

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 6 月 12 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2017～2019

課題番号：17H03975

研究課題名（和文）抗体凝集体による免疫原性関連シグナル誘導の物理化学解析と数理モデル構築

研究課題名（英文）Physico-chemical and mathematical analyses of immune related signal induced by antibody aggregates

研究代表者

内山 進（Uchiyama, Susumu）

大阪大学・工学研究科・教授

研究者番号：90335381

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 12,600,000円

研究成果の概要（和文）：本研究によりバイオ医薬品で発生するタンパク質凝集体の定量的解析手法が確立し、凝集の原因となるストレスの特定に成功し、さらに凝集体の免疫原性との関連性について解明することができた。とくに、プレフィルドシリンジに塗布されたシリコンオイルとタンパク質が複合体となった際の免疫原性への影響は顕著であり、製剤における容器設計の重要性がより明確となった。また、従来から提唱されてきた、コロイド安定性と構造安定性に加えて、界面安定性の向上が凝集体発生の抑制には需要であることを示すことができた。さらに今回見出した振動や衝撃がタンパク質凝集を引き起こす点も医薬品の安定性を高める上で非常に有益であるといえる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、近年、利用されているバイオ医薬品の安定性と安全性に関するものであるが、これまで不明点が多かったタンパク質凝集体と副作用の関係を実験的に示唆することができた社会的意義の大きい研究成果である。特に、製薬企業から医療現場で利用される実際の場面へとフィードバックが可能な知見が数多く含まれており、かつ、応急処置的な対応では無く、包括的かつ根本的に医薬品の安定性を高めることが可能となることから、科学的意義は当然ながら、産業的意義が大きいといえる。

研究成果の概要（英文）：Based on this research, quantitative assessment of protein aggregates in biopharmaceuticals are established, and factors influencing protein aggregation as well as relation of immunological impact of protein aggregates were clarified. Specifically impact of protein-silicone oil drop released from syringe barrel protein complex on immune system is significant thus design of container is important. This study also indicate that interface stability of proteins are of importance to suppress protein aggregation, besides colloidal and conformational stabilities that have been pointed out as important factors for protein stability in solution. Based on this study, minimizing physical stress like vibration and impact should be a clue to stabilize therapeutic proteins in solution.

研究分野：生物物理化学

キーワード：バイオ医薬 抗体医薬 安定性 凝集 タンパク質 界面

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

2016年には抗体医薬が登場し約20年が経過し、その有効性が認識される一方で課題も明確になってきた。抗CD28抗体TGN1412の臨床試験で起こったサイトカインストームのような標的的特異的な副作用に注意が必要な一方、抗体医薬に共通の課題として、免疫原性の出現が懸念されるようになってきた。抗体医薬に免疫原性があると、投与した抗体に対する抗体（抗薬物抗体、ADA）が産生される可能性が高まる。実際、完全にヒトの配列から構成され、配列上は免疫原性を発揮しないはずの組換えヒト抗体、さらにインターフェロンやファクターVIIIなどのその他の組換え蛋白質医薬においても一定の確立でADAの出現が観察されることから、配列をヒト化しただけでは免疫原性を完全に消失させることは出来ないと認識されている。ADAが出現すると、投与した抗体医薬の効果の消失のみならず、急性ショックへとつながる可能性があることから、免疫原性の予測と低減は抗体医薬にとって解決すべき課題となっている。しかしながら、体内での抗体の産生機構は複雑であり、その機構を解明すべく研究が行われているのが現状である。

こうした状況のもと、血液製剤であるガンマイムグロブリン製剤と抗体医薬の臨床および生化学的研究から、以下の状況証拠が得られつつあった。① 抗体医薬に凝集体が含まれていると免疫系が惹起され、炎症性サイトカインが放出され、免疫原性の原因となる可能性が上昇する、②IgGの凝集体は古典経路を活性化する（蛋白質医薬の登場初期に報告されている）。

