

目次

第1章 CTDの構成と記載整備の概要

1. モジュール1(第1部).....	3
1.1 医薬品製造販売承認書.....	3
1.2 原薬の別紙規格.....	3
1.3 原薬の製造方法.....	3
1.4 製剤の製造方法.....	4
1.5 用法及び用量.....	4
1.6 効能又は効果.....	4
1.7 貯蔵方法及び有効期間.....	4
1.8 製剤の規格及び試験方法.....	5
2. モジュール3(第3部：品質に関する資料)，(第2部：品質に関する概括資料).....	5
3.2S(2.3.S) 原薬.....	5
3.2.S.1(2.3.S.1) 一般情報(品名，製造業者).....	5
3.2.S.2(2.3.S.2) 製造(品名，製造業者).....	5
3.2.S.3(2.3.S.3) 特性(品名，製造業者).....	7
3.2.S.4(2.3.S.4) 原薬の管理(品名，製造業者).....	8
3.2.S.5(2.3.S.5) 標準品又は標準物質(品名，製造業者).....	9
3.2.S.6(2.3.S.6) 容器及び施栓系(品名，製造業者).....	9
3.2.S.7(2.3.S.7) 安定性(品名，製造業者).....	9
3.2.P(2.3.P) 製剤.....	10
3.2.P.1(2.3.P.1) 製剤及び処方(品名，剤型).....	10
3.2.P.2(2.3.P.2) 製剤開発の経緯(品名，剤型).....	10
3.2.P.3(2.3.P.3) 製造(品名，剤型).....	11
3.2.P.4(2.3.P.4) 添加剤の管理(品名，剤型).....	11
3.2.P.5(2.3.P.5) 製剤の管理(品名，剤型).....	12
3.2.P.6(2.3.P.6) 標準品又は標準物質(品名，剤型).....	13
3.2.P.7(2.3.P.7) 容器及び施栓系(品名，剤型).....	13
3.2.P.8(2.3.P.8) 安定性(品名，剤型).....	13
3.2.A(2.3.A) その他.....	14
3.2.A.1(2.3.A.1) 製造施設及び設備.....	14
3.2.A.2(2.3.A.2) 外来性感染性物質の安全性評価.....	14
3.2.A.3(2.3.A.3) 新規添加剤.....	15
3.2.R(2.3.R) 各極の要求資料(品名，製造業者).....	15
<関連するICHガイドライン>.....	15

第2章 特性解析と標準物質

1. 特性(3.2.S.3)	19
1.1 構造その他の特性の解明(3.2.S.3.1)	19
i) ベバシズマブ(遺伝子組換え), 先行バイオ医薬品(アバスタチン)	20
ii) ベバシズマブ(遺伝子組換え)[ベバシズマブ後続1]	23
iii) ベバシズマブ(遺伝子組換え)[ベバシズマブ後続2]	24
iv) トラスツズマブ エムタシン(遺伝子組換え), 先行バイオ医薬品(カドサイラ)	27
v) トラスツズマブ デルクステカン(遺伝子組換え), 先行バイオ医薬品(エンハーツ)	31
1.2 不純物(3.2.S.3.2)	33
i) ベバシズマブ(遺伝子組換え), 先行バイオ医薬品(アバスタチン)	34
ii) ベバシズマブ(遺伝子組換え)[ベバシズマブ後続1]	35
iii) ベバシズマブ(遺伝子組換え)[ベバシズマブ後続2]	35
iv) トラスツズマブ エムタシン(遺伝子組換え), 先行バイオ医薬品(カドサイラ)	35
v) トラスツズマブ デルクステカン(遺伝子組換え), 先行バイオ医薬品(エンハーツ)	36
[ヒトモノクローナル抗体(MAAL-9001)]	36
[トラスツズマブ デルクステカン(遺伝子組換え)]	36
1.3 分析法の要点	36
(1) ペプチドマップ(アミノ酸配列)	36
(2) 糖鎖構造	39
(3) 分子量	39
(4) 目的物質の不均一性の説明	41
(5) 生物学的性質	44
1.4 バイオシミラーでの注意点	44
(1) 構造	45
(2) 有効成分の定量法(タンパク質含量, 生物活性)	45
(3) 先行バイオ医薬品の品質	46
2. 標準品及び標準物質(3.2.S.5)	46
2.1 一次標準物質(3.2.S.5.1)	47
(1) 調製方法	47
(2) 適格性確認のための特性試験	47
(3) 更新方法	48
2.2 常用標準物質(3.2.S.5.2)	49
(1) 調製方法	49
(2) 適格性試験	49
(3) 更新方法	49
i) ベバシズマブ(遺伝子組換え), 先行バイオ医薬品(アバスタチン)	49
ii) アダリムマブ(遺伝子組換え), 先発バイオ医薬品(ヒュミラ)	50
2.3 開発時の標準物質(3.2.S.5.3)	50

2.4 標準物質の設定における注意点.....	50
-------------------------	----

第3章 規格及び試験方法

i) トラスツズマブ(遺伝子組換え), 先行バイオ医薬品(ハーセプチン).....	55
ii) トラスツズマブ(遺伝子組換え)[トラスツズマブ後続1].....	55
iii) トラスツズマブ(遺伝子組換え)[トラスツズマブ後続2].....	56
iv) トラスツズマブ(遺伝子組換え)[トラスツズマブ後続3].....	56
v) トラスツズマブ エムタシン(遺伝子組換え), 先行バイオ医薬品(カドサイラ).....	56
vi) トラスツズマブ デルクステカン(遺伝子組換え), 先行バイオ医薬品(エンハーツ).....	57
vii) ベバシズマブ(遺伝子組換え), 先行バイオ医薬品(アバスチン).....	57
viii) ベバシズマブ(遺伝子組換え)[ベバシズマブ後続1].....	57
ix) ベバシズマブ(遺伝子組換え)[ベバシズマブ後続2].....	58
1. 含量(タンパク質量).....	59
1.1 規格.....	59
1.2 試験方法(分析方法).....	60
i) 定量法: 紫外可視吸光度測定法(タンパク質量法: 方法1(紫外吸収法)).....	61
ii) 定量法: 液体クロマトグラフィー.....	61
2. 性状.....	62
2.1 規格.....	62
2.2 試験方法(分析方法).....	62
3. 確認試験.....	63
3.1 ペプチドマップ.....	63
3.1.1 規格.....	63
3.1.2 試験方法(例: トリプシン消化).....	63
3.1.3 規格及び試験方法のポイント.....	64
3.2 その他の確認試験.....	65
4. 示性値.....	65
4.1 浸透圧.....	65
4.1.1 規格(例).....	65
4.1.2 試験方法(例).....	65
4.2 糖鎖プロファイル.....	65
4.2.1 規格(例).....	65
4.2.2 試験方法(例: N-グリコシダーゼFで糖鎖を脱離, 2-アミノベンズアミドで標識).....	66
4.2.3 規格及び試験方法のポイント.....	67
4.3 pH.....	67
4.3.1 規格(例).....	67
4.3.2 試験方法.....	67
5. 純度試験.....	67

