

リポソーム製剤の化学、製造、及び品質管理 に関する素案

厚生労働省医薬品等審査迅速化事業費補助金
革新的医薬品・医療機器・再生医療製品実用化促進事業

ナノテクノロジーを基盤とした革新的医薬品に関する評価方法

脂質ナノ粒子 WG（北海道大学大学院薬学研究院）

報告書

平成 27 年 3 月

目次

1. はじめに	3
2. 適用範囲.....	3
3. 化学、製造、及び品質管理	4
3. 1 組成・性状	4
3. 2 製剤設計及び特性解析	4
3. 2. 1 製剤開発の経緯	4
3. 2. 2 製剤の特性解析	5
3. 2. 3 <i>in vitro</i> 放出試験における留意点について	6
3. 2. 4 不純物	7
3. 3 製造工程及び工程管理	7
3. 3. 1 リポソーム粒子の形成工程	7
3. 3. 2 リポソーム粒子への有効成分の封入工程	8
3. 3. 3 サイズ調整工程	8
3. 3. 4 PEG 等による表面修飾工程	8
3. 3. 5 滅菌工程	9
3. 4 リポソーム構成成分の管理	9
3. 4. 1 特性	9
3. 4. 2 製造工程及び工程管理	9
3. 4. 3 規格及び試験方法	10
3. 4. 4 安定性	10
3. 5 規格及び試験方法	11
3. 5. 1 確認試験	11
3. 5. 2 エンドトキシン試験	11
3. 5. 3 標準物質	11
3. 6 安定性	12
3. 7 製法の変更	12
用語集	14

1. はじめに

リポソーム製剤とは、リポソームに封入した有効成分を含有する医薬品のことである。リポソームは、両親媒性脂質分子の二分子膜からなる微小胞で、内部に水性画分を有しており、有効成分をリポソームの脂質二分子膜又は内水層に封入することにより作製される。リポソーム製剤は、多くの場合において有効成分の生体内安定性、組織移行性プロファイルをはじめとする薬物動態、細胞内動態等の改善を目的として設計されている。したがって、新規リポソーム製剤の安全で有効な用法・用量を確立するためには、組織移行性プロファイルをはじめとする薬物動態を明らかにすることが不可欠である。

リポソーム製剤では、Enhanced permeability and retention (EPR) 効果やリガンド（標的素子）・抗体を利用した active targeting により、有効成分単独で投与した時とは、組織・細胞内移行性が変化していることから、血中有効成分濃度が同等であったとしても標的組織・細胞・オルガネラ内有効成分濃度が異なる可能性がある点において、薬物動態試験の解釈に注意が必要である。また、標的組織・細胞内分布は、リポソームの品質特性と関連していることから、リポソームのサイズ、表面電荷など、リポソームの物理的、化学的及び生物学的特性も含めた評価が必要となる。また、リポソームは生体にとって異物と認識されやすい直径 100 nm 程度の粒子であることから、適切な生体内安定性を有するリポソームの設計と、機能評価が重要になる。

本文書は、リポソーム製剤の開発時に留意すべき事項を明らかにし、承認申請等に必要とされる事項の例を挙げることにより、リポソーム製剤の合理的な開発と審査の効率化を図ることを目的としている。なお、本文書の対象となるリポソーム製剤は、他の関連する通知やガイドラインの適用も受ける。

2. 適用範囲

本文書は、内水層または脂質二分子膜内に封入された有効成分の生体内安定性、組織移行性プロファイル等の薬物動態、細胞内分布等に影響するように設計され、製造されたリポソーム製剤を対象とする。有効成分の内包／可溶化／輸送促進を目的として用いられた、脂質二分子膜を形成しない脂質・薬物混合物及び会合体は本文書の適用範囲外であるが、本文書の考え方が適用可能であるかもしれない。

本文書において対象とする有効成分は、低分子化合物、核酸、遺伝子、若しくはペプチドやタンパク質のような生物由来成分又は組換え DNA 技術を応用したタンパク質である。

3. 化学、製造、及び品質管理

化学、製造、及び品質管理に関する推奨事項は、リポソーム製剤に特有の情報に焦点を当てている。有効成分及び添加物それぞれの品質に係る一般的な事項については、関連通知及びガイドラインを参考にすること。また、脂質等のリポソーム構成成分の品質がリポソーム製剤全体の品質に影響を及ぼす可能性があるため、リポソーム構成成分の化学、製造、及び品質管理に関する情報は、有効成分と同程度の水準で詳細に示すこと。

