

生物薬品部

部長 川崎 ナナ

概要

未だ満たされていない医療ニーズに応える医薬品として、バイオ医薬品等の開発と実用化には大きな期待が寄せられている。平成24年度は、5品目のバイオ医薬品が新有効成分として承認されたことに加え、第3、4番目のバイオ後続品が相次いで承認された。また、新たな作用メカニズムを持つ抗体医薬品やがんワクチンなど先端的バイオ医薬品の開発研究に進展が見られた。このような現状を踏まえ生物薬品部は、バイオ医薬品等の開発促進と審査の迅速化に資する、バイオ医薬品等の品質・有効性・安全性評価に関する生化学的研究、並びに先端的バイオ医薬品等の早期実用化に向けたレギュラトリーサイエンス研究を実施している。

平成24年度は、バイオ医薬品の品質評価に関する研究として、糖タンパク質医薬品等の試験的製造、構造・物理的・化学的性質、生物活性、免疫化学的性質、不純物、及び感染性因子に関する評価技術の開発と標準化を行った。バイオ医薬品の有効性・安全性評価に関する研究として、抗体医薬品等の薬理作用及び体内動態評価法に関する研究、免疫原性評価法の標準化、及びインターフェロン製剤の薬剤疫学研究等を行った。また、ヘパリン製剤の規格及び試験方法の策定を含む高分子生理活性医薬品等の品質評価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・安全性評価に関する研究、ウイルス等感染性因子の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）研究班によ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バイオアナリシス分析法バリデーションガイドライン、日局各条ヘパリン試験法、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）試験法の改正あるいは新規策定、並びに参考情報ペプチドマッピング及びSDSポリアクリルアミドゲル電気泳動法の国際調和に向けたコメント案作成に係わった。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）における審査業務等に協力した。さらに、GMP調査体制の国際協調に対応するため、公的認定試験検査機関に求められる手順書等の整備を行った。

人事面では、平成24年4月1日付けで、多田稔研究員が主任研究官に昇格した。PMDAとの人事交流の一環

として安全第一部・安全第二部に異動した小林哲主任研究官が、平成24年10月1日付けで帰任した。また、当部に在籍した栗林亮佑研究員が、平成25年1月1日付けでPMDAに帰任し、一般薬等審査部に配属された。約三十年に渡り当部に在籍し研究業務において多大な貢献をされた新見伸吾第三室長が、平成25年4月1日付けで医療機器部長に就任された。平成24年6月11日付けで川東真理子氏が短時間勤務非常勤職員として採用された。平成24年5月7日付けで高林誠氏が、また、平成24年6月1日付けで宮間ちづる氏が研究支援者として採用された。平成24年9月7日より中国医学科学院输血研究所研究員苑宇哲氏が日中笹川医学奨学金制度研究者として在席している。

海外出張は以下の通りであった。川崎ナナ部長は、第54回及び第55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24年5月2日、平成24年10月15日、16日）に出席した。橋井則賢第一室長は、第60回米国質量分析学会（カナダ・バンクーバー：平成24年5月20日～24日）に参加した。橋井室長及び石井明子第二室長は、ヘパリン製剤の品質評価に関するワークショップ（米国・ロックビル：平成24年8月14日、15日）に参加した。石井室長は、米国薬局方主催第5回バイオアッセイワークショップ（米国・ロックビル：平成24年12月3日～5日）に参加した。新見室長は、免疫原性サミット2012（米国・ベセスダ：平成24年10月9日～14日）、アジアバイオ医薬品及びバイオ後続品免疫原性（シンガポール・シンガポール：平成24年10月14日～17日）及び免疫原性及び免疫毒性（米国・サンジェゴ：平成25年1月30日～2月2日）に参加した。原園景主任研究官は、第26回国際糖質シンポジウム（スペイン・マドリッド：平成24年7月22～27日）に参加した。

業務成績

1. 日局各条ヘパリンナトリウム等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

日局医薬品各条ヘパリンナトリウム及びヘパリンカルシウムの定量法及び抗第Xa因子活性・抗第IIa因子活性比試験法のパブリックコメント案、並びに日局医薬品各条ヘパリンナトリウム注射液の定量法のパブリックコメント案を策定した。日局医薬品各条ヘパリンナトリウムへの日局エンドトキシシン試験法の適用可能性を検討した。