見本

5.1	イオン交換クロマトグラフィー (IEC)	67
5.1.1	規格 (例)	67
5.1.2	試験方法 (例)	68
5.1.3	規格及び試験方法のポイント	68
5.2	サイズ排除クロマトグラフィー (SEC)	69
5.2.1	規格 (例)	69
5.2.2	試験方法 (例)	69
5.2.3	規格及び試験方法のポイント	70
5.3	キャピラリー電気泳動 (CE-SDS)	70
5.3.1	規格 (例)	70
5.3.2	試験方法 (例：非還元条件)	70
5.3.3	規格及び試験方法のポイント	71
5.4	製造工程由来不純物	71
6.	エンドトキシン	72
6.1	規格 (例)	72
6.2	試験方法 (例)	72
7.	微生物限度	72
7.1	規格 (例)	72
7.2	試験方法	72
8.	生物学的活性	73
8.1	表面プラズモン共鳴 (Surface Plasmon Resonance : SPR) 法	73
8.1.1	規格 (例)	73
8.1.2	試験方法 (例：結合能測定)	73
8.1.3	規格及び試験方法のポイント	74
8.2	補体依存性細胞傷害活性 (ADCC)	75
8.2.1	規格 (力価：比活性)	75
8.2.2	試験方法 (例：ADCC 活性)	75
8.2.3	規格及び試験方法のポイント	76
9.	製剤で必要とされる試験	77
9.1	採取容量	77
9.1.1	規格	77
9.1.2	試験方法	77
9.2	不溶性異物	78
9.3	不溶性微粒子	78
9.4	無菌	78

第4章 分析法バリデーション

1. 確認試験.....	82
1.1 ペプチドマップ.....	82
1.1.1 特異性.....	83
1.2 その他の確認試験.....	84
2. 示性値.....	85
2.1 糖鎖プロファイル.....	85
2.1.1 特異性(2-AB 標識化糖鎖で分析する場合).....	85
2.1.2 直線性.....	87
2.1.3 定量限界と範囲.....	88
2.1.4 真度.....	88
2.1.5 精度.....	89
①併行精度.....	90
②室内再現精度.....	91
3. 純度試験.....	95
3.1 イオン交換クロマトグラフィー(IEC).....	95
3.1.1 特異性.....	95
3.1.2 真度.....	96
3.1.3 直線性, 定量限界及び範囲.....	97
3.1.4 精度.....	99
3.2 サイズ排除クロマトグラフィー(SEC).....	99
3.2.1 特異性.....	99
3.2.2 真度.....	100
3.2.3 直線性, 定量限界及び範囲.....	100
3.2.4 精度.....	101
3.3 キャピラリー電気泳動(CE-SDS).....	101
3.3.1 特異性.....	101
3.3.2 真度.....	102
3.3.3 直線性, 定量限界及び範囲.....	102
3.3.4 精度.....	103
4. 生物学的活性.....	103
4.1 表面プラズモン共鳴(Surface Plasmon Resonance : SPR) 法.....	104
4.1.1 特異性.....	104
4.1.2 直線性及び範囲.....	104
4.1.3 真度.....	106
4.1.4 精度.....	106
4.2 補体依存性細胞傷害活性(ADCC).....	107
4.2.1 特異性.....	108

4.2.2 真度, 直線性及び範囲.....	109
4.2.3 精度.....	110
5. 定量法.....	110
5.1 紫外可視吸光度測定法(タンパク質定量法：方法1(紫外吸収法)).....	110
5.1.1 直線性及び範囲.....	111
5.1.2 精度.....	111
① 併行精度.....	111
② 室内再現精度.....	112
5.2 液体クロマトグラフィー.....	112
5.2.1 特異性.....	112
5.2.2 直線性及び範囲.....	112
5.2.3 真度.....	113
5.2.4 精度.....	114

第5章 製造

1. 原薬の「製造(3.2.S.2)」.....	119
1.1 製造業者(3.2.S.2.1).....	119
1.2 製造方法及びプロセス・コントロール(3.2.S.2.2).....	120
(1) 3.2.S.2.2.1 培養工程(細胞培養)及びハーベスト工程.....	120
(2) 3.2.S.2.2.2 精製工程及び充填・保管工程.....	122
1.3 原材料の管理(3.2.S.2.3).....	125
(1) 3.2.S.2.3.1 セルバンク.....	125
i) ベバシズマブ(遺伝子組換え), 先行バイオ医薬品(アバスタチン).....	125
ii) ベバシズマブ(遺伝子組換え), ベバシズマブ後続1及び後続2.....	127
iii) アダリムマブ(遺伝子組換え), 先行バイオ医薬品(ヒュミラ).....	128
iv) アダリムマブ(遺伝子組換え), アダリムマブ後続1.....	129
(2) 3.2.S.2.3.2 製造工程で使用する原材料.....	129
(3) 3.2.S.2.3.3 動物又はヒト由来の原材料.....	130
1.4 重要工程及び重要中間体の管理(3.2.S.2.4).....	130
(1) 培養工程及びハーベスト工程.....	131
(2) 精製工程.....	134
(3) プロダクトプールの保存時間.....	139
1.5 プロセス・バリデーション/プロセス評価(3.2.S.2.5).....	140
(1) 3.2.S.2.5.1 ウイルスクリアランス.....	140
(2) 3.2.S.2.5.2 プロセスの適格性検証(PPQ：Process Performance Qualification).....	141
(3) 3.2.P.2.5.3 継続的なプロセス検証(CPV：Continued Process Verification).....	151
1.6 製造工程の開発の経緯(3.2.S.2.6).....	151
・ アダリムマブ(遺伝子組換え)：先行バイオ医薬品の審査報告書.....	152

見本

- ・ アダリムマブ後続1の審査報告書..... 153
- ・ ベマシズマブ(遺伝子組換え)：先行バイオ医薬品の審査報告書..... 153
- ・ ベマシズマブ後続1の審査報告書..... 154
- ・ ベマシズマブ後続2の審査報告書..... 155
- 2. 製剤の「製造(3.2.P.3)」..... 156
 - 2.1 製造業者(3.2.P.3.1) 156
 - 2.2 製造処方(3.2.P.3.2) 157
 - 2.3 製造工程及びプロセス・コントロール(3.2.P.3.3) 157
 - (1) 3.2.P.3.3.1 製造工程フロー..... 157
 - (2) 3.2.P.3.3.2 製造工程..... 158
 - 2.4 重要工程及び重要中間体の管理(3.2.P.3.4) 159
 - (1) 原薬の融解と均一化工程..... 159
 - (2) 無菌ろ過工程(重要工程)..... 159
 - (3) 充填及びプランジャーストッパーの打栓工程(重要工程)..... 160
 - (4) 目視検査工程..... 160
 - (5) 二次包装工程..... 160
 - (6) 各工程での保管期間..... 161
 - 2.5 プロセス・バリデーション/プロセス評価(3.2.P.3.5) 161
 - (1) フィルターバリデーション..... 161
 - (2) 培地充填試験..... 161
 - (3) プロセス評価: プロセスの適格性検証(PPQ : Process Performance Qualification) 161
 - 2.6 査察への対応..... 164

第2章



特性解析と標準物質

「抗体医薬品の品質評価のためのガイダンス」には、“ICH Q6Bガイドラインを参考に特性解析を実施し、構造、物理的・化学的性質、免疫学的性質、生物学的性質、純度及び不純物を明らかにする。”とある。

本章では、製造販売承認申請書の添付資料・モジュール3(第3部)の「特性」とその内容に関連する「標準品又は標準物質」の記載について解説する。

1. 特性(3.2.S.3)

