

した（AMED／医薬品等規制調和・評価研究事業）。

## 生物薬品部

部 長 石 井 明 子

### 概要

生物薬品部は、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）の品質・有効性・安全性確保に資するレギュラトリーサイエンス研究を行っている。

バイオ医薬品をめぐるこの一年のトピックとして、バイオ医薬品とバイオシミラーに関する社会的関心の高まりが挙げられる。平成30年度厚生労働省医政局経済課事業にて、国内初の取り組みとして、医療関係者向けのバイオ医薬品・バイオシミラー講習会が全国11カ所で計12回行われ、うち8回で、生物薬品部の職員が「バイオ医薬品とバイオシミラーの基礎知識」に関する講師を務めた。同事業では全国2カ所で、市民公開講座「バイオ医薬品・バイオシミラーって何？」が開催されており、バイオ医薬品への関心が、専門家のみならず一般社会にも広がっている様子がうかがわれる。また、生物薬品部が運営を担った医薬品レギュラトリーサイエンスフォーラムでは「バイオシミラーへの期待と課題」をテーマとし、バイオシミラーの開発・承認・臨床での使用に関して、充実した発表と議論が行われた。

政府施策としても、平成30年6月に閣議決定された骨太の方針2018において、バイオ医薬品とバイオシミラーの研究開発・普及を推進するとの方針が示されている。しかし、バイオシミラーに関する期待が高まる一方で、医療現場での受け入れは十分でないとも言われており、製品の品質確保・安定供給と市販後の有効性・安全性情報の蓄積による普及推進が課題となっている。今後、国内で用いられているバイオシミラーの品質情報を得ていく必要があると考えられたことから、市場に流通する既承認バイオシミラー製剤の品質評価の準備に着手した。

平成30年には、抗体医薬品10品目及び酵素類3品目の新有効成分バイオ医薬品と6品目のバイオ後続品が承認された。新たに承認されたバイオ医薬品には、二重特異性抗体2品目が含まれる他、これまでにバイオ医薬品の適応がなかった疾患を対象とする抗体医薬品等もあり、モダリティーや適応疾患の多様化が進んでいる。今後も、アンメットメディカルニーズを満たす先端的なバイオ医薬品開発と、バイオ医薬品への患者のアクセス向上に寄与するバイオシミラー開発の双方が発展していくと

考えられる。生物薬品部では、このような状況のもとで抽出された課題解決に向けた研究に取り組んだ。

AMED創薬基盤推進研究事業におけるバイオ医薬品の品質評価に関する官民共同研究では、先端的分析技術を用いたタンパク質凝集体評価法の分析性能評価研究等を継続し、秋の班会議では、米国NISTのSrivalli Telikepalli博士をゲストに、FDAのRukan DeSilva博士のWeb参加も得て、成果発表と議論を行った。AMED医薬品等規制調和・評価研究事業では、改変型抗体医薬品の品質安全性確保のため、低分子抗体医薬品の品質及び安定性評価法の開発を進めると共に、pre-existing抗体の評価系を構築した。免疫原性評価に関して、抗薬物抗体分析法の標準化と抗薬物抗体パネル整備を進めた。新たな研究課題として、バイオ医薬品の連続生産における品質管理手法、及び、次世代型中分子ペプチド医薬品の品質及び安全性確保のための規制要件に関する研究を開始した。

平成30年度に生物薬品部から発表された主な論文は、以下の通りである。原園、柴田、木吉、石井らによる論文“Interlaboratory comparison about feasibility of insoluble particulate matter test for injections with reduced test volume in light obscuration method”（Biologicals 2019）では、多機関での検証により、光遮蔽法を用いた不溶性微粒子試験において、試験液量を低減できる可能性を示した。本論文の内容は、第十七改正日局第二追補新規収載一般試験法<6.17>タンパク質医薬品注射剤の不溶性微粒子試験法の原案作成に活用された。

