

平成25年度班会議開催

第1回 (12月17日)

「治療用ペプチドワクチンのための非臨床安全性試験に関するコンシダレーションペーパー」投稿に向けた議論他

協力研究者 真木一茂 (PMDA)
小松真一 (グラクソ・スミスクライン)
土本まゆみ (サノフィ)
松井元 (化学及血清療法研究所)

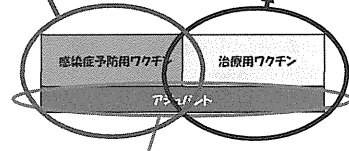
オブザーバー 小野寺博志 (PMDA)
笛木修 (PMDA)
甘粕晃平 (PMDA)
澤田純一 (PMDA)
渡部一人 (中外製薬)
中村和市 (塩野義製薬)



平成26年度に意図している活動内容

③ WHO ガイドラインにおいて十分規定されていないと考えられる問題点の抽出、吟味検討、並びに論文刊行

② 治療用ペプチドワクチンの非臨床安全性試験に関するコンシダレーションペーパー掲載作業(続き)



① 「わが国の薬事上の取扱いにおけるアジュバントの位置付けについての問題」検討

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
医薬品の品質、有効性及び安全性確保のための規制の国際調和の推進に係わる研究
平成 25 年度大野班（旧山口班）研究班会議 議事次第

開催日時：平成 26 年 2 月 24 日（月）15:00～17:00

開催場所：国立医薬品食品衛生研究所・28 号館 1 階セミナー室

出席者【敬称略】：

国立医薬品食品衛生研究所	研究代表者	大野 泰雄
国立医薬品食品衛生研究所	研究分担者	西川 秋佳
国立医薬品食品衛生研究所	研究分担者	山口 照英
国立医薬品食品衛生研究所	研究分担者	川西 徹
国立医薬品食品衛生研究所	研究分担者	川崎 ナナ
国立医薬品食品衛生研究所	研究分担者	新見 伸吾
国立医薬品食品衛生研究所	研究分担者	香取 典子
国立医薬品食品衛生研究所	研究分担者	内田恵理子
国立医薬品食品衛生研究所	研究分担者	石井 明子

議 事

1. はじめに（大野泰雄、山口照英）
2. 研究報告（発表時間：各自質疑を含み 15 分以内）
 - 1) 遺伝子治療用医薬品等の規制に関する研究（山口照英）
 - 2) バイオ医薬品の工程開発・管理並びに規格及び試験法に関する研究（川崎ナナ）
 - 3) バイオ後続品の評価に関する研究（石井明子）
 - 4) バイオ医薬品の目的物質由来不純物が免疫原性に及ぼす作用に関する研究（新見伸吾）
 - 5) 先端バイオ医薬品規制に関する研究（内田恵理子）
 - 6) 医薬品一般試験法に関する研究（川西 徹）
 - 7) バイオアナリシス（生体試料分析）バリデーションに関する研究（香取典子）
 - 8) 総合討論
3. 平成 26 年度研究計画（西川秋佳）
4. その他

配付資料

- 資料 1：平成 25 年度班会議議事次第
- 資料 2：平成 24 年度中間事後評価結果
- 資料 3：平成 25 年度交付申請書
- 資料 4：平成 26 年度研究計画書
- 資料 5：研究報告資料

（※発表内容を研究報告書に盛り込みます。2 月 25 日迄に、PPT ファイルを山口までメール送付下さい。）

●平成25年度国際動向
遺伝子治療薬に関する国際動向研究
 EUで承認されたGlyberaと承認されなかった2つの
 遺伝子治療薬の非臨床試験の比較

RF GT DG活動

山口照英

RF GT DG 活動

- ICH活動の一環としての位置づけ
- 各国の規制当局 (MHLW/PMDA, FDA, EMA, Health Canada, Swiss Medic, HSA, MFDS他)
- 定期的なテレカン(4回/年)
- Face-to-Face meeting (1回/年の予定) H26年度は ISGCTにあわせて開催が検討中
- 各国の規制上の違いや新たな規制上の動きについて情報共有
- Glyberaの審査(EMA). iPS臨床研究の進捗(日本、EMA). CAR-T細胞遺伝子治療薬の動向(FDA, HSA)

EUに承認申請された遺伝子治療薬

	判断	ベクター	遺伝子	対象疾患
Glybera	承認	AAV1	LPL	LPL-
Contusogene Ladenovec Gendux	非承認	Ad5	HSV-Tk	悪性グリオーマ
Cerepro	非承認	Ad5	p53	頸頭部がん

1. 遺伝子治療薬で有効性を示す臨床試験結果が次々と発表
2. 先進国で遺伝子治療薬の承認を受けたのはGlyberaのみ
3. 1と2を考えると有望な臨床効果を持つ遺伝子治療薬医薬品開発に結びつけるために越えなければならないハードルが存在
4. 遺伝子治療薬の開発では治験に入るための品質や非臨床データが非常に重要
5. 非臨床試験でどのような評価がされているかを解析

Cerepro® (sitimagene ceradenovec)

- Cereproはアデノウイルス5型のE1領域とE3領域の一部を欠損させて、HSV-tk遺伝子を導入
- Cereproが導入された悪性グリオーマでHSV-tkが発現されると、ガンシクロビル投与によりガンシクロビルリン酸に代謝され、これが細胞毒性を発揮してグリオーマの死滅を引き起こす
- 対照疾患: 悪性グリオーマを対象
- Following the standard surgery to remove the solid tumour mass, Cerepro® is injected through the wall of the cavity left behind by the surgical removal of the solid tumour, into the surrounding healthy brain tissue using 30-70 injections at a depth of 1cm. In the following days, the healthy cells in the wall of the cavity express TK. Five days after surgery, the drug ganciclovir ("GCV") is given to the patient as part of the overall Cerepro® treatment regimen. Neither TK nor GCV is individually active but they react together to produce a substance which destroys cells when they try to divide.

CereproのPOCに関する評価

- 動物モデルで、Cereproの有効性が十分説明されていない
- 科学的にはHSV-tkを発現している細胞ではガンシクロビル投与により細胞死を導くことが理解できる
- 手術でグリオーマを除去した後に残存している個々のグリオーマの全てに非増殖性のアデノウイルスベクターが到達できるか不明
- 申請者が提唱しているバイスタンダー効果についても明確な実証はない

Cereproの安全性に関する評価

- 毒性試験では単回投与試験のみで、投与量も限定的
 - マウス脳内に投与可能な量が限られているため
- 反復投与毒性試験は手技的に実施が困難
- ワーストシナリオを評価する目的で、静脈内投与を実施
- 試験の実施が困難な面はやむを得ないとしながらも十分な安全性評価が行われているとはいえない

Contusugene ladenovec Gendux (Advexin)

Contusugene Ladenovec Gendux

- がん抑制遺伝子p53を発現するアデノウイルスベクター
- HEK293細胞で製造され、E1領域を欠損、CMVプロモーター、SV-40ポリAシグナル

•対象疾患: 頸頭部再発扁平上皮がん

Advexin is an adenoviral p53 gene therapy system being developed for adults with head and neck cancer. The p53 gene, a tumour suppressor gene, protects cells from becoming cancerous. Contusugene ladenovec combines the p53 tumour suppressor with a non-replicating, non-integrating adenoviral delivery system.

