

● ECL 法を用いた薬物共存下における抗薬物抗体測定

TN376

Determination of Anti-Drug Antibody by ECL Method for Drug Interference

[概要]

バイオ医薬品の安全性評価において抗薬物抗体（ADA: Anti-Drug Antibody）産生の有無の確認は重要です。しかし、薬物により産生された ADA は試料中で共存している薬物（バイオ医薬品）と既に結合しているため、従来の直接固相法では ADA を検出することは困難です（1）。一方、ブリッジングアッセイでは、2種類の標識薬物とプレインキュベーションすることにより薬物共存下で ADA を検出することが可能となります（2）。

当社では、この ADA のブリッジングアッセイを電気化学発光法（ECL 法：Electrochemiluminescence）にて実施しております。アッセイの条件検討、バリデーションから検体測定まで信頼性基準および GLP 基準に対応しております。

[背景]

体内に投与されたバイオ医薬品（生物学的製剤）が抗原として作用し、そのバイオ医薬品を標的に抗薬物抗体（ADA: Anti-drug antibody）が発現する場合があります。ADAの中にはバイオ医薬品に対して中和活性を示す中和抗体（NAbs: Neutralizing antibodies）があり、投薬での治療効果を失わせるのみならず、内因性の類似物質の活性を弱めることによって自己免疫型欠損症候群を引き起こす可能性が懸念されます¹⁾。

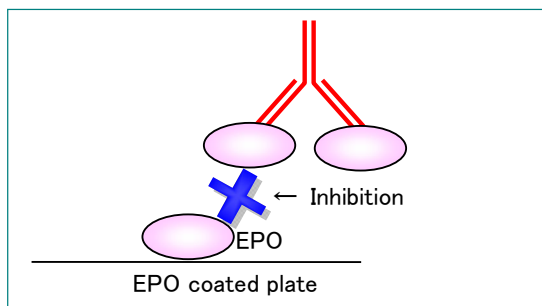
[モデルアッセイの例]

抗ヒトエリスロポエチン（EPO）抗体を分析対象としたモデルアッセイの例を示します。



[原理]

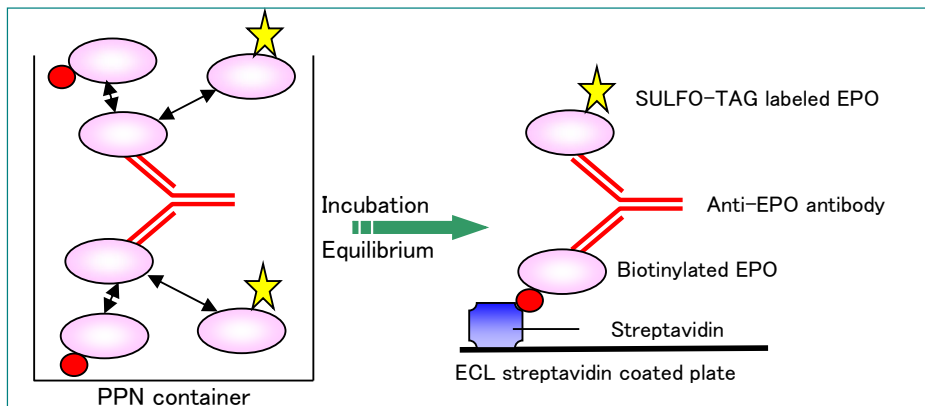
(1) Direct coating method



生体内では薬物により産生された抗体は薬物と既に結合しています。

従いまして、直接固相法では生成した抗体の検出が困難となります。

(2) Bridging Assay



ブリッジングアッセイでは、2種類の標識薬物とのブレインキュベーションによる平衡化により、抗体を認識することが可能になります。

* PPN container:
polypropylene tubes or plates

[試験方法]

1. 試料：測定対象を含んだヒト血清
2. 方法：ブリッジングアッセイ
 - (1) ビオチン化 EPO、分析試料(EPO 抗体、EPO 添加無しまたは EPO 添加(1 $\mu\text{g}/\text{mL}^*$))、SULFO-TAG 標識 EPO を混合し一定時間インキュベート(*臨床における C_{max} をカバーする濃度)
 - (2) 上記の混合溶液をストレプトアビジンプレートに添加
 - (3) 一定時間インキュベート後、ECL 測定機器にて測定

[測定例]

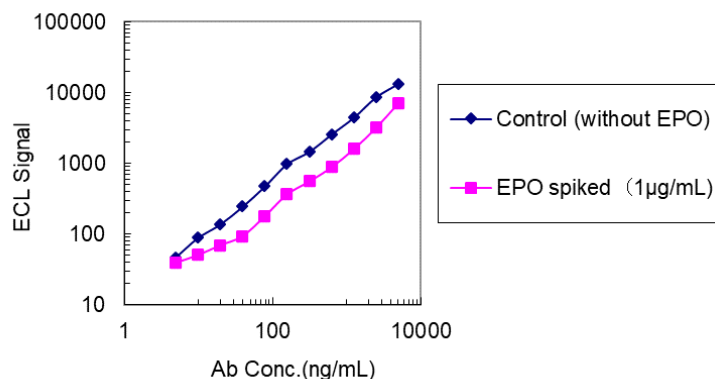


Fig.1 Calibration curve in the presence with EPO using bridging assay

コントロールにおいて、4.88~5,000 ng/mL の範囲で検量線が作成出来ました。

EPO の臨床 C_{max} をカバーする濃度添加においても FDA のガイダンス²⁾で求められる 100 ng/mL の感度を達成出来ました。本法では、薬物共存下においても広い濃度範囲で測定が可能であることが示唆されました。

[参考文献]

- 1) Anthony R. Mire-Sluis, Yu Chen Barrett, Viswanath Devanarayan, Eugen Koren, Hank Liu, Mauricio Maia, Thomas Parish, George Scott, Gopi Shankar, Elizabeth Shores, Steven J. Swanson, Gary Taniguchi, Daniel Wierda, Linda A. Zuckerman: *J. Immunol. Methods*, **289**, 1 (2004).
- 2) U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration: "Immunogenicity Testing of Therapeutic Protein Products –Developing and Validating Assays for Anti-Drug Antibody Detection, (January 2019) " < <https://www.fda.gov/media/119788/download> > (Accessed 2025.7.3)

[住化分析センターの分析メニューと技術事例]

生体試料中の高分子（抗体、糖タンパク、ADC）濃度測定

<https://www.scas.co.jp/services/lifescience/pharmaceuticals/concentration/new-modality.html>

[関連技術リンク]

TN371 ECL 法を用いたバイオ医薬品の免疫原性アッセイ

<https://www.scas.co.jp/technical-informations/technical-news/pdf/tn371.pdf>

TN270 表面プラズモン共鳴法を用いた血清中抗体濃度測定

<https://www.scas.co.jp/technical-informations/technical-news/pdf/tn270.pdf>