

次世代バイオ医薬品生産に向けたプロダクションサイエンス

～技術研究組合での研究開発を通じて～



技術解説

大 政 健 史*

Engineering Science for Production of Biologics
-Next Generation Platform Technology-

Key Words : biologics, mammalian cell, biochemical engineering,
cell engineering, research and development partnership

1. はじめに

生物を用いたものづくりは、従来の微生物を用いたワイン、ビール、そして日本酒生産のみならず、各種有機酸や抗生物質等、さらに近年では、化学材料や、バイオ医薬品生産や、再生医療製品まで、大変幅広い分野に広がってきている。

大阪大学における本分野の歴史は大変古く、始まりは大阪工業学校において醸造業界からの要望等によって醸造科が設立された時点にまでさかのぼる事が出来る¹⁾。さらに、戦前に改組された工学部醱酵工学科から現在の工学部応用自然科学科応用生物学コースに至るまで、長い伝統と実績がある分野となっている。小生が専門としている「生物化学工学」(biochemical engineering)とは、化学工学のアプローチを、物質生産を含めた生物を用いた様々なバイオプロセスに応用する学問と定義づけられる。この生物化学工学という学問分野は、古くは様々な有機酸発酵や、抗生物質生産において応用されていたが、1965年に合葉修一先生(大阪大学名誉教授)がHumphrey, Millisと共に執筆されたBiochemical engineeringという著書によって学問分野として体系化された、我が国が世界をリードする分野の一つである。

さらに、生物工学分野を代表する学会である、公益社団法人日本生物工学会は、90年以上の歴史を

持ち、3000名以上の会員が所属しているが、その事務局は、関西、しかも大阪大学工学部内に設置されている。多数の学会において、その事務局が東京に設置されていることにも象徴されているように、東京一極集中となっている中、まさに関西はバイオ産業の発祥/伝統/発展の聖地となっている。

本技術解説では、バイオ医薬品生産分野における最近の動向や技術について解説するとともに、平成25年度からスタートした筆者がプロジェクトリーダーをつとめる経済産業省「個別化医療に向けた次世代医薬品創出基盤技術開発(国際基準に適合した次世代抗体医薬等の製造技術)」プロジェクトならびに、プロジェクト遂行のために発足した次世代バイオ医薬品製造技術研究組合、神戸市に設けられる予定の施設の目的等について紹介したい。

2. バイオ医薬品生産の現状

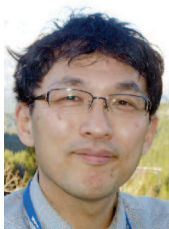
バイオ医薬品(バイオリジックス)とはリンフォカイン、機能性蛋白質や抗体医薬、さらにウイルス粒子を用いるワクチン、そして、近年では細胞そのものを治療として用いるティッシュエンジニアリング製品まで、様々な生体由来分子や生体そのものを医薬品として用いる医薬品を指す。これらのバイオ医薬品の製造プロセスは、その製品を生産する手段に、化学合成では無く、まさに生体そのものである生物(細胞)が利用されている、もしくは、生物そのものが製品となっている。

言いかえれば、その製造工程に「生きた生物を用いる」合成:生物反応を用いるため、生物反応そのものの性質(不確定性、不均一性、特異性、常温常圧での反応等)に大きく影響される。

バイオ医薬品分野でも、特に近年大きな売り上げとなっているのが抗体医薬である。ミクス社の調べによる2012年の最新データによると、医薬品の世

* Takeshi OMASA

1963年11月生
大阪大学大学院工学研究科醱酵工学専攻
博士後期課程修了(1992年)
現在、徳島大学大学院 ソシオテクノサイ
エンス研究部 教授 大阪大学大学院
工学部 招聘教授 大阪大学博士(工学)
生物化学工学
TEL: 088-656-7408
FAX: 088-656-9148
E-mail: omasa@bio.tokushima-u.ac.jp



界の売上上位ベスト10のうち、1位ヒュミラ、2位レミケード、4位エンブレル、5位リツキサン、7位ハーセプチン、9位アバスチンと動物細胞を宿主として生産される抗体医薬が6品目を占めるようになっており、バイオ医薬品はまさに世界の医薬品産業の「成長エンジン」となっている。