AdvexinのPOCに関する試験

Contusugene Ladenovec Gendux

- 腫瘍細胞の増殖を抑制する効果は見られたが腫瘍抑制効果とまではいえなかった
- 臨床投与量よりもはるかに高い用量を担がんヌードマウスへ単独で投与すると効果が認められたが、いくつかの問題点が指摘された
- cisplatin, cyclophosphamide, doxorubicin, docetaxel, 5-FUとの併用療法で抗腫瘍効果が確認
- 対象とするp53を搭載していないベクターでも抗腫瘍効果が認められた
- RCAでも抗腫瘍効果が認められたが再現性に難点

Advexinの非臨床安全性試験

Contusugene Ladenovec Gendux

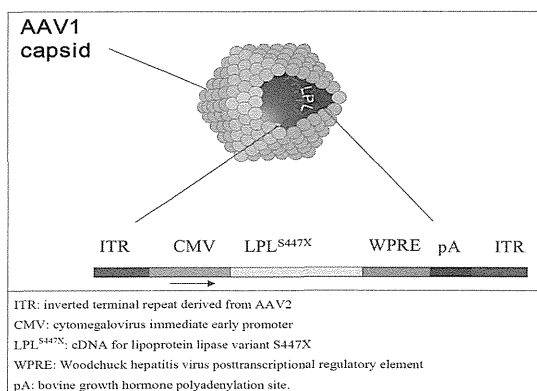
増殖性アデノウイルスに関する試験から、増殖性ウイルスの残存

- 正常マウス及びラットを用いて実施されている。ワーストシナリオとして、皮下投与が採用されており、コアバッテリー器官に対する影響が慎重に観察されている。これらの結果から、NOELレンジは臨床投与量の1/100と推定されている
- 反復投与毒性試験も実施されているが、投与量や投与回数に関して十分な評価データではない
- 細胞傷害作用としてリンパ球の低下が認められた
- 安全性面では一定の評価

Glybera

- ヒトLipoprotein lipaseを発現するアデノ随伴ウイルス (AAV)、CMVのプロモータとヒト成長ホルモンポリAを持つ
- 3×10^{12} genome copies /mL
- 不溶性微粒子試験
- バキュロウイルスシステムを用いたベクター製造 (AMT011)
- 開発過程ではHEK293にplasmidを導入して製造されたAAVベクターが用いられた (AMT010)
- 製法変更に伴う同等性評価で、AMT011はAMT010に比べLPLの細胞内での発現が1/4(この差異があってもAMT010のデータは評価可能)

Glyberaの構造模式図



GlyberaのPOCを示唆する試験

- モデル動物: マウス、ネコ
- LPL欠損マウス (Tg):
 - 総コレステロールの増加、HDL量の低下、急性肺炎症状は見られない。
 - 生後24時間以上生存不能→LPL-Adベクターの投与により生存可能にした
 - LPL-AdでレスキューすることによりヒトLPLに対して免疫寛容
 - AMT010投与により血中トリグリセリドの低下が確認、52週ではLDLの発現量はLDL-Adだけを導入した対照群と同程度血中トリグリセリド低減効果は保持
 - 脂肪投与し高脂血症にしたLPL-/-マウスにAMT-010投与により改善
- LPL欠損ネコ(自然発症):
 - 黄色腫、網膜高脂血症、さらに重篤な肺炎も発症、高トリグリセリド血症
 - AMT-010投与により重篤なトリグリセリド血症が3-4日で改善
- PDマーカー: 血中トリグリセリドの低下作用

Glyberaの非臨床安全性試験

- 生体内分布;ネズミ、ネコ、ウサギを用いて生体内分布、持続性、排出試験が実施
 - ベクターは投与された筋肉以外に血中及び他の組織にも分布(筋肉、肝臓、脾臓、鼠径部);ネコでは精巣、肝臓、精子内にも検出
- 毒性試験;正常マウス
 - 筋肉内及び静脈内単回投与(180日)
- 遺伝毒性;実施せず
- 挿入変異と造腫瘍性
- 挿入変異;B1-PCR、RAIC-PCR、LAM-PCR、LAM-PCRと次世代シーケンズ配列解析
 - AAVは主としてエピゾーマルに存在し、染色体挿入に確立は2%以下
- がん原性;実施せず
- WPRE配列のリスク
 - HBVのHBxと同様のリスクが存在するか検討→低リスク
- 生殖発生毒性
- 水平伝播リスクを評価、同居試験で陰性
- 妊娠マウスを用いた検討では全て陰性

Glyberaの非臨床試験評価

- 有効性を示唆する試験では高トリグリセリド血漿の長期(1年)に亘る改善が認められた。LPL-Ad Tgマウスを用いた検討の意義
- いくつかの試験で解明されていない懸念が存在するものの、現時点の科学ではこれ以上の解析は困難との判断
- 非承認であった他の遺伝子治療薬に比べ非臨床試験POC及び安全性データが充実。挿入変異のリスク等についての議論。



医薬品の品質、有効性及び安全性確保のための規制の
国際調和の推進に係わる研究 (H24-医薬-指定-026)

バイオ医薬品の工程開発・管理, 並びに, 規格及び試験方法に関する研究

バイオ医薬品開発と製造における
糖鎖と宿主由来タンパク質 (HCP)の評価・管理に関する課題

分担研究者 川崎ナナ

1. 糖鎖 協力研究者 橋井則貴
2. HCP 協力研究者 日向昌司

1

1. 糖鎖管理の課題

- 糖鎖は不均一である.
- ICH Q11 QbDに関連して, 血中安定性を考慮した糖鎖の規格設定の必要性が唱えられている
- 血中半減期と糖鎖構造の関係を明らかにすることは困難
 - バイオアナリシスでは血中薬物濃度を測定しているだけであり, 糖鎖の変化までは追えない
- 血中の糖鎖構造を経時的に解析する方法が必要

2

血中で安定な糖鎖の解析

昨年

- 質量分析により血中抗体医薬品のグリコフォームを解析することを目的に, 血漿から抗体を回収する方法を検討
- 抗TNF α 抗体親和性ペプチドを作成
- 血中ゴリムマブを回収し, MSによるグリコフォーム解析に成功

