

針」の改正案の作成や「遺伝子治療臨床研究に関する指針」の品質・安全性評価項目案の作成を行ったが、これらの改正案には本研究の成果を反映して、欧米の指針やICHの指針、見解等の内容を取り込み、また臨床研究と治験で必要とされる品質・安全性評価項目を揃えることにより、臨床研究から治験への移行を促進することを目指した。

AAVベクターは、欧州で最初に承認された遺伝子治療薬がAAVベクターであり欧米では開発が活発化しているが、日本ではこれまで1件の臨床研究が実施されたのみで使用経験も審査の経験も乏しく、またその製法も他のウイルスベクターと異なり安定生産細胞を用いることができないなどその製法管理の困難さが指摘されている。今後、日本でAAVベクター製品の迅速な臨床開発・実用化を進めるにはAAVの評価法に関するガイダンスが必要になると考えられる。本研究でまとめたAAVベクターの開発と品質・安全性確保における考慮事項を基に、最新の製造方法・精製法を取り入れたリフレクションペーパーの作成を予定している。

挿入変異については、これまでレトロウイルスベクターを用いた臨床試験において白血病発症が報告されているが、特定のベクターや対象疾患に限定的でありまた導入する細胞の特性に依存するとされており、リスク・ベネフィットの評価が重要と考えられる。またベクターの挿入変異・がん化のリスク評価に利用できる技術は開発段階であり、リスクを予測可能な評価法の開発や、近年技術的進歩の著しいゲノム編集技術（ZFN, TALEN, CRISPR-Cas）を活用して、挿入変異の起こらない安全な領域への遺伝子導入や異常遺伝子の修正を利用した遺伝子治療の開発を進めることも重要と考えられる。本研究をベースとして染色体組込型ベクターの開発と品質・安全性確保に関するリフレクションペーパーの作成を予定している。

遺伝子治療製品の設計変更時の考え方については、設計変更ごとの製品への影響や、さらには有効性や安全性プロファイルにどの程度影響することが予想されるか、また患者への潜在的リスクを評価することなどの必要性が示唆された。さらに、遺伝子治療

用ベクターの製法の大きな変更を実施する場合の新旧製品の品質の同等性評価と、その評価結果に基づく非臨床試験の追加の必要性について考察した。遺伝子治療ベクターは非常に複雑な構造をしており、従来のバイオ医薬品の製法変更における品質の同等性で新旧製品の安全性等とつなぐことが困難な場合が多く、品質の同等性の実証をどの程度実施可能か、また得られたデータから旧製品でのデータをどの程度読み込むことが可能か基礎的検討を行った。これらの検討結果を基に、リフレクションペーパーの作成を開始した。

## (2) 遺伝子治療用ベクターの品質・安全性評価法に関する研究

デジタルPCR法は目的とする遺伝子増幅配列のコピー数を絶対定量可能であることから標準品が利用できないウイルスベクターにも適用可能という利点がある。また血漿中のベクターを定量PCR法よりも高感度に検出できたことから、臨床サンプルや動物実験での生体試料などPCR反応の阻害物質が含まれる可能性のある試料中のベクターの測定に有用とされたが、測定範囲が狭く、測定に要する時間も定量PCRより長い等の欠点もあり、定量PCR法を全て置き換えるものではなく、用途に応じて活用すべきものと考えられた。ex vivo遺伝子導入細胞へのベクターの残存性の評価では、デジタルPCRによる測定では理論値よりも多くのベクターが残存する可能性が示唆されたが、感染価の評価を含めた多面的な検討が必要なことが示唆された。次世代シーケンサーによるベクターの品質評価では、一過性発現で製造するベクターはロット間で大きく品質が異なる可能性が示された。レンチウイルスベクターやAAVベクターのようにトランスフェクション法により製造するベクターでは品質評価として塩基配列解析の重要性が示唆された。

## D-6 血糖降下薬の臨床評価に関するRS研究

現行の「経口血糖降下薬の臨床評価方法に関するガイドライン」（以下、旧ガイドラインという）は平成22年7月に通知されているが、インスリン製剤は対象とされていなかった。一方、医療現場では、効

果発現のタイミングが異なる様々な種類のインスリン製剤やこれらの配合剤が開発、使用されており、開発に当たっての留意点を示すガイドラインの策定が求められていた。

インスリン製剤の開発に当たって、確認すべき点や留意すべき点をまとめた。特に、インスリン製剤は、目標とされた血糖値に達成するように投与量を調節しつつ使用されることから、臨床試験においても、推奨される用法で、目標とされた血糖値に達成するように予め投与量の調節基準を設定し、その基準に基づき用量調節する（Treat-to-target試験）とともに、アナログ製剤の留意点についても明確化した。

経口血糖降下薬とインスリン製剤の併用について、被併用薬であるインスリン製剤の用法／用量を原則として一定とする二重盲検期間（通常12～24週間）を設け、その後はインスリン製剤の用量調節を可能とする試験デザインを提示した。

策定したガイドライン案については、パブリックコメントを募集し、パブリックコメントに寄せられた意見、質問を踏まえ、インスリン製剤併用試験における対象患者や用量の取扱いにかかる考え方を明確化するなどの対応をした。

今後、所要の手続きを経て改訂案が通知されることにより、広く新薬の開発や承認審査時の評価に資することが期待される。

## E. 結語

平成26年度も政府は、一層の革新的医薬品の創製に向けてレギュラトリーサイエンス研究体制の整備を強化している。例えば、健康・医療戦略推進法では「国は、医療分野の研究開発の成果の実用化に際し、その品質、有効性及び安全性を科学的知見に基づき適正かつ迅速に予測、評価及び判断することに関する科学の振興に必要な体制の整備、人材の確保、養成及び資質の向上その他の施策を講ずるものとする（第十三条第二項）」としてRS研究の推進を掲げている。さらに日本再興戦略（平成26年6月24日閣議決定）においても革新的な医薬品・医療機器の研究開発、再生医療等の先端医療研究の推進が挙げられ、引き続き健康・医療戦略（平成26年7月22日閣

議決定）においても研究開発におけるレギュラトリーサイエンスを普及・充実させることが決定している。さらに医療分野研究開発推進計画（平成26年7月22日健康医療戦略推進本部）では、日本が世界に先駆けて開発する核酸医薬の副作用評価法に関する研究の開発が取り上げられているところである。

本研究班は上記のような要請にこたえ、下記に列挙する成果を挙げる事が出来た。

### E-1 ナノDDS製剤の評価に関するRS研究

経口固形製剤に含有されるシリカ粒子や酸化チタン等の添加物について、物理的・化学的特性（サイズ・凝集性）と腸管吸収・毒性について、人工腸液・人工胃液を用いた*in vitro*評価系を開発し、両特性の関連性を明らかとした。

ナノDDS製剤のタンパク質や細胞との相互作用は、細網内皮系による取り込み、血中滞留性、ナノDDS製剤の構造安定性（つまり有効成分の放出性）、標的細胞への取り込みなど、有効性及び安全性に影響するため、*in vitro*、*in vivo*におけるタンパク質や細胞との相互作用評価は、重要品質特性の特定、ナノDDS製剤の薬物動態や薬理作用を考察する上で重要である。本研究では、直接的、及び間接的なこれら相互作用の評価手法についてまとめるとともに、その評価手法として、ナノDDS製剤の血液適合性試験、つまり補体系活性化試験、溶血性試験、及び血液凝固試験について、リポソーム製剤を対象に最適化し、確立した。

共焦点顕微鏡を用い、核酸（siRNA）を搭載したナノ医薬品の細胞内動態評価法を構築した。

ブロック共重合体ミセルやリポソーム製剤のようなナノDDS製剤の開発に同等性／同質性（コンパリティ）の概念を適用することの適切性について考察した。欧州医薬品庁と議論し、ブロック共重合体ミセル医薬品の開発における製造工程変更の影響評価においても同等性／同質性（コンパリティ）のアプローチが適応可能であるとし、「ブロック共重合体ミセル医薬品の開発について厚生労働省／欧州医薬品庁の共同リフレクション・ペーパー」に記述した。

ナノ医薬品の分類に関する国際的な動向を調査するとともに、国際的な個別ナノ製剤の規制文書を参考に、リポソーム製剤の評価に関する文書化に着手した。

これまでにナノDDS製剤に関して得られた知見を広く情報提供するために、ナノ医薬品に関するホームページを整備し充実させた。

## E-2 改変タンパク質性製剤の評価に関するRS研究

表面プラズモン共鳴（SPR）法を用いた結合親和性評価法、及び、Fcγ受容体発現レポーター細胞を用いた評価系に関し、モデルとなる新規改変タンパク質製剤候補等の評価を通じて、抗体等改変タンパク質製剤の評価法としての有用性を明らかにした改変タンパク質製剤の品質特性や、FIH安全性確保に必要なヒトへの外挿性を考慮し、改変タンパク質製剤の分子設計から非臨床評価までの留意事項を明らかにした。

