

タクロリムス（FK506）開発物語

山下 道雄

一序一

天然物医薬品は、かつて日本が新薬の発見・開発で世界をリードしたという輝かしい歴史を築いた得意領域であったが、そのことを知らない生物工学系の若手研究者・技術者・学生が多くなってきていると感ずることがある。それ故、FK506開発の話をする前に、医薬品としての微生物二次代謝産物の探索研究の歴史と藤沢薬品工業〔現アステラス製薬、2005（平成17）年4月1日に山之内製薬と合併、以下藤沢という〕におけるそれらの歴史^{1,2)}について簡単に述べておこう。

微生物二次代謝産物の探索研究の歴史

微生物を用いた創薬はフレミングによるペニシリンの発見に端を発している。その後、抗生物質を系統的に探索するシステムが、ストレプトマイシンの発見者ワクスマンにより確立された。フレミングやワクスマンの研究以来、世界各国の研究グループが抗生物質の探索競争に加わり、1万にも及ぶ抗生物質が発見された。日本での微生物由来の医薬品探索研究は、第二次世界大戦中の1943（昭和18）年12月日本の潜水艦がドイツから持ち帰った医学雑誌に掲載されていたペニシリンの臨床報告の記事に着目した稲垣克彦陸軍軍医が東京帝国大学の梅沢浜夫助手にその翻訳を依頼したことがきっかけとなった。翻訳を終えた梅沢は早速研究をスタートさせ1944年9月に純粋なペニシリンの黄色粉末を得ている（この時米国ではまだ高純度粉末は得られていない）。11月から梅沢の指導により森永食糧工業（現森永製菓）三島工場で製造がスタートした。これらの内容は角田房子著「碧素・日本ペニシリン物語」（絶版）に詳しい。その後、微生物由来の医薬品探索研究は梅沢のライフワークとなり、カナマイシン（抗結核薬）やブレオマイシン（抗がん剤）などの日本発の新規抗生物質を次々と発見・開発し、後に「抗生物質の父」と呼ばれた。これに続けと多くの大学・公的研究機関の研究者や企業が素晴らしい成果を上げた。この間、海外で発見、実用化されたストレプトマイシン、クロラムフェニコール、テトラサイクリン類、エリスロマイシンが次々と日本に到来し、医薬品

生産の主要な座を占めた。抗生物質の探索研究には世界の多くの研究者が加わり、激しい競争が展開された。これらの研究の過程で、抗生物質には抗菌作用だけでなくそれ以外の種々の薬理作用を併せ持つものがあることに気づき、抗がん活性などの評価も行うようになっていった。日本では、酒、醤油などの多くの発酵食品の伝統があり、その知識・技術を生かして発酵医薬品の製造技術も大いに発展した。

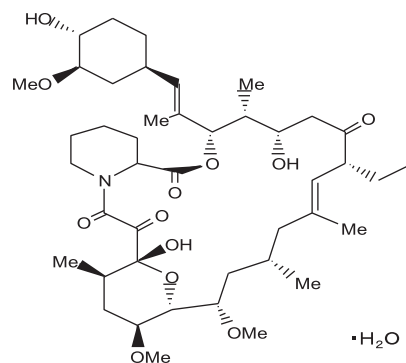
藤沢薬品工業における探索研究の歴史

藤沢の天然物医薬品の伝統は、名古屋の三洋化学にその源がある。三洋化学は次のような経緯で設立された。三井本社と東洋レーヨンの折半出資会社である三洋油脂の名古屋工場では軍部の要請で航空機用潤滑油を製造していた。しかし、敗戦で製造中止となり使われなくなった建物や発酵タンク、冷凍機を活用するため、1946年4月からペニシリン製造の研究に着手し早いスピードで実績を上げ、2か月後には製造許可申請用のサンプルを製造した。同年11月には米国からメルク社研究員のJ.W.フォスター博士がペニシリン製造指導のために来日し、生産能の高い生産菌とともに、米国の最新製造技術・知識を日本にもたらした。微生物の培養、ペニシリンの抽出などの基礎分野だけでなく、検定、バッチの概念、記録の重要性、機械設計技術の重要性など、これらは、我が国のペニシリン工業の発展だけでなく製薬産業の戦後復興に大きく寄与した。このとき、フォスター博士は、三洋油脂・名古屋工場も訪れ指導している。1948年には、三洋油脂はペニシリン生産量26億単位で業界第2位となった。1949年11月に、三洋油脂はペニシリン生産中心の企業として三洋化学をスタートさせたが、三洋油脂との間で「ペニシリン一手販売契約」を結んでいた藤沢は、その際に資本参加し経営に参画した。三洋化学はペニシリン製造で習得した発酵技術と社外研究者との間に築いたネットワークを活かして、トリコマイシンの開発・商品化（1951年発見、1954年発売）を成功させた。三洋化学は、東洋レーヨンの工場敷地を借りてペニシリンやトリコマイシンの製造を行っていたが、三洋化学製品の販売と資金面を担当していた藤沢はそれを好機と

られ、三洋化学を吸収合併するとともに自社で新工場を建設する方針を打ち出した。交渉は円滑に進み、1956年4月1日に合併契約書に調印、10月1日に藤沢の名古屋工場（現愛知県清須市）として新たなスタートを切った。ペニシリン以来の優秀な発酵研究者と技術陣を自社に取り込んだ藤沢は、この発酵技術を活かして世界に通用する抗生物質の開発を目指し、1961年10月NRDC（英国国立研究開発公社）との間で「セファロsporin C（CC）群から医薬品を製造する契約」を交わした。CC生産菌を入手すると直ちに東京研究所発酵部門（小金井市）で高生産性菌株の取得と培養条件検討を開始した。これまでのペニシリンやトリコマイシンでの経験が大いに活かされ、自社でCCを発酵し、抽出方法を工夫してCCのナトリウム塩（CCNa）の結晶を得る方法を短期間で確立した（1962年）。その後、その側鎖を酵素的に切断し、7-アミノセファロsporin酸（7ACA）を得ることに成功した（1963年）。そして合成部門（大阪市）において、この7ACAに各種側鎖を導入する中からセファゾリン（一般名）を見いだした（1968年）。契約から10年後の1971年4月に承認を得て、8月に国産初のセファロsporin系抗生物質セファメジン（商品名）を発売するに至った。藤沢の発酵研究グループは、ここで培った発酵技術を活かしてポスト・セファメジンを創出するため、全国各地の土壌を採取し、その中の微生物が産生する生理活性物質、当初は主として抗生物質の探索研究を精力的に行った。こうした研究から得た製品には、ピロールニトリン（千葉県土壌、水虫薬）、チオペプチン（富山県立山の土壌、家畜用抗生物質）、トリコマイシン（八丈島の土壌、トリコモナス症治療剤）、ビコザマイシン（北海道札幌市の土壌、家畜用抗生物質、その安息香酸誘導体は水産用抗生物質）などがある。また、製品には結びつかなかったが、シングルβラクタム抗生物質のノカルディシンのオキシム構造は、セファロsporin系抗生物質の部分構造に取り入れられ第2世代、第3世代のセファロsporin（商品名：エポセリン、セフspan、セフゾン、ウィンセフ）として世に送り出された。

その後、疾患構造の変化に対応し、藤沢でも1976年ごろから感染症以外の疾患治療薬（降圧剤、抗炎症剤、抗がん剤など）の探索も行った。1978年には、中央研究所（大阪市）の発酵グループが放線菌の二次代謝産物の中から強力な免疫賦活物質FK156を発見し、それに化学修飾を加えて、より活性の強いFK565を創出した。このFK565は、一時米国で抗がん剤ならびに抗エイズ薬としての開発を目指したが成功しなかった。免疫賦活剤FK156の発見により、スクリーニング系の構築の仕