抗体医薬として用いられている抗体分子としては、主にイムノグロブリンG(IgG)が用いられている。IgGを遺伝子組換えにて生産する場合、現在、その複雑なドメイン構造や糖鎖などの翻訳後修飾のため、大腸菌や下等真核生物ではうまく生産することが困難である。現在、宿主細胞としては、高等真核生物である動物細胞培養株が主に用いられている。特に、チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞は、代表的な宿主動物細胞培養株であり、上記の抗体医薬品も大部分がCHO細胞を用いて生産されている。

産業界における動物細胞培養を用いた蛋白質医薬品生産はこの10年程で飛躍的に進歩し、CHO細胞を用いた抗体の分泌生産に限れば細胞株の選択方法や培地の改良、培養方法の改良の継続により、流加培養を用いて最大10g/Lでの生産が可能となり、1g抗体あたり数ドル程度で培養可能(実用化)となっている^{2,3)}。この間、酵母や植物等他の宿主による抗体医薬品生産の研究も活発にアカデミアで研究されているが、残念ながら、現時点では本格的な実用化には至っていない。

では、現在の細胞培養を用いた生産技術は「既に実用化されている」=「完成されている技術」なのであろうか。これは全くの誤解であり、現在のCHO細胞を用いた生産系は、十分に完成されていないプロセスとなっている。CHO細胞は、バイオ医薬品生産において、大腸菌に次いで用いられている宿主であるが、CHO細胞の解明と応用は意外

と進んでいない。特に、細胞構築・細胞培養においては、同じ発現ベクターを同じ宿主CHO細胞に導入しても、得られる細胞のキャラクタリゼーションは様々なものとなり、さらに、それぞれの細胞にそれぞれの培養条件、スケールアップ条件が必要となる。これは、CHO細胞を用いて分泌生産された糖蛋白質分子自身を対象とした解析や評価は盛んに行われているが、生産する手段(プロセス)としての細胞と培養系の解析については、十分な科学的解明がなされていないためである(図1)。すなわち、株化細胞自身の科学的基盤に基づいた解明と応用が必要となる。

3. 宿主改良にかかるエンジニアリング

培養液中に蛋白質を分泌生産する場合、その培養液中の濃度Pは、生産する細胞の生産能力である比生産速度 ρ_{Ab} と、生細胞濃度 X_v の経時変化の積分値(IVC)との掛け算である(1)式にて表現される⁵⁾。すなわち、生産濃度を上昇させるための技術的試みは、細胞自身の改良による細胞あたりの能力である ρ_{Ab} の上昇ならびに、培地や培養方法の改良によるIVCの上昇のどちらかに帰属させることができる。

$$P = \rho_{Ab} \int X_v dt \quad (1)$$

この10年間程で、この様な高濃度生産が実現できた背景には、培地と培養方法の改良が大きな貢献を果たしている。Ozturkによると、この改良過程において最も大きな役割を果たしたのは、生細胞濃度の積分値IVCの増加であり、細胞自身の比生産速度はあまり上昇に至っていない。すなわち、従来からの培養を改良する地道なアプローチがこれまで