## E-3 核酸医薬品の評価に関するRS研究

本研究では、Gapmer型アンチセンスのオフターゲット効果を考察するために必要な実験的データを包括的に示した。ハイブリダイゼーション依存的なオフターゲット効果の発現は科学的な因果関係が極めて明確であるため、適切な評価を行えば、オフターゲット効果による有害作用の発現は確実に食い止めることができると考えられる。まずは、適切な*in silico*解析と*in vitro*解析を組み合わせることで、「ヒトにおいてオフターゲット効果が起こる可能性が高い遺伝子」を知ることが重要である。その上で当該遺伝子の機能、発現時期、発現部位等を総合的に勘案し、当該遺伝子の抑制による有害作用の発現の可能性を考察し、安全性試験の必要性を判断すべきであろう。

## E-4 タンパク質性医薬品等の安定性に関するRS研究

タンパク質の高次構造の揺らぎを<sup>13</sup>C-NMRによって評価する方法について市販モノクロナル抗体製剤を用いて検討した。動的な揺らぎの指標である<sup>13</sup>C-NMR緩和時間はサイズ排除クロマトグラフィー

で検出される大きなサイズの分解物の生成速度と関連することが示唆され<sup>13</sup>C-NMR緩和時間は製剤中のタンパク質の保存安定性の評価に有用であることが示唆された。また、分解に伴う熱を等温マイクロ熱量計で観測でき、熱の大きさと分解速度が関連することが示された。

## E-5 遺伝子治療用医薬品の評価に関するRS研究

遺伝子治療用製品のガイダンスの整備に関する研究として、国内外の遺伝子治療用製品の開発動向及び規制ガイドラインの整備状況を調査し、現状と課題を明らかにした。また、AAVベクターの開発において考慮すべき品質・安全性の考慮事項、染色体組込型ベクターの挿入変異やがん化のリスク管理における考慮事項及び遺伝子治療用製品の開発途中での製法変更や設計変更時の考え方について整理した。さらに、遺伝子治療用ベクターの品質・安全性評価手法に関する研究として、デジタルPCR法の有用性と限界を示した。また、次世代シーケンサーによるベクターの品質評価により、生産細胞系によるベクターの品質の一定性が異なることが示された。これらの研究は、本研究と並行して実施した「遺伝子治療用製品の品質及び安全性の確保に関する指針」改正案の作成や「遺伝子治療臨床研究に関する指針」の品質・安全性評価項目案の作成に反映された。また、本研究成果をベースとして「AAVベクターの開発と品質・安全性評価」、「レトロ・レンチウイルスベクターの開発と品質・安全性評価」、「遺伝子治療製品の製法変更や設計変更時の考え方」に関するリフレクションペーパーの作成を予定している。

## E-6 血糖降下薬の臨床評価に関するRS研究

日本発の新薬の開発を効率的・効果的に行うための取り組みの一環として、血糖降下薬について、既存の臨床評価ガイドラインでは言及されていない新規のインスリン製剤の臨床評価方法や経口血糖降下薬とインスリン製剤の併用時の臨床評価方法等について検討し、今後の臨床開発や承認審査に資するガイドライン改訂案を策定した。

## F. 健康危機管理情報

なし

## G. 研究発表

### 論文発表

- 1) Sakai-Kato, K., Nanjo, K., Kawanishi, T., Okuda, H., Goda, Y. "Size Exclusion Chromatography Coupled with Multi-Angle Light Scattering Analysis of Physicochemical Properties of Block Copolymer Micelles." *Chromatogr.*, in press
- 2) Un, K., Sakai-Kato, K., Kawanishi, T., Okuda, H., Goda, Y. "Effects of liposomal phospholipids and lipid transport-related protein on the intracellular fate of encapsulated doxorubicin" *Mol. Pharm.* 11, 560-567, 2014
- 3) Sakai-Kato, K., Un, K., Nanjo, K., Nishiyama, N., Kusuhara, H., Kataoka, K., Kawanishi, T., Goda H., Okuda, H., "Elucidating the molecular mechanism for the intracellular trafficking and fate of block copolymer micelles and their components" *Biomaterials* 35, 1347-1358, 2014
- 4) Sakai-Kato, K., Nanjo, K., Kawanishi, T., Okuda, H., Goda, H.: Sensitive method for measuring the concentration of doxorubicin and its metabolites in biological samples. *Chromatogr.*, 35(suppl2):81, 2014
- 5) Sakai-Kato K, Hidaka M, Un K, Kawanishi T, Okuda H. "Physicochemical properties and *in vitro* intestinal permeability properties and intestinal cell toxicity of silica particles, performed in simulated gastrointestinal fluids". *Biochim Biophys Acta.* 1840,1171-1180, 2014
- 6) Sakai-Kato, K., Nanjo, K., Yamaguchi, T., Okuda, H., Kawanishi, T., "High performance liquid chromatography separation of monoclonal IgG2 isoforms on a column packed with nonporous particles." *Analytical Methods* 5, 5899-5902, 2013.
- 7) Ehmann F., Sakai-Kato K., Duncan R., Perez de la Ossa D H., Pita R., Vidal J-M., Kohli A., Tothfalusi L., Sanh A., Tinton S., Robert J.-L., Lima B.S., Amati M.P. "Next-generation nanomedicines and nanosimilars: EU regulators' initiatives relating to the development and evaluation of nanomedicines" *Nanomedicine* 8(5) 849-856, 2013.
- 8) Un K., Sakai-Kato K., Oshima Y., Kawanishi T., Okuda H. "Intracellular trafficking mechanism, from intracellular uptake to extracellular efflux, for phospholipid/cholesterol liposomes" *Biomaterials* 33, 8131-8141, 2012.
- 9) 加藤くみ子 "ナノメディシンに関するレギュラトリーサイエンスの動向" *BIO Clinica* 29, 1170-1174, 2014.
- 10) 原島秀吉, 秋田英万, 加藤くみ子, 石井武彦, 松村保広, 片岡一則"ナノテクノロジーを基盤とした医薬品のレギュラトリーサイエンス研究への取り組み" *Drug Delivery System* 29, 217-225, 2014.
- 11) 加藤くみ子 "ブロック共重合体ミセル医薬品の開発に関する厚生労働省/欧州医薬品庁の共同リフレクションペーパー: 作成の経緯と概要" *Pharm Tech Japan* 30, 1011-1015, 2014.
- 12) 加藤くみ子 "ナノ医薬品の評価に関する本邦および欧米の規制動向について" *製剤機械技術学会誌* 23, 24-30, 2014.
- 13) 加藤くみ子 "ナノ医薬品の機能と実用化に向けた課題" *Pharm Tech Japan* 30, 425-428, 2014.
- 14) 加藤くみ子, 中西健, 小崎雅人, 松田嘉弘, 平野舞, 花田博幸, 久田茂, 小野寺博志, 西山伸宏, 原島秀吉, 松村保広, 片岡一則, 奥田晴宏, 川西徹"ブロック共重合体ミセル医薬品の評価" *医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス* 44,

