

# バイオ医薬品生産におけるプロダクションサイエンス

大政 健史

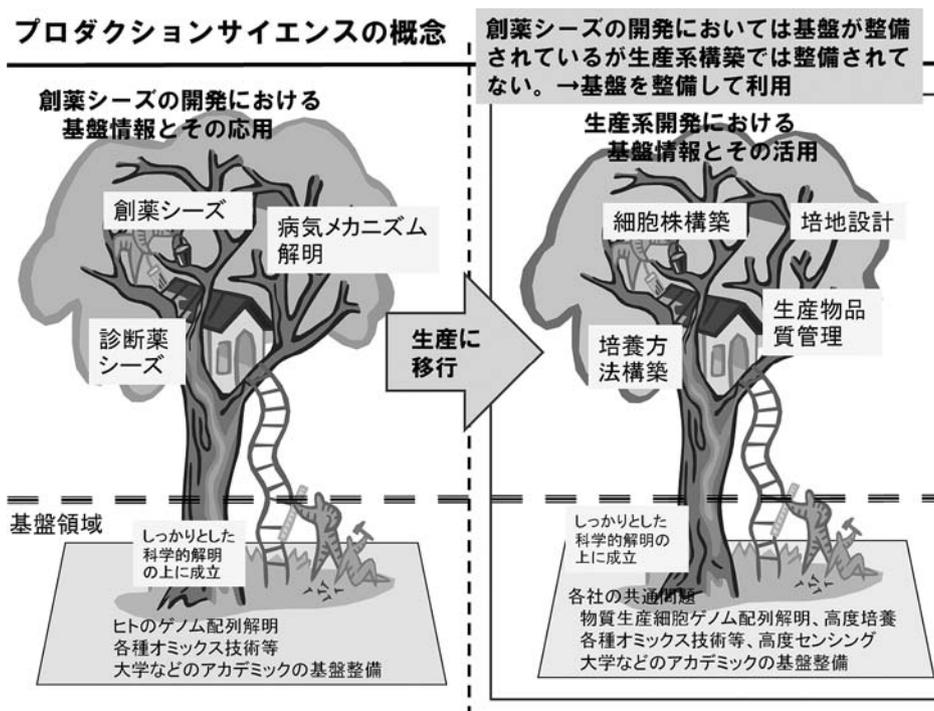
バイオ医薬品（バイオリジックス）とは抗体、リンフォカイン、機能性タンパク質やワクチン、さらには細胞そのものを治療として用いるティッシュエンジニアリング製品まで、さまざまな生体由来分子や生体そのものを医薬品として用いる医薬品を指す。これらのバイオ医薬品の製造プロセスはまさに生体そのものである生物（細胞）を利用する手段が多く用いられている。これらを生産する手段は、通常の化学合成とは異なり「生きた生物を用いる」合成：生物反応であるため、生物反応特有の不確定性や不均一性などが避けられない。特に近年成長著しい抗体医薬は、その複雑な構造や糖鎖などの翻訳後修飾のため、大腸菌や下等真核生物では生産できない場合が多く、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞に代表される動物細胞が用いられている。ミクス社の2012年最新データによると、医薬品の世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位アバスタンとCHO細胞などの動物細胞を宿主として生産される抗体医薬が6品目を占めており、動物細胞を用いたバイオ医薬品生産はまさに世界の医薬品産業の「成長エンジ

ン」として欠かせない技術となっている。

セルプロセッシング計測評価研究部会の大きな目的の一つは、生物工学分野における「動物細胞」の産業応用にかかる技術課題を解決することにある。特に、動物細胞の産業応用においてもバイオ医薬品生産にかかる技術開発は、その市場規模や社会に及ぼす影響としても大変大きく、かつ技術的に解決しなければならない課題も多数存在する。本研究部会では、生物工学会誌において、2008年の動物細胞培養に関する特集（86巻、第8号）<sup>1)</sup> および2010年のセルプロセッシングに関する最新技術に関する特集（88巻、第12号）<sup>2)</sup>、動物細胞の産業応用に関するさまざまな事柄を討議してきた。

動物細胞を用いたバイオ医薬品生産は、高価な培地や培養設備が必要であり、これが、バイオ医薬品が高価な理由の一つとしてあげられていた。そこで、この問題を解決するために、ここ20年程にわたり、酵母、カイコなどの昆虫、植物など動物細胞以外の宿主系開発の試みが、大型プロジェクトの形で、アカデミア主導で大変精力的に推進されてきた。しかし、これらの試みは実際の医薬品生産の実用化においては部分的な効果しか得ら

