

振興課), 日本薬局方外医薬品規格及び医薬品添加物規格の改正作業(薬務局審査課), 地方衛生研究所技術者講習会(薬務局監視指導課), 麻薬及び乱用薬物に関する情報収集(薬務局麻薬課)並びに日本工業規格(JIS)の改正作業(通商産業省)などに協力した。

後発医薬品の生物学的同等性試験ガイドライン(案)を作成した(薬務局審査課)。

## 研究業績

### 1. 医薬品の分析法に関する研究

H2 ブロッカー薬の迅速分析法を作成した(薬務局監視指導課委託研究費)。

キャピラリー電気泳動を用いて, 生薬などが配合された胃腸薬中のアルジオキサの分析法を確立した。

熱帯病治療薬の開発のため, 抗マラリア剤の簡易迅速分析法を作成した(厚生科学研究費補助金)。

厚生大臣指定検査機関精度管理要項(案), 並びに試験検査実施に関する運用規準(案)の検査機関における運用について調査研究を行った(薬務局監視指導課委託研究費)。

前年度までに開発した不正医薬品の鑑別試験法を開発途上国において実用に供すべく, 英訳して製本化した(国際厚生事業団技術移転振興対策事業費)。

### 2. 日本薬局方の規格及び試験方法に関する研究

新たに日本薬局方に収載する一般試験法として, USP 及び EP と調和した残留溶媒試験法を開発した(厚生科学研究費補助金)。

### 3. 医薬品の有効性, 安全性に関する薬剤学的研究

ヒトと同じ程度の消化管内攪拌力を有するモデル動物の作成を目的として, その薬物による制御について検討を行い, リン酸コデインの投与が胃排出に影響を与えることなく, イヌの消化管内攪拌力をヒトと同程度まで低下させることを明らかにした(HS 財団受託研究費)。

溶出試験のバリテーション法について検討を行い, 装置の振動や溶媒の脱気が一部の製剤の溶出速度に著しい影響を与えることを明らかにした(生物学的同等性の評価に関する研究費)。

坐剤のインビトロ放出速度は, 人工膜の種類によって影響を受け, 坐剤が展延しやすい滑らかな膜の方がバイオアベイラビリティとの相関性がよいことを明らかにした。

### 4. 医薬品の物理・化学的安定性に関する研究

安定性の包装及び処方間変動を評価する方法として, 推定値の信頼区間に基づいて安定性の同等性を評価する方法の有用性を有意差検定による方法と比較検討した(HS 財団国際共同研究費)。

凍結乾燥製剤中のタンパク質の安定性が, NMR の緩和の測定から求められるタンパク質分子の運動性が急激に変化する温度  $T_m$ , 並びに高い運動性に起因する緩和過程の

比率  $P_{hm}$  などのパラメータと相関すること, これらのパラメータを用いて安定性が予測できることを明らかにした(創薬科学総合研究費)。

デキストランをゲルの骨格成分とし, 相転移現象を示すゼラチンを骨格に絡み合う成分として用いることにより, 温度変化にตอบสนองしてタンパク質を放出する機能を有するハイドロゲルを調製し, その温度応答性やタンパク質の放出速度に及ぼすゲル組成の影響を明らかにした(HS 財団受託研究費)。

$\gamma$ 線照射によって, ゼラチン誘導体のハイドロゲルに  $\beta$ -ガラクトシダーゼなどのタンパク質を安定に内包させることができた。 $\gamma$ 線の照射量を変化させてゲルの架橋度を調節することによって, 薬物放出速度を制御できることが明らかとなった(国立機関原子力試験研究費)。

### 5. 麻薬及び依存性薬物に関する研究

幻覚剤 MDMA を投与したラットから得られた毛髪を試料に用い, 毛髪中の MDMA 及びその主代謝物の定量法を確立した。この方法を用いて, MDMA を服用したヒトの頭髪から親化合物及び主代謝物を検出し, 診断に役立てることができた。

食欲減退剤のフェネチリンが体内で代謝を受け, 覚せい剤アンフェタミンに変化する過程を追跡し, 血液, 尿及び毛髪からの検出を試みた。その結果, 毛髪分析によりフェネチリンの使用と覚せい剤の使用とを識別できること, 一方, 他の生体試料の分析では両者を識別できないことが分かった。