一方、申請者は、抗体医薬の効果を最大限に引き出すため、蛋白質溶液の物理化学の経験を生かし、高品質で安全性が高い抗体医薬の創出のための基盤研究に取り組み、また、免疫原性の機構解明のため、免疫に関わる受容体であるFcγRやToll Like Receptor (TLR)の構造と相互作用の関係について研究してきた結果、以下のことが明らかとしてきた。③抗原が多価の場合、抗体医薬は抗原と抗体の濃度比に応じて、血清中で様々なサイズの抗原抗体複合体を形成する、④サイズが大きい抗原抗体複合体が形成されると、免疫関連シグナルが強く誘起される、⑤ 抗体は物理ストレスにより、ナノ粒子(直径100nm以下)やSVP(Subvisible particle、直径100nm~100umの粒子)と分類される凝集体を形成する、⑥ FcγRは抗体分子 (IgGモノマー) と1:1で結合し、その解離定数はuM程度である、⑦抗体医薬の体内濃度はnMレンジであるため、IgGモノマーの大部分はFcRと結合せずフリーの状態が存在する。

2. 研究の目的

抗体医薬は精製や保管時に100nm~100umのサイズのSubvisible particle (SVP)とよばれる凝集体を形成する。SVPを含む抗体医薬を投与すると炎症誘発や免疫原性の原因となり得るため、凝集体の低減と適切なモニターが求められている。一方、凝集体の性質とこうした副作用との関係は不明である。本研究は、生理条件を模倣した条件での物理化学解析により、免疫シグナル誘導の引き金となる凝集体の分子サイズ、分子配向、さらに受容体であるFcγRとの相互作用を定量的に解析し、一方で、凝集体により誘導される免疫シグナル伝達を定量する。得られた数値を用いて、凝集体により免疫シグナルが惹起され免疫原性へとつながるパスウェイの数理モデルを提唱する。

3. 研究の方法

本研究では、抗体医薬が精製や保管の間に経験するストレスである、振とう、攪拌、シリコンオイルとの接触、により抗体の凝集体を作製の上、凝集体のサイズ決定を、申請者が島津製作所と共同で開発を行った定量的レーザー回折法を中心に決定した。さらにサイズ排除クロマトグラフィー (SEC)、超遠心分析、フローイメージング、共振式質量測定、も併用し、各サイズの分子数の絶対定量を行った

凝集体による FcR や TLR の活性化の観測は、PBMC を用いた炎症性サイトカインリリース、モノサイトから作製したマクロファージの凝集体の取り込み、および下流に NF-AT によりルシフェラーゼが発現するレポーターアッセイ細胞システムを用いた。

また、凝集を抑制するための手法開発のため、水素重水素交換質量分析を用いて、凝集にかかわる残基の特定、および、凝集抑制が可能な溶媒組成を探索、を実施した。さらに、凝集体によるシグナル誘導機構の理解のため、抗体と FcγR の相互作用部位決定を水素重水素交換質量分析に実施した。

4. 研究成果

最初に、抗原抗体複合体 (免疫複合体) のサイズと免疫原性との関係に焦点を絞り、3種類の抗 TNF 抗体あるいは Fc 融合蛋白質を用いて研究を進めた。抗体に蛍光ラベルを施し蛍光超遠心分析法を駆使することで、実際の体内での濃度域 (nM 領域) での抗体濃度および抗原濃度での相互作用解析を実現した。PBS および血清中での解析の結果、アダリムマブは抗原である TNF と濃度依存的に複合体を形成し、量は少ないものの分子量が数十万を超える大きな免疫複合体を形成していた。インフリキシマブも同様に TNF と濃度依存的に複合体を形成していたが、免疫複合体のサイズとしては、アダリムマブのケースよりも大きいものが観測された。一方、TNF 受容体と Fc ドメインの融合蛋白質であるエタネルセプトは TNF と安定に結合するものの 1:1 複合体よりも大きなものは観測されなかった。次に複合体のサイズと Fc 受容体を介したシグナル伝達の関係を探るため、FcR を細胞表面に発現させた組み替え Jurkat 細胞 (FcR/Jurkat) を用いた細胞アッセイを実施した。FcR/Jurkat は、共同研究者らにより開発されたもので、FcR を介した信号伝達が誘導されるとルシフェラーゼが発現する。この細胞を使ったアッセイをアダリムマブ、インフリキシマブおよびエタネルセプトについて実施したところ、濃度依存的にルシフェラーゼレベルが上昇し、特にインフリキシマブで最も活性が強く、次にアダリムマブ、一方で、エタネルセプトはほとんど活性を示さなかった。蛍光超遠心分析の結果と照らし合わせて考えると、大きな免疫複合体を形成する傾向を持つ抗体は FcR を介した活性が強く、一方、エタネルセプトのように 1:1 よりも大きな複合体は形成しない場合、FcR を介した活性は発現しないことが分かった (図 1)。以上の結果から、FcR を介した信号伝達は複合体のサイズにそのまま依存していることが分かった。研究成果は、抗体医薬の産業利用における国際的雑誌である mAb 誌に掲載された。

