

動物用モノクローナル抗体医薬品の品質評価に関する指針（素案）

目次

第 1 章 緒言

第 1 目的

第 2 背景

第 3 適用対象

第 2 章 製造方法及び製剤の開発、規格及び検査方法の設定について考慮すべき基本的事項

第 1 製造方法の確立

第 2 特性解析

1 構造

2 物理的・化学的性質

3 生物活性/免疫化学的性質

4 不純物

第 3 製剤開発

第 3 章 規格及び検査方法

第 1 原薬の規格及び検査方法

1 外観・性状

2 確認試験

3 純度と不純物

(1) 目的物質

(2) 目的物質由来不純物

(3) 製造工程由来不純物

4 力価

5 物質質量

第 2 製剤の規格及び検査方法

1 外観・性状

2 確認試験

3 純度と不純物

4 力価

5 物質質量

第 3 薬局方等の一般試験法

第 4 特殊な剤型のための追加試験項目

第 1 章 緒言

第 1 目的

本指針（案）は、動物用モノクローナル抗体医薬品の開発及びその製造販売承認を申請するために必要な品質評価に関する一般的な原則を明らかにしたものである。

なお、本指針で示された解析方法や評価法は例示であり、それぞれの製品の特徴等を踏まえ、科学的に妥当な理由がある場合には、本指針以外の適切な実施方法を用いてもよい。

第 2 背景

生体を持つ免疫システムの主役である抗体を主成分としたモノクローナル抗体医薬品は、標的分子に対して高い特異性を有するよう設計されており、非標的分子に結合する可能性は極めて低く、効果的な治療薬として注目を浴びている。モノクローナル抗体医薬品はすでに人用の抗体医薬品が多く市販されている。一方、日本の動物分野では、抗体医薬品の範疇に入る製剤は、生物学的製剤の血清類として承認されたものが少数あるのみであった。最近、バイオテクノロジーを用いて開発されたイヌ化抗犬インターロイキン 31 モノクローナル抗体製剤が犬のアトピー性皮膚炎治療薬として承認された。また、牛伝染性リンパ腫や犬のがん治療のための免疫チェックポイント阻害薬（キメラ抗体）など、抗体医薬品に関する研究開発が進められている。これらの製品の開発・普及を図るためには、動物用モノクローナル抗体医薬品の特性を踏まえた、品質及び安全性確保等のための指針作りが不可欠である。このような指針は、動物用モノクローナル抗体医薬品の開発や承認申請後の審査にも有益であり、当該製剤の普及に繋がるものである。

第 3 適用対象

本指針は、モノクローナル抗体又はその断片を主剤とする動物用医薬品を適用対象とする。抗体に低分子医薬品（ペイロード）を結合させた抗体薬物複合体（Antibody-Drug Conjugates、ADC）については本指針（案）の対象外とする。

第 2 章 製造方法及び製剤の開発、規格及び検査方法の設定について考慮すべき基本的事項

第 1 原薬の製造方法の確立

分子量が大きく複雑な構造を持つ動物用モノクローナル抗体医薬品は、翻訳後修飾や高次構造を含めて目的物質の構造特性を確定することが容易でないため、製造方法の理解と管理が特に重要である。そのために特に以下の

項目について承認申請書には記載しなければならない。(解説書 Q1.「各項目の記載に関しての注意点は何か。」参照)

- ・動物用モノクローナル抗体産生のための遺伝子発現構成体の構築
- ・細胞基材の樹立
- ・培養及び精製方法
- ・ウイルス安全性
- ・プロセスコントロール

第2 特性解析

適切な分析技術を用いた動物用モノクローナル抗体医薬品の特性解析は、適切な規格及び検査方法を設定するために必要となるものである。特に、以下の特性を明らかにすべきである。

1 構造

H鎖及びL鎖について、アミノ酸配列、N末端及びC末端アミノ酸配列、ペプチドマップ、スルフヒドリル基及びジスルフィド結合、並びに糖鎖構造を明らかにする。(解説書 Q2.「目的物質の高次構造に関する解析は必要か。」参照)

2 物理的・化学的性質

物理的・化学的性質の解析は、目的物質の不均一性を含む物性を明らかにし、品質の恒常性を評価する上で重要である。この解析のために、分子量・分子サイズ、アイソフォームパターン、電気泳動パターン、液体クロマトグラフィーパターン及び分光学的性質を必要に応じ組み合わせて使用する。

3 生物活性/免疫化学的性質

動物用モノクローナル抗体医薬品の生物活性は品目ごとに異なり、期待される効能効果を反映した生物活性を測定するためにどのような生物学的試験が有用であるかは、臨床効果やその分子機構を考慮して明らかにする必要がある。一般に、動物用モノクローナル抗体医薬品の生物学的試験として、抗原との結合特性及び機能的特性を明らかにする試験が使用される。抗原との結合性は免疫化学的性質でもあるが、生物活性の一つとして結合特性を明らかにすることは有用である。生物活性を定量的に表す尺度は「力価」であり、「単位」で表される。(解説書「Q3.生物活性の測定にはどのような方法があるのか。」、Q4.「免疫化学的性質を検証する必要があるか。」、Q5.「標的分子のエピトープの検証は必要か。」参照)

4 不純物

動物用モノクローナル抗体医薬品の製造過程では、細胞内や培養液中で生

114 じる酵素反応や物理化学的相互作用等により、目的物質の分子変化体が生成
115 する。また、原薬中には宿主細胞や培養及び精製工程に由来する不純物が存
116 在する。これらの不純物に対する特性解析や含量の測定が必要となる。（解
117 説書 Q6.「目的物質の分子変化体とはどのようなものが含まれるか、それら
118 が目的物質関連物質であるか不純物であるかの区別方法はあるか。」、Q7.「不
119 純物とはどのようなものが含まれるか。」、Q8.「「目的物質」及び「目的物質
120 関連物質」とは何か。」参照）

121 122 第3 製剤開発

123 申請する用法や投与経路を考慮して、製剤処方中の添加剤の量や特性の範
124 囲について、妥当性を示す。製剤化の際に（場合によっては、原薬に）使用
125 する添加剤及び容器／施栓系の品質は、薬局方等公定規格に規格及び検査方
126 法があり、かつそれが適切である場合には、薬局方等公定規格の基準を満た
127 すべきである。薬局方等公定規格に収載されていない添加剤に関しては、適
128 切な規格及び検査方法を設定する必要がある。

129 130 第3章 規格及び検査方法

131
132 規格及び検査方法の項目は、当該製剤の品質を確認するために選択するも
133 のである。したがって、規格及び検査方法として特定の品質特性についての
134 試験を選択したり除外したりする根拠及びその妥当性を明確にする必要が
135 ある。また、規格値や適否判定基準の適合範囲の設定根拠を明らかにする必
136 要がある。規格値や適否判定基準は、非臨床試験や臨床試験に用いたロット
137 から得られたデータ、製造の一定性を示すために用いたロットから得られた
138 データ、並びに製品の開発段階で得られた適切なデータに基づいて設定し、
139 その科学的根拠を示す必要がある。（解説書 Q9.「科学的に妥当性のある規
140 格及び検査方法を設定する際の考慮すべき点は何か。」、Q10.「検査方法を設
141 定するうえで留意しなければならない事項は何か。」参照）

142 143 第1 原薬の規格及び検査方法

144 145 1 外観・性状

146 原薬の物理的状态（例えば、個体、液体）、色及び澄明度を定性的に規定
147 する。

148 149 2 確認試験

150 確認試験は、その原薬に特異的である必要がある。また、分子構造上の
151 特徴やその他の特有の性質に基づいて設定する必要がある。確認試験とし
152 ては定性的なものでよく、必要に応じて理化学試験、生物学的試験、免疫

153 化学的試験の中から複数の試験を組み合わせて行う。通常、ペプチドマッ
154 プ、クロマトグラフィーにおける保持時間、電気泳動パターン等を標準物
155 質と比較して、目的物質と構造及び物理的・化学的性質等が一致することを
156 確認する試験が用いられる。(Q11.「確認試験における理化学試験、生物学
157 的試験、免疫化学的試験に技術的にどのようにアプローチしていけばよい
158 か。」参照)

160 3 純度と不純物

161 原薬の純度試験は、目的物質の不均一性の恒常性確保、及び不純物含量の
162 規定のための試験である。検査方法を選択し、最適化する際には目的物質及
163 び目的物質関連物質と、目的物質由来不純物及び製造工程由来不純物を相互
164 に分離することに重点を置くべきである。

165 (1) 目的物質及び目的物質関連物質

166 目的物質の不均一性評価のための純度試験の例としては、電荷不均一性
167 の評価を目的とした等電点電気泳動又はキャピラリー等電点電気泳動、糖鎖
168 構造の不均一性の評価を目的とした遊離糖鎖を用いるオリゴ糖マップ等が
169 ある。目的物質の不均一性を評価するために設定される試験では、ピーク面
170 積比や標準物質とのパターン的一致等が規格値として設定される。

