抗体医薬品開発における重要品質特性 (CQA) の特定

齋藤 智

The Identification of Critical Quality Attributes (CQAs)
for the Development of Antibody Drugs

Satoshi Saitoh

*Process Analysis and Evaluation, Quality Development Department, Chugai Pharma
Manufacturing Co., Ltd.; 5-5-1 Ukima, Kita-ku, Tokyo 115-8543, Japan.*

(Received February 26, 2018)

In the development of quality biopharmaceutical drugs, it is the level of knowledge gained, not the volume of data, which provides the basis for science-based submissions and their regulatory evaluation [International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH) Q8 (R2)]. The identification of critical quality attributes (CQAs) is important as the initial step for quality by design (QbD) strategies. The impact of each potential critical attribute (pCQA) is assessed by using a systematic and scientific approach with respect to bioactivity, pharmacokinetics (PK)/pharmacodynamics (PD), immunogenicity, and safety of the biopharmaceutical drugs. The purpose of this section is to introduce a strategy for identifying CQA, and new analytical methods for CQA assessment.

Key words—critical quality attribute; quality by design; biopharmaceuticals

1. はじめに

製剤開発のガイドラインである International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH) Q8 (R2)¹⁾では、「製剤開発研究は、それが意図する科学的目的に沿って計画、実施する必要がある。データの量ではなく、得られた知識のレベルが、科学的根拠に基づく申請と規制当局による評価の基盤となるということをよく認識しておくことが期待されている」と記載されている。また、このような製剤開発研究を実現する手法として、quality by design (QbD: 設計による品質の作り込み) と呼ばれる概念が同ガイドラインにて定義され、「従来の (traditional)」の手法と区別して「より体系的 (systematic) な手法」「より進んだ (enhanced) な手法」と表現されている。

また、原薬の開発と製造に関する ICH Q11²⁾ では、「申請者は、原薬の開発について、『従来の手法』

あるいは『より進んだ手法』、又は両者の組合せを選択することができる」と記載されているが、「従来の手法」あるいは「より進んだ手法」を問わず「製品 (製剤) の品質に影響を及ぼす特性の検討と管理ができるように、原薬に関連すると見込まれる重要品質特性 (critical quality attributes; CQA) を特定する」ことを含めるべきであるとされている。

本稿では、抗体医薬品を始めとするバイオ医薬品の品質管理において、CQA の特定方法を紹介する。QbD の定義や ICH ガイドライン (Q8–Q11) の表現にも触れながら、CQA 特定のための「より体系的 (systematic)」な手順の例とそのために有用な新しい分析技術の例を紹介したい。なお、本総説の執筆にあたり Roche Group の文献^{3–5)}を参考にした。

2. QbD の概要

QbD は、「事前の目標設定に始まり、製品及び工程の理解並びに工程管理に重点をおいた、立証された科学及び品質リスクマネジメントに基づく体系的な開発手法 (ICH Q8)」と定義される。このより進んだ QbD 手法の例として、「既に得られた知識、実験、リスクアセスメント等から、製品の CQA に影響を及ぼし得る物質特性及び工程パラメータを特定する」こと及び「物質特性及び工程パラメータと

中外製薬工業株式会社品質研究部プロセス評価 2G
(〒115-8543 東京都北区浮間 5-5-1)

e-mail: saitosts@chugai-pharm.co.jp

本総説は、日本薬学会第 137 年会シンポジウム S58 で発表した内容を中心に記述したものである。

Fig. 1. Establishing a Control System Using QbD Principles

QbD: quality by design, QTPP: quality target product profile, CQA: critical quality attribute, PALM: post approval lifecycle management plan. Arranged from Kepert J. F. *et al.*, *Biologicals*, Volume 44, Issue 5, 2016, 319–331.⁴⁾

Fig. 2. Development of the Attribute Testing Strategy

QAs: quality attributes, CQA: critical quality attribute, RRF: risk ranking and filtering, ATS: attribute testing strategy. Arranged from Kepert J. F. *et al.*, *Biologicals*, Volume 44, Issue 5, 2016, 319–331.⁴⁾