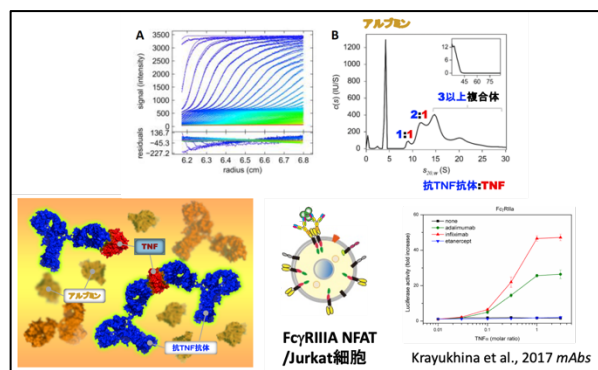


図 1 抗体医薬は種類によっては抗原と大きな免疫複合体を形成し FcγR を通じたシグナル伝達を誘導することを報告。

次に、特定のサイズ分布を持つ抗体凝集体による炎症性サイトカインリリースの評価および凝集体の構造解析を実施した。こうした研究にはサイズ分布の取得が必須となるが、サイズによっては測定が容易ではなかった。そこで、これまで解析が難しかったサブミクロンサイズの凝集体のサイズ分布測定法の開発も進めた(図2)。

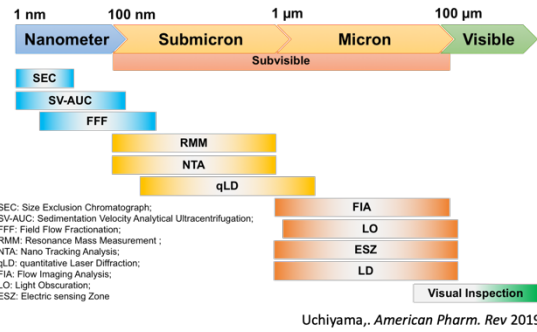


図2 タンパク質凝集体の定量的計測には複数の測定法の組み合わせが必要であることを見出し報告した。

プレフィルドシリンジタイプの蛋白質製剤の場合、保管中にシリコンオイルがドロップとして液中に放出される。そこで、シリコンオイルドロップと抗体の関係を調べたところ、シリコンオイルドロップと抗体を混合するとドロップに抗体が速やかに吸着し、主にサブミクロンからミクロンサイズの粒子を形成することが分かった。これは、まさに、特定サイズの凝集体と同等の粒子と解釈できる。抗体吸着シリコンオイルドロップをヒト末梢血単核球に添加してインキュベートしたところ、IL-6 や TNF といった炎症性サイトカインが放出されていた。また、樹状細胞が抗体吸着シリコンオイルドロップを取り込みやすく、MHC の提示が促進されることも分かった。これらの結果からサブミクロン～ミクロンの抗体吸着シリコンオイルドロップは免疫原性の原因となり得ることが示された(図3)。

