

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

公開

I 基本情報

研究開発課題名: (日本語) 次世代型中分子ペプチド医薬品の品質及び安全性確保のための
規制要件に関する研究

(英語) Study of regulatory science to ensure the quality and safety of medium-
sized peptides as next-generation therapeutics

研究開発実施期間: 平成30年7月20日～令和3年3月31日

研究開発代表者 氏名: (日本語) 出水 庸介

(英語) Demizu Yosuke

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・有機化学部・部長

(英語) Head, Division of Organic Chemistry, National Institute of Health Sciences

II 研究開発の概要

新薬開発において、次世代型の中分子ペプチド医薬品の開発が国内外で活発化している。特に、非天然型アミノ酸を含有し特殊な二次構造を形成する当該医薬品は、従来の医薬品では達成できなかった治療効果が期待でき、化学合成による製造が可能であるため製造コストの問題も回避できるため、次世代医薬品の中核となることが確実視されている。一方でそれらの実用化には、高品質な製造法の開発や特性を踏まえた品質・安全性確保が必須であるが、従来技術では解決が難しく開発のボトルネックとなっていると共に、評価要件の明確化を始めとする規制環境整備が喫緊の課題である。

本研究では、(1) 中分子ペプチドの試験的製造に関する研究、(2) ペプチドの品質特性解析、(3) 安全性評価に関する研究、及び、これらの研究で得られた知見と海外の規制動向を整理することで(4) 次世代ペプチド医薬品の品質・安全確保のための評価要件案の作成、を行なった。

中分子ペプチド医薬品の製造工程、品質及び安全性に関する評価手法を開発し、それらの要件を文書化することで、開発において計画的で組織的な評価が可能となり、新技術活用に際しての患者リスクを低減できる。即ち、製薬企業は効率的な医薬品開発(開発期間の短縮、コストの低減、上市までの成功確率の向上など)を実施することができる。規制当局は開発過程で実施される PMDA との様々な相談(対面助言、事前相談等)において開発者への適切な助言や照会が可能となり、承認審査の効率化・迅速化や人的リソースの削減に繋がる。さらに、患者数が多いにも関わらず治療手段が少ない疾患や、患者数は少ないものの治療薬の必要性が高い疾患、に対する革新的な医薬品を、より早く患者に届けることに貢献できる。

以下に、研究成果を概括する。

(1) 中分子ペプチドの試験的製造に関する研究

細胞外を標的とした環状ペプチドをモデルとして、特異的に生成する類縁物質、不純物等について検討することで、ペプチド製造において重要品質特性になり得る不純物や重要工程のパラメーターについて検討した。ペプチド製造においては、固相法(樹脂・カップリング剤の変更、カップリング回数の変更、非加熱/加熱条件等)の検討、マイクロ波照射下での合成法の検討を行った。さらに、新しいペプチド製造法であるタグ合成法について検討した。タグ合成法は、固相法と比べて使用する試薬量が少なく、高純度のペプチド製造が可能であること、樹脂を使用しないため出発原料が安価であること、既存の低分子原薬製造設備が使用可能であることから設備投資の必要がないこと、通常の低分子医薬品と同様の製造工程管理を行える、等の利点が挙げられることから、中分子ペプチド医薬品のスケールアップに適した製造法である。本手法を環状ペプチドの合成に応用することで、縮合、脱保護、抽出操作を繰り返すことで、途中段階での精製を行うことなく目的ペプチドを合成した。またペプチド合成を行う中で、工程毎に反応液を HPLC で分析することにより、反応の終点や副生成物の有無を検討した。各合成法により製造、精製したペプチドの構造特性解析を行なったところ、分離精製することが困難な不純物が原薬に 0.5%程度含まれており、主にこれらの不純物は特定のアミノ酸の酸化体、特定のアミノ酸の立体異性体であった。これらの不純物を別途合成し、*in vitro* 細胞毒性評価、マウスを使った *in vivo* 評価(反復毒性試験、遺伝毒性試験)を検討した。