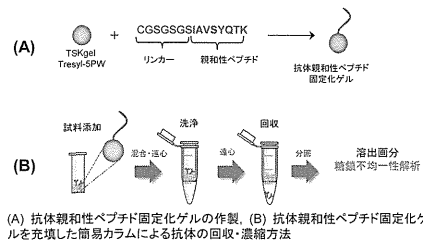


今年度

- 抗体親和性ペプチドの応用可能性と特異性を評価

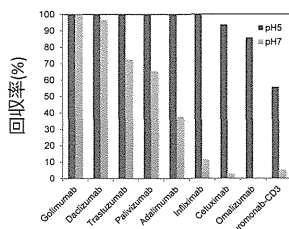
3

抗体親和性ペプチド固定化ゲルと 簡易カラムの作成



4

抗体親和性カラムを用いた抗体医薬品の回収

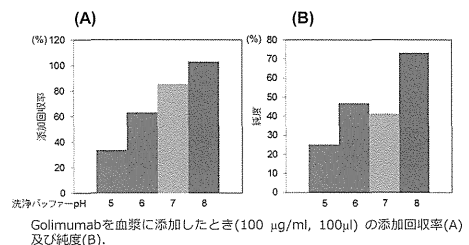


pH 5では多くの抗体医薬品が吸着される

サンプル, 抗体100 μ g; 溶出バッファー, 0.1% (w/v) n-オクチルグルコシド添加 PBS; 回収率は, 未吸着画分, 洗浄画分, 及び溶出画分のSDS-PAGEにより得られたバンドの総体積に対する溶出画分のバンドの体積の比率(%)として算出した.

5

ゴリムマブ添加回収率及び純度



pH8では, ゴリムマブが高選択的・高回収率で回収される

6

分担研究課題

バイオ後続品の評価に関する研究

分担研究者 生物薬品部 第二室 石井明子
 協力研究者 生物薬品部 第二室 西村和子

H24 バイオ後続品に関するガイドラインの国際比較



H25 研究の進捗状況

1. バイオ後続品製品開発とガイドライン策定・改訂に関する国際的動向調査、ならびに、品質安全性確保に関する考察を継続。
2. バイオ後続品の評価において体内動態の評価が重要となることを踏まえ、国内で既に承認されたペプチド及びタンパク質医薬品の生体試料中薬物濃度分析法の現状と課題を整理した。

H25 学会発表等

- 1) 石井明子: バイオ後続品/バイオシミラーに関する国内外の規制動向と開発の課題 第19回 代々木会特別講演会 (2013.5)
- 2) 石井明子, 西村和子, 鈴木琢雄, 多田 稔, 川崎ナナ: ペプチド及びタンパク質医薬品のバイオアナリシス 日本薬物動態学会 第28回年会 (2013.10)
- 3) A. Ishii, K. Nishimura, N. Kawasaki: Regulated bioanalysis of therapeutic peptides and proteins in Japan Immunogenicity summit 2013 (2013.11) (Washington DC)

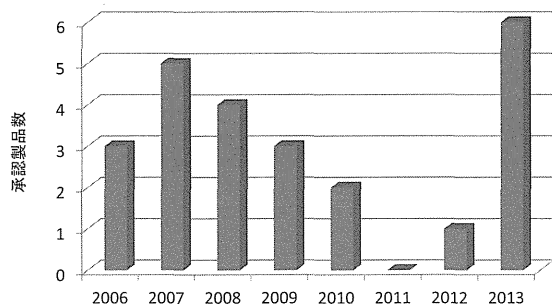
報告事項

1. 2013年バイオ後続品製品開発とガイドライン策定の国際的動向
2. ペプチド及びタンパク質医薬品の生体試料中薬物濃度分析法の現状と課題

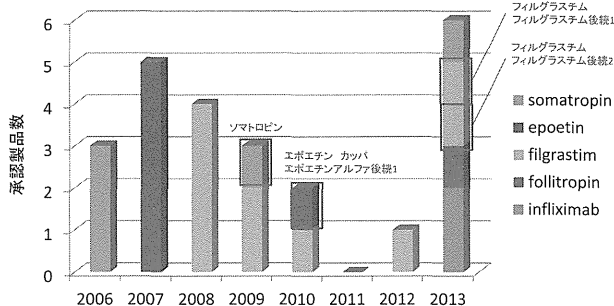
日米欧で承認されたバイオ後続品

一般名	参照品 商品名	バイオ後続品/バイオシミラー 商品名	開発企業	承認年	承認国	日本
糖尿病						
insulin glargine	Lantus		Sanofi-Aventis	申請中	-	-
成長ホルモン分泌不全低身長症						
somatropin	Genotropin	Omnitrope	Sandoz	2006 <2006>	-	-
somatropin	Humatrope	Valtropin	BioPartners, LG Life	2006 <2007>	-	-
somatropin	Genotropin	Somatropin Biopartners	BioPartners, LG Life	2013	-	-
ソマトロピン	ジェネトロピン	ソマトロピンBS皮下注「サンド」	サンド	-	-	2009
腎性貧血						
epoetin zeta	Eprex/Erypo	Binocrit	Sandoz	2007	-	-
epoetin zeta	Eprex/Erypo	Epoetin alfa Hexal	Hexal Biotech	2007	-	-
エポエチン カップバ [エポエチン アルファ後続1]	Eprex/Erypo	Abseamed	Medicine Arzneimittel	2007	-	-
	Eprex/Erypo	Silapo	Stada Arzneimittel	2007	-	-
	Eprex/Erypo	Redcrit	Hospira	2007	-	-
	エスビー	エポエチン アルファBS注「JCR」	日本ケミカルリサーチ	-	-	2010
がん化学療法による好中球減少症						
filgrastim	Neupogen	Tevagrastim	Teva Generics	2008	-	-
filgrastim	Neupogen	Biograsim	CT Arzneimittel	2008	-	-
filgrastim	Neupogen	Rallograstim	Rationpharm	2008	-	-
filgrastim	Neupogen	Filgrastim Ralopharm	Rationpharm	2008	-	-
filgrastim	Neupogen	Zarzio	Sandoz	2009	-	-
filgrastim	Neupogen	Filgrastim Hexal	Hexal Biotech	2009	-	-
filgrastim	Neupogen	Nvestim	Hospira	2010	-	-
filgrastim	Neupogen	Grastofil	Apotex Europe	2013	-	-
フィルグラスチム [フィルグラスチム後続1]	グラン	フィルグラスチムBS注「モチダ」 両「F」	村田 富士	-	-	2012
フィルグラスチム [フィルグラスチム後続2]	グラン	フィルグラスチムBS注「KK」 両「チバ」	日本化薬、チバ	-	-	2013
フィルグラスチム [フィルグラスチム後続3]	グラン	フィルグラスチムBS注「サンド」	サンド	-	-	2014
排卵誘発						
folitropin alfa	Gonal-F	Ovalap	Teva Pharma	2013	-	-
folitropin alfa	Gonal-F		Merck Serono	申請中	-	-
関節リウマチ						
infliximab	Remicade	Inflectra	Hospira	2013	-	-
インフリキシマブ	レミケード	Remimab	Celltrion	2013	-	-
			日本化薬	2013	-	申請中