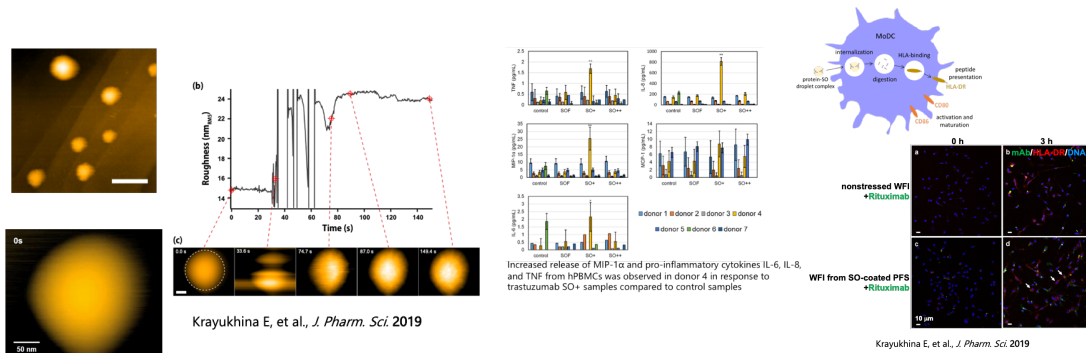


図3 シリコンオイルの影響(左) 高速液中 AFM でとらえた微少なシリコンオイルドロップに抗体医薬が吸着する様子(右) 凝集体やシリコンオイルに吸着した抗体は炎症性サイトカイン放出を促す、樹状細胞に取り込まれやすい

さらに、プレフィルドシリンジへの吸着そのものが押出時の凝集体発生につながり、低吸着のシリンジバレル、さらには界面変性の抑制の必要性を示した(図4)。

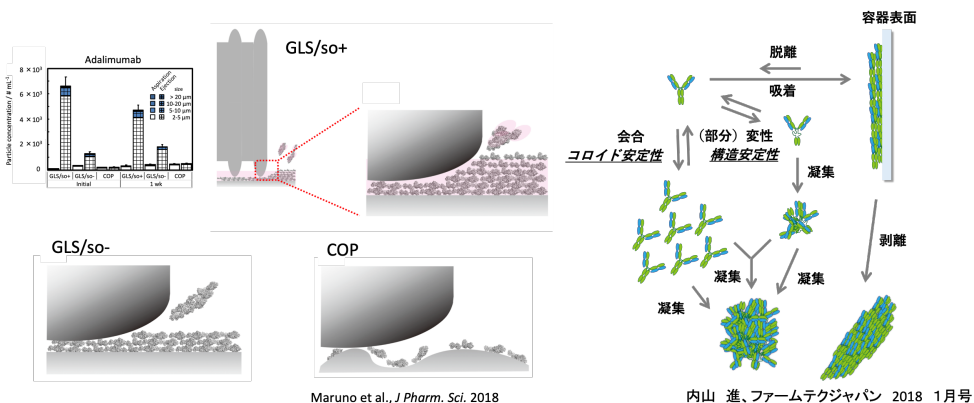


図4 凝集体発生における界面変性の役割 (左) 明らかとなったバレル表面への吸着と押出に伴う凝集体の発生。低吸着バレルの COP だと凝集体発生量が少ない (右) 凝集体発生経路の全体像

また、加熱によりナノメートルサイズの凝集抗体を分画その後モノマーへと解離した抗体について、水素重水素交換質量分析計により構造変化部位を解析したところ、CH2 中の I257-W281 が加熱に伴い露出し、おそらくは凝集に寄与していることが分かった。

サブミクロン～ミクロンサイズの凝集体の定量は定量的レーザー回折 (qLD) 法により実施し (図2)、同一試料を他の手法で評価した結果と比較した。その結果、これまで複数の手法を組み合わせる必要があったサイズ領域について qLD での一括評価が可能であることが判明した。

以上の研究についての結果は J. Pham Sci 誌に 3 報の論文として掲載された。

最後に、医療用蛋白質の凝集体のサイズに応じた適切で定量的な評価方法、サイズごとの凝集体の発生機構、凝集体の免疫系への影響、を総合的に分析、それぞれの結果の関係性を解析し、総合評価を行った。凝集体評価として適切な手法は、サブミクロンが定量的レーザー回折法、ミクロンサイズはフローイメージング法、であることが明らかとなり、さらに、ミクロンサイズの画像からニューラルネットワークを用いた機械学習により蛋白質凝集体と容器からの剥離物を分類することに成功した。こうした結果は眼科領域でも重要であったため、海外の研究者からの問い合わせが多く、最終的に総説としてまとめるに至った。