2. 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、上記コースの講師として「バイオ医薬品の品質保証」について講義した。

3. 国際協力

川崎部長はWHOの医薬品国際一般名称事業に協力した。また、公益財団法人交流協会の依頼により、台湾衛生署食品薬物管理局組長とバイオ後続品等バイオ医薬品の品質評価に関する意見交換を行った。石井室長は、国際厚生事業団（JICWELS）の平成24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。新見室長は、USP上席科学連絡係と生物薬品部の品質試験等に関する意見交換を行った。

4. 地方衛研への協力

バイオ医薬品の品質評価に関して、富山県薬事研究所寺崎さち子副主幹研究員の研修に協力した（平成24年9月24日～10月12日）。

5. 大学との連携

北海道大学大学院生命科学院との連携大学院協定に基づき博士課程学生を受け入れ指導した。明治薬科大学及び日本大学生物資源科学部から実習生を受け入れ指導した。石井室長は、高崎健康福祉大学薬学部において「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（平成24年6月）。新見室長は、日本大学生物資源科学部において「バイオ医薬品が承認されるには品質の観点から何が必要か」（平成24年11月）、また、徳島大学薬学部において「バイオ医薬品が承認されるには何が必要か－品質担当の専門委員の立場から－」（平成25年1月）について講義した。

6. シンポジウム及び学術集会等の開催

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バイオリジクスフォーラムを運営し、第10回学術集会「期待されるバイオリジクス・イノベーションとは」を開催した。川崎部長は日本薬学会レギュラトリーサイエンス部会世話人会からの推薦により、日本薬学会第133回年会においてシンポジウム「バイオ医薬品開発最前線とレギュラトリーサイエンス」を開催した。新見室長は、全国科学技術協議会第49回年会の幹事として、一般発表の薬事部門の座長を選定し、部門別研究会の薬事部門の企画運営に協力した。

7. その他

薬事・食品衛生審議会の各種部会、並びにPMDAの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) バイオ医薬品の合理的品質管理技術及び安全性評価手法の開発と標準化（政策創薬マッチング研究事業）

① カラムスイッチングシステムと液体クロマトグラフィー／質量分析（LC/MS）を組み合わせて、抗体医薬品のグライコフォームをモニタリングするPATシステムを構築し、培養工程で利用できることを確認した。

② 酸性糖鎖含有糖タンパク質医薬品の糖鎖試験法の標準化を行った。

③ 抗体医薬品等の結合性試験に用いられる非競合ELISAを対象とし、試験条件設定における実験計画法の有用性、良好な結果を得るための試験デザイン及びデータ解析手法、各試験デザインで適した試験成立条件を明らかにした。また、日局参考情報表面プラズモン共鳴法の案を作成した。

④ HEVのカプシドタンパク質をバキュロウイルスを用いて昆虫細胞で大量に生合成し、培養上清中に分泌されたタンパク質を精製し、非エンベロープ人工ウイルス様粒子を作製することができた。

2) 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（厚生労働科学研究費補助金）

① 抗TNF- α 抗体医薬品に対する高親和性ペプチドを用いてカラムを作製し、血中抗体医薬品の回収に利用できることを示した。今後、抗体医薬品のグリコフォームと血中濃度の関係の解析に役立つことが期待される。

② 抗HER2抗体の実験的製造システムを構築し、プロテインAカラムクロマトグラフィー工程をモデルとして、宿主由来タンパク質（HCP）除去のためにデザインスペースを設定する際の留意点を抽出した。また、ショットガン解析で残留するHCPを同定した。

③ 海外におけるバイオ後続品のガイドラインについて、新規策定/改訂の動向、及び記載内容を調査し、バイオ後続品の規制に関する国際的動向を明らかにした。また、これらとの比較により日本のバイオ後続品指針の特徴並びに必要と考えられる改訂事項を明らかにした。

④ バイオ医薬品のトランスジェニックマウス及びT細胞アッセイにおいて、バイオ医薬品の目的物質由来不純物である凝集体が免疫原性を誘導することを文献調査等により明らかにした。

