

核酸医薬品のADA測定法の構築

○平山 龍¹, 鈴木 伸宏¹, 林 善治¹, 丸本 美穂¹, 早瀬 要治², 原田 香織², 堀 美幸², 西口 有美¹, 小山 亜紀¹

1: シミックファーマサイエンス株式会社
2: タグシクス・バイオ株式会社

問い合わせ先: 平山 龍 (e-mail to ryu-hirayama@cmicgroup.com)



緒言

従来の医薬品では対応が難しい疾患に対する新たな手段として核酸医薬品が注目されている。医薬品の創薬プロセスにおいて、薬物の免疫原性および抗薬物抗体(ADA)の検出は重要な役割を担っている。これらの免疫応答は薬物動態や薬力学、安全性、有効性に影響を与える可能性がある。核酸医薬品は抗体医薬品と比較して分子量が小さく、潜在的なエピトープが少ないため免疫原性は低いとされているが、免疫系と相互作用し抗体反応を引き起こす可能性があることから規制当局は免疫原性をテストし新薬申請の一部としてデータを提出することを求めている。

そこで、本研究では核酸医薬品に対するADA assayの標準的開発手順を構築することを目的に検討を行った。

本研究では、タグシクス・バイオ株式会社で合成した検討用アプタマーをモデル核酸医薬品とした。

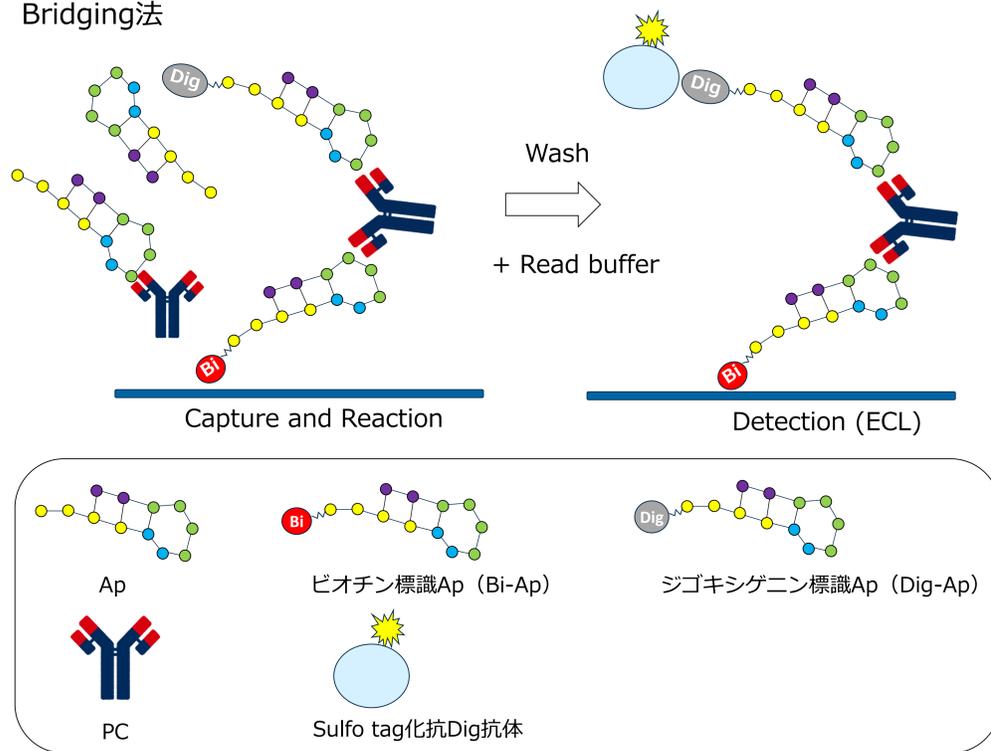
材料及び方法

1. 材料

- モデル核酸医薬品 : 検討用アプタマー (Ap)
- ポジティブコントロール (PC) : 外注にて作製 [修飾Ap (Ap-B) をウサギに免疫]
- マトリックス : ラット血漿 (抗凝固剤: EDTA・2K)