また、熱量測定において、攪拌翼で蛋白質溶液を攪拌するとミクロンサイズの凝集体が経時的に発生し、標的分子との結合活性が低下することを見出した。この手法は、物理ストレスに対しても安定な最適組成のための加速試験の設定にも有用であるといえる。さらに、凝集部位の特定を水素重水素交換質量分析法により実施し、アミノ酸番号 257～281 中にあり CH2 に位置する疎水性のアミノ酸が加熱時に露出することで凝集へとつながる事を特定した。加えて、水素重水素交換質量分析により、従来提唱されてきた Fc 部位のみならず、Fab の定常領域部分が IgG の FcγR への結合に寄与していることを示すことに成功し、今後、結合部位の変異等によるシグナル誘導強度の制御の可能性を示すことができた (Sci Rep 誌に発表)。

以上の研究成果から、凝集を原因から取り除く手段、免疫系へのインパクトが高い凝集の解明、など蛋白質凝集体の総合評価に成功した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計26件（うち査読付論文 26件 / うち国際共著 2件 / うちオープンアクセス 12件）

1. 著者名 Uchiyama Susumu	4. 巻 138
2. 論文標題 Toward the Proper Biophysical Characterization of Aggregates in Biopharmaceuticals	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 YAKUGAKU ZASSHI	6. 最初と最後の頁 1503 ~ 1507
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/yakushi.18-00020-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ishii-Watabe Akiko, Uchiyama Susumu	4. 巻 138
2. 論文標題 Current Trends in Analytical Technologies Which Promote the Development of Biopharmaceuticals	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 YAKUGAKU ZASSHI	6. 最初と最後の頁 1473 ~ 1474
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/yakushi.18-00020-F	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Noda Masanori, Ishii Kentaro, Yamauchi Mika, Oyama Hiroaki, Tadokoro Takashi, Maenaka Katsumi, Torisu Tetsuo, Uchiyama Susumu	4. 巻 108
2. 論文標題 Identification of IgG1 Aggregation Initiation Region by Hydrogen Deuterium Mass Spectrometry	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Pharmaceutical Sciences	6. 最初と最後の頁 2323 ~ 2333
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.xphs.2019.02.023	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Krayukhina Elena, Yokoyama Masami, Hayashihara Kayoko Kakuhou, Maruno Takahiro, Noda Masanori, Watanabe Hiroki, Uchihashi Takayuki, Uchiyama Susumu	4. 巻 108
2. 論文標題 An Assessment of the Ability of Submicron- and Micron-Size Silicone Oil Droplets in Dropped Prefillable Syringes to Invoke Early- and Late-Stage Immune Responses	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Pharmaceutical Sciences	6. 最初と最後の頁 2278 ~ 2287
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.xphs.2019.02.002	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kiyoshi Masato, Shibata Hiroko, Uchiyama Susumu, Ishii-Watabe Akiko	4. 巻 108
2. 論文標題 Collaborative Study for Analysis of Subvisible Particles Using Flow Imaging and Light Obscuration: Experiences in Japanese Biopharmaceutical Consortium	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Pharmaceutical Sciences	6. 最初と最後の頁 832 ~ 841
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.xphs.2018.08.006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Harazono Akira, Shibata Hiroko, Kiyoshi Masato, Muto Takashi, Fukuda Jun, Torisu Tetsuo, Saitoh Satoshi, Nishimura Hirotaka, Uchiyama Susumu, Ishii-Watabe Akiko	4. 巻 57
2. 論文標題 Interlaboratory comparison about feasibility of insoluble particulate matter test for injections with reduced test volume in light obscuration method	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biologicals	6. 最初と最後の頁 46 ~ 49
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.biologicals.2018.12.003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yoneda Saki, Niederleitner Bertram, Wiggenhorn Michael, Koga Hiroki, Totoki Shinichiro, Krayukhina Elena, Friess Wolfgang, Uchiyama Susumu	4. 巻 108
2. 論文標題 Quantitative Laser Diffraction for Quantification of Protein Aggregates: Comparison With Resonant Mass Measurement, Nanoparticle Tracking Analysis, Flow Imaging, and Light Obscuration	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Pharmaceutical Sciences	6. 最初と最後の頁 755 ~ 762
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.xphs.2018.09.004	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Maruno Takahiro, Watanabe Hiroki, Yoneda Saki, Uchiyama Takayuki, Adachi Satoru, Arai Kunihito, Sawaguchi Taichi, Uchiyama Susumu	4. 巻 107
2. 論文標題 Sweeping of Adsorbed Therapeutic Protein on Prefillable Syringes Promotes Micron Aggregate Generation	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Pharmaceutical Sciences	6. 最初と最後の頁 1521 ~ 1529