- 968-975, 2013.
- 15) 加藤くみ子 “DDS製剤開発の活性化と実現に向けた取り組みについて” 薬剤学 73, 187-188, 2013.
  - 16) 加藤くみ子 “国内外のDDS製剤の開発に関する規制の動向” DDS製剤の開発・評価と実用化手法 第12章 DDSの規制・薬事と対応の留意点第1節 p.531-535, 2013 技術情報協会
  - 17) 加藤くみ子 “ナノ医薬品開発に関する動向” 薬学雑誌 133, 43-51, 2013.
  - 18) Tada M, Ishii-Watabe A, Suzuki T, Kawasaki N: Development of a cell-based assay measuring the activation of FcγRIIa for the characterization of therapeutic monoclonal antibodies *PLOS ONE* 9(4), e95787, 2014
  - 19) 石井明子, 鈴木琢雄, 多田稔: FcRn結合性を利用した次世代抗体医薬品の体内動態制御 次世代抗体医薬開発に向けた抗体工学の最前線 pp.102-115 シーエムシー出版, 東京, 2012
  - 20) 多田 稔, 石井明子, 川崎ナナ: 新薬開発にむけた臨床試験 (第I~III相臨床試験) での適切な投与量設定と有効性/安全性評価 第4章 ヒト初回投与量設定方法 第2節 バイオ医薬品 サイエンス&テクノロジー出版 東京, pp. 72-86, 2013
  - 21) 石井明子, 鈴木琢雄, 多田稔, 川崎ナナ: 抗体医薬品の分子設計 薬剤学 74(1), 1-8, 2014
  - 22) 石井明子, 川崎ナナ: 第13章第2節 バイオ医薬品 (組換えタンパク質医薬品) の品質関連規制と対応の留意点 動物細胞培養の手法と細胞死・増殖不良・細胞変異を防止する技術 pp.523~531 技術情報協会, 2014
  - 23) 石井明子, 川崎ナナ: バイオ医薬品の現状と展望 ファルマシア 51(5) (印刷中)
  - 24) 角田慎一, 石井明子: 次世代バイオ医薬開発に向けた創薬イノベーション 薬学雑誌 (印刷中)
  - 25) 石井明子, 多田稔, 鈴木琢雄, 川崎ナナ: 抗体医薬品の非臨床試験 薬学雑誌 (印刷中)
  - 26) Shimo, T., Tachibana, K., Saito, K., Yoshida, T., Tomita, E., Waki, R., Yamamoto, T., Doi, T., Inoue, T., Kawakami, J., Obika, S.: Design and evaluation of locked nucleic acid-based splice-switching oligonucleotides *in vitro.*, *Nucleic Acids Res.*, 42(12), 8174-8187, 2014.
  - 27) 井上貴雄: 核酸医薬品開発の動向, 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス, 45(4), 288-298, 2014.
  - 28) 井上貴雄: 核酸医薬品開発の現状, PHARMSTAGE, 14(3), 1-3, 2014.
  - 29) 井上貴雄, 吉田徳幸: 核酸医薬品の実用化促進に向けた取り組み, 国立医薬品食品衛生研究所報告, 132, 13-15, 2014.
  - 30) Maitani, Y., Nakamura, A., Tanaka, T., Aso, Y.1, Hydration of surfactant-modified and PEGylated cationic cholesterol-based liposomes and corresponding lipoplexes by monitoring a fluorescent probe and the dielectric relaxation time. *Int. J. Pharm.* 427, 372-378, 2012
  - 31) 阿曾幸男, 医薬品の発がん性不純物の評価と管理に関するガイダンス., 公衆衛生78, 125-129, 2014
  - 32) 山口照英, 内田恵理子: 遺伝子治療の開発に関する我が国の規制と海外動向, *Pharma Medica* (印刷中)
  - 33) Teruhide Yamaguchi and Eriko Uchida: Oncolytic Virus: Regulatory Aspects from Quality Control to Clinical Studies, *Current Cancer Drug Targets* (in press)
  - 34) 内田恵理子, 五十嵐友香, 佐藤陽治: 遺伝性難病に対する遺伝子治療薬の臨床開発促進のためのレギュラトリーサイエンス共同研究, 衛研報告 132, 10-12, 2014
  - 35) 内田恵理子: "バイオ医薬品", 第25章 遺伝子治療薬, 西島正弘・川崎ナナ編, 化学同人, 京都, pp.235-244, 2013
  - 36) 内田恵理子: 遺伝子治療臨床試験の現状, *PharmStage*, 12(11), 1-3, 2012
  - 37) 内田恵理子: "希少疾患/難病の診断・治療技術と製品開発", 第4章 ゲノム創薬技術・遺伝子治

療薬・核酸医薬の開発動向, 技術情報協会, 東京, pp.95-107, 2012

- 38) 内田恵理子: 遺伝子治療の現状と課題について, Risk Management Times, 28, 1-4, 2012
- 39) 山口照英, 内田恵理子: "欧・米・中, 日本を中心とした-世界への薬事申請書の書き方 成功へのバイブル"第7部第2章 核酸医薬品の開発動向とその品質・安全性確保, 技術情報協会, 東京, pp.926-937, 2012
- 40) 内田恵理子: 講座こうすればできる日本薬局方微生物試験7-日局生物薬品のウイルス安全性確保の基本要件, 防菌防黴, 40 (7), 435-444, 2012

#### 学会発表等

- 1) 多田稔, 石井明子, 鈴木琢雄, 川崎ナナ: 抗体医薬品の酸化がFc $\gamma$ 受容体を介した免疫エフェクター細胞の活性化に及ぼす影響 第85回日本生化学会大会 (2012.12)
- 2) 石井明子, 鈴木琢雄, 多田稔, 川崎ナナ: 表面プラズモン共鳴法を用いた抗体医薬品のFc $\gamma$ 受容体結合特性解析 日本薬学会第133年会 (2013.3)
- 3) 多田稔, 石井明子, 鈴木琢雄, 川崎ナナ: Fc $\gamma$ 受容体発現モデルエフェクター細胞株を用いた抗体医薬品の生物活性評価 日本薬学会第133年会 (2013.3.30)
- 4) 石井明子, 多田稔, 鈴木琢雄, 川崎ナナ: 次世代抗体医薬品の非臨床評価 日本薬学会第134年会シンポジウム (2014.3)
- 5) 石井明子: バイオ医薬品の品質評価に関する最新動向 JASIS 2014日本薬局方セミナー (2014.9)
- 6) 多田稔, 飯田愛未, 近藤昌夫, 石井明子, 川崎ナナ Fc $\gamma$ 受容体発現レポーター細胞を用いたADCC活性を有する抗体医薬品候補クローンの選別 第87回日本生化学会大会 (2014.10)
- 7) A. Ishii-Watabe, M. Tada, T. Suzuki, C. Miyama, N. Kawasaki: Analysis of the binding properties of therapeutic monoclonal antibodies to human, cynomolgus and mouse Fc $\gamma$  receptors 2014 AAPS Annual Meeting, (2014.11, San Diego)
- 8) M. Tada, A. Ishii-Watabe, T. Suzuki, N. Kawasaki: Fc $\gamma$ RIIIa Reporter Cell Assay for the Characterization of Therapeutic Monoclonal Antibodies 2014 AAPS Annual Meeting, (2014.11, San Diego)
- 9) T. Suzuki, C. Miyazaki, A. Ishii-Watabe, M. Tada, T. Kawanishi, N. Kawasaki: Development of a fluorescence imaging method of therapeutic antibodies, which can distinguish degraded products from non-degraded antibodies 2014 AAPS Annual Meeting, (2014.11, San Diego)
- 10) 村田大輔, 志賀有貴, 大島裕太, 小島由載, 杉本晃規, 多田稔, 石井明子, 竹内崇, 佐藤淳: IgG Fc融合技術を応用したヒトラクトフェリンの医薬品展開 日本ラクトフェリン学会第6回学術集会 (2014.11)
- 11) 石井明子: 抗体医薬品 さらなる発展への課題: 規制の観点から 第39回日本薬学会関東支部学術講演会 (2014.12)
- 12) 井上貴雄: 核酸医薬の実用化に向けたレギュラトリーサイエンス研究への取り組み, 日本化学会第95春期年会 (2015.3, 千葉)
- 13) 吉田徳幸, 内藤雄樹, 佐々木澄美, 内田恵理子, 小比賀聡, 内藤幹彦, 佐藤陽治, 井上貴雄: アンチセンス医薬品のオフターゲット効果の安全性評価に関する研究, 日本薬学会第135年会 (2015.3, 兵庫)
- 14) 佐々木澄美, 吉田徳幸, 内田恵理子, 内藤幹彦, 佐藤陽治, 井上貴雄: 核酸医薬品の細胞内取り込み機構に関する解析, 日本薬学会第135年会 (2015.3, 兵庫)
- 15) 萩原衆子, 山本誠司, 吉田徳幸, 佐々木澄美, 飯村信, 小泉誠, 内藤幹彦, 佐藤陽治, 植村英俊, 井上貴雄: 「修飾型オリゴ核酸による自然免疫活性化の評価法に関する研究, 日本薬学会第135年会 (2015.3, 兵庫)