171 (2) 目的物質由来不純物

172 目的物質由来不純物含量の規定のために設定される試験方法としては、
173 凝集体含量の評価のためのサイズ排除クロマトグラフィー、切断体含量の評
174 価のための **SDS-PAGE** やキャピラリーゲル電気泳動等がある。これらの試
175 験では、不純物含量の限度値が規格値として設定される。目的物質由来不純
176 物のうち、特に凝集体については、免疫原性を増強する懸念があるため、必
177 要に応じ、適切な規格を設定する。

178 (3) 製造工程由来不純物

179 製造工程由来不純物質の評価のために設定される試験項目としては、宿主
180 細胞由来タンパク質及び **DNA**、**プロテイン A**、**BSA** 等の血清成分、培地成
181 分、培地添加物等がある。工程管理試験により最終製品での残存量が十分に
182 管理可能とするデータが得られていれば、原薬での規格設定は不要とするこ
183 とは可能である。また、恒常的かつ高いレベルでの除去が確認された不純物
184 については、設定する必要はない。

186 4 力価

187 適切な力価試験が必要である。結合特性又は機能的特性を評価する生物学
188 的試験を実施し、許容域を設定する。力価は、標準物質との比活性の比(%)
189 として表示される場合と、独自に設定した単位を用いて物質あたり単位
190 (例 単位/mg)で表わされる場合がある。結合特性を指標とした力価試験で
191 は **ELISA** が用いられることが多い。(解説書 Q12.「力価の評価方法について

ての考え方及び試験設計における留意点は。」参照)

適切な力価試験を製剤について設定していれば、原薬の段階での定量的評価には、代替試験法（物理化学的試験法や生物学的試験法）でも十分な場合がある。

5 物質質量

物質質量は、通常タンパク質量で表される。紫外可視吸光度測定法等が用いられる。

第2 製剤の規格及び検査方法

1 外観・性状

製剤の物理的状态（例えば、個体、液体）、色及び澄明度を定性的に規定する。

2 確認試験

確認試験は、その製剤に特異的である必要がある。また、分子構造上の特徴やその他の特有の性質に基づいて設定する必要がある。確認試験としては定性的なものでよく、製品によって1種類、または複数の試験を必要に応じ設定する。試験方法については、第3章第1の2及びQ11.に記載されているような試験方法を参考し、そのまま、或いは目的に沿うように改変して用いる。

3 純度と不純物

製剤化の際或いは保存中に、不純物が生成したり増加したりする可能性がある。製剤中の不純物が定性的にも定量的にも原薬中のものと同じであるということが証明できる場合、試験項目として設定する必要はない。新たに不純物が製剤の製造中或いは保存中に生じることが判明している場合には、これからの不純物のレベルを測定し、規格値を設定する必要がある。（解説書 Q13. 「製剤の不純物の規格値と試験方法はどう設定すればよいか。」、Q14. 「製剤の純度試験の試験方法の選択及び最適化の際の重点は何か。」 参照）

4 力価

適切な力価試験が必要である。適切な力価試験を原薬について設定していれば、製剤の段階では、物理学的試験法や生物学的試験法等代替試験法でも十分な場合がある。なお、そのような設定を行う場合には、その妥当性を示す必要がある。

5 物質質量

231 紫外可視吸光度測定法等が用いられる。

233 第3 薬局方等の一般試験法

234 薬局方あるいは動物用生物学的製剤基準には、原薬あるいは製剤の品質評
235 価方法として利用できる試験方法及び規格値／適否の判定基準に関する重
236 要な事項が収載されている。動物用モノクローナル抗体医薬品に適用できる
237 試験項目としては、一般に、pH 測定試験法、真空度試験法、含湿度試験法、
238 無菌試験、マイコプラズマ否定試験、迷入ウイルス否定試験、エンドトキシ
239 ン試験、不溶性微粒子試験法、不溶性異物検査法等が挙げられるが、各製剤
240 の特性に応じて試験法を選択し評価する。

242 第4 特殊な剤型のための追加試験項目

243 剤型によっては、その特殊性を考慮して試験項目の追加が必要となる場合
244 もある。

動物用モノクローナル抗体医薬品の品質評価に関する指針
解説書（素案）

Q1. 各項目の記載に関しての注意点は何か。

A. 各項目の記載に関しての注意点は以下が挙げられる。

- ・動物用モノクローナル抗体産生のための遺伝子発現構成体の構築

目的の動物用モノクローナル抗体をコードする遺伝子の由来が明確になるよう、遺伝子発現構成体作製について、遺伝子の入手方法、作成の経緯、構造等を記載する。

- ・細胞基材の樹立

マスター・セル・バンク (MCB) 及びワーキング・セル・バンク (WCB) 作製の経緯を記載するとともに、それらの管理方法として、①特性解析試験及び純度試験の試験項目、分析方法、管理基準、②保存方法及び保存中の安定性に関する情報、③更新方法等を記載する。ヒトや動物用医薬品生産への応用実績がない新規の細胞株を用いる場合には、細胞選択の経緯、樹立方法等について情報を示し、その妥当性を示す必要がある。

- ・培養及び精製方法

原材料、品質に影響を及ぼす可能性のある試薬類、重要工程、重要中間体、主要な装置、重要工程パラメータ（温度、pH、時間等）等を適切に記載する。特別な機能を有する装置のうち、生産培養用のバイオリアクターやカラム等品質に影響及ぼす機器に関してはその性能、容量等情報を記載する。工程内管理試験を設定した重要工程については、その分析方法、適否の判定基準を記載する。また、単離・保存される重要中間体が設定されている場合は、保存条件及び保存期間を記載する。さらに、重要中間体について工程内管理試験が設定されている場合は、その試験項目、分析方法、適否の判定基準を記載する。

- ・ウイルス安全性

必要に応じて実施する細胞株における内在性ウイルス及び外来性ウイルス試験、未加工・未精製バルクにおける外来性ウイルス試験、精製工程に関するウイルスクリアランス評価に関する情報を記載する。

- ・プロセスコントロール

操作パラメータの管理や工程内管理試験やプロセス・パラメータのモニタリング等を適切に記載する。また、製造工程には本来存在しないはずの外来性の微生物、化学物質や生化学的な物質等の混入に対する防止策を講ずるとともに、必要に応じて、適切な段階で混入汚染物質に対する工程内管理試験又はモニタリングを設定し、記載する。

Q2. 目的物質の高次構造に関する解析は必要か。

A. 目的物質の高次構造に関する解析は製剤の品質の恒常性を確保する上で

有用であるが、一次構造と生物学的試験（バイオアッセイ）を組み合わせることにより品質の恒常性を立証することができれば、目的物質の高次構造の検証は必ずしも必要としない。ただし、高次構造解析が可能であれば、特性解析の一環として実施することは有用であり、製法変更前後での比較にも活用できる。

Q3. 生物活性の測定にはどのような方法があるのか。

A. 生物活性の測定に用いられる方法の例としては、以下のようなものが挙げられる。

- ・ 動物を用いるバイオアッセイ - 製品に対する生体の生物学的応答を測定する。
- ・ 培養細胞を用いるバイオアッセイ - 細胞レベルでの生化学的又は生理学的応答を測定する。
- ・ 生化学的試験 - 酵素反応速度の解析による生物活性の測定や、免疫学的相互作用により引き起こされる生物学的応答を測定することなどが含まれる。
- ・ その他、リガンド－レセプター結合試験のような試験方法が活用できる場合もある。

Q4. 免疫化学的性質を検証する必要はあるか。

A. 動物用モノクローナル抗体医薬品の品質評価において、抗原との結合性などの抗体としての性質が免疫化学的性質であり、生物活性の評価が免疫化学的性質の評価に該当するため、さらに検討する必要はない。

Q5. 標的分子のエピトープの検証は必要か。

A. 標的分子のエピトープの検証は目的物質の作用機序の解明に有用で、開発段階で実施されることはあるが、特性解析においては必ずしも実施しなければならない項目ではない。ただし、標的分子における抗体の結合部位が意図した薬理作用に関わる部位であることについては、抗体の結合による生じる応答（リガンドと受容体の結合阻害等）を評価することで、明らかにする必要がある。

Q6. 目的物質の分子変化体とはどのようなものが含まれるか、それらが目的物質関連物質であるか不純物であるかの区別方法はあるか。

A. 目的物質の分子変化体としては、凝集体、切断体、糖鎖非修飾体、グリケーション体、ジスルフィド結合形成不全体、シグナルペプチド残存体、H鎖C末端リシン欠失体、メチオニン残基の酸化体、アスパラギン残基の脱アミド体、アスパラギン酸残基の異性化体等が知られている。構造及び物理化学的性質の解析において検出されたこれらの分子変化体に