製品の CQA を関連づける機能的関係を明らかにすることが挙げられている。このようにして「深められた製品及び工程の理解を品質リスクマネジメントと組み合わせて活用する」ことで、「デザインスペース及び/又はリアルタイムリリース試験等の提案を含む適切な管理戦略を構築する」という開発手法が事例として ICH Q8 に例示されている。この「製品品質の目標である quality target product profile (QTPP) 及び既に得られた知識など」から「管理戦略の構築」に至るまでの一連のフロー図を Fig. 1 に示す。本稿で取り上げる「CQA の特定」のステップは、製品及び工程を理解する上での指標を特定するステップに相当し、最初の重要なステップに位置づけられる。

3. CQA

CQA は、ガイドライン上「要求される製品品質を保証するため、適切な限度内、範囲内、分布内であるべき物理学的、化学的、生物学的、微生物学的特性又は性質」と定義される。CQA は、その名の通り Critical な Quality Attribute であり、多様な

QA（物理学的、化学的、生物学的、微生物学的特性又は性質）の中には、Critical でない QA (Non-CQA) も存在し得る。Figure 2 に示すように、CQA と特定された QA は、その製品工程及び安定性の観点でのインパクトに基づいたリスクアセスメントにより、管理（製品規格による管理）やモニタリングを要するものへ分類されていく一方、Non-CQA と判断される QA は、製品品質を保証するために不要な特性として、品質管理戦略 (Attribute testing strategy) から除外される。CQA 特定のステップは、品質管理戦略の構築フローを左右する大きな分岐点の 1 つとなっている。

本総説では、多様な QA から Critical な QA を体系的に特定するにあたり、Fig. 3 のフローに沿った CQA 特定手法を紹介したい。本フローは、CQA の候補となり得る多様な QA 自体のリストアップするステップ (potential CQA 特定) を経たのち、その重要性をアセスメントして CQA を特定するステップ (CQA 特定) に進むというフローであり、各ステップに分けてポイントを紹介する。

Fig. 3. Outline for Workflow for CQA Identification

TPP: target product profile, QTPP: quality target product profile, pCQA: potential critical quality attribute, PALM: post approval lifecycle management plan. Arranged from Alt N. *et al.*, *Biologicals*, Volume 44, Issue 5, 2016, 291–305.³⁾

3-1. Potential CQA 特定 初めのステップである potential CQA 特定のステップでは、QTPP を考慮すること、QA を分類して考えること、開発経験や文献情報などが重要／有用である。

QTPP は、ガイドライン上「製剤の安全性及び有効性を考慮した場合に要求される品質を保証するために達成されるべき、製剤の期待される品質特性の要約」と定義される。原薬の物理的科学的及び生物学的性質（例 分子構造や MoA などに係わる性質）や製剤の構成要素（処方や剤型なども含む）などの要素を考慮することが pCQA 特定のステップで有用である。例えば QTPP を考慮する pCQA の例として、以下が挙げられる。Fc effector function を MoA に含むような場合に Fc glycosylation variants の一部は、potential CQA になり得る。また、バイスペシフィック抗体のような製品を開発する場合には、バイスペシフィック抗体（ヘテロ二量体）になり切れなかったホモ二量体は potential CQA になり得る。

また、多様な QA は分類して整理するとわかりやすく、分類例として①Product variant, ②Process-

related impurities, ③Obligatory CQAs, ④Raw materials and leachable compounds のような分類が挙げられる。抗体医薬品を製品とする場合には、Product variant は Table 1 に示すような抗体の各種変化体に相当し、Process-related impurities としては、Host Cell DNAs や Host Cell Proteins などの工程由来不純物などを想定している。Obligatory CQAs としては、明らかに製品の有効性及び安全性に影響を及ぼす QA が分類され局方試験を含む Table 2 のような QA を想定している。

3-2. CQA 特定 続くステップである CQA を特定するステップでは、pCQA を「要求される製品品質を保証する」という観点で重要かどうかで CQA と non-CQA に分類する。QbD の基本概念である「サイエンスとリスクベースで体系的にアセスメント」するためのツールとして、本項では risk ranking and filtering tool (RRF ツール) の例を紹介したい。本ツールでは、実験ベース、経験/文献ベースの情報をインプットしてアセスメントを行う。

