

# 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 (バイオ医薬品の高度製造技術の開発) 事後報告書



## I 基本情報

研究開発課題名：(日本語) バイオ医薬品製造技術の実証研究

(英語) Validation of platform technologies for the continuous manufacturing of biopharmaceuticals

研究開発実施期間：平成30年5月28日～令和3年3月31日

研究開発代表者 氏名：(日本語) 村上 聖

(英語) Sei Murakami

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研究組合・分科会長/株式会社日立製作所・シニアアドバイザー

(英語) Manufacturing Technology Association of Biologics (MAB)・Project leader

/ Hitachi, Ltd.・Senior Adviser

## II 研究開発の概要

### 1. 研究開発の目的

抗体等のバイオ医薬品が今後も対象疾患とそれに対応したモダリティを拡大しながらますます普及が見込まれる中、プロセス効率化を目指した連続生産技術の開発が世界的に加速している。日本はバイオ医薬品製造においてはこれまで商業的に諸外国の後塵を拝しており、バイオ連続生産技術開発に戦略的に取り組み、競争力のある技術を構築する必要がある。

次世代バイオ医薬品製造技術研究組合(MAB)は、多数の国内企業、大学、研究機関が参画し、相互に連携して細胞株構築から培養・精製までバイオ医薬品製造技術に関する研究を包括的に実施してきた。特にMABではGMP準拠施設を整備し、バッチ生産方式で優位性のある開発技術を導入した製造プロセス全体を構築、稼働させてきた実績がある。それらを活用し、本事業の他課題で開発した連続生産要素技術を用いてプロセス統合して有効性を実証した。

### 2. 研究開発の成果とその意義

#### 1) 連続生産プロセスの構築および製造実験

他課題(2-1-1)で開発したオリジナル国産生産細胞株や、(2-2-1)で開発・統合化した各種装置・原料・分析技術・プロセス運転プロトコルなどを神戸GMP集中研施設内に逐次導入・集約化し、培養、精製プロセスごとに

バッチ／連続レファレンス技術と本事業での新規開発技術を比較しながら統合化した複数の生産プロセスを構築した。これらのプロセスに対してモデル抗体の製造実験を実施し、実証データを取得した。

## 2) 連続生産プロセス実証製造データの活用、プラットフォーム化

### (a) 連続生産プロセス管理戦略の製造実証試験への適用

連続生産プロセス管理戦略の製造実証試験への適用に関しては、品質管理戦略会議を通じて設定されたCQA(Critical Quality Attribute)やCPP(Critical Process Parameter)を測定管理するため、分析項目、分析手法やサンプリング条件等を検討し、それらに沿った製造実証試験を実施した。連続生産プロセスの製造実証試験は長期間を要するため、製造実証試験数の制限から全ての管理戦略の適格性実証には至っていないものの、CPPとCQAの関係性については採択課題(2-2-1)におけるプロセス解析や後述の連続培養プロセス運転データの網羅的解析によって多くの知見を得ており、それらを確認検証するためのシステムを構築した。

### (b) 開発技術統合プロセスプラットフォームの性能評価

製造実証試験データから、連続統合プロセスの生産性や品質指標を算出・比較し、統合プロセスプラットフォームの性能を評価した。

培養プロセスについて、連続統合プロセス、およびレファレンスであるバッチプロセスの比較を行った。生産性指標として、槽容積当たりの抗体生産速度[g/L/d]はバッチプロセスと比較すると3.1~7.7倍に大きく向上し、灌流培養システムにおける装置小型化、設置面積削減などの初期投資額低減効果が確認できた。培地当たりの抗体生産量(培地使用効率)[g/L]は、バッチプロセスと比較すると連続統合プロセスでは培養槽から漏出する培地有効成分濃度が高く、どうしても培地使用効率は低下する。実験でも培地使用効率は当初はバッチプロセスの1/3以下であったが、細胞あたりの生産性を向上させる条件に調整し、1/1.5にまで向上させた。海外で公開されている性能数値でもバッチプロセスの1/3程度のもが多く、今回の開発で従来に比べて培地消費量削減による運転コストの低減も確認できた。品質指標については、代表的なものとして電荷異性体がバッチプロセスよりもメインピーク比率を高く維持できることが分かった。これは灌流培養では生産抗体の槽内滞留時間を短く保てることで、培養中の修飾反応などが抑えられたためと考えられる。また糖鎖プロファイルも比増殖速度(細胞活性)を高く維持することでバッチ培養より向上でき、品質の安定化が連続生産プロセスによる大きなメリットとして確認できた。

精製プロセスについて、抗体回収率はバッチプロセスと同等であることを確認した。品質指標についても、残留HCP(Host Cell Protein)、DNA、サイズバリエーションとも良好な結果が得られた。この結果から連続精製統合プロセスをバッチプロセスからの大きな性能差異なく構築できた。次に精製工程中のキャプチャ工程に着目し、カラム本数別(2~4本)PCC(Periodical Counter Current)方式とバッチ方式のクロマト性能比較を行うため、実験データを用いて精製効率(単位樹脂量・時間当たりの抗体精製量)および処理抗体量当たりのバッファ使用量の試算を行った。結果、PCC方式の精製効率は2カラムPCCが最も良好で、カラム本数が増えると低下した。バッチ方式との比較ではロード液の抗体濃度を高くすることで差はほぼなくなった。一方バッファ使用量についてはバッチ方式よりも連続式の方が少なくなり、特にバッチ方式では高精製効率条件でのバッファ使用量が増大することを見出した。これらによりロード液抗体濃度や運転条件の最適化によって精製効率やバッファ使用量を向上できることを導いた。なおPCC方式では、カラム本数が少ないほどバルブなどの装置構成がシンプルになり運転上トラブルが起きにくくなることから、海外製の多数本数のものより堅牢性に優れている。