この項の構成は、「3.2.S.3.1 構造その他の特性の解明」と「3.2.S.3.2 不純物」で、標準物質及び原薬のロット分析の結果を踏まえて説明することになる。

1.1 構造その他の特性の解明(3.2.S.3.1)

“構造”については、モノクローナル抗体の基本骨格構造(IgG抗体は、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:H₂L₂体、図1)を念頭に、徹底した構造解析を行い、“物理的・化学的性質”については、品質の恒常性を評価する上で重要である目的物質の不均一性を含む物性を、分子量・分子サイズ、アイソフォームパターン、電気泳動パターン、液体クロマトグラフィーパターン及び分光学的性質を必要に応じて組み合わせて明らかにする。

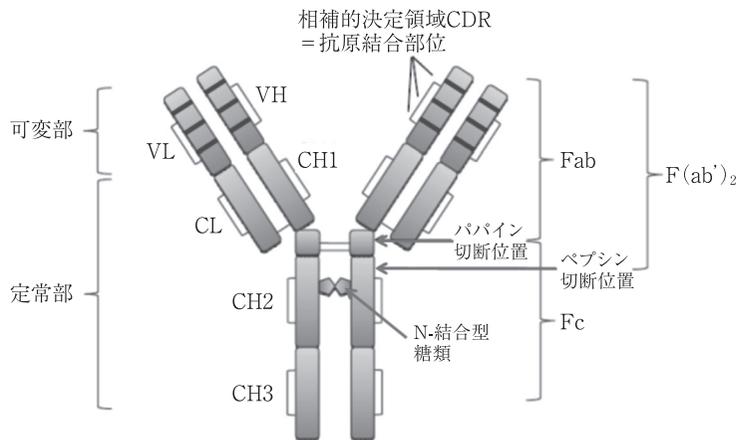


図1 IgG抗体の構造模式図

更に、抗体医薬品の生物活性は品目毎に異なり、i) 抗原の作用や抗原を介した生体内反応を抑制又は促進するもの(リガンド・受容体等、標的分子との中和活性あるいはアゴニスト活性)、ii) 抗原結合能に加えてADCC活性やCDC活性を持つもの(エフェクター細胞、補体を

介した細胞傷害活性), iii) 薬理作用を持つ化合物を結合させた抗体(抗体薬物複合体: ADC; Antibody-Drug Conjugate)のように抗原を発現している細胞に取り込まれ, 細胞内で解離した化合物が作用するもの等がある。一般に, 抗体医薬品の生物学的試験として, 抗原との結合特性及び機能的特性を明らかにする試験の実施が必要となる。“生物学的性質”では, 期待される効能効果を反映した生物活性を測定するためにどのような生物学的試験が有用であるかを, その分子機構や臨床効果を考慮して明らかにする必要がある。

以下に, (独) 医薬品医療機器総合機構(PMDA)の審査報告書に記載された抗体医薬品及び抗体薬物複合体の「品質に関する資料」の〔提出された資料の概要〕並びに「構造・組成」の内容を示す。報告内容にはマスキングされた箇所もあるが, 検討項目並びにまとめ方を参考にされたい。抗体医薬品のバイオ後続品でも同様のまとめ方を申請者は実施されたと推察されるが, 先行バイオ医薬品との同等性/同質性評価に対する当局のレビューに注目されたい。

i) ベバシズマブ(遺伝子組換え), 先行バイオ医薬品(アバスタチン)

〔提出された資料の概略〕 本薬は, ヒト κ サブグループI軽鎖(VL-CL)及びヒト γ 1サブグループI(IgG1)重鎖(VH-CH1)からなるヒト抗体フレーム構造に, マウス抗ヒトVEGFモノクローナル抗体 mAb A46.1の6つのマウス相補的決定領域(CDR)が組み込まれたcDNAを導入されたCHO細胞で産生される214アミノ酸残基($C_{105}H_{191}N_{27}O_{38}S_6$, 約23,447 Da)の軽鎖二分子と453アミノ酸残基($C_{225}H_{369}N_{69}O_{75}S_{10}$, 約49,839 Da)(C末端Lys⁴⁵³が欠損した重鎖は約47,119 Da)の重鎖二分子からなる糖タンパク質(約149,000 Da)である。本薬は, IgG1と同様にジスルフィド結合により分子間結合している。

〔構造・組成〕 特性解析として, ベバシズマブ(アミノ酸配列確認), N末端アミノ酸配列, C末端アミノ酸配列, 糖タンパク質構造解析(マトリックス支援)

CONFIDENTIAL

糖タンパク質構造解析(糖鎖分析), 糖鎖結合位置の解析(トリプシンペプチドマップ, 糖鎖分解Lys-Cペプチドマップ及び還元-S-カルボキシル化(CM化)Lys-Cペプチドマップ), 糖鎖結合率の解析(還元SDS-キャピラリー電気泳動(CE-SDS)), トリプシンペプチドマップ及び還元ペバシズマブの質量分析(アンリアル酸含量, 分子量, 糖化(糖化部位解析, 糖化ベバシズマブの相対量), 酸化率, 脱アミド化, 等電点(キャピラリー等電点電気泳動(cIEF), ゲル等電点電気泳動), 紫外吸収スペクトル, SEC, CpB

消化前後のIEC, 還元・非還元SDS-PAGE, 還元・非還元CE-SDS, HUVEC増殖阻害活

に影響を及ぼすものではなく、本剤と先行バイオ医薬品の品質特性は類似していると判断している。

機構は、Man5の含量の差異はわずかであること、また、電荷不均一性の差異に関して、H鎖C末端リシンを有する分子種は標的抗原との結合性等に影響を与えないとされていることから、これらの差異が有効性及び安全性に影響を及ぼす懸念は低く、本剤と先行バイオ医薬品の品質特性は類似しているとする申請者の説明は受入れ可能と判断した。

〔非臨床薬理試験に関する資料及び機構における審査の概要〕 本剤と先行バイオ医薬品の薬理作用の比較試験(*in vitro*試験)として、VEGF-A₁₆₅に対する結合活性、VEGFアイソフォーム(VEGF-A₁₂₁, VEGF-A₁₆₅, VEGF-A₁₈₉及びVEGF-A₂₀₆)に対する結合活性、Fc γ R(Fc γ RI, Fc γ RIIa(131H及び131R), Fc γ RIIIa(158F及び158V), Fc γ RIIIb), FcRn及びC1qに対する結合親和性、細胞増殖阻害試験、ADCC活性及びCDC活性に関して比較検討が実施され、類似性が確認されている。

〔解説〕 審査報告書には、特性解析結果はまったく記述されていないが、特性解析結果等に基づき、XXXXXXXXXX及びXXXXXXXXXXが目的物質関連物質とされ、不純物A及び不純物Bが目的物質由来不純物とされたとある。

なお、目的物質関連物質は、目的物質と有効性及び安全性が同等と申請者が判断したもので、品質試験でも目的物質と同等に管理される。また、先行バイオ医薬品では目的関連物質及び目的物質由来不純物は開示情報とされている。これを踏まえれば、少なくとも目的物質関連物質の構造等の情報は、マスキングせず開示すべきであろう。

iii) ペバシズマブ(遺伝子組換え) [ペバシズマブ後続2]