2. 測定方法

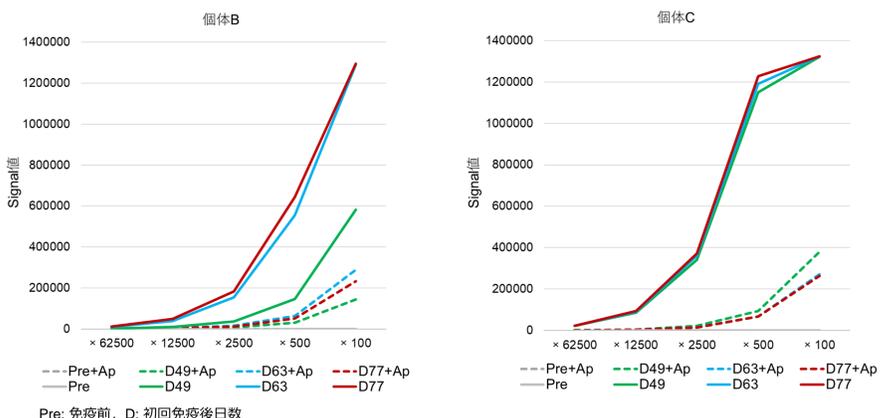
Bridging法



結果

1. 抗体価の確認

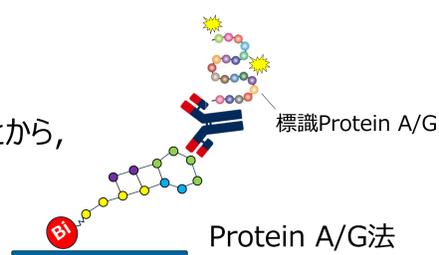
抗体価の推移



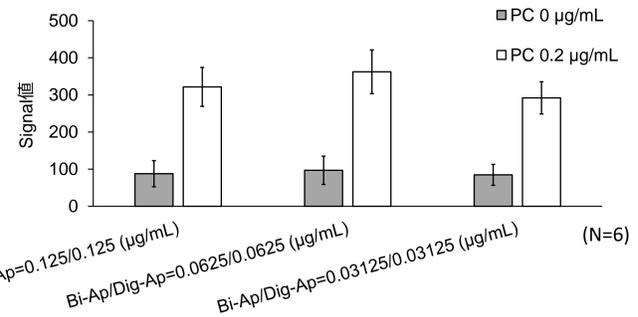
✓ 2個体のウサギにAp-Bを免疫

→ Apと反応するウサギ抗血清が取得できたことから、

ウサギ血清からPCを精製



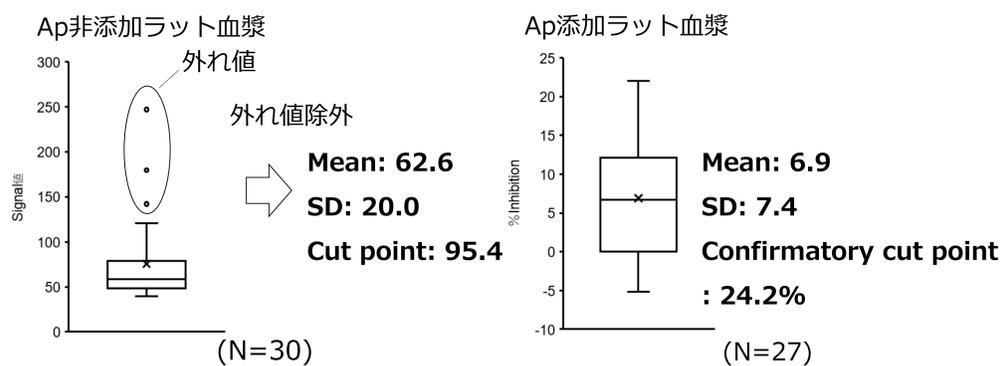
2. Bi-Ap及びDig-Ap濃度の最適化



✓ Bio-ApとDIG-Apの濃度はそれぞれ0.0625 µg/mLが適正

3. プレバリデーション

□ Cut pointの設定



□ 選択性

No.	Blank			PC 0.2 µg/mL			Correction factor
	Ap-	Ap+	%Inh.	Ap-	Ap+	%Inh.	
ラット1	54	52	4.6	446	93	79.3	: 33 Mean signal of NC samples : 84 Screening cut point : 117 Confirmatory cut point : 24.2% NC: negative control
ラット2	57	54	5.3	416	100	75.9	
ラット3	182	139	23.9	613	202	67.0	
ラット4	97	89	7.8	462	128	72.3	
ラット5	58	59	-2.6	439	103	76.6	
ラット6	84	72	14.3	486	127	73.9	

【判断基準】

80%以上の個体が下記基準を満たす

✓ Blank : スクリーニング陰性 (Signal値がScreening cut point未満)

⇨ 5/6 (ラット3以外) が該当

または、シグナル値がScreening cut point以上の場合、

阻害率がConfirmatory cut point未満 ⇨ 1/6 (ラット3) が該当

→ 6/6達成

✓ Ap添加試料 : スクリーニング陽性 (シグナル値がScreening cut point以上) かつ、阻害率がConfirmatory cut point以上

→ 6/6達成

□ 再現性

		PC (µg/mL)		%CV
		0, 0.2, 1, 5	0.2, 1, 5	
Within-run reproducibility (N=6)	Screening assay (signal値)	0, 0.2, 1, 5	0.2, 1, 5	2.6~6.9
	Confirmatory assay (%Inh.)	0.2, 1, 5	0.2, 1, 5	1.3~2.1
Between-run reproducibility (3 Runs)	Screening assay (signal値)	0, 0.2, 5	0.2, 1, 5	14.7~16.4
	Confirmatory assay (%Inh.)	0.2, 1, 5	0.2, 1, 5	1.7~2.4

Inh. : inhibition

□ 感度

Analytical sensitivity: 0.05 µg/mL

結言

本研究では、核酸医薬品に対するADA assayの標準的開発手順を構築するためにPCの合成からプレバリデーションまでを一連で行った。

✓ 修飾モデル核酸医薬品をウサギに免疫することによりPCを入手することが出来た。

✓ ECLを用いたBridging法を用いることで、Cut point, 再現性および感度を評価した。

本研究から核酸医薬品の免疫原性評価において必要とされるADA assayの開発手順を確立することができた。本結果は、今後の核酸医薬品の開発および臨床応用において有用となることが期待される。