- 16) 井上貴雄：核酸医薬品開発のポイント -開発の現状・市場動向・課題・レギュラトリーサイエンス-, R & D 支援センターセミナー (2015.3, 東京)
- 17) 井上貴雄：核酸医薬開発とレギュラトリーサイエンス研究, 第18回バイオメディカル研究会 (2015.3, 大阪)
- 18) 井上貴雄：核酸医薬品の安全性確保のための評価技術開発, 創薬基盤推進研究事業 研究成果発表会「医薬品・医療機器の実用化促進のための官民共同研究の進捗と展望」(2015.2, 東京)
- 19) 井上貴雄：日本発核酸医薬の創出に向けて, 抗体医薬・核酸医薬開発コンソーシアムシンポジウム (2015.1, 東京)
- 20) 井上貴雄：核酸医薬品の開発動向とレギュラトリーサイエンス研究への取り組み, 第19回分子複合医薬研究会 (2014.11, 大阪)
- 21) Yoshida, T., Sasaki, K., Obika, S., Sato, Y., Inoue, T. : Evaluation of Off-target Effects of Antisense Oligonucleotides, 10th Annual Meeting of the Oligonucleotide Therapeutics Society (2014.10, San Diego)
- 22) 井上貴雄：核酸医薬品開発の動向と課題, 第27回大阪大学医工情報連携シンポジウム ～創薬と医療から日本の未来を考える～ (2014.9, 大阪)
- 23) 井上貴雄：核酸医薬品の実用化に向けたレギュラトリーサイエンス研究への取り組み, アンチセンス・遺伝子・デリバリーシンポジウム2014 (2014.9, 東京)
- 24) 萩原衆子, 山本誠司, 吉田徳幸, 佐々木澄美, 飯村信, 小泉誠, 佐藤陽治, 植村英俊, 井上貴雄：オリゴ核酸による自然免疫活性化の評価法に関する研究, アンチセンス・遺伝子・デリバリーシンポジウム2014 (2014.9, 東京)
- 25) 佐々木澄美, 吉田徳幸, 内田恵理子, 佐藤陽治, 井上貴雄：siRNAの細胞内取り込み機構の解析, 第6回日本RNAi研究会 (2014.8, 広島)
- 26) 井上貴雄：核酸医薬開発の動向と課題, 次世代医薬「核酸医薬」創出に向けたStrategy2014 (2014.7, 東京)
- 27) 井上貴雄：核酸医薬品の規制, 第41回日本毒理学学会学術年会 (2014.7, 兵庫)
- 28) 吉田徳幸, 内田恵理子, 小比賀聡, 佐藤陽治, 井上貴雄：オフターゲット効果の安全性評価法の確立に向けた基盤研究, 日本薬学会第134年会 (2014.3, 熊本)
- 29) 井上貴雄：核酸医薬開発の動向と課題, 医薬基盤研究所講演会 (2013.12, 大阪)
- 30) 吉田徳幸, 内田恵理子, 小比賀聡, 佐藤陽治, 井上貴雄：核酸医薬品のオフターゲット効果に関する基盤研究, 第11回アンチセンスシンポジウム (2013.11, 徳島)
- 31) 井上貴雄：核酸医薬品の現状と課題(総論), ライフサイエンス技術部会 材料分科会講演会(核酸医薬研究の最前線①～有機合成からのアプローチ～) (2013.11, 東京)
- 32) 井上貴雄：核酸医薬品開発の動向と課題, 第144回ヒューマンサイエンス エキスパート研修会 (核酸医薬品開発を巡る国際的展望と期待 -核酸医薬は新薬開発の突破口となるか-) (2013.10, 東京)
- 33) Yoshida, T., Inoue, T., Uchida, E., Sasaki, K., Obika, S., Sato, Y. : In Silico Analysis of Off-target Effects of Oligonucleotide Therapeutics, 9th Annual Meeting of the Oligonucleotide Therapeutics Society (2013.10, Naples)
- 34) 吉田徳幸, 井上貴雄, 内田恵理子, 小比賀聡, 佐藤陽治：オフターゲット効果の安全性評価法の確立に向けた基盤研究, 第5回日本RNAi研究会 (2013.8, 広島)
- 35) 井上貴雄：核酸医薬品開発の現状と課題およびガイドライン策定に向けた取り組み, ヒューマンサイエンス振興財団 規制動向調査WG会議 (2013.7, 東京)
- 36) 菅井波名, 平健吾, 泉和生:第57回日本糖尿病学会年次学術集会シンポジウム「糖尿病用薬の審査の現状と今後の臨床評価の展望」(2014.5)
- 37) 内田恵理子：遺伝子治療用製品指針改定の取り

組み—品質及び安全性の確保と遺伝子治療製品の開発促進のために、第5回国際協力遺伝病遺伝子治療フォーラム(2015.1)

- 38) Eriko Uchida : Current situation of advanced therapy regulation in the world, 第20回日本遺伝子治療学会学術集会 (2014.8, 東京)
- 39) Eriko Uchida, Yuka Igarashi, Yoji Sato, Masafumi Onodera, Teruhide Yamaguchi : Study on the biosafety of *ex vivo* transduced cells with retroviral vectors and Cartagena protocol domestic law, 第20回日本遺伝子治療学会学術集会(2014.8, 東京)
- 40) Yuka Igarashi, Eriko Uchida, Masafumi Onodera: Quality control for the supernatants of retroviral vectors using a next-generation DNA sequencer, 第20回日本遺伝子治療学会学術集会(2014.8, 東京)
- 41) 山口照英, 内田恵理子, 小野寺雅史 : 遺伝子治

療製品の品質/安全性確保のための指針改定と国際調和, IMSUT-CGCTキックオフシンポジウム2014, (2014.11, 東京)

- 42) 内田恵理子 : 国内外の遺伝子治療に関する指針及びICH遺伝子治療専門家会議について, 第3回国際協力遺伝病遺伝子治療フォーラム, (2013.1, 東京)
- 43) Birei Furuta, Eriko Uchida, Ken Nishimura, Manami Ohtaka, Souko Takayasu, Mahito Nakanishi, Teruhide Yamaguchi : The application of gp91phox expressing Sendai virus vector in X-CGD gene therapy, 第18回日本遺伝子治療学会学術集会 (2012.6, 熊本)
- 44) 内田恵理子 : 核酸医薬品開発の動向と課題, 薬物動態学会第27回年会 (2012.11, 東京)

#### H. 知的財産の出願・登録状況

なし



## 研究成果の刊行に関する一覧表

## 書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
石井明子, 川崎ナナ	第13章第2節 バイオ医薬品（組換えタンパク質医薬品）の品質関連規制と対応の留意点		動物細胞培養の手法と細胞死・増殖不良・細胞変異を防止する技術	技術情報協会	東京	2014	523-531
加藤くみ子	国内外のDDS製剤の開発に関する規制の動向		DDS製剤の開発・評価と実用化手法	技術情報協会	東京	2013	531-535
多田 稔, 石井明子, 川崎ナナ	第4章 ヒト初回投与量設定方法 第2節 バイオ医薬品		新薬開発にむけた臨床試験（第Ⅰ～Ⅲ相臨床試験）での適切な投与量設定と有効性/安全性評価	サイエンス&テクノロジー出版	東京	2013	72-86
内田恵理子	遺伝子治療薬	西島正弘 川崎ナナ	バイオ医薬品	化学同人	京都	2013	235-244
石井明子, 鈴木琢雄, 多田 稔	FcRn結合性を利用した次世代抗体医薬品の体内動態制御	熊谷泉	次世代抗体医薬開発に向けた抗体工学の最前線	シーエムシー出版	東京	2012	102-115
内田恵理子	ゲノム創薬技術・遺伝子治療薬・核酸医薬の開発動向		希少疾患/難病の診断・治療技術と製品開発	技術情報協会	東京	2012	95-107
山口照英、 内田恵理子	核酸医薬品の開発動向とその品質・安全性確保		欧・米・中、日本を中心とした-世界への薬事申請書の書き方成功へのバイブル	技術情報協会	東京	2012	926-937

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Sakai-Kato K, Hidaka M, Un K, Kawanishi T, Okuda H..	Physicochemical properties and in vitro intestinal permeability properties and intestinal cell toxicity of silica particles, performed in simulated gastrointestinal fluids	Biochim Biophys Acta.	1840	1171-1180	2014
Un, K., Sakai-Kato, K., Kawanishi, T., Okuda, H., Goda, Y.	Effects of liposomal phospholipids and lipid transport-related protein on the intracellular fate of encapsulated doxorubicin	Mol Pharm.	11	560-567	2014
Sakai-Kato, K., Un, K., Nanjo, K., Nishiyama, N., Kusuhara, H., Kataoka, K., Kawanishi, T., Goda H., Okuda, H.,	Elucidating the molecular mechanism for the intracellular trafficking and fate of block copolymer micelles and their components	Biomaterials	35	1347-1358	2014
Tada M, Ishii-Watabe A, Suzuki T, Kawasaki N	Development of a cell-based assay measuring the activation of FcγRIIa for the characterization of therapeutic monoclonal antibodies	PLOS ONE	9(4)	e95787	2014
Shimo, T., Tachibana, K., Saito, K., Yoshida, T., Tomita, E., Waki, R., Yamamoto, T., Doi, T., Inoue, T., Kawakami, J., Obika, S.	Design and evaluation of locked nucleic acid-based splice-switching oligonucleotides in vitro.	Nucleic Acids Research	42(12)	8174-8187	2014
Teruhide Yamaguchi and Eriko Uchida	Oncolytic Virus: Regulatory Aspects from Quality Control to Clinical Studies	Current Cancer Drug Targets			In press
加藤くみ子	ナノメディシンに関するレギュラトリーサイエンスの動向	BIO Clinica	29	1170-1174	2014
原島秀吉、秋田英万、加藤くみ子、石井武彦、松村保広、片岡一則	ナノテクノロジーを基盤とした医薬品のレギュラトリーサイエンス研究への取り組み	Drug Delivery System	29	217-225	2014
加藤くみ子	ブロック共重合体ミセル医薬品の開発に関する厚生労働省/欧州医薬品庁の共同リフレクションペーパー：作成の経緯と概要	Pharm Tech Japan	30	1011-1015	2014
加藤くみ子	ナノ医薬品の評価に関する本邦および欧米の規制動向について	製剤機械技術学会誌	23	24-30	2014
加藤くみ子	ナノ医薬品の機能と実用化に向けた課題	Pharm Tech Japan	30	425-428	2014
石井明子, 鈴木琢雄, 多田稔, 川崎ナナ	抗体医薬品の分子設計	薬剤学	74 (1)	1-8	2014

