

日本医療研究開発機構 医薬品等規制調和・評価研究事業 事後評価報告書



I 基本情報

研究開発課題名： (日本語) バイオ医薬品等の品質管理・安全性評価とガイドライン策定に関する研究
(英語) Regulatory science research on safety and quality biologics and related guideline development

研究開発実施期間：平成30年4月1日 ～ 令和3年3月31日

研究開発代表者 氏名：(日本語) 石井明子
(英語) Akiko Ishii-Watabe

研究開発代表者 所属機関・部署・役職：
(日本語) 国立医薬品食品衛生研究所・生物薬品部・部長
(英語) Director, Division of Biological Chemistry and Biologicals, National Institute of Health Sciences

II 研究開発の概要

本課題では、バイオ医薬品等の品質安全性確保における重要課題として、免疫原性、ウイルス・プリオン、組換えワクチン、バイオ後続品に関する評価法とガイドライン策定のための研究を行った。

(1) 免疫原性評価

(1)-1 患者試料の収集及びリスク要因同定とガイドライン案作成

本邦の免疫原性評価ガイドライン案の作成に資する情報を取得するため、日本人における抗薬物抗体(ADA)産生の遺伝的リスク因子の特定を行うことを目的とし、バイオ医薬品投与患者試料の収集と解析を行った。抗体医薬品が投与された関節リウマチ患者及び炎症性腸疾患患者に関して、全血(ゲノムDNA及び血清用)、並びに臨床情報を収集した。関節リウマチ患者に関しては、合計68例を収集した。また炎症性腸疾患に関しては、合計176例を収集した。全検体のHLA解析及びTNF- α 多型解析を行った。関節リウマチに関しては、先行研究の試料と合わせて解析を行い、エタネルセプトについて、ADAの有無により、有意差は認められないものの異なるアレル頻度傾向を示すHLA型を2種、見いだした。試料収集とADA測定を通じて得られた知見も踏まえて免疫原性評価ガイドライン案の骨子案を作成し、ADAアッセイ法の構築とバリデーションにおける留意をまとめた。また、臨床試験と製造販売後調査に関し、ガイドラインに記載すべき項目と内容について、最新の文献情報等も参考に、整理を行った。

(1)-2 抗薬物抗体パネル作製と国際標準品候補品としての提供

ADA 測定法の開発・標準化等における利用を目的に、リツキシマブ、インフリキシマブ、アダリムマブに関して、結合親和性や結合エピトープ等の特性の異なる複数のクローンから構成される ADA パネルを作製した。WHO 国際標準品としての策定に向けて英国 NIBSC と協議を進め、抗リツキシマブ抗体パネルに関しては、MAB 組合の協力を得て、選定された候補クローンを大量調製して NIBSC に試料提供した。抗インフリキシマブ抗体と抗アダリムマブ抗体に関しては、薬物の標的分子 (TNF α) 結合に及ぼす ADA の影響を明らかにし、各 ADA の特性と抗原中和能に対する影響の相関について解析した。また、ヒト IgG1 型の抗アダリムマブ抗体、抗インフリキシマブ抗体の配列を基に、ヒト IgG4、ヒト IgM、ヒト IgE 型のキメラ化抗薬物抗体を複数のクローンについて調製した。これらの ADA について薬物 (アダリムマブ、インフリキシマブ) に対する親和性を明らかにした。また、表面プラズモン共鳴法、バイオレイヤー干渉法、電気化学発光法を用いた ADA 測定系でのレスポンスを比較検討すると共に、血清添加時の影響等について解析した。さらに、各評価系での測定結果について多変量相関解析を行った。また、ADA の粒子径を測定すると共に、薬物との複合体形成時の粒子径の変化についても解析した。これらの結果を基に特性の異なる抗薬物抗体を選別し、WHO の抗インフリキシマブ抗体パネル作製に関する共同研究のために、作製した抗インフリキシマブ抗体 6 種を提供すると共に、WHO の抗アダリムマブ抗体パネル作製の共同研究に供する抗体 10 種の準備を進めた。