3. 1 組成・性状

リポソームは、主として有効成分及び脂質から構成されるが、ポリエチレングリコールやリガンド（標的素子）等で修飾された機能性脂質等が含まれる場合がある。また、リポソーム製剤には、一般的な注射剤と同様に pH 調整剤、安定化剤等の添加物が含まれる。

リポソーム製剤の特性を規定する上で、以下の特性は特に重要である。

- ・有効成分に対する各脂質のモル比、または
- ・有効成分に対する各脂質の重量パーセント

リポソーム製剤の品質特性、薬物動態学的特性、薬力学的特性及び安全性プロファイルは、脂質組成を含めた処方に大きく依存する場合があるため、製剤処方の設定理由とその適切性を示すこと（1. 2項参照）。

3. 2 製剤設計及び特性解析

3. 2. 1 製剤開発の経緯

多くのリポソーム製剤では、封入した有効成分の生体内安定性、薬物動態、細胞内分布等が使用目的に対して改善するよう製剤設計されるため、リポソーム化の目的及び製剤設計時に目標とした品質・非臨床・臨床上のプロファイルについて明確にすること。その上で、剤形、製剤設計、処方、品質特性、製造方法、容器及び施栓系、使用方法等が、使用目的に叶うことを裏付けるために実施された開発段階での検討について記述する。

リポソーム製剤は製剤学的に複雑であり、必ずしも最終製品の品質試験のみでは十分に品質を管理できない。日米EU医薬品規制調和国際会議（ICH）Q8(R2)及びQ11に概説されているクオリティ・バイ・デザイン（QbD）の考えに基づいた製剤開発を強く推奨する。重要品質特性及び関連する特性値に対し、製剤品質の一貫性を保証するための管理戦略を策定した上で、リポソーム製剤の各ロットの製品品質を保証するために必要な規格及び試験方法を決定すること。リポソーム構成成分の選択・処方と各成分の機能については、製剤特性（例えば、放出性、標的指向性等）への影響と関連付けて記述すること。また、製剤設計、処方、品質特性（物理的、化学的及び生物学的特性）、製造方法等の変動が製剤特性にどのように影響するのか、開発段階で行った検討を明らかにし、必要に応じて薬物動態、安全性プロファイルに及ぼす影響についても評価・検討すること。さらに、一貫した品質特性を有する製剤を再現性よく製造できるよう、十分なリスク評価を行った上で、製造工程

における重要な工程パラメータを特定し、管理範囲の設定根拠を示すこと。

3. 2. 2 製剤の特性解析

リポソーム製剤の安全性と有効性を左右する *in vivo* での薬物動態及び薬力学的特性に影響する重要品質特性を明らかにすることが重要である。重要品質特性に関連する物理的、化学的、生物学的な特性値を適切に特定することは、リポソーム製剤の品質を確保するために重要であることから、複数ロットに対し詳細な特性評価を行うこと。凍結乾燥注射剤及び粉末注射剤として供給されるリポソーム製剤については、再調製後の薬液に対しても評価を行うこと。

物理的、化学的、生物学的な特性の詳細な解析は、製造条件が変更された場合の影響を評価する際にも有用である（1. 6項参照）。有効成分や修飾分子等として、タンパク質やアプタマー等の高次構造が当該分子の機能に強く影響する分子、バイオテクノロジーを応用して製造された成分等を含む製剤では、当該成分及び／又は製剤全体に対し、生物薬品に準じた活性、免疫学的特性等の特定・評価を行うこと。