木吉、柴田、原園、石井らによる論文“Collaborative Study for analysis of subvisible particles using flow imaging and light obscuration: Experiences in Japanese biopharmaceutical consortium”（J Pharm Sci. 2018）では、独自に調製した特性の異なるタンパク質凝集体試料を活用し、バイオ医薬品製剤試験への導入が考えられているフローイメージング法の分析性能を明らかにした。本論文の内容は、タンパク質凝集体評価に関する日局参考情報作成の基礎情報として活用されている。

橋井、鈴木（淳）、石井らによる論文“In-depth site-specific O-Glycosylation analysis of therapeutic Fc-fusion protein by electron-transfer/higher-energy collisional dissociation mass spectrometry”（Biologicals 2019）では、EThcDを備えた質量分析装置を活用してLC/MSによるFc融合タンパク質デュラグルチドのO糖鎖構造解析を行い、キシロース修飾やムチン型糖鎖修飾の存在を初めて明らかにした。

多田、鈴木、石井による論文“Development and characterization of an anti-rituximab monoclonal

antibody panel” (mAbs 2018) では、抗リツキシマブ抗体8クローンを取得、それぞれのキメラ抗体を作製して抗原結合や抗原抗体複合体の特徴を明らかにし、抗薬物抗体パネルとしての有用性を示した。本研究で取得した抗薬物抗体は、WHO国際標準パネルとしての活用に向けて、次世代バイオ医薬品製造技術研究組合、及び、英国NIBSCとの共同研究に発展している。

青山、多田、橋井、石井らによる論文“Effects of amino acid substitutions on the biological activity of anti-CD20 monoclonal antibody produced by transgenic silkworms (*Bombyx mori*)” (BBRC 2018) では、トランスジェニックカイコで発現させたFc領域アミノ酸配列改変抗体について、エフェクター活性を中心に、特性を明らかにした。

西村、柴田、石井らによる論文“Elucidation of the statistical factors that influence anti-drug antibody cut point setting through a multi-laboratory study” (Bioanalysis 2019) では、抗薬物抗体分析において、陽性判定基準となるカットポイントの設定に用いられている種々の解析手法を比較し、算出されるカットポイントに影響する要因を明らかにした。

特筆すべき成果として、平成30年9月15日に開催された第4回次世代を担う若手のためのレギュラトリーサイエンスフォーラムにおいて、「FcγRIIIa/FcγRIIIb 共発現レポーター細胞株を用いた抗体医薬品による免疫細胞活性化評価」に関する発表を行った青山道彦研究員が、優秀発表賞を受賞した。

これらの研究の他、医薬品等GMP対策事業において、収去品の公的試験として、1品目の試験を実施した。また、薬事・食品衛生審議会、厚生科学審議会、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、元生物薬品部第三室長で、医療機器部長も務められた新見伸吾博士が、再任用研究員の任期を終えて、平成30年3月末に退職された。

海外出張は以下の通りであった。石井部長：12th Workshop on Recent Issues in Bioanalysis (米国・フィラデルフィア：平成30年4月9日～13日、口頭発表)、ICH M10 専門家作業部会会議 (米国・シャーロット：平成30年11月11日～15日)；柴田室長：ICH Q2 (R2) / Q14 専門家作業部会会議 (米国・シャーロット：平成30年11月12日～15日)；柴田室長・原園主任研究官・木吉研究員：2018 Workshop on Protein Aggregation and Immunogenicity (米国・コロラド：平成30年7月30～8月2日、ポスター発表)

## 業務成績

### 1. 日局各条生物薬品に含まれる不純物の規格及び試験法原案の作成及びその検証に関する研究

局方各条試験法の国際調和を図る一環として、欧州薬局方及び米国薬局方の遺伝子組換えグルカゴン各条に設定された定量法について、合成グルカゴン定量法としての応用可能性評価を行い、同定量法により、合成グルカゴンの定量が可能であることを確認した。