### (c) 網羅的解析による連続生産プロセスにおける新規知見の獲得

灌流培養工程を対象として、製造実証試験データに加え他採択課題(2-2-1)と連携して得た実験データも活用し、培養環境や細胞状態といった説明変数が生産性・品質といった目的変数に与える影響についてAIを用いた網羅的解析(予測モデル生成や特徴量の影響度評価)を実施した。その結果、従来の一般的知見では予測していなかった多くの目的変数に対する説明変数の影響を発見し、生産性、品質に係る重要目的変数に対して寄与の大

きなパラメータ(説明変数)を複数抽出した。こうして得られた知見については今後個々の説明変数の影響の実証実験を経て連続生産プロセスにおける生産性や品質制御に活用可能と考える。

### 3. 実用化に向けた今後の課題と方向性

本事業で開発されたプロセスプラットフォームや関連技術の実用化に向けて、今後 MAB が受託する製造技術開発事業や、成果活用促進のため企業やアカデミアと共同で行う創薬シーズ開発支援事業等への適用と実績作りを行う予定である。また、MAB に加入・参加する多くのメーカーや CDMO、製薬企業といった組合員や賛助会員への技術導出による社会実装を進めていく。連続生産プロセス運転の課題として品質管理戦略やロットの定義を確立することといった規制要件上留意すべき点も多いが、これらは本事業における連携課題である他採択課題(2-4-1)にて整備・発行される予定のホワイトペーパー「バイオ医薬品の連続生産に関する Points to consider」に関連する参考資料にも反映していく。バイオ医薬品製造業界全体としては、目的生産物のモダリティや需要量、品質などの要求仕様に応じて最適な製造プロセスプラットフォームが多様化し、連続生産技術はバッチ生産技術との最適な組合せで活用されると考えられる。次世代抗体などのますます多様化する目的生産物に合わせ、本事業での開発技術を核に幅広く実用化していきたい。

#### 1. Purpose

Development of continuous biologics manufacturing technology aiming at process efficiency is accelerating worldwide. Manufacturing Technology Association of Biologics (MAB) is a comprehensive Japanese research consortium on biologics manufacturing technology, from cell line construction to cell culture and purification, with the participation of many private companies, universities, and public research institutes. In particular, MAB has a track record of establishing GMP-simulating facilities and develop /operate the entire bulk manufacturing process by integrating superior technology in the batch processes. Employing them, continuous processes developed in the initial phase of this project were integrated.

#### 2. Results and Achievements

##### 1) Continuous Process Development

Original production cell lines developed in MAB have been introduced in Kobe GMP Research Facility, and various devices, raw materials, analysis technology, process operation protocols developed in (2-2-1) were evaluated. Then multiple production processes were consolidated, and model antibody production experiments were conducted, and experiment data were obtained.

##### 2) Platform Process Development

###### (a) Process Management

CQA (Critical Quality Attribute) and CPP (Critical Process Parameter) have been examined and manufacturing verification tests were conducted in line with them.

###### (b) Performance Evaluation

Cell culture process: As a productivity index, antibody production rate per bioreactor volume [g / L / d] is significantly improved by 7.7 times compared to the fed-batch process, enabling facility investment cost reduction. Regarding another productivity index, antibody production per medium consumed [g / L], the concentration of the medium active ingredients in bioreactor have to be higher in the perfusion process as compared with the fed-batch final concentration, accordingly medium use efficiency is unescapably lower in the perfusion culture. However, in our experiment, the efficiency of medium use has been recovered up to 67% of the batch process by adjusting culture conditions. This is higher than many of the published values and reduction in operating costs by reducing medium consumption are expected. As for the quality index, smaller charge variant and stable glycosylation comparing with fed-batch have been observed due to the shorter residence time and higher cell metabolism.

Purification process: The antibody recovery rate was equivalent to that of the batch process. As for the quality index, residual HCP (Host Cell Protein), DNA, and size variant were equivalent to those of batch process. As a next step, purification efficiency (processed rate of antibody per unit resin) by experimental data and simulation have been performed to compare the chromatographic performance of the PCC (Periodical Counter Current) method and the batch method. As a result, the purification efficiency of the 2-column PCC was the best and decreased as the number of columns increased. The amount of buffer used in the continuous method is smaller than that in the batch method, and in particular, the amount of buffer used in the batch method increases under high purification efficiency conditions. These led to the improvement of purification efficiency and buffer usage by optimizing the load solution antibody concentration and operating conditions.

(c) Comprehensive Data Analysis by AI

For the perfusion culture process, CPPs were evaluated their effects on CQAs by Data Analysis by AI. We discovered the effects of several CPPs on CQAs not predicted by conventional knowledge. Those are to be assessed in the next project.

We would like to put the technology developed in this project into practical use in a wide range of fields in line with the increasingly diversified target products such as next-generation antibodies.