

スペクトル法の製剤工程管理への適用事例研究について実験結果に基づく考察を行い、バリデーションのライフサイクルについて、管理戦略の変遷・管理と関連づけて考察した（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）。

## 8. 国際動向を踏まえた医薬品の品質確保に関する研究

ICH（医薬品規制国際調和会議）の金属不純物ガイドラインの実施作業部会（Q3D）の活動に参加し、プレステップ2ガイドラインを作成し、ICH関連者のコメントを求めて改訂作業を進めた（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）。

管理戦略（control strategy）、Critical / Non-critical、申請資料の程度（内容と量）、QbD下におけるモデル化の役割、デザインスペース、プロセスバリデーション／プロセスベリフィケーションの6つのテーマについてpoints to considerを作成した（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）。

## 生物薬品部

部長 川崎 ナナ

### 概要

新有効成分含有医薬品全体に占めるバイオ医薬品の割合は年々増加しており、国際一般名リストに登録されるバイオ医薬品の割合も2000年の23%から2011年には33%に伸びている。その一方で、この数年間に日本から生まれた新規バイオ医薬品は2製品にとどまっており、日本におけるバイオ医薬品開発の活性化が望まれている。生物薬品部は、バイオ医薬品／生物起源由来医薬品の品質・有効性・安全性評価に関する生物化学的研究を行うことにより、バイオ医薬品開発を含むライフイノベーションをレギュラトリーサイエンスの立場から支援・推進している。

平成23年度は、新規なバイオ医薬品の開発と承認審査業務の迅速化に資する研究として、抗体医薬品等の試験的製造、構造・物理化学的性質、生物活性、不純物、感染性因子（プリオン・ウイルス等）及び免疫原性評価技術の開発と標準化を行った。また、国際的に関心が高まっているバイオ後続品の品質評価に関する研究、及び平成20年の有害事象発生から継続しているヘパリン製剤の品質・安全性確保に関する研究を実施した。さらに、革新的医薬品開発支援に資する研究として、トランスジ

ェニック植物・昆虫由来タンパク質医薬品、及び高度改変タンパク質医薬品等の品質・安全性評価、細胞組織加工医薬品等のウイルス安全性評価に関する研究、並びに先端医療開発特区（スーパー特区）における薬事上の課題抽出及び対応に向けた調査研究を実施した。

これらの研究活動を通して得られた知見をもとに、医薬品開発におけるヒト初回投与試験の安全性を確保するためのガイダンス、バイオアナリシス分析法バリデーションガイドライン、抗体医薬品の品質評価のためのガイダンス、日局各条へパリン試験法、参考情報ペプチドマッピング、糖鎖（中性オリゴ糖）試験法、及び生物活性（表面プラズモン共鳴）試験法等の策定に係わった。また、薬事・食品衛生審議会、及び独立行政法人医薬品医療機器総合機構（PMDA）における日局改正及び審査業務等に協力した。

人事面では、平成23年4月30日付けで短時間勤務非常勤職員の豊田叔江氏が退職した。平成23年7月1日付けで西村和子氏が短時間勤務非常勤職員として採用された。平成23年8月1日付けで遠藤素子氏が短時間勤務非常勤職員として採用された。

海外出張は以下の通りであった。川崎ナナ部長は、第52回及び第53回医薬品国際一般名称専門家会議（スイス・ジュネーブ：平成23年4月13日、平成23年11月19日）に出席した。新見伸吾室長は、1<sup>st</sup> Immunogenicity・Determinates and Correlates Conference（米国・プロビデンス：平成23年5月9～11日）及びImmunogenicity Summit 2011（米国・ベセスダ：平成23年11月16～18日）に参加した。石井明子室長と原園景主任研究官は、米国薬局方主催バイオ医薬品の品質に関するワークショップ（米国・シアトル：平成23年10月3～6日）に参加した。橋井則貴室長及び栗林亮佑研究員は、薬剤学・生物薬剤学・製剤工学に関する第8回世界会議（トルコ・イスタンブール：平成24年3月19～24日）に参加した。

