

# 日本医療研究開発機構 次世代治療・診断実現のための創薬基盤技術開発事業 事後報告書

## I 基本情報

研究開発課題名: (日本語) 国際基準に適合した次世代抗体医薬等の製造技術  
(英語) Next-generation biologics manufacturing conforming to global standards

研究開発実施期間: 平成25年10月31日 ~ 平成30年3月31日

研究開発代表者 氏名: (日本語) 大政 健史  
(英語) Takeshi Omasa

研究開発代表者 所属機関・部署・役職:  
(日本語) 次世代バイオ医薬品製造技術組合  
/ 国立大学法人大阪大学大学院工学研究科生命先端工学専攻 教授  
(英語) Manufacturing Technology Association of Biologics  
/ Professor, Graduate School of Engineering, Osaka University

## II 研究開発の概要

21世紀の世界の製薬産業の成長エンジンは、抗体医薬に代表されるバイオ医薬品となっているが、その最も大きなボトルネックは、複雑かつ高度な生物を用いた製造技術にある。そこで、我が国の叡智を結集し、次世代バイオ医薬品等の製造に対応するため、(I) 細胞構築・培養によりタンパク質を生産する上流プロセスと、精製し原薬とする下流プロセス、これらを総括する品質評価技術、そして国内では評価施設や技術開発が十分に整備されていないウイルス等安全性管理技術を革新し、さらに、(II) これまで個別に開発されていたこれらの要素技術を有機的に結合させ、プロセスを全体として構築し、最適化することにより、国際基準に適合する次世代抗体医薬等の産業技術基盤を確立すること、を目標として大規模かつ、相互に連携した個別開発項目を設定し、研究開発を行った。

具体的実施した課題として、(1) 生産細胞構築技術の開発、(2) 高性能細胞培養技術の開発、(3) 高度ダウンストリーム技術の開発、(4) 先進的品質評価技術の開発、(5) ウイルス等安全性管理技術の開発、の5つの要素技術開発課題を設定し、本組合が一元管理することで、取り組むことができた。

(1) 生産細胞構築技術の開発:

現在、抗体医薬品の生産は、そのほとんどがチャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 細胞を用いた細胞培養により生産されており、CHO 細胞を用いたバイオ医薬品生産はグローバルスタンダードになっている。しかし、CHO 細

胞を用いたバイオ医薬品生産プロセスでは、遺伝子導入による生産細胞の構築から培養条件の設定、実生産プロセスの構築までに、長期間にわたる試行錯誤的あるいは経験的な選択手法がとられており、メカニズムに裏付けされた生産細胞構築はほとんど行われていない。

そこで、CHO 細胞を用いた生産細胞構築技術として、特定染色体遺伝子の導入および増幅、人工染色体の利用、翻訳効率向上に関する技術開発を行った。生産細胞構築技術プラットフォームの開発を行い、3~5 g/L の生産レベルの細胞を 10 週間で構築できるようになった。また、チャイニーズハムスターの卵巣組織由来オリジナル不活化細胞を用いて、従来の CHO 細胞での生産性の 2 倍以上となる 7 日間で 5 g/L を達成した。

#### (2) 高性能細胞培養技術の開発

高性能細胞培養技術の開発では、共通技術として培地、添加剤の開発を行うとともに、小規模な細胞スクリーニング、プロセス構築、生産培養に至る一連の工程における高性能なシングルユース培養装置の開発、計測制御技術、スケールアップにおける同等性評価技術の開発を進めた。

高生産性かつ安定な抗体製造を支えるプラットフォーム培地を開発し、小規模培養装置においては、スクリーニングで重要度の高い再現性を確認した。生産規模培養装置では 50L で既存品と開発装置の抗体医薬培養試験を実施し、国際基準に適合した既存製品と比較して遜色のない生産性の結果を得た。