ついて、クロマトグラフィー等による分取と活性測定が可能であれば、それぞれの分子変化体の活性とその割合を明らかにすることができる。目的物質に匹敵する品質特性を持つ目的物質関連物質であるか、目的物質に匹敵する品質特性を持たない目的物質由来不純物であるかの区別は、生物活性の他に体内動態や安全性等も考慮したリスクアセスメントにより判断することが望ましい。

Q7. 不純物とはどのようなものが含まれるか。

A. 不純物として想定されるものには、製造工程に由来するものもあれば目的物質に由来するものもある。製造工程に由来する不純物、すなわち「製造工程由来不純物」には、細胞基材に由来するもの（例えば、宿主細胞由来タンパク質、宿主細胞由来 DNA）、細胞培養液に由来するもの（例えば、インデューサー、抗生物質、培地成分）、または細胞培養以降の工程である目的物質の抽出、分離、加工、精製工程に由来するもの（例えば、細胞培養以降の工程に用いられる試薬・試液類、クロマトグラフィー用単体からの漏出物）がある。一方、「目的物質由来不純物」とは、目的物質の分子変化体（例えば、前駆体、製造中や保存中に生成される分解物・変化物）で、生物活性、有効性及び安全性の点で目的物質に匹敵する特性を持たないものである。これら不純物には、構造が明らかにできるもの、部分的に特性解析できるもの、同定できないものなどがある。

Q8. 「目的物質」及び「目的物質関連物質」とは何か。

A. 「目的物質」は、①予期した構造を有するタンパク質、②DNA 塩基配列から期待されるタンパク質、③しかるべき翻訳後修飾（グリコフォームの生成を含む）から期待されるタンパク質、及び④生物活性分子を生産するのに必要な、意図的な加工・修飾操作から期待されるタンパク質をいう。一方、目的物質関連物質は製造中や保存中に生成する目的物質の分子変化体で、生物活性があり、製品の安全性及び有効性に悪影響を及ぼさないものである。これらの分子変化体は目的物質に匹敵する特性を備えており、不純物とは考えない。

Q9. 科学的に妥当性のある規格及び検査方法を設定する際に考慮すべき点は何か。

A. 考慮すべき点は以下に挙げられる。

- ・ 製造工程を勘案すること
- ・ 原薬及び製剤の安定性を勘案すること
- ・ 非臨床試験及び臨床試験のデータを勘案すること。
- ・ 分析法を勘案すること。

以上挙げられた点の詳細については、「新動物用生物薬品（バイオテクノロジー応用医薬品／生物起源由来医薬品）の規格及び検査方法の設定（VICH40）」を参照する。

Q10. 検査方法を設定するうえで留意しなければならない事項は何か。

A. 留意すべき事項は、以下のようなものが挙げられる。

① 標準品及び標準物質

新たに開発される動物用モノクローナル抗体医薬品では公的な標準品が存在しないことが多く、その場合は有効性が確認された段階で特性解析を行い、承認申請時までに適切なロットを用い自家一次標準物質を確立する。標準物質は必要に応じ、かつ十分な解析を行ったうえで切り替えてもよい。生産ロットの試験には、自家一次標準物質をもとに検定した自家常用標準物質を用いることができる。適切な公的標準品が利用できる場合、これをもとに標準物質を検定する必要がある。生物学的試験及び物理化学試験の両方に同一の標準物質を使用することが望ましいが、別々の標準物質が必要な場合もある。標準物質については、調製法、規格、保存条件等を定め、申請書に記載する必要がある。

② 分析法バリデーション

承認申請する時までに、製剤の規格及び検査方法に採用した分析法について、VICH ガイドライン 1「分析法バリデーション：定義と用語に関するガイドライン」及び VICH ガイドライン 2「分析法バリデーション：方法論に関するガイドライン」に従ったバリデーションを完了すること。ただし、動物用モノクローナル抗体医薬品の分析に用いられる試験の特殊性によって前述の 2 つのガイドラインが適用しない場合は、この限りではない。

Q11. 確認試験における理化学試験、生物学的試験、免疫化学的試験に技術的にどのようにアプローチしていけばよいか。

A. 確認試験の技術的アプローチの一例を以下に示す。目的物質、原薬、製剤の特性に応じて以下の例やその他の適切な分析法を必要に応じて検討する。

① 理化学試験

i. ペプチドマップ

目的物質を適当な酵素等を用いて個々のペプチドに選択的に断片化し、得られたペプチド断片を高速液体クロマトグラフィー（HPLC）や他の適切な方法により分析する。これらのペプチド断片は、N 末端アミノ酸配列分析又は質量分析などの方法により、可能な範囲で同定することが望ましい。

402 ii. スルフィドリル基及びジスルフィド結合

403 目的物質をコードする遺伝子配列からシステイン残基があるとさ
404 れる場合、ペプチドマッピング（還元条件下及び非還元条件下）等
405 適切な分析法を用いて遊離スルフィドリル基あるいはジスルフィド
406 結合の評価を行う。

407 iii. 糖組成・糖鎖構造

408 糖タンパク質の場合には、糖組成や糖鎖構造、糖鎖結合部位等を
409 できる限り解析し、HPLC法や他の適切な方法によって糖鎖プロファ
410 イル分析を行う。

411 iv. 電気泳動パターン

412 分子量・分子サイズやアイソフォームパターンを、ポリアクリル
413 アミドゲル電気泳動、等電点電気泳動、SDS-PAGE、ウエスタンブ
414 ロット、キャピラリー電気泳動などの適切な方法により測定する。

415 v. 液体クロマトグラフィーパターン

416 分子量・分子サイズやアイソフォームパターンを、サイズ排除ク
417 ロマトグラフィー、逆相液体クロマトグラフィー、イオン交換液体
418 クロマトグラフィー、アフィニティクロマトグラフィー、その他の
419 適切な方法により測定する。

420 ② 生物学的試験、免疫化学的試験

421 生物活性を評価する上で検討された以下の例のような分析法により、
422 目的物質の特異的な反応を検出する。

423 i. 動物を用いるバイオアッセイ

424 製品に対する、生体における生物学的の特異的な応答の有無を測定す
425 る。

426 ii. 培養細胞を用いるバイオアッセイ

427 製品に対し、特異的に反応する細胞を用いて生化学的又は生理学的応
428 答の有無を測定する。

429 iii. 生化学的試験

430 酵素反応速度や、免疫学的相互作用により引き起こされる生物学的応
431 答の有無を測定する。

432 iv. 免疫化学的試験

433 特性解析された抗体の免疫学的性質を用い、目的物質の特異的な結
434 合反応の有無をELISA、ウエスタンブロット、フローサイトメトリ
435 ー、その他適切な方法により検出する。

436
437 Q12. 力価の評価方法についての考え方及び試験設計における留意点は。

438 A. 医薬品における力価とは、当該医薬品の生物学的性質に関連する特性に
439 基づく作用を定量的表す尺度である。抗体医薬品の力価はその作用機序
440 から大きく二つに分けられる。一つは、抗体とその目的物である抗原との

結合自体が当該医薬品の作用機序の本態となっており、結合活性と有効性が相関する場合である。もう一方は、抗体の結合活性の高さよりもむしろ、結合後に引き起こされる生物学的カスケード反応によって効果を発揮する場合である。このように、抗体医薬品の作用機序によっては、抗体の結合活性とバイオアッセイによる測定結果は、相関性が低い場合もある。抗体医薬品の作用機序に応じてその力価測定法は異なるため、抗体医薬品それぞれに適した方法で収集されたデータを示すべきである。力価の評価に結合活性よりもバイオアッセイを用いる場合は、その妥当性を示す必要がある。なお、力価測定に用いられる生物活性が臨床上期待される作用と同様あるいは類似のものである必要は必ずしもない。しかしながら、臨床上期待する作用とバイオアッセイにおける測定結果の関係性は、薬力学的試験において示され、臨床試験において検証される必要がある。

・結合特性を指標とする力価試験での留意事項

標的分子との結合特性解析には、ELISA や表面プラズモン共鳴解析等が使用される。公的標準品が利用可能な場合には、標準品を基準に検定した活性を評価できるが、公的標準品がない場合には特性解析した「自家標準物質」を確立しておく（Q10 の A①を参照）。

・抗体の機能的特性による力価試験での留意事項

抗体医薬品の機能的特性による評価で用いる試薬、細胞株については、当該試験における公的標準品や標準的試験法がすでに存在する場合にはそれらを応用すべきである。既存の標準的試験法を直接使用することができなければ、当該抗体医薬品と公的標準品との競合的アッセイのような様式で応用、工夫してもよい。

試験に用いる公的標準品や標準的試験法が存在しない場合やそれらでは十分に検討できない場合、入手可能な市販の、あるいは分与された試薬などを調整して独自に試験を構築してもよい。ただし、開発期間中はそのような入手可能な試薬や細胞株を用いても良いが、これら試薬や細胞株の製造ロットが切り替えられる際の同等性が担保できない場合、あるいは、それら市販試薬の販売寿命や細胞株の入手許認可に不安が残る場合には、承認申請までに自前の試薬や細胞株を用いた試験を準備することが望ましい。