日米欧におけるバイオ後続品承認件数の推移



日米欧におけるバイオ後続品承認件数の推移



バイオ後続品/バイオシミラーに関するガイドライン整備の国際動向

	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013
日本									指針
米国									BPCI法 ガイダンス(案) ・BPCI法 Q&A ・Biosimilarity評価 ・品質
欧州	総論								改訂CP → 改訂(案) 品質 → 改訂(案) 非臨床・臨床 → 改訂CP → 改訂(案)
製品別									改訂 改訂CP 改訂(案)
非臨床・臨床									エリスロポエチン インスリン ソマトロピン G-CSF インターフェロンアルファ 抗体医薬品 IFNβ FSH 低分子量 ヘパリン
CP: concept paper									改訂CP → 改訂(案)
その他									WHO カナダ 韓国 インド

第19回 代々木会特別講演会 平成25年5月29日
(新薬開発もやっているジェネリック医薬品メーカー9社の勉強会)

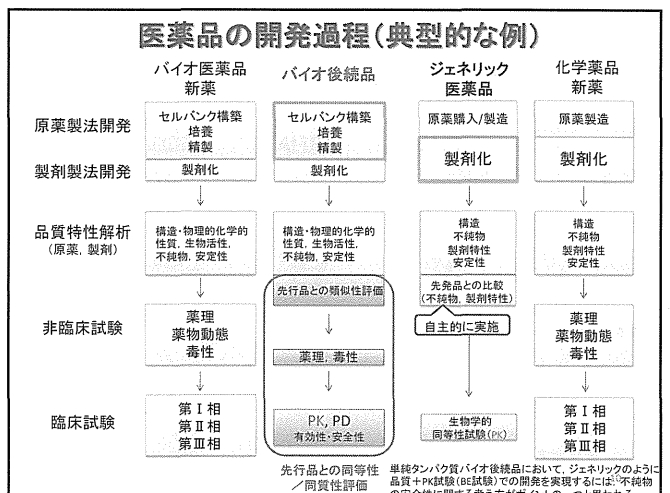
バイオ後続品/バイオシミラーに関する国内外の規制動向と開発の課題

1. バイオ後続品とは
 - ・バイオテクノロジー応用医薬品
 - ・同等性/同質性
 - ・ジェネリック医薬品との違い
 - ・一般的名称
2. バイオ後続品 製品開発と規制の国際動向
3. バイオ後続品 開発の課題
 - ・製法開発
 - ・特性解析, 先行品との品質特性の比較
 - ・品質管理戦略の構築
 - ・非臨床・臨床試験, 安全性

日本のバイオ後続品指針および現状の特徴

- ▶ 海外ガイドラインと概ね同じ方向
- ▶ 参照品を日本承認製品に限定している 海外承認製品の利用可能性
- ▶ 臨床試験における非劣性試験の適用可能性に関する記載がない 臨床試験デザイン
- ▶ 免疫原性評価について、具体的な期間などは明示されていない 免疫原性評価
- ▶ 代替・混用に関する記載があるが、運用実態が不明 市販後の使用
当該(製造販売後)調査期間においては、有害事象のトレーサビリティを確保することが重要であり、先行バイオ医薬品や同種・同効医薬品とバイオ後続品とを、一連の治療期間内に代替又は混用することは基本的に避ける必要がある。
- ▶ バイオ後続品の命名ルールが確立している

指針のアップデートにより規制側が方向を示すことで、バイオ後続品の開発・承認審査の迅速化につながる可能性(国際調和にも近づく?)



バイオ後続品の臨床試験

- ▶ PK試験, PD試験, PK/PD試験, 有効性の比較試験, 安全性の確認を実施
- ▶ PD試験, PK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、有効性に関する臨床試験を省略できる場合がある。省略する場合でも、免疫原性の評価を含む安全性の確認は必要。
- ▶ 事前に同等性/同質性の許容域を設定しておく。生物学的同等性試験のように、ガイドラインにより定められた許容域はない。

PK試験, PD試験
またはPK/PD試験

↓

必要に応じ

有効性比較試験

安全性確認

報告事項

1. 2013年バイオ後続品製品開発とガイドライン策定の国際的動向
2. ペプチド及びタンパク質医薬品の生体試料中薬物濃度分析法の現状と課題

国内で承認されたペプチド及びタンパク質医薬品の生体試料中薬物濃度分析法に関する調査

調査対象

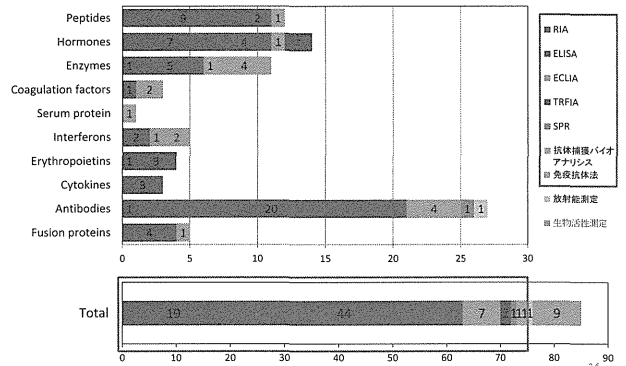
承認品目数	調査対象品目数(2001年～)
ペプチド	11
ホルモン類	13
酵素類	10
血液凝固因子類	3
血清タンパク質	1
インターフェロン類	4
エリスロポエチン類	4
サイトカイン類	3
抗体	23
融合タンパク質	4

調査対象資料:区分

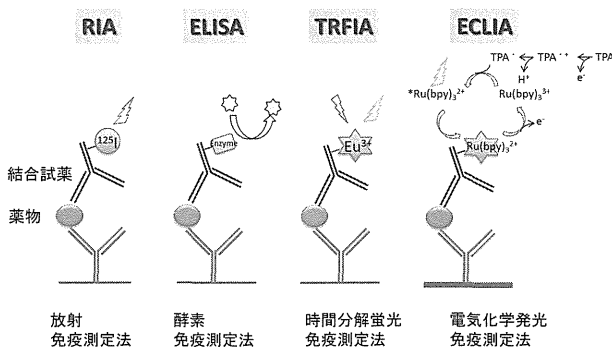
- (1)新有効成分含有医薬品
- (2)新医療用配合剤
- (3)新投与経路医薬品
- (4)新効能医薬品
- (5)新剤形医薬品
- (6)新用量医薬品
- (7)バイオ後続品

調査方法: 医療用医薬品の承認審査情報サイトより申請資料概要及び審査報告書からバイオアナリシスに関する情報を収集 (http://www.info.pmda.go.jp/approvalSrcht/Pharmacy_SrchtInht?) 13

ペプチドおよびタンパク質医薬品の生体試料中濃度分析に使用された測定法



ペプチド及びタンパク質医薬品の生体試料中薬物濃度分析: Ligand Binding Assay (リガンド結合法)



15

リガンド結合法による生体試料中薬物濃度分析

- ・85件の申請データ中、75件がリガンド結合法。(その他はRI,生物活性)
- ・ELISAが最もよく用いられている。
- ・ECLIAが増加傾向(?)
- ・ペプチド医薬品では、RIAが多い。
- ・製品ライフサイクル途中での分析法の変更を避ける傾向?

