

第3章 品質管理, 規制の視点からみた培養工程と留意点

協和発酵キリン(株) 今野 由信

はじめに

1990年代後半から抗体医薬品が次々と承認, 上市され, ますます開発が活発化し分子標的医療としての期待が高まっている。背景には, 標的である抗原への高い結合性と低い副作用があり, これらを可能にしたマウス抗体, キメラ抗体, ヒト化抗体, 完全ヒト型抗体, さらに新構造へと進められた抗体工学の進展が挙げられる。これら抗体医薬品の特性として, サイトカインなどこれまでのバイオ医薬品と比較して投与量が多いことが挙げられる。抗体医薬品の投与量の多さは, サイトカインの200倍に及ぶ生産量を必要とし, コスト, 品質の両面で改善を要求してきた。これらの課題は, 工程開発などにより克服されてきたが, 医療経済問題の顕在化により, さらなる貢献が求められる。

本章では, 他の章で述べられる製法変更管理, 品質議論, 大量生産の課題のもとになる培養工程の実際について, 品質を一定に保つ点に留意して現状認識と課題を述べる。なお, 現状を反映させ将来技術ではなく, 産業化が進む動物細胞培養による現在の生産技術に絞った。また, GMP製造に限定せず, 開発から製造までを培養工程と捉えた。以下に本章のイメージを示した(図1)。

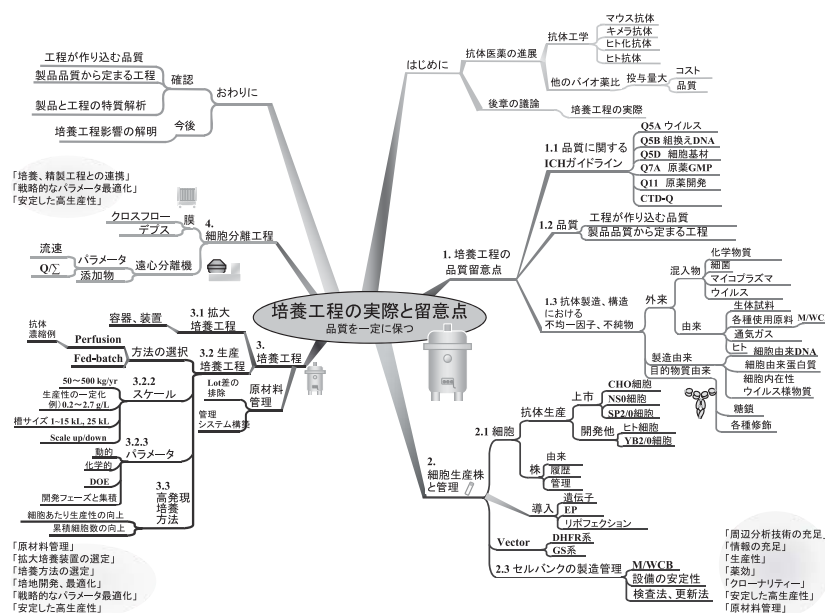


図1 培養工程の実際と留意点全体イメージ

本章の見出し, キーワードをマップ化し品質一定化に向けた培養工程の実際と留意点の全様を示した。

1. 培養工程の品質留意点

1.1 品質に関するICHガイドライン

日米欧の3極で合意されたICHのバイオ医薬品の品質・安全性分野では七つの課題に関するガイドラインが作成されており^{1,2)}、培養工程を考慮した場合には、Q5A「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、Q5B「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、Q5D「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）製造用細胞基材の由来、調製及び特性解析」についての三つのガイドラインによりカバーされる。さらに、CTD-Q、Q7A「原薬GMPのガイドライン」を加えて、記載内容を遵守して開発、製造を進める必要がある。さらに今後は、現在議論中のQ11「化成品及びバイオ医薬品の原薬の開発と製造」なども関与してくることになる。

1.2 品質

品質を定義するだけで一つの議論になろうと考えられるが、この章では、以下の観点から品質を捉えて述べたい。初期開発の工程の作り込みは、品質を作り込むことである。一方で、後期開発になり求める生産物の品質が明確になれば、品質のために管理すべき工程すなわち必須管理項目、クリティカルパラメータと幅が作り込まれる。このように、品質を一定化するには、“工程から定まる品質”，“生産物の品質から定まる工程”の双方向からのアプローチとバランスが必要であり、開発時間軸に応じた品質への取り組みが必要である。投与前の品質の確保は、投与後の有効性と安全性の確保につながる³⁾。

1.3 製法、抗体構造による不純物、不均一因子

抗体医薬品の品質に影響を与える因子は、①「外来由来」、②「製造工程由来」、そして③「目的物質由来」に大別でき、以下のような不純物、不均一性を生じる可能性がある。

①「外来由来」となる培養工程への不純物の持込としては、化学物質、細菌、マイコプラズマやウイルスの汚染などが例示できる。汚染源としては、動物由来原料の使用など各種使用原料の汚染、通気ガスの汚染、人を介在した汚染、マスターセルバンク/ワーキングセルバンク(MCB/WCB)の汚染、作業環境、設備環境の汚染が要因として挙げられる。

培養工程から精製工程への②「製造工程由来」の不純物、不均一性の持込としては、培地成分の残存量変動、細胞が生産排出する細胞由来のタンパク質、DNA、脂質、内在性のウイルス、前述した各種使用原料などからの混入汚染物などが考えられる。総じて、培養工程は不均一性、