リポソーム製剤において特に考慮すべき品質特性として重要と考えられるものには、以下のような特性があげられる。

- 粒度分布：平均値又は中央値とともに、分布を図及び多分散指数等の定量的な指標で示すこと。試験法としては、動的光散乱計が主として用いられるが、粒子径が大きい製剤ではレーザー回折が用いられる。動的光散乱計を用いる場合、適切な分布表示（個数基準分布や体積基準分布など）を選択し、明記することが重要である。
- リポソームの形態・構造：リポソーム製剤の凝集状態やラメラ構造を確認すること。画像解析手法として透過型電子顕微鏡、低温電子顕微鏡、原子間力顕微鏡等が用いられる。
- 表面電荷（ゼータ電位）：リポソームの表面電荷は、*in vivo* でのクリアランス、組織分布、細胞内への取り込みに影響を及ぼすため重要な特性である。水溶液中の対イオンによってリポソーム表面に形成される電気二重層の影響で、表面電荷を直接測定することはできないことから、一般的にはゼータ電位として評価検討される。試験法としては、電気泳動光散乱（レーザードップラー法）が主として用いられる。なお、測定に使用する溶媒の種類、pH、電気伝導度等によってゼータ電位は変動することから、試験条件を特定すること。
- 相転移温度：示差走査熱量測定や、Laudan などの脂質膜挿入型蛍光プローブの蛍光スペクトル特性の温度依存性より評価する。コレステロール等の含有により、明確な相転移温度が定まらないリポソームにおいても、発熱や吸熱プロファイル等の熱理学的特性は脂質二重膜の流動性と均一性を表す指標として有用である。
- リポソーム製剤からの有効成分の *in vitro* 放出特性：1. 2. 3項を参照のこと。

- ・ 浸透圧：リポソーム構造の破裂や収縮を防ぐために、調製後の薬液は等張(約 280Osm/kg)であることが望ましい。
- ・ pH：薬液の pH を特定すること。また、pH 変動によりリポソームの特性・機能に変化が想定される場合には、適切な品質特性を選択し、その影響評価を行うこと。
- ・ 凝集：光散乱係数又は濁度等により評価する。
- ・ 有効成分の封入率：リポソームに封入された有効成分と遊離の有効成分を、固相抽出、サイズ排除クロマトグラフィー、超遠心法、ゲル濾過法、透析法等により分離した後、各分画の有効成分量を HPLC や分光光度計により定量する手法が用いられる。
- ・ 不純物：1. 2. 4 項を参照のこと。

リポソーム製剤の特徴によっては、以下の特性解析についても考慮すべきである。

- ・ 封入有効成分の状態：電子顕微鏡等を用いて評価する。有効成分の封入方法として硫酸アンモニウム法を用いることにより、封入された有効成分がゲル化している場合など、封入有効成分の状態が有効成分の保持能（有効成分の漏出性）に重要と考えられる場合に測定すること。
- ・ 封入有効成分のリポソーム内における分布：電子顕微鏡等を用いて評価する。有効成分のすべてあるいは一部が脂質二重膜中に包埋されている場合は、測定すること。
- ・ リポソームの表面に修飾分子を修飾した製剤では、標的細胞への親和性等に影響することがあるため、修飾分子の（高次）構造、修飾量、配向性等についても検討すること。

3. 2. 3 *in vitro* 放出試験における留意点について

リポソーム製剤が一貫した生体内安定性及び薬物放出特性を有していることを保証するために、生理的／臨床的条件を適切に反映した溶媒中でリポソームからの有効成分の放出特性を測定する *in vitro* 評価試験法を確立すること。リポソームの特徴及び製剤設計・使用目的によっては、複数の放出試験条件を設定すること。リポソームからの放出が短時間で終了しない場合には、複数時点での放出率評価を行うこと。*in vitro* での薬物放出特性が十分に生体内での薬物放出特性を反映しない場合であっても、以下の観点を考慮し、可能な限り高い識別力を有する *in vitro* 放出試験法を開発し、その適切性が示されるべきである。

- ・ 循環血中や標的組織におけるリポソームからの有効成分の放出プロファイルを明確にすること。
- ・ 標的組織又はエンドソームでの pH 変化に応答して薬物を放出するリポソームにおいては、生理的環境を反映した各 pH におけるリポソームからの有効成分の放出プロファイル（標的組織等以外で有効成分が放出されないことを含む）を明確にすること。
- ・ 温度変化や外部刺激によって薬物を放出するリポソームにおいては、通常の生理的環境下ではリポソームからの有効成分の放出が抑制されていること。また、温度変化や

外部刺激によって、適切な放出プロファイルで薬物が放出されること。

3. 2. 4 不純物

原材料（封入されなかった有効成分、リポソームを構成しなかった脂質成分等）及び原材料に由来する不純物、製造工程に由来する不純物（試薬、分解物等）、有効成分及びリポソーム構成成分に由来する不純物（分解物等）については、プロファイルを特定すること。重要な不純物については、構造又は分子種を特定すること。

リポソーム製剤は、製剤中で各リポソーム粒子が一定のばらつきをもって存在していると考えられることから、以下に該当するリポソーム粒子についても不純物として取り扱うべきである。製剤設計及び品質特性に対する評価を踏まえ、不純物として取り扱うべきリポソーム粒子群を適切に定義した上で、プロファイルを明確にすること。