#### (3) 高度ダウンストリーム技術の開発

抗体医薬に代表されるバイオ医薬品の製造において下流の精製工程(ダウンストリームプロセス, DSP)は、複数のクロマトグラフィーと膜分離により構成される複雑なプロセスである。DSP が製造コストの 50-70%以上を占めることが知られており、その効率化は重要な課題である。

DSP の根幹となるクロマトグラフィー分離剤については、先行品を上回る様々な高性能分離剤の開発に成功した。これら分離剤を充填したプロセス設計用プレパックカラム(1-40 mL)、小型製造用 1 L プレパックカラムをハウジング、充填装置と共に開発した。神戸 GMP 施設において 50L 培養液からシングルユースシステムで、5 種類の高効率 DSP プラットフォームを開発し、既存プロセスの 1/2 以下の時間で実施できることを実証した。DSP 用高速 PAT 装置も開発し、実用性を確認した。

#### (4) 先進的品質評価技術の開発

本課題は、バイオ医薬品の分子不均一性に焦点をあて、バイオ医薬品の立体構造変化による不均一性、会合凝集による不均一性および翻訳後修飾による不均一性を評価するための先進的な分析技術と専用の分析装置等の開発を目的とした。

立体構造恒常性を高感度に検出できる非天然型構造抗体検出装置、会合凝集体のサイズ分布を広範囲に解析できる分級デバイス、オリゴ糖鎖プロファイルを迅速に解析できる分析キット、糖鎖分析の互換性を向上させる標品としての完全化学合成糖鎖、および目的物由来不純物を迅速に解析できる抗体医薬用二次元電気泳動装置を開発した。開発品の一部については事業期間内の製品化に成功し、導入実績を示した。

#### (5) ウイルス等安全性管理技術の開発

ウイルス等安全性管理技術は、バイオ医薬品の開発や承認申請に必須であるが、日本国内では評価施設や技術開発が十分に整備されていない。そこで、未整備となっているバイオ医薬品製造工程開発における迷入ウイルスへの対応、すなわち CHO 細胞などの宿主細胞、原材料、アクシデント等からのウイルス迷入等を高感度・広範囲に検出すると共に、工程から迷入ウイルスを除去するための基盤技術を国際的なガイドラインに沿った形で開発整備できるよう、大きく「ウイルス安全性評価試験実施体制の基盤整備」と「ウイルス管理技術開発のための高感度検出技術」の 2 分野に分けて、基本的な技術の開発を目指した。

ウイルス安全性試験を実施するための BSL2 レベルラボを設置した。バイオ医薬品の初期開発に必要な二つのウイルス(MVM および MuLV)を ATCC から購入し、ウイルスバンク化し、大量培養する系を立ち上げた。また、ウイルスの in vitro アッセイ系や PCR 検出系を確立した。これらを用いてウイルスクリアランス試験を実際に実施できる体制を構築した。

次世代抗体医薬等の製造工程のプラットフォーム化の POC (Proof of Concept) として、研究開発課題 (1) ~ (5) において開発された各種技術を有機的に連結させ、細胞株構築から品質評価までの高度先進技術を統合して、国際基準に適合した次世代抗体医薬等の製造のためのトータルシステム・トータルソリューションの提供に資する技術開発とその実証を行った。

#### (6) 国際基準に適合した次世代プラットフォーム化技術の確立

ICH ガイドラインに適合する形で GMP 準拠での技術評価・検証の施設整備に取り組み、構築したマスターセルバンク (MCB) を順次拡大培養し、200L 規模までの培養 (アップストリーム工程) を実施し、除細胞処理、クロマトグラフィー、ウイルス不活化、ウイルス除去処理を組み合わせた精製による原薬製造 (ダウンストリーム工程)、および、得られた原薬に関しての理化学分析による品質分析を実施するための施設としての整備を行った。施設設計においては、シングルユース技術を用いた製造と製造作業においてワンウェイ方式を取り入れたことに大きな特徴がある。整備した施設のバリデーションを行い、cGMP に適合した製造施設として完成させた。また、細胞構築技術開発の進展に伴う MCB 構築のための施設整備および治験薬製造のための施設整備に着手した。

