バイオ医薬品ハンドブック

Biologicsの製造から品質管理まで

第4版

編集　日本PDA製薬学会 バイオウイルス委員会

じほう

2. バイオ医薬品の開発段階に応じた CMC 戦略

CMC開発上の開発初期と開発後期の違いは，何を最重要視するかという点にある。一般に，開発初期においては，早期臨床試験の実施を目指しスピードを最重視するため多くの検討は省略した確立済みのプラットフォーム技術を適用することが多いのに対し，開発後期においては，早期承認取得に向けて製法の堅牢性と利益率を考慮しながら最短の承認申請ルートを探ることが重要視される。

（1） 開発初期における CMC 戦略

国内での臨床試験を前提とした場合，バイオ医薬品では一般の低分子医薬品と同様に治験実施計画書や治験薬概要書が必要であるが，CTDの提出は求められない。しかしながら，開発の経緯は将来の承認申請においてCTD M3の根拠資料となることから，適切に報告書を作成して保管する必要がある。低分子と異なる点は，特にバイオ医薬品は細胞を基材として産生することが多いため，開発初期に行う産生細胞株の樹立，マスターセルバンク（MCB）の製造，保管に関する開発経緯がわかる報告書を作成する必要があるところである。開発初期においても，承認申請時に求められるガイドライン／ガイダンス要件を熟知し，製法開発や品質設計を行うことが必要である。**図2-3**に製法開発時に参照するICHガイドラインの例を示す[2)]。

①細胞株の構築

バイオ医薬品は，遺伝子組換え，細胞工学，培養，精製などの各技術を駆使して目的の医薬品を製造する。バイオ医薬品候補が絞られた段階で目的タンパク質の高い生産能と安定した高増殖能を示す細胞株を樹立させてセルバンクを製造することとなる。ICH Q5BやQ5Dガイドラインでは，目的タンパク質をコードする配列を含む発現ベクターの構築，細胞の起源，セル

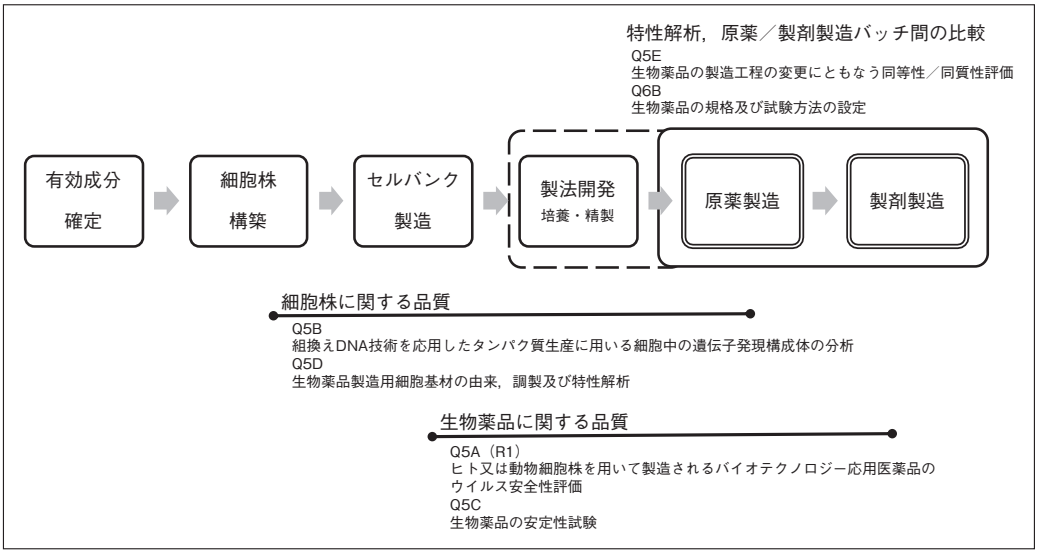

図2-3　製法開発時に参照するICHガイドライン[2)]の例

表 3-1　日本で承認されている組換え医薬品・細胞培養医薬品

分類		一般名	商品名	承認年	*	分子量	細胞基材	主な適応疾患
酵素	t-PA	アルテプラーゼ	アクチバシン注，グルトパ注	1991	○	約 64,000	CHO	虚血性脳血管障害，急性心筋梗塞
		モンテプラーゼ	クリアクター静注用	1998	○	約 68,000	BHK	急性心筋梗塞
	グルコセレブロシダーゼ	イミグルセラーゼ	セレザイム注	1998	○	約 60,000	CHO	ゴーシェ病
		ベラグルセラーゼ アルファ	ビプリブ点滴静注用	2014	○	約 63,000	HT-1080	ゴーシェ病
	αガラクトシダーゼ A	アガルシダーゼ アルファ	リプレガル点滴静注用	2006	○	約 102,000	HT-1080	ファブリー病
		アガルシダーゼ ベータ	ファブラザイム点滴静注用	2004	○	約 51,000	CHO	ファブリー病
		アガルシダーゼ ベータ後続 1	アガルシダーゼ ベータ BS 点滴静注 5mg「JCR」	2018	○	約 103,000 ～ 104,000	CHO	ファブリー病を効能・効果とするバイオ後続品
	α -L- イズロニダーゼ	ラロニダーゼ	アウドラザイム点滴静注用	2006	○	約 83,000	CHO	ムコ多糖症Ⅰ型
	酸性α - グルコシダーゼ	アルグルコシダーゼ アルファ	マイオザイム点滴静注用	2007	○	約 110,000	CHO	ポンペ病（糖原病Ⅱ型）
	イズロン酸 2 スルファターゼ	イデュルスルファーゼ	エラプレース点滴静注液	2007	○	約 76,000	HT-1080	ムコ多糖症Ⅱ型
	N- アセチルガラクトサミン -4- スルファターゼ	ガルスルファーゼ	ナグラザイム点滴静注液	2008	○	約 66,000	CHO	ムコ多糖症Ⅳ型
	尿酸オキシダーゼ	ラスブリカーゼ	ラスリテック点滴静注用	2009	○	34,151.19	酵母（*S. cerevisiae*）	がん化学療法に伴う高尿酸血症
	DNA 分解酵素	ドルナーゼ アルファ	プルモザイム吸入液	2012	○	約 37,000	CHO	嚢胞性線維症における肺機能の改善
	アルカリホスファターゼ+ Fc	アスホターゼ アルファ	ストレンジック皮下注	2015	○	約 180,000	CHO	低ホスファターゼ症
	ライソゾーム酸性リパーゼ	セベリパーゼ アルファ	カヌマ点滴静注液	2016	○	約 55kDa	トランスジェニックニワトリ	ライソゾーム酸性リパーゼ欠損症
	アデノシンデアミナーゼ類縁体	エラペグアデマーゼ	レブコビ筋注	2019	○	約 115,000	大腸菌	アデノシンデアミナーゼ欠損症
	ヒトトリペプチジルペプチダーゼⅠ酵素前駆体	セルリポナーゼ アルファ	プリニューラ脳室内注射液	2019	○	約 66,000	CHO	セロイドリポフスチン症 2 型
血液凝固線溶系因子	血液凝固第Ⅶ因子（活性型）	エプタコグ アルファ（活性型）	注射用ノボセブン	2000	○	45,513.22（ポリペプチド部分）	BHK	第Ⅷ因子又は第Ⅸ因子に対するインヒビターを保有する血友病
	抗血液凝固第Ⅸ a/ X因子ヒト化二重特異性抗体	エミシズマブ	ヘムライブラ皮下注	2018	○	約 148,000	CHO	血液凝固第Ⅷ因子に対するインヒビターを保有する先天性血液凝固第Ⅷ因子欠乏患者における出血傾向の抑制
	血液凝固第Ⅷ因子	オクトコグ アルファ	コージネイト FS バイオセット注	1993	○	300,000 ～ 350,000	BHK	血液凝固第Ⅷ因子欠乏患者における出血傾向の抑制
		オクトコグ ベータ	コバールトリイ静注用	2016	○	約 350,000	BHK	
		ルリオクトコグ アルファ	リコネイト→アドベイト注射用	1996	○	300,000 ～ 350,000	BHK	
		ダモクトコグ アルファ ペゴル	ジビイ静注用	2018	○	約 234,000	BHK	
	血液凝固第Ⅷ因子アナログ	ツロクトコグ アルファ	ノボエイト静注用	2014	○	約 176,000	CHO	
		ツロクトコグ アルファ ペゴル	アディノベイト静注用	2016	○	約 330,000	CHO	
			イスパロクト静注用	2019				
	血液凝固第Ⅷ因子 -Fc 融合タンパク質	エフラロクトコグ アルファ	イロクテイト静注用	2014	○	約 225,000	HEK293	
	血液凝固第Ⅷ因子類縁体	ロノクトコグ アルファ	エイフスチラ静注用	2017	○	約 170,000	CHO	
	血液凝固第Ⅸ因子	ノナコグ アルファ	ベネフィクス静注用	2009	○	約 55,000	CHO	血友病 B（先天性血液凝固第Ⅸ因子欠乏症）患者における出血傾向の抑制
		ノナコグ ベータ ペゴル	レフィキシア静注用	2018	○	約 98,000	CHO	血液凝固第Ⅸ因子欠乏患者における出血傾向の抑制
		ノナコグ ガンマ	リクスビス静注用	2014	○	約 54,000	CHO	
	血液凝固第Ⅸ因子 -Fc 融合タンパク質	エフトレノナコグ アルファ	オルプロリクス静注用	2014	○	約 109,000	HEK293	
	血液凝固第ⅩⅢ因子	カトリデカコグ	ノボサーティーン静注用	2015	○	166,356.30	酵母（*S. cerevisiae*）	先天性血液凝固第ⅩⅢ A サブユニット欠乏患者における出血傾向の抑制
	トロンボモデュリン	トロンボモデュリン アルファ	リコモジュリン点滴静注用	2008	○	約 64,000	CHO	汎発性血管内血液凝固症（DIC）
	アンチトロンビン	アンチトロンビン ガンマ	アコアラン静注用	2015	○	約 57,000	CHO	先天性アンチトロンビン欠乏に基づく血栓形成傾向とアンチトロンビン低下を伴う播種性血管内凝固因子症候群（DIC）
	von Willebrand 因子	ボニコグ アルファ	ボンベンディ静注用	2020	○	約 260,000	CHO	von Willebrand 病患者における出血傾向の抑制
	血液凝固第Ⅸ因子 - アルブミン融合タンパク質	アルブトレペノナコグ アルファ	イデルビオン静注用	2016	○	約 125,000	CHO	血液凝固第Ⅸ因子欠乏患者における出血傾向の抑制