- リポソーム凝集物や沈殿物：輸注反応(infusion reaction)の頻度を上昇させる可能性があること¹⁾から、不純物とみなすべきである。
- 有効成分が封入されていないリポソーム群：例えば核酸封入リポソーム等、有効成分の細胞内導入効率の改善を目的としたリポソームであって、他のリポソーム粒子のエンドサイトーシス等を競合的／非競合的に阻害する可能性があるものについては、不純物とみなすべきである。
- 脂質二分子膜上の機能性素子が欠損若しくは変性したリポソーム：生体内において本来の機能を期待できないリポソーム粒子については、不純物として取り扱うべきである。直接測定が困難な場合には、単位粒子数又は単位脂質量当たりの活性によって管理することも考慮すること。なお、機能性素子の一部が変性しているものの、生体内において一定の機能が期待できるリポソーム群については、目的物質関連物質として取り扱うことができる。

3. 3 製造工程及び工程管理

リポソーム製剤の品質確保のためには、単に製造工程における中間体及び工程管理、最終製品の品質試験を実施するだけでなく、製造工程を理解して適切な管理戦略を策定することが重要である。また、リポソーム製剤は製造パラメータの変動の影響を受けやすいことから、開発の過程を通じて製造工程に係る知識を集積し、変動要因を十分に把握しておく必要がある。

リポソーム製剤の製造方法は、封入する有効成分や脂質成分の種類・物性、リポソーム製剤の機能や物性により異なるが、その多くでは、製造において以下の特徴的な工程を経ると考えられる。

3. 3. 1 リポソーム粒子の形成工程

¹⁾ Szebeni J et al, Adv Drug Deliv Rev, 63: 1020–1030, 2011.

均質なリポソーム粒子が、製造ロット毎に頑健に製造されるよう、工程を設計すること。ロット間でリポソームの脂質組成が同程度になるよう管理する。また、リポソーム粒子の構造に影響するパラメータについては特定し、適切な管理範囲を設定すること。

脂質薄膜や脂質混合液を製造中間体としてリポソーム粒子を製造する場合には、当該製造中間体の均一性、一貫性を保証することが重要である。また、水和の工程における、水和時間や混合速度、温度が重要な管理項目となりうる。

なお、タンパク質のような巨大分子を内包するリポソームでは、リポソーム粒子の形成と同時に有効成分の内包が行われる。このようなリポソーム粒子の形成工程では、有効成分の封入効率が一定の範囲内に収まるように、管理することも重要である。有効成分で構成された内核に対し脂質分子を静電的相互作用により会合させて粒子形成を行う場合には、内核の均一な形成が重要と考えられる。また、会合工程における溶媒の種類とイオン強度、混合速度、混合温度等が重要な管理項目となりうる。

3. 3. 2 リポソーム粒子への有効成分の封入工程

ロット間で、有効成分の封入効率が同程度となるよう工程設計を行い、管理を行う。pH勾配や溶解度の違いを利用して有効成分を封入する場合には、リポソーム内部の水相と外部の水相の液性と組成、操作条件（温度、時間など）等が、封入効率に影響する重要な管理項目となる。また、封入有効成分のリポソーム内での分布が変動する場合には、変動要因を十分に特定し、適切な管理戦略を策定すること。

未封入の有効成分がリポソーム外部の水相に残留している場合には、メンブレンフィルター等を用いた透析、サイズ排除クロマトグラフィー等により十分に除去されるべきである。除去工程については工程能力を評価しておくこと。

3. 3. 3 サイズ調整工程

リポソーム製剤は、粒子径の違いによって体内動態に大きな影響が生じるため、製造されるリポソーム粒子の粒子径が広範囲に分布している場合には、サイズ調整が行われる。

サイズ排除クロマトグラフィーを利用した精製操作が行われる場合には、クロマトグラフィー樹脂の種類及びカラムスケール、アプライするリポソーム量、クロマトグラム条件、分取方法等について、分離能力等の観点から最適化した際の検討内容を示すこと。

また、メンブレンフィルターを用いたエクストルーダーによる粒子径調整を行う場合には、脂質濃度、温度、圧力、フィルターの孔サイズ等のパラメータが重要である。また、エクストルージョンを繰り返し行う場合や、数種のフィルターを用いて段階的に行う場合には、エクストルージョン操作の回数や、フィルターの組み合わせ、順番等に関する最適化検討の内容を示すこと。