麻薬及びメタカロン系向精神薬の6種の薬物について, 呈色反応, 並びに TLC, GC, HPLC 及び GC-MS により分析を行い, それらの測定結果に基づいて, 分析マニュアルを作成した(薬務局麻薬課委託研究費)。

急性中毒量の覚せい剤を動物に投与し, 毛根を採取して分析したところ, 毛根中に高濃度の覚せい剤を検出すると共に, 投与後, 数分で薬物が毛根に達することを見出した。この結果から, 毛根が急性中毒の原因解明の重要な試料となり得ることを確認した。

## 生物薬品部

部長 早川 堯 夫

## 概要

行政に科学的根拠を提供する研究を行うこと, 大学や企業がなしえない先端的基盤的研究を行うこと, 世界的に評価される独創的研究を行うことなど, 国の研究機関への要望や期待はますます高まっている。当部の業務対象である新たな生物薬品は, 高度化と多様化が急激に進行している生命科学研究のいろいろな分野からその先端的成果と医薬

品としての総合化の結晶として生み出されてきている。これに対応する研究の高度化や先端化に関しては、例えば分野をきわめて特定し、当該分野での研究基盤の整備に努め、集中して研究を展開していけば実現は可能であろう。しかし、このアプローチは多様化には有効とはいえない。この現実と国研に期待される、あるべき研究の姿との間で模索が続いている。一方で、行政需要による業務も少なくない。この一年、当部が多かれ少なかれ関与した新たな業務には、遺伝子治療薬や細胞治療薬の品質・安全性確保問題、海綿状脳症対策問題、O-157治療薬問題、エイズ治療薬問題等々があった。従来からの各種調査会、審議会、検討会への参画、バイオ医薬品関連のICHや局方の国際調和活動、国際協力活動にも変わらぬ業務要請があり、あるものは拡大の一途を辿ろうとしている。ICHで細胞基材及びウイルス安全性に関するGLがまとまってきたのは大きな成果であるが、払った時間と労力も非常に多大であった。局方の国際調和活動の進捗にはICH以上の仕事量と迅速な対応が必要と予測される。これらの行政に密着した業務と日常の研究活動をどうリンケージしていくのかも課題である。平成8年度の主な研究業務としては、生物薬品の特性・品質評価技術の開発に関する研究、医薬品の有効性・安全性に関する生物化学的研究、生体内活性物質の作用機序と細胞機能に関する研究、先端技術を利用した生体成分関連医薬品の有用性確保に関する基礎的研究、診断用医薬品の評価技術及び関連基礎研究などを行った。この中で遺伝子治療薬基盤研究が新たに一步を踏み出した。

人事面では、平成9年3月31日付けで診断用医薬品室長福岡正道氏が定年退官された。同氏は29年間の長きにわたり数々の研究業績を挙げられ当所の業務遂行と発展のために多大な貢献をされた。平成9年4月から昭和薬科大学教授としての傍ら、当部の客員研究員として研究を続けて頂くこととなった。新見伸吾主任研究官が平成8年10月1日付けで厚生科学課併任となり、平成9年4月1日併任解除となった。川崎ナナ研究員が平成9年4月1日付けで主任研究官に昇格した。平成8年8月1日付けで科学技術振興調整費：重点研究支援協力員制度による非常勤職員が採用され、配置された。橋本 統氏が平成9年4月1日付けでHS財団流動研究員として新たに派遣された。

海外出張は以下の通りであった。早川部長：ICH4に向けてのバイオ医薬品の品質分野の専門家準備会合並びに規格に関する国際シンポジウムに出席（米国、平成8年4月29日～5月6日）、O-157関連医薬品（Synsorb-pk）の現地における調査（カナダ、平成8年8月7日～8月11日）、ICH4に向けてのバイオ医薬品の品質分野の専門家準備会合並びにWHOシンポジウムに出席（フランス、平成8年9月24日～10月5日）、第8回医薬品規制当局国際会議（ICDRA）に出席（バーレーン、平成8年11月8日～11月13