（次ページへ続く）

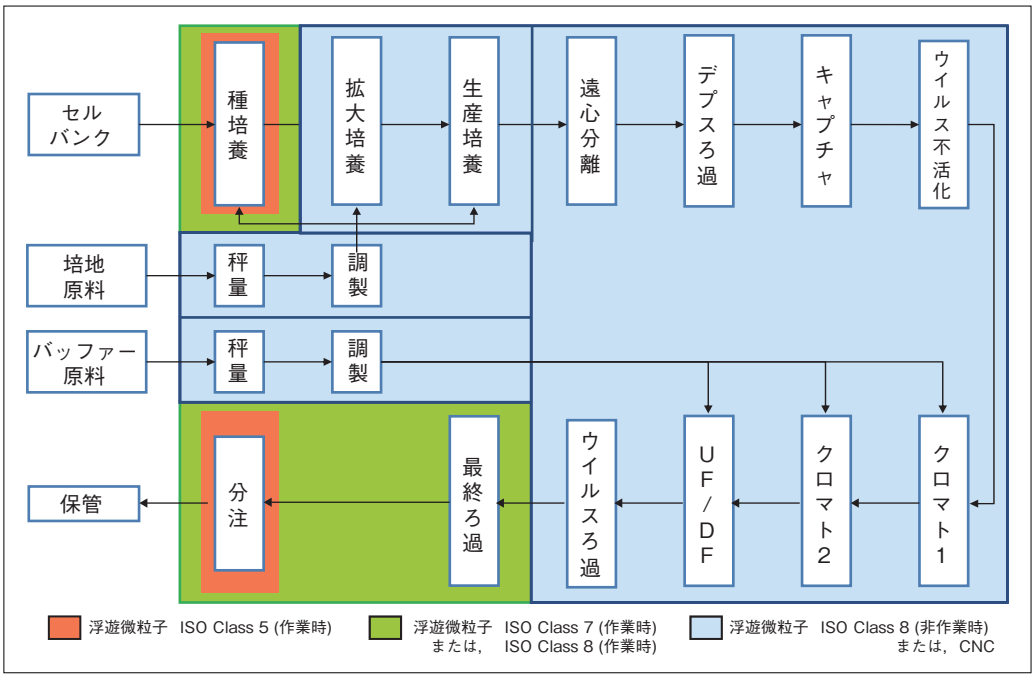

図4-3　バイオ原薬製造施設のゾーニング(例)

4. 各製造プロセス

(1) 培養：動物細胞培養で医薬品を製造するポイント

動物細胞の培養は，例えば播種時の細胞密度がその後の細胞増殖に影響を与えたり，到達細胞密度に達した後，全量を次のスケールの培養槽に移す際，細胞密度を 10 倍以上希釈すると増殖しづらくなるなど，大変デリケートな物質生産法である。特にその中の重要要因についていくつか取り上げてみる。

①生産性向上には細胞増殖の至適化が重要

目的タンパク質をたくさん作る目的で，細胞数を増やして播種した場合，必ずしもその細胞数に比例して生産量が上がるわけではない。また逆に播種細胞数が少なすぎるとまったく増殖しないことがある。培養細胞の播種条件は，培養上清の産生量を ELISA などの定量法で測定しながら最適化していく必要がある。

②細胞生存率は品質に対して影響を及ぼす

CHO 細胞のように分泌型の培養生産の場合，目的タンパク質が細胞外に産生される。培養中に細胞生存率が何らかの原因で低下すると，死細胞数が増え，HCP などの不純物が目的タンパク質を含む培養液中に大量に混入してくる。不純物の割合が高くなるため，後の精製工程への負担が増し，ときには最終品質にまで影響を及ぼすことがある。

4. 考慮すべき点

(1) バイオ医薬品の連続生産におけるバッチあるいはロットの考え方

バッチあるいはロットの定義は，ICH Q7に記載されている通りで[注)]，バッチ生産においても連続生産においても違いはない。ただし，連続生産でのロットサイズは，稼働時間や処理速度，製造量，原材料の仕込み量のいずれかに基づき規定されると考えられる[8)]。最大のロットサイズは稼働時間を延長させた運転条件とプロセスバリデーションの結果により，リスクアセスメントによる潜在的リスクを踏まえ，同じ品質のものが製造できる範囲によって決定すべきといわれている[6)]。

注) 規定された限度内で均質と予測できる，一つの工程又は一連の工程で製造された原材料等の特定の量。連続製造の場合には，ロットは製造の規定された画分に相当する。ロットサイズは，特定の量又は特定の時間内に製造された量と定義される。バッチともいう。
ICH-Q7 GMP（医薬品の製造管理及び品質管理に関する基準）