### 業務成績

#### 1. 日局医薬品各条へパリンナトリウム等の規格及び試験法の策定に関する研究

日局医薬品各条へパリンナトリウム及びへパリンカルシウムの抗IIa、抗Xa活性試験法原案、並びにへパリンナトリウム及びへパリンカルシウムの純度試験－タンパク質、及び同核酸、へパリンナトリウムの基原、へパリンナトリウム注射液の基原及び純度試験－タンパク質のパブリックコメント案を策定した。

昨年度に引き続き、純度試験違反品として自主回収されたへパリンナトリウム原薬に混入している不純物の同定を行った。

## 2. WHO/NIBSC低分子量ヘパリンナトリウム国際標準品共同検定への参加

低分子量ヘパリンナトリウム国際標準品共同検定に参加し、抗IIa活性及び抗Xa活性の測定結果を報告した。

## 3. 国立保健科学院特別課程薬事衛生管理コースへの協力

川崎部長は、上記コースの講義の講師として「バイオ医薬品の品質保証」について講義した。

## 4. 国際協力

石井室長は、国際厚生事業団（JICWELS）の平成23年度薬事行政官研修に協力して、アジア諸国の薬事行政官を対象に、生物薬品部の研究業務の紹介とバイオ医薬品の品質評価に関する研修を行った。また、川崎部長はWHOの医薬品国際一般名称事業に協力した。

## 5. その他

薬事・食品衛生審議会の各種部会、並びにPMDAにおける新有効成分含有医薬品の承認審査及び一般的名称作成に係る専門協議に参画した。また、日本薬局方の改正及び標準品更新作業に協力した。

バイオリジクスの研究開発、製造に係る諸問題、及び製品の品質・有効性・安全性評価等に関する研究発表並びに情報交換の場として設置されたバイオリジクスフォーラムの第9回学術集会を「日本が抱えているバイオ医薬品の懸案」をテーマに開催した。

## 研究業績

### 1. バイオ医薬品の品質評価に関する研究

1) 医薬品の製造・品質管理の高度化と国際化に対応した日本薬局方の改正のための研究（厚生労働科学研究費補助金）

第十六改正各条バソプレシン注射液の純度試験を現行の動物を用いた試験からHPLCを用いた試験に移行させるため、LC/MSを用いて合成バソプレシン製剤の不純物プロファイリングを行い、不純物として、酸化体及び分子間S-S結合形成物を見出した。また、バソプレシン純度試験に求められる要件を明らかにした。

2) バイオ後続品の品質評価等に関する研究

本邦では後発品の扱いとなっている低分子量ヘパリンを含め、バイオ後続品の評価に関する欧米規制当局の考え方を調査した。バイオ後続品の評価においては、同等性／同質性評価における品質比較試験の充実、構造活性相関情報の蓄積、安全性予測法の開発が重要であることを考察した。

3) 遺伝子組換え医薬品等のプリオン安全性確保のための検出法及びプリオン除去工程評価に関する研究（厚生労働科学研究費補助金）

異常型プリオンの特異的検出法開発の一環として、

電気泳動ゲルから微量糖タンパク質を高収率で回収する方法について検討を行い、Cy5標識した糖タンパク質を電気泳動後、固定せずに2-プロパノール水溶液で抽出する方法が有用であることを見出した。

4) 抗体医薬品の製造方法、品質特性解析法及び試験法の開発（政策創薬総合研究事業）

① 9機関共同で抗体医薬品の糖鎖試験法としての逆相及び親水性相互作用HPLC、HPLC/PAD、キャピラリー電気泳動並びに質量分析などの特徴、課題並びに留意すべき事項を明らかにし、標準的試験法を策定した。