これら神戸・横浜・福島 GMP 集中研等において、細胞構築、培養、生産、実製造まで見据えた整備を行い、参照製造、実証パイプラインを実施し、開発技術の性能の確かさを検証し、上下流プロセスのワンストップ体制を構築した。

以上のように、本研究課題においては、当初の研究開発計画を遙かに超える成果が得られたものと考えられ、マイルストーンの達成状況としては、研究開発課題 (1) ~ (5) において、全て目標を 100% 以上達成でき、さらに開発した要素技術の複数の組み合わせ・連結の検証が達成され、研究開発課題 (6) においても目標を 100% 以上達成できた。

世界でこれまで行われているバイオ医薬品に関わる研究開発プロジェクトにおいては、ここに示した (1) から (6) の大きな課題について個別によく似たプロジェクトが行われる例はあったが、ここまで一体となった研究プロジェクトとして推進されることは全く無く世界初の試みである。これは個別の課題が相互に密接に連携しているというバイオプロセスの特徴を知り尽くしている我が国でこそ、初めて成立し得た研究開発であり、国際的にも先駆けた存在と言える。それゆえ、本技術研究組合をさらに継続的に発展させ、我が国におけるバイオ医薬品の製造技術開発を世界に先駆けてリードしていくことが本プロジェクトにおける最も大きな成果の一つであり、今後の本分野における我が国の国際競争力を高め、持続的に発展させることが可能となる。

To develop the next-generation industrial technology platform for modern biopharmaceuticals, we investigated two research topics. (I) Upstream process technology for protein production, including cell and cell culture engineering, and downstream process technology, including separation and purification, quality control and virus security control technology. (II) Integrated technologies for process development and optimization for world class standard technologies by combining developed technologies.

Our aims include, (i) improvement of the upstream process technology for protein production, (ii) improvement of the downstream process technology for protein separation and purification, (iii) improvement of the quality assessment technology, (iv) expansion and improvement of virus security control technology, and (v) combining these technologies to promote the optimization of the manufacturing process. Moreover, by performing (i) to (v), we can integrate developed technologies

and assess their utility. Achieving our goals allows us to attain cost effective optimized platform technologies from the integration of developed technologies.

(1) Development of a high-producer-cell construction technology:

We developed technologies to establish highly stable producer Chinese hamster ovary (CHO) cells conforming to international standards, and constructed our original platform-technology for cell line development.

(2) Development of high-performance cell culturing technology:

We constructed a single-use system, high-performance cell culture medium, and cell-culture-screening system for cell culture development.

(3) Development of advanced downstream technology:

By integrating various technologies developed in this project such as single use (multi-use / disposable) pre-packed high efficiency chromatography columns, single-use virus inactivation filters and single-use chromatography equipment, we developed single-use-technology-based high productivity purification processes.

(4) Development of advanced quality evaluation technology:

We developed new analytical techniques for evaluating the heterogeneities of biopharmaceuticals (structural change, antibody aggregation, and post-translational modification), as well as analytical devices, reagents, proofreading substances and so on.

(5) Development of virus safety management technology:

We designed a technology for the highly sensitive detection of viruses using high performance electron microscope and quantitative PCR methods, and developed virus and cell banks for virus safety assessment conforming to regulations. Our developed technologies are indispensable to the development of biopharmaceuticals and applications for approval.

(6) Establishing next-generation platform technology conforming to international standards:

As a POC (Proof Of Concept) for manufacturing process platform, we combined the developed elements from sub-projects (1) to (5), that is, from cell line construction to quality evaluation. We established total system and solution for next-generation pharmaceuticals (including antibody format and derivatives) manufacturing conforming to international standards.