井上貴雄	核酸医薬品開発の動向	医薬品医療機器 レギュラトリー サイエンス	45(4)	288-298	2014
井上貴雄	核酸医薬品開発の現状	PHARMSTAGE	14(3)	1-3	2014
井上貴雄, 吉田徳幸	核酸医薬品の実用化促進に向けた取り組み	国立医薬品食品 衛生研究所報告	132	13-15	2014
阿曾幸男	医薬品の発がん性不純物の評価 と管理に関するガイダンス.	公衆衛生	78	125-129	2014
内田恵理子 五十嵐友香 佐藤陽治	遺伝性難病に対する遺伝子治療 薬の臨床開発促進のためのレギ ュラトリーサイエンス共同研究	衛研報告	132	10-12	2014
山口照英 内田恵理子	遺伝子治療の開発に関する我が 国の規制と海外動向	Pharma Medica			印刷中
Sakai-Kato, K., Nanjo, K., Yamaguchi, T., Okuda, H., Kawanishi, T.,	High performance liquid chromatography separation of monoclonal IgG2 isoforms on a column packed with nonporous particles.	Analytical Methods	5	5899-5902	2013
Ehmann F., Sakai-Kato K., Duncan R., Perez de la Ossa D H., Pita R., Vidal J-M., Kohli A., Tothfalusi L, Sanh A., Tinton S., Robert J.-L., Lima B.S., Amati M.P.	Next-generation nanomedicines and nanosimilars: EU regulators' initiatives relating to the development and evaluation of nanomedicines	Nanomedicine	8	849-856	2013
加藤くみ子, 中西 健, 小崎雅人, 松田 嘉弘, 平野舞, 花田 博幸, 久田茂, 小野 寺博志, 西山伸宏, 原島秀吉, 松村保 広, 片岡一則, 奥田 晴宏, 川西徹	ブロック共重合体ミセル医薬品 の評価	医薬品医療機器 レギュラトリー サイエンス	44	968-975	2013
加藤くみ子	DDS製剤開発の活性化と実現に 向けた取り組みについて	薬剤学	73	187-188	2013
加藤くみ子	ナノ医薬品開発に関する動向	薬学雑誌	133	43-51	2013
Un K., Sakai-Kato K., Oshima Y., Kawanishi T., Okuda H.	Intracellular trafficking mechanism, from intracellular uptake to extracellular efflux, for phospholipid/cholesterol liposomes	Biomaterials	33	8131-8141	2012
Maitani, Y., Nakamura, A., Tanaka, T., Aso, Y.	Hydration of surfactant-modified and PEGylated cationic cholesterol-based liposomes and corresponding lipoplexes by monitoring a fluorescent probe and the dielectric relaxation time.	Int. J. Pharm.	427	372-378	2012
内田恵理子	遺伝子治療の現状と課題につい て	Risk Management Times	28	1-4	2012
内田恵理子	遺伝子治療臨床試験の現状	PharmStage	12(11)	1-3	2012
内田恵理子	日局生物薬品のウイルス安全性 確保の基本要件	防菌防黴	40 (7)	435-444	2012

第5章 第1節 製品領域ごとに見る関連規制と対応の留意点

[2] バイオ医薬品（組換えタンパク質医薬品）の  
品質関連規制と対応の留意点

石井 明子

国立医薬品食品衛生研究所 生物薬品部 第2室 室長 博士(薬学)

川崎 ナナ

国立医薬品食品衛生研究所 生物薬品部 部長 薬学博士

(株)技術情報協会

2014年4月発刊

「<最新>動物細胞培養の手法と細胞死・増殖不良・細胞変異を防止する技術」抜刷

## 第1節 [2] バイオ医薬品（組換えタンパク質医薬品）の品質関連規制と対応の留意点

はじめに

組換えタンパク質を有効成分とするバイオ医薬品は、目的物質の遺伝子を導入した細胞の培養により製造されるもので、これまでにエリスロポエチン、インターフェロン、抗体医薬品等、医療上重要な多くの製品が上市されている。バイオ医薬品の品質管理では、その複雑な品質特性と有効性・安全性の関連を理解し、原材料管理、工程パラメータ管理、工程内管理試験、規格及び試験方法等からなる品質管理戦略を適切に構築することが肝要である。バイオ医薬品の製造に用いられる細胞は、細胞基材と呼ばれ、原材料の一つに位置付けられる。細胞基材の特性や培養工程パラメータは、生産される組換えタンパク質の翻訳後修飾や不純物プロファイル等に影響するため、それらの管理は、最終製品の品質の確保において重要な要素となる。本節では、バイオ医薬品製造に用いられる細胞基材、バイオ医薬品の品質関連規制、及び、バイオ医薬品の品質管理における細胞培養関連の留意事項について概説する。

### 1. バイオ医薬品の製造に用いられる細胞基材

バイオ医薬品の製造工程は、目的物質の遺伝子を導入した細胞から、医薬品製造に適したクローンを選択、増幅して作製したセル・バンクから始まる。種培養～拡大培養、生産培養、培養上清の回収、精製、製剤化が、バイオ医薬品製造の主なステップである（図1）。

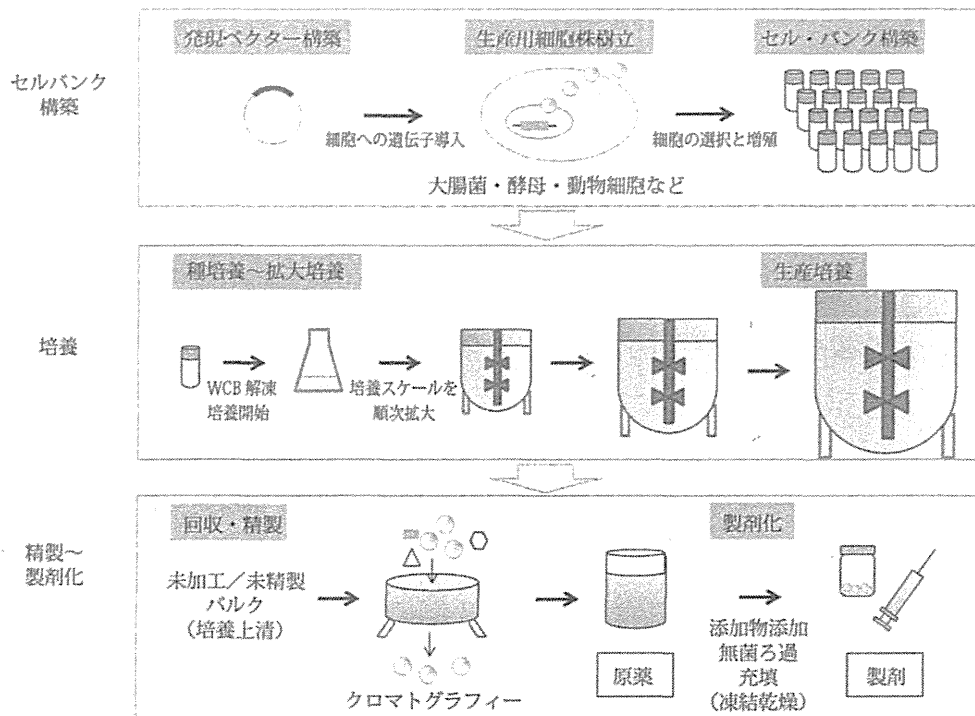


図1 バイオ医薬品の製造工程概略

バイオ医薬品の製造には、これまで、動物細胞、大腸菌、酵母の他、昆虫細胞、植物細胞等が用いられている。日本で現在市販されているバイオ医薬品の製造に用いられている細胞の内訳を図2に示した<sup>1)</sup>。動物細胞を用いて製造される品目が半数以上である。動物細胞は、糖タンパク質の製造に適用可能なことが特徴で、近年、開発品目の増加が著しい抗体医薬品等の製造に用いられている。動物細胞の内訳では、CHO細胞が最も多く、全体の約3分の2を占めている。