〔構造及び特性〕 一次/高次構造(アミノ酸配列、翻訳後修飾、ジスルフィド結合、遊離スルフヒドリル基、二次構造、三次構造、熱安定性)、物理的・化学的性質(分子量、電荷不均一性、サイズバリエーション)、糖鎖構造(N-結合型糖鎖、O-結合型糖鎖、XXXXXXXXXX、XXXXXXXXXX)及び生物学的性質(VEGF-A結合活性、VEGFR-2阻害活性、VEGF-A特異的阻害活性、Fc γ RI, Fc γ RIIa(131H), Fc γ RIIb, Fc γ RIIIa(158F及び158V), Fc γ RIIIb, FcRn及びC1q結合親和性、細胞増殖阻害活性、ADCC活性、CDC活性)の特性解析が実施された。(先行バイオ医薬品で記載されていた個々の検討概要は審査報告書には記述されていない)

〔本剤と先行バイオ医薬品の品質特性の比較〕 原薬及び製剤について、先行バイオ医薬品(国内承認品、EU承認品及び米国承認品)を用いて、〔構造及び特性〕の評価項目(O-結合

なお、消化部位の異なる酵素の組み合わせによりペプチド断片の配列順を確認することになるが、酵素消化により得られたペプチド断片のアミノ酸残基数が少ない場合には、逆相カラムに保持されず溶媒ピーク群に埋没するものもある。また、MS/MS分析では、検出された対象のペプチドで選択したプリカーサーイオンから衝突誘起解離(Collision-Activated Dissociation or Collision-Induced Dissociation)で得たプロダクトイオンのピークによりアミノ酸配列を解析する(図2)。しかしながら、一度の測定ではペプチドを構成する全てのアミノ酸の配列順がアサインできない場合もある。

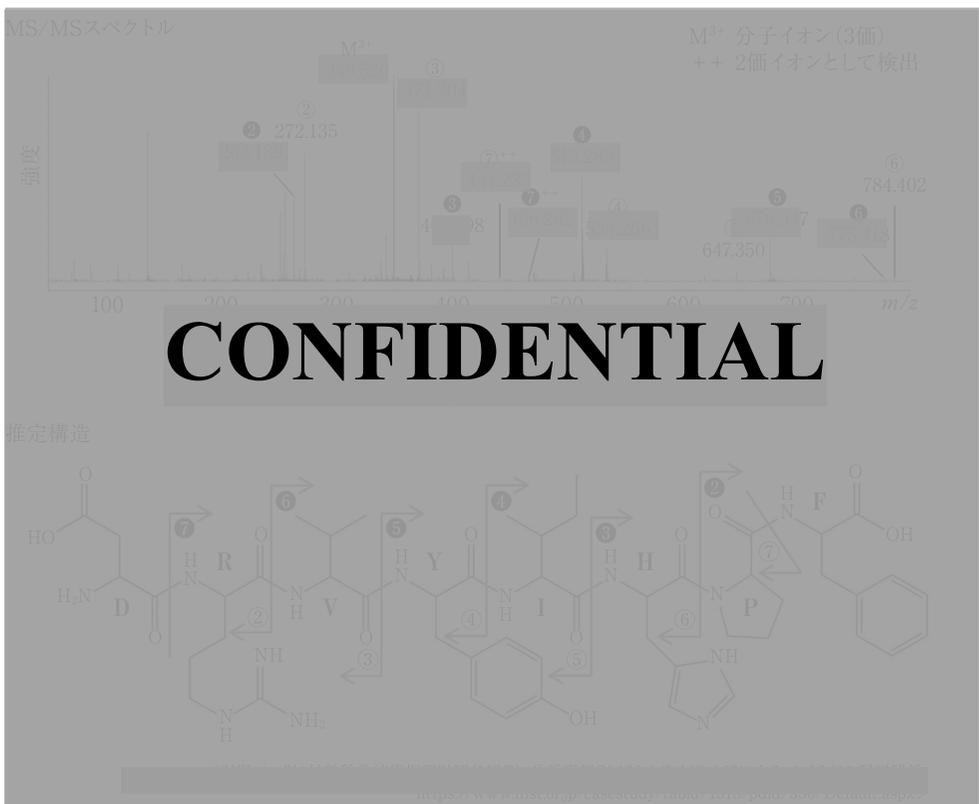


図2 MS/MS スペクトルによるアミノ酸配列解析

リツキシマブの還元トリプシン消化ペプチドマップでのLC-MSによるアミノ酸配列の確認例を図3及び図4に示す。

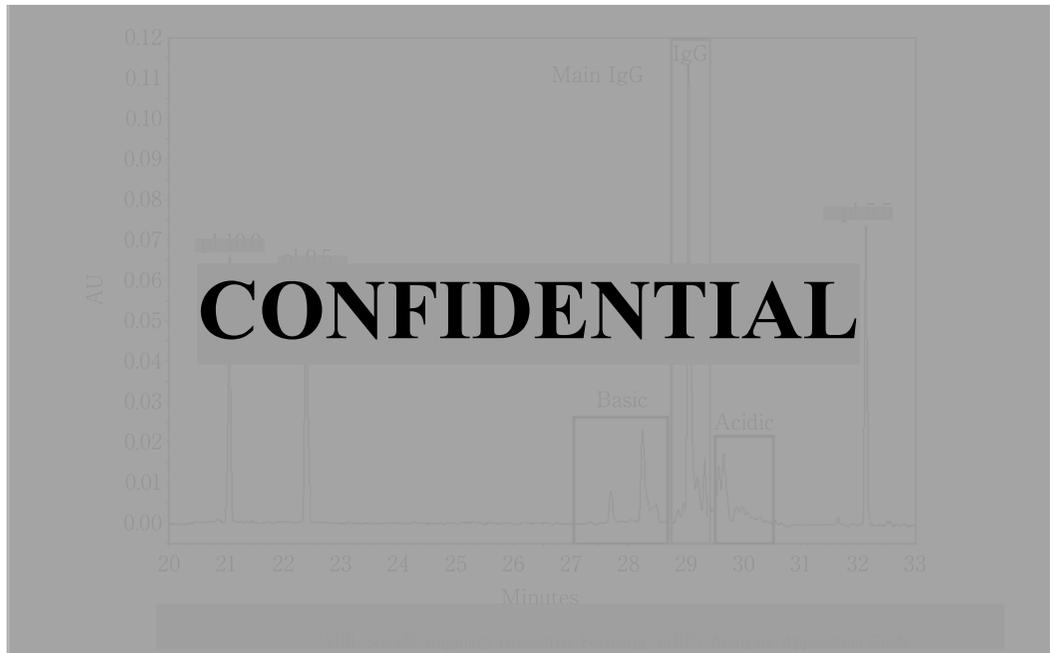


図11 IgG抗体のキャピラリー等電点電気泳動のフェログラム

(5) 生物学的性質

抗体医薬品の期待される効能効果(作用機序)を反映した生物活性を測定する試験方法は、その分子構造及び臨床効果を考慮して、抗原との結合特性及び機能性特性を明らかにする。

抗原(標的分子)との結合性は、免疫学的性質でもあるが、抗体医薬品の作用の起点となる性質でもある。結合特性には、ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)やSPR (Surface Plasmon Resonance : 表面プラズモン共鳴)解析等が利用される。

抗体の機能性特性は、抗原又はその受容体を発現している細胞を用いて、抗原が関わる生体反応に対する抗体の作用を評価する。エフェクター分子を介した細胞傷害活性を期待する抗体医薬品では、ADCC又はCDC活性を評価する。