これらに加え、ヒトにおいて生じる抗薬物抗体の特性解析のため、ヒトメモリー B 細胞から抗体可変領域の遺伝子をクローニングする手法を構築した。

(1)-3 免疫原性に関連した品質特性解析

免疫原性に関わる品質評価として、免疫原性の惹起に関与することが示唆されている凝集体について、その特性と免疫細胞活性化の関係について検討を行った。攪拌処理によって誘導した抗体医薬品凝集体について、独自に開発した Fc γ 受容体発現レポーター細胞を用いた評価を行った結果、抗体医薬品凝集体の Fc γ 受容体活性化能 (活性化する Fc γ 受容体の種類、及び、活性化の程度) は未変性状態の抗体 Fc 領域の活性と相関することを明らかにした。凝集体による Fc γ 受容体を介した免疫細胞活性化は、インフュージョン反応や抗薬物抗体の産生に寄与すると考えられ、我々の開発したレポーター細胞を用いた評価系は、抗体医薬品凝集体の免疫原性に関わる特性解析に有用であることが示された。

(1)-4 バイオ後続品指針改正案の作成

「バイオ後続品の品質・安全性・有効性確保のための指針、薬食審査発第 0304007 号、平成 21 年 3 月 4 日」に関し、検討班 (分科会) を設け、議論と改訂作業を行った。ガイドライン全体に関するバイオシミラー分科会は、PMDA、日本製薬工業協会、バイオシミラー協議会の専門家で構成し、平成 21 年の指針策定以降に蓄積された知見や、海外の動向も踏まえ、改定案に関する議論を行った。製造販売後におけるリスク管理に関しては、10 年間で特に大きく状況が変わっていたため、「製造販売後調査等検討ワーキンググループ」を分科会の下に設け検討を行った。

改訂指針及び Q&A は、パブリックコメント募集と、コメント意見に基づく修正を経て、それぞれ薬生薬審査 0204 第 1 号及び事務連絡として、令和 2 年 2 月 4 日に、厚生労働省医薬・生活衛生局医薬品審査管理課長より発出された。

(2) ウイルス・プリオン安全性評価

(2)-1 新規ウイルス試験法の構築

本研究課題では、バイオ医薬品等の既存の試験法の欠点を克服・補完し得る方法として次世代シーケンサー (NGS) を用いたウイルス試験法の開発を進めた。前年度までに構築・改善したウイルス検出パイプラ

インを用いてさらに検討を進めた。ここでは、過去に実際に起きたバイオリアクターの汚染をモデルとして採用し、CHO 細胞にモデルウイルスである MVM を感染させた系を用いた。最終年度である本年度は、CHO 細胞が発現している内在性レトロウイルス様粒子や培養上清に検出されるウイルス様核酸と外来性ウイルスを明確に区別できるかどうかについて調べた。その結果、今まで報告にあるげっ歯類をはじめとする多様なレトロウイルス(外来性ウイルス)との判別することは十分可能であることがわかった。レトロウイルスの逆転写酵素やプロテアーゼの活性部位を形成する領域には高度に保存された配列があるため、外来性レトロウイルスと内在性レトロウイルスの区別が困難になる可能性があったが、その可能性は否定された。また場合によっては、培地に含まれることが想定される血清等の生物由来原料に含まれるウイルス様核酸と外来性ウイルスも区別できることが明らかになった。また今回樹立した検出系は、再現性が高いことも確認された。この結果を受けて NGS を用いたウイルス試験法を実用化するために必要な要件をまとめた。

(2)-2 非定型プリオンの検出法の構築

医薬品原料としてウシ由来臓器が用いられるが、ウシではこれまでに飼料へのプリオンの混入を原因とする定型 BSE (C-BSE) に加え、非定型 BSE (L-Type および H-Type) が報告されている。プリオンはウイルスや細菌等の病原体とは異なり病原体としての遺伝子を持たない。そのため、病原体検出に使用される PCR 法は使用できず、本研究班では定型および非定型 BSE 由来プリオンを網羅的に検出できる系の作出を検討してきた。これまでの検討で、本邦での食用牛のスクリーニング検査に用いられてきた protease K 処理後の脳乳剤 からプリオンを検出するエライザキットを用いることで定型および L-type または H-type を含む非定型 BSE 由来プリオンを検出可能であることを明らかにしている。しかしながら、このエライザ法ではマウス等を用いたバイオアッセイを超える感度は実現できず、より高感度な検出法として *in vitro* プリオン増幅法の作出を検討した。既存の増幅法では多種のプリオンを同一条件では検出できず、本研究ではシカ(キョン)由来の脳乳剤を基質として用いた検討を行った。結果、定型 BSE である C-BSE 由来プリオンを高効率に増幅することが可能となった。また、増幅効率は C-BSE 由来プリオンに比べ低いながらも L-BSE 由来プリオンも増幅可能であり、シカ脳乳剤の基質としての有用性が示された。