低分子医薬品の連続生産に対して，バイオ医薬品の連続生産ではロットをどのように定義すべきであろうか？　一例として，日本PDA製薬学会バイオウイルス委員会連続生産分科会での議論を紹介する（**図4-12**）[52)]。バッチ生産ではFed-Batch培養の中で蓄積されたタンパク質が一連の下流工程を経て精製バルクとなる。1つの培養バッチから得られた精製バルクが1つのロットとなりえる。一方，連続生産ではPerfusion培養のある一定期間ごとのハーベストが連続的に回収され下流工程が連続的に進み，その結果小さい単位での精製バルクが連続的に生産されることが想定される。そのため，連続培養の期間を通してこれらの精製バルクが一定の品質で管理可能であることをバリデーション等で検証することが必要となるが，検証の結果，同じ品質とみなされる範囲であれば小単位の精製バルクをプールした原薬は1つのロットであるとみなすことが可能と考えられる。つまり，一連のPerfusion培養の1ロットとプールされた精製バルクの1ロットが1：1の関係となりえるため，従来のバッチ式製造と同様の考え方を

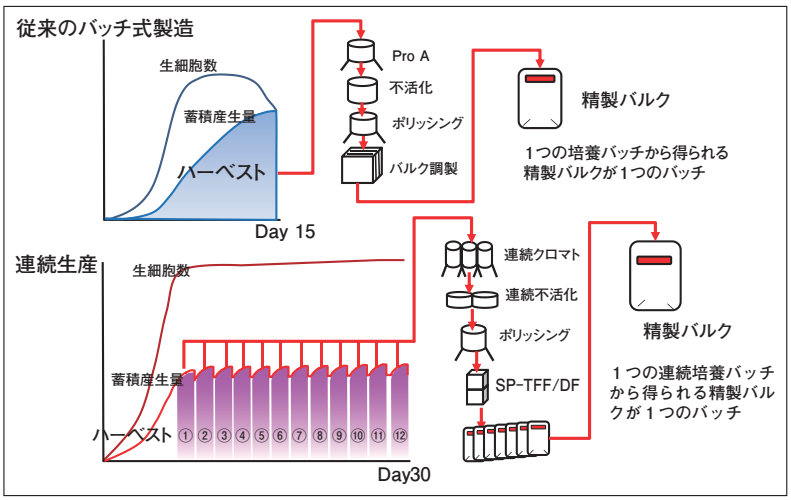

図4-12　連続生産におけるバッチ／ロットの考え方の一例
従来の Fed-Batch 培養によるバッチ式製造方式と連続生産方式のロットの考え方

	会社名 （本社所在国）	試験施設	受託の範囲	受託可能な試験項目	固有技術
16	スペラファーマ （本社　大阪）	分析研究部門（大阪）	タンパク質の特性解析 バイオ原薬，製剤試験法の開発 安定性試験 微生物学的試験 製剤検討評価	糖鎖構造解析 ペプチドマッピング HPLC分析（SEC-HPLC，IEX-HPLC） 微生物限度試験，無菌試験，エンドトキシン試験 機能性製剤試験 安定性試験 添加剤，製剤包装材試験 分解物，不純物の構造推定 MALDI-TOF/MSによる微生物の迅速同定	主要機器： HPLC，UHPLC，GPC，KF，HIAC，LC/GC-MS，MALS，MS，NMR，IR，NIR，UV，吸湿平衡装置，ラマン，粒度，粉末X線，熱分析（TG/DSC/DTA），TG/MS，XRD-DSC，各種溶出試験器，崩壊試験器，ICP-AES，ICP-MS，ELSD，CAD，旋光度，各種安定性保存庫（長期，加速，苛酷），MALDI-TOF/MS
17	ViSpot （本社　兵庫）	試験施設（兵庫）	バイオ医薬品のウイルスクリアランス試験	BSL-2ラボ ICH Q5A準拠	次世代バイオ医薬品製造技術研究組合の成果から生まれたウイルス試験技術

2. バイオ医薬のアウトソーシングの課題と今後

近年，需要と期待が高まっているCDMO，CROサービスであるが，CDMOおよびCROそれぞれに課題がある。

CDMOのうちモノクローナル抗体などを製造する動物細胞培養による製造のほとんどはプラスチックバッグを使用するシングルユースシステムを採用している。シングルユースシステムは製品切り替えによる交叉汚染の心配がないこと，製造設備建設の初期投資軽減でのコスト削減，洗浄バリデーションが不要でGMP製造開始期間の短縮などのメリットがあるが，設備の自動化が難しくステンレスシステムに比べて手作業が多く人為ミスの発生リスクが高い，プラスチックバッグ，シングルユースの付属品などの材料費が高い，などのデメリットもある（**図4-17**）。最近，連続生産法の導入検討によりシングルユースシステムの自動化や生産性向上により製造のコストダウンが図られており，連続生産での受託が可能であることを表明する

