、目的物質の分子変化体の構造及び割合を明らかにするため、必要に応じて下記のようなクロマトグラフィーを用いた分析を行う。

#### 3.3.2.3.1. サイズ排除クロマトグラフィー

2 量体及び多量体の存在を確認する。H 鎖及び L 鎖の単鎖の存在、Fab 断片又は Fc 断片など分解物の測定にも利用できる。

#### 3.3.2.3.2. イオン交換クロマトグラフィー

脱アミド体、一方又は両方の H 鎖 C 末端リシン欠失体、一方又は両方の H 鎖の N 末がグルタミン酸残基であるもの、シアル酸付加体、H 鎖断片、L 鎖断片、Fab 断片及び Fc 断片等の検出が可能である。還元体、非還元体でそれぞれ分析するが、非還元体の分析で十分な情報が得られる場合は、還元体の分析が必須ではない場合もある。検出したピークの構造を可能な範囲で MS 等により明らかにする。

#### 3.3.2.3.3. 疎水性クロマトグラフィー

例えば、抗体をパパインで切断すると定常部のヒスチジンとスレオニン残基間が切断され、2 分子の Fab 断片と 1 分子の Fc 断片が生じる。これを疎水性 HPLC 等で分析すると、遊離システインの存在、メチオニン等の酸化や一部アミノ酸の変化(例:アスパラギン酸の異性化)等を確認することができる。

### 3.3.3. 生物学的性質

抗体医薬品の生物活性は品目ごとに異なり、i) 抗原の作用や抗原を介した生体内反応を抑制又は促進するもの、ii) 抗原結合能に加えて ADCC 活性や CDC 活性を持つもの、iii) 薬理作用を持つ化合物を結合させた抗体のように、抗原を発現している細胞に取り込まれ、細胞内で解離した化合物が作用するもの等がある。期待される効能効果を反映した生物活性を測定するためにどのような生物学的試験が有用であるかは、臨床効果やその分子機構を考慮して明らかにする必要がある。一般に、抗体医薬品の生物学的試験として、抗原との結合特性及び機能的特性を明らかにする試験の実施が必要である。抗原との結合性は抗体医薬品の免疫化学的性質でもあるが、抗体医薬品の作用の起点となる性質であるため、生物活性の一つとして結合特性を明らかにすることは有用である。

生物活性を定量的に表す尺度は「力価」であり、「単位」で表される。抗体医薬品では標準品が存在しないケースが殆どであると考えられることから、特性解析した自家標準物質を確立しておき、試験結果は自家単位で表示する。抗体医薬品原薬の生物活性は、物質あたり力価(例えば、単位/mg)、又は標準物質の活性と比較した相対力価(%)で表される。

#### 3.3.3.1. 結合特性

抗体医薬品の結合特性として明らかにすべき主な事項は、標的抗原に対する結合親和性、抗体が認識するエピトープ、抗原と類似したタンパク質(抗原と構造の類似した分子や動物における相同タンパク質)に対する交差反応性である。標的分子との結合特性解析には、エンザイムイムノアッセイ(Enzyme-Linked Immunosorbent Assay : ELISA) や表面プラズモン共鳴(Surface Plasmon Resonance : SPR) 解析が汎用される。SPR 解析では、結合親和性(解離定数)の他、結合速度定数と解離速度定数を明らかにすることができる。

ヒト細胞や組織に対する結合性を解析することにより、意図しない薬理作用や有害作用発現の可能性を考慮することができるため、特性解析においても、免疫組織学的手法を用いて結合の特異性や交差反応性を明らかにしておくことが有用である。

### 3.3.3.2. 機能的特性

抗体の結合により生じる生体反応の変化は、抗体が結合する抗原上の部位や特異性等により異なる。そのため特性解析では、結合特性の評価と共に、抗原又はその受容体を発現している細胞や動物を用いて、抗原が関わる生体反応に対する抗体の作用、すなわち、抗体の機能的特性を評価する。例えば、細胞増殖を促進するサイトカイン又はその受容体を抗原とする抗体医薬品では、サイトカインによる細胞増殖を抑制する活性を評価し、ウイルス表面タンパク質に結合する抗体医薬品では、ウイルスによる細胞変性を抑制する活性を評価する。また、エフェクター分子を介した細胞傷害活性を期待する抗体医薬品では、ADCC 活性、又は CDC 活性を評価する。

### 3.3.4. 不純物

バイオ医薬品の製造過程では、細胞内や培養液中で生じる酵素反応や物理化学的相互作用等により、目的物質の分子変化体が生成する。抗体医薬品における目的物質の分子変化体としては、凝集体、切断体、糖鎖非修飾体、グリケーション体、ジスルフィド結合形成不全体、シグナルペプチド残存体、H 鎖 C 末端リシン欠失体、メチオニン残基の酸化体、アスパラギンの脱アミド体、アスパラギン酸残基の異性化体等が知られている。特性解析においては、構造及び物理化学的性質の解析において検出されたこれらの分子変化体について、クロマトグラフィー等による分取と活性測定が可能であれば、目的物質に匹敵する品質特性を持つ目的物質関連物質であるか、目的物質に匹敵する品質特性を持たない目的物質由来不純物であるかの区別とその割合を明らかにする。

また、バイオ医薬品の原薬中には宿主細胞や培養及び精製工程に由来する不純物が存在し、これらは製造工程由来不純物とされる。動物細胞を用いて製造される抗体医薬品原薬に含まれる可能性のある製造工程由来不純物には、宿主細胞由来タンパク質、DNA、プロテイン A、BSA 等の血清成分、培地成分、培地添加物等がある。製造工程中の試料又は原薬について、存在が想定される製造工程由来不純物の含量をそれぞれ測定する。

## 3.4. 規格及び試験方法

臨床試験に用いられたロットと同等の品質を有する製品が恒常的に供給されるよう、規格及び試験方法を設定する。規格及び試験方法は、試験項目、用いる分析法、及びその方法で試験したときの規格値／適否の判定基準を示したものであり、ICH Q6B ガイドラインにしたがって、外観・性状、確認試験、純度と不純物、力価、物質質量等に関して設定する。

### 3.4.1. 確認試験

確認試験は目的物質が得られていることを確認するための試験であり、高い特異性が求められる。抗体医薬品では、ペプチドマップ、クロマトグラフィーにおける保持時間、電気泳動パターン等を標準物質と比較して、目的物質と構造及び物理化学的性質が一致することを確認する試験が設定されることが多い。

抗体医薬品は製品間で構造の類似性が高いことから、一つの製造施設で複数の抗体医薬品を製造している場合は設備を専用化する等、交叉汚染防止策を施すことが重要である。設備を共有する場合には、特に、それぞれの抗体医薬品を区別可能な確認試験を設定すること等により、他の抗体医薬品の交叉汚染がないことを確認することが望ましい。