バイオ医薬品の開発を支える分析技術の最新動向

石井 明子,^{*,a} 内山 進^{b,c}

Current Trends in Analytical Technologies Which Promote the Development of Biopharmaceuticals

Akiko Ishii-Watabe^{*,a} and Susumu Uchiyama^{b,c}

^aDivision of Biological Chemistry and Biologicals, National Institute of Health Sciences; 3-25-26 Tonomachi, Kawasaki-ku, Kawasaki 210-9501, Japan; ^bDepartment of Biotechnology, Graduate School of Engineering, Osaka University; GSE East 7F, 2-1 Yamadaoka, Suita, Osaka 565-0871, Japan; and ^cExploratory Research Center on Life and Living Systems, National Institutes of Natural Sciences; 5-1 Higashiyama, Myodaiji-cho, Okazaki, Aichi 444-8787, Japan.

抗体医薬品を始めとするバイオ医薬品は、がんや免疫系疾患等の治療に不可欠な存在となり、アンメットメディカルニーズを満たす新たなバイオ医薬品開発への期待も、これまでになく高まっている。近年、ヒトタンパク質の構造を高度に改変したバイオ医薬品の開発が増えていることや、安全性との関連が懸念される不純物の存在が指摘されていること等から、開発候補分子の探索から市販後の品質管理戦略の様々な段階で、先端的な分析技術を用いた品質評価の重要性が増している。本シンポジウムでは、バイオ医薬品の分析に関する最先端の研究を行っている産学官の研究者を演者に迎え、糖鎖、高次構造、凝集体等の分析に関する研究のほか、バイオ医薬品の自社開発を進めている製薬企業における分析技術の最新動向について講演頂いた。

最初の演者として、中外製薬工業の齋藤 智博士からは「抗体医薬品開発における重要品質特性 (critical quality attribute; CQA) の特定」についてご講演頂いた。ICH Q8 (R2) で述べられているように、医薬品は患者のニーズ及び意図された製品の機能を満たすように設計されるべきである。CQAs の特定は、科学とリスクに基づく製品開発の体系的

な手法である quality by design (QbD) アプローチにおいて、最初の重要なステップである。各 potential CQAs のインパクトは、Bioactivity, Pharmacokinetics/Pharmacodynamics, Immunogenicity 及び Safety の観点で体系的かつリスクベースアプローチによって評価される。ご講演では、抗体医薬品を始めとするバイオ医薬品の品質評価において用いられている CQAs の特定方法及びそのための新しい分析技術の例をご紹介頂き、QbD アプローチを活用した品質管理戦略構築に関する考え方について議論した。

国立医薬品食品衛生研究所の橋井則貴博士からは「質量分析による Fc 融合タンパク質医薬品の O-結合型糖鎖部位特異的解析」についてご講演頂いた。近年、生理活性ペプチドやレセプタータンパク質等と IgG の Fc 部分を融合した Fc 融合タンパク質の開発品目が増加している。Fc 融合タンパク質では、各ドメインをつなぐためにペプチドリinkerが用いられることがあるが、近年、CHO 細胞発現系により産生された Fc 融合タンパク質において、生理活性ペプチド配列やペプチドリinker配列上に、O-結合型糖鎖が付加されていた例が報告されている。このような O-結合型糖鎖がタンパク質の機能に影響を及ぼす事例も見い出されていることから、Fc 融合タンパク質などの非天然型構造を有するバイオ医薬品では、意図しない O-結合型修飾が生じる可能性を考慮し、開発過程で詳細な O-結合型糖鎖解析を行うことが重要となっている。講演では、糖ペプチドのペプチド部分を優先して解離させるこ

^a国立医薬品食品衛生研究所生物薬品部 (〒210-9501 川崎市川崎区殿町 3-25-26), ^b大阪大学大学院工学研究科生命先端工学専攻 (〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 2-1 GSE イースト 7F), ^c自然科学研究機構生命創成探究センター (〒444-8787 愛知県岡崎市明大寺町字東山 5-1)

*e-mail: watabe@nihs.go.jp

日本薬学会第 137 年会シンポジウム S58 序文

とが可能な電子移動解離 (electron-transfer dissociation; ETD) 法等を利用した質量分析により, Fc 融合タンパク質医薬品の O-結合型糖鎖部位特異性解析を実施した結果を紹介して頂き, 質量分析を用いた翻訳後修飾の分析法の有用性を議論した.