抗体医薬品の生物活性を定量的に表す尺度は、物質質量(mg)当たりの「力価」であるので、標準物質で設定した単位(Unit)を根拠と共に示す。なお、原薬及び製剤の品質試験では、標準物質の活性と比較した相対力価もしくは比活性で表される。

1.4 バイオシミラーでの注意点

バイオシミラー(バイオ後続品)の場合、先行バイオ医薬品との比較(同等性もしくは同質性の確認)が必要となる。表1のように特性解析に公知情報を利用する際は、その根拠となって

第3章

規格及び試験方法

品質の項では、特性解析の検討で提示した重要品質特性(CQA)に基づいて設定した品質管理に必要な品質試験の“規格及び試験方法”を明記することになる。この“規格及び試験方法”について「抗体医薬品の品質評価のためのガイダンス」では、“臨床試験に用いられたロットと同等の品質を有する製品が恒常的に供給されるよう、規格及び試験方法を設定する。規格及び試験方法は、試験項目、用いる分析法及びその方法で試験したときの規格値/適否の判定基準を示したものであり、ICH Q6Bガイドラインにしたがって、外観・性状、確認試験、純度と不純物、力価、物質質量等に関して設定する。”とある。

PMDAの審査報告書に記載されたいくつかの抗体及び抗体薬物複合体の医薬品の規格及び試験方法の試験項目を以下に示す。

i) トラストズマブ(遺伝子組換え)、先行バイオ医薬品(ハーセプチン)

原薬：性状(外観)、確認試験(), 浸透圧, pH, 純度試験(),
 (), エンドトキシン試験, ()
 製剤：性状(外観)、確認試験(), 浸透圧, pH, 純度試験(),
 (), 水分, 不溶性異物試験, 重量偏差試験, 不溶性微粒子試験,
 無菌試験, ()
【解説】 マスキングされているが、生物活性、含量(タンパク質量)及び定量法は、設定されているはずである。製剤は凍結乾燥製剤であるため、注射剤に必要な試験項目に水分及び製剤均一性(重量偏差試験)が追加して設定されている。<注：二重下線部は筆者追記(以下本章内同様)>

ii) トラストズマブ(遺伝子組換え)[トラストズマブ後続1]

原薬：含量、性状(外観)、確認試験(ペプチドマップ及び), オリゴ糖プロファイル,
 pH, 純度試験(, (及び), , HCP, 宿主細胞由来DNA及び
 (), エンドトキシン, 微生物限度, 不溶性異物, () 親和性, 生物活性()
 () 及び定量法(紫外可視吸光度測定法)
 製剤：含量、性状(外観)、確認試験(及び), 浸透圧, pH, 純度試験(及
 び), 水分, エンドトキシン, 製剤均一性, 不溶性異物, 不溶性微粒子, 無菌, 生
 物活性() 及び定量法(紫外可視吸光度測定法)

ix) ベバシズマブ(遺伝子組換え) [ベバシズマブ後続2]

原薬：含量，性状，確認試験(ELISA法)，pH，純度試験(■及び■)，
エンドトキシン，微生物限度，生物活性(細胞増殖阻害活性)及び定量法(紫外可視吸光度
測定法)

製剤：含量，性状，確認試験(ペプチドマップ及びELISA法)，純度試験(■ ■及び
■)，エンドトキシン，採取容量，不溶性異物，不溶性微粒子，無菌，
生物活性(細胞増殖阻害活性)及び定量法(紫外可視吸光度測定法)

このように，同じ抗体であっても品質試験項目は同じにならない。それぞれの製造方法の一貫性及び工程管理の方法に基づいて出荷試験にふさわしい試験方法と規格を定めることになる。

本章では，製造販売承認申請書の添付資料・モジュール3(第3部)の「3.2.S.4 原薬の管理」の項の構成(「3.2.S.4.1 規格」，「3.2.S.4.2 試験方法(分析方法)」，「3.2.S.4.3 試験方法(分析方法)のバリデーション」，「3.2.S.4.4 ロット分析」及び「3.2.S.4.5 規格の妥当性」)及び「3.2.P.5 製剤の管理」の項の構成(「3.2.P.5.1 規格」，「3.2.P.5.2 試験方法(分析方法)」，「3.2.P.5.3 試験方法(分析方法)のバリデーション」，「3.2.P.5.4 ロット分析」，「3.2.P.5.5 不純物の特性」及び「3.2.P.5.6 規格の妥当性」)のうち，原薬及び製剤の「規格及び試験方法」の記載について解説する。

抗体医薬品の原薬の品質試験で一般的に設定される試験項目と試験方法を表1に示す。

目的物質，目的物質関連物質及び目的物質由来不純物を管理するためのバイオ医薬品(抗体医薬品)の原薬と製剤の試験方法(純度試験)は，通常，共通の試験方法が使用される。また，確認試験，タンパク質量(含量)並びに生物活性の試験方法でも共通使用されることも多い。このため，抗体医薬品の試験項目毎に原薬及び製剤の規格(妥当性の根拠を含め)と試験方法の記載例を提示する。なお，日本の製造販売承認申請では試験方法の簡略記載が認められているが，ここでは日局の記載の手引きに準拠した試験方法を提示する。

り、局方医薬品各条の提示順と同じく最後になる。

抗体医薬品の定量法には、標準物質を用いた特性解析で設定した吸光係数を用いた紫外可視吸光度測定法(タンパク質定量法)が使用されることが多い。また、安定性試験等の保管中のタンパク質の変性を確認する目的で、液体クロマトグラフィーによる標準物質との相対比較試験でタンパク質量を求める方法も採用される。

i) 定量法：紫外可視吸光度測定法(タンパク質定量法：方法1(紫外吸収法))

本品の適量を精密に量り(W_1 g)、1 mL中にタンパク質約1 mgを含む液となるように定量用緩衝液(W_2 g)を加えて希釈し、試料溶液とする。試料溶液につき、定量用緩衝液を対照とし、紫外可視吸光度測定法<2.24>により、波長280 nmにおける吸光度 A_T を測定する。

$$\text{本品 1 mL 中のタンパク質量 (mg)} = A_T / (1.38 \times l) \times \text{希釈倍率}$$

1.38：吸光係数(****マブ 1 mg/mLの吸光度)

l ：セル光路長(cm)

希釈倍率： $[(W_1/\text{本品の比重}) + (W_2/\text{定量用緩衝液の比重})]/(W_1/\text{本品の比重})$

〔解説〕

- ・ 定量法で得られるタンパク質量には、通常、糖鎖部分は含まれない。
- ・ 測定セルの光路長(l)は、一般的に1 cmが使用されるため、上記の式から省略されることもある。
- ・ 原薬及び製剤に共通の試験方法である。定量用緩衝液は、原薬又は製剤の成分処方からタンパク質を含まない緩衝液を別途調製する。
- ・ 試験の有効判定として、試料溶液をあらかじめ規定した繰り返し回数調製し、測定した吸光度の相対標準偏差を判定する基準を定めることも可能であり、試験が有効と判断した場合は、繰り返し測定した値の平均値をタンパク質含量とすることとなる。また、複数(2回の場合が多い)の試料溶液を調製し、それらの結果の差異を判定することも可能である。

ii) 定量法：液体クロマトグラフィー

本品及び****マブ標準物質のタンパク質約● mgに対応する容量を正確にとり、次の条件で液体クロマトグラフィー<2.01>により試験を行い、****マブのピーク面積 A_T 及び A_S を測定する。