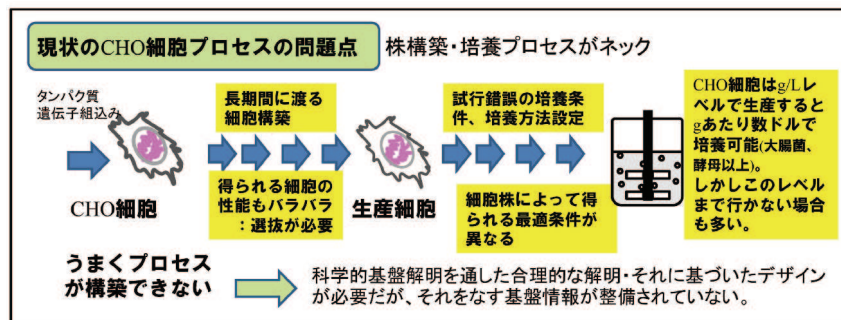


図1 CHO細胞を用いた生産プロセス構築の問題点⁴⁾

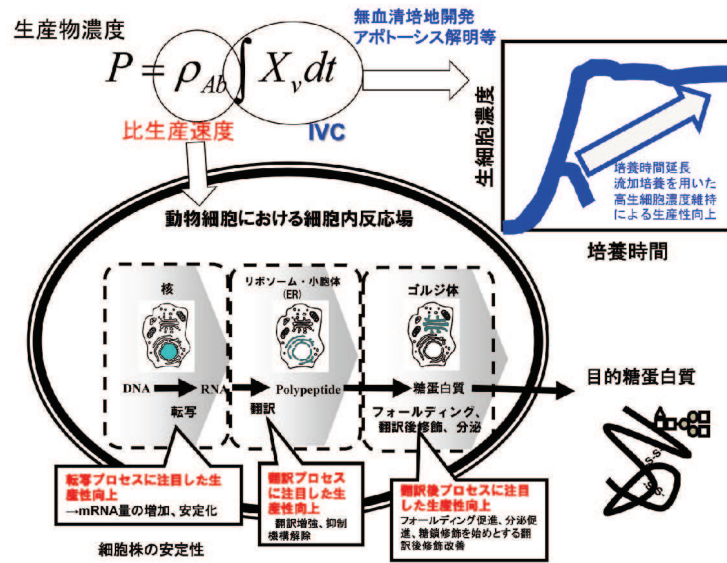


図2 セルエンジニアリング技術の現状⁵⁾

の生産性向上のカギとなっている⁴⁾。すなわち、細胞自身の改良には、大きな余地があると考えられることができる。

現在、細胞あたりの能力である ρ_{Ab} を上昇させるセルエンジニアリングの技術は、(1) 転写プロセス、(2) 翻訳プロセス、(3) 翻訳後プロセスの大きく3つに大別できると考えられる¹⁾⁵⁾。

転写プロセスの(1)に注目したアプローチとしては、強力なプロモーターの利用や、mRNAの安定化等が挙げられるが、最も汎用されているのが、ゲノム中の目的遺伝子のコピー数を増加させる遺伝子増幅

法である。

遺伝子増幅とは、遺伝子がゲノム中に本来あるべき数よりも増幅されて存在する現象を指すが、これを応用して増幅遺伝子と目的遺伝子を同じベクターに入れ、細胞に導入し、増幅遺伝子の阻害剤存在下において、段階的に薬剤濃度を上昇させて細胞を選択する事により、高生産株を得る手法である。我々のグループでは遺伝子増幅CHO細胞であるCHO-DR1000L-4N細胞から12万クローンからなるバクテリア人工染色体ライブラリー (BACライブラリー) を構築し、外来遺伝子増幅領域の構造を解析 (図3)、