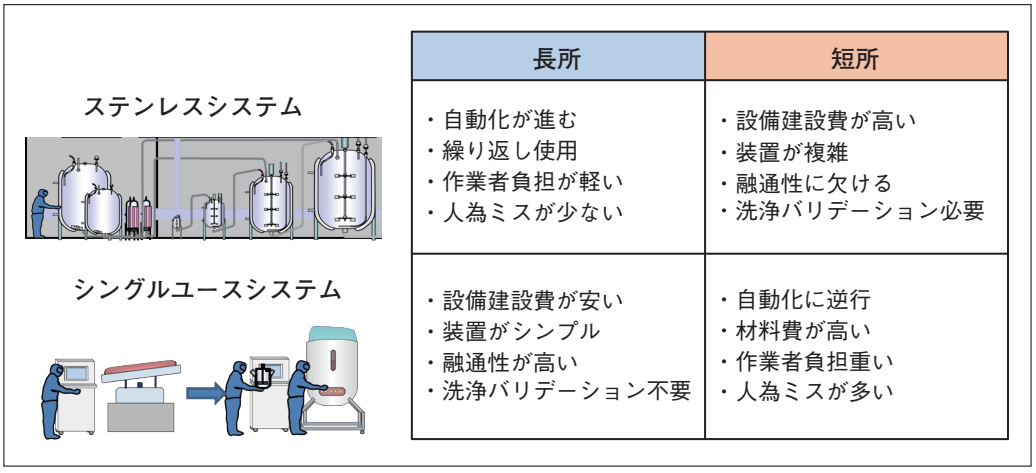

図4-17　ステンレスシステムとシングルユースシステムの長所および短所

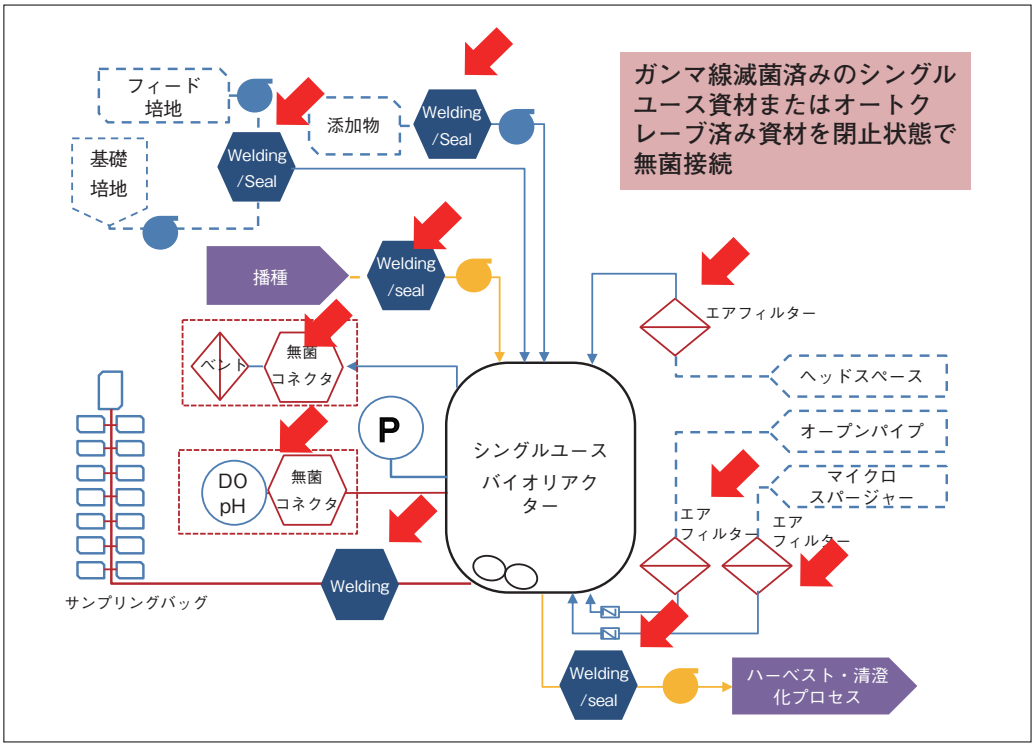

図5-8　クローズドプロセスの構築例：バイオリアクター

に接続することが必要となる。これらの接続は無菌コネクターやウェルダーなどを使用し実施可能であり，これにより培養液を製造エリアの環境に直接曝露することなく製造を実行することが可能となる。

2. シングルユース技術の導入戦略と実現性評価

まずシングルユース技術を導入検討するには，シングルユース技術で何を解決するかを明確にしておくことが重要である。具体的な事例を以下にあげる。

・新規製造設備立ち上げまでの期間短縮
・製造施設建築費用の削減(HVAC，ユーティリティ(水処理設備，滅菌設備等))
・製造設備の柔軟性(交叉汚染リスク低減による多品目対応，設備導入後のより容易なライン変更)
・洗浄バリデーション，洗浄作業などの間接作業低減

シングルユース技術を導入評価する際は，社内でプロジェクトチームを発足させ，リーダーを選任することから始めることが必要だろう。メンバーについては製造関係，技術関係，品質保証，品質管理，サプライチェーンといったさまざまな部門の関係者から構成されることが望ましく，その他の経営的な判断も必要になる。それは，技術面，経済面，品質面，管理面などといったさまざまな側面で評価され意思決定されるべきだからである。そして，プロジェクト

告会（Wrap-Up Meeting）を開催することが多いが，その際には，滞在中に発生した問題を漏らさず報告し，受託試験機関の良かった点，悪かった点も合わせて伝えることが重要である。また，報告会の議事を書面に残すことで，将来の試験委託に役立てるようにすべきである。試験が終了すると，委託先からデータが送られてくるが，サンプルの容量の転記間違い等には，注意が必要である。

5） 報告書の作成と最終化

受託試験機関は，スパイク試験，それに続く力価測定試験の終了後，得られたデータをまとめ，試験報告書を作成する。通常，試験報告書の草案が委託者に提供され，委託者がスパイク試験実施時に取得したデータと照合し，報告書の最終化に向け受託試験機関とディスカッションを行う。ろ過液量などは委託者側でデータを提供する必要があるため，スパイク試験実施時に適切に記録を行うことが肝要である。ディスカッション終了後，受託試験機関の信頼性保証部門の監査を受けた後の最終案を委託者は再度確認し，合意が得られた段階で，受託試験機関の試験責任者および信頼性保証部門責任者の署名が入り，納品される。ディスカッションや最終化までの手続きにかかる日数を見込み，スケジュールを立てることも重要である。

ウイルスクリアランス試験はICH Q5A（R1）に記載のとおり「精製工程のスケールダウンを設計し，準備に関与した製造担当者とウイルスの専門知識を有する者が共同して」実施すべき試験である。すなわち，医薬品の製造者と受託試験機関が協力して，十分なディスカッションと情報共有を経て，試験計画書を作成し，その上で実施しなければならない。また，受託試験機関でのウイルススパイク試験の実施には，数週間の滞在を要する場合もあり，この点でも試験の成功には，受託試験機関との密なコミュニケーションと信頼関係の構築が必須となる。

3. バイオ医薬品におけるウイルス汚染事例

Baroneら[52]の報告によるとバイオ医薬品におけるウイルスの汚染事例は，少なくとも26件が報告されている（表8-2）。報告された汚染源は培地を構成する血清やその成分，また，作業者などとされている（**表8-6**）。この項では汚染の詳細が報告されている汚染事例について紹介する。

ウイルス汚染の最初の報告は，1988年にBioferon GmbH社で起こったCHO細胞での汚染事例である[53]。CHO細胞を宿主とした組換え医薬品の培養工程（10%FBSを含む血清培地での4日間の増殖培養後，無血清培地に交換して4日間の生産培養を行い，このサイクルを繰り返す）で，通常の培養が数週間続いた後，突然pHが低下し細胞が死滅した。初期調査の結果，原因は，細菌や真菌，マイコプラズマではなかった。汚染した感染性因子は，無菌ろ過フィルターを通過し，クロロホルム耐性で数度の凍結・融解に対しても耐性である一方，pH5.5処理で不活化された。またヒト赤血球の凝集能を欠いていた。詳細な調査の結果，同社は汚染ウイルスをEHDV（Epizootic Haemorrhagic Disease Virus，**図8-3**）と同定し報告した。同ウイ

第 9 章

ウイルス・マイコプラズマ否定試験

はじめに

生物薬品の多くは，ヒトまたは動物の組織，細胞，体液等を原材料または起源としており，その製造過程でも，生物由来の材料や添加剤を使用することがあることから，ウイルスやマイコプラズマによる製品の汚染防止には十分な対策が必要である。このため，医薬品規制調和国際会議（ICH）や厚生労働省，規制当局などから，対策の考え方や試験法を示したガイドラインが出されている[1~9]。

第8章で述べられているように，ICH Q5Aガイドラインにはウイルスによる汚染防止策の基本となる考え方が記載されており，①原材料を吟味し試験すること，②製造工程に不活化／除去能力を持たせること，③中間体／製品の試験をすることの，相補的な3つの対策を講じることで，ウイルスの混入リスクを極限まで低下させることを狙いとしている[8]。

一方，マイコプラズマについては，原材料や製品などを検体とし，定められた試験法により検出限界以下であることが求められる。試験法や検出すべきマイコプラズマ種については，日本・米国・欧州ではそれぞれの薬局方に記載されており，国内での開発においては日本薬局方に準じた試験の実施が求められる[2]。

本章では，ウイルスおよびマイコプラズマの検出試験について，技術的な側面や試験デザインの考え方を中心に概説する。また，近年，新しいウイルス検出法として次世代シーケンシング（Next Generation Sequencing：NGS）技術が注目されてきたことから，本書第4版では，NGSの技術標準化に向けた国際動向などを新規に記載した。なお，開発・製造段階でのウイルス・マイコプラズマ混入防止の考え方および製造工程のウイルス不活化・除去能力の評価方法は，それぞれ第3章および第8章で述べられているため，合わせて参照いただきたい。