(2) ペプチドの品質特性解析に関する研究

本研究では、バイオ医薬品の品質管理戦略を例に、生物活性・PK・PD・安全性・免疫原性への影響を考慮した、ペプチド医薬品の品質管理戦略構築手法の確立を目指し、研究班で製造したペプチド医薬品、不純物、劣化試料、および代謝物について、生物活性解析や構造解析を行った。ペプチド医薬品の不純物として、1アミノ酸欠失したペプチドや酸化体などが含まれ得るが、劣化試料の解析と合わせ、これらの不純物の多くが活性を保持していないことなどを明らかにした。また、研究班で非臨床毒性試験を実施するにあたり、動物の標的タンパク質を用いてペプチド医薬品の生物活性を解析すると共に、非臨床毒性試験に用いるペプチド試料(酸化体、立体異性体

等の不純物) について構造解析と生物活性解析を行い、酸化体と立体異性体の活性が大きく低下していることを確認した。

(3) ペプチドの安全性評価に関する研究

本研究では、通常の動物を用いた非臨床評価法では予測できないヒトにおける安全性を予測するための評価として、細胞毒性が検出されるか、ヒトトランスポーター等の基質となるか、またオフターゲット効果が認められるかなどを必要に応じて実験的に検証し、問題点の抽出や新たな評価法の提案を検討した。有効成分となるペプチドの安全性とともに、不純物、劣化試料、及び代謝物等についての安全性、また、中分子ペプチドの多くには非天然型アミノ酸が含まれていることから、非天然型アミノ酸由来代謝物の安全性についても検討した。細胞毒性評価を検証した結果、環状ペプチド原薬よりも不純物の方が高い細胞毒性を示した。さらに、その毒性には、ペプチド製造工程の違いによっても若干ではあるが差が見られた。また、中分子ペプチド中に含まれる使用頻度の高い非天然型アミノ酸(約 400 種類)を集めた「標準化合物パネル」を作成するために、これら非天然型アミノ酸の細胞毒性評価スクリーニングを行い、留意すべきアミノ酸を数種類同定した。

(4) 次世代ペプチド医薬品の品質・安全確保のための評価要件案の作成

(4-1) ペプチド医薬品の品質評価要件案の作成

中分子ペプチド原薬の品質確保における留意事項を明らかにするため、最近承認されたペプチド医薬品の品質に関する情報、ペプチド医薬品の開発動向、海外の規制動向に関する調査を行った。創薬現場での課題をより直接的に把握し、解決策を検討して文書に反映するため、日本製薬工業協会に協力を依頼し、ペプチド原薬の製造・品質評価に従事している企業研究者を加えたディスカッショングループ(品質グループ)を組織した。これらの調査結果も参考に、最新の ICH 品質ガイドラインに示されている考え方にに基づき、品質管理戦略構築における考え方を整理し、中分子ペプチド医薬品の品質評価・管理の考え方として留意事項文書の案を作成した。文書は、1. 中分子ペプチド医薬品に関する基本的事項(適用対象)、2. 中分子ペプチド医薬品(原薬)の品質評価・管理、3. 中分子ペプチド医薬品(製剤)の品質評価・管理、4. 総括、の 4 章から構成され、原薬の品質評価・管理に関しては、原薬の特性解析、原薬の重要品質特性の特定、及び原薬の品質管理戦略に関する記載が含まれる。

また、中分子ペプチド医薬品の品質変動要因を把握するとともに、関連するストレスと測定フィジビリティの観点から原薬と製剤段階での評価と管理について検討した。ペプチド製剤のモデルとして低分子量ゼラチンとマンニトール(賦形剤)を用い、凍結溶液の熱測定と凍乾固体の粉末 X 線回折により、凍結溶液中における異分子間の相互作用が結晶化に与える影響を検討した。氷晶間への混合状態の濃縮が速度論的に結晶化を抑制することを示した。

(4-2) ペプチド医薬品の非臨床安全性評価要件案の作成

次世代中分子ペプチドの非臨床安全性評価に関する Wet 研究で得られた知見や国内・海外の規制情報・承認情報を整理し、PMDA、製薬協、安研協、国立衛研をメンバーとする非臨床試験グループを設置し、「非天然型構造を有するペプチド医薬品の非臨床安全性評価に関する留意点」案を作成した。具体的には、オフターゲット効果の動物やヒト細胞における評価、抗薬物抗体評価の必要性、有効成分・代謝物の体内動態の検討の必要性、シトクロム P450 やトランスポーターの基質、阻害、誘導の評価、薬物相互作用評価の必要性、生体試料中薬物濃度分析法ガイドラインの適用、First-in-human 試験までに実施しておくべき非臨床安全性試験、について議論を行った。さらに、適切な動物種の選択、試験期間、各非臨床試験の実施、不純物(分解物を含む)を含めた原薬・製剤を用いた毒性試験の必要性、過酷条件下で保存したロットの毒性試験の必要性、ヒト組織パネルを用いた組織交叉反応性試験の利用可能性と意義、等を含め、非天然型ペプチド構造を有する医薬品の非臨床安全性評価に関