3. 3. 4 PEG 等による表面修飾工程

リポソーム製剤では、生体内での安定化を目的として表面が PEG 鎖で修飾されるほか、標的指向性の向上を企図して、リガンド（標的素子）・抗体を用いて修飾される場合がある。表面修飾の目的及び機能発現に必要な修飾分子数等を考慮した上で、ロット間でリポソームの修飾状態が同程度となるよう工程設計を行い、管理を行うこと。

表面修飾工程において、リポソーム粒子が局地的に高濃度のリガンド（標的素子）・抗体溶液に触れた場合には、同一ロット内のリポソーム粒子間で修飾量に偏りが生じることから、混合速度、攪拌速度、温度条件等について検討を行い、パラメータを設定すること。

3. 3. 5 滅菌工程

リポソームは一般的な乾熱滅菌、高圧蒸気滅菌に使用される操作条件下において不安定であることから、滅菌操作にはろ過滅菌が広く用いられる。しかしながら、メンブレンフィルターを用いてリポソームを滅菌ろ過したとき、フィルターマトリックスによる微生物の吸着をリポソームが阻害することにより、微生物がフィルターを通過したとの報告²⁾がある。ろ過滅菌工程については、バクテリアチャレンジ試験等によって工程能力を評価し、フィルター選択の適切性を示すこと。

3. 4 リポソーム構成成分の管理

リポソーム製剤においては、脂質二分子膜を構成する脂質分子、リガンド（標的素子）等が有効成分の生体内安定性、薬物動態、細胞内動態等の改善に寄与している。このため、脂質二分子膜を構成する脂質分子、リガンド（標的素子）等については、非リポソーム製剤における一般的な添加物より厳格に評価・管理される必要がある。

3. 4. 1 特性

脂質については、構造式が単一で表される合成又は半合成脂質（例えば HSPC など）である場合には、一般的には、標準的な分光学的方法で構造を明らかにする。天然脂質混合物（大豆レシチンや卵黄レシチンなど）の場合は、脂質組成（すなわち、各脂質成分の百分率）及び脂肪酸組成（各脂肪酸の百分率）を明らかにする。また、脂質組成の変動によってリポソーム製剤の特性は変動しうることから、合成及び半合成脂質並びに天然脂質混合物のいずれにおいても、不純物プロファイルを明らかにしておくこと。

ポリエチレングリコールなどの高分子や標的指向性付与を目的とした分子（リガンド（標的素子）等）を結合した修飾脂質等では、リンカーを含めたその特性解析を行うこと。特に、ポリエチレングリコールの分子量は、生体内安定性だけでなくリポソームの粒子サイズや有効成分の放出にも影響を及ぼす可能性があるため重要である。

3. 4. 2 製造工程及び工程管理

²⁾ FDA Draft Guidance

合成脂質及び半合成脂質については、出発物質及び製造方法が特定され、適切に管理されているものを用いること。半合成脂質の合成に使用される生物起源成分については、生物学的起源（卵黄など）、供給業者を記載すること。合成脂質及び半合成脂質を開発者又は製造委託先にて製造する場合には、出発物質の規格、重要工程及び中間体の管理方法を特定し、品質に影響する工程パラメータを記載すること。

生物由来成分又は組換え DNA 技術を応用したタンパク質を出発物質又は原料として、あるいは直接用いる場合には、生物薬品に関連する他の通知やガイドラインの要件に準じた管理・検討を行うこと。該当する場合は、製造の過程で混入する目的外タンパク質及びウイルスの除去法を示すこと。

3. 4. 3 規格及び試験方法

脂質二分子膜を構成する脂質分子、リガンド（標的素子）等が製剤品質に及ぼす影響に関する検討結果を踏まえ、十分な試験項目を設定し、規格及び試験方法を詳細に記述すること。添加物は使用目的に適った特性を有している必要があることから、公定書収載品であっても、製剤品質に影響を及ぼす特性が公定書に規定されていない場合、又は公定書において製剤品質に影響を及ぼす範囲を超える規格が設定されている場合には、別途、必要な規格値と試験方法を追加設定し、管理すること。分析法はバリデートされたものを使用し、規格には少なくとも含量（又は力価）、確認試験及び定量法を含めること。標準品／標準物質を設定する場合は、設定した標準品／標準物質の調製法、規格及び試験方法並びに保存条件及び有効期間を記載すること。