コラム

ウイルスやマイコプラズマの有無を確認する試験を，日本薬局方等では「否定試験」という呼び方をしている。これは，ウイルスやマイコプラズマが検体中に存在しないことを保証する試験という意味ではなく，ウイルスやマイコプラズマの量が，定められた手順の試験法の検出限界以下であることを確認する試験であることに留意する必要がある。

1．ウイルス否定試験（検出試験）

ウイルスの検出にはさまざまなアプローチがあるため，各検出法の特性を理解し，被検試料の種類や試験目的などを踏まえた上で，最適な方法を選択する（必要に応じて複数の試験法を

⑥最終製品でのウイルス検査（血清学的検査およびNAT）

①～⑤を経て製造された製品に対し，最終の安全性確認として再度ウイルス検査（NAT等）が実施される。

6. 新興再興感染症について

新興再興感染症で特に輸血と関連づけられるものとして，HEV，デングウイルスやジカウイルスがあげられたことは，前項「輸血用血液製剤」の中で紹介した。輸血用血液製剤では，これらのウイルスが輸血により感染する可能性が明らかとなった場合，いち早く情報を整理し，対策をとることが重要であり，この点は血漿分画製剤も同様である。一方で異なる点として，血漿分画製剤ではその製造工程で極めて高率にウイルスが不活化／除去され，さらにウイルスクリアランス試験結果から各製剤の安全性（ウイルス混入を想定した場合の製造工程による不活化／除去効果）をある程度予想することができるため，それらが具体的な対策を行う上での有力な情報となる。ただし前提としてウイルスの基本的な情報（サイズ，エンベロープの有無，物理化学的耐性など）が必須となる。例えば，COVID-19の原因ウイルスであるSARS-CoV-2のRNAは感染者の血液中から微量検出されることが報告されている[10, 11, 16～18]。しかしながら，エンベロープウイルスであることとそのサイズからS/D処理とウイルス除去膜により極めて効果的にSARS-CoV-2は不活化・除去できると予想される。さらに，同属のウイルスであるSARS-CoVが液状加熱処理により効果的に不活化されることから[19]，液状加熱処理も有効と考えられる。ただし，どんな対策も感染の可能性を完全に否定するものではないことに留意するべきである。

血漿分画製剤のみならず生物由来製品については，ウイルスを含む感染症に対する安全性確保に限界があるという考えから，GVP（Good Vigilance Practice）に基づく感染症の情報監視が行われている。製造販売業者は，製品からの感染症の伝播が否定できない症例の報告を医療機関から受けた場合は，15日以内に当局へ報告することなどが義務づけられている。これは医薬品からの感染症の伝播に対して遅滞なく対応するための仕組みであり，過去の感染事例が契機となって定められた。

プリオン病への対策として，血液製剤では感染の原因とされる異常プリオンの混入を極力回避するため，献血時の問診による献血者の選定（海外渡航歴など）を行っており，血漿分画製剤では製造工程の持つ異常プリオン除去効果をスパイク実験により検証することが規制当局からも要求されている（「ウシ等由来物及び人由来物を原料として製造される医薬品，医療用具等の品質及び安全性確保の強化について」薬食審査第0725001号，薬食血発第0725002号，平成15年7月25日）。現在までに血漿分画製剤の投与によりvCJDに感染したという確かな報告はなく，加えて製造工程のエタノール分画やウイルス除去膜処理（小孔径）により異常プリオンが低減されるという文献は多数報告されている[20～22]。一方で血中での存在形態など不明な点も多く，血漿分画製剤による伝播のリスクが完全に排除されていないことから，添付文書にはその旨が記載されており，投与の際に注意の喚起を促している。今後の課題としては，血中での異常プリオンの存在形態の解明とクリアランス試験条件（スパイク材料，分析法）の標準化などがあげ

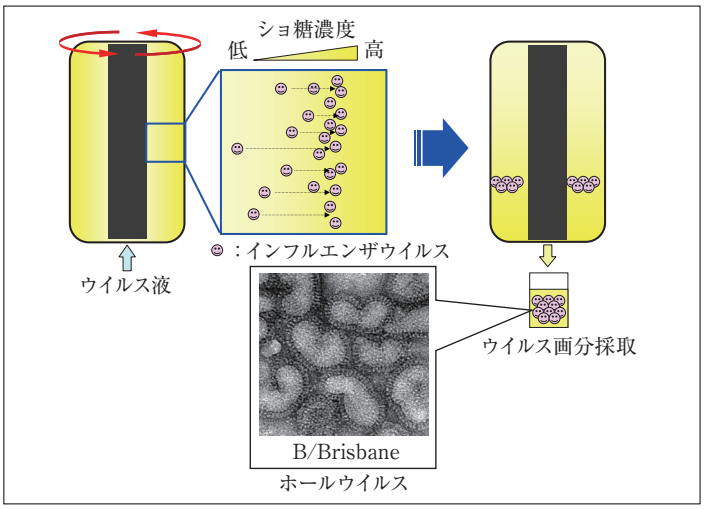

図11-3　インフルエンザHAワクチンの精製工程：ショ糖密度勾配遠心法

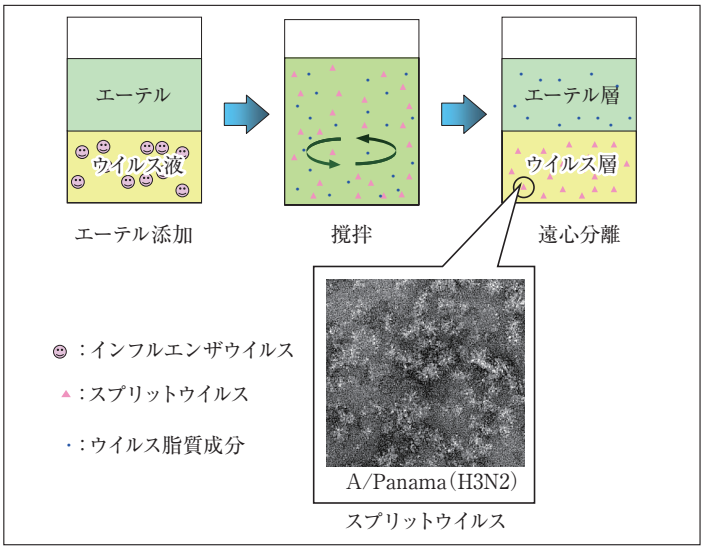

図11-4　インフルエンザHAワクチンの精製工程：エーテル処理工程

剤を添加しワクチン原液とする。ワクチン原液を電子顕微鏡で観察すると，HAが凝集したロゼット状を形成する（図11-4）。

4株の原液を濃度調整して混合し，最終バルクを調製の後，これをバイアルに小分けし，小分製品とする。小分製品は，メーカー独自の品質管理試験や生物学的製剤基準に従った試験（自家試験）の後，国家検定を受ける。国家試験に合格した小分製品は包装され，表示確認試験を行った後に出荷される。

③インフルエンザ HA ワクチンの品質管理

作製されたワーキングシードは，無菌性もさることながら，マスターシードと抗原性が違わないことを確認した上で製造に使用する。

Complegent®技術は，IgG1のFc領域（図12-1のCH2とCH3）をIgG3のそれに置換することで，CDC活性を増強する技術である。置換後の抗体のCDC活性は，もとのIgG3あるいはIgG1よりもunexpectedlyに強いと報告されている。置換によりFc領域への補体C1qの結合が改善されたことが原因と考えられる。