### 2. 国際協力

青山研究員及び多田室長は、WHO/NIBSCにより策定が進められている抗TNF $\alpha$ 抗体アダリムマブ国際標準品の国際共同検定に協力した。

ICH関連では、厚生労働省とFDAの共同提案により平成30年6月に採択された新規トピックQ2 (R2) / Q14 (分析法バリデーション/分析法開発) において、柴田室長が規制側トピックリーダーを務め、コンセプトペーパーの作成等に貢献した。石井部長は引き続き、ICH M10のラポーターを務め、専門家作業部会内での合意 (ステップ1) 到達に貢献した。

### 3. 都道府県薬事行政等への協力

富山県薬事総合研究開発センターからの研修生を受け入れ、原園主任研究官が糖鎖解析等の技術指導を行った。柴田室長は、国立保健医療科学院薬事衛生管理研修コースの副主任を務め、コースの企画運営に協力した。石井部長は同コースの講師として「バイオ医薬品の品質保証」について講義した。

### 4. 大学との連携

大阪大学大学院薬学研究科及び北海道大学大学院生命科学院と連携し、講義等を通して学生の指導を行った。石井部長は、平成30年7月11日高崎健康福祉大学薬学部において「バイオ医薬品の研究開発とレギュラトリーサイエンス研究」、平成30年7月20日に大阪大学大学院薬学研究科の学生を対象に「バイオ医薬品の開発と品質・安全性確保」について講義した。橋井室長は、平成30年5月19日近畿大学大学院薬学研究科において「バイオ医薬品の品質評価」について講義した。日向主任研究官は、平成31年1月8日明治薬科大学薬学部において、「バイオ医薬品の製造と品質管理」について講義した。

### 5. シンポジウム及び学術集会等の開催

平成30年12月14日に薬学会長井記念館で開催された日本薬学会レギュラトリーサイエンス部会主催医薬品レギュラトリーサイエンスフォーラム「バイオシミュレーへの期待と課題」において、石井部長が実行委員長を務め、

生物薬品部が運営の全般を担った。原園主任研究官は、平成31年3月7日に国衛研会議室にて行われた第152回日本質量分析学会関東談話会「MSユーザーが支えるライフサイエンスイノベーション」を企画運営した。

## 6. その他

薬事・食品衛生審議会の部会、厚生科学審議会、並びにPMDAにおける新有効成分含有医薬品及びバイオ後続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、日本薬局方の改正作業並びに日本薬局方生物薬品標準品の品質評価に協力した。

## 研究業績

### 1. バイオ医薬品の品質評価に関する研究

#### 1) バイオ医薬品の凝集体／不溶性微粒子試験法の開発と標準化 (AMED 創薬基盤推進研究事業)

フローイメージング法において、シリコーンオイルと凝集体を区別する性能について、機関間及び装置間の比較を行い、標準的な解析方法が設定可能か検討を開始した。粒子撮影時のフォーカスや閾値の設定が性能に大きく影響することを明らかにした。

#### 2) 標準的な糖鎖試験法の開発 (AMED 創薬基盤推進研究事業)

糖鎖の遊離から各種の遊離糖鎖の精製法、2-AB及び2-AA誘導体化法及び精製法、親水性相互作用クロマトグラフィー並びに親水性相互作用及び陰イオン交換クロマトグラフィーの混合モードの分析条件の検討を行い、妥当と考えられる分析手順と得られるクロマトグラムを示した。

#### 3) 宿主細胞由来タンパク質試験法に関する研究 (AMED 創薬基盤推進研究事業)

①抗宿主細胞由来タンパク質抗体を用いたサンドイッチELISAのバリデーションの標準的な実施手順書を作成した。

②モデル抗体医薬品発現細胞の培養上清から、希釈直線性の評価に用いる試料を調製する方法を確立した。

#### 4) バイオ医薬品の力価試験法に関する研究 (AMED 創薬基盤推進研究事業)

前年度に実施したケーススタディの結果をもとに、試験成立条件の設定と相対力価算出における留意事項を明らかにした。

#### 5) Fc受容体固定化カラムを用いた抗体医薬品の特性解析法の開発 (AMED 創薬基盤推進研究事業)

FcγRIIIa固定化アフィニティークロマトグラフィーの分析性能を明らかにするため、IgGサブクラス異なる抗体、糖鎖改変抗体、Fc融合タンパク質等を試料とした分析を行い、主ピークの保持時間の違