方一つで筆者らも免疫抑制剤を発見することができるという確信を持つに至った。当時、免疫抑制剤の探索研究は、世界的に見てもあまり活発ではなかった。1970年末に、スイスのサンド社（現ノバルティス）の研究者により真菌の代謝産物として発見されたシクロsporin A（CsA）は、1972年にサンド社のJ. ボレルらによりT細胞に対し、特異的に免疫を抑制する作用を有する物質として再発見され、腎、肝などの臓器移植成績を著しく向上させ、移植医療において輝かしい成果を上げてきた（日本での発売は1986年）。しかし、CsAは腎障害、肝障害、血圧上昇、神経障害などの副作用があり、より安全で有効性が高い免疫抑制剤の開発が求められていた。そこで、筑波研究学園都市に新たに建設中の探索研究所の一隅で、1982年より微生物二次代謝産物からの新しい免疫抑制剤の探索研究（スクリーニング）に着手した。このスクリーニングチームは、大阪から異動した後藤俊男らが中心となり、筑波で採用した若手研究者を加えて組織された。天然物から新しい生理活性物質を探索するためにもっとも重要なのはスクリーニング法である。しかしこの時点では免疫抑制剤に適した方法は知られていなかったもので、まずはその確立に取り組んだ。その一方で、移転当初はまだ設備・装置がフル稼働できる状況ではなく、待ち時間を利用して筑波山などに土壌採取に出かけた。後に発見されるFK506の生産菌は、このとき採取した筑波山の麓の土壌から分離されたものである。その菌は関西周辺ではそれまでまったく分離されておらず（後に西日本の土壌からも分離されたが）、筑波への研究所移転がなければ、FK506の発見は数年遅れていたかもしれない。一方で、1983年4月の探索研究所発足と同時に混合リンパ球反応というスクリーニング法を確立し免疫抑制剤の探索を開始、ちょうど1年後の1984年3月にFK506（タクロリムス、図1）³⁻⁶⁾を発見した。



$C_{44}H_{69}NO_{12} \cdot H_2O$ （分子量 822.05）

図1. タクロリムス・1水和物の構造式

その後、医薬品の申請に必要な基礎実験、前臨床および臨床試験などを精力的に進め、我が国においては1993年4月、「肝移植における拒絶反応の抑制」を効能・効果とする注射剤、カプセル剤として承認を受け、同年6月に世界に先駆けて「プログラフ」として発売するに至った。その後順次各国で承認を得、販売国を増やしている。また、FK506を主成分とする「プロトピック軟膏」は、1999年11月にアトピー性皮膚炎の治療に使われる世界初の免疫調整外用薬として日本で販売を始め、その後世界に広がっている。医薬品の代表的な研究ステップを図2に示しておく。

なお、藤沢の探索研究所では、その後、抗Candida活性（真菌の細胞壁の生合成を特異的に阻害）を有する発酵原体FR901379を発見（1989年）、そのアシル側鎖（パルミトイル基）を酵素で脱離した中間体FR179642を得た後、新たに合成したアシル基を導入したFK463（ミカファンギン）を開発し、2001年6月に日本で製造申請、2002年10月に日本で承認取得、同年12月6日に薬価収載されたことを受け、注射用キャンディン系抗真菌症治療剤「ファンガード」として世界に先駆けて即日発売した⁷⁾。現在は約40の国と地域で販売している。

さらに、1990年に物質特許を取得したHDAC阻害剤FK228（当初はrasを含むがん遺伝子を導入したNIH-3T3細胞の形態を正常細胞様に変化させる活性を指標にスクリーニング）は、米国での臨床試験（フェーズIおよびII試験）を行う一方で製造方法を確立した後、2004年4月米国グロセスター（Gloucester）社にライセンス委譲した。導出先で高次臨床試験を実施後、2009年1月に米国FDA（Food and Drug Administration、食品医薬品局）に申請し、3月受理、2009年11月にFDAより承認され、皮膚T細胞リンパ腫（cutaneous T-cell lymphoma, CTCL）治療剤イストダックス（Istodax、一般名ロミデプシン：Romidepsin）としてグロセスターを買収した米国製薬会社セルジーン（Celgene）社より発売された。その後、2011年6月には末梢性T細胞リンパ腫（peripheral T-cell lymphoma, PTCL）治療剤としての適応症追加がFDAから承認された。

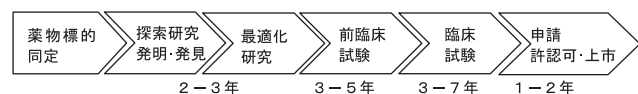


図2. 創薬ステップの概要

一本 論 スクリーニング

1960年代の初めに「新生仔の胸腺摘出マウスにおいては同種皮膚移植片が拒絶され難い」ことが観察されて以来、免疫学は近代免疫学として著しい進歩を遂げた。同種の臓器移植片の拒絶や自己免疫疾患には活性化されたT細胞が主要な役割を果たしている。さらに、これらの免疫学では「活性化されたT細胞は、感染症における病原菌のように取り扱うことができる」という基本概念が確立された。

この概念に従い、免疫抑制剤探索の戦略を次のように構築した³⁻⁶⁾。

- ① 臓器移植の拒絶反応や自己免疫疾患のような生体にとって望ましくない免疫反応は、活性化されたT細胞の増殖を抑制することにより抑えることができる。
- ② T細胞の増殖を抑制する一つの方法として、IL-2の産生阻害がある。
- ③ IL-2の産生を測定することによりIL-2の産生阻害物質、すなわち免疫抑制物質を見つけ出すことができる。その測定は、混合リンパ球反応^{注1)}を顕微鏡で観察することで定性的に可能である。その阻害の程度は、³H-チミジンの取り込みで定量できる。

こうして確立した混合リンパ球反応を用いた免疫抑制物質の探索研究を行った(図3)。1983年4月から開始し、約1年後の1984年3月、カビ約8000株、放線菌約12,000株の培養液をスクリーニングしたところで、放線菌No.9993株の培養液に強力な混合リンパ球反応を有する物質が存在することを見いだした。本物質を生産する放線菌は、筑波山の麓で採集した土壌から分離したことから、*Streptomyces tsukubaensis* No.9993と命名された。

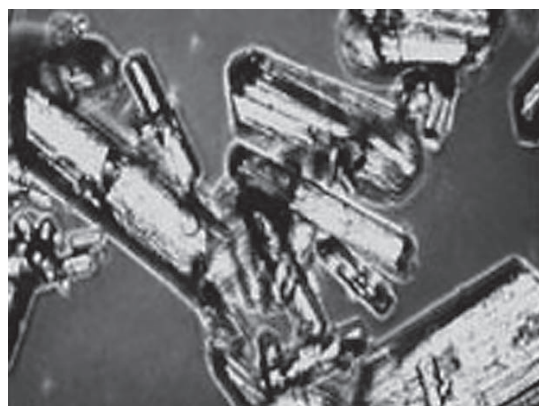
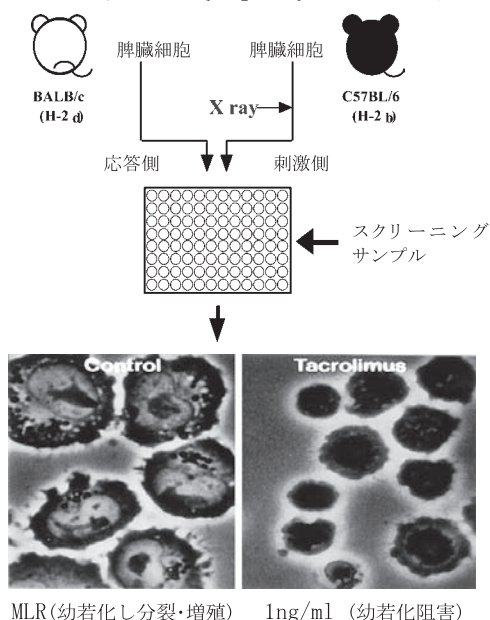
抽出精製・物理化学的性質

活性物質の精製は、発酵液から天然物を単離するために一般的に用いられる方法をいくつか組み合わせて行った。すなわち、発酵液1500 lからHP20カラムへの吸脱着、酢酸エチル抽出、およびシリカゲルカラムクロマトグラフィなどにより分離した。得られた粗結晶をアセトニトリルにより再結晶し、13.6 gの無色ブリズム晶(図4)を得た。その物理化学的性質は、アルコール、アセトン、

注1) 混合リンパ球反応:mixed lymphocyte reaction (MLR)。主要組織適合抗原の異なる2種類のマウス脾臓細胞を混合すると互いに刺激を受けて、成熟前の幼若な形態を取り分裂・増殖するようになる。

混合リンパ球反応

MLR (Mixed Lymphocyte Reaction)