- ⑤ 遺伝子治療Regulators Forum等の資料を調査し、遺伝子治療の海外規制動向を明らかにすることにより、国内遺伝子治療臨床研究指針の改定で盛り込むべき安全性要件を明らかにした。
- 3) 水素/重水素交換反応及び質量分析法 (HDX/MS) による糖タンパク質の高次構造解析技術の開発 (科学研究費補助金 (文部科学省))
 バイオ医薬品の作用機序の構造的背景を解明する目的で、HDX/MSによりTNF- α と抗TNF- α 抗体医薬品の相互作用解析を行い、抗TNF- α 抗体医薬品のエピトープ候補を明らかにした。
- 4) 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)
 エリスロポエチンをインタクトの状態にLC/MSにて分析し、デコンボリューションにより質量スペクトルを得た。観測されたほとんどのピークはポリペプチド鎖に結合した糖鎖の質量の違いとして帰属可能であった。ピーク解析ソフトウェアにより各グライコフォームピークの強度を求め、ピーク強度比並びにその再現性の評価を行い、LC/MSは、グライコフォーム類似性評価法として有用であることを確認した。
- 5) バイオ後続品の品質評価等に関する研究
 抗CD20抗体リツキシマブの先行品及び海外で後続品として使用されている製品について、SPR法を用いた結合特性解析を行い、後続品ではFc γ RIIa及びFc γ RIIIaとの結合性が先行品と異なることを見出した。
- 6) 抗体医薬品の医薬品各条における規格及び試験方法の設定に関する研究
 ① 抗体医薬品のインタクト質量分析において、マススペクトルをデコンボリューション処理する際のパラメータが質量スペクトルに及ぼす影響について検討した。質量分析計及びデコンボリューションのソフトウェアにそれぞれ特徴があることが分かった。
 ② 抗体医薬品の相対力価の算出において4-パラメータロジスティックモデルによる回帰式を用いる際に、回帰式の係数を用いた試験成立条件設定が有用であることを確認した。
- 2. バイオ医薬品の有効性・安全性評価に関する研究**
- 1) 免疫原性評価手法の開発と標準化 (政策創薬マッチング研究事業)
 抗体医薬品をウサギに免疫して抗薬物抗体を作製し、各種分析方法を用いて抗原抗体結合活性を測定した結果、いずれの方法もヒト血清の添加により回収率は顕著に低下することを明らかにした。
- 2) 膜結合型TNF- α との複合体形成に着目した抗TNF- α 抗体医薬品の生物学的特性解析 (科学研究費補助金 (文部科学省))
 膜結合型TNF- α を発現する細胞株を複数樹立し、既承認の抗TNF- α 抗体医薬品の膜結合型TNF- α に対する結合親和性及び免疫エフェクター細胞活性化能の差異を明らかにした。
- 3) 薬物結合抗体の動態関連分子結合性が細胞内・体内動態に及ぼす影響の解明 (科学研究費補助金 (文部科学省))
 標的細胞内に薬物を輸送することが可能な抗体 (抗HER2抗体、抗EGFR抗体) に化合物を結合し、細胞内での動態解析を行うための抗体薬物複合体モデルを11種作製した。また、抗原結合性を解析するために、EGFR細胞外領域の発現・精製を行った。
- 4) 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)
 リガンド結合法を用いた生体試料中薬物濃度分析法のバリデーションに関して、ガイドラインに盛り込むべき項目を明らかにした。
- 5) 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))
 抗体医薬品をプレートに固相化し、末梢血単核球 (PBMC) から放出される18種類のサイトカインを同時に測定する実験系を構築した。10種類の抗体医薬品の比較により、PBMCにおける抗原発現の有無、抗体サブクラスにより異なったサイトカイン放出が生じることを明らかにした。また、FCGR2A遺伝子の多型により生じるFc γ RIIa L273P変異体において、受容体架橋刺激による細胞内タンパク質のチロシンリン酸化が亢進することを明らかにした。
- 6) 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))
 糖転移酵素との共発現あるいは糖転移酵素阻害剤の添加によるシアル酸高付加型・高マンノース型糖鎖修飾をうける抗体発現系を構築し、得られた抗体の特性解析に着手した。
- 7) 治験対象バイオ医薬品の品質・安全性に関する研究
 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要件を明らかにした。
- 8) ホルモン等の作用発現に関与する諸因子に関する研究
 培養ラット肝細胞において、増殖促進因子として作用するアネキシンA3のノックダウンにより、増殖抑制に関与する可能性のあるperoxiredoxin-1の発現が