Figure 3 における“Generation/Isolation of Variants for CQA assessment”や“Assessment of struc-

Table 1. List of Product Variant pCQAs for a Monoclonal Antibody

Category	Quality Attribute
Size-related Variants	High Molecular Weight Species (HMWS)
	Low Molecular Weight Species (LMWS)
Charge-related Variants (Acidic)	Deamidation in CDR
	Deamidation in Non-CDR
	Glycation in CDR
	Glycation in Non-CDR
Charge-related Variants (Basic)	Aspartic Acid Isomerization in CDR
	Aspartic Acid Isomerization in Non-CDR
	N-Terminal Leader Sequence (may be molecule specific)
	N-Terminal Pyroglutamic Acid
	C-Terminal Lysine
	C-Terminal Proline (IgG1) or Leu (IgG4) Amidation
Oxidation-related Variants	Oxidation in CDR (Met, Trp)
	Oxidation in Non-CDR (Met, homo-variant)
	Oxidation in Non-CDR (Met, hetero-variant)
Fc Glycosylation	Afucosylation
	Galactosylation
	High-Mannose
	Sialylation (NANA, NGNA)
	Non-Glycosylated Heavy Chain
Structural Variants	Cysteine Forms
	Sequence Variants
	Protein Structure

Alt N. *et al.*, *Biologicals*, Volume 44, Issue 5, 2016, 291–305.³⁾

ture/function relation”は実験ベースの情報に相当し、各種変化体の調製（生成及び分画）とそれらの構造解析及び機能解析結果をインプットする。なお機能解析の新しい手法である FcRn Affinity Chromatography について 4. にて紹介する。

RRF ツールでは、Risk を “Impact” × “Uncertainty” としてスコアリングすることで評価する (Fig. 4)。Impact は、有効性及び安全性の観点での指標である Bioactivity/pharmacokinetics (PK)/Safety/Immunogenicity で評価する。また、Uncertainty は、Impact 評価の根拠情報の質で評価する。例えば、clinical data か *in vitro* data か、product molecule そのものか similar molecule かなどで比較

Table 2. List of Obligatory CQAs for a Monoclonal Antibody

Category	Quality Attribute
Obligatory CQAs	Protein Content
	Osmolality
	pH
	Appearance (Color, Opalescence, Clarity)
	Buffer Content
	Excipient Content
	Surfactant Content
	Viruses
	Microbiological Impurities (Bacteria, Mycoplasma)
	Bacterial Endotoxins
	Subvisible Particles
	Visible Particles
	Extractable Volume
	Sterility

Alt N. *et al.*, *Biologicals*, Volume 44, Issue 5, 2016, 291–305.³⁾

した場合、後者の方が製品のリスクアセスメントの観点で不確実性が高いことから、リスクが高くなるような仕組みとしてある。

RRF ツールにおけるスコアリングについて、Bioactivity/PK/Safety/Immunogenicity の各指標に対して Impact は 2–20 点を、Uncertainty は 1–7 点をそれぞれスコアリングし、Table 3 に示すようにそれらを掛け合わせた数字が 12 点よりも大きくなる場合に高リスクと判断し、CQA と分類する。Impact のスコアリングについて、Bioactivity/PK の場合は Table 4 に示すように Potency assay や後述する FcRn binding assay などを用いた機能解析結果に基づきアセスメントする。Immunogenicity/Safety についても臨床実績から有害事象を管理できるかどうかという点を加味した指標に基づき、スコアリングを実施する。Uncertainty のスコアリングについては、Impact アセスメントに用いた情報の根拠に基づき、No information だと 7 点、文献ベースで 5 点、実験ベースで 3 点とスコアリングするほか、臨床実績から得られる情報も取り入れて Table 5 に示すようにスコアリングする。

3-3. CQA 特定から管理戦略構築へ 以上のような段階的なステップや RRF ツールを、CQA

Fig. 4. Risk Score Defined by Impact and Uncertainty

Arranged from Alt N. *et al.*, *Biologicals*, Volume 44, Issue 5, 2016, 291–305.³⁾