第10章 抗体医薬品の構造その他の特性の解明

国立医薬品食品衛生研究所 川崎 ナナ 石井 明子 山口 照英
(独) 医薬品医療機器総合機構 荒戸 照世

はじめに

抗体医薬品の歴史は古く、1993年に改正された生物学的製剤基準には既に20種類もの抗体医薬品が収載されている。これらの抗体は、ウイルス性劇症肝炎や免疫不全症の治療に不可欠な医薬品で、ポリクローナルな免疫グロブリン製剤である。1975年にモノクローナル抗体作製のためのハイブリドーマ技術が確立されてからは、ポリクローナル抗体製剤の開発に代わって、モノクローナル抗体製剤開発への関心が高まった。1991年には国内最初のモノクローナル抗体ムロモナブーCD3が承認されている。さらに、遺伝子組換え技術によるモノクローナル抗体の作製が可能となってからは、ヒトマウスキメラ抗体、ヒト化抗体及びヒト抗体などの遺伝子組換え抗体医薬品が続々と開発されるようになった。2009年1月現在、医薬品の国際一般名INNに収載されているモノクローナル抗体医薬品は170品目を超え、米国では21品目、欧州では16品目、また日本でも12品目の遺伝子組換えモノクローナル抗体製剤が承認されている。現在公表されているバイオ医薬品の開発パイプラインにも、様々なモノクローナル抗体が並んでおり、今後もこのような開発動向が続くものと予想される。

抗体医薬品の開発においては、他の遺伝子組換えタンパク質性医薬品と同様に、構造、並びに物理的・化学的性質及び生物学的性質/免疫学的性質などの特性に関する十分な解析が不可欠である。構造その他の特性解析を実施する目的の一つは、有効性・安全性を担保するための規格および試験方法(第11章第1節参照)に必要な事項を明らかにすることであるので、構造その他の特性解析に使用したロットと臨床及び非臨床試験に用いたロットとの関係を明確にすることが重要である。1997年FDAは、モノクローナル抗体とDNA組換え医薬品の品質管理に関する指針(1996年)¹⁾を補完するものとして、モノクローナル抗体医薬品のPoints to Consider (PTC)を発出している²⁾。EMAも、1994年に公表したモノクローナル抗体医薬品に関するガイドライン³⁾の改訂作業を進め⁴⁾、2008年に新しいガイドラインを公表した⁵⁾。我が国においても、抗体医薬品の品質に関するガイドラインの整備を求める声が高まっており、抗体医薬品の構造その他の特性の解明に関する基本的要件を明確にする必要があるだろう。本稿では、(1)抗体医薬品の構造、(2)物理的・化学的性質及び、(3)生物学的性質/免疫学的性質の解析において考慮すべき基本的要件と解析方法について概説する。

1. 構造

タンパク質性医薬品の開発においては、目的タンパク質の基本骨格構造を念頭とした徹底した構造解析を行わなければならない。抗体の基本構造は、同一H鎖2分子と同一L鎖2分子から構成される4本鎖構造であり、構成するポリペプチド鎖の違いにより、IgG、IgD、IgE、IgA、及びIgMの5種類のクラスに分類される。医薬品としては、IgG及びIgM抗体が開発されているが、現在までに日米欧で承認されている抗体医薬品はIgGのみである。IgG抗体はさらにIgG1(図1)⁶⁾、IgG2、IgG3及びIgG4の4つのサブクラスに分類される。国内で販売されている抗体医薬品は主にIgG1であり、一部IgG2、及びIgG4抗体も販売されている。抗体医薬品の構造解析においては、他の遺伝子組換えタンパク質性医薬品と同様に、アミノ酸組成及びアミノ酸配列、N末端及びC末端アミノ酸配列、ペプチドマップ、スルフィド基及びジスルフィド結合、並びに糖鎖構造

を明らかにする必要がある。また、細胞毒性を持つ化合物や金属キレート剤が共有結合した修飾抗体においては、化合物の結合数及び結合位置の解析が求められる。抗体医薬品の高次構造は、物理的・化学的分析技術のみにより確定することはできないが、円二色性分析等の分光学的測定や示差走査熱量測定等を補助的に用いたり、生物学的性質/免疫学的性質の評価(後述)に置き換えたりすることができる。

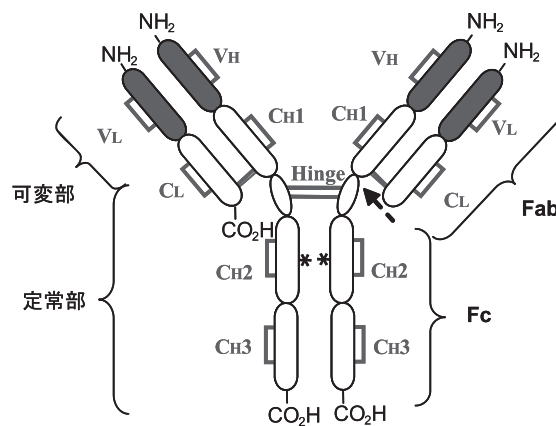


図1 IgG1の構造

— :ジスルフィド結合
* :N結合型糖鎖
← - :パパインによる切断部位

1.1 アミノ酸組成及びアミノ酸配列

1.1.1 アミノ酸組成及び配列

アミノ酸組成分析及び配列分析は、目的物質のアミノ酸組成及び配列が、目的物質をコードする遺伝子配列から推定されるアミノ酸組成及び配列に一致するかどうかを確認するために実施する。抗体のような高分子タンパク質においては、アミノ酸組成分析やエドマン分解等による配列分析のみで一次構造を評価することは一般に困難であるので、N末端及びC末端アミノ酸配列(1.1.2 参照)やペプチドマッピング(1.1.3 参照)などの結果を統合して、明らかにする必要がある。