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.xphs.2018.01.021	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Shinozaki Naoya, Hashimoto Ryuji, Noda Masanori, Uchiyama Susumu	4. 巻 125
2. 論文標題 Physicochemical improvement of rabbit derived single-domain antibodies by substitutions with amino acids conserved in camelid antibodies	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Bioscience and Bioengineering	6. 最初と最後の頁 654 ~ 661
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jbiosc.2018.01.006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ishii Kentaro, Zhou Min, Uchiyama Susumu	4. 巻 1862
2. 論文標題 Native mass spectrometry for understanding dynamic protein complex	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects	6. 最初と最後の頁 275 ~ 286
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbagen.2017.09.019	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Krayukhina Elena, Noda Masanori, Ishii Kentaro, Maruno Takahiro, Wakabayashi Hirotsugu, Tada Minoru, Suzuki Takuo, Ishii-Watabe Akiko, Kato Masahiko, Uchiyama Susumu	4. 巻 9
2. 論文標題 Analytical ultracentrifugation with fluorescence detection system reveals differences in complex formation between recombinant human TNF and different biological TNF antagonists in various environments	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 mAbs	6. 最初と最後の頁 664 ~ 679
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/19420862.2017.1297909	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Shinozaki Naoya, Hashimoto Ryuji, Fukui Kiichi, Uchiyama Susumu	4. 巻 7
2. 論文標題 Efficient generation of single domain antibodies with high affinities and enhanced thermal stabilities	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 5794
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-017-06277-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yanaka Saeko, Yamazaki Toshio, Yogo Rina, Noda Masanori, Uchiyama Susumu, Yagi Hirokazu, Kato Koichi	4. 巻 22
2. 論文標題 NMR Detection of Semi-Specific Antibody Interactions in Serum Environments	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Molecules	6. 最初と最後の頁 1619 ~ 1619
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/molecules22101619	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Maruno Takahiro, Watanabe Hiroki, Yoneda Saki, Uchiyama Takayuki, Adachi Satoru, Arai Kunihito, Sawaguchi Taichi, Uchiyama Susumu	4. 巻 107
2. 論文標題 Sweeping of Adsorbed Therapeutic Protein on Prefillable Syringes Promotes Micron Aggregate Generation	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Pharmaceutical Sciences	6. 最初と最後の頁 1521 ~ 1529
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.xphs.2018.01.021	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Torisu Tetsuo, Maruno Takahiro, Yoneda Saki, Hamaji Yoshinori, Honda Shinya, Ohkubo Tadayasu, Uchiyama Susumu	4. 巻 106
2. 論文標題 Friability Testing as a New Stress-Stability Assay for Biopharmaceuticals	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Pharmaceutical Sciences	6. 最初と最後の頁 2966 ~ 2978
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.xphs.2017.05.035	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Uchiyama Susumu, Noda Masanori, Krayukhina Elena	4. 巻 10
2. 論文標題 Sedimentation velocity analytical ultracentrifugation for characterization of therapeutic antibodies	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Biophysical Reviews	6. 最初と最後の頁 259 ~ 269
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12551-017-0374-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ishii Kentaro, Zhou Min, Uchiyama Susumu	4. 巻 1862
2. 論文標題 Native mass spectrometry for understanding dynamic protein complex	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects	6. 最初と最後の頁 275 ~ 286
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbagen.2017.09.019	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shinozaki Naoya, Hashimoto Ryuji, Noda Masanori, Uchiyama Susumu	4. 巻 125
2. 論文標題 Physicochemical improvement of rabbit derived single-domain antibodies by substitutions with amino acids conserved in camelid antibodies	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Bioscience and Bioengineering	6. 最初と最後の頁 654 ~ 661