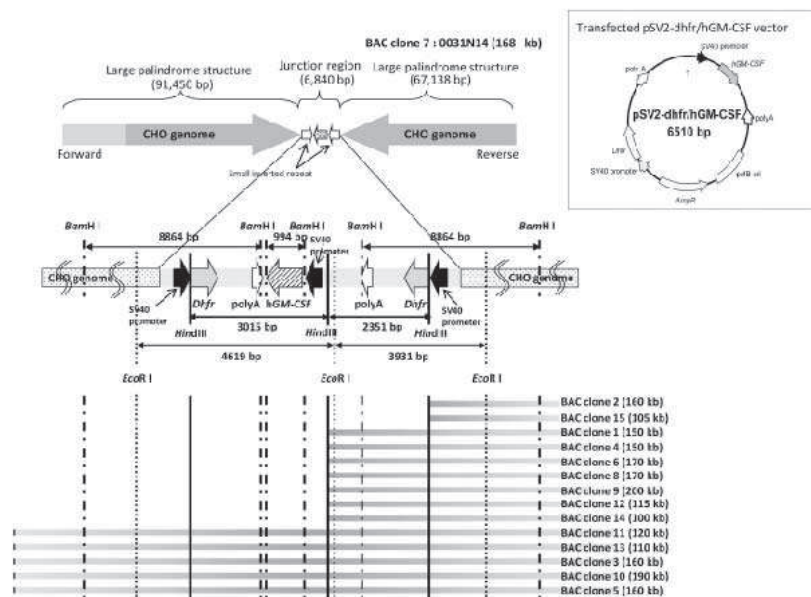


図3 CHO DR1000L-4Nの染色体における外来遺伝子増幅構造⁶⁾

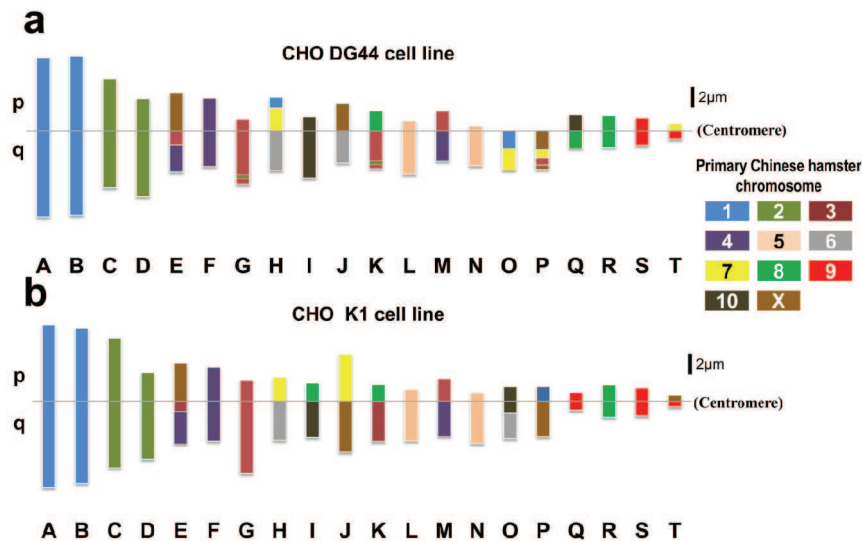


図4 CHO DG44, CHO K1細胞と Chinese hamster 染色体の比較⁷⁾

さらにはBACクローンをプローブとして用いた蛍光 *in situ* hybridization (BAC-FISH) 法を用いて、CHO細胞の染色体物理地図を世界で初めて作成し、これを用いた染色体解析を行った(図4)。現在、バイオ医薬品生産の宿主として汎用されているCHO K1およびCHO DG44細胞においては、元々のChinese hamsterと比較して、大幅な染色体の再構成が引き起こされており、これがCHO細胞における生産細胞構築のヘテロジェネシティの一因となっていると考えられる。

実際には、実生産の観点からみると、細胞内反応プロセスは、全体として捉えて最適化される必要がある。転写プロセス以降の技術開発については、ここでは省略するが、筆者の総説^{8,9)}を参考にして頂きたい。

4. プロセス全体の俯瞰の必要性

バイオ医薬品生産において、大きなボトルネックの一つは実際の物質生産に関わる細胞の構築にあることは間違いないが、実生産系構築においては、それ以外の全体としてのプロセスについても考慮する必要がある。アセスメントの観点からまとめられたHeinzleらの試算によると、生産物濃度の上昇に伴ってunit-production costは指数的に3g/L程度まで減少しているが、そのコスト低下は濃度上昇に伴ってあまり効果がなくなる¹⁰⁾。すなわち濃度上昇がg/Lを超えてくると、分離精製や品質管理、さらに

はfill and finishといった後工程のコストについても十分に検討する必要がある。

プロセス全体を設計するためには、g/Lを超える培養を実現することも重要ではあるが、それ以降の製剤化までのプロセスも含めてどのように全体を俯瞰するのかが重要なポイントとなる。高濃度生産になると、分離精製担体の開発も、高濃度に対応したリガンドが開発される必要がある。また、製剤プロセス一つをとっても、蛋白質医薬品の場合は、高濃度の蛋白質溶液といった形で製剤化される必要があり、糖蛋白質の高濃度溶液の物理化学という科学的基礎研究も必要とされている。

5. 今後に向けた取り組み

現在のCHO細胞を用いた蛋白質医薬品生産は、いくつかの欠点はあるものの、実際に多数の抗体医薬シーズの開発に使われ、実際に上市されている抗体医薬の製造プロセスに汎用されている。一方、同じ抗体遺伝子を同じCHO細胞に導入しても、得られる細胞の性質もバラバラであり、蛋白質自身の性質、株化細胞の多様性、生産された糖蛋白質も、糖鎖の多様性や翻訳後修飾の違いによる多様性が、現実のプロセスに存在する。すなわち、これらの多様性(ヘテロジェネシティ)をどのように解析・評価・制御するかが、バイオ医薬品生産において重要なポイントとなる。