4.2.2 試験方法(例：N-グリコシダーゼFで糖鎖を脱離，2-アミノベンズアミドで標識)

本品の適量を取り，水を加えてタンパク質濃度約10 mg/mLとする。この液20 μ Lを取り，水9 μ L，0.5 mol/Lリン酸塩緩衝液(pH7.5)3 μ L及びペプチド-N-グリコシダーゼ溶液(New England Biolab社製，50,000 unit/mL)2 μ Lを加えて37°Cで3～24時間静置する。次に，2-AB溶液(2-アミノベンズアミド50 mgをジメチルスルホキシド/酢酸(100)混液(7:3)1 mLに溶かし，この液にシアノ水素化ホウ素ナトリウム60 mgを溶かす)5 μ Lを加えてよく混合した後，65°Cで2時間反応する。冷後，エタノール90 μ Lを加えて混合した後，あらかじめエタノール1 mL及び90%エタノール1 mLの順に平衡化した試薬除去カートリッジ(Waters社製，Sep-Pak NH₂: 500 mg/3 mL)に全量を負荷した後，エタノール12 mLでカートリッジを洗浄する。次に，3 mol/L酢酸アンモニウム緩衝液(pH6.0)3 mLを用いて溶出する2-アミノベンズアミド標識糖鎖溶液を回収し，溶媒を減圧下蒸発乾固した後，水80 μ Lを加えて残留物を溶かし，試料溶液とする。試料溶液5 μ Lにつき，次の条件で液体クロマトグラフィー<2.01>により試験を行う。試料溶液の各々のピーク面積を自動積分法により測定し，面積百分率法によりそれらの量を求める。

試験条件

検出器：蛍光光度計(励起波長330 nm，蛍光波長420 nm)

カラム：内径2.1 mm，長さ15 cmのステンレス管に1.7 μ mの液体クロマトグラフィー用のエチレン架橋型ハイブリッド基材にトリファンクショナル結合アミドを結合させたものを充填する(Waters社製，ACQUITY UPLC Glucan BEH Amide，製品番号186004742)。

カラム温度：40°C付近の一定温度

移動相A：ギ酸アンモニウム6.3 gを水750 mLに溶かし，ギ酸でpH4.5に調整した後，水を加えて1,000 mLとする。

移動相B：液体クロマトグラフィー用アセトニトリル

移動相の送液：移動相A及び移動相Bの混合比を次のように変えて濃度勾配制御する。

注入後の時間(分)	移動相A(vol%)	移動相B(vol%)
0～45	28 → 38	72 → 62

流速：毎分0.4 mL

面積測定範囲：試料溶液注入後40分間

システム適合性

システムの性能：本品の標準物質の適量を取り，試料溶液と同様に操作し，標準溶液とする。標準溶液5 μ Lにつき，上記の条件で操作するとき，参照クロマトグラム(掲載省略)と溶出プロファイルが同等(G0, G0F, Man5, G1Fa, G1Fb, G2Fの順に溶出し，近接するピークの分

第4章

分析法バリデーション

粒子及び無菌の各試験項目が、日本薬局方の通則及び一般試験法に準拠していることから分析法バリデーションを実施しなかったこと理由付けであろう(正確には、ICH Q2には、薬局方に記載されている分析法は、分析法のバリデーションを実施しなくても良いとは明記されていない。ただ、ICH Q7A「原薬GMPのガイドラインについて」(平成13年11月2日、医薬発第1200号、厚生労働省医薬局長通知)の「12.8 分析法のバリデーション」に、“採用する分析法が、薬局方又はその他認知された参考文献に記載されていない場合には、バリデーションを行うこと。”とある。注意点は、ガイドラインの通常評価する必要がある項目だけを最小要求範囲として実施すれば承認申請の必須要件を満たせるという考えには、変動要因の吟味や分析法の堅牢性の観点からライフサイクル全体での均一な精度管理を行うには十分でないことがあることを認識するところにある)。

なお、日本薬局方の一般試験法で規定されている、エンドトキシン試験法の光学的定量法での予備試験(検量性の信頼性確認試験及び反応干渉因子試験)、微生物限度試験法の生菌数試験での製品存在下での測定法の適合性及び無菌試験法での手法の適合性試験により、それぞれの分析法の適格性を評価したことを明記することもGMP上は重要である(品質試験に用いる分析法の適格性については、品質部門の査察における確認要件でもある)。

また、ICH Q2には、原薬の製造方法を変更する場合や製剤の組成を変更する場合等では、再バリデーションが必要とある。このため、CTDに提示するバリデーションに用いる試料は、一般的には申請する生産設備・製造方法によって得られたロットを使用すべきであろう。

1. 確認試験

確認試験で評価する必要がある分析能パラメータは、特異性(分析対象物を誤りなく確認できる能力)である。

1.1 ペプチドマップ

ペプチドマップ法は、タンパク質を選択的に酵素処理して得られたペプチド断片を液体クロマトグラフィーにより再現性良く分離し、同様に処理した標準物質のペプチド断片とクロマトグラムピークプロファイルと比較することで、タンパク質の一次構造の確認(標準物質のピークプロファイルとの一致性を確認)を行うものである。

なお、製剤における確認試験として原薬と同じペプチドマップを採用した場合には、製剤として追加のバリデーションが必要かどうかは、設定した試験方法に原薬の場合と異なる前処理等、試験操作手順を考慮して判断すれば良い。追加して検証する場合には、影響が懸念される

ている部分を相互参照する方法で説明できる)。



図1 トリプシン消化でのペプチドマップによる抗体間のピークプロファイルの差異

1.2 その他の確認試験

キャピラリー等電点電気泳動法並びにSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法(非還元条件)等、標準物質との一致性の確認を行う分析法では、必ずしも十分な特異性が説明できない。測定試料のタンパク質をインタクトの状態で行う場合、前者はpIの差異による分離分析(図2: 2種の抗体の混合エレクトロフェログラム)並びに後者は分子量の差異による分離分析であるため、ブランクやプラセボとの区別は容易であるが、測定対象と同様の特性を有する異なる抗体との厳密な判別は困難となることも予測できる。

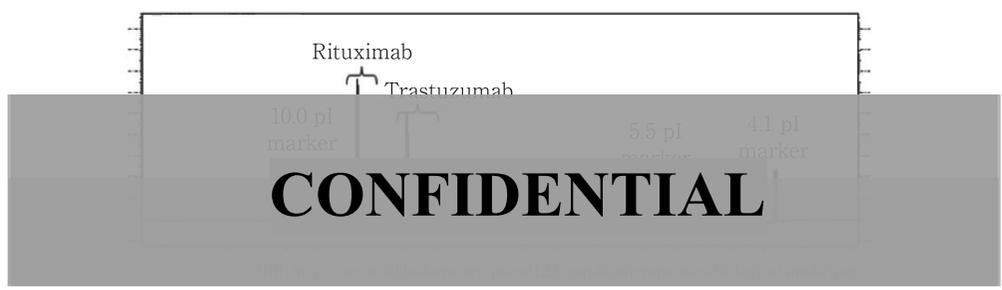


図2 キャピラリー等電点電気泳動のエレクトロフェログラム

また、システム適合性のシステムの性能は、糖鎖の組成比算出に用いる各2-AB標識化糖鎖ピークが恒常的に相互分離することを保証するものなので、その設定も含めて特異性を説明すべきであろう。