③免疫チェックポイントシステムの利用

免疫チェックポイントシステムとは，生体に備わった免疫システムの1つで，T細胞の活性化を抑制して過度の免疫反応を制御するしくみである。活性化したT細胞に発現するPD-1やCTLA-4が代表的な分子である（他にTIM-3，LAG-3，B7-H3，B7-H4，BTLA，VISTAなどがある）。PD-1は，1992年にIshidaら[9]によって発見された分子で，主に腫瘍細胞表面上のPD-L1に応答する。CTLA-4は主に樹状細胞など抗原提示細胞のCD80/86分子に応答する。これらの反応の阻害剤が免疫チェックポイント阻害剤である（**図12-4**）。細胞表面にPD-L1を発現して抑制スイッチPD-1を“ON”にすることでがん細胞はT細胞からの攻撃を逃れていると考えられる。抗PD-1抗体によりPD-1に蓋をしてスイッチを押せなくすることで，活性化したT細胞ががん細胞を攻撃・死滅させることを狙っている。抗PD-1抗体としては，わが国で開発され2014年7月に世界に先駆けわが国で承認されたオプジーボ®（Opdivo®）のほか，同じく2014年に米国で承認されたキイトルーダ®（Keytruda®，一般名：Pembrolizumab）がある。レセプター（PD-1）ではなくリガンド（PD-L1）に対する抗体としては，2016年5月に米国で承認されたテセントリク®（Tecentriq®，一般名：Atezolizumab），2017年3月に米国，同年9月にわが国で承認されたBavencio®（一般名：Avelumab）および2017年5月に米国，2018年7月にわが国で承認されたImfinzi®（一般名：durvalumab）に加え，これまでにバベンチオ®（Bavencio®，一般名：Avelumab）およびイミフィンジ®（Imfinzi®，一般名：durvalumab）が承認されている。また，抗CTLA-4抗体としては，ヤーボイ®（Yervoy®，一般名：ipilimumab）がある。

（4） 抗体医薬の長所

抗体医薬品に関しては，従来の医薬品（低分子医薬品）と比較して，特徴的な長所が存在する。

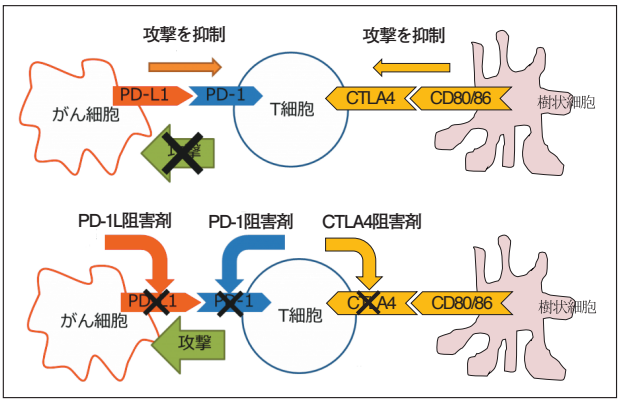

図12-4　免疫チェックポイント阻害剤の作用のしくみ

第13章 バイオシミラー

はじめに

第12章でも述べたように，抗体医薬品を含むバイオ医薬品は，自己免疫疾患やがんなどの治療が難しかった疾患領域で，これまでになかった著しい治療効果をもたらしている。バイオ医薬品は使用の増加に伴い世界における売上高が増加しており，2016年には約2,012億ドル（バイオ医薬品比率31.5％）に達し，2022年には約3,249億ドル（バイオ医薬品比率37.5％）に達すると予測されている。同様に，日本におけるバイオ医薬品の売上高も増加しており，2016年では約1兆4,219億円（バイオ医薬品比率13.6％）に達し，売上高の見込みは公表されていないが今後も増加することが予測される。

一方，バイオ医薬品は化学合成医薬品に比べて一般的に薬価が高額であり，医療財政の圧迫要因となっている。そのため，先発の製剤と同等／同質の品質，有効性および安全性を有し，例えば日本において薬価が先発の製剤の約70％であるバイオシミラーは医療費の大きな削減効果が期待されている。特にバイオ医薬品のなかでも売上げに占める割合の高い抗体医薬品の特許切れが2015年前後から現在まで続いており，これらのバイオシミラーの開発，承認申請および承認が増加している。これに関連し，バイオシミラーの世界市場の大きさは2018年に59.5億ドルから2023年には236.3億ドルに増加することが予測され，その年間成長率は31.7％である。そこで本章ではこのように注目を集めているバイオシミラーの日・欧・米における現状と課題について，最近の規制動向なども含めて概説する。なお，本章の内容の一部は筆者の総説[1, 2]を参考にした。

1．バイオシミラーとは

わが国におけるバイオ後続品の定義は，2009年3月に当局より示された「バイオ後続品の品質・安全性・有効性確保のための指針」において，「国内で既に新有効成分含有医薬品として承認されたバイオテクノロジー応用医薬品と同等／同質の品質，安全性，有効性を有する医薬品として，異なる製造販売業者により開発される医薬品」とされている。一方，2020年2月に当局より示された同指針の改正版の「1．はじめに」では「バイオ後続品は，一般的にバイオシミラーと言われており」の記載が追加されている。そこで，本章では日本の指針を引用する場合を除き「バイオシミラー」を原則として使用する。また，日本の指針を引用する場合を除き「先行バイオ医薬品」の代わりに「先発の製剤」を原則として使用する。

一方，バイオセイムと呼ばれる有効成分や製法などが先発の製剤と同一である医薬品がバイオシミラーと同じ薬価で2018年に世界で初めて日本で承認された。バイオセイムの出現は製薬