力価試験に用いる細胞株を申請者が独自に樹立した場合、その細胞株はバンク化することが望ましい。また、承認審査の段階でその細胞株が安定的に使用できる状況になっていなければならない。よって、その細胞株はしるべき機関に寄託されたもの／されるものであることが望ましい。寄託できない場合には、承認審査時の必要に応じて使用できる状態にしておくなくてはならない。

480 Q13. 製剤の不純物の規格値と試験方法はどうか設定すればよいか。

481 A. 製剤の不純物の規格値と分析方法は、製剤についてのそれまでの経験に
482 基づき、製剤の製造中あるいは保存中の変化を測定できるよう設定し、
483 かつその設定根拠及び妥当性を示す必要がある。

484
485 Q14. 製剤の純度試験の試験方法の選択及び最適化の際の重点は何か。

486 A. 製剤の純度試験の選択及び最適化に際しては、目的物質及び目的物質関
487 連物質を、分解物・変化物を含めた不純物及び添加剤から分離すること
488 に重点を置くべきである。

489

490	動物用モノクローナル抗体医薬品の対象動物に対する安全性評価に関する
491	指針（素案）
492	
493	目次
494	第1章 緒言
495	第1 目的
496	第2 背景
497	第3 適用対象
498	第4 一般原則
499	第2章 動物用モノクローナル抗体医薬品の安全性試験に関する指針
500	第1 生物学的活性/薬力学
501	第2 動物種/モデルの選択、動物数/性別
502	第3 投与経路/投与量
503	第4 免疫原性
504	第5 曝露評価
505	第6 単回投与毒性/安全性試験
506	第7 反復投与毒性試験/安全性試験
507	第8 免疫毒性試験
508	第9 繁殖成績と発生毒性試験
509	第10 遺伝毒性試験
510	第11 がん原性試験
511	第12 局所刺激性試験
512	

第 1 章 緒言

第 1 目的

本指針（案）は、動物用モノクローナル抗体医薬品の開発及びその製造販売承認を申請するために必要な対象動物に対する安全性評価に関する一般的な原則を明らかにしたものである。なお、食用動物における畜産物を介した人への安全性評価に関しては本指針（案）の適用対象としない。

第 2 背景

生体が持つ免疫システムの主役である抗体を主成分とした動物用モノクローナル抗体医薬品は、標的分子に対して高い特異性を有するよう設計されており、非標的分子に結合する可能性は極めて低く、効果的な治療薬として注目を浴びている。人用のモノクローナル抗体医薬品はすでに多く市販されている一方、日本の動物薬分野では、従来の免疫血清等、生物学的製剤の血清類として承認されたものが少数あるのみであった。最近、バイオテクノロジー応用医薬品（以下「バイオ医薬品」という。）として、イヌ化抗イヌインターロイキン 31 モノクローナル抗体製剤が犬のアトピー性皮膚炎治療薬として承認された。また、牛伝染性リンパ腫や犬のがん治療のための免疫チェックポイント阻害薬など、モノクローナル抗体医薬品に関する研究開発が進められている。一方、動物用バイオ医薬品の製造販売承認申請に求められる安全性評価の指針がないため、人用医薬品の指針である ICH GL がガイドとして参照されているが、人用医薬品と動物用医薬品では状況が異なるためその適用が困難である。このような指針は、申請者にとって製品開発に有用であり、規制当局にとっても承認申請の審査に有用である。ここではバイオ医薬品の内、動物用モノクローナル抗体医薬品について、その開発及び普及に繋がるよう、当該医薬品の特性を踏まえた対象動物に対する安全性確保等のための指針を示す。

動物用モノクローナル抗体医薬品は、その標的分子への作用機序及び抗体の性質によって医薬品ごとに評価すべきであり、本指針（案）は、作成時点において科学的に受け入れ可能な一般的な原則を明らかにすることを目的としているが、その評価については、最新の科学的知見に基づいた当該動物用モノクローナル抗体医薬品の特性に応じた評価が必要である。また、標的分子の機能、抗体の効果、ならびに対象とするり患動物における効力を反映し検討すべきである。

第 3 適用対象

本指針はモノクローナル抗体又はその断片を主剤とする動物用医薬品を適用対象とする。（解説書 Q1「本指針の適用対象となる動物用モノクローナル抗体医薬品にはどのようなものがあるか。」参照）

抗体に低分子医薬品（ペイロード）を結合させた抗体薬物複合体（Antibody-Drug Conjugates、ADC）については本指針（案）の対象外とする。

第4 一般原則

動物用医薬品の製造販売承認申請における安全性試験は「動物用医薬品の安全性試験の実施に関する基準（以下「GLP」という。）」に適合して実施されることが求められる。そのような開発試験実施前に、標的分子と当該動物用モノクローナル抗体に関して、文献情報、分子工学、結合特性に関する *in vitro* 解析、*in silico* による標的分子に対するホモログ検索、*in vivo* 探索試験等により潜在的なリスクについて事前に十分に検討する必要がある。

安全性評価においては、対象動物を用いた吸収・分布・代謝・排泄（以下「ADME」という。）試験、薬物動態・薬力学（以下「PK/PD」という。）、及び臨床試験から得られる情報についても十分に活用すべきである。これらの情報は、試験設計及び結果の解釈を含め、申請する動物用モノクローナル抗体医薬品の安全性評価の詳細及び全体を説明するために包括的に活用することができる。

動物用モノクローナル抗体医薬品は適用対象動物種に種特異化していることが一般的である。人用医薬品で通常実施される非臨床の毒性試験は、その結果を人に外挿するにはケースごとに個別に検討する必要があるが、動物用医薬品においては直接、対象動物を用いて非臨床の研究を行うことができる。これにより人での第Ⅰ相試験に相当する安全性評価に対応することができる。動物用医薬品においても代替動物を用いるとの考え方もありうるが、低分子化合物で行われる通常のげっ歯類等を用いた毒性試験では、種の違いから被験薬が代替動物の標的分子に結合せず（薬理学的作用なし）、対象動物を用いた試験で得られる以上の情報を得ることはできないと考えられる。いずれの方針にせよ、実施に際してはその意義について十分検討する必要がある。なお、本指針は畜産物の安全性評価を対象外としているため、残留評価を目的とする毒性試験に関しては必要に応じて別途検討すべきである。

第2章 動物用モノクローナル抗体医薬品の安全性試験に関する指針

第1 生物学的活性/薬力学

動物用モノクローナル抗体医薬品は、その標的分子、動物種、抗体クラス、作用機序等によって、その生物学的活性や薬理学的作用が多岐にわたるため、その安全性評価は、免疫機能への影響や、意図しない間接的な効果も含め、その抗体に応じた潜在的なリスク評価を行うべきである。安全性評価に当たっては、文献情報、*in silico*、*in vitro*、実験室内 *in vivo* 試験等からの科学的知見を考慮した上で、対象動物安全性（以下「TAS」という。）試験の評価指

標に反映する。(解説書 Q2「安全性評価指標の設定に当たって考慮すべき事項は？」参照)

その製品のどの作用が臨床活性と関連しているか明らかにするための *in vitro* 定量法により、生物学的活性を評価することができる。抗原特異性、補体結合性及び標的組織以外の組織に対する意図しない反応性(オフターゲット効果) 及び細胞毒性などを含めて、その抗体の免疫学的特性について詳細に検討されなければならない。また、*in vivo* では対象動物を用いた PK/PD 試験や ADME 試験により検討可能である。

試験に用いる被験薬 (IVP) は通常、試験の目的に応じ、原薬 (すなわち、動物用モノクローナル抗体) あるいは製剤 (市販剤型) を用いる。

第 2 動物種/モデルの選択、動物数/性別

動物用モノクローナル抗体医薬品は通常、適用対象となる動物種に適合するよう種特異化されているため、対象動物を用いた試験が評価に最も適していると考えられる。動物用医薬品の場合、直接対象動物において評価可能であり、TAS 試験を実施することによって安全性評価のための一定の情報が得られる。TAS 試験の実施に当たって、供試動物、動物数/性別の選択は、「動物用生物学的製剤を除く動物用医薬品の対象動物安全性試験 (VICH GL43)」に準拠すべきである。(解説書 Q3「TAS 試験を実施する際の一般的な動物数/性別は？」参照) なお、TAS 試験は原則として健常動物を用いた評価であり、り患動物における安全性に関しては臨床試験において評価する。

第 3 投与経路/投与量

TAS 試験を実施する際の投与経路、投与量及び投与期間は原則して VICH GL43 に準拠して設定する。通常、予定される臨床適用経路及び用量に基づいた試験設計が行われるが、用量/薬力学反応関係の特性を考慮して、用量設定の理論的根拠を示した上で、投与量を設定する必要がある。(解説書 Q4「TAS 試験を実施する際の具体的な投与経路/投与量、投与期間は？」参照)