この解説が意図するところは、「検討結果としてブランクと試料溶液を測定し、試料溶液では糖鎖由来のピークを認め、ブランクでは各糖鎖の溶出位置にピークを認めなかった。」との提示では試験方法の特異性の説明は不十分ということになる。特に、ブランクにもよるが、液体クロマトグラフィーを含めたシステム適合性試験を実施する前に移動相や試料溶液調製液を用いて試料注入部の汚染がないことを確認することは必須作業であり、ブランクの取り扱い(空試験)によってはシステムの性能の評価に使用できないと考える。

2.1.2 直線性

試験方法に準じて操作するとき、試料溶液中に含まれる各糖鎖の2-AB標識体の平均濃度の50～150%に相当する5濃度以上の2-AB標識化糖鎖の標準物質の溶液を調製し、検量線を作成する。規格に規定する各糖鎖については、それぞれの糖鎖の標準物質の適量を取り、試験方法の2-AB標識操作に準じて操作した後、適宜検量線作成に必要な濃度系列を調製するか、又は各2-AB標識化糖鎖の標準物質の適量を取り、水に溶かして適宜検量線作成に必要な濃度系列を調製することが望ましい。ただ、試験方法で規定する糖鎖の組成比は、面積百分率法で算出すること、また、ピーク面積の検出を蛍光光度計で測定するため蛍光強度は糖鎖の標識化に用いた2-ABに依存することを考慮すれば、検出が必要な微小な2-AB標識化糖鎖ピークについては、主な2-AB標識化糖鎖の検量線用溶液を用いて、更に適宜希釈して必要とする低濃度領域(定量限界付近の濃度を含む)までの濃度系列を追加調製し、代替え検量線として利用する方法も可能であろう。各測定ポイントの測定回数(同一試料溶液の注入回数)は、試験方法に試料溶液の注入回数が記載されていない場合は、1回とすることが望ましい(注入によるバラツキがマスクされてしまう)。注入回数が規定されている場合は、ピーク面積の平均値を用いて回帰直線を作製する。なお、試験方法は、ピーク面積の面積百分率により組成比を計算するため、回帰直線として得られた検量線の判定基準は、相関係数と y 切片の評価となる(添付資料には、これらの他にデータをプロットした図と共に回帰直線の傾き及び残差平方和も記載する)。前者は0.99以上でも十分であるが、後者は y 切片の90%信頼区間が原点を含まなければ面積百分率の原則に合致しない。このため、一度の検討では判定基準に適合しないことをリスクと考えるならば、再現性の確認として検量線作成用の溶液の調製を複数回実施し、各検量線の解析と全データの検量線の解析を併せて実施することも可能であろう。なお、 y 切片の評価に y バイアスを用いる場合も多いが、その場合には検量線が原点を通らないことによる面積百

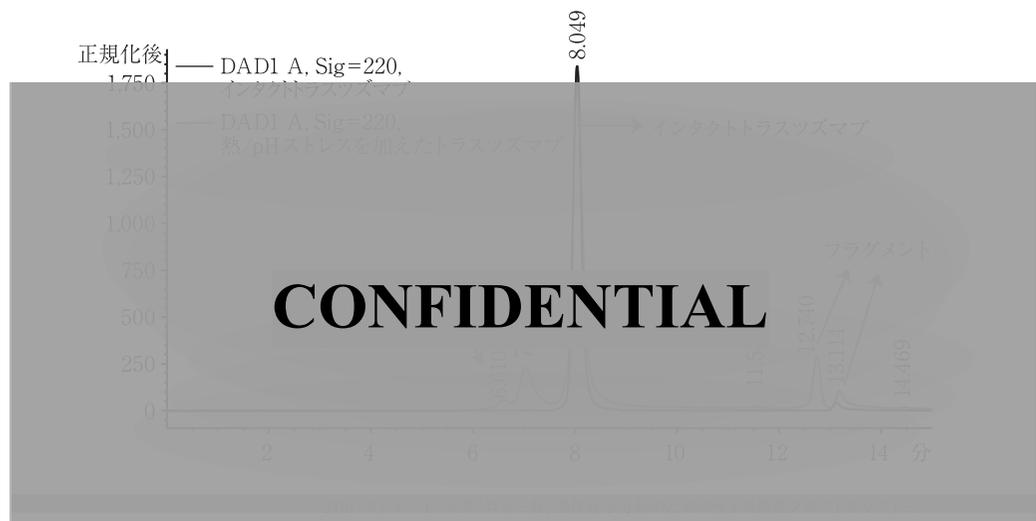


図7 純度試験(サイズ排除クロマトグラフィー)のクロマトグラム

3.2.2 真度

品質評価済みの原薬を適切な条件で劣化させ目的物質由来不純物(高分子量体及び低分子量体)を意図的に増加させた試料を調製し、品質評価することで既知濃度の試料とし、目的物質由来不純物の量が、規格の上限値の150%までの複数の濃度になるように正確に調節した原薬との混合試料の混合比率から主ピーク(単量体)、高分子量体(凝集体:二量体あるいは重合体)及び低分子量体(切断体)の理論値(面積百分率)を計算で求め、試験方法にしたがって得た値と比較することで真度の検討を行うことができる。バリデーション計画については本章「3.1 イオン交換クロマトグラフィー(IEC)」の「3.1.2 真度」の項を参照されたい。

3.2.3 直線性, 定量限界及び範囲

サイズ排除クロマトグラフィーの規格では、高分子量体及び低分子量体の面積百分率は、いずれも数%以下と設定されるであろう。このため、原薬又は製剤の試料溶液中に含まれる高分子量及び低分子量の目的物質由来不純物を単離・精製が困難であるならば、純度試験として目的物質由来不純物(高分子量体及び低分子量体)を過小評価しないように、試験方法の試料溶液に相当するタンパク質濃度の標準溶液を用いて定量限界付近(ピークのSN比が10以上)から試料溶液のタンパク質濃度の150%の範囲で5濃度以上の溶液を調製して直線性を検討する。このとき、高分子領域及び低分子領域のピークはまとめて管理するため、直線性の検討では各ピークグループのピーク面積の合計で評価することで良い。

なお、回帰直線として得られた検量線の判定基準は、相関係数とy切片の評価となる(添付

第5章

製造

安全性及び有効性を確保するために用いられるもの。

各製造工程でのプロセスパラメータ (CPP, Non-CPP) 及び工程内試験 (処置基準, IPC 規格) の管理状況とその妥当性の根拠についての記載例を以下に示す。

(1) 培養工程及びハーベスト工程

- ・ WCB 融解から種培養：これらの工程では CPP 及び IPC 規格は設定されていない。

プロセスパラメータを表2に示す。振とうフラスコ及び揺動型シングルユースバッグでの種培養工程では、培養液量の拡大に関わらず同じプロセスパラメータで管理を行う。また、WCB 融解時及び種培養工程の工程内試験 (処置基準) を表3に示す。

表2 WCB 融解及び種培養工程のプロセスパラメータ管理

工程	パラメータ	NOR	PAR
WCB 融解	融解温度	35 - 38℃	35 - 38℃
振とうフラスコでの種培養 (250 mL, 1 L, 2 L)			
揺動型シングルユースバッグ での種培養 (10 L, 50 L)			
	培養時間	48~96時間	48~96時間