日）、バイオテクノロジー医薬品に関する国際シンポジウムにおいて講演（韓国、平成8年11月25日～11月27日）、ICH4に向けてのバイオ医薬品の品質分野の専門家準備会合に出席（米国、平成9年1月8日～1月14日）、国家検定から国家検査への移行に伴う輸出国の現状調査（デンマーク・フランス、平成9年3月15日～3月23日）；森本室長：中国天津医薬品検査技術プロジェクトに生化学の専門家としてヒトインスリンや糖タンパク質の品質管理について技術指導に従事（平成8年8月28日～平成8年10月5日）；川西室長：ICH4に向けてのバイオ医薬品の品質分野の専門家準備会合並びにWHOシンポジウムに出席（フランス、平成8年9月24日～10月5日）、ICH4に向けてのバイオ医薬品の品質分野の専門家準備会合に出席（米国、平成9年1月8日～1月14日）；内田恵理子主任研究官：科学技術庁長期在外研究員として米国ハーバード大学医学部に留学し、細胞の増殖、分化の制御に関するシグナル伝達の分子機構の解明に関する研究に従事（平成7年9月1日～平成8年8月31日）；川崎ナナ研究員：HS基礎研究支援事業により米国ジョージア州ホプキンス大学生物学部で糖鎖含有医薬品の品質評価試験法に関する研究に従事（平成8年9月27日～平成9年3月26日）。

#### 業務成績

##### 1. 特別審査試験

新薬5件について試験した。

##### 2. その他

第13日本薬局方改正に伴う業務（薬務局研究開発振興課）、中央薬事審議会各種調査会・部会（薬務局審査課、研究開発振興課）、日本薬局方外医薬品成分規格検討委員会、原体・添加物小委員会（薬務局審査課）、治験薬GMP、生物学的製剤等GMP検討会（薬務局監視指導課）、食品添加物公定書第七版作成検討会（生活衛生局食品化学課）、厚生省HIV遺伝子治療研究作業部会／文部省遺伝子治療臨床研究（HIV）審査ワーキンググループ（厚生科学課／文部省研究助成課）、各種国際協力事業などに協力した。

#### 研究業績

##### 1. 生物薬品の特性と品質評価技術に関する研究

i) シアル酸含量の低い組換えヒト型エリスロポエチン（r-hEPO）に、 $\alpha 2, 6$ -sialyltransferaseと $\alpha 2, 3$ -sialyltransferaseを用いてシアル酸を導入し、*in vivo*生物活性の変化を調べたところ、いずれも同程度の活性の上昇が認められたことから、シアル酸の結合様式は*in vivo*活性に影響しないことがわかった（HS財団受託研究費）。

ii) r-hEPO製剤の糖鎖部分の品質評価法の確立を目的として、ANTS標識糖鎖の蛍光体支援糖質電気泳動法（FACE法）を用いて3種のEPOの糖鎖の逐次消化パターンを解析し、シーケンシング法がEPO糖鎖の分子多様性を解析する方法として有用であることがわかった（HS財団受

託研究費)。

iii) M-CSF レセプター高発現細胞株が親細胞株に比べて TPA による分化誘導に強い感受性を示す機構の一つとして、高発現細胞株においてプロテインチロシンホスファターゼの含量、生合成が増大していることが考えられた (HS 財団受託研究費)。

iv) バイオテクノロジー応用医薬品の評価技術の開発の一環として、トロンボモジュリン (TM) を取り上げ、各 TM の社内力価 (単位) の相互関係、二種類の測定系に対する反応性を調べた。その結果二種類の測定系において各社 TM は直線関係を示し、かつ同様な濃度依存性を示すこと、更に個々の社内力価 (単位) が相互に換算可能であることを確認した (HS 財団受託研究費)。