酢酸エチル、クロロホルムに可溶、水には難溶である。融点は127～129℃、分子式は $C_{44}H_{69}NO_{12} \cdot H_2O$ であった⁵⁾。FK506の化学構造は、化学分解、機器分析データを基に推定し、X線結晶構造解析によりその相対配置を決めた後、FK506を分解して得られたL-ピペコリン酸の立体を基に絶対配置を決定した^{6,8)}。本物質は当初FR900506 (FR, Fujisawa Research No.)、開発段階に入りFK506 (FK, Fujisawa Kaihatsu No.) さらに開発終了後にタクロリムス (一般名の命名法にのっとり、つくば市Tsukubaで発見されたことを示すt、マクロライド系macrolideを意味するacrol、免疫抑制剤immuno-

suppressantを意味するimsをつなげてtacrolimus) と命名された。本編では、原則FK506を使用する。

No.9993株の発酵液中には、主成分のFK506以外にも、FR900525, FR901154, FR901155, FR900520, FR900523など数種類の微量類縁物質が存在し、それぞれ単離して構造を決定した⁹⁾。

薬理作用

FK506は、混合リンパ球反応を阻害する物質として発見されたが、T細胞が関与する*in vitro*^{注2)}の免疫反応を強く抑制することが明らかになった。その反応としては、細胞障害性T細胞、IL-2、IL-3、INF- γ の産生抑制、IL-2受容体の発現抑制などがある。これらの抑制作用は、CsAと比較して50～100倍強力であった。次に*in vivo*^{注3)}での免疫抑制作用をみるためメチル化牛血清アルブミン誘発遅延型過敏反応、および羊赤血球誘発マウス抗体産生に対する効果を調べたが、いずれもCsAより低い用量でこれらの反応を抑制した³⁻⁶⁾。

さらにその後、実験的自己免疫疾患に対する効果を各種実験動物モデルで調べ、タイプIIコラーゲン関節炎、アジュバント関節炎、アレルギー性脳脊髄炎に対する有効性が認められた。また、ブドウ膜炎、1型糖尿病、全身性エリテマトーデス (SLE) などの各種自己免疫疾患に対する効果も藤沢がサンプル提供した他の研究グループで検討され、優れた発症抑制効果が認められた。このことは、本剤が移植領域のみならず炎症・アレルギー疾患を初めとする種々の難治性疾患に対しても有効であることを示しており、本剤の開発研究の限らない発展性を示唆するものであった。

安全性試験・毒性試験

新薬申請の際には、ヒトに対する安全性を保証するため、各種の短期、長期の毒性試験を実施することがガイドラインで定められている。特に、FK506は強力な免疫抑制作用があり開発の初期段階においては、両刃の剣の性質を有しているのではないかと懸念されていた。1987年5月から順次、ラットおよびヒビでの急性(単回)・亜急性(13週間)・慢性(1年間)毒性試験、ラットおよびウサギでの生殖試験、ラットおよびマウスでのがん原性試験などを実施した。FK506の毒性学的研究の結

注2) *in vitro* : 「試験管内で」の意。試験管やシャーレなどの中で動物やヒトの細胞や組織を用いて薬物の反応を調べる試験のこと。

注3) *in vivo* : 「生体内で」の意。マウスやラットなどの実験動物を用い、生体内に直接薬物を投与し、その反応を調べる試験のこと。主に前臨床試験として行われる試験を指す。

果、体重増加の抑制、比較的高用量で脾臓（空胞化と脱顆粒化。これらはFK506の投与を中止すると消失）と腎臓（皮質・髓質境界部の石灰化）に毒性を示すことが判明した。患者さんにFK506を投与する場合、その血中濃度が高すぎるとこれら臓器が障害されるため適切な濃度にコントロールする必要があることがわかった。

血中濃度測定法の開発

安全性と有効性両面の指標となる血中濃度モニタリングシステムの確立は本剤の臨床使用上不可欠なものであり、開発研究の中でも非常に重要なポイントであった。

血中濃度をモニターする方法として通常紫外線吸収法が用いられるが、FK506はその構造中に紫外線吸収部位を持たないこと、また、有効性が高く投与量が低いため、低濃度まで測定できる酵素標的免疫吸着測定法（ELISA法）を開発した。抗FK506マウスモノクローナル抗体およびFK506標識パーオキシダーゼを用いる方法である。これにより、血液中のFK506濃度が50 pg/mlまで測定可能となった。さらに1993年にはアボット（Abbott）社との共同研究で、より簡便でベッドサイドでの測定が可能な自動化IMXアッセイシステムを確立した。

製剤化検討

FK506は水にほとんど溶けない（室温で水に対する溶解度は約2～3 μg/ml）ため製剤的な工夫を施した。注射用は溶解補助剤入りのアンプル製剤、経口用は固体分散体処方のカプセル剤を開発した。注射用製剤は、通常、生理食塩水か0.5%ブドウ糖液で希釈し、24時間持続点滴静注で使用する。

体内動態（¹⁴C-FK506製造）

FK506を経口投与した場合、主に十二指腸と回腸より吸収され、その最高血中到達時間（Tmax）は約1時間で、生物学的利用能（BA, bioavailability）は14%であった。¹⁴C-FK506を経口投与すると放射能は主として肝、腎および消化管に分布し、24時間後にはほぼ消失した。また、胎児や乳汁中にはほとんど移行しないことが判明した。代謝物の検討において、FK506投与後に採取した尿、フンおよび胆汁中には、未変化体はほとんど検出されず、非常に多くの代謝物が少量ずつ存在した。これら代謝物は、各種類縁物質の脱メチル体と同定されている。さらに、本剤は主に胆汁を介してフン中に排泄され、尿中への排泄は少なかった。ヒトに静注時の消失半減期は全血で約8時間であり、また経口投与時のTmaxは4.2

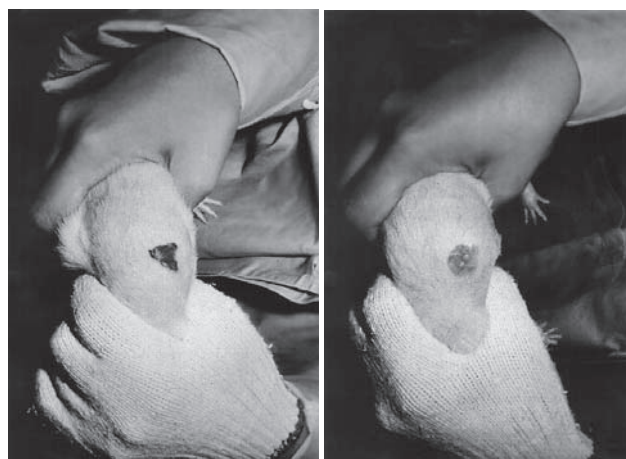
時間で、BAは約20%であった。ヒト肝ミクロソームによる代謝活性は、ニフェジピンやCsA添加により強く阻害されることも明らかになった。

薬物動態、薬物代謝研究に用いた¹⁴C-FK506の製造法検討と実際の製造は探索研究所の研究者が行った。その方法をごく簡単に述べると、生合成前駆体であるピペコリン酸の¹⁴Cラベル体〔アマシヤム（Amersham）社（現GEヘルスケア）で合成的に製造〕を生産菌に取り込ませ、培養液を精製することで得た。開発が進むにつれその必要量も増えたため、取り扱える放射線量の関係から社内施設で製造することができなくなり、アマシヤム社の英国ウェルズにある施設を借り、1990年12月に筆者らが自ら出張して製造したこともあった。

移植実験

FK506の*in vivo*病態モデルでの効果は、最初ラット皮膚移植モデルで調べた。F344ラットの皮膚を主要組織適合抗原の異なるWKAラットに移植すると平均6.4日で拒絶される（図5左）。一方、FK506を皮膚移植直後から筋肉内に投与すると0.1 mg/kgでは8.4日、0.32 mg/kgでは14.0日、3.2 mg/kgでは42.9日とそれぞれ生着期間が延長された（図5右）。次にラット心臓移植での効果を調べた。無処置群の移植心は平均6日で拒絶されたが、FK506投与群では0.32 mg/kgの筋肉内投与で全例に4か月以上の生着が見られた。続いてイヌの腎臓移植試験を実施したが、明らかな延命効果が認められた。いずれの試験においてもFK506の活性はCsAを10～30倍上回ることが明らかとなった。

動物での臓器移植試験については、千葉大学医学部第二外科落合武徳講師（千葉大教授を経て、現在は千葉大



Control (拒絶される)

FK506 投与 (生着)

図5. 移植片

名誉教授)らの協力を得て、経口あるいは筋肉内投与で検討を進めた。このきっかけは、1984年に大阪市で開催されたがん免疫療法研究会である。当時、藤沢の探索研究所長であった青木初夫(その後社長を経てアステラス製薬会長・相談役に)が懇親会で落合講師に「最近、筑波で見つけた物質は、シクロスポリンより100倍も強い免疫抑制効果があるんです」とFK506の話をしたことによる。落合講師は、移植に使えると直感。その後、毎週土日に筑波の探索研究所に研修医10人程を連れて通い、移植実験を行った。