第 4 免疫原性

動物用モノクローナル抗体医薬品は対象動物において免疫原性が生じないように設計されているが、免疫反応が誘導される(抗薬物抗体(「ADA」)の産生) 可能性は否定できない。ADA は安全性だけでなく有効性に関しても重要な懸念事項の一つである。そのため、動物用モノクローナル抗体医薬品において ADA 評価は必須であるが、TAS 試験実施時に適切な検体を採用しておくことができれば、ADA 評価のためだけに別の動物試験を実施する必要はない。ただし、対象動物における ADA 陽性率は一般に低率であることが予想されるため、できるだけ多数の検体を用いた評価が有用であることから、PK 試験、有効性試験や臨床試験等、TAS 試験以外の試験に関しても

対象動物を用いた試験を行う際には ADA の測定が可能になるよう適切な検体を採取しておくべきである。

検出された ADA に関して、その反応特性（例えば、力価、抗体応答率、中和活性）を明らかにし、また、有効性及び安全性との関連性について検討しなければならない。ADA が検出された場合には、試験結果の解釈や有効性・安全性に与える影響を評価する必要がある。（解説書 Q5「免疫原性の評価にはどのようなデータが必要か。」、Q6「ADA 評価にあたっての留意事項は？」参照）

第 5 曝露評価

各動物用モノクローナル抗体医薬品で一律のガイドラインを設定することは困難であるため、下記の点に留意した上で個々の動物用モノクローナル抗体医薬品で独自に設定してよい。ただし、薬物動態試験や薬効薬理試験で代用できるため、曝露試験を独立して実施する必要はない。

薬物動態試験には可能な限り最終製剤を用いて予定臨床投与経路で実施する。特に、静脈内経路以外の場合、生物学的利用率を示す試験の実施が推奨される。

り患動物における臨床試験に先立って、暴露量及び投与用量に基づく安全域を予測するため、適切な動物モデルを用いた試験を実施し、吸収、血中濃度及びクリアランスに関する情報がある程度得られていなければならない。

動物用モノクローナル抗体医薬品の体内挙動及び結合タンパク質が及ぼしうる影響について示さなければならないが、動物用モノクローナル抗体には内因性タンパク質のクリアランス機構が当てはまることから、通常の一般薬で求められるような生体内分解の機構について検討する必要はない。

第 6 単回投与毒性/安全性試験

単回投与毒性/安全性試験は、用量と全身又は局所毒性/安全性との関連性を明らかにする有益なデータ が得られる場合があるので、対象動物による TAS 試験を実施する前にげっ歯類を用いてまず実施することが必要であるが、生体に対して毒性が明確なものが残留していないことを別途確認している場合には、それを実施する必要はない。また、対象動物を用いて実施しても良いが、その場合、検討する項目は、り患動物の選択、管理、そして臨床適適切な決断を下すために必要な情報を規定し、それらを示すもの、あるいは特性解析したものでなければならない。TAS 試験で同様のパラメーターを設定していれば、そのデータを用いても良い。方法と評価項目は、得られた知見の本質を考え、妥当性のある提案になるよう系統立てて選択されなければならない。

単一の試験で複数の目的を達成しようとする場合、それぞれの要因と結

果が交絡することがないように注意しなければならない。交絡する可能性がある場合には別々に試験を実施しなければならない。(解説書 Q7「対象動物が食用に供する動物の場合は、どのガイドラインの試験を準用するのか。」参照)

第 7 反復投与毒性試験/安全性試験

TAS 試験でカバーできる場合には新たな試験は必要ない。

第 8 免疫毒性試験

免疫毒性学的評価には、免疫原性の可能性に関する評価も含まれる。その基本的な考え方は ICH-S8 に準拠する。評価の際には、免疫系が標的器官で治療効果を示す「免疫薬理 (immunopharmacology)」、自己免疫または免疫抑制などの非標的免疫作用を指す「免疫毒性 (immunotoxicity)」、そして薬剤に対する免疫反応を指す「免疫原性 (immunogenicity)」を区別することが重要である。本項では免疫毒性について検証する。

多くの抗体医薬品はその作用として免疫系の調節（亢進又は抑制）を目的としているため、スクリーニングレベルの形態学的病理評価と機能的応答を示すことによりその調節作用を実証することが適切な場合もある。

免疫毒性試験は、安全性評価に適切な情報で、かつり患動物を管理する臨床獣医師にとって意味のある情報を提供できるように設計して実施されなければならない。その際、体液性免疫のみならず細胞性免疫の反応を検討しておかなければならない。

通常の投与方法以外の方法を用いる製剤の場合（静脈注射や噴霧など）、免疫毒性学的試験の計画には、その作用機序にあわせた適切な試験を実施しなければならない。(解説書 Q8「免疫毒性学的評価はどのように行えばよいか。」、Q9「自己免疫疾患を誘発する可能性はないが、それでも検証は必要か。」、Q10「動物用モノクローナル抗体医薬品と標的抗原の結合による直接的作用、および動物用モノクローナル抗体医薬品と標的抗原の結合物（抗原抗体結合物）による二次的な作用(例えば、抗原抗体複合物の組織沈着など)についてはどのように評価すべきか。」参照)

第 9 繁殖成績と発生毒性試験

動物用モノクローナル抗体医薬品の薬理作用上、生殖発生毒性がその既知の薬理作用から理論上想定される場合、対象動物を用いた生殖発生毒性試験を実施しなければならない。ただし、それは繁殖目的とする動物に使用する場合にのみ必要とする。

生殖発生毒性に影響を及ぼす可能性の評価について、科学的根拠を明らかにしなければならない。(解説書 Q11「投与する動物用モノクローナル抗体医薬品が母体ではなく、新生子に影響を与える可能性がある場合、どのよう

に評価すればよい。」、Q12「どのような試験を具体的に実施すべきか。」参照)

動物用モノクローナル抗体医薬品にも VICH GL43 における規定を適用する。繁殖や発生に関して潜在したリスクがあるにも関わらず、それを示すデータが無い場合あるいは理論上取得できない場合には、その使用が推奨されないことをその製品情報に記載しなければならない。

生殖発生毒性がその薬理作用から理論上想定されない場合、あるいは、ヒトやマウスを含めた既知のデータからそれが起こり得ない場合にはその正当な根拠を示すことで本試験を検討する必要はない。

細菌及びウイルスなどの外来異物を標的にした感染症医療を目的とする抗体医薬の場合、発生毒性が特別に懸念されない限り、一般的には発生毒性試験は実施しなくてよい。

第 10 遺伝毒性試験

従来の医薬品について通常実施されてきた遺伝毒性試験の範囲と種類は、動物用モノクローナル抗体医薬品に対しては適切なものでなく必要ではない (ICH-S2(R1)参照)。

遺伝毒性について懸念のある動物用モノクローナル抗体医薬品 (例えば、DNA や染色体をその結合対象としたもの) では、実施可能かつ適切な試験系を開発して行う必要がある。

理論上、DNA や染色体成分に作用を及ぼさないのであれば、実施する必要はない。(解説書 Q13「通常の遺伝毒性試験がなぜ動物用モノクローナル抗体医薬品に対して不適なのか。」参照)

第 11 がん原性試験

動物用モノクローナル抗体医薬品においては、標準的ながん原性試験は一般的に不適當であるが、臨床での投与期間、り患動物群、その生物学的活性 (例えば、増殖因子、免疫抑制剤等) によっては個別にがん原性の評価を行う必要がある。

in vitro 試験の結果から、あるいは理論上がん原性に対する懸念がある場合は、リスク評価のために対象動物への投与を含めた種々の試験方法を検討しなければならない。(解説書 Q14「動物用モノクローナル抗体医薬品におけるがん原性試験はどのように実施すればよいか。」、Q15「動物用モノクローナル抗体医薬品に腫瘍性増殖効果があることが懸念される場合、どのような検討を実施すればよいか。」、Q16「対象動物以外にげっ歯類に対しても有効性が認められるモノクローナル抗体医薬品については、げっ歯類のデータが揃っている場合、がん原性評価もげっ歯類で行ってよいか。」参照)

対象動物への投与試験においては用量設定の理論的根拠を示さなければならない。

747 理論上、がん原性が想定できない場合、実施する必要はない。

748 作用機序に基づいてがん原性が懸念される場合（例えば免疫抑制作用）、
749 がん原性の懸念が裏付けられる場合、評価系の実施が困難な場合には添付文
750 書などへの反映や臨床でリスク管理を行うことで現状での対処法としても
751 よい。

752 臨床候補品のがん原性評価において、げっ歯類用モノクローナル抗体医薬
753 品を用いてげっ歯類におけるがん原性試験（又は短期がん原性試験）を実施
754 する意義は概して限定的であり、とくに必要性がない限り実施しなくてもよ
755 い。