LC/MS を用いた生体試料中薬物濃度分析

リキシセナチド
分子量 4858.49

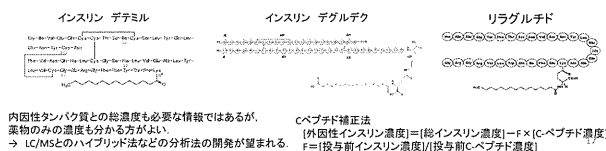
His-Gly-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Leu-Ser-Lys-Gln-Met-Glu-Glu-Glu-Ala-Val-Arg-Leu-Phe-Ile-Glu-Trp-Leu-Lys-Asn-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Ser-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-NH₂

初期の臨床第 I 相の 1 試験で LC/MS による測定が試みられたが、必要な感度が得られず、それ以降は使用されなかった。(審査報告書より、2013年承認。)

16

特異性

医薬品	内因性タンパク質との構造の違い	測定法	内因性タンパク質との交差反応性	内因性タンパク質と外因性タンパク質の判別方法
インスリン アスバルト	1aa	RIA	有(インスリン)	総インスリン濃度を測定し、外因性インスリン濃度をC-ペプチド補正法で算出
インスリン グラルギン	3 aa	RIA	有(インスリン)	
インスリン デテムル	2 aa+側鎖	ELISA	無	
インスリン グルリジン	3 aa	RIA	無	
インスリン デゲルデク	1aa+側鎖	ELISA	無	
リラグルチド	1aa+側鎖	ELISA	有 (GLP-1)	試料を●でプレインキュベーションし、内因性GLP-1を分解
メトレプレテン	1aa	ELISA, RIA	有(レプレテン)	なし



測定法の問題点

項目	医薬品	問題とその対策
標準試料	ベグインターフェロンアルファ-2a	標準試料中のPEG化位置異性体組成の相違が測定値に影響する
平行性	ラニズマブ	臨床検体をELISA法で測定時、連続希釈で直線性が認められない例があった (ECLIA法を開発し、バリテーションを実施して解決)
溶血の影響	インスリンデテムル	赤血球からインスリン分解酵素が放出され薬物濃度が低下
不安定性・マトリックスの影響(選択性)	インスリンデゲルデク インスリンアスバルト	⇒溶血●%超のサンプルは、欠損値として処理
	リラグルチド	溶血したサンプルは高値が認められた ⇒溶血したサンプルの測定値は除外

- ・不均一性の高い薬物では、ロットにより、薬物濃度分析に用いる結合試薬との結合性が異なる場合がある。
- ・平行性の評価が必要な場合がある。マトリックス効果の回避が必要。
- ・溶血の影響評価が必要な場合がある(インスリン類等)。

18

まとめ

バイオ後続品の開発とガイドライン

- バイオ後続品は、開発品目が多様化し、第二フェーズに入っていると言える。
- これまでの経験をもとに、日本の指針を見直すことで、国内のバイオ後続品開発の迅速化につながる可能性が考えられる。

ペプチド及びタンパク質医薬品(バイオ後続品を含む)の生体試料中薬物濃度測定法

- Ligand Binding Assay (LBA)が標準的手法として用いられている。
- LBAによる生体試料中薬物濃度分析結果の信頼性確保には、有効成分と結合試薬の反応性、平行性、溶血の影響等に注意が必要である。
- より特異性(選択性)の高い分析法の開発が望まれる。

19

厚生労働科学研究費補助金
 医薬品・医療機器レギュラトリーサイエンス総合研究事業
 医薬品の品質、有効性及び安全性確保のための規制の国際調和の
 推進に係わる研究

平成25年度班会議(平成26年2月24日)

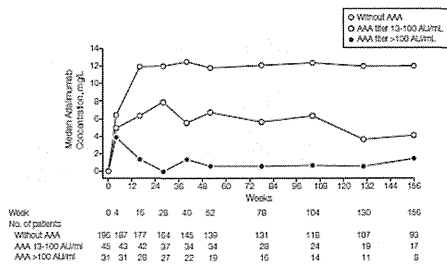
分担研究

—バイオ医薬品において免疫原性が有効性及び
 安全性に及ぼす影響—

国立医薬品食品衛生研究所 医療機器部
 新見伸吾

抗バイオ医薬品抗体がPKに及ぼす影響

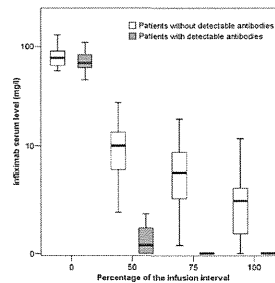
抗adalimumab抗体がadalimumabのトラフ値に及ぼす作用



Adalimumabのトラフ値は抗体価が高いほど低下する。

Bartelds GM et al. JAMA 2011;305:1460-1468

抗infiximab抗体陽性及び陰性の患者における
 血中トラフinfiximab濃度

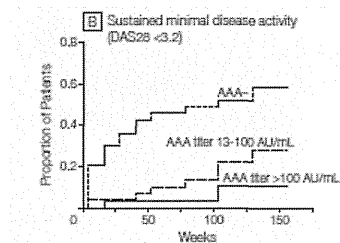


Infiximabの血中濃度は投与インターバルの後半に低下し、その値は抗体陰性患者より抗体陽性患者のほうが低い。

Van den Bemt BJ et al. BMC Musculoskelet Disord 2011; 12: 12

抗バイオ医薬品抗体が有効性に及ぼす影響

抗adalimumab抗体がadalimumabの有効性に及ぼす影響



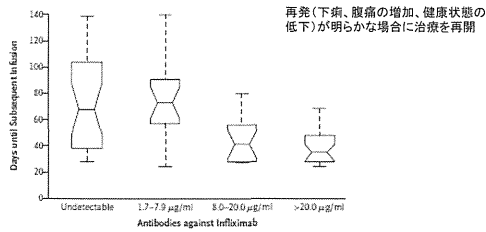
DAS28スコア: 疼痛関節数、関節腫脹数、赤血球沈降速度、患者の一般的な健康状態あるいは全般的な疾患活動性より算出

No. at risk	0	50	100	156
AAA-	196	151	135	118
AAA 13-100 AU/mL	45	36	27	19
AAA >100 AU/mL	31	23	16	10