現在、遺伝子組換えCHO細胞を用いた蛋白質医

薬品生産は、多大なる時間と労力をかけて生産性の高いCHO細胞を構築さえすれば、g/Lオーダーの生産が可能である。では、実際のこれらのプロセスは簡単に誰でも構築できるものになっているのだろうか。残念ながら発現ベクターを構築し、CHO細胞にトランスフェクションしただけでは高いものから低いものまで様々なレベルの発現株が構築されてしまう。これはCHO細胞自体のヘテロジェネイ

ティによるものである。だれでも簡単にかつロバストに生産系を構築する、すなわち、蛋白質自身ならびに、細胞個々の性質の違いを解析/解明/制御する技術が今後必要になると考えられる。そこで、これらの背景を受けて、平成25年度から経済産業省において、個別化医療に向けた次世代医薬品創出基盤技術開発（国際基準に適合した次世代抗体医薬等の製造技術）プロジェクトが開始されている（平成

次世代バイオ医薬品製造技術研究組合(MAB)の概要

設立年月日 (H25.9.24 認可、H25.9.26 登記)

理事長：東原 敏昭 (株) 日立製作所 執行役専務 インフラシステム社 社長

組合員：旭化成メディカル(株)、エイブル(株)、(株)カネカ、(株)京都モノテック、(株)chromocenter、(株)島津製作所、ジーエルサイエンス(株)、JNC(株)、JX日鉱日石エネルギー(株)、JSRライフサイエンス(株)、シャープ(株)、住友電気工業(株)、住友ベークライト(株)、ダイソー(株)、第一三共(株)、東京化成工業(株)、東ソー(株)、TOTO(株)、(株)ネオ・モルガン研究所、(株)日立製作所、藤森工業(株)、三菱化学(株)、横河電機(株)、(株)ワイエムシー、(社)日本血液製剤機構、(一財)バイオインダストリー協会、(独)産業技術総合研究所、徳島大学、神戸大学 (24企業、2団体、1独法、2大学)

事業費：平成25年度32億円【外部資金：26.5億円、賦課金：5.7億円】

事業の概要：国際基準に適合した次世代抗体医薬等の製造技術の研究開発

○組合設立の目的

我が国のバイオ医薬品製造に関わる企業・大学・公的研究機関を結集し、複雑で多機能なバイオ医薬品(抗体医薬)を国際基準に適合して製造する高度・高効率な次世代の製造技術開発を行う。

○実用化の方向性

バイオ後継薬をはじめとする複雑で多機能なバイオ医薬品等の製造に対応するため、①抗体等を安定的に生産するための遺伝子組換え生産細胞の構築、②抗体等生産物を培養する上流プロセス、③得られた生産物において抗体等と不純物とを分離・精製する下流プロセス、④これらを総括し品質評価技術を高度・高効率化する。さらに、⑤開発した要素プロセスを有機的に結合させ、生産プロセスを全体として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。

○事業化の目的の時期

開発した技術を通じた医薬品製造、創業・生産技術研究分野におけるプラントとしての製品化・実用化については、補助期間終了後、すみやかに事業化を行う。

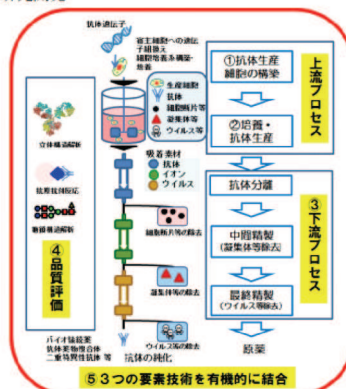


図5 次世代バイオ医薬品製造技術研究組合の概要 (平成25年度資料)