② 表面プラズモン共鳴法を用いた抗体医薬品の結合性試験について、FcRn結合親和性をモデルとして分析手順を作成し、多機関共同検定により、標準的試験法としての適用可能性を確認した。

③ 動的光散乱法はSEC法では検出できない粒子径約1800nmの抗体医薬品の凝集体を単量体に比べて100倍以上高い感度で測定できることが確認され、高分子量の凝集体検出を目的とした抗体医薬品の工程内管理試験法及び規格試験法として有用であることが示唆された。

5) 細胞応答を指標とした医薬品の特性解析及び活性評価法に関する研究（政策創薬総合研究事業）

① ペプチドを基質としたインビトロキナーゼアッセイで活性未知の新規化合物のキナーゼ阻害効果を解析した結果、新規化合物はその類縁化合物に比べ高い阻害活性を有することを見出した。

② 抗腫瘍効果を有する生薬抽出物について、ヒト肝癌由来HuH-7細胞のmiRNA発現に対する影響を解析した結果、抗腫瘍効果への関与が示唆される6種のmiRNAの発現亢進が見出され、新たな評価法開発への糸口となった。

6) 医薬品規制の国際調和の推進による医薬品審査の迅速化のための基盤的研究（厚生労働科学研究費補助金）

① 抗体医薬品の生物活性評価系におけるフローサイトメトリーを用いたCell-based binding assay及び、Bridging Assayの有用性を明らかにした。

② 製造方法及び基原が異なる3種類のIFN- $\beta$ 製剤の力価測定法として、A549細胞を用いた導入レポーター遺伝子の発現促進を指標とした試験法について検討した。その結果、3種類のIFN- $\beta$ 製剤により表示単位に依存してほぼ同程度遺伝子発現が促進され、本法が力価測定法として有用であることが示唆された。

③ バイオ医薬品のQbDケーススタディを実施するためのモデル系としてトラスツズマブの実験的製造系を構築し、目的とする構造と活性を有することを確

認した。

- ④ 遺伝子治療のFirst-in-Human で求められているウイルスベクターのデータを調査し、遺伝子治療臨床研究指針の改定で盛り込むべき品質要件を明らかにした。

## 2. バイオ医薬品の有効性・安全性評価に関する研究

- 1) バイオ医薬品のバイオアナリシス分析法バリデーションに関する研究(厚生労働科学研究費補助金)

バイオアナリシス分析法バリデーションガイドランス策定をめざして、欧米のガイドランス等の比較検討と日本のガイドランスの方向性の確認を行った。

- 2) 抗体医薬品によるインフュージョン反応の発現メカニズム解析と予測系の構築(科学研究費補助金(文部科学省))

インフュージョン反応の発現への関与が考えられるFcγRIIaの遺伝子多型が受容体機能に及ぼす影響を明らかにした。ヒト末梢血単核球を用いた、抗体医薬品によるサイトカイン放出測定系を構築した。

- 3) 抗体医薬品の構造特性・機能及び免疫原性と新規Fc受容体DC-SIGNの関連に関する研究(科学研究費補助金(文部科学省))

DC-SIGN安定発現細胞株を樹立し、Cell-based binding assay系を構築した。また、免疫グロブリン製剤からシアル酸結合性レクチン吸着画分を精製し、DC-SIGN結合性を評価した。

- 4) 治験対象バイオ医薬品の品質・安全性に関する研究(厚生労働科学研究費補助金)

昨年に引き続き、治験対象医薬品ヒト初回投与試験安全性確保のための品質要件を明らかにした。

- 5) ホルモン等の作用発現に関与する諸因子に関する研究

培養肝細胞においてグルココルチコイド依存的な特異的遺伝子のmRNAレベルの増加に対して抑制的に作用するプロテアソームの阻害剤は、グルココルチコイド受容体のグルココルチコイド応答配列に対する結合を阻害しないことを明らかにした。