Table 3. Risk Scoring for Product Variants and Process-related Impurities

Uncertainty \ Impact	1 (Very Low)	2 (Low)	3 (Moderate)	5 (High)	7 (Very High)
20 (Very High)	20	40	60	100	
16 (High)	16	32	48	80	112
12 (Moderate)	12 ^a	24	36	60	
4 (Low)	4	8	12	20	
2 (None)	2	4	6	10	

Light gray indicates low-risk attributes (non-CQAs); dark gray indicates high-risk attributes (CQAs). Boxes blacked out indicate Impact and Uncertainty combinations that are disallowed because Very High Uncertainty attributes are assigned a default impact of 16. ^a The combination of Uncertainty of 1 and Impact of 12 is categorized as CQA. Arranged from Alt N. *et al.*, *Biologicals*, Volume 44, Issue 5, 2016, 291–305.³⁾

Table 4. Impact Score for the Risk Ranking and Filtering Tool

Impact and rating	Biological Activity ^a	PK ^b
Very High [20]	>100% change	>40% change on PK
High [16]	40–100% change	20–40% change with impact on PD
Moderate [12]	20–40% change	20–40% change with no impact on PD
Low [4]	<20% change	<20% change with no impact on PD
None [2]	No change	No impact on PK or PD

PD=pharmacodynamics; PK=pharmacokinetics. ^a Based on clinically relevant potency assay results of isolated variants relative to reference standard. ^b Serum exposure (area under the curve) or relevant *in vitro* clearance receptor binding (FcRn and mannose receptor). PD considered if information is available. Alt N. *et al.*, *Biologicals*, Volume 44, Issue 5, 2016, 291–305.³⁾

Table 5. Uncertainty Scale for the Risk Ranking and Filtering Tool

Uncertainty	Description (product variants & host-cell-derived impurities)
Very High [7]	No information (new variant)
High [5]	Published external literature for variant in related molecule
Moderate [3]	Non-clinical or <i>in vitro</i> data with this molecule. Data (nonclinical, <i>in vitro</i> or clinical) from a similar class of molecule
Low [2]	Variant has been present in material used in clinical trials ^a
Very Low [1]	Impact of specific form established in clinical studies

^a Applies to assigning impact for immunogenicity and safety; typically does not apply to PK or biological activity. Alt N. *et al.*, *Biologicals*, Volume 44, Issue 5, 2016, 291–305.³⁾

特定のための「より体系的 (systematic)」な手順の例として紹介した。しかし、これは 2. に挙げた「既に得られた知識、実験、リスクアセスメント等から、製品の CQA に影響を及ぼし得る物質特性及び工程パラメータを特定すること及び「物質特性及び工程パラメータと製品の CQA を関連づける機能的関係を明らかにする」という QbD 手法のうち CQA を特定するステップを紹介したに過ぎない。重要工程パラメータを特定して製品の CQA と関連付ける機能的関係を明らかにし、さらに適切な管理戦略を決定するには、Fig. 2 に示すようなステップが必要になる。各 CQA に対して、重要工程パラメータに対する頑健性 (Process Impact)、安定性

Fig. 5. Neonatal Fc Receptor

FcRn is a receptor which can recycle antibodies back to plasma. FcRn: neonatal Fc receptor. Cited from Chugai Pharmabody Research Pte. Ltd., website: <https://www.Chugai-pharmabody.com/technology/>

(Stability Impact) を評価し, Attribute Testing Strategy RRF tool (“CQA Impact Score”×“Process/Stability Impact Score”) といったツールを用いて管理戦略を決定する. 詳細は, 文献⁴⁾を参照されたい.

4. CQA 特定を支える新たな分析技術/FcRn Affinity Chromatography

本項では, CQA 特定を支える新たな分析技術として, FcRn Affinity Chromatography 技術を紹介したい. Neonatal Fc receptor (FcRn) は抗体のクリアランスに重要な受容体の 1 つであり, 前項で紹介

した Bioactivity/PK/Safety/Immunogenicity の各指標のうち, PK の機能解析に係わる評価法に相当する (Fig. 5).