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jbiosc.2018.01.006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ishii-Watabe Akiko, Shibata Hiroko, Harazono Akira, Hyuga Masashi, Kiyoshi Masato, Saitoh Satoshi, Iwura Takafumi, Torisu Tetsuo, Goda Yukihiro, Uchiyama Susumu	4. 巻 106
2. 論文標題 Recent Topics of Research in the Characterization and Quality Control of Biopharmaceuticals in Japan	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Pharmaceutical Sciences	6. 最初と最後の頁 3431 ~ 3437
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1016/j.xphs.2017.07.024	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Melo Gustavo Barreto, Cruz Natasha Ferreira Santos da, Emerson Geoffrey Guy, Rezende Flavio Atanzio, Meyer Carsten H., Uchiyama Susumu, Carpenter John, Shiroma Helio Francisco, Farah Michel Eid, Maia Maurucio, Rodrigues Eduardo Buchele	4. 巻 1
2. 論文標題 Critical analysis of techniques and materials used in devices, syringes, and needles used for intravitreal injections	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Progress in Retinal and Eye Research	6. 最初と最後の頁 100862 ~ 100862
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1016/j.preteyeres.2020.100862	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Maruno Takahiro, Ohkubo Tadayasu, Uchiyama Susumu	4. 巻 印刷中
2. 論文標題 Stirring rate affects thermodynamics and unfolding kinetics in isothermal titration calorimetry	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Biochemistry	6. 最初と最後の頁 1-11
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1093/jb/mvaa028	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yagi-Utsumi Maho, Ishii Kentaro, Yagi Hirokazu, Satoh Tadashi, Uchiyama Susumu, Uchihashi Takayuki, Joo Keehyoung, Lee Jooyoung, Sugiyama Masaaki, Murata Kazuyoshi, Kato Koichi	4. 巻 10
2. 論文標題 Supramolecular tholos-like architecture constituted by archaeal proteins without functional annotation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1-10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1038/s41598-020-58371-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Oyama Hiroaki, Koga Hiroki, Tadokoro Takashi, Maenaka Katsumi, Shiota Akira, Yokoyama Masami, Noda Masanori, Torisu Tetsuo, Uchiyama Susumu	4. 巻 109
2. 論文標題 Relation of Colloidal and Conformational Stabilities to Aggregate Formation in a Monoclonal Antibody	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Pharmaceutical Sciences	6. 最初と最後の頁 308 ~ 315
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1016/j.xphs.2019.10.038	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Krayukhina Elena, Fukuhara Ayano, Uchiyama Susumu	4. 巻 109
2. 論文標題 Assessment of the Injection Performance of a Tapered Needle for Use in Prefilled Biopharmaceutical Products	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Pharmaceutical Sciences	6. 最初と最後の頁 515 ~ 523
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1016/j.xphs.2019.10.033	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Gambe-Gilbuena Arni、Shibano Yuriko、Krayukhina Elena、Torisu Tetsuo、Uchiyama Susumu	4. 巻 109
2. 論文標題 Automatic Identification of the Stress Sources of Protein Aggregates Using Flow Imaging Microscopy Images	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Pharmaceutical Sciences	6. 最初と最後の頁 614 ~ 623
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.xphs.2019.10.034	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Ishii-Watabe Akiko、Shibata Hiroko、Suetomo Hiroyuki、Ikeda Yosuke、Telikepalli Srivalli、Kiyoshi Masato、Hayashi Yu、Muto Takashi、Tanaka Yukako、Ueda Satomi、Iwura Takafumi、Saitoh Satoshi、Aoyama Michihiko、Harazono Akira、Hyuga Masashi、Goda Yukihiro、Torisu Tetsuo、Uchiyama Susumu	4. 巻 109
2. 論文標題 Recent Achievements and Current Interests in Research on the Characterization and Quality Control of Biopharmaceuticals in Japan	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Pharmaceutical Sciences	6. 最初と最後の頁 1652 ~ 1661
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.xphs.2020.01.001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計25件 (うち招待講演 24件 / うち国際学会 12件)