抗体のタイターが高いほどadalimumabの有効性は低下する

Bartelds GM et al. JAMA 2011;305:1460-1468

抗infiximab抗体濃度と患者が再治療に必要な日数との関連



抗体のタイターが高いほど短い間隔でinfliximabを投与する必要がある。

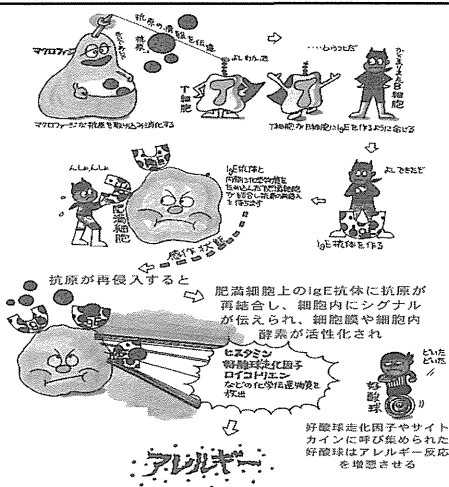
Baert F et al. New Engl J Med 2003; 348:601-608

免疫原性が安全性に及ぼす影響

免疫原性により引き起こされる有害事象

- I型アレルギー
- インフュージョン反応
- III型アレルギー
- 他の内在性タンパク質により重要な機能が補完されない自己免疫疾患

I型アレルギー



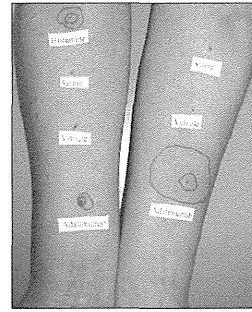
I型アレルギーの主症状・代表疾患

- アナフィラキシーショック
- 蕁麻疹
- アレルギー性鼻炎及び皮膚炎
- アトピー性発赤
- 血管浮腫
- 膨疹
- 気管痙攣
- 呼吸器・循環器系の虚脱
- 結膜炎
- 気管支喘息
- 急激な腹痛

I 型アレルギーを起こす抗体医薬品

抗体医薬品	I 型アレルギーを発症する患者の割合 (%)
Cetuximab	33
Infliximab	4, 11.8
Adalimumab	11.8
Omalizumab	0.2
Natalizumab	1

Adalimumab投与により I 型アレルギーを発症した患者におけるピンプリック試験 (膨疹、炎症の測定)



I 型アレルギーを発症した患者ではadalimumabのピンプリック試験が陽性になる

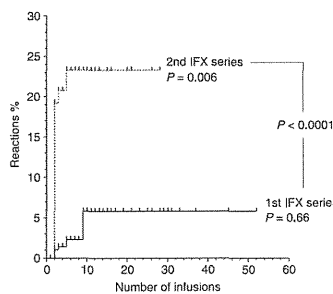
Paltiel M et al. N Engl J Med 2008 144(9) 1190-1194

インフュージョン反応

インフュージョン反応の定義、発生機序、症状、初回投与時における発生頻度

- 定義**
 一般的に医薬品の投与中又は投与開始24時間以内に発現する急性期の有害事象を示す用語である。また、2回目投与以降に発現することもある。バイオ医薬品の中では抗体医薬品で特に多く起こる。
- 発生機序**
 多くの過敏感症で見られるIgEを介したI型アレルギーとは異なる。サイトカインの産生が増加し、一過性の炎症やアレルギー反応を起こすことが原因の一つとして推測される。
- 症状**
 過敏感症やアレルギー症状と類似している。
 軽症～中等症状: 発熱、悪寒嘔気、嘔吐、頭痛、咳、めまい、発疹
 重症: アナフィラキシー症状、肺障害、呼吸困難、低酸素症、気管支痙攣、肺炎、心障害、低血圧、頻脈、顔面浮腫、血管浮腫、心筋梗塞、心室細動、心原性ショック
- 初回投与時における発生頻度**
 リツキシマブ約90% (重症例 数%～10%)、トラスツズマブ約40%、ペバシズマブ3%、セツキシマブ8～13%

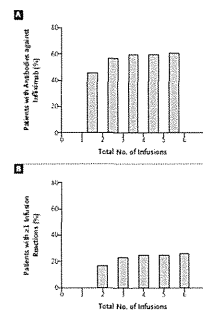
1回目及び2回目の連続的なinfliximab治療の間におけるinfliximabに対する急性の重篤なインフュージョン反応の分布



Infliximabに対する急性の重篤なインフュージョン反応の分布は、1回目より2回目の連続的なinfliximab治療のほうが高い

Steenholdt C Aliment Pharmacol Ther 2011 34 51-58

抗infliximab抗体産生とインフュージョン反応との相関

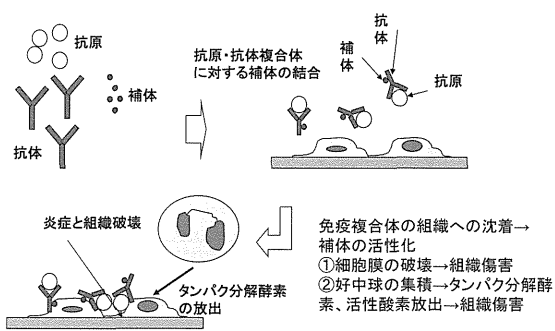


インフュージョン反応はInfliximab投与2回目以降に起こり、その頻度と抗体陽性率は相関する。

Baert F et al. New Engl J Med 2003; 348:601-608

Ⅲ型アレルギー

Ⅲ型アレルギーの発症機構



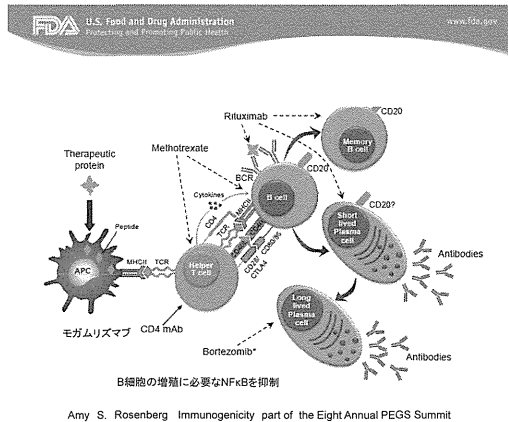
Ⅲ型アレルギーの主な疾患

- 血清病(発熱、皮疹、リンパ節腫脹、関節痛)
- 慢性関節リウマチ
- 免疫複合型糸球体腎炎
- 全身性エリテマトーデスSLE; systematic lupus erythematosus(関節痛、微熱、疲労、口腔潰瘍、体重減少、リンパ節腫脹、脾臓腫脹、光線過敏、食欲不振等)

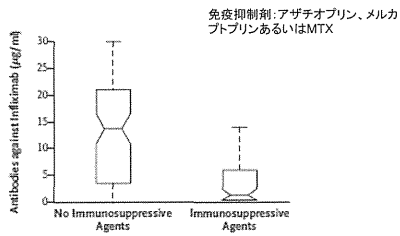
バイオ医薬品で報告されているⅢ型アレルギー

- Agalsidase alfa (Myozyme)
皮膚潰瘍、皮膚壊死、関節痛、関節腫脹、ネフローゼ症候群、タンパク尿、血尿
- Infliximab
皮膚発疹、びまん性関節痛、筋肉痛、疲労