4-1. FcRn Affinity Chromatography of Oxidation Variants

FcRn を固定化したカラムを使用し, 細胞内外の pH を模した pH グラジエントを用いた FcRn Affinity Chromatography の溶出時間を PK 指標として用いる. 抗体の酸化体の測定例を Fig. 6 に示す. 本分析法では, 酸化により 2 種類の peak (Pre-Peak I, Pre-Peak II) が生じる. 本分析法で分画した Pre-Peak I, Pre-Peak II を Peptide mapping ベースで解析した結果, 抗体構造のホモ二量体のうち, それぞれ Met252 が 1 カ所酸化されたものの, 2 カ所酸化されたものと Characterize された.

4-2. FcRn Affinity Chromatography for CQA assessment

分画した Pre-Peak I, Pre-Peak II について, ヒト FcRn トランスジェニックマウスを用いた PK の *in vivo* clearance 評価を行い, Met252 が 2 カ所酸化された場合に PK に大きなインパクトをもたらすことを確認した.⁵⁾ この知見に基づき Met252 の 1 カ所酸化までは PK インパクトは小さいと判断し, Pre-Peak I の FcRn Affinity Chromatography における溶出時間を PK アセスメントのスレッシュホールドとし, 各 CQA の溶出時間と比べることで CQA アセスメントに応用可能とした.

Fig. 6. FcRn Affinity Chromatography of Oxidation Variants

FcRn chromatograms of untreated mAb1 and oxidized mAb1. Oxidation levels can be characterized by peptide mapping of isolated peaks. FcRn: neonatal Fc receptor.

酸化による FcRn への結合能の変化は、FcRn Affinity Chromatography だけでなく FcRn を用いた surface plasmon resonance (SPR) でも捉えることができる。⁵⁾ しかし、クロマトグラフィーの強みの 1 つに分画できる点が挙げられ、Characterization Study や PK Study を実施することも可能であり、抗体医薬品開発の強力なツールであると考えられる。

5. おわりに

ICH ガイドラインの中で QbD 手法は、「従来の」の手法と区別して「より体系的な手法」「より進んだ手法」と表現される。本総説では、「CQA 特定」のステップにおける「より体系的」の一例を紹介した。

CQA 特定のステップ自体は、「より体系的」「より進んだ」手法に限った話ではない。QA そのものを同定する構造解析分析法に加えて、その特性を有効性や安全性の観点で評価する機能解析方法の双方が医薬品開発に求められる。今回紹介した FcRn Affinity Chromatography のような新たな分析技術は、抗体医薬品開発の強力なツールになり得る。

また共通の「より体系的な」手法は、複雑化した製品及び工程の機能的関係を、企業や規制当局間で理解する上で、共通のフォーマット／コミュニケーションツールとなり、有効なツールであると考えられる。製品及び工程の理解がより一層深まることで、製品のライフサイクルの全期間を通じた継続的改善とイノベーションを期待したい。

利益相反 齋藤 智（中外製薬工業株式会社の社員）。

REFERENCES

- 1) International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. ICH Harmonized Tripartite Guideline, Pharmaceutical Development Q8 R2, August 2009.
- 2) International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. ICH Harmonized Tripartite Guideline, Development and Manufacture of Drug Substances (Chemical Entities and Biotechnological/Biological Entities) Q11, August 2012.
- 3) Alt N., Zhang T. Y., Motchnik P., Taticek R., Quarmby V., Schlothauer T., Beck H., Emrich T., Harris R. J., *Biologicals*, **44**, 291–305 (2016).
- 4) Kepert J. F., Cromwell M., Engler N., Finkler C., Gellermann G., Gennaro L., Harris R., Iverson R., Kelley B., Krummen L., McKnight N., Motchnik P., Schnaible V., Taticek R., *Biologicals*, **44**, 319–331 (2016).
- 5) Stracke J., Emrich T., Rueger P., Schlothauer T., Kling L., Knaupp A., Hertenberger H., Wolfert A., Spick C., Lau W., Drabner G., Reiff U., Koll H., Papadimitriou A., *Mabs*, **6**, 1229–1242 (2014).