いや、糖鎖構造の違いに起因すると想定されるピークの分離能を明らかにした。

#### 6) 改変型抗体医薬品等の構造解析に関する研究 (AMED 医薬品等規制調和・評価研究事業)

薬物やポリエチレングリコール等で修飾した非天然アミノ酸含有低分子化抗体等の構造特性解析を行い、非天然型アミノ酸を利用した修飾に伴う高次構造及び凝集性の変化を明らかにした。

#### 7) 改変型抗体の長期安定性の予測法の確立 (AMED 医薬品等規制調和・評価研究事業)

PEG化抗体、及び、抗体薬物複合体の作製を行った。また、劣化反応を促進する条件検討を行った。劣化条件にサンプルを保存した後、熱安定性、凝集体形成及び劣化反応の評価を行った。

#### 8) 改変型抗体医薬品の品質安全性評価に関する研究 (AMED 医薬品等規制調和・評価研究事業)

改変型抗体医薬品で生じ得る安全性上の課題に関し、関連する品質及び臨床的要因を整理し、リスク低減策を考察した。

#### 9) バイオ後続品に関する市販後安全性調査と品質確保に関する研究 (一般試験研究費)

バイオ後続品の品質評価のための試験法として、不溶性微粒子に関する試験法の整備を行った。

### 2. バイオ医薬品の有効性・安全性評価に関する研究

#### 1) 高速液体クロマトグラフィー／質量分析を用いた高分子薬物濃度測定法に関する研究 (AMED 創薬基盤推進研究事業)

Peptide Adsorption-Controlled LCを用いたLC/MSシステムと前年度最適化した前処理手法を組み合わせ、アフィニティー精製を行わない、簡便、且つ汎用性の高いバイオアナリシス手法を構築し、ヒト血清中抗体医薬品の濃度測定のための標準的な手法として利用可能であることを実証した。

#### 2) 抗体医薬品に対する抗薬物抗体パネルの構築 (AMED 医薬品等規制調和・評価研究事業)

アダリムマブ及びインフリキシマブに対するヒトIgG1型の抗薬物抗体が、アダリムマブとインフリキシマブの抗原 (TNF $\alpha$ ) 中和能に及ぼす影響を明らかにした。ヒトIgG4, ヒトIgM, ヒトIgE型の抗薬物抗体発現ベクターを構築し、発現・精製条件を検討した。

#### 3) 免疫原性評価法に関する研究 (AMED 医薬品等規制調和・評価研究事業)

①抗薬物抗体分析法のバリデーション及び実試料分析における留意事項を明らかにした。

②免疫原性に関する臨床的要因を明らかにする目的

で、抗体医薬品及びFc融合タンパク質医薬品投与日本人患者血清中の抗薬物抗体及び薬物の測定を行った。

4) Pre-existing antibodyに着目した改変型抗体医薬品の安全性予測・評価に関する研究 (AMED 医薬品等規制調和・評価研究事業)

前年度に構築したアッセイ系を用いて、種々の改変型抗体に対するpre-existing antibodyの有無をスクリーニングし、改変型抗体の特定の構造を認識するpre-existing antibodyがヒト血清あるいは血漿中に存在することを明らかにした。

5) 補体活性に着目したバイオ医薬品の凝集体特性と安全性との連関 (科学研究費補助金)

大きさや形状、透明度などの特性の異なる凝集体による補体活性化を評価した。

6) FcγRIIIbを介した、抗体医薬品によるヒト好中球活性化機構の解明 (科学研究費補助金)

FcγRIIIbを介した刺激により活性化する細胞内リン酸化タンパク質を回収・同定した。ヒト好中球を模したFcγ受容体発現レポーター細胞としてFcγRIIIa-FcγRIIIb共発現細胞を樹立した。

7) バイオ後続品による有害事象の調査 (一般試験研究費)