する留意点の素案を作成した。文書は、1. 緒言、2. 非臨床安全性試験、3. 各論、4. 参考文献、の4章から構成される。

Next-generation medium-sized molecular peptide drugs are being developed around the world. To facilitate their practical application, well-controlled manufacturing methods and quality and safety evaluation methods based on the characteristics of these drugs should be established. However, developing such methods for novel peptide drugs is not easy with conventional technologies, and guidelines should be established to specify appropriate regulatory requirements.

In this study, we proposed (1) process-control strategies for medium-sized molecular peptides based on a production and evaluation pilot; (2) a quality/characteristic analysis method for medium-sized molecular peptides; and (3) a safety evaluation method for medium-sized molecular peptides, and summarized the findings of relevant studies and overseas regulatory trends in order to (4) prepare a points-to-consider document, "Evaluation requirements (draft) for ensuring the quality and safety of next-generation peptide drugs". The following is a summary of the study's results.

(1) We investigated impurities that could have critical effects on peptide production quality by using cyclic peptides as a model. We synthesized the cyclic peptides using a solid-phase method under various conditions (e.g., we changed the resin/coupling reagents, changed the number of times peptide coupling was performed, used non-heated/heated conditions, and used microwave irradiation, etc.). The optimal tag-synthesis method was also investigated, and the target peptide was synthesized by repeating the condensation, deprotection, and extraction operations without performing purification during the intermediate stages. Structural characterization of the produced and purified peptides showed that about 0.5% of the products contained impurities that were difficult to separate out, mainly oxidized forms and/or stereoisomers of amino acids.

(2) We conducted biological activity and structural analyses of the peptide drugs, impurities, degraded samples, and metabolites produced by the research group to establish a method for developing a quality-control strategy for peptide drugs, taking into account effects on biological activity, PK, PD, safety, and immunogenicity, according to the quality control strategy for biopharmaceuticals. Peptides lacking a single amino acid and oxidized peptides were found as impurities among the synthesized peptides, and, together with the analysis of degraded samples, it was clarified that many of these impurities do not retain activity.

(3) In this study, we experimentally verified whether any of the examined peptides were cytotoxic, whether the product could be used as a substrate for human transporters, and whether any off-target effects were observed, as necessary, in order to predict safety in humans, which cannot be predicted by conventional non-clinical evaluation methods using animals. In addition to the safety of the peptides as active ingredients, the safety of impurities, degraded samples, metabolites, etc., and the safety of metabolites derived from unnatural amino acids were also examined, since many medium molecular weight peptides contain unnatural amino acids. The cytotoxicity of the peptides and their impurities was evaluated, and the impurities showed slightly higher cytotoxicity than the peptide active pharmaceutical ingredients. Furthermore, there were slight differences in toxicity depending on the peptide manufacturing process.

(4) In order to clarify the points that need to be considered to ensure the quality and safety of medium-sized peptide drugs, we analyzed information on the quality and safety of recently approved peptide drugs, trends in peptide drug development, and overseas regulatory trends. In addition, based on the ideas presented in the latest ICH guidelines, we organized the relevant quality assessment and non-clinical safety assessment concepts, and prepared a document of points to note regarding the quality assessment and non-clinical safety assessment of small-molecule peptide drugs.

Determining the evaluations that should be performed when formulating guidelines allows regulators to ask researchers appropriate questions and make appropriate recommendations during the various consultations that take place during applications for approval and drug development. This helps pharmaceutical companies to develop drugs more efficiently (e.g., it shortens the developmental period, reduces costs, and increases the probability of success) and reduces the manpower required by regulators. In addition, innovative peptide drugs can be distributed to patients more quickly to meet unmet medical needs.