後述するように、動物細胞を用いる場合、大腸菌や酵母等の微生物では必要とされないウイルス安全性確保の対策が必要となる点に注意が必要である。

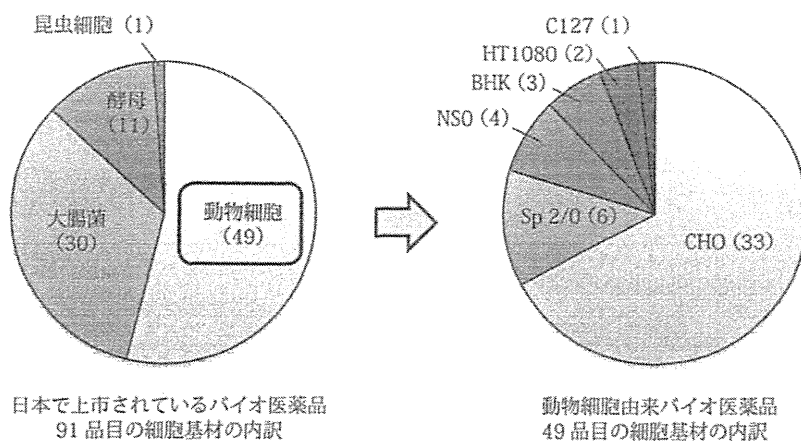


図2 バイオ医薬品の製造に用いられている細胞基材

## 2. バイオ医薬品の品質関連規制

### 2.1 バイオ医薬品の品質管理に関するガイドライン

バイオ医薬品の品質関連の規制文書として、表1に示すようなガイドライン類が整備されている<sup>2)</sup>。平成17年までに整備されたICH（日米EU医薬品規制調和国際会議）ガイドラインQ5シリーズ、及び、Q6Bにおいて、バイオ医薬品に特化した品質管理の考え方が示されている。その後策定されたQ8～Q11ガイドラインでは、リスクマネジメントの考え方を取り入れた品質管理戦略の構築を含む考え方が述べられており、原材料、原薬、製剤を評価対象とした各論であるQ5シリーズ及びQ6Bをベースに、Q8～Q11を参照することで、品質特性と有効性・安全性を科学的に関連付けた合理的な品質管理戦略の構築が可能となる。また、日本独自の指針として、感染性物質の混入回避のために、生物由来原料基準が定められている。その他、プロセスバリデーション、GMP、承認申請書の記載に関しても、参考となるガイドライン類が策定されている。これらの他に、我が国に流通する医薬品の品質に関する規範書である日本薬局方には、バイオ医薬品の品質評価に用いられる試験法のいくつかについて、基本的な考え方や留意事項がまとめられており、特性解析の実施や、規格及び試験方法の設定の際には、有用な参考資料となる。

### 2.2 バイオ医薬品の品質管理

医薬品の品質管理の目的は、医薬品の品質特性を一定の範囲内に保つことにより、開発過程で確認された有効性・安全性を、市販後も継続して保証することにある。図3に示すように、品質管理戦略の構築においては、製造された原薬及び製剤について、特性解析を実施して品質特性を明らかにすること、特性解析結果、及び、非臨床・臨床試験結果や文献情報等の知見をもとに、有効性・安全性を担保するために優先的に管理すべき品質特性（重要品質特性）を選択し、その管理目標を設定すること、さらに、重要品質特性の管理戦略を構築すること、が中心的課題となる。品質管理戦略は、通例、原材料管理、工程パラメータ管理、プロセス評価、工程内管理試験、原薬／製剤の規格及び試験方法等から構成される。

表1 バイオ医薬品の品質管理に関する主なガイドライン類

分類		ガイドライン・通知・事務連絡		
特性解析, 品質管理	ICH Q6B	平成13年5月1日 医薬審発第571号	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	
原材料	遺伝子発現構成体	ICH Q5B	平成10年1月6日 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
	セル・バンク	ICH Q5D	平成12年7月14日 医薬審第873号	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)製造用細胞基剤の由来, 調製及び特性解析について
	生物由来原料		平成15年5月20日 厚生労働省告示第210号	生物由来原料基準
			平成21年3月27日 厚生労働省審査管理課事務連絡	生物由来原料基準の規定を満たさないマスター・セル・バンク又はマスターシードを使用した医薬品等の取扱いについて
		平成21年3月27日 厚生労働省審査管理課事務連絡	生物由来原料基準に規定する原材料の取扱いについて	
原材料・工程管理	ウイルス安全性	ICH Q5A	平成12年2月22日 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
製法変更	同等性/同質性評価	ICH Q5E	平成17年4月26日 薬食審査発第0426001号	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る同等性/同質性評価について
製法開発	原薬の製造と開発	ICH Q11	平成23年6月28日 厚生労働省医薬食品局審査管理課	原薬の開発と製造(化学薬品とバイオテクノロジー応用医薬品/生物起源由来医薬品)ガイドライン(案)
	製剤開発	ICH Q8	平成22年6月28日 薬食審査発第0628第1号	製剤開発に関するガイドラインの改定について
品質管理システム	品質リスクマネジメント	ICH Q9	平成18年9月1日 薬食審査発第0901004号 薬食監麻発第0901005号	品質リスクマネジメントに関するガイドライン
	品質システム	ICH Q10	平成22年2月19日 薬食審査発0219第1号 薬食監麻発0219第1号	医薬品品質システムに関するガイドラインについて
プロセス・バリデーション	バリデーション基準		平成17年3月30日 薬食監麻発第0330001号	薬事法及び採血及び供血あつせん業取締法の一部を改正する法律の施行に伴う医薬品, 医療機器等の製造管理及び品質管理(GMP/QMS)に係る省令及び告示の制定及び改廃について
GMP	原薬のGMP	ICH Q7	平成13年11月2日 医薬発第1200号	原薬のGMPガイドラインについて
承認申請書	承認申請書における製造工程の記載		平成17年2月19日 薬食審査発第0210001号	改正薬事法に基づく医薬品等の製造販売承認申請書記載事項に関する指針について
承認申請添付資料	CTDにおける製造工程の記載	ICH M4Q	平成15年7月1日	医薬品の承認申請のための国際共通化資料 コモン・テクニカル・ドキュメント CTD - 品質に関する文書の作成要領に関するガイドライン
特性解析規格及び試験方法			平成23年3月24日 厚生労働省告示第65号	第十六改正日本薬局方
			平成26年2月28日 厚生労働省告示第47号	第十六改正日本薬局方第二追補

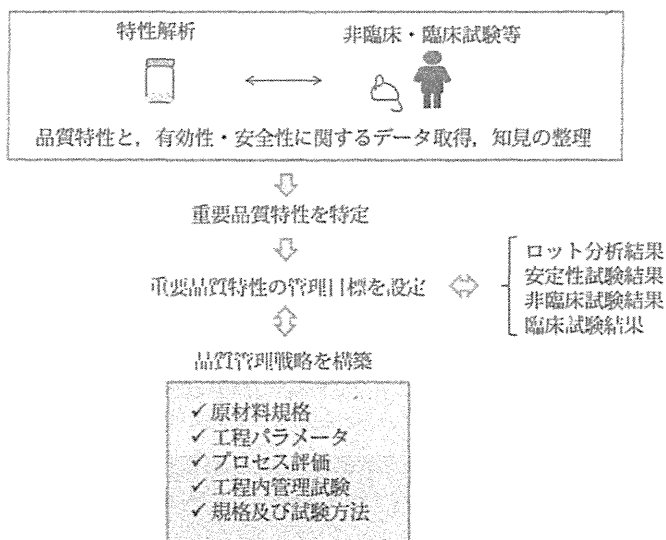


図3 バイオ医薬品の品質管理戦略構築の流れ

## 2.2.1 特性解析

バイオ医薬品の開発過程では、製造された原薬あるいは製剤について、構造、物理的・化学的性質、生物学的性質、免疫化学的性質、純度及び不純物に関する広範かつ詳細な特性解析を行い、その特性を明らかにする。表2に、バイオ医薬品の品質特性として代表的なものを示した。品質特性は、原薬/製剤に含まれる目的物質の分子変化体や、それらの物理的・化学的性質、あるいは、存在が想定される不純物等として表される。

表2 バイオ医薬品原薬の品質特性の例

有効成分関連	製造工程由来不純物 混入汚染物質関連
アミノ酸配列 (N/C 末など) ジスルフィド結合 高次構造 糖鎖 脱アミド体 酸化 糖化 凝集体 断片	宿主細胞由来タンパク質 宿主細胞由来 DNA 培地成分 緩衝液成分 カラム樹脂 (protein A など) 試薬 エンドトキシン 微生物 ウイルス

## 2.2.2 重要品質特性の特定と許容範囲設定

特性解析により明らかになった各品質特性について、非臨床・臨床試験で得られたデータや、関連する製品の情報等をもとに、有効性・安全性との関連付けを行う。その際、各品質特性について、生物活性、薬物動態、薬理作用、抗薬物抗体産生、有害事象発生等への影響と、その不確かさを考慮したリスク分析が有用である<sup>3)</sup>。リスク分析結果に基づき、優先的に管理すべき重要品質特性を特定する。重要品質特性が特定されれば、ロット分析結果、安定性試験結果、非臨床・臨床試験結果をもとに、有効性・安全性を担保できる範囲として、各々の重要品質特性の管理の目標を設定する。