作用機序

FK506の免疫抑制作用のメカニズム解明は、ハーバード大学のシュライバー教授を筆頭にいくつかのグループにより広範囲に進められた。その結果、T細胞の表層から核に至るシグナル伝達経路に關与する標的遺伝子や分子が明らかにされた(図6)。中でも重要な発見の一つにFK結合タンパク質(FKBP)と呼ばれる細胞内受容体がある。シュライバーらはFK506それ自体には薬物としての作用はなくFKBPと結合して複合体を作ることにより初めて活性を発現することを示した。また、その複合体形成に際してFK506およびFKBPは双方ともに立体構造を変えることを明らかにした。FK506の活性体であるFK506-FKBP複合体の標的分子として脱リン酸化

化酵素のカルシニューリンが同定され、T細胞のシグナル伝達経路の重要な部分が解明された。このことから、FK506はゲノム創薬からは見いだすことは困難であると言える。シュライバー教授はこうした研究を通して「ケミカルバイオロジー」という新しい研究分野を築き上げた。これは、有機化学的手法を分子生物学的手法と組み合わせ、核酸やタンパク質などの生体内分子の機能や反応を分子レベルで解明しようとするものである。またFK506の全合成を最初に成し得たのも彼である。FK506の構造決定に関わった有機合成化学研究者はFK506の全合成をしたかったに違いない。しかし、企業内創薬研究者には「新物質の発見とその開発」に注力することが求められているので、藤沢では全合成への挑戦を断念した。

臓器移植の歴史と脳死臨調 (免疫抑制剤を取り巻く環境変化)

1984年3月に発見されたFK506は、1987年5月から急性、亜急性、慢性毒性試験を開始し、前臨床試験終了までは、千葉大落合講師のご協力もあり比較的順調に進めることができた。しかしながら、あらかじめ予想されたこととはいえ、日本国内ではほとんど移植手術が行われていない状況で、臨床試験を進めるのは簡単ではなかった。そこで、臨床開発段階の話始める前に臓器移植の歴史と当時の臓器移植を取り巻く状況をまとめておく。

1967年12月、南アフリカ共和国で世界初の心臓移植が行われて以来、欧米をはじめ海外の国々では脳死を「ヒトの死」として臓器移植が行われてきた。我が国の臓器移植は1958年に法制化された角膜移植に始まり、ついで腎移植が実現し、骨髄移植も増えていった。1968年8月には札幌医科大学・和田寿郎教授により我が国初の脳死者からの心臓移植が行われたが、この手術に関しては後に各種疑問が呈せられ、嫌疑不十分で不起訴になったものの刑事告発されたこともあり、死体臓器の移植医療は定着しなかった(法律が整備され2回目の心臓移植が行われたのは30年以上後の1999年である)。近年、医療技術の長足の進歩は、人類の健康と福祉を充実させたが、その反面、人工蘇生術の進歩により生死の境を明確に区切ることが困難となる状況も多くみられるようになった。

1988年1月、日本医師会生命倫理懇談会は、2年近い検討の結果、脳死を個体死と認め、脳死者からの臓器摘出は脳死者本人の生前の意思や家族の同意があれば可能であるとの報告書をまとめた。さらに、1989(平成元)年3月には首相の諮問機関として「臨時脳死及び臓器移

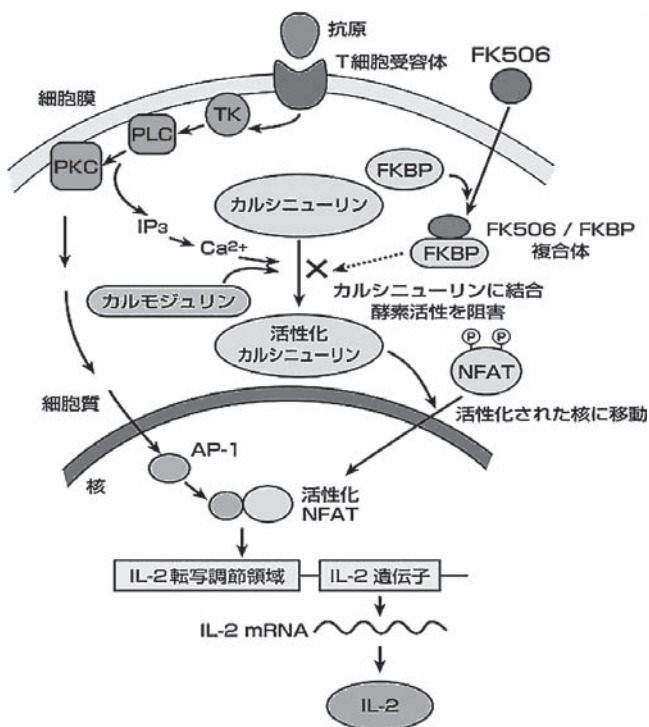


図6. タクロリムスの作用機序

植調査会」(脳死臨調)が設置された。約2年間の調査・検討を行い、1992年1月になって最終答申が提出された。答申は、脳死をもってヒトの死とすることについて、大多数の委員は賛意を示したものの一部の委員には反対があった。しかし脳死体からの臓器の移植には委員全員がその意義を認めたという内容であった。結論としては、ヒトの死についてはいろいろな考えが世の中に存在することに十分な配慮を示しながら、良識に裏打ちされた臓器移植が推進されることにより一人でも多くの患者が救われることを希望するというものであった。

脳死臨調は、厳しい条件を付けながらも脳死移植推進を打ち出した。そして、ドナーカードの普及、インフォームド・コンセントや臓器移植ネットワークの構築を含め、解決されなければならない多くの課題があることを指摘した。その後、各方面の努力により臓器移植法が1997年7月16日に制定、同年10月16日に施行された。移植の対象臓器は心臓、肝臓、腎臓、眼球、肺、脾臓、小腸とすることを施行規則で定め、脳死判定は竹内基準に準拠し、補助検査として聴性脳幹反応の実施を推奨した。ただし、当面は、心停止後の腎臓および角膜の摘出に限るが、本人の書面意思表示がなくても家族の承諾で脳死判定ができるようになり、臓器提供の状況は大きく変化している。しかし、日本では、肝臓に関しては今もって生体肝移植が主流であり、他臓器を含めても脳死移植は圧倒的に少ない。

タクロリムス開発ステージへ

国際学会発表-1 1986年8月、ヘルシンキで開催された第11回国際移植学会において、千葉大学の落合講師からFK506の動物試験データ(ラット心移植)が発表された。これは国際学会における最初の研究発表として、数多くの移植学者の興味を引いた。その直後、同学会を終え来日中であったピッツバーグ大学のトーマス・E・スターツ教授ならびに藤堂^{さとら}省助教授から藤沢に接触があった。取締役研究開発本部長の今中宏(後に専務)が面会し、「FK506の試験を自分の責任で行いたいので継続的にサンプルを提供してほしい」旨の申し入れを受けた。評価用のサンプルにより、FK506の効果についてはある程度の感触を得たうえでの要請であった。

当時、我が国での臓器移植は腎臓移植が若干行われている程度で、臓器移植を対象とする免疫抑制剤の開発を国内で進めることは難しく、臓器移植が進んでいる欧米で開発を進める必要があると考えていた矢先のことである。すでに肝臓移植で有名であったスターツ教授からの申し入れであり、藤沢は教授の意向を快諾した。ピッ

ツバーグ大学では藤堂助教授が中心となって、ラット、イヌ、ヒビでの移植試験を行い、薬理作用や安全性など詳細な検討が進められていた。動物種差はあったものの、いずれの動物種においてもFK506の有用性が確認された。これらの結果は、翌1987年6月にスウェーデンで開催された第3回国際移植学会のFK506サテライト・シンポジウムにおいて発表された。なお、本シンポジウムにおいては、落合講師らによるイヌの腎移植の成績も発表された。これらの研究成果報告により、FK506の有用性は一躍国際的な脚光を浴びるに至った。

ヒトへの投与 先に述べたように、1987年からは順次安全性試験、一般薬理試験、体内動態の検討など前臨床試験を実施し、注射用および経口用製剤を開発した。また、モノクローナル抗体を用いた酵素免疫法による高感度の血中濃度測定法(酵素標的免疫吸着測定法)を開発した。FK506は、発見以来種々の困難を乗り越えていよいよ人体に投与される段階を迎えることになる。