756
757 第 12 局所刺激性試験

758 TAS 試験で確認できる場合には新たな試験は必要ない。

759

動物用モノクローナル抗体医薬品の安全性評価に関する指針
解説書（素案）

- Q1. 本指針の適用対象となる動物用モノクローナル抗体医薬品にはどのようなものがあるか。
- A. 現在までに日本で承認されている動物用モノクローナル抗体医薬品は、2019年5月に承認されたインターロイキン（IL）31をターゲット（標的分子）とする犬アトピー性皮膚炎の治療薬であるイヌ化抗イヌ IL-31モノクローナル抗体（国際一般名称：Lokivetmab、ロキベトマブ）を主剤とする製品のみである。現時点で動物用に開発が進められているものとして、牛伝染性リンパ腫や犬のがん治療のための免疫チェックポイント阻害薬（キメラ抗体）も適用対象である。この他、CD20等を標的とする腫瘍排除、IL-4等受容体を標的とする免疫抑制、TNF- α 等を標的とする液性因子排除、IgE産生細胞B細胞を標的とする細胞排除の作用を持つモノクローナル抗体が考えられる。参考に、モノクローナル抗体医薬品の主な作用機序と、これまでに日米欧で承認された人用モノクローナル抗体医薬品を図1及び表1に示す。なお、モノクローナル抗体の国際一般名称の命名法では、抗体の標的分子によってサブシステムが決められている（例えば、インターロイキンであれば、“-k(i)-”）。この命名法に従うと動物用モノクローナル抗体のプレシステム/システムは常に“-vet/-mab”になる。

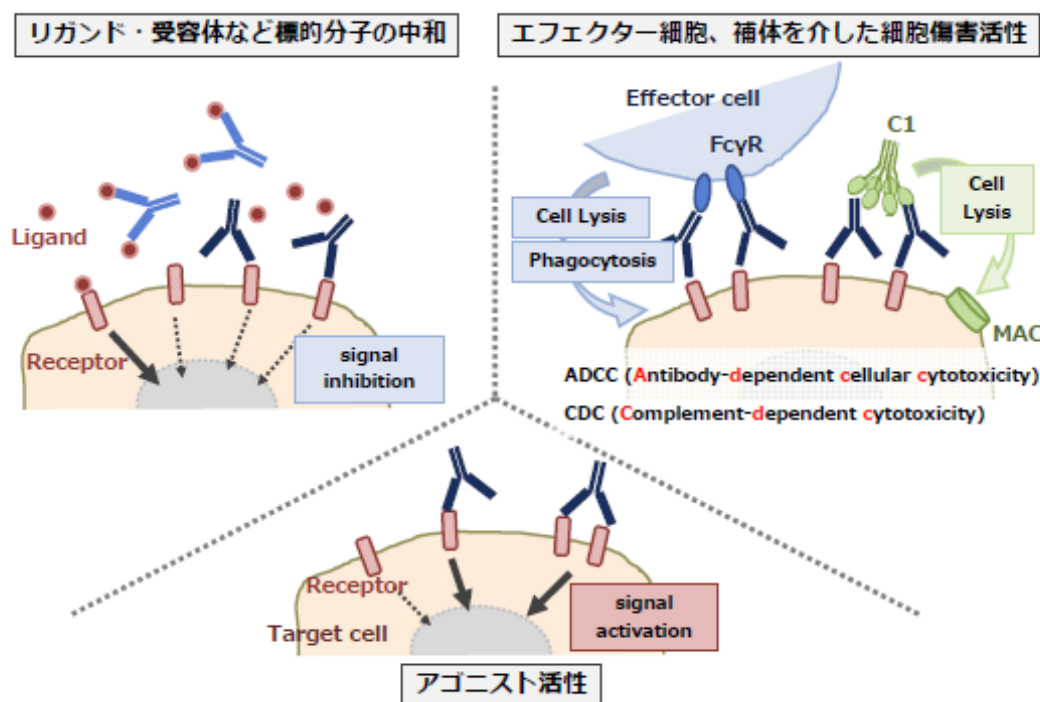


図1. モノクローナル抗体医薬品の主な作用機序

783 (出典：抗体医薬品・Fc 融合タンパク質，国立医薬品食品衛生研究所 生物薬品
784 部編)
785 表 1. これまでに日米欧で承認された人用モノクローナル抗体医薬品