(3) 組換えワクチンガイドライン案の作成

組換えウイルスワクチンガイドラインの原案を作成し、JPMA, PhRMA, EFPIA などワクチン製薬メーカー関連団体に提示し、意見を伺った。いただいた意見を踏まえ、再編集をおこなった。またガイドラインに関していくつか誤解をされている部分あることや、具体的な内容について説明したほうが良いと思われる箇所がいくつかあり、Q&A の作成も行ってきた。作成したガイドライン案については厚生労働省に提出し、正式なパブコメを行っていただくことを想定している。

Summary

(1) Immunogenicity evaluation

(1)-1 Research on risk factors for ADA production and draft guideline preparation

In order to obtain information that contributes to the immunogenicity evaluation guideline in Japan, we aimed to explore genetic risk factors to be associated with anti-drug antibody (ADA) production in Japanese population. The blood and clinical information were collected from the therapeutic antibody-administered patients with rheumatoid arthritis (68 patients) and inflammatory bowel diseases (176 patients). HLA analysis on rheumatoid arthritis patients found that 2 HLA alleles showed different allele frequencies between patients with and without ADA, although their statistical comparison did not reach the significance. Based on the knowledge obtained through this study, draft guideline for immunogenicity evaluation was prepared with reference to the latest literature information.

(1)-2 Establishment of ADA panels

Anti-drug antibody panels against rituximab, infliximab and adalimumab were developed. Each ADA panel consists of several ADAs with different characteristics. Collaborating with National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC), several clones of anti-rituximab Abs and anti-infliximab Abs are currently under development as WHO international standards. In addition, IgG4, IgM and IgE types of ADAs against infliximab and adalimumab were newly developed based on the sequence of the IgG1-type ADAs. Regarding the IgG4, IgM and IgE-type ADAs, we measured the kinetic parameters against the therapeutics, the detectability by the various methods (i.e., SPR, BLI and ECL) and the neutralization activity, and analyzed the correlation among these properties. They will be used to further improve the panels. We also developed a method for cloning antibody sequences from human memory B cells.

(1)-3 Quality attributes related to immunogenicity

Protein aggregates are a potential risk factor for immunogenicity. Comparison of aggregates of mAbs harboring different IgG subclasses or Fc-engineered mAbs revealed that the FcγR-activation profiles of the mAb aggregates were dependent on the Fc functions of the native (non-aggregated) mAbs. Unintended immune cell activation can be induced due to FcγR activation by mAb aggregates and such FcγR activation may contribute to immunogenicity, and therefore analysis of the FcγR-activation properties of mAb aggregates using FcγR-expressing reporter cell lines was thought to be a promising approach for the characterization of mAb aggregates.

(1)-4 Guideline preparation for biosimilars

The Japanese biosimilar guideline issued on March 4, 2009 was revised through the discussion with PMDA, JPMA and JBSA. After amendments of the drafts based on the public comments, the revised guidelines and Q&A were issued on February 4, 2020, from MHLW.

(2) Safety evaluation of virus and prion

Viral safety is one of the major issues in the manufacture of biopharmaceuticals. In this project, we have obtained several supporting data to establish viral detection pipeline for cell banks using next generation sequencing technology. In 2020, we found that our pipeline could discriminate adventitious retroviruses from endogenous viruses constitutively expressed in CHO cells and contaminated virus-like nucleotides

derived from cell culture fluids. The novel viral detection assay will compensate for the disadvantages of conventional virus assays, saving time, the cost for assays, and provide a comprehensive platform for virus detection with high sensitivity.

Along with C-BSE, two novel atypical forms of BSE named H-type (H-BSE) and L-type BSE (L-BSE) were identified by the mid-2000s. The L-BSE prion has been thought to be more virulent than the C-BSE prion in experimental transmission to non-human primates and transgenic mice expressing a human form of PrPC. Therefore, new methods with high sensitivity and a wide range for prion strains are required. In this study, we investigated the potential of deer brain homogenate as a substrate for in vitro amplification of prion. As a result, it was possible to amplify typical BSE and atypical BSE. The potential of the deer brain homogenate for universal-in vitro amplification of prion was suggested.

(3) Guideline for recombinant vaccines

Draft guideline of the recombinant virus vaccine was prepared and shared with pharmaceutical manufacturers such as JPMA, PhRMA, and EFPIA to hear their opinions. Based on the opinions the draft guideline was revised. In addition, Q & A document was prepared in order to support appropriate understanding and implementation. It is envisioned that the draft guidelines will be submitted to the Ministry of Health, Labor and Welfare for official public consultation.