1. 発表者名 内山 進
2. 発表標題 バイオ医薬品に求められる プレフィルドシリンジの特性
3. 学会等名 PDA プレフィルドシリンジセミナー2018 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 内山 進
2. 発表標題 バイオ医薬品の物性解析
3. 学会等名 第39回JAACTシンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Susumu Uchiyama
2. 発表標題 Comparison of light obscuration and flow imaging analyses of protein particles induced by various stresses
3. 学会等名 Colorado protein stability and immunogenicity (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Susumu Uchiyama
2. 発表標題 Causes of protein aggregates generation in biopharmaceuticals
3. 学会等名 FDA internal seminar (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Susumu Uchiyama
2. 発表標題 Causes of protein aggregates generation in biopharmaceuticals
3. 学会等名 JAACT Tsukuba (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 内山 進
2. 発表標題 抗体医薬の物理化学と スマートフォーミュレーション
3. 学会等名 第10回GFRGプロジェクトシンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Susumu Uchiyama
2. 発表標題 Formulation and container closure system strategies for biopharmaceuticals with higher stability
3. 学会等名 2019Peptalk Protein Aggregation and Emerging Analytical Tools conference (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Susumu Uchiyama
2. 発表標題 Aggregates quantification in wide range of size using orthogonal methods
3. 学会等名 Biotherapeutics Analytical Summit (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Susumu Uchiyama
2. 発表標題 PDA Europe
3. 学会等名 Factors influencing Quality of Biopharmaceuticals in Pre-filled Syringes (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 内山 進
2. 発表標題 蛋白質医薬溶液のトータルな最適化
3. 学会等名 第17回蛋白質科学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 石井健太郎、丸野孝浩、岡本優太、野田 勝紀、内山 進
2. 発表標題 質量分析による抗体医薬と抗原の相互作用解析
3. 学会等名 質量分析討論会(招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Susumu Uchiyama
2. 発表標題 Biophysical analytical methods for biotechnology
3. 学会等名 第20回台湾生物物理学会年会(招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Susumu Uchiyama
2. 発表標題 Factors affecting stabilities of biopharmaceuticals in prefilled syringe
3. 学会等名 Prefilled syringe Seminar 2017 Tokyo(招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Susumu Uchiyama
2. 発表標題 Biophysical characterizations of antibody drugs by mass spectrometry
3. 学会等名 Korean Society for Mass Spectrometry Annual Meeting(招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Susumu Uchiyama
2. 発表標題 Analytical ultracentrifugation for biopharmaceuticals characterizations and formulation development
3. 学会等名 Symposium and Workshop for analytical ultracentrifugation, Beijing (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 内山 進
2. 発表標題 蛍光超遠心分析による抗体医薬の希薄濃度・生体類似環境での相互作用解析
3. 学会等名 BMIAフォーラム (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Susumu Uchiyama
2. 発表標題 Biophysical characterizations of biopharmaceuticals
3. 学会等名 台湾交通大学特別セミナー (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 内山 進
2. 発表標題 バイオ医薬品の品質低下と防止について
3. 学会等名 日本医療薬学会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Susumu Uchiyama
2. 発表標題 Hydrogen/deuterium exchange mass spectrometry analysis of therapeutic IgG molecules
3. 学会等名 Keystone symposium (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Susumu Uchiyama
2. 発表標題 Formulation and primary packaging optimizations for biopharmaceuticals in prefilled syringes
3. 学会等名 PDA Europe (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Susumu Uchiyama
2. 発表標題 Stirring rate affects thermodynamic and kinetic reactions in isothermal titration calorimetry
3. 学会等名 CALCON2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Susumu Uchiyama
2. 発表標題 Total design of biopharmaceuticals with high quality and safety
3. 学会等名 AASP2019@Suwon (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 内山 進
2. 発表標題 蛋白質科学と規制科学からみるバイオ医薬品の現状と課題
3. 学会等名 蛋白質科学会・細胞生物学会合同年会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Susumu Uchiyama
2. 発表標題 Factors influencing Quality of Biopharmaceuticals in Pre-filled Syringes
3. 学会等名 FDA workshop（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Susumu Uchiyama
2. 発表標題 Chemistry, Manufacturing, and Control of Biopharmaceuticals
3. 学会等名 2019 JSGCT（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 鳥巢哲生、内山 進	4. 発行年 2019年
2. 出版社 東京化学同人	5. 総ページ数 7
3. 書名 バイオ医薬（石井明子、川西徹、長野哲雄編）	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	保仙 直毅 (Hosen Naoki) (10456923)	大阪大学・医学系研究科・教授 (14401)	
研究分担者	大戸 梅治 (Ohto Umeharu) (90451856)	東京大学・大学院薬学系研究科(薬学部)・准教授 (12601)	