名古屋市立大学/自然科学研究機構生命創成探求センターの加藤晃一博士からは「バイオ医薬品への構造生物学的アプローチ」について講演頂いた. バイオ医薬品の研究開発において, 分子構造の詳細を把握することは重要であり, X 線結晶構造解析や核磁気共鳴法 (NMR) を用いて得られる 3 次元構造情報は新たな分子デザインの基盤を与える. しかし, バイオ医薬品の構造解析においては, 糖鎖修飾を始めとする多様な翻訳後修飾がもたらす分子構造の複雑性が問題となり, 糖鎖を含めたタンパク質の立体構造情報の蓄積は著しく立ち遅れているのが現状である. また, バイオ医薬品は特異的な分子間相互作用を通じてその機能を発揮しているが, 生体内での複雑な環境を考慮した解析はほとんど行われてこなかった. 講演では, バイオ医薬品が実際に機能する環境を考慮した新たな評価手法として, NMR を用いた血清中での抗体の高次構造と相互作用を解析した結果をご紹介頂き, バイオ医薬品の開発における有用性と期待について議論した.

協和発酵キリンの湊 雄一博士からは「バイオ医薬品の高次構造評価」について講演頂いた. 組換え体細胞等のタンパク質発現系から産生されるバイオ医薬品では, 翻訳後修飾等による分子構造上の不均一性が生じ, 翻訳後修飾を含む様々な要因により高次構造にも変動が生じる可能性がある. そのため, 製品の有効性及び安全性に影響する要因を特定する手段の 1 つとして, また, バイオ医薬品の製法変更に伴う同等性/同質性評価やバイオシミラーと先行品の同等性/同質性評価において, 高次構造の評価は不可欠である. しかしながら, 円偏光二色性 (circular dichroism; CD) や蛍光分光法等の既存の評価系では, アミノ酸残基レベルでの高次構造変化を検出できず, 部位特異的な構造情報を取得することは困難であった. 講演では, 水素/重水素交換ー質量分析 (hydrogen/deuterium exchange mass spec-

trometry; HDX-MS) によりアミノ酸残基レベルの構造変化を検出する解析手法についてご紹介頂き, バイオ医薬品の高次構造評価において部位特異的な構造情報を取得する有用性について議論した.

最後に, 大阪大学大学院/自然科学研究機構生命創成探求センターの内山から「バイオ医薬品に含まれる凝集体の適切な分析に向けて」について講演した. バイオ医薬品は液剤として製剤化されるケースが多いが, 製造や保管中に振とうや攪拌, プレフィルドシリンジであればシリコンオイルとの接触, などのストレスを受け, 有効成分であるタンパク質が凝集体を形成する. 凝集体は, 数十 nm から数百 μm にいたる幅広いサイズ分布を持つが, なかでも 100 nm 以下のナノ粒子と 100 nm から 100 μm の subvisible particles (SVP) は, 免疫原性との関係から, 近年, キャラクタリゼーション法の確立を目指して, 精力的な研究が行われてきた. 現在では, 従来は難しかったサイズ領域を含め, 幅広いサイズの凝集体について評価可能な適切な分析手法が確立しつつある. 講演では, タンパク質凝集体の物理化学的特性の紹介の後, 凝集体の評価に利用される各手法の特徴と役割を実際の測定例を交えながら説明し, バイオ医薬の凝集体評価の今後の展望, についても述べた.

本誌上シンポジウムは, 薬学会シンポジウムで発表された各研究成果をより広い範囲で共有するため, 各講演の概要を記録・公表するものである. 近年, 日米欧各極で, 革新的医薬品に関する優先審査制度が設定され, 日本でも先駆け審査制度が策定・運用されている. このようなケースでは, 通常より短期間での品質管理戦略構築が求められることから, これまでより一層の解析の迅速化と様々な知識を活用した工夫が必要になるだろう. また, 日本発の優れた分析技術も開発されつつあり, 世界をリードする高度な分析が期待されている状況にある. バイオ医薬品の品質管理戦略構築に関する全体像とともに, 開発初期から承認製剤の出荷試験まで, バイオ医薬品開発の様々な段階で活躍する先端的分析技術の最新動向を提供した本誌上シンポジウムが, 今後のバイオ創薬推進の一助となれば幸いである.