増加することをプロテオーム解析により明らかにした。

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

- ① 日局ヘパリンカルシウム各条定量法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抗第Xa因子活性・抗第IIa因子活性比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定量法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抗第Xa因子活性・抗第IIa因子活性比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注射液各条定量法のパブリックコメント案を策定した。

2) グリコサミノグリカン類の特性解析技術の開発（科学研究費補助金（文部科学省））

微量グリコサミノグリカンの構造及び分子不均一性解析技術を開発する一環として、アセトン沈殿法を利用した微量糖ペプチド及び糖鎖回収方法を開発した。また、ナノフロー LC/MSの最適化を行った。

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) 新規基材を用いて製造されるバイオ医薬品の品質・安全性確保に関する研究（政策創業マッチング研究事業）

トランスジェニックカイコを用いて生産された抗CD20抗体の生物活性を測定し、トランスジェニックカイコ由来の抗体は哺乳動物細胞で生産されたものと比べて、FcγRIIIaに対して高親和性で高ADCC活性を示すこと、一方でCDC活性が減弱していることを明らかにした。また、トランスジェニックカイコをバイオ医薬品の生産基材として用いるための要件を考察し、バンク化及びバンクの試験方法に関する具体的な考え方を提示した。

2) ウイルス等感染性因子安全性評価に関する研究（厚生労働科学研究費補助金）

- ① 細胞組織利用医薬品に感染する可能性のあるウイルスリストを作成し、一部のウイルスについて、文献データ及び患者感染率を基にリスク分析を行った。
- ② ウイルス感染リスク評価の一環として、プロテオミクスの技術を用いた細胞表面のウイルス受容体解

析を行うため、グアニジン塩酸を用いた改良ゲル内タンパク質回収方法を開発した。

- ③ 細胞組織加工医薬品に混入の恐れのあるヒト感染ウイルス、ウシ胎児血清、ブタトリプシンを汚染する可能性のあるウイルスをリストアップし、その高感度の試験法とウイルスのモニター評価系の検討を行った。また自然宿主以外の細胞への馴化過程の解析を行った。
- ④ バイオ医薬品のウイルス安全性について、企業において明らかになった培養工程でのウイルス汚染事例を調査し、その対策について考察した。また、ウイルスクリアランス試験に用いる適切なモデルウイルスの組み合わせ、及び抗体医薬品の精製工程におけるウイルスの不活化/除去方法を考察した。
- ⑤ 医薬品への異常プリオン混入リスクの見直しを目的として欧米の規制動向を調査した結果、欧米でプリオンリスクの再評価が行われており、当初の想定よりもリスクが低いと考えられていることが明らかになった。

3) 革新的医薬品の開発環境整備を目指したレギュラトリーサイエンス研究（厚生労働科学研究費補助金）

Fc領域改変抗体の非臨床評価において注意すべきヒトとモデル動物間のFc受容体（FcγR及びFcRn）の種差について、最新の知見をまとめ、考察した。また、Fc領域の構造変化のモデルとして強制酸化処理を施したセツキシマブを用いて、各種Fc受容体との相互作用及び免疫エフェクター細胞活性化能について解析を行った結果、酸化処理によりFcγRIIaを介したエフェクター細胞の活性化が減弱する可能性を明らかにした。

4) 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）

前年度の調査研究に基づいて血液製剤のNATガイドラインで改定すべき項目等を明らかにした。また、NAT試験法設定においてバリデーションに使用するウイルス標準品等の作製を行った。