基礎試験で良好な感触をつかんだスターツ教授は、FDAに臨床試験の許可を求めるIND(Investigational New Drug)申請を1986年12月に行い、大学の学内倫理委員会の承認を経て、1989年3月、FK506を世界で初めて、肝臓移植を受け他剤が無効であったため慢性肝拒絶となった27歳の女性患者に投与した。シクロスポリンとFK506両剤を投与していた患者の容体が副作用により急変しこのまま投与を続けられなくなったとき、スターツ教授は出張中であったが、電話で「シクロスポリンの投与中止」を指示した。投与し続けたFK506は劇的な効果を発揮し、患者は回復し現在に至っている。逆に「FK506の投与中止」の指示が出されていたら、副作用が強いためFK506の開発に消極的であった社内の空気を引っ繰り返すことはできなかったかもしれない。

FK506の臨床現場での使用は、従来の治療法で拒絶反応が生じたり、合併症や副作用のため治療が維持できなくなったりした場合の救急的救命投与から始められた。その後、肝臓移植ばかりでなく腎臓および心・肺移植にも使用されるようになった。この段階で、FK506の有効性は肝臓移植において優れ、その他の臓器移植においてもシクロスポリンに勝るとも劣らないこと、さらに副作用も軽度であることが判明した。

国際学会発表-2 1989年10月、バルセロナで開催された第4回欧州移植学会のサテライト・シンポジウムにおいて、臓器移植の中でも特に肝臓移植時の拒絶抑制に対するFK506の優れた有効性と安全性が報告された。1991年8月にピッツバーグで開催された第1回FK506国際会議(ピッツバーグ大学主催)、1992年8月の第14

回国際移植学会（パリ）などで発表を重ね、1993年5月にヒューストン市で開催された第12回米国移植学会ならびに第19回米国移植外科学会では、欧米で実施された肝臓移植の比較臨床試験成績が発表され、既存薬剤に対する臨床的優位性が確認された。10月の第6回欧州移植学会（ギリシャ）では欧州で行われた臨床試験データを中心にレビューが行われ、欧州での評価を高めた。

1994年8月28日から9月2日までの6日間、京都において第15回国際移植学会世界会議が開催された。海外から1500人、国内から500人、合わせて2000人を超える医師、研究者が京都国際会議場に集い、熱気のこもった議論が繰り広げられた。FK506に関する発表は約60題、プレナリー・セッション（本会議）ではFK506のセッションが設けられ、欧州および米国でのそれぞれの多施設肝移植臨床試験（次項参照）、ならびに日本での多施設腎移植臨床試験の成績が発表された。これらの成績により、FK506の評価がさらに高まることになった。

大規模臨床試験

藤沢では、1990年の後半から欧米の開発拠点を通じ、米国12施設、欧州4か国8施設において肝臓移植を中心に臨床試験を開始した。さらに世界的に拡大されたFK506の開発プロジェクト^{ひとし}について、同年研究開発本部に開発本部長 大保同（後に常務）をリーダーとする特別プロジェクトを編成した。

この間、1989年10月18日付け「ニューヨークタイムズ」第1面に、ピッツバーグ大学でのFK506の臨床成績が大きく取り上げられた。11月には英国保健省から外交ルートを通じて厚生省（当時、2001年1月から厚生労働省、厚労省）にFK506のサンプル提供要請があり、肝臓移植を受けたものの既存の薬剤が無効で、重篤な拒絶反応を示している英国人患者を救うため、特例措置としてサンプルをロンドンへ緊急空輸したこともあった。さらに1991年4月、バーバラ・ブッシュ米国大統領夫人主催の臓器移植関係者を招いてのレセプションがホワイトハウスで開かれ、当時の社長・藤澤友吉郎が日本からただ一人招待されるなどFK506の評価は日増しに高まっていった。

我が国では、1989年11月に島根医科大学（現島根大学医学部）で先天性胆道閉塞症の小児への国内初の生体部分肝移植が行われた。この移植では、翌年のゴールデンウィークに、シクロスポリンで拒絶が抑えられなくなってしまったので人道的立場からFK506を提供してほしいとの病院からの要請があった。これに応じ、厚生省の許可の下、FK506開発担当者が休日の会社に保管

されていた臨床試験用のFK506注射用製剤を取りにいき伊丹空港から飛行機を使い持参し、救命的投与が行われたというエピソードがある。その後、他の施設でも同様の移植が行われるようになった。藤沢では1990年6月から、京都大学を中心にFK506の生体部分肝移植の臨床試験を開始した。1991年10月までに36例のうち24例にFK506が投与され、肝移植後の拒絶反応に対する高い有用性が明らかとなり、他の施設でも本剤使用に対する要望が強くなってきた。

申 請

前項で述べた京都大学での臨床試験結果を基に、1991年12月に希少疾病用医薬品^{注4)}（「肝臓移植における拒絶反応の抑制」を適応症）としてFK506（商品名プログラフ）の新薬製造申請を厚生省に行った。

海外においては、まず1993年6月にドイツでプログラフの新薬承認申請を行ったのに続き、翌7月には米国でフジサワUSAから、さらに12月に英国でも申請を行った。1994年に入ってから、2月にフジサワ・カナダ・インク（フジサワUSAの子会社）を通じてカナダで、さらに、スペイン（2月）、イタリア（4月）、フランス（5月）と順次承認申請を行った。その後も、オーストリア、ベルギー、オランダ、スイス、アイルランド、フィンランド、ノルウェー、スウェーデンと申請国を拡大して行った。

工業化研究

FK506の動物モデルでの有効性が明らかになるに従い、免疫抑制剤としての開発が本格的に開始された。医薬品を開発するためには、有効性のみならず、臨床試験の前に安全性や代謝研究、また安定性など物性研究や製剤化検討などが必要である。これらの試験・研究を実施するには大量のFK506原末が必要となるため、さらなる生産性向上・純度アップの検討を行った。

発見当初、探索研究所・発酵担当にて培地組成や培養条件の最適化が行われ10倍以上の生産性向上がなされた。その後、1986年から前臨床評価用のサンプル製造を目的とした菌株育種、培地培養条件の改良を含めた生産力価向上、発酵スケールの増大および抽出精製法の改

注4) 希少疾病用医薬品：オーファンドラック（Orphan Drug）とも言われる。難病の治療のために必要な医薬品にもかかわらず、患者数が少ないため開発が困難な医薬品。日本の場合、対象患者数5万人未満の疾患に用いられる医薬品、代替医薬品や治療方法がない、既存の医薬品と比べ著しく有効性・安全性が高いなど医療上特にその必要性が高い医薬品。優先審査、開発費助成、優遇税制、最長10年までの再審査期間延長などの支援策がある。

良が名古屋の工業化第二研究所（工二研，現生物工学研究所，つくばに移転）で行われた。その結果，トンスケールのタンク発酵でさらに10倍以上高い生産力価（単位発酵液中のFK506量）が得られ，1ロットあたりの収量も大幅に増大し，開発のために必要な大量の原末供給が可能となると同時に，FK506原末製造方法が確立された¹⁰⁾。これは主として生産菌の改良による生産性向上と微量に併産されるFK506類縁物質を精製によって除去することにより達成された。この過程で特に困難を感じた点は，①生産菌の気中菌糸の脱落，②培養中の培地の粘度が高まることによる溶存酸素量低下への対応，③用いる培地原料のロット差による生産力価や類縁物質の生産比率の変動などであった。そこで，工二研としては，リスク管理の一環として自主的に生産性が向上した新しい変異株を取得し，薬事当局に届けた製造法の幅の中で，スラント培地，種培地，生産培地および精製法をその生産菌株に合致するように最適化を図り，最悪の事態に備えるバックアップ菌株とした。

また，工業化研究において，不可欠な基盤技術の1つとして，FK506および多数の類縁物質を含む不純物の定量が挙げられる。そのためのHPLC定量法の確立は非常に重要な課題であった。FK506は含水溶液中でシス・トランス変換など複雑な互変異性体構造を取るものでそれらの出現を抑える必要があるが，この解決は容易ではなかった。最終的にはカラム温度を高温にする，界面活性剤を加えるなどの工夫をすることでこれらの問題を解決した¹¹⁾。さらに，日米欧同時開発を実現するため，FDAやEMA（European Medicines Agency，欧州医薬品審査庁）への対応，国際基準のGMP^{注5)}への適合対応，環境への配慮にも取り組んだ。

生産体制

1989年のスターツ教授らによる臨床試験や，その後の自社での多施設臨床試験の良好な結果により，FK506の製品化の夢が広がり，FK506原末工場建設の機運が高まるなか，最終製造ノウハウの確立を本格化させた。