GCSF製剤のバイオ後続品等による有害事象について調査を継続した。日本ではベグフィルグラスチムをコントロールとしたときにフィルグラスチムによる間質性肺疾患の比例報告比はコントロールと同程度であること、レノグラスチムによる間質性肺疾患の比例報告比はコントロールよりもやや高いが、有意差はないことが確認できた。

8) バイオ医薬品の国内外における有害事象発現状況の調査 (一般試験研究費)

ウステキヌマブ等について併用薬や適用理由等を考慮し解析を実施した。日本ではウステキヌマブをコントロールとしたときにセクキヌマブによる肺炎の比例報告比はコントロールよりも有意に低いことが確認された。

### 3. 日本薬局方等における生物薬品関連試験法の整備と国際調和に関する研究

1) 日本薬局方の国際化に関する調査研究 (医薬品承認審査等推進費)

第十七改正日本薬局方第二追補に記載される生物薬品関連の各条、一般試験法、及び参考情報について、適切な英語表記に関する調査を行った。

2) 日局生物薬品各条試験法に関する研究 (医薬品承認審査等推進費)

局方各条試験法の国際調和を図る一環として、欧州薬局方及び米国薬局方の遺伝子組換えグルカゴン各条に設定された定量法について、合成グルカゴン定量法としての応用可能性評価を行い、同定量法により、合成グルカゴンの定量が可能であることを確認した。

3) 医薬品品質保証システムの国際的な進歩に対応した日本薬局方改正のための研究 (AMED 医薬品等規制調和・評価研究事業)

抗体医薬品原薬の規格及び試験方法として設定される代表的な評価項目について、試験法を構築し、日局抗体医薬品各条の記載例を作成した。

4) Analytical Quality by Design (AQbD) による分析法のライフサイクルマネジメントに関する研究 (AMED 医薬品等規制調和・評価研究事業)

AQbDを活用して分析法を開発する際の設計・開発、管理戦略構築の考え方、手順をまとめた。

5) バイオ医薬品のライフサイクルマネジメントに関する研究 (AMED 医薬品等規制調和・評価研究事業)

ICH Q12 (医薬品のライフサイクルマネジメント) 案で述べられているEstablished Conditionsに関し、バイオ医薬品の製造方法及び規格及び試験方法で該当するものを考察し、Q12実装を想定した承認申請書の記載例作成を開始した。

6) 生体試料中薬物濃度分析法バリデーションの国際調和に関する研究 (AMED 医薬品等規制調和・評価研究事業)

ICH M10 (生体試料中薬物濃度分析法ガイドライン) に関して、専門家作業部会での合意文書をまとめた。

7) バイオ後続品の品質・安全性・有効性評価のための指針改正に関する研究 (AMED 医薬品等規制調和・評価研究事業)

平成21年に発出された「バイオ後続品の品質・安全性・有効性確保のための指針」に関し、これまでに蓄積された知見や最新の国際動向を踏まえ、改正のための素案を作成した。

8) タンパク質定量法に関する研究 (医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス財団研究補助金)

タンパク質定量法の現状として、日局生物薬品各条におけるタンパク質定量法の設定状況、既承認のタンパク質医薬品146品目の定量法における測定手法等について調査し、日局参考情報「タンパク質定量法」の改正案の作成に資する考え方を整理した。

9) 日本薬局方等の医薬品品質公定試験法拡充のための研究開発 (一般試験研究費)

日局参考情報「バイオ医薬品の品質確保の基本的考え方」の一部の草案を作成した。

- 10) アダリムマブ国際標準品の品質評価に関する研究  
(一般試験研究費)

アダリムマブ国際標準品の品質評価に関する国際共同検定に参加，生物活性評価を実施し，結果をWHOに報告した。

#### 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) 質量分析を用いた糖タンパク質の網羅的な部位特異的糖鎖差異解析手法の開発 (AMED 医薬品等規制調和・評価研究事業)

これまでに検討した糖ペプチド濃縮技術，及び糖ペプチド同定技術を用いて，モデル培養細胞等由来の酵素消化物を試料として，糖ペプチドデータの集積を行った。

- 2) 特殊ペプチドの品質評価手法に関する研究AMED 医薬品等規制調和・評価研究事業)