- 6) タンパク質医薬品の免疫原性に関する研究

タンパク質医薬品の免疫原性が安全性に及ぼす共通な影響はI及びIII型アレルギーであり、通常対処可能であるため低リスクと評価されることを明らかにした。一方、他の内在性タンパク質により機能が補完されない自己免疫疾患を伴う内在性タンパク質の自己欠損症候群は高リスクと評価され、サンプリングの頻度を多くすると共に結合抗体試験だけでなく中和抗体試験で抗体の評価を行なう必要があることを明らかにした。

- 7) Fcドメイン含有タンパク質医薬品の生体内分布・分

解と半減期に関する研究(科学研究費補助金(文部科学省))

蛍光共鳴エネルギー遷移型の標識体を用いて*in vivo*での動態解析を行い、新生児Fc受容体(FcRn)結合親和性が体内動態に与える影響を明らかにした。

## 3. 高分子生理活性医薬品の品質に関する研究

- 1) ヘパリン医薬品の活性試験及び純度試験等に関する研究(医薬品審査等業務庁費)

① 日局ヘパリンカルシウム各条純度試験ータンパク質のパブリックコメント案を策定した。

② 日局ヘパリンカルシウム各条純度試験ー核酸のパブリックコメント案を策定した。

③ 日局ヘパリンナトリウム各条純度試験ータンパク質のパブリックコメント案を策定した。

④ 日局ヘパリンナトリウム各条純度試験ー核酸のパブリックコメント案を策定した。

⑤ 日局ヘパリンナトリウム各条基原のパブリックコメント案を策定した。

⑥ 日局ヘパリンナトリウム注射液各条基原のパブリックコメント案を策定した。

⑦ 日局ヘパリンナトリウム各条のエンドトキシン試験策定に向けて、比濁法及び比色法の試験条件の最適化を行った。

⑧ 日局ヘパリンナトリウム、ヘパリンカルシウム各条の抗IIa活性試験法の原案を作成し、ヘパリン製造販売企業との共同研究により、局方試験法としての適用可能を検証した。

⑨ 日局ヘパリンナトリウム、ヘパリンカルシウム各条の抗Xa活性試験法の原案を作成し、ヘパリン製造販売企業との共同研究により、局方試験法としての適用可能を検証した。

⑩ 日局ヘパリンナトリウム各条試験法として作成した抗IIa活性試験法、及び、抗Xa活性試験法が、ヘパリンナトリウム注射液に含まれる代表的な添加剤の存在下でも適用可能であることを確認した。

⑪ 日局ヘパリンナトリウム各条抗IIa試験、及び、抗Xa活性試験における試験成立の判定にequivalence testが有用であること明らかにした。

⑫ 低分子量ヘパリンナトリウム国際標準品の共同検定に参加し、抗IIa活性及び抗Xa活性の測定結果を報告した。

⑬ 昨年度に引き続き、国内ヘパリンナトリウム製造販売業者により自主回収されたヘパリンナトリウム原薬に含まれる未知物質について構造解析を行い、N-アセチル化の程度が低い多硫酸化コンドロイチン硫酸であることを明らかにした。

#### 4. 先端的バイオ医薬品等開発に資する品質・有効性・安全性評価に関する研究

##### 1) 新世代ポストゲノム創薬による革新的医薬品の品質・安全性評価技術の構築

タバコBY2細胞を用いた組換えタンパク質発現系を構築し、TNFR-Fc融合タンパク質を発現・精製した。精製タンパク質が動物培養細胞を用いて生産されたタンパク質と同等のTNF $\alpha$ 結合能を有することを明らかにした。