バイオ医薬品の免疫原性を低減させる戦略



免疫抑制剤が抗infliximab抗体産生に及ぼす作用

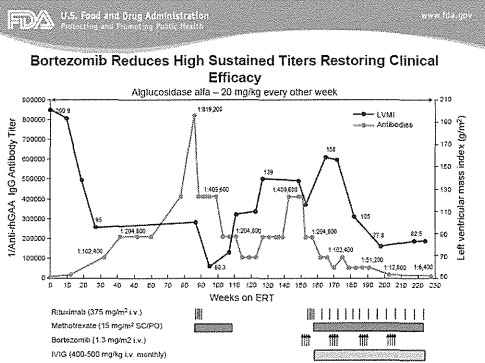


免疫抑制剤の投与により抗infliximab抗体の量が低下する。

Baert F et al. New Engl J Med 2003; 348:601-608

Agalsidase alfaに対する免疫寛容の戦略

- ポンペ病
GAA (acid alpha-glucosidase)の欠損により、あらゆる細胞のライゾソームにグリコーゲンが蓄積する病態
発達障害、心肥大、肝肥大、空腹時低血糖、高コレステロール血症
- 抗体の陽性率
2つの臨床試験で89% (34/38)



Amy S. Rosenberg Immunogenicity part of the Eight Annual PEGS Summit

ご清聴ありがとうございました
niimi@nihs.go.jp



医薬品の品質、有効性及び安全性確保のための
規制の国際調和の推進に係わる研究

— 先端バイオ医薬品規制に関する研究 —

遺伝子細胞医薬部 内田 恵理子

2014.2.24

先端バイオ医薬品規制に関する研究: 研究計画

先端バイオ免疫制御製品について、海外での規制や有効性・安全性評価の指標を調査する。種々のアッセイ法の有用性と問題点、免疫抑制状態の評価指標など、国際調和に必要な要素を示す

24年度
先端バイオ免疫制御製品のうち、遺伝子工学技術を用いたがん免疫療法用製品、特に遺伝子改変細胞製品に関する国内外の開発動向と規制状況等を調査した

25年度
プラスミドDNAワクチンの開発と規制状況を調査

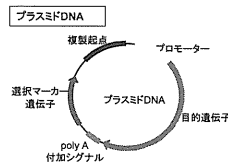
プラスミドDNAワクチンとは

遺伝子治療用プラスミドDNA

- 治療用の目的遺伝子を搭載したプラスミドで、患者体内での遺伝子発現により産生された目的タンパク質により疾患の治療を行う
- プラスミドベクターは遺伝子導入・発現効率は低く発現は一過性だが、挿入変異による発がんリスクは極めて低く、安全性の高いベクターと考えられる(癌遺伝子や染色体組込が起こるような機構が搭載された特殊なプラスミドを除く)
- 国内での開発例: 下肢動脈閉塞性疾患を対象としたHGFプラスミド

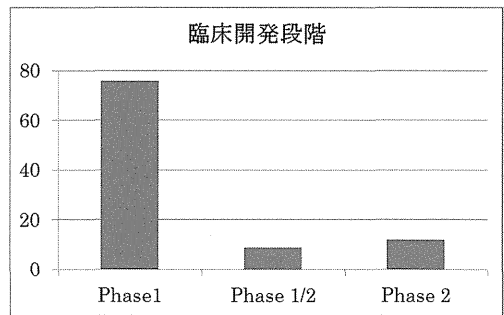
プラスミドDNAワクチン

- 抗原となるタンパク質・ペプチドをコードする遺伝子を搭載したプラスミドDNAを用いる免疫法
- 一定期間、患者体内で抗原が発現し続けることにより、従来のワクチンより高い免疫応答の誘導が期待される
- 生ワクチン、不活化ワクチンに比較して安全性が高く、製法が簡単、コストがかからず保存・備蓄も容易という利点



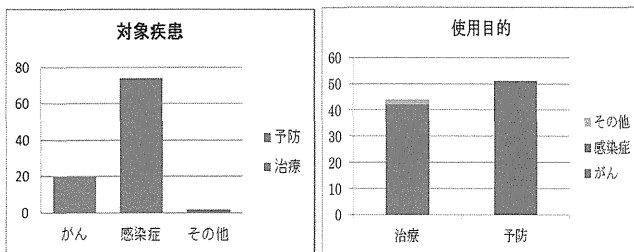
プラスミドDNAワクチンの臨床開発段階

ClinicalTrials.govで「plasmid DNA vaccine」でヒットした
総数97件について分析



プラスミドDNAワクチンの使用目的と対象疾患

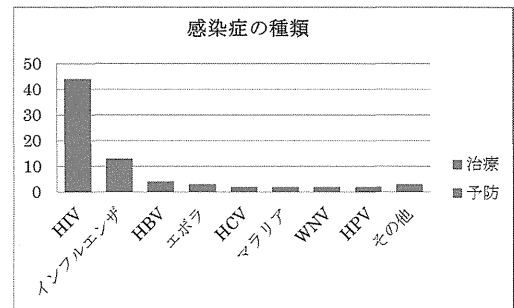
(ClinicalTrials.gov登録数)



感染症の予防・治療用ワクチンとがんの治療用ワクチンの開発が主
治療と予防の比率はほぼ1:1

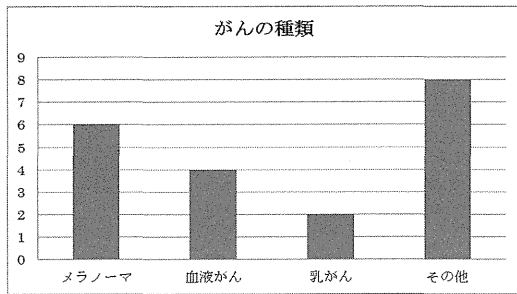
プラスミドDNAワクチンの対象疾患

感染症の種類



(ClinicalTrials.gov登録数)

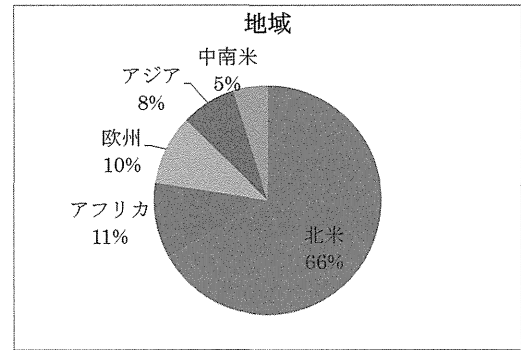
プラスミドDNAワクチンの対象疾患 がんの種類



(ClinicalTrials.gov登録数)