研究開発体制

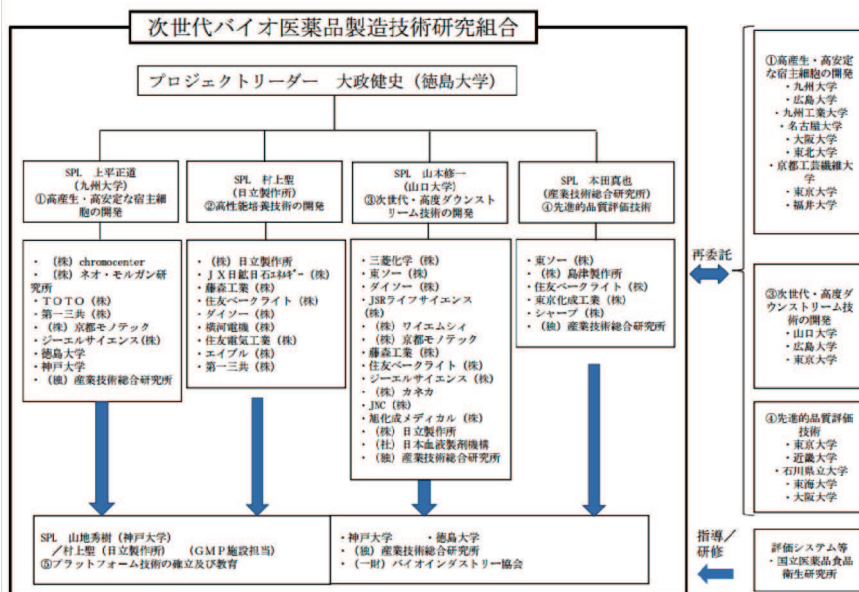


図6 プロジェクトにおける研究開発体制 (平成25年度資料)

25年度、技術研究組合事業費32億円(予定))。

本プロジェクトは、生産細胞を構築し、培養する上流プロセスと、生産された物質を分離精製する下流プロセス、並びにこれらの品質を評価する技術を開発し、さらにこの3つの要素技術を有機的に結合する実証プロセスを設けることにより、次世代のバイオ医薬品の製造技術基盤を確立することを大きな目的としている。筆者がプロジェクトリーダーとなり24社、5機関および10以上の再委託先大学からなる116課題の技術開発項目を統合し、次世代の製造技術基盤を確立する。また、技術研究組合制度を活用することにより、得られた成果の有効活用ならびに、本分野における人材育成にも重点を置き、実際の設備の構築や活用を目指すものである。現在、徳島副サイトならびに筑波副サイトにおいて、個々の要素技術を融合した後、神戸ポートアイランドにこれらを統合する拠点となる設備を設ける予定である。

本稿の冒頭にも述べたが、我が国、とくに関西はバイオによるものづくりの長い伝統を持っている。バイオ医薬品生産の分野においても、技術開発や人材育成を通して、世界へ発信する存在となりえるポテンシャルがあり、そのためにも、私たちの活動が関連学協会、本プロジェクト、本技術研究組合、関連するアカデミア、研究者を巻き込んだ活性化の一助となれば幸いである。

謝辞

本稿にて紹介した著者らの研究は、大阪大学大学院工学研究科および徳島大学大学院ソシオテクノサイエンス研究部においてなされたものである。共同研究者の皆様方、ならびに次世代バイオ医薬品技術研究組合関連の皆様方に感謝いたします。また、本記事は、生物工学会誌に掲載された原稿⁴⁾に加筆修正したものである。

引用文献

- 1) 大阪大学工学部醸造・醗酵・応用生物工学科百年誌(1996)
- 2) 大政健史, 生物工学会誌, **86**, 393 (2008).
- 3) 大政健史, 生物工学会誌, **88**, 649 (2010).
- 4) 大政健史, 生物工学会誌, **91**, 507 (2013).
- 5) 大政健史, 化学工学, **75**, 143 (2011).
- 6) Park *et al.*, J Biosci Bioeng, **109**: 504 (2010).
- 7) Cao *et al.*, Biotech Bioeng, **109**: 1357 (2012).
- 8) 大政健史, 化学と生物, **48**, 255 (2010).
- 9) Omasa *et al.*, Cur Pharm Biotechnol, **11**: 233 (2010).
- 10) Heinzle *et al.*, "Development of sustainable bioprocesses – modeling and assessment –" West Sussex, John Wiley & Sons, Ltd. (2006).