## 2. 医薬品の有効性と安全性に関する生物化学的研究

i) 多形核白血球機能の分子機構並びに各種薬剤の有害作用発現に関する生化学研究の一環として、L-plastin の至適量のリン酸化が活性酸素産生系の活性化に必要であることを見いだした。

ii) 血栓溶解剤 t-PA 投与後の血管再閉塞の原因とされているプラスミンによる血小板凝集について検討し、ヒト血小板のプラスミンに対する反応性が加齢と共に増加することを明らかにした。また、プラスミンによる血小板凝集は t-PA により促進され、ADP 及びトロンピンによる血小板凝集は逆に抑制される現象を見だし、プラスミンによる血小板凝集には ADP 及びトロンピンとは異なる機構が存在することを示した (HS 財団受託研究費)。

iii) 創薬研究の基盤技術として細胞内生化学現象の画像化法の開発を行い、細胞内貯蔵部位からのカルシウムイオン遊離の共焦点レーザー顕微鏡画像化に成功すると共に、高速ラインスキャン法を用いた心室筋細胞のカルシウムスパークと電気刺激によるカルシウム上昇の比較、血管壁組織中の血管内皮細胞内カルシウムイオン変動の解析を行った (HS 財団創薬科学総合研究事業)。

iv) 精巣萎縮が起こる要因をまとめた結果、精細管管腔液あるいは精細管液の変動が関与することが判明した。

## 3. 生体内活性物質の作用機序と細胞機能に関する研究

i) ヒト赤芽球系培養細胞 K562 株を用いてヘモグロビン合成調節機構について検討し、ヘモグロビン合成はトランスフェリン受容体の発現によって調節されていること、また、ヘムはトランスフェリン受容体の発現を低下させることによってヘム合成を抑制することが明らかとなった (厚生科学研究費補助金)。

ii) ホルモン剤の作用発現に関与する諸因子に関する研究の一環として、初代培養肝細胞におけるハービマイシン A によるグルココルチコイド受容体の減少作用について調べた結果、分解の亢進によるものであることを示唆する結果を得た。

iii) 細胞増殖、分化誘導の調節機構に関する研究として、増殖因子・サイトカイン刺激により誘導される Stat 3 のセリンリン酸化について検討し、EGF などのシグナル伝達系では主として MAPK が Stat 3 のセリンリン酸化に関与しているが、IL-6 では MAPK 以外のキナーゼが関与していることを明らかにした。

iv) カルシウムイオンと cAMP を介した細胞内情報伝達機構へ影響する環境汚染物質の検索法の総合評価を行った (環境庁公害予算)。

v) 心室筋細胞内で生じるカルシウムスパークは細胞内貯蔵部位からの一定単位の放出現象であることを示すと共に、cAMP はこの現象を強めることを明らかにした (文部省科学研究費補助金)。

vi) 食細胞の活性酸素産生系の調節因子の解明と機能分化に係わる因子についての研究の一環として、HL-60 細胞の好中球への分化に対する G-CSF の促進作用の解析を行い、機能分化の促進と Rac 2 の発現亢進が相関することを見いだした。また、G-CSF による HL-60 細胞の好中球分化への促進作用には Stat 3 の活性化が関与することを示唆する結果が得られた (HS 財団受託研究)。

vii) 病態時における生理活性ペプチドの変動に関する研究として、動物の肢の損傷により、反対側の肢においてサブスタンス P が減少することを観察した。

## 4. 先端技術を利用した生体成分関連医薬品の有用性確保に関する研究

i) 膜融合リポソームの遺伝子導入特性解析の一環として末梢血リンパ球との反応性を解析し、monocyte, CD4<sup>-</sup>/CD8<sup>+</sup>T 細胞へは本ベクターを用いた物質導入が可能であること、更に B 細胞, CD4<sup>+</sup>T 細胞, CD8<sup>+</sup>T 細胞は本ベクターとの融合が起こらないことを見いだした (厚生科学研究費補助金)。

ii) フォトニクス技術を用いた細胞内生化学現象の画像化法の高度化を計ると共に、細胞内 pH 画像化法を改良して、培養海馬ニューロンの細胞内カルシウムイオン、pH を画像化したところ、グルタミン酸刺激による細胞内アシドーシスへの細胞質カルシウムイオン濃度上昇以外の要因の関与を示唆する結果を得た (HS 財団創薬科学総合研究事業)。

## 5. 診断用医薬品に関する基礎的研究

i) 安全性評価のための迅速かつ鋭敏な毒性指標の確立に関する研究として、PCR を用い、肝臓毒による HGFmRNA の変動を迅速に定量することができた。

ii) アシアロ糖タンパク質受容体の RIA による定量法を確立した (科学技術庁国立機関原子力試験研究費)。