## 2.2.3 品質管理戦略の構築

品質管理戦略は、重要品質特性が許容範囲に収まるよう、原材料の管理、工程パラメータ、プロセス評価、工程内管理試験、規格及び試験方法等を組み合わせて構築する。工程ごとに重要品質特性への影響、逸脱の頻度・検出性を考慮して管理方法を選択し、組み合わせる手法が有用である。品質管理戦略構築の際には、重要品質特性に影響する原材料特性、工程パラメータ等を明らかにし、それらの許容範囲を設定する。工程内管理試験は、培養上清や中間体等を対象に実施される試験であり、主として、原薬での試験より上流での管理が合理的である品質特性の管理に用いられる。工程内管理試験を実施することにより、製造工程の途中の段階で、製品の品質特性が目標とする管理の範囲内にあることを確認することができる。規格及び試験方法は、原薬及び製剤を対象に、重要品質特性が許容範囲内にあることを直接確認するもので、品質管理戦略の要である。規格及び試験方法は、出荷判定にも用いられる。

品質管理戦略として、一つの品質特性について、上記の管理手法のうち、複数のものが設定されることが多く、例えば、重要品質特性とされた糖鎖構造を、原材料の管理、工程パラメータの管理、並びに、規格及び試験方法により管理する、という戦略が考えられる。

設定された管理戦略の妥当性及び工程の再現性は、プロセスバリデーションにより確認する。プロセスバリデーションでは、原則3ロットの実生産スケールでの製造を行い、設定された稼働条件で、製造工程の各パラメータ、工程内管理試験結果、及び、製造された原薬及び製剤の特性が、予め設定された範囲内に入ることを確認する。

## 3. バイオ医薬品の品質管理における細胞培養関連の留意事項

バイオ医薬品の品質管理において、細胞基材及び培養工程に関連して、特に留意すべきポイントを表3にまとめた。これらは、2.2.3で述べた品質管理戦略の要素のうち、原材料の管理、工程パラメータ管理、工程内管理試験に相当する。



表3 バイオ医薬品の製造工程における細胞培養関連の留意事項

<p><u>原材料管理</u></p> <p>遺伝子発現構成体</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ 構築過程，塩基配列，細胞構築の履歴の保存</li> </ul> <p>セルバンク</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ MCB，WCB の構築</li> <li>✓ 特性解析試験，純度試験（ウイルス試験を含む），安定性評価</li> <li>✓ 医薬品生産に用いることのできる世代数の規定</li> <li>✓ 更新方法及び更新時の基準の設定</li> </ul> <p>培地・培地添加物</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ 市販品であっても受け入れ基準を設定し，原材料特性の一定性を確保</li> </ul> <p>生物由来原料基準への適合性</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ 細胞，培地添加物等</li> </ul> <p><u>工程パラメータ</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ 重要工程パラメータの特定と範囲設定</li> </ul> <p><u>工程内管理試験</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ 必要に応じ，生産されるタンパク質の特性に関する試験，ウイルス試験等の設定</li> </ul> <p><u>ウイルス安全性</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ セルバンクのウイルス試験</li> <li>✓ 未加工／未精製バルクのウイルス試験</li> <li>✓ 細胞以外の生物由来原料の管理</li> </ul> <p><u>製法変更時の対応</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ 同等性／同質性評価</li> </ul>
--

### 3.1 原材料の管理

バイオ医薬品製造の原材料には，培養工程で用いる細胞（遺伝子発現構成体が導入されたもの），培地，培地添加物，精製・加工工程で用いる試薬類，カラム樹脂，水等がある。原材料の特性は，最終製品の品質特性に影響するため，原材料特性と製品の品質特性の関連を明らかにし，原材料に関しても，適切な基準を設定して管理する必要がある。

#### 3.1.1 遺伝子発現構成体

組換えタンパク質をコードする配列を含むベクターは，遺伝子発現構成体とよばれる。遺伝子発現構成体の特性は，目的物質の構造や発現量に影響するため，細胞基材の構築に用いられる遺伝子発現構成体は，構築過程，及び，全塩基配列が明らかなものでなければならない。遺伝子導入に始まる細胞基材の構築過程を含めて，情報を適切に整理，保管しておく。

#### 3.1.2 セル・バンク

細胞基材の特性は，目的物質の翻訳後修飾構造や不純物プロファイルに影響するため，バイオ医薬品の品質の恒常性確保のためには，各製造バッチで同じ細胞基材を用いることが望ましい。そのため，目標とする組換えタンパク質の生産に適した細胞株として樹立された細胞基材をセル・バンク・システムにより管理し，開発段階から市販後まで，常に単一の細胞プールに由来する細胞から製造工程を開始する。通例，セル・バンクとして，マスター・セル・バンク（MCB），及び，ワーキング・セル・バンク（WCB）の2種類が作製される。

##### (1) セル・バンクの評価・管理

作製された MCB，WCB については，特性解析試験，及び，純度試験により，その特性を明らかにし，医薬品製造に適した細胞であることを確認する（表4）<sup>4)</sup>。特性解析試験では，宿主細胞の確認，遺伝子発現構成体が導入され，目

的物質が発現していることの確認、ならびに、細胞に保持されている遺伝子発現構成体の配列やコピー数の解析等を行う。純度試験では、微生物学的純度、及び、他の細胞の混入に関して試験を行い、ヒト・動物細胞では、無菌試験、マイコプラズマ否定試験、ウイルス安全性試験（後述）等を実施する。

また、生産に使用可能な *in vitro* 細胞齢を規定し、*in vitro* 細胞齢の上限を超えて培養した細胞（CAL：cells at the limit of *in vitro* cell age used for production）についても同様の試験を行い、各バッチの培養期間を通じた細胞基材の安定性を確認する。バンクの凍結保存中の安定性についても評価が必要であるが、保存期間が長期にわたるため、予め保存期間を設定することは現実的でない。定期的にバンクの一部を解凍して予め設定された基準に適合することを評価し、継続して保存・使用が可能であることを確認していく。

## (2) セル・バンクの更新

MCB, WCB の使用予定に応じて、更新方法、及び、更新時の規格を設定する。通例、WCB の更新は MCB から行われる。MCB は更新予定がないとされる場合もある。医薬品の供給が途絶えることがないように、不測の事態に備えて、バンクは複数の施設に分割して保存する。

表4 セル・バンクの評価・管理（主な試験項目の例）

	遺伝子発現構成体	特性解析試験	純度試験	保存中の安定性、及び培養期間中の安定性
MCB	<ul style="list-style-type: none"> <li>➢ 目的タンパク質をコードする部分の塩基配列</li> <li>➢ 遺伝子発現構成体のコピー数、挿入と欠失、組込み部位の数</li> <li>➢ プラスミド保持率（染色体外発現の場合）</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➢ 目的タンパク質の発現</li> <li>➢ アイソザイム解析等による由来する種の確認</li> <li>➢ 選択培地での増殖</li> <li>➢ 生存率</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➢ 細菌・真菌の否定試験</li> <li>➢ マイコプラズマ否定試験</li> <li>➢ 内在性及び非内在性のウイルスに関する試験</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➢ 保存期間</li> </ul>
WCB	—	—	<ul style="list-style-type: none"> <li>➢ 細菌・真菌の否定試験</li> <li>➢ マイコプラズマ否定試験</li> <li>➢ 外来性ウイルスに関する試験</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➢ 保存期間</li> <li>➢ 目的タンパク質発現の安定性</li> </ul>
CAL	➢ MCB と同じ内容の試験	—	<ul style="list-style-type: none"> <li>➢ 内在性及び外来性ウイルスに関する試験</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➢ 目的タンパク質発現の安定性</li> </ul>

### 3.1.3 培地、及び、培地添加物

培地や培地添加物は、細胞の増殖や産生される組換えタンパク質の特性に影響する。市販品を使用する場合でも、受け入れ基準等を設定して管理し、原材料特性が一定に保たれるよう、留意する。

### 3.1.4 生物由来原料基準への適合性

ウイルス等のヒト感染性物質の混入を回避するため、バイオ医薬品の製造に用いる生物由来原料は、生物由来原料基準に適合したものをを用いる。生物由来原料に該当するものとして、細胞、培地成分、培地添加物等が考えられる。

生物由来原料基準では、細胞の入手方法について明らかにすること、細胞株や培養終了後の細胞についてウイルス試験を行うこと等が求められている。細胞以外の生物由来原料についても、健康な動物に由来するものであること、製造工程で真菌・細菌・ウイルス等を不活化又は除去する処理を行うこと等が必要とされている。また、各原材料については、品質及び安全性の確保上必要な情報が確認できるよう、原材料の作製の記録やロット番号を保存することが求められている。ウシ由来の原材料については、伝達性海綿状脳症伝播の回避のため、使用可能な原産国が限定されている。