FK506は，発酵工程，精製工程，製剤，包装工程を経て商品化される。同じように発酵工程を経て生産されるセフェム系抗生物質製品の場合は，酵素で側鎖を切断し中間体7ACAを結晶として得ることができるため，それを原料として有用性を高める新たな側鎖を合成的に

導入した後の開発候補品の精製は容易である。しかし，FK506の場合は，発酵液の中に培地由来成分あるいは生産菌の一次代謝産物などの多数の夾雑物，さらには非常に構造が類似した多くの類縁物質を含んでいる。この発酵液から高純度のFK506を結晶として取り出すためには，結晶化工程の前までにそれら多種多量の不純物を何段もの精製工程により除去しておくことが重要で，さまざまな技術と細心の注意が要求される。精製工程は大きく分けて，生産菌からの抽出・分離，吸着樹脂，クロマトグラフィーによる類縁物質の分離除去，結晶化からなる。FK506は微量吸入で生体に強い免疫抑制作用を示す物質であるため，生産担当者（特に，大量の粉末を扱う精製・製剤工程の作業員）の環境には十分な安全対策を施さなければならない。この点が，今まで藤沢が扱ってきた他の製品とは大いに異なる点である。大阪工場内のFK506製剤工場での作業については，宇宙服のようなエアラインスーツの着用，作業室外に原薬が飛散しないように陰圧にした作業環境，特別に設計された排水・廃棄物処理施設など，万全の安全対策を施した。

ブログラフは，特に欧米での需要が多い国際商品であり，供給を円滑に行うため，最終製品は消費地に近い場所で生産することが求められた。このため，原末は富山工場で生産し，欧米向けの製剤・包装はフジサワ・アイランド（FIL）ケリー工場（1992年8月21日竣工）が受け持ち，国内向けの製剤・包装は大阪工場が受け持つという，グローバルな生産・供給体制を取ることにした。そのため，ケリー工場とは緊密に連携し，作業データの交換，GMPの浸透などを図った。

工場建設（富山）

1992年1月，立山連峰を望む富山平野の神通川河畔に富山工場は竣工した。この用地は，1981年に取得していたが，それから10余年を経ての完成となった。富山工場は当初から発酵工場にと考えられていたが，セフェム系抗生物質との交差汚染を避けるために，セフェム系化合物以外の発酵を行うことに計画変更していた。これは，ペニシリンショック様の重篤アレルギーを起こさないための規制に準じたものである。

FK506の発見，開発成功によって，その発酵ならびに原末製造工場としての富山工場建設の話が急浮上した。そして「将来の生産体制を先取りした工場」として当時最新の技術を盛り込んだ。その一つは，発酵工程と精製工程の夜間無人運転である。コンピュータ制御により各工程は自動化され，その状況は監視室のディスプレイで監視されている。さらに停電，火災，地震などに対

注5) GMP: Good Manufacturing Practice. アメリカ食品医薬品局（FDA）が1938年に定めた医薬品などの製造に関する品質管理基準。日本では，薬事法に基づいて厚生労働大臣が定めた品質管理基準がそれに当たる。

する安全性を高めるためのシステムを加えて夜間無人運転を可能とした。また、「従来の考え方から一歩進んだ安全対策」をモットーに、生産設備の密閉化、高活性物質を封じ込めるための室内陰圧化、排水の化学処理・活性汚泥処理などを具体化した。

1992年7月、富山工場から「プログラフ注射用原末および経口用処理原末」の最初のロットをケリー工場向けに出荷した。ケリー工場ではこれらの原末を用いて製剤・包装工場のプロセス・バリデーション (PV)^{注6)}を実施した。FDAの査察^{注7)}をパスして初めて富山工場からの原末の輸出とケリー工場からの製品の対欧米輸出ができるようになる。富山工場でのプログラフ原末輸出に関するFDA査察は1993年12月に、その後のケリー工場査察も問題なく終了した。

FK506はヒトの生死に関わる薬剤であり、製品供給をストップさせるわけにはいかない。そのため、生産用の菌株は100年間製造し続けるのに必要なだけのバイアル本数を液体窒素素保存するとともに、地震や火災、あるいは停電などによって製造できない状況も想定し、1年分の製品あるいは原末を保管することをポリシーとした。さらなるリスク管理として、「100年分の生産菌を確保しておいたとしても、万が一にも品質低下をきたすようなことが起きないとも限らない」と考え、工二研が自主的に別系統の生産菌株を確保し、同等性まで保証しておいた。ある日突然FK506類縁物質が大量に生産されるようになってしまい(おそらく培地成分のロットが変わったことでその不純物が増えたと考えられる)、FK506の収量が大幅にダウンしたことがあった。そこで、FDAやEMAの許可を得て工二研が自主的に確保しておいた菌株に切り替え事なきを得たという事例がある。このように生産菌株は生き物であるため、幾重にもリスク対応の手を打っておくことが望ましいと考えている。

承認、発売、効能・効果追加、剤型追加

プログラフ(注射液, カプセル) 先に述べたように、1991年12月に厚生省に提出した免疫抑制剤プログラフの新薬製造申請は、1年半後の1993年4月に製造承認を

得て、翌5月に薬価収載され、6月に注射液とカプセルを発売した。適応症は「肝臓移植における拒絶反応の抑制」であり、薬価算定に当たっては本剤の優れた薬効が評価され、厚生省により1992年の薬価新算定方式導入後初の画期性加算(10%強)が加えられた。開発番号FK506として国内外の注目を集めてきた画期的新製品が、世界に先駆けて開発国である日本で発売されたのである。

商品名「プログラフ」は、英語のプロテクト(保護する)とグラフト(移植片)に因んで命名された。発売当時、脳死移植が行われていない我が国では、年間数10例の生体肝移植と海外で移植を受け帰国した患者のみがこの薬剤の対象で、施設や症例とともに販売対象は非常に限られていた。しかし、先端医療に使用する薬剤であるため、臨床専門家から要求される薬剤情報の要求水準は非常に高い。さらに、専門家の本剤への関心は非常に高く、世界各国から数えきれないほどのサンプル要求があった。当時、国内についてだけでも約500グループに研究用原末の提供を行っており、これら施設に対する正しい情報提供と正確なデータの収集活動を行い、また、医療機関などからの説明会実施要請などにも適切に対応する体制を整えた。すなわち、目先の業績に捉われず、中・長期的視野に立った学術情報活動を着実に展開する方針を取った。

1994年9月には「腎臓移植時の拒絶反応の抑制」に対する効能・効果を追加申請し、1996年4月に承認され適応症が追加された。2000年9月には全身性重症筋無力症(希少疾病用医薬品指定)への適応が追加承認され、関節リウマチ、ループス腎炎(希少疾病用医薬品指定)など自己免疫疾患用剤としても使用されるようになった。2009年7月には、「難治性の活動期潰瘍性大腸炎」の適応が追加された。

海外では、すでに述べたとおり、1993年6月から1996年にかけて、ドイツ、米国、英国をはじめ欧米各国で新薬承認申請を行ったが、この結果まず米国で1994年4月に承認を受けた。ついで英国では最優先審査薬の取り扱いを受け、同年6月に承認を受けた。なお、英国においては肝移植の他に腎移植が初めて加わり、「肝移植および腎移植における拒絶反応の予防と他剤無効例での拒絶反応の治療」が承認された。まず、米国、英国での承認を受け、いよいよ待ち望んだ海外発売のときを迎えた。1994年6月、フジサワUSA・インクを通じて米国でプログラフを発売した。これは、プログラフが海外市場に印した最初の一步であるとともに、日本の製薬企業が海外で独自に臨床試験を含む開発を行って発売にこぎつけ

注6) プロセス・バリデーション: Process Validation (PV). 厚労省GMPでは次のように定義している。「製造所の構造設備並びに手順、工程その他の製造管理および品質管理の方法が期待される結果を与えることを検証し、これを文書化することをいう」

注7) 査察(海外規制当局からの): 原末(原薬)や製剤を輸出するとき、輸出先の国の当局がその国の国民の利益を損なわないために、それらがGMPに則って正しく製造されているかを製造記録、手順書などの文書類、設備の点検・清掃記録、作業者の教育訓練記録などを通してチェックする。

た初めてのケースであった。さらに10月には、英国でフジサワ・リミテッドを通じて発売し、欧州での最初の一歩を印した。これにより、プログラフは、いよいよ日米欧三極でその第一歩を踏み出すこととなった。発売から10年後の2003年には67の国や地域で販売され、2012年現在では約100の国と地域で販売されている。