2019年5月1日 国立医薬品食品衛生研究所 生物薬品部									
分類	名称	商品名	構造	標的	主な適応疾患	承認年			産生細胞
						US	EU	Japan	
マウス抗体									
	muromonab-CD3	Orthoclone OKT3	IgG2a	CD3	腎移植後の急性拒絶反応	1986	NA	1991	mouse hybridoma
	ibritumomab tiuxetan	Zevalin yttrium	IgG1κ (MX-DTPA: ⁹⁰ Y 標識)	CD20	B細胞性非ホジキンリンパ腫	2002	2004	2008	CHO
		Zevalin indium	IgG1κ (MX-DTPA: ¹¹¹ In 標識)		イブリットマブ チウキセタンの集積部位の確認			2008	CHO
	iodine 131 Tositumomab	Bexxar	IgG2aλ (¹³¹ I 標識)	CD20	非ホジキンリンパ腫	2003	NA	NA	mammalian cell
	catumaxomab	Removab	mlgG2aκ (EpCAM), rlgG2bλ (CD3)	EpCAM, CD3	癌性腹水	NA	2009	NA	rat/mouse hybridoma
	blinatumomab	Blinicyto	scFv-scFv	CD19, CD3	急性リンパ性白血病	2014	2015	2018	CHO
	moxetumomab pasudotox	LUMOXITI	Fv+Pseudomonas exotoxin	CD22	有毛細胞白血病	2018	NA	NA	E. Coli
キメラ抗体									
	abciximab	ReoPro	IgG1 (Fab)	GP1Ib/IIa	心筋虚血	1994 (各国)	NA	NA	mammalian cell
	rituximab	Rituxan/MabThera	IgG1κ	CD20	B細胞性非ホジキンリンパ腫	1997	1998	2001	CHO
	basiliximab	Simulect	IgG1κ	CD25	腎移植後の急性拒絶反応	1998	1998	2002	Sp 2/0
	infliximab	Remicade	IgG1κ	TNFα	関節リウマチ	1998	1999	2002	Sp 2/0
	cetuximab	Erbixut	IgG1κ	EGFR	頭頸部癌、結腸・直腸癌	2004	2004	2008	Sp 2/0
	brentuximab vedotin	Adcetris	IgG1 (MMAE 修飾)	CD30	ホジキンリンパ腫	2011	2012	2014	CHO
	siltuximab	Sylvant	IgG1κ	IL-6	キャッスルマン病	2014	2014	NA	CHO
	dinutuximab	Unituxin	IgG1κ	GD2	神経芽細胞腫(小児)	2015	2015	NA	Sp 2/0
	obiltoxaximab	Anthim	IgG1κ	B. anthracis toxin	吸入炭疽	2016	NA	NA	
ヒト化抗体									
	dacizumab	Zenapax, Zinbryta	IgG1κ	CD25	腎移植後の急性拒絶反応、多発性硬化症	1997	1999	NA	NS0
	palivizumab	Synagis	IgG1κ	RSV F protein	RSウイルス感染	1998	1999	2002	NS0
	trastuzumab	Herceptin	IgG1κ	HER2	転移性乳癌	1998	2000	2001	CHO
	gemtuzumab ozogamicin	Mylotarg	IgG4κ (カリケアマイシン修飾)	CD33	急性骨髄性白血病	2017 efusec	2005		NS0
	alemtuzumab	Campath	IgG1κ	CD52	B細胞性慢性リンパ性白血病	2001	2001	2014	CHO
	omalizumab	Xolair	IgG1κ	IgE	喘息	2003	2005	2009	CHO
	efalizumab	Raptiva	IgG1κ	CD11	尋常性乾癬	2003	2004	NA	CHO
	bevacizumab	Avastin	IgG1κ	VEGF	結腸・直腸癌	2004	2005	2007	CHO
	natalizumab	Tysabri	IgG4κ	α4integrin	多発性硬化症	2004	2006	2014	NS0
	tocilizumab	Actemra	IgG1κ	IL-6R	キャッスルマン病、関節リウマチ	2010	2009	2005	CHO
	ranibizumab	Lucentis	IgG1κFab	VEGF-A	加齢黄斑変性	2006	2007	2009	E.Coli
	eculizumab	Soliris	IgG2/4κ	C5	発作性夜間ヘモグロビン尿症	2007	2007	2010	NS0
	certolizumab pegol	Cimzia	Fab+PEG	TNFα	関節リウマチ、重症クローン病	2008	2009	2012	E.Coli
	mogamulizumab	Poteligeo	IgG1κ (糖鎖改変)	CCR4	CCR4陽性成人T細胞白血病リンパ腫	2018	2018	2012	CHO
	perfluzumab	Perjeta	IgG1κ	HER2	HER2陽性手術不能または再発乳癌	2012	2013	2013	CHO
	trastuzumab emtansine	Kadcyla	IgG1κ (メイトンシン修飾)	HER2	HER2陽性転移・再発乳癌	2013	2013	2013	CHO
	obinituzumab	Gazyva	IgG1κ (糖鎖改変)	CD20	慢性リンパ性白血病	2013	2014	2018	CHO
	vedolizumab	Entyvio	IgG1κ	α4β7 integrin	クローン病	2014	2014	2018	CHO
	pembrolizumab	Keytruda	IgG4κ	PD-1	黒色腫	2014	2015	2016	CHO
	idarucizumab	Praxbind	IgG1 Fab	dabigatran	dabigatran (Pradaxa®) 中和	2015	2015	2016	CHO
	mepolizumab	Nucala	IgG1κ	IL-5	喘息	2015	2015	2016	CHO
	elotuzumab	Empliciti	IgG1κ	SLAMF7	多発性骨髄腫	2015	2016	2016	NS0
	ixekizumab	Taltz	IgG4κ	IL-17A	尋常性乾癬	2016	2016	2016	CHO
	reslizumab	Cinqair	IgG4κ	IL-5	喘息	2016	2016	NA	NS0
	atezolizumab	Tecentriq	IgG1κ (N298A)	PD-L1	尿路上皮癌	2016	2017	2018	CHO
	ocrelizumab	Ocrevus	IgG1	CD20	多発性硬化症	2017	2018	NA	CHO
	inotuzumab ozogamicin	BESPO NSA	IgG4κ (オゾガマイシン修飾)	CD22	急性リンパ性白血病	2017	2017	2018	CHO
	emicizumab	HEMLIBRA	IgG4κ (二重特異性)	FIXα, FX	血友病A	2017	2018	2018	CHO
	benralizumab	Fasenra	IgG1κ (糖鎖改変)	IL-5R α subunit	気管支喘息	2017	2018	2018	CHO
	galcanezumab	EMGALITY	IgG4	CGRP	偏頭痛	2018	2018	NA	CHO
	fremanezumab	AJOVY	IgG2κ	CGRP	片頭痛の予防	2018	2019	NA	CHO
	tildrakizumab	ILUMYA	IgG1κ	IL-23α (p19) subunit	乾癬	2018	2018	NA	CHO
	caplacizumab	CABLIVI	VH-linker-VH	von Willebrand factor	血栓性血小板減少性紫斑病	2019	2018	NA	E.Coli
	ibalizumab	TROGARZO	IgG4	CD4 domain 2	HIV-1 感染	2018	NA	NA	NS0
	ravulizumab	ULTOMIRIS	IgG2/4	C5	発作性夜間ヘモグロビン尿症	2018	NA	NA	CHO
	romosozumab	Evenity	IgG2κ	sclerostin	骨粗鬆症	2019	NA	2019	CHO
	risankizumab	Skyrizi	IgG1κ (Fc改変: 237Ala, 238Ala)	IL-23α (p19) subunit	乾癬	2019	NA	2019	CHO
ヒト抗体									
	adalimumab	Humira	IgG1κ	TNFα	関節リウマチ	2002	2003	2008	CHO
	panitumumab	Vectibix	IgG2κ	EGFR	結腸・直腸癌	2006	2007	2010	CHO
	golimumab	Simponi	IgG1κ	TNFα	関節リウマチ	2009	2009	2011	Sp 2/0-Ag14
	ustekinumab	Stelara	IgG1κ	IL12, IL23-p40	乾癬	2009	2009	2011	Sp 2/0
	canakinumab	Ilaris	IgG1κ	IL-1β	クリオピリン関連周期性症候群	2009	2009	2011	Sp 2/0-Ag14
	ofatumumab	Arzerra	IgG1κ	CD20	慢性リンパ性白血病	2009	2010	2013	NS0
	denosumab	Prolia/Xgeva Runmark	IgG2	RANKL	骨病変、骨粗鬆症	2010	2010	2012	CHO
	ipilimumab	Yervoy	IgG1κ	CTLA4	黒色腫	2011	2011	2015	CHO
	belimumab	Benlysta	IgG1λ	BlyS	全身性エリテマトーデス	2011	2011	2017	NS0
	raxibacumab	Raxibacumab	IgG1λ	B. anthracis toxin	吸入炭疽、肺炎炭疽	2012	NA	NA	murine cell
	ramucirumab	Cyramza	IgG1	VEGFR2	胃癌	2014	2014	2015	NS0
	nivolumab	Opdivo	IgG4	PD-1	悪性黒色腫	2015	2015	2014	CHO
	secukinumab	Cosentyx	IgG1κ	IL17-A	尋常性乾癬、関節症性乾癬	2015	2015	2014	CHO
	evolocumab	Repatha	IgG2	PCSK9	高コレステロール血症	2015	2015	2015	CHO
	alirocumab	Praluent	IgG1	PCSK9	高コレステロール血症	2015	2015	2016	CHO
	nectumumab	Portrazza	IgG1κ	EGFR	非小細胞性肺癌	2015	2016	NA	NS0
	daratumumab	Darzalex	IgG1κ	CD38	多発性骨髄腫	2015	2016	2017	CHO
	brodalumab	Lumicef, Siliq, Kyntheum	IgG2κ	IL17R	尋常性乾癬	2017	2017	2016	CHO
	olaratumab	Lartruvo	IgG1	PDGFR	軟部肉腫	2016	2016	NA	NS0
	bezlotoxumab	Zinplava	IgG1	C. difficile toxin B	クロストリジウム・ディフィシル感染症	2017	2017	NA	CHO
	avelumab	Bavencio	IgG1λ	PD-L1	メルケル細胞癌	2017	2017	2017	CHO
	durvalumab	Imfinzi	IgG1κ	PD-L1	尿路上皮癌	2017	2018	2018	CHO
	dupilumab	Dupixent	IgG4	IL-4Rα	アトピー性皮膚炎	2017	2017	2017	CHO
	bezlotoxumab	ZINPLAYA	IgG1κ	Clostridium difficile toxin B	クロストリジウム・ディフィシル感染症の再発抑制	2016	2017	2017	CHO
	quselkumab	TREMFA	IgG1λ	IL-23	尋常性乾癬	2017	2017	2018	CHO
	sarilumab	KEVZARA	IgG1κ	IL-6R α subunit	関節リウマチ	2017	2017	2017	CHO
	burosumab	CRYSVITA	IgG1κ	FGF23	X 染色体遺伝性低リン血症	2018	2018	NA	CHO
	erenumab	AIMOVIG	IgG2	CGRP receptor	偏頭痛	2018	2018	NA	CHO
	lanadelumab	TAKHZYRO	IgG1κ	kalikrein	遺伝性血管性浮腫	2018	2018	NA	CHO
	emapalumab	GAMIFANT	IgG1	IFNγ	血球貪食症候群	2018	NA	NA	CHO
由来を示すサブシステムを持たない抗体									
	cemiplimab	LIBTAYO	IgG4	PD-1	皮膚扁平上皮癌	2018	NA	NA	CHO

NA: Not approved (未承認)

(出典：抗体医薬品・Fc 融合タンパク質，国立医薬品食品衛生研究所 生物薬品
部編)

Q2. 安全性評価指標の設定に当たって考慮すべき事項は？

A. まず、その動物用モノクローナル抗体医薬品が対象とする疾患における標的分子の役割、対象動物種における標的分子の生理活性を十分に理解する必要がある。潜在的なリスクの同定には *in silico* によるホモログエピトープの検索が有用である。その上で、その動物用モノクローナル抗体医薬品を使用することによって生じる可能性のあるリスクを科学的知見に基づいて想定し、それらを動物試験においてどのように評価可能か検討して評価法を確立し、当該動物用モノクローナル抗体医薬品の特性に応じた試験計画・評価指標を設計する。Fc エフェクター機能、糖鎖特性及び製剤に含まれる不純物の影響等についても検討する必要がある。

Q3. TAS 試験を実施する際の一般的な動物数/性別は？

A. 獣医学的、動物福祉及び統計学的観点から、潜在的な安全性リスクを評価するための動物数を決定する。一般的には VICH GL43 に準拠して 1 群当たり 8 頭を用い、雌雄同率（各 4 頭/群）とすることが推奨されるが、各極の基準に応じて安全性評価が可能となる頭数を設定してもよい。試験期間の中間時点で剖検等により動物数が減少することが想定される場合には、それに応じた頭数に調整する。試験設計の制約から、統計解析のみでは潜在的な有害作用を検出して安全性の保証を行うことはできないため、獣医学的、毒性学的、及び統計学的原則を組み合わせた評価を行い、解釈すべきである。