脂質については、リポソーム製剤中で適切に機能することが十分保証されるよう、規格値を設定すること。天然脂質又は半合成脂質であって、ロット毎に脂質組成・脂肪酸組成がわずかに変動する場合には、リポソーム製剤の品質特性への影響について評価検討を行った上で、適切な管理範囲を設定すること。脂質又は脂質混合物の本質に応じて、脂質組成（各脂質及び各脂肪酸の百分率、アシル側鎖の位置特異性など）を規格設定すること。例えば、脂肪酸側鎖の不飽和度が非常に高度であれば、脂質そのものを不安定化させ、リポソーム構造をも不安定化させる可能性がある。データから、不飽和度が重要な要素であることが判明した場合は、脂肪酸不飽和度の許容基準を規格に設定すること。脂質の性能に関わる他の重要な特性の例としては、レシチン中のホスファチジルグリセロール又はホスファチジルセリンの含量などがある。

タンパク質のような生物起源又はバイオテクノロジー由来成分を使用する場合には、ICH Q6B ガイドラインを参考に、適切に規格設定を行うこと。

3. 4. 4 安定性

脂質二分子膜を構成する脂質分子、リガンド（標的素子）等は、一般的な添加物の使用状況と比較して製剤中で高度な機能発現が求められていることから、添加物単独での分解

物プロフィールが適切に把握され、十分な安定性を有していることが確認される必要がある。ICH Q1A (R2)ガイドライン及び／又は ICH Q5C ガイドラインの考え方にしたがって適切に安定性評価を行い、必要に応じてリテスト期間又は有効期間を設定すること。

3. 5 規格及び試験方法

規格及び試験方法に関する一般的な留意事項については、日本薬局方及び ICH Q6A 又は Q6B ガイドラインを参照すること。また、経時的に変化する品質特性については、品質特性、薬物動態、有効性及び安全性への影響の観点から、設定された規格値の適切性を示すこと。日常的にリポソーム製剤に適用するバリデートされた試験項目を定める必要があり、その試験項目及び試験方法等は、適宜 1. 2. 2 項に例示したものを含め、製剤を特徴づけるために選択した特性に基づいたものとする。なお、リポソーム製剤における規格及び試験方法の設定については、特に以下の点に留意すること。

3. 5. 1 確認試験

脂質、修飾分子等が目的とするリポソーム粒子を構成していることを、他の規格試験と併せて複合的に判断できるよう、規格及び試験方法を設定すること。

3. 5. 2 エンドトキシン試験

リポソーム製剤においてエンドトキシン試験を行った場合、脂質とライセート試薬が交差反応を起こし正しく測定できない場合がある³⁾ため、適切にバリデーションを実施すること。エンドトキシン試験を適切に実施できない場合には、発熱性物質試験として管理すること。

3. 5. 3 標準物質

リポソーム製剤において生物活性試験等を実施する場合には、リポソーム製剤の標準物質の設定が必要となる場合がある。リポソーム製剤の標準物質を設定する場合には、製造方法並びに規格及び試験方法を明確にすること。また、標準物質の安定性については、適切な特性解析項目を選択して評価し、有効期間内で品質特性が一貫していることを確認・保証すること。⁴⁾

³⁾ Dobrovolskaia MA et al, *Nanomedicine (London)*, 5: 555-562, 2010.

⁴⁾ 例えば、以下のような事例が考えられるであろう。リポソームのうち、リガンド（修飾分子）としてペプチドリガンド、アプタマー等を有していないリポソームであって、タンパク質等、内包された有効成分の活性等の確認が必要となるケースでは、リポソーム標準物質を用いてリポソーム製剤そのものの活性等を測定する。あるいは、有効成分である原薬の標準物質を用いて、有効成分の活性への影響を最小限に抑えた温和な条件下で脂質二重膜を乖離させることで内包物を分離し、活性等を測定する。いずれを標準物質として用いるかは製剤の特性や試験方法により決定する。また、リポソームのうち、リガンド（修飾分子）としてペプチドリガンド、アプタマー等を有するリポソームであって、修飾分子を含めたリポソームそのものの活性等の確認が必要となるケースでは、タンパク質単体若しくはリポソーム標準物質を設定し、他の物理的、化学的及び生物学的な特性が変化していないことを確認した上でリポソームそのものを用いた Binding Assay 等により活性等を測定すべきである。ただし、リポソーム製剤が細胞内に取り込まれて活性を示す場合は、リポソーム標準物質を用いて活性を測定する。