プロトピック軟膏（タクロリムスの軟膏剤） 1997年6月、アトピー性皮膚炎治療剤プロトピック軟膏の成人用（0.1%製剤）を日本で申請し、1999年6月に承認を得て、11月から世界に先駆けて日本で販売を開始した。プロトピック軟膏は、Topical Immunomodulators (TIM, 免疫調整外用剤) というカテゴリーに分類される新しい薬剤で、ステロイド外用剤の発売以後40年ぶりとなるアトピー性皮膚炎治療剤として画期的な意義を持つ。

日本における小児への適応追加については、2000年7月に臨床試験を開始し、2003年7月小児用0.03%軟膏の製造承認を取得、12月の薬価収載と同時に発売した。

一方、米国では米国子会社フジサワ・ヘルスケア・インク (FHI) が1999年9月に0.1%と0.03%軟膏の2つの濃度でFDAに対して新薬承認申請を行い、2000年12月に米国での販売承認を取得した。発売に際しては、FDAの承認内容に基づき、0.1%軟膏を成人用、0.03%軟膏を小児用（2歳から15歳）および成人用として、2001年2月に販売を始めた。小児用の発売はこのときの米国が世界で初めてとなる。さらに米国に続きカナダでも2001年9月に発売、グローバル展開を始めた。発売5年後の2004年現在34の国と地域で販売され、現在では約70の国と地域に広がっている。

細粒・顆粒と適応追加 有効性を最大化し副作用を最小化するための適切な血中濃度を維持するために、細やかな用量調節が容易となるように顆粒剤を開発し、1999年9月には剤型追加申請と共に、重症筋無力症の適応追加申請を、さらに2000年2月に心臓、肺、脾臓、小腸への適応追加申請を行った。同年9月にまず、「全身性重症筋無力症（胸腺摘出後の治療においてステロイド剤の投与が効果不十分または副作用により困難な場合）」が適応症として承認された。翌2001年1月に剤型追加で顆粒剤の承認を取得し、6月に注射液・カプセル・顆粒が心移植での適応承認を取得した。

経口用徐放性製剤と適応追加 社会復帰された移植患者さんは何種類もの薬剤を服用し続けなければならない。患者さん方の服薬利便性を高め、服薬コンプライアンスを向上させる（医薬品の服用がより規則正しく守られやすくなる）ことで薬剤価値を高める目的で、1日2回

服用であったプログラフの1日1回服用でよい経口徐放性製剤を開発した。この製剤特許を取得することでFK506の付加価値を増大させることができる。2006年5月に厚労省に申請、2008年7月16日承認を得て、10月28日に商品名グラセプター Graceptorとして発売した（海外商品名：アドバグラフ AdvagrafあるいはプログラフXLとして欧州、米国、カナダなど19の国と地域で発売）。この時点での適応症は、「腎臓、肺、肝臓、心臓、脾臓移植における拒絶反応抑制」および「骨髄移植における拒絶反応および移植片対宿主病の抑制」であった。なお、日本では2000年に「小腸移植における拒絶反応の抑制」の追加適応申請をしたが、国内症例が少なかったことから承認には至らなかった。その後、国内で18症例が集積されたので2011年4月に再度申請し、同年7月28日承認取得となった。徐放性製剤については、2012年現在約40の国と地域で販売している。

点眼薬 眼科領域においては、春季カタルと通年性アレルギー性結膜炎の適応症取得をめざして開発研究を行ってきたが、眼科領域はきわめて専門性の高い領域であることから、2002年1月に、日本における製造および販売に関する契約を千寿製薬と締結しその権利を委譲した。「タクロリムス点眼液」は、2005年12月13日に厚労省より希少疾病用医薬品に指定された。その後、千寿製薬は、厚労省に製造申請を行い、2008年1月25日に「抗アレルギー剤が効果不十分な場合の春季カタル」の治療薬としての承認を得、4月の薬価収載を待って商品名「タリムス点眼液」として発売した。2012年現在、点眼薬の発売は日本だけである。

プロトピック軟膏新製剤棟

アトピー性皮膚炎治療剤プロトピック軟膏はグローバル戦略製品として、FHIのグランドアイランド (GI) 工場（ニューヨーク州）で製剤化と包装を行っており、その完成品を日本に輸入することによって1999年11月から日本市場で販売してきた。米国においても2000年12月にFDAによって販売承認され、販売を開始した。カナダでは2001年9月に発売、グローバル展開を始めた。さらに、欧州で2002年に入ると1月にスイスで、4月に欧州連合のトップを切ってドイツで販売を始め、続いて英国、アイルランド、スウェーデン、オーストリアなどへと拡大して行った。そのような趨勢のもとでプロトピック軟膏に関する日本、米国、欧州での中期的な需要予測をした結果、2002年頃にはGI工場の生産能力を超え、供給不足をきたすことが明らかになった。そのためフジサワグループ内での投資効率と生産拠点分散の必要

性を考慮し、富山工場の敷地内に新製剤棟を建設することにした。2000年4月に着工し、総工費38億6000万円を投じて延べ床面積1万2700 m²の新製剤棟が2001年2月に竣工、生産能力100トン、要員35名で2002年春に出荷を開始した。

FK506原末新製造棟建設

免疫抑制剤プログラフおよびアトピー性皮膚炎治療剤プロトピック軟膏の需要拡大、さらには適応拡大により、早ければ2004年にもFK506原末の需要が現行生産能力を超える可能性が出てきた。一方、工二研では、そのときに備えてかねてより高生産性菌株取得と生産能力向上につながる新製造ノウハウ確立および生産技術の改善を進めてきたが、これらがほぼまとまったこともあり、長期的なFK506原末の需要拡大を視野に新製造棟を富山工場内に建設することが決定した。

医薬品は、外観からは品質の良し悪しを判断できないので、製造方法を管理することで品質を保証（担保）している。そのため、出発物質を定義し、重要工程、重要中間体を設定することと、製造方法の変更を管理するための体制や方法を法律などで規定している。米国の変更管理はGMPに基づいて、①重篤な変更（事前審査）、②中程度の変更-1（30日間の事前審査）、③中程度の変更-2（事後審査）、④軽微な変更（事後確認：報告）となっている。日本では改正薬事法に基づいて、①一部変更承認申請（事前審査）、②軽微変更届出（事後審査）と定められている。また、一部変更申請の場合承認が得られるまで2年程度かかると言われている。新製造法が、「重篤な変更」とみなされ事前審査の対象となり、その承認に手間取って原末の需要が生産能力を超える時期までに新工場が稼働できない事態は絶対に避けなければならない。そのためには当初、新旧両工場で製造した原末の同等性を証明する手間がもっとも少ない、「現行工場を稼働したままで、製造方法も発酵タンクや精製装置のサイズもまったく同じコピー工場を建設」するべきだとする意見が社内で強かった。しかし、工二研としては、折角新しい工場を建てるのであれば、①現行工場の製造方法の問題点を解決し、②可能な限り自動運転できるようにして少人数で終夜運転できるようにし、③1バッチ当たり数倍の生産量を確保し、④省エネ・省資源の環境に配慮した工場を建設したいと考えた。その上で、現行のタクロリムス製造工場は、今後製品化が期待されているミカファンギンのための重要な中間体である脱アシル体FR179642の製造工場に転用できればベストであると考えた。そのために、もっとも規制が厳しい米国FDAに

対する「FK506原末製造方法の変更申請」は可能な限り「軽微な変更（事後確認）」となるよう、最悪でも「中程度の変更-1（30日間の事前申請）」となるよう、科学的に説明できるノウハウ変更を選択することとした。