試験的に製造されたPD-L1結合環状ペプチドの品質特性解析法として，PD-1/PD-L1結合阻害解析法，表面プラズモン共鳴法を用いたPD-L1結合活性解析法，質量分析を利用した構造解析法について検討し，ペプチド医薬品とその不純物，これらの劣化試料（加温，酸化）を対象に，解析を進めた。

- 3) 中分子ペプチド医薬品の品質安全性確保に関する研究 (AMED 医薬品等規制調和・評価研究事業)

中分子ペプチド医薬品原薬の品質確保について，化学薬品及びバイオ医薬品に関するICHガイドラインとの関連を整理した。また，ICH Qカルテットの考え方に従った品質管理戦略構築の考え方をまとめた。

- 4) バイオ医薬品の連続生産における品質管理手法に関する研究 (AMED 医薬品等規制調和・評価研究事業)

バイオ医薬品の連続生産に関する技術開発動向を調査するとともに，培養工程，及び，精製工程を連続化する場合の留意事項について考察した。Multi-Attribute Methodを用いた品質評価・管理手法の構築を開始した。

- 5) 抗体医薬品の分子設計に起因するFcRn親和性の変化が動態等に及ぼす影響の解明 (科学研究費補助金)

ヒトFcRnトランスジェニックマウスの繁殖を行うと共に，動態解析に使用するFcRn親和性改変抗体等について，Fcγ受容体結合性や立体構造の違いを明らかにした。

- 6) FcγRIIbを介する抗体医薬品の薬理作用・薬物動態制御機構の解明 (科学研究費補助金)

FcγRIIbを介した細胞内シグナル伝達，及び，抗体の細胞内輸送を解析するため，種々のヒト培養細胞株におけるFcγRIIbの発現の有無について検討し，

FcγRIIbを介した細胞応答の解析に適した細胞株の選別を行った。

## 生 薬 部

部 長 袴 塚 高 志

### 概 要

当部では生薬，生薬・漢方製剤の品質確保と安全性・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，天然薬物の規格並びに違法薬物等の規制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。

特に，生薬・漢方製剤関連では，日本薬局方原案検討委員会生薬等委員会等において，第18改正日本薬局方に関する審議に参画し，生薬及び漢方処方エキス等の新規収載及び既収載品目各条，及び関連する一般試験法，参考情報等における原案作成に寄与した。また，日本薬局方外生薬規格（局外生規）の改訂のための検討を主導し，平成30年12月14日の局外生規2018の発出に貢献した。さらに，一般用漢方製剤の安全使用に資するWebサイト「漢方セルフメディケーション」の整備を行った。

違法薬物関連では，新たな指定薬物の指定に貢献し，これらの標準分析法を作成し，分析用標品の交付を行うとともに，都道府県の担当者等を対象に指定薬物分析研修会議を開催した。さらに，違法ドラッグデータ閲覧システムについて，新たに指定された化合物の更新作業を行い，平成31年3月時点で758化合物2212製品の情報を擁する同システムを，引き続き国内外の公的機関を中心にアクセス制限付きで公開した。

生薬及び違法薬物に関する国際対応関連では，当部はWestern Pacific Regional Forum for the Harmonization of Herbal Medicines (FHH)「生薬に関する国際調和のための西太平洋地区会議」の日本事務局としてFHHの活動に寄与するとともに，平成29/30年度の幹事国として常任委員会（平成30年10月，つくば）を主催し，さらに，袴塚・政田は第2分科会（同年7月，米国・ロックスビル）に参加した。また，国際標準化機構（ISO）のTC249（中国伝統医学専門委員会）において，古代中国医学を源とする東洋伝統医学の生薬，処方，鍼灸関連器具・機器及び用語についての国際標準化が進みつつあり，袴塚が主導して作成した「天然物製剤の製造工程