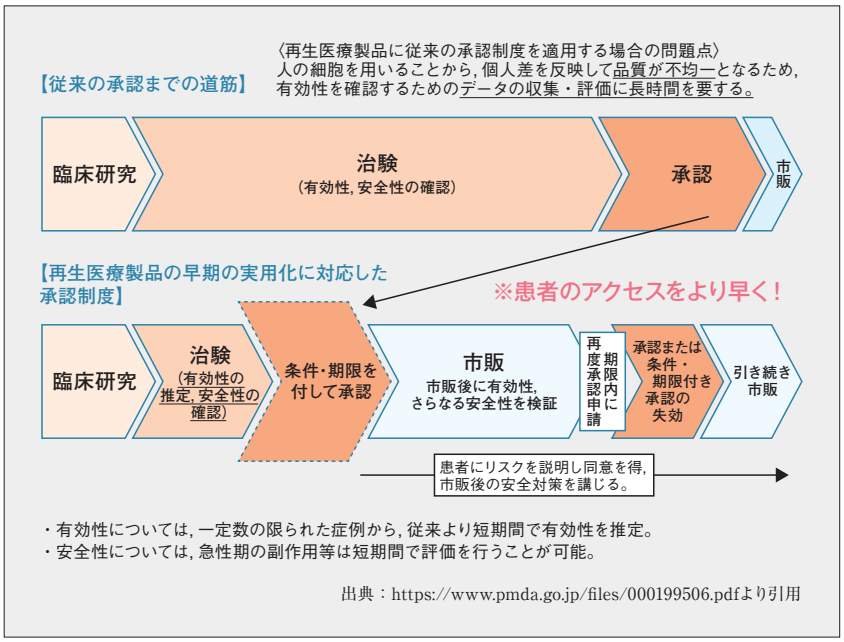

図14-Ⅰ-2　医薬品医療機器法における再生医療等製品の新しい製造販売承認制度-1

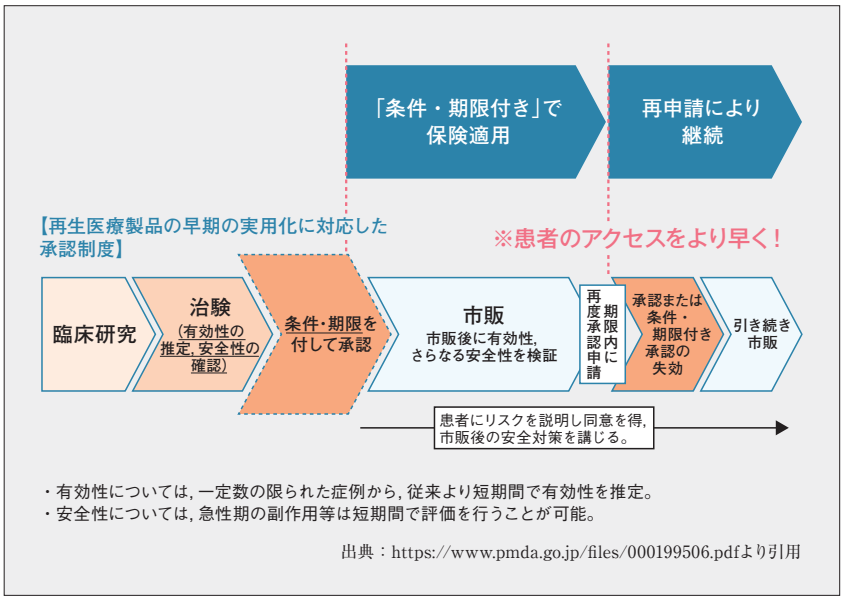

図14-Ⅰ-3　医薬品医療機器法における再生医療等製品の新しい製造販売承認制度-2

based Products Manufacturing Practice)」[5]は，「薬局等構造設備規則」[6]，「医薬品，医薬部外品，化粧品及び再生医療等製品の品質管理の基準に関する省令(「GQP(Good Quality Practice)」[7]の省令改正と相まって，再生医療等製品の製造および品質管理にかかわる重要な法令として位置づけられている。

再生医療等製品の製造販売承認申請の手続きについては，2015年8月12日に「再生医療等製

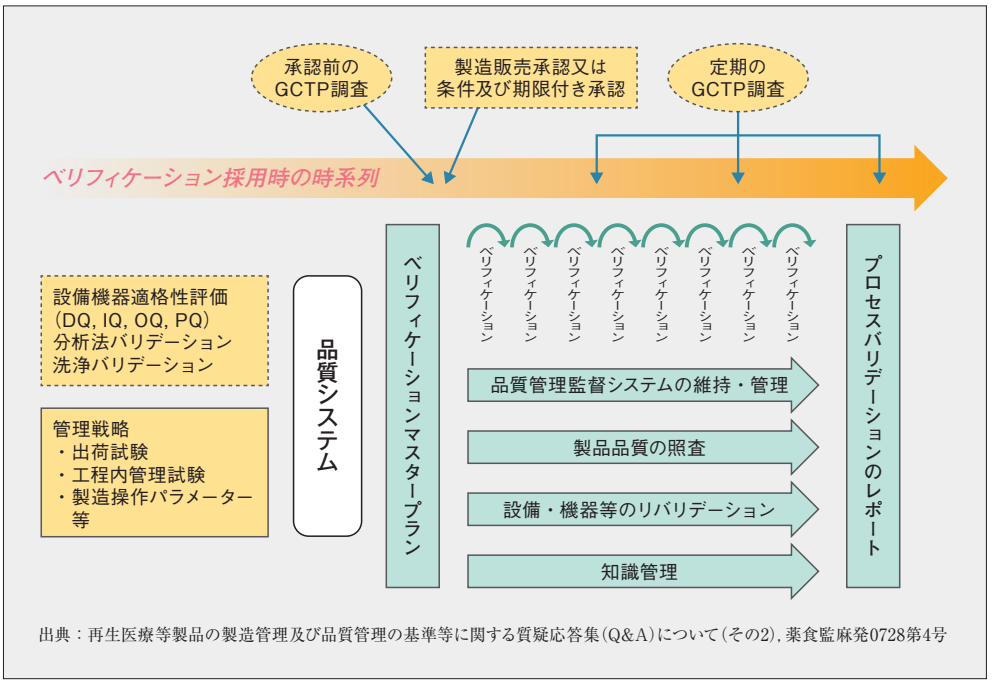

図14-Ⅱ-1　再生医療等製品のベリフィケーションの概念図

た，製品の製造前までには，製造設備機器の適格性評価（DQ，IQ，OQおよびPQ），当該施設における試験法に関する分析法バリデーションおよび製造設備機器の洗浄バリデーションが検証されている必要がある。その上で，以下に対応することが求められる。

1）ベリフィケーションマスタープランの作成
2）定期的な製品品質の照査の実施
3）変更や逸脱を適切に管理できる知識管理の実行

また，ベリフィケーションマスタープランについては，以下の点に留意する必要がある。

1）出荷試験，工程内管理試験，製造の操作パラメータ等の評価および確認をするための管理戦略が含まれること
2）定期的な製品品質の照査に係る具体的な評価頻度，評価項目，評価方法が計画されていること
3）プロセスバリデーションとしての最終的な検証方法について記載されていること

特に，工程内管理試験や製造の操作パラメータ等の管理幅は，リスク評価および開発データ等をもとに設定することが原則となる。十分な製造実績が得られておらず，製造実績を重ねることで変動しうると考えられる場合には，ベリフィケーションマスタープランにその旨を規定し，ベリフィケーションを通じて管理幅を確立する必要がある。将来，工程内管理試験として定義する可能性を見越して，自主的に設定するモニタリング項目もベリフィケーションマスタープランに含めることが望ましいとされている。ベリフィケーションマスタープランで計画