これらは製造ノウハウであり詳細を説明することはできないが、以下に筆者らの戦略を記す。新しく確立した製造法では、育種改良した高生産能を有する菌に変更し（過去に関連当局の許可を得て変更した実績があり、それに準ずる）、発酵タンクは大きくする。精製工程の各ステップは時間短縮、収率向上、自動化・無人化を意識して変更検討を行った。各工程の役割・目的を保持しつつその持つ意味合いに十分配慮し「分離モード」とそれらの順番は現行法と同じにする。すなわち、最初の培養液からタクロリムスを抽出し固形分と分離する「抽出・ろ過工程」においては、「遠心分離膜ろ過からクロスフロー式セラミックろ過」に変更し無人で自動的に分離できるようにする。続く吸着樹脂工程では「樹脂の種類」を変更し不純物との分離と収量のアップを図る。次の順相あるいは逆相のカラムクロマト工程では「カラムクロマトグラフィーを擬似移動床式クロマトグラフィー」に変更し、使い捨て樹脂から再生可能な樹脂へ切り替える。しかしながら最終の「晶析工程」は重要工程と位置付け、変更しないという方針で臨んだ。事前にテスト機を使い各工程のデータを取得し、これらに新製造法で取得したタクロリムス1水和物の安全性と品質の同等性のデータを添えて「製造方法の変更」を各極の規制当局（厚労省、FDA、EMA）と事前に協議したところ、筆者らの考え方は認められた。また自動化のプログラム作成は、エンジニアリング会社に任せるのではなく、製造ノウハウを熟知した研究所員が自ら行った。さらに「最初の抽出分離工程で使用する有機溶媒」についてはその都度全量を焼却処分していたが、環境に配慮して「蒸留して後のロットの抽出分離工程に再使用する」ことを検討した。ただし、許認可リスクを回避するため新工場に導入する新製造方法とは切り離して別途行い安全性と品質の同等性は担保した上で、データに基づいて当局と事前相談したところ導入が認められた。新工場は総工費80億円で2000年4月に着工、延べ床面積8110 m²の新製造棟が2001年5月に竣工した。発酵槽は2倍スケールの装置を導入したが、今までより少人数で稼働でき、1バッチ当たりの収量は4～6倍となった。

移植に関する最近の動き

2004年から2007年に重い糖尿病患者18人に対し心臓死からの臍島移植が実施されたが、移植の際に使用さ

れる薬剤がBSE感染を引き起こす可能性があるため中断されていた。新しい方法が開発され2012年6月から再開されるのを機に、脳死者からの臍島移植手術の準備を進めており、2012年度中には実施されるであろうとの報道もある。国内の臍島移植希望者は120名程度だという。

2010年の改正臓器移植法全面施行によって道が開かれた小児からの脳死臓器移植であるが、2011年4月に10代前半男子からの臓器提供があったものの、より小さな子供への移植につながる6歳未満からの提供はこれまでなかった。しかし、富山大学病院に低酸素脳症で入院中の6歳未満の男児に2012年6月14日、脳死判定が行われ脳死と判定された。15日には脳死下の臓器摘出が実施され、心臓と肝臓がそれぞれ10歳未満の女児に、腎臓が60代女性に提供された。18日には50代男性に角膜移植が実施された。

脳死移植の事後評価をする厚労省の検証会議によって2012年3月29日にまとめられた「1997年の臓器移植施行後の102例の検証結果」が発表された。2012年3月30日付日経新聞の記事を以下に示す。「脳死下の臓器移植はこれまで268例。うち1999年3月から2011年4月までに臓器提供され検証が終わった102例についてまとめられたもので、2011年末時点で心臓移植を受けた80人のうち76人（95%）が生存し、32人が働いていた。移植された臓器でもっとも多かったのは腎臓。移植を受けた123人のうち112人（91%）が2011年末時点で生存、発病前と同様の状態で社会復帰したのは88人。肝臓移植では、82人のうち65人（79%）、79人に移植された肺では半数が完全に社会復帰していた」

終わりに

FK506の場合、スクリーニング開始から発見まで1年、その後9年の開発期間を経て発売に至るという、当時としては比較的短期間に成就したプロジェクトと言える。しかし、その間には幾多の壁が立ちちはだかった。本編「移

植実験」の項に書いたような千葉大・落合講師との出会い、そして何よりピッツバーグ大・スターツル教授の大胆さがなかったら、「副作用が強いためFK506の開発に消極的であった社内の空気を引っ繰り返すことはできなかったかもしれない」など、さまざまな人との出会いとそれらによってもたらされた幸運が積み重なって画期的新薬として世に送り出すことができたと言える。それ以外にも1) 免疫学の最新知見をいち早く探索研究に応用したこと、2) *in vitro* アッセイに拒絶反応に密接に関連しているリンパ球の幼若化反応を用いたこと、3) アッセイ方法が単純で1年間に1万検体と短期間に多くのサンプルをスクリーニングできたこと、4) 生物活性が同効の唯一の既存薬CsAに比べはるかに強力であったこと、などの要因が挙げられる。この画期的新薬「プログラフ」の発見・工業化に対しては多くの賞が授けられた(表1)。

FK506は、すでに物質特許が切れ、徐放性製剤などの製剤特許が存在するのみであり、ジェネリック医薬品が発売されているが、化学合成で容易に製造される医薬品のように短期間でほとんど置き換わってしまうようなことはなく、「プログラフ」の置き換わりは徐々にしか進んでいない。これは天然物ということもあるが、生死に直接関わる薬剤だからであろう。

FK506の発見・開発は、一朝一夕で成し得た訳ではない。世界中の研究者や研究機関、もちろん藤沢も含めた微生物二次代謝産物由来医薬品の開発という長い歴史的成果の中から誕生したものである。しかしながら、その時々で研究者が何を考えどう行動したかなどの開発秘話のような情報は、それが企業の場合は特に表に出てくることはほとんどなく、一部で共有化されているのみである。ましてや製造に関わるような情報は、科学誌への投稿はもちろん特許すら出さないこともある。日本生物工学会のアドバイザー会議において、元会長で名大名誉教授の小林猛先生が、このような情報は日本の貴重な財産でもあるので、今のうちにしっかり記録し後世に残し

表1. 各種受賞

1995（平成7）年4月	日本農芸化学会技術賞「免疫抑制剤FK506（タクロリムス）の発見と開発」
1996（平成8）年1月	ブリ・ガリエン賞（英国）
1997（平成9）年3月	日本薬学会技術賞「免疫抑制剤タクロリムスの開発研究」
1997（平成9）年9月	日本生物工学会技術賞「免疫抑制剤タクロリムスの工業化研究」
2000（平成12）年1月	中日新聞社 産業技術賞「免疫抑制剤タクロリムス（その発見および工業化研究）」
2001（平成13）年3月	大河内記念賞「免疫抑制剤FK506（タクロリムス）の研究開発」
2003（平成15）年11月	近畿地方発明表彰 文部科学大臣発明奨励賞「免疫抑制剤タクロリムス」
2004（平成16）年5月	全国発明表彰 内閣総理大臣発明賞「免疫抑制剤タクロリムスの発明」

ていくことも学会の社会的使命の一つであると力説された。私も日頃からそのように考えていたところに本稿の執筆依頼を受けたので、よい機会であると考え多少脱線しつつも少し丁寧に周辺の情報を書き添えた。2010年問題で日本発の大型製品が特許切れとなり、その多くがジェネリック医薬品に置き換わったこと、またワクチンや抗体医薬品など海外発の医薬品輸入が増えことで、近年の医薬品産業は1兆円以上の輸入超過の状況であり、さらに貿易赤字は膨らむと言われている。これを読んで、広く生命科学研究を志す若手研究者が、自分も頑張っただけなら幸いである。再び日本発の医薬品が次々誕生し、輸入超過が解消される日が来ることを祈念し、その夢を若手に委ねて本稿を終える。

参考資料

- 1) 藤沢薬品工業：フジサワ100年史 (1994).
- 2) 藤沢薬品工業：明日への飛躍 フジサワ100周年後の11年のあゆみ (2005).
- 3) 向阪正信ら：医学のあゆみ, **168**, 163 (1994).
- 4) 奥原正國ら：日本農芸化学会誌, **70**, 1 (1996).
- 5) Kino, T. *et al.*: *J. Antibiotics*, **40**, 1249 (1987).
- 6) 田中洋和ら：薬学雑誌, **117**, 542 (1997).
- 7) 山下道雄ら：生物工学, **83**, 123 (2005).
- 8) Tanaka, H. *et al.*: *J. Am. Chem. Soc.*, **109**, 5031 (1987).
- 9) Hatanaka, H. *et al.*: *J. Antibiotics*, **41**, 1586 (1988).
- 10) 添田慎介ら：生物工学, **76**, 389 (1998).
- 11) Akashi, T. *et al.*: *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **14**, 330 (1996).

お知らせ

2年間にわたって連載してきました「生物工学基礎講座—バイオよもやま話—」は、91巻3号をもちまして一旦、終了させていただきます。これまでのご愛読、ありがとうございました。

なお、これまでに掲載された記事は、夏までには書籍化の予定です。楽しみにお待ちください。

91巻4号からは「続・生物工学基礎講座—バイオよもやま話—」として新たに連載を開始いたします。どうぞよろしく願いいたします。