Q4. TAS 試験を実施する際の具体的な投与経路/投与量、投与期間は？

A. VICH GL43 では、最高常用量群（1×）及びこの用量の複数倍の 2 段階群（3 倍及び 5 倍量群）を含めることが推奨されていることから、これを基準として、動物用モノクローナル抗体医薬品の特性に応じて試験用量を設定する。GL43 は低分子化合物である一般薬の安全性評価用 GL であるため、標的分子の中和等の動物用モノクローナル抗体医薬品の薬理作用に関する安全性を健常動物において評価するためには、より用量の幅を持たせる（10 倍量等）必要があるかもしれない。プラセボ又は無投与の陰性対照群を設定し、陰性対照群との比較によって評価する。投与は予定される使用条件で行うべきであり、複数の投与経路を申請する場合には、最も有害作用を生じやすい経路を選択すべきである。投与期間は、予定される最長の投与期間を超える期間とし、一般的には、予定される投与期間の 3 倍、最長 90 日までとする（例えば、単回投与では 3 回連続投与、7 日間毎日投与では 21 日間連続投与）。短期間の間欠投

与の場合には、推奨する間隔で3回投与する（例えば、週1回の場合、週1回を3週連続）。3ヵ月以上連続投与（例えば、慢性疾病に対して長期間の継続投与）を予定している場合は、最長6ヵ月までの長期投与試験、あるいはそれ以上が必要かもしれない。

Q5 免疫原性の評価にはどのようなデータが必要か。

A. 免疫原性評価のためには、動物用モノクローナル抗体医薬品を投与した対象動物の血清中において、動物用モノクローナル抗体医薬品に対する抗体（Anti-Drug Antibody、ADA）の有無を示すデータが必要である。In vivo 試験において ADA が検出され、かつ薬理作用の維持を実証する PD マーカーがない場合には、ADA の中和活性を解析する必要がある。ADA の中和活性は、競合 ELISA 法などによって ADA を検出する直接評価、あるいは ex vivo での生物活性試験と PK/PD 測定法を適切に組み合わせた間接的評価などが可能である。

（参考資料）

- Shankar et al.: Assessment and Reporting of the Clinical Immunogenicity of Therapeutic Proteins and Peptides – Harmonized Terminology and Tactical Recommendations. AAPS J, 16, 658-673 (2014)
- Guideline on immunogenicity assessment of therapeutic proteins – EMEA/CHMP/BMWP/14327/2006 Rev 1, December 2017
- Immunogenicity of Therapeutic Proteins - Developing and Validating Assays for anti-drug antibody Detection – FDA Guidance for Industry January 2019

Q6. ADA 評価にあたっての留意事項は？

A. 対象動物における ADA データを解釈する際には、抗体の産生が PK/PD 指標、副作用の発現率・重篤度、補体の活性化、又は新しい毒性作用の発現にどう影響するかについても考慮すべきである。また、免疫複合体の形成や沈着に関連して起こりうる病理学的変化の評価についても注意を払わなければならない。動物用モノクローナル抗体医薬品に対する免疫応答は変動しやすいため、ADA がデータの正当な解釈を妨げるものでない以上、重要な安全性の所見を抗体反応に起因するものとしてはならない。

Q7. 対象動物が食用に供する動物の場合は、どのガイドラインの試験を準用するのか。

A. 食品中残留動物用医薬品の安全性を評価する試験には、単回投与毒性試験が規定されていないため、食用に供する動物を対象としない動物用医薬品のための毒性試験法ガイドラインの急性毒性試験を準用する。

Q8. 免疫毒性学的評価はどのように行えばよい。

A. 標準的毒性試験の結果から免疫毒性の可能性について次の点に留意してまず評価を行う。1) 白血球、顆粒球、リンパ球の減少または増加などの血液学的変化、2) 免疫系器官の重量または組織像の変化（例えば、胸腺、脾臓、リンパ節、または骨髄の変化など）、3) 血清グロブリン濃度の変化（肝臓または腎臓への作用など）、4) 感染の発生率の増加、5) 腫瘍の発生率の増加。これら評価上の留意点および具体的な方法についてはICH S8を参照すること（げっ歯類を使用する試験は適宜、動物用モノクローナル抗体医薬品の適用対象動物に変更してよい）。さらに、注射部位における局所の炎症反応をみなければならない。注射による物理的外傷、あるいは動物用モノクローナル抗体医薬品の溶解液や添加物によって動物用モノクローナル抗体医薬品の作用とは異なる毒性が注射部位で起こることに注意して評価しなければならない。

Q9. 自己免疫疾患を誘発する可能性はないが、それでも検証は必要か。

A. 動物用モノクローナル抗体医薬品がターゲット分子に結合することによって、その分子の構造変化が起こることも推測される。その構造変化によってターゲット分子が異物として免疫系に認識され、自己免疫疾患を誘発する危険性がある。この危険性の有無について各動物用モノクローナル抗体医薬品の作用に基づいて適切な検証方法を考案しなければならない。あるいは、作用機序からそのような危険性が想定できない場合、あるいは自己抗体によってさらに効果発現が増強される場合には検証は必要ないが、その科学的妥当性については十分に説明しなければならない。

Q10. 動物用モノクローナル抗体医薬品と標的抗原の結合による直接的作用、および動物用モノクローナル抗体医薬品と標的抗原の結合物（抗原抗体結合物）による二次的な作用（例えば、抗原抗体複合物の組織沈着など）についてはどのように評価すべきか。

A. 治療対象動物の組織を用いた組織反応性試験で事前に検討することができる。また、TAS試験及び／又は臨床試験から得られた安全性データからも評価でき、それら意図しない二次作用が許容レベルであることを示すのに役立つ。

Q11. 投与する動物用モノクローナル抗体医薬品が母体ではなく、新生子に影響を与える可能性がある場合、どのように評価すればよい。

A. 食用に供する動物を対象としない動物用医薬品のための毒性試験法ガイドラインでは、まず催奇形性試験を実施し、生殖に悪影響が出ると疑われた場合に一世代生殖毒性試験をすることになっている。

Q12 どのような試験を具体的に実施すべきか。

A. VICH GL43 で示されている繁殖安全性試験を準用することを推奨する。

Q13. 通常の遺伝毒性試験がなぜ動物用モノクローナル抗体医薬品に対して不適なのか。

A. 標準的な遺伝毒性試験は「ICH-S2(R1)遺伝毒性試験」に定められているが、新規の低分子医薬品の試験に関するものであり、生物学的製剤は適用外とされている。これらの試験はあくまでも特定の物質に短期間暴露された際に起こりうる、細菌や細胞の DNA 損傷及びその損傷が固定化された遺伝的障害の検出を目的とした試験にすぎない。ある種のモノクローナル抗体医薬品では、自然発生の突然変異細胞が蓄積（例えば、選択的な増殖優位性が促進されることを介して）し、その結果、がん原性が生じることが懸念される。しかし、標準的な遺伝毒性試験はこのような条件を検出するにはデザインされていない。この問題に取り組むために既存のものに代わる *in vitro* 又は *in vivo* モデルが開発され、検討される必要があるだろうが、現時点においては開発されていない。また、核内の遺伝子をターゲットとした抗体医薬製品は現時点においては想定できないため、本試験の必要性もないと考えられる。

Q14. 動物用モノクローナル抗体医薬品におけるがん原性試験はどのように実施すればよいか。

A. 抗体医薬品においては、標準的ながん原性試験は一般的に不適当である。しかし、動物用モノクローナル抗体医薬品の臨床での投与期間、その生物学的活性（例えば、増殖因子、免疫抑制等）、り患動物群によっては個別にがん原性の評価を行う必要がある。しかし、現時点では適切な試験法が開発されていない。直接的ながん原性は理論上ないが、長期使用においてその免疫抑制作用によって悪性腫瘍のリスク増加の可能性がある場合、それについて 6 ヶ月以上の TAS 試験、あるいは／および長期実地調査によって検討しなければならない。

Q15. 動物用モノクローナル抗体医薬品に腫瘍性増殖効果があることが懸念される場合、どのような検討を実施すればよいか。

A. 形質転換細胞の増殖や、増腫瘍性を誘導するクローン性増殖を保持又は誘発することが懸念される動物用モノクローナル抗体医薬品については、対象となるり患動物群に対応した種々の悪性腫瘍細胞及び正常細胞での細胞表面マーカー／受容体の発現に関して評価する必要がある。これらの動物用モノクローナル抗体医薬品については、細胞表面マーカー／受容体を発現する正常細胞又は悪性腫瘍細胞の増殖を促進させる能

力についても明らかにすることが望ましい。

Q16.対象動物以外にげっ歯類に対しても有効性が認められるモノクローナル抗体医薬品については、げっ歯類のデータが揃っている場合、がん原性評価もげっ歯類で行ってよいか。

A. 動物用モノクローナル抗体医薬品がげっ歯類に対して生物学的活性を有し、かつ免疫原性がなく、さらに他の試験においてがん原性評価を行うのに十分な情報が得られなかった場合には、1 種類のげっ歯類でがん原性試験を行っても良い。ただし、用量の選択は慎重に行なわなければならない。用量設定の理論的根拠については明らかにしなければならない。