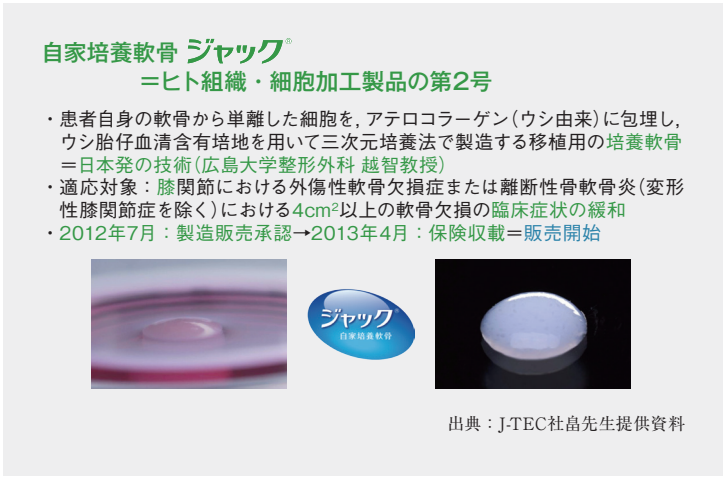

図14-Ⅱ-5　自家培養軟骨「ジャック®」

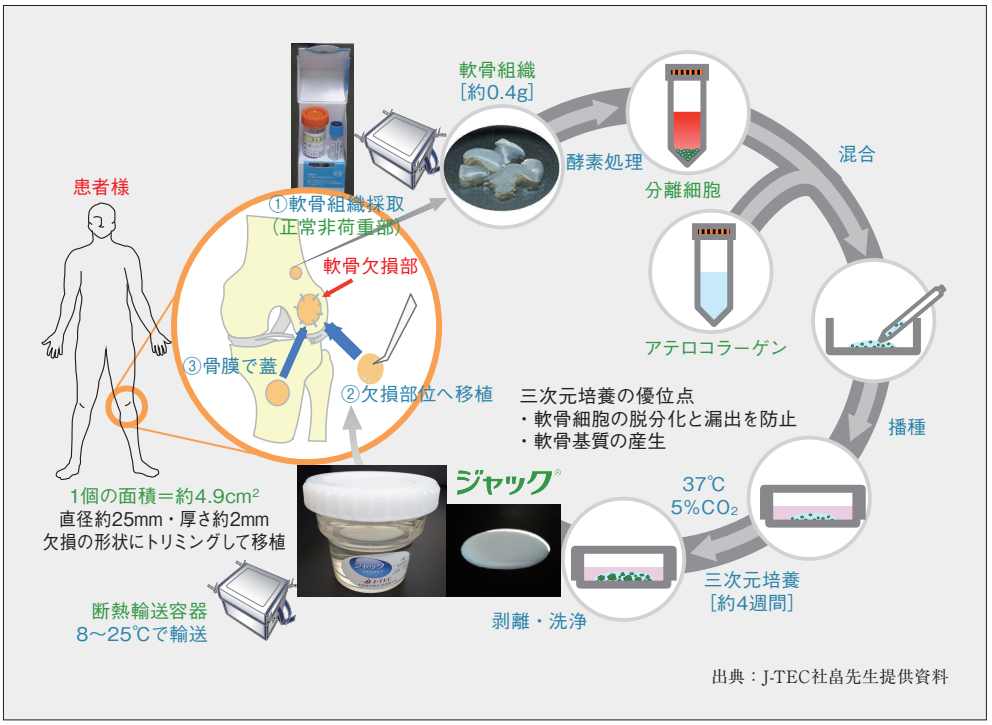

図14-Ⅱ-6　ジャック®の製造方法

を用いて，規定された日数ごとに培地交換を行い，約4週間三次元培養を行う。自家培養軟骨細胞-コラーゲンゲル複合体として医療機関に提供される。

ジャック®の製品検査として，受入検査，工程検査，出荷検査，確認検査が設定されている（**表14-Ⅱ-6**）。ジェイス®と同様に，受入検査として，軟骨組織の適格性（「組織運搬状況の確認」，「軟骨組織の外観の確認」）を評価している。工程検査は，審査報告書中で非公開が多く，詳細が不明であるが，「培養容器内の細胞の形態観察」，「培養軟骨の形態保持確認試験」，「培

第15章 核酸医薬

はじめに

核酸医薬品とは一般に「核酸あるいは修飾核酸が十数～数十塩基連結したオリゴ核酸で構成され，タンパク質に翻訳されることなく直接生体に作用するもので，化学合成により製造される医薬品」を指す。アンチセンス（Gapmer, SSO：splice switching oligomer），siRNA（small interfering RNA），アプタマーなどがその代表例である（国立医薬品食品衛生研究所遺伝子医薬部第2室ホームページより引用）。1998年に世界で初めての核酸医薬品Vitravene®が米国で承認されて以降，2020年8月までに世界で11（国内は4）の核酸医薬品が承認されている（**表15-1**，**図15-1**）。また，さまざまな適応症をターゲットとしてさまざまな製剤が，さらにはマイクロRNAを標的としたものなど作用メカニズムの異なる製剤など約200品目が開発中（日経バイオ年鑑2020）であり，これらが次々に市場へ出てくると予想される。**表15-2**に臨床試験段階の開発品（一部）を記載した。

本章では，これまで承認された核酸医薬品について，どのような効果を期待して開発されたのか，メカニズムの異なる核酸医薬品をピックアップして，その作用機序について概説する。また，核酸医薬品を開発していく上で必須となる品質試験について，審査報告書や業界から発行されている各種文書を基に，その考え方を紹介する。

1．核酸医薬の作用メカニズム

本項では，11製剤の中から，作用メカニズムが異なるTegsedi®（Gapmer），オンパットロ®（siRNA），ビルテプソ®（SSO）およびスピンラザ®（SSO）について概説する。アプタマーおよびCpGオリゴについては，優れた解説記事[1, 2]があるので，それらを参照いただきたい。

Tegsedi®

Tegsedi®（一般名：inotersen）は，米国のIonis Pharmaceuticals, Inc.[注1)]が開発したアンチセンス（Gapmer）製剤で，トランスサイレチン（TTR：transthyretin）型家族性アミロイドポリニューロパチー（FAP：familial amyloid polyneuropathy）[注2, 3, 4)]を適応症として，欧州では2018年7月，米国では2018年10月に承認された。Tegsedi®は，その塩基配列がTTR mRNAのストップコドン下流のnon-coding region上の配列と相補の20 merの合成一本鎖オリゴヌクレオ

注1) Ionis Pharmaceuticals, Inc. は，Tegsedi®のほか，同じ Gapmer 製剤である Waylivra®，および SSO 製剤の Spinraza®を開発した。その他，同社が開発した Tominersen（ハンチントン病）や Tofersen（家族性筋萎縮性側索硬化症）が開発段階の後期にある。

第16章

トピックス ―ウイルスの人工合成―

はじめに

第14章で紹介したようにさまざまなウイルスをベクターとした遺伝子治療用製品が多数開発されている。また水疱性口内炎ウイルス（VSV：vesicular stomatitis virus）をベースとした世界初のエボラウイルスワクチンErvebo®が，2019年11月欧州，同年12月米国で承認され，アデノウイルスをベクターとしたSARS-CoV-2ワクチンも数品目が実用化目前である（第11章参照）。これらはいずれも人工合成されたウイルスである。

本章では，これらウイルスの人工合成の技術的系譜について概説する。

1．ウイルスの人工合成[1)]

表16-1にウイルスの人工合成の事例を示した。また，**図16-1**には，これらをウイルスのゲノムの大きさと報告年で時系列に整理した。図16-1には，遺伝子の合成事例や合成DNAを用いた微生物の作出事例なども付け加えた[2~17)]。

遺伝子組換え技術の黎明期であった1970～80年代には，＋鎖一本鎖RNA（＋ssRNA）ウイルスの合成（再生）事例が多い。＋ssRNAは，細胞の中でmRNAとしても働くことから，プラスミドにクローニングしたウイルスゲノムのcDNAをそのまま，あるいはこれを鋳型として*in vitro*で転写・調製したRNAゲノムを細胞にtransfectionする方法で，ウイルスの再生が行われている。

1990年代になると，－鎖一本鎖RNA（-ssRNA）ウイルスの再生が可能になった。その最初の事例は，Schnellら[18)]が1994年に報告した狂犬病ウイルス（Rabies virus）である。この頃になるとPCRやDNA合成用の試薬・機器，DNA配列の自動解析機（シーケンサー）が一般化し，“月”のオーダーを要していた実験が“日”のオーダーで可能となった。Schnellらは，過去にクローニングしていた複数のゲノムcDNAの断片を，T7プロモーターと同ターミネーターを持つプラスミドに挿入して，完全長の狂犬病ウイルスゲノムcDNAを持ったプラスミドpSAD L16を構築した。これをあらかじめヘルパーウイルスvTF7-3（T7 RNApolymerase遺伝子を組み込んだワクチニアウイルス）を感染させたBSR細胞に，N, PおよびLタンパク質用の発現プラスミドとともに導入する方法で感染性を有する狂犬病ウイルスを合成した。Nタンパク質は，ウイルスゲノムRNAと結合してらせん状のヌクレオキャプシドを形成する。Pタンパク質は，ヌクレオキャプシドとLタンパク質の結合を仲介する。Lタンパク質は，ウイルスゲノムRNAの複製を行うRNA依存性RNA合成酵素である。ちなみにvTF7-3は，1986年にFuerstら[19)]が作製した組換えワクチニアウイルスで，相同組換えの手法を用いてワクチニアウイルスのチミジン