##### 2) 血液製剤への核酸増幅検査(NAT)の実施及びその精度管理に関する研究(厚生労働科学研究費補助金)

血液製剤のNATガイドラインの海外動向について調査研究を行い、NATの技術的進歩により対象ウイルスや感度要件などが変わりつつあることを明らかにした。

##### 3) 抗体医薬品等のバイオ医薬品の合理的開発のための医薬品開発支援技術の確立を目指した研究(保健医療分野における基礎研究推進事業)

① HDX/MS及びペプシン消化法を組み合わせた手法による抗体の高次構造解析法の最適化を行った。

② 抗体医薬品のADCC活性を迅速かつ簡便に測定可能なレポーターアッセイ系を構築した。また、抗体リサイクリング能の*in vitro*評価法確立のため、非標識及び標識抗体を用いた方法について、条件の最適化を行った。

##### 4) スーパー特区における薬事上の課題抽出及び対応に向けた調査研究(科学技術戦略推進費)

スーパー特区採択課題者からの薬事相談、並びに分野別意見交換会を通じて、革新的医薬品・医療機器の治験・承認申請における課題を抽出した。

##### 5) 高機能性製剤の構成要素としてのタンパク質医薬品の評価に関する研究

① タンパク質の変性を認識する蛍光色素を用いたthermal shift assayによる熱安定性評価法の有用性を確認した。

② 抗体に薬物をカップリングさせて製造する抗体薬物複合体の場合、抗体に対して過剰なモル比の薬物を用いると不溶物が形成される可能性があることを明らかにした。

##### 6) 再生医療製品の品質・安全性評価のための新たな指標に関する研究(厚生労働科学研究費補助金)

再生医療製品の安全性を脅かすと考えられたウイルスXMRVは、細胞や試薬の汚染が原因によるものであることがわかった。そこでXMRVをモデルウイルスとして使うための基礎的検討を終えた。

##### 7) 間葉系幹細胞の糖鎖を指標とした同源性/同質性評価法の開発(科学研究費補助金(文部科学省))

LC/MS及び多変量解析により、ヒト間葉系幹細胞の骨、軟骨及び神経様分化誘導初期の細胞に特徴的な糖鎖を見出した。

##### 8) グライコミクス技術による腫瘍関連糖タンパク質の探索と腫瘍マーカーへの応用(科学研究費補助金(文部科学省))

細胞周期の同調化による解析を行い、大腸癌細胞に特異的に含まれる抗シアリルルイスx抗体に反応性を示す成分の発現レベルは、DNA合成期からG2期にかけて亢進することを見出した。

##### 9) 輸血用血液製剤に対する副作用を生じない病原体不活化技術の開発に関する研究(厚生労働科学研究費補助金)

① 血液製剤の安全性確保のためのNATガイドライン改定に向けたウイルスサブタイプパネルの適用に関する検討を行った。

② 光増感剤及び光照射により血液凝固第Ⅷ因子に生じるメチオニンの酸化をペプチドマップ法により分析した。アミノ酸配列90%以上を確認し、複数の酸化部位を特定することができた。しかし、対照においても酸化が認められることから、分析操作中に生じる酸化を十分に抑制できる手法の必要性が示唆された。

③ 輸血用血液製剤の病原体不活化処理時に生じうるIgGの酸化がFc $\gamma$ 受容体を介した生物活性の発揮に及ぼす影響について明らかにした。

④ ウイルス不活化能の評価法を開発するため、非エンベロープウイルスであるカリシウイルスの性質を調べた。このウイルスは、サル細胞への感染性が高いが、ヒト細胞には種の壁があり、感染しないことがわかった。

## 生 薬 部

部 長 合 田 幸 広

### 概 要

当部では生薬、生薬・漢方製剤の品質確保と有効性に関する試験・研究、生薬資源に関する研究、天然有機化合物の構造と生物活性に関する研究並びに、麻薬及び向精神薬等の乱用薬物、無承認無許可医薬品等に関する試験・研究を行っている。また、上記の業務関連物質について、日本薬局方をはじめとする公定医薬品規格の策定に参画するとともに、食薬区分に関する調査・研究並びに、天然薬物の規格に関する諸外国との国際調和に関する研究を行っている。