生物由来原料基準に適合しない原材料は、薬事食品衛生審議会における個別製品毎のリスク評価等を経て、承認書に記載した上で使用可能な場合があるが、製品の添付文書での情報提供が必要となる。血清については、マスター・セル・バンク樹立の際にのみ用いられた場合は、一定の要件が満たされれば、添付文書への記載は求められない。

最近では、無血清培養によるバイオ医薬品製造が一般的になっており、製造工程で血清を用いるケースは減っている。細胞以外に生物由来原料を使わない製造方法を確立することは、製品への感染性物質混入の危険を低減することのみならず、品質管理の合理化にもつながると考えられる。

### 3.2 工程パラメータ管理

細胞培養工程において管理すべき工程パラメータの例として、温度、培地添加物濃度、溶存酸素濃度、溶存二酸化炭素濃度、pH、攪拌速度、細胞密度、生存率、培養時間等があげられる。培養工程のパラメータと品質特性や工程特性との関連については、培地成分濃度と糖鎖付加パターン、溶存酸素濃度と糖鎖付加の割合、剪断応力あるいは溶存二酸化炭素濃度と目的物質発現量の関連等、多数の例が報告されており、培養工程のパラメータは、種々の品質特性に影響する重要な要素である<sup>5)</sup>。

重要品質特性を一定の範囲に保つために優先管理すべき工程パラメータ（重要工程パラメータ）の特定には、重大性、頻度、検出性を考慮したスコア付の手法を用いることができる。各パラメータの許容範囲は、それまでの製造実績や一つの工程パラメータを変動させた一変量実験、あるいは、複数の工程パラメータを変動させた多変量実験の結果に基づいて設定する。複数のパラメータの相互の関係が品質特性に影響する場合、工程パラメータの許容範囲は、複数の工程パラメータの組合せからなるデザインスペースとして設定する。

### 3.3 工程内管理試験の設定

工程内管理試験は、培養上清や中間体等を対象に実施される。工程内管理試験を実施することにより、製造工程の途中の段階で、製品の品質特性が目標とする管理の範囲内にあることを確認することができる。細胞培養工程で行われる工程内管理試験の例として、生産培養終了後の培養上清（未加工／未精製バルク）のウイルス試験があげられる。生産される組換えタンパク質の特性に関する試験等も、必要に応じ、設定される。工程内管理試験として設定されない場合でも、適宜、モニタリングを実施することが工程の恒常性を確認するために有用である。

### 3.4 ウイルス安全性

バイオ医薬品では、これまでにウイルス汚染による健康被害の報告はないが、動物細胞はヒト感染性ウイルスの宿主になり得ること、培養工程で原材料等からウイルスが混入し、増幅される可能性も想定されることから、製造工程への感染性因子混入は避けなければならない。培養工程でウイルス混入事故が生じると、製造の停止、原因の究明、除染等に、多大な時間と労力が費やされるばかりでなく、医薬品の供給停止にもつながる。過去に、ウイルス汚染事故が何件か起きており、製品の供給停止に至った例もあることから<sup>6)</sup>、ウイルス安全性の確保は、製品の安全性確保と安定供給の両側面から重要である。

ウイルス安全性確保の対策は、主として、①セル・バンクのウイルス試験、②未加工／未精製バルクのウイルス試験、③精製工程のウイルス不活化／除去能の評価、からなる。①セル・バンクのウイルス試験では、評価対象となるウイルス、及び、試験方法、試験すべき細胞、試験検体について、表5に示す内容が推奨されている。②未加工／未精製バルクのウイルス試験では、表5の試験法のうち、*in vitro*試験が主に用いられる。③は、培養工程で万が一ウイルスの混入があった場合でも、最終製品にウイルスが混入しないよう、モデルウイルス等を用いて、精製工程のウイルス除去

表5 ウイルス試験の概要

評価対象	試験方法	試験すべき細胞	試験検体
レトロウイルス 及び 内在性ウイルス	感染性試験	MCB, CAL	細胞を含まない培養上清
	電子顕微鏡観察	MCB, CAL	生細胞/ 細胞を含まない培養上清
	逆転写酵素活性 細胞種特異ウイルス試験	MCB <sup>a</sup> , CAL <sup>a</sup> MCB <sup>b</sup> , CAL <sup>b</sup>	細胞を含まない培養上清
非内在性ウイルス 及び 外來性ウイルス	<i>In vitro</i> 試験	MCB, CAL	溶解処理後の細胞／培養液
	<i>In vivo</i> 試験	MCB, CAL	溶解処理後の細胞／培養液
	抗体産生試験 細胞種特異的ウイルス試験	MCB <sup>c</sup> MCB <sup>b</sup>	溶解処理後の細胞／培養液

a：レトロウイルス感染性試験が陽性のときは不要

b：細胞株の起源・由来から存在が予測されるウイルスを検出するための試験を適宜実施

c：げっ歯類由来の細胞について試験法が確立されている

CHO, C127, BHK 細胞等では、内在性レトロウイルス様粒子の存在が知られている。  
(ウイルス汚染に起因する安全上の問題は報告されていない。)

不活化能を定量的に評価しておくものである。詳細については、ICH Q5A ガイドラインに記されており、生物由来原料基準におけるウイルス試験に関する要求事項もこれに合致している。

セル・バンク以外の原材料についても、ウイルス安全性が確保されたものを用いる必要があることは言うまでもない。過去に海外で起こった培養工程のウイルス汚染事故では、血清等の生物由来原料が汚染源であったとされており<sup>6)</sup>、ウイルス安全性確保には、その他の原材料の管理も重要である。

### 3.5 製造方法の変更前後での同等性/同質性評価

上記のような留意事項を踏まえて、品質管理戦略が構築されるが、バイオ医薬品の開発過程や市販後には、新技術の導入や製造規模の拡大のため、製造に用いる原材料や工程パラメータが変更されることがある。バイオ医薬品の品質は製造工程の影響を受けるため、それまでに実施した有効性・安全性の評価結果が、製法変更後も引き続き有効であることを示すために、ICH Q5E ガイドラインに従い、製法変更前後の製品について同等性/同質性評価を行う必要がある。

同等性/同質性とは、必ずしも変更前後の製品の品質特性が全く同じであるということの意味するものではなく、変更前後の製品の類似性が高いこと、ならびに、品質特性に何らかの差異があったとしても、既存の知識から最終製品の安全性や有効性には影響を及ぼさないであろうことが十分に保証できることを意味する。ICH Q5E では、いくつかのケースに分けて同等性/同質性評価における対応が示されている（図4）。品質の比較試験により、製法変更前後での同等性/同質性が担保されない場合、開発ステージに応じて、非臨床試験や臨床試験の実施が必要となることもある。製法変更前後で同等性/同質性が確保されないと判断された場合、変更後の製法を採用しないか、新有効成分含有医薬品として製法変更後の製品で全ての試験をやり直すかのいずれかとなる。製造方法の変更には、慎重な対応が必要である。

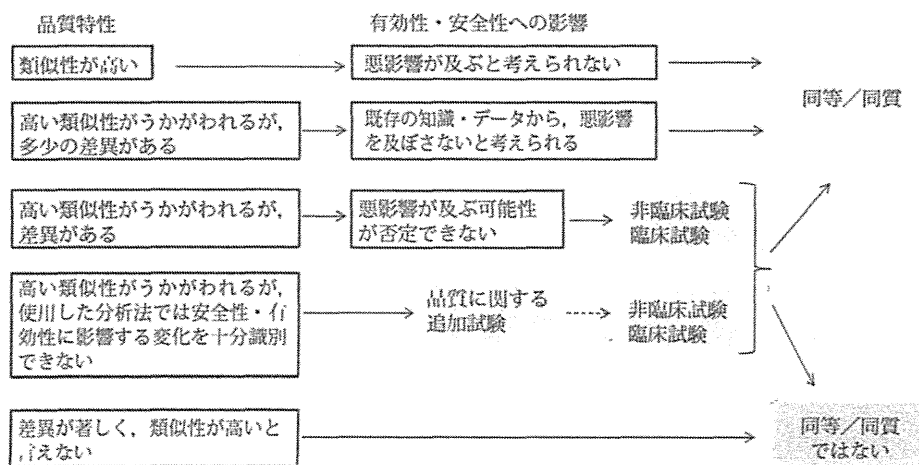


図4 バイオ医薬品の製造工程の変更にもともなう同等性/同質性評価

おわりに

細胞基材及び培養工程を中心に、バイオ医薬品の品質管理について概説した。医薬品の製造工程には、要求される品質を満たす製品を、医薬品のライフサイクル全体にわたって恒常的に作り出す能力が求められる。細胞培養の工程は、品質特性を創り出す工程であり、重要品質特性への影響も大きい。有効性・安全性との関連を考慮し、適切な製法開発と管理戦略の構築が行われることが望まれる。

### 文 献

- 1) 我が国で承認されたバイオ医薬品：国立医薬品食品衛生研究所生物薬品部 HP