5) 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及びペプシン消化を組み合わせた手法により、血中半減期の異なる抗TNF-α抗体及びFc融合タンパク質のFc領域の高次構造解析を行い、高次構造の差異を明らかにした。
- ② 前年度までに構築したADCC活性測定レポーターアッセイ系を用いることで抗原エピトープの差異を反映したADCC活性の評価が可能であり、抗体医薬品の初期スクリーニングに有用であることを示し

た、細胞株の安定供給のため発現安定性の高いレポーター細胞株を樹立した。

- ③ 抗体の動態評価法として、蛍光共鳴エネルギー転移 (FRET) 型の標識抗体及びspectral unmixing法を用いて、*in vivo*で抗体と分解物を区別してイメージング解析する方法を開発した。
- ④ 昨年度に引き続き、選定した2種類のPEI結合カラムについて、さらに複数のウイルス除去及び不純物除去の最適化条件を検討し、その有用性を明らかにした。

- 6) 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)

昨年度に引き続き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。

- 7) 医薬品の活性測定法及び薬理作用評価法に関する研究 (政策創薬マッチング研究事業)

- ① 網羅的にキナーゼ阻害活性を測定し、抗腫瘍効果を有する化合物がオーロラキナーゼなどの複数のキナーゼを阻害することを明らかにした。
- ② オーロラキナーゼ阻害活性が見出された化合物が、ヒト肝癌由来HuH7細胞の細胞周期をG2/M期で停止させることを明らかにした。

- 8) 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

高機能性製剤の構成要素となる抗体医薬品について、IgGサブクラス毎のFcγ受容体結合特性の特徴を明らかにした。

- 9) 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細胞を用いて生産したTNFR-Fc融合タンパク質は植物細胞特有の糖鎖修飾をうけること、植物型の糖鎖修飾は抗原結合・中和活性に影響を及ぼさない一方で、Fcγ受容体との結合能及び熱安定性を低下させる可能性を明らかにした。

- 10) 新興感染症ワクチン等の品質及び有効性評価手法の検討に関する研究 (厚生労働科学研究費補助金)

がんワクチンガイドラインに盛り込むべき要素を明らかにするために、NIH臨床試験データベースを中心に、世界各国で実施されている臨床試験においてどのような免疫指標を用いた検討が行われているかを解析した。また既存の抗がん剤における評価指標との関連性についても調査を行い、がんワクチンガイドライン作成のために基礎データを収集した。

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。

平成24年度で最も注目すべきことは、いわゆる脱法ハーブ (違法ハーブ) の社会的広がりに対し、迅速に対応する目的で、指定薬物制度に包括規制が導入されたことである。平成25年2月20日に指定薬物を包括指定する省令が公布され、3月22日より施行となった。2月20日の時点での指定薬物数は851物質 (包括指定772、個別指定79) となったが、本指定には、生薬部第三室を中心とした、国立衛研の多大な貢献がある。厚生労働科学研究費、移替え経費等で対応している生薬部第三室の年間の実態調査数は700件程度あり、このようなデータに基づき、世界的に見てスピード感のあるインパクトの高い論文を継続的に発出しており、3年連続で複数の国際誌において年間最多引用論文となっていることは、特筆すべきことと考える。また、当部の対応に基づいた麻薬指定も、継続的に行われており、平成24年度は、7月4日に4物質 (8月3日施行)、25年1月30日に6物質 (3月1日施行) が指定され、さらに、平成25年4月26日 (公布) より、2物質が指定されている。

第二室関連では、平成13年より生薬部で検討・対応してきた一般用漢方処方の承認基準の改正であるが、一般用医薬品漢方処方に関する検討会及び薬事・食品衛生審議会一般用医薬品部会審議を受けて、平成24年8月30日発出の厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知「一般用漢方製剤承認基準の改正について」(薬食審査発第0830第1号) が発出された。本通知は、従来の承認基準 (平成23年4月15日発出薬食審査発第0415第1号通知) に新規31処方を追加し、合計294処方に関する承認基準を示すもので、本通知発出で、一般用漢方処方の承認基準改正は、ほぼ終了したことになる。

第一室関連では、23年振りの日本薬局方外生薬規格の大改訂が行われ、平成24年10月30日、薬食審査発1030第1号として、日本薬局方外生薬規格2012 (局外生規2012) が発出された。局外生規2012では、新規収載18品