7

プラスミドDNAワクチンの臨床試験実施地域



(ClinicalTrials.gov登録数)

8

プラスミドDNAワクチンの特徴 (遺伝子治療用ベクターとの違い)

- プラスミドDNAワクチンに搭載される遺伝子
 - 抗原タンパク質・ペプチド
 - 異種相同抗原 (がん): CD8+ T cellが誘導される
 - サイトカイン
- 多価ワクチン
 - 異なる抗原を搭載した複数のプラスミドを用いる
- プライム・ブースト(prime-boost)法の利用
 - プライミングとブーストで異なる種類のワクチンを投与することにより免疫原性の増強を行う方法
 - DNAワクチンとワクシニアウイルスやアデノウイルスベクターなどが組み合わされている

9

日本で実施中の臨床試験

- ASP0113: 昨年より約500例を対象とする国際共同第III相試験を実施中
- 日本初のプラスミドDNAワクチンの治験
- 目的: がん患者への造血細胞移植後のCMV感染抑制
- 主成分: CMVの糖タンパク質gB, リンタンパク質pp65の2種類の遺伝子をそれぞれ組み込んだ2種類のプラスミドDNA (2価ワクチン)
- プラスミドDNA、ブロック共重合体(ポロキサマー)、陽イオン界面活性剤(塩化ベンザルコニウム)の3者の複合体
- 筋肉内に投与
- 投与部位において、CMV抗原タンパク質が発現し、抗原特異的な免疫を獲得・増強させることで、CMVの再活性化の抑制効果や再活性化後の感染症の重症化防止の効果をもたらす
- 遺伝子治療用医薬品としての確認申請により品質・安全性確認後、治験実施中

(薬事・食品衛生審議会生物由来技術部会議事録及びアステラス製薬プレスリリースより)

10

プラスミドDNAワクチンの品質・安全性 に関する規制

対象製品	日本	米国FDA	欧州EMA
プラスミドDNA製品	遺伝子治療用医薬品の品質・安全性確保に関する指針	Guidance for Industry: Guidance for Human Somatic Cell Therapy and Gene Therapy (1998)	Quality, Preclinical and Clinical Aspects of Gene Transfer Medicinal Products (2001)
プラスミドDNAワクチン(感染症)	同上*	Guidance for Industry Considerations for Plasmid DNA Vaccines for Infectious Disease Indications (2007)	Concept paper on guidance for DNA vaccines (2012)

*「感染症予防ワクチンの非臨床試験ガイドライン(平成22年)」はプラスミドDNAワクチンは対象外

11

Considerations for Plasmid DNA Vaccines for Infectious Disease Indications (FDA)の項目

- I. 製造上の問題
 1. 製剤の製造
 2. バルクプラスミド製剤の出荷試験
 3. 最終製剤の出荷試験
- II. DNAワクチンの変更
 1. 挿入遺伝子またはベクターの変更
 2. DNA配列解析
- III. 非臨床における免疫原性試験および安全性試験
 1. 一般指針
 2. 免疫原性
 3. サイトカイン
 4. プライム・ブースト法
 5. 自己免疫
 6. 局所副反応および全身毒性試験
 7. 体内分布、持続性および組込み解析

12

製造上の問題

●製剤の製造

- 使用する全てのプラスミドの由来、構築法
- DNA配列解析
 - ・プラスミドDNAワクチンの全塩基配列の決定(第一相試験開始前)
⇒プラスミド骨格がワクチンの活性に影響を及ぼす
 - ・ORF(予想外のものを含む)その他のエレメントの識別
 - ・異なる抗原をコードする遺伝子を持つ複数のプラスミドを用いる場合、それぞれの同定法
- MCB, WCB構築手順
- バクテリオファージその他の外來性感染性物質の検査(MCB, WCB)
- WCBでのプラスミドDNAの遺伝的安定性の証明

13

製剤の出荷試験

●バルクプラスミド製剤の出荷試験

- プラスミド濃度
- スーパーコイル構造のプラスミドの含有率(80%以上)
- 宿主由来DNA, RNA, タンパク質(1%未満)
- エンドキシン(40EU/mg plasmid以下)
- 確認試験(個々のプラスミドを区別できる方法)
- 力価測定法の開発(遺伝子導入効率、免疫原性のin vivo測定)
→EMA GL
- 各プラスミド成分の含量、同一性

●最終製剤の出荷試験

- 力価、一般安全性、無菌性、純度、定量、同一性
- 凍結乾燥品では含湿度試験
- エンドキシン

14

DNAワクチンの変更

- 導入遺伝子の変更
- バックボーンベクターの変更

⇒変更の性質や程度により追加試験でよいか、新規ワクチンとなるか

15

非臨床試験

●非臨床安全性試験

- 新規のDNAワクチンまたはDNAワクチンとアジュバントの新規の組み合わせごとに非臨床安全性試験を実施(GLP)

●免疫原性試験

- 適切なモデル動物の使用、GLPは必要ない
- 抗原特異的抗体価、血清抗体陽転率、サイトカイン分泌細胞の活性化、細胞性免疫応答の測定

●サイトカイン遺伝子

- サイトカインに反応する動物種または動物の相同遺伝子を使用

●プライム・ブースト法

- 使用する各成分の容量、投与スケジュール、投与経路の安全性

●自己免疫

- 動物での疾患発症を評価する試験を求めない
- 自己抗原をコード: 内在性タンパク質との交差反応を検討

16

非臨床試験

●局所副反応及び全身毒性試験

- 臨床の最高用量で、臨床接種回数よりも1回以上多く接種

●生体内分布/持続性試験

- 接種後数日～数か月の複数の時点で組織を採取
- 採取する組織: 血液、心臓、脳、肝臓、腎臓、骨髄、卵巣/精巣、肺、流入領域リンパ節、脾臓、注射部位の筋肉および注射部位の皮下組織など
- 測定: 定量PCR(宿主DNA1μgあたり100 copies未満の検出感度)
- ベクター/バックボーンや剤型、投与方法・投与経路が共通で確認済みであれば生体内分布試験は必要ない可能性
- 宿主DNA 1μgあたり30,000 copies以上での持続が認められた場合、染色体への組み込みを評価

17

今年度のまとめと来年度の予定

- 先端バイオ免疫制御製品のうち、プラスミドDNAワクチンに関する国内外の臨床開発の現状を調査し、開発動向を明らかにした

- プラスミドDNAワクチンの規制の国際動向を明らかにした

- FDAのプラスミドDNAワクチンのガイダンスは、感染症に用いるDNAワクチンに限らず、がん治療用ワクチンの品質・安全性を考える上でも参考になる

来年度

- 先端バイオ免疫制御製品のうち、ウイルスベクターワクチンに関する開発と規制について、遺伝子治療薬の規制との関係も含めて調査し、国際調和に必要な要素を示す。

18