3. 6 安定性

リポソーム製剤の安定性試験は、ICH Q1A (R2)ガイドラインに則って実施する。有効成分やリポソーム構成成分に生物薬品（生物由来成分又は組換え DNA 技術を応用したタンパク質）が用いられている場合には、ICH Q5C ガイドラインの考え方も適用される。なお、リポソーム製剤の安定性に関する現時点での知識には限界があるため、長期保存試験の実保存時間を超える有効期間の設定は認められない。

リポソーム製剤は製剤学的に複雑であることから、安定性試験において品質特性の経時変化を十分に把握できるよう、規格及び試験方法に設定された試験項目に加えて、特性解析項目からも試験項目を選択して設定すること。特に重要な試験項目の一例として、以下の特性が挙げられる。

- リポソーム製剤中での、各種脂質の安定性：
不飽和脂肪酸を含む脂質は酸化的分解を受けやすく、それが相転移温度等の変化を引き起こし、リポソームの安定性に影響する。また、飽和及び不飽和脂肪酸ともに加水分解を受けやすく、リゾ脂質及び遊離脂肪酸が生成される。脂質の分解が進行することで、リポソーム製剤は本来の機能を失う、又は脂質二分子膜構造の崩壊に至ることから、脂質の分解の程度とリポソームの品質特性への影響を明確にすること。
- PEG や修飾分子の付加状況、構造安定性：
PEG や修飾分子の結合様式によっては、リポソーム粒子から PEG や修飾分子が徐々に解離し、修飾分子数が低下する。また、リポソーム外部の水相の種類や保存条件によっては、PEG や修飾分子の高次構造が長期保存により変化する場合がある。修飾分子数の低下や高次構造の変化が認められた場合には、リポソームの品質特性への影響を明確にすること。
- 粒子径分布、凝集：
リポソームは、長期保存中に融合や凝集を起こすことがある。例えば、小さい単層小胞では、小胞の融合により粒子径の増大が認めやすい。濁度や粒子径分布等を試験項目として設定し、経時変化とリポソームの品質特性への影響を評価すること。
- 封入率：
リポソームの脂質二分子膜構造の崩壊の有無にかかわらず、内包された有効成分の漏出が認められる場合があるので、経時変化とリポソームの品質特性への影響を評価すること。

3. 7 製法の変更

リポソーム製剤は開発経験が少ないことから、製法の変更がリポソーム製剤の品質に影響を及ぼさないことを証明するために作成する一般的なデータセットを提示することができない。

製剤に設定された規格及び試験方法に加えて、製剤特性、管理戦略、製造方法の変更内容を考慮して、当該変更が影響する可能性を否定できない物理的、化学的、生物学的特性に関する試験項目を選択して評価を行い、変更前後で製剤品質が同等／同質（comparable）であることを確認すること。変更の程度が大きい場合や、物理的・化学的・生物学的特性等から製剤品質が同等／同質（comparable）であることを説明できない場合には、薬物動態、薬理作用、安全性に及ぼす影響についても評価・検討すること。製法の変更前後における製剤間の同等性／同質性（comparability）評価の考え方については、ICH Q5E（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）の製造工程の変更に伴う同等性／同質性評価について）ガイドラインに示された考え方も参考にすること。

また、リポソーム製剤では、スケールアップ時に特性が変化するリスクが通常の低分子医薬品等と比較して高いと考えられることから、スケール依存性に関する評価についても慎重に行うこと。

なお、リポソーム製剤において、リポソーム粒子の構築に関連する製造原理、有効成分の封入方法、脂質二分子膜の組成に係る変更を行うことは、ヒトにおける有効性及び安全性に影響が生じる可能性を否定できないことから、推奨されない。変更を行う場合には、改めて非臨床試験及び臨床試験を実施し、薬物動態、安全性及び有効性について評価する必要がある。

<用語集>

Enhanced permeability and retention (EPR) 効果：

血管透過性亢進とリンパ系機能の未発達による排出障害

リポソーム：両親媒性脂質分子の二分子膜からなる微小胞で、内部に水性画分を有する。
有効成分をリポソームの脂質二分子膜又は内水層に封入することにより作製される。

有効成分の封入率： $(\text{リポソームに内包された有効成分量} / \text{製剤全体の有効成分量}) \times 100$
(%)