表3 WCB 融解及び種培養工程の工程内試験

IPC項目	妥当性根拠
WCB融解後の細胞生存率	
培養液の性状	
継代時の細胞生存率	
継代時の生細胞の密度	

- ・ 拡大培養：この工程では CPP 及び IPC 規格は設定されていない。プロセスパラメータを表4に示す。このバイオリアクターでの拡大培養工程では、培養液量の増大に関わらず同じプロ

1.5 プロセス・バリデーション/プロセス評価(3.2.S.2.5)

(1) 3.2.S.2.5.1 ウイルスクリアランス

ウイルス安全性確保の一貫としたウイルススクリアランス試験は、ウイルスを製品から排除する能力を有するプロセスデザインの特性解析でもある。この結果は、「3.2.S.2.6 製造工程の開発の経緯」並びに「3.2.A.2 外来性感染性物質の安全性評価」で記述することもできる(特に、後者は承認審査において重要な要件であるため、安全性評価の説明に必要な情報は記載する)が、ここでは“プロセスの評価”として製造工程がウイルス不活化及び除去する能力を有することを要約記載する例を以下に示す。

ウイルススクリアランス試験は、ウイルスの不活化(低pH処理工程)及び除去(ナノろ過工程)の能力並びに補足的な除去能が期待されるアフィニティークロマトグラフィー工程及び陰イオン交換クロマトグラフィー工程の評価を、モデルウイルス(概要を表26に示す)と適格性が確認されたスケールダウンモデルを用いて検証した。表27に示すウイルススクリアランス指数から、精製工程が一定のウイルススクリアランス能を有することが確認された。

表26 ウイルスクリアランス試験に用いたモデルウイルスの概要

ウイルス名	ウイルス科	ゲノム	サイズ	エンベロープ	抵抗性
異種指向性白血病ウイルス(xMuLV)	レトロ	1本鎖DNA	80~110 nm	有	低度
マウス微小ウイルス(MVM)	パルボ	1本鎖DNA	18~24 nm	無	非常に高い

CONFIDENTIAL

表27 ウイルスクリアランス試験の結果：ウイルススクリアランス指数*

製造工程	xMuLV	PRV	Reo-3	MVM
アフィニティークロマトグラフィー	>4.2	試験なし	試験なし	2.3
総ウイルススクリアランス指数	≥ 10.5	≥ 10.8	≥ 10.5	≥ 10.0

CONFIDENTIAL

*ウイルススクリアランス指数(log₁₀)は、新品の樹脂と再使用樹脂を使用した結果の低い値を示した。

〔解説〕 日本のガイドライン(「血漿分画製剤のウイルス安全対策について」(平成15年11月7日付, 薬食審査発第1107001号他))によれば, ウイルスの不活化及び除去工程では, 機序の異なるものが2工程以上必要で(ただし, 各工程の有効の定義は規定されていない), HIV, HBVモデルウイルス及びHCVモデルウイルスの総RF値は, 9以上とある。一方, 欧州のガイドライン(“Note for Guidance on Plasma-derived Medicinal Products”(CPMP/BWP/269/95 rev.3, 2001.1/25) & “Note for Guidance on Assessing the Risk for Virus Transmission – New Chapter 6 of the Note for Guidance on Plasma-derived Medicinal Products (CPMP/BWP/269/95)” (CPMP/BWP/5180/03, 2004.10/21))及び米国のガイドライン(OBRR/CBER: Transmissible Spongiform Encephalopathies Advisory Committee (2002.6/26, 2003. 2/20) & Blood Product Advisory Committee(2003. 9/18))では, ウイルスの不活化又は除去に有効な工程(RF値が4以上の工程)が2つ以上必要で, かつ, このうち少なくとも1工程は非エンベロープウイルスに有効なもので, また, 少なくとも1工程は不活化工程が必要とされている。また, 欧州の総RF値の許容値は, エンベロープウイルスに対しては原則8以上(有効な工程が2つ)で, 非エンベロープウイルスに対しては原則4以上(有効な工程が1つ)であり, 米国の総RF値の許容値は, エンベロープウイルスに対しては有効な工程が2つ(HIV, HBVモデルウイルス, HCVモデルウイルスに対しては10以上)で, 非エンベロープウイルスに対しては6以上である。

このように, グローバルな観点から, ウイルス安全性確保について考える必要があり, 総ウイルスクリアランス指数の評価だけでなく, ウイルスの不活化並びに除去が有効な工程を組み入れた精製工程かどうか評価することが重要で, モデルウイルスのクリアランスが十分担保できなければ, 混在が疑われる外来性ウイルスについて, 未加工/未精製バルクでの工程内試験でウイルス安全性を保証する方策を講じる必要がある。

(2) 3.2.S.2.5.2 プロセスの適格性検証(PPQ: Process Performance Qualification)

設定した製造工程の管理戦略が, 許容可能な均一な品質の原薬を安定的に生産するために有効であることを検証するために, 連続4ロットの商用生産でPPQを実施した。

以下に示すように, プロセスパラメータの管理, 工程内試験の結果及び原薬の品質試験の結果(「3.2.S.4.4 ロット分析」の項参照)から, 設定した製造方法により効果的に製造管理が行うことができ, あらかじめ設定した製品品質に適合する原薬を再現良く生産できることが示された。

- ・ WCB融解及び種培養工程: この工程で実施されたプロセスパラメータを表28に, 工程内試験の結果を表29に示す。いずれも, あらかじめ設定した許容基準に適合した。

表 52 DNA の除去能 (工程毎の残留量 : pg/mg)

工程サンプル	PPQ#1	PPQ#2	PPQ#3	PPQ#4
ハーベスト工程の培養上清	7.0×10^7	7.9×10^7	5.6×10^7	7.8×10^7
CONFIDENTIAL				
製剤処方化工程の調製液	<LOQ(1)	<LOQ(1)	<LOQ(1)	<LOQ(1)

* デブスフィルターのろ液で測定

(3) 3.2.P.2.5.3 継続的なプロセス検証 (CPV : Continued Process Verification)

PPQ に引き続いて、製品のライフサイクルの残りの部分を継続して、製造プロセスの包括的なモニタリングと継続した検証を行う。この目的は、商業製造を継続して実施する間、バリデートされた状態が維持していることを継続して確認することで、定期的に製造工程の全ての CPP、IPC 規格及び出荷試験を照査 (製品品質照査) して報告書にまとめる。

1.6 製造工程の開発の経緯 (3.2.S.2.6)

この項では、開発期間中に実施された GMP-run の変更管理についてまとめる。欧米での開発では、治験の途中もしくは治験の実施前に製法の変更の妥当性について変更申請を行い (事前に同等性を説明するための計画について相談する場合も多い)、当局の同等性/同質性の審議を受ける。一方、日本では、開発期間中の変更は、全て治験実施者 (治験スポンサー) の責任で行われるため、当局への正式なデータの提示は、製造販売承認申請時に初めて行うことになる。このため、変更管理で検討された有効性・安全性についての同等性の根拠となる CQA に基づいた同等性/同質性の説明は必要となる。

以下に PMDA の審査報告書に記載された製造工程の開発の経緯 (同等性/同質性) についての記述を示す。なお、先行バイオ医薬品では、一般的に開発期間が長期となるため CQA への影響が懸念されるような製法の改良 (MCB の変更を含む) が複数記載されているのに対して、バイオ後続品では MCB から WCB を用いた製造への変更並びに製造スケールの拡大あるいは製造条件の調整等の記載が見受けられる。