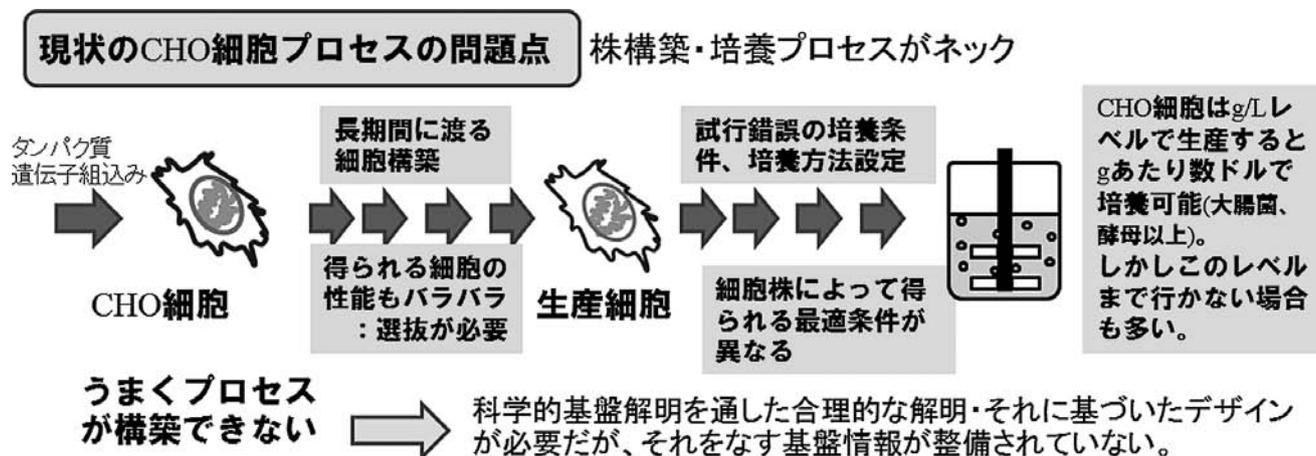
## プロダクションサイエンスの概念



著者紹介 徳島大学大学院ソシオテクノサイエンス研究部（教授） E-mail: omasa@bio.tokushima-u.ac.jp  
大阪大学大学院工学研究科（招へい教授） セルプロセッシング計測評価研究部会（代表）

2013年 第9号

507



れなかった。一方、産業界における動物細胞培養を用いたタンパク質性医薬品生産はこの10年で飛躍的に進歩し、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10 g/Lでのタンパク質生産が可能となり、1 g抗体あたり数ドル程度で培養可能となっている<sup>2,3)</sup>。

では、「すで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。これはまったくの誤解であり、現在のCHO細胞を用いた実用化技術はまだ完成されていないプロセスである(上図)。バイオ医薬品生産において、CHO細胞は大腸菌について用いられている宿主であるが、これまでのCHO細胞を用いた生産技術において、CHO細胞自身は「ブラックボックス」として取り扱われてきた。すなわち、これを用いて生産された糖タンパク質分子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は、なおざりにされ、細胞株の選択方法や培地の改良、培養方法の改良は試行錯誤的になされていたのが実情であり、まさにアカデミアからの科学的な解明が今必要とされてきている。

#### 高品質な細胞を構築するセルエンジニアリングの現状

まずは、(1)式をご覧いただきたい。ここでは、抗体を分泌生産する場合を考えている。抗体の培地中に生産された濃度 $P$ は、細胞の生産能力を表す比生産速度 $\rho_{Ab}$ と生細胞濃度 $X_v$ との積分値(IVC)の掛け算にて表現される。すなわち、近年の10 g/Lにわたる抗体の高濃度生産は、細胞自身の改良と、培地や培養方法の改良による掛け算によって飛躍的な抗体の濃度上昇が実現されたといえる。

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

この10年間程で、このよう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く貢献している。Ozturkによると、この改良過程においてもっとも大きな役割を果たしたのは、生細胞濃度の積分値であり、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、従来の培養改良による地道なアプローチがこれまでの生産性向上のカギとなっている<sup>4)</sup>。一方では、抗体分泌を行うプラズマ細胞では、CHO細胞よりも高い分泌能を示しており、細胞自身の改良には、大きな余地があると考えられる。現在、これらの細胞あたりの生産性(比生産速度)上昇を目指したセルエンジニアリングにはどのような技術があるのであろうか。我々は本分野のアプローチを、①転写プロセス、②翻訳プロセス、③翻訳後プロセスの三つに大別することができると考えている<sup>1)</sup>。現在の技術は特に①のプロセスに注目したアプローチが主たるものであり、技術開発も集中しているが、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。

#### 物質生産にはプロセス全体を俯瞰する必要がある

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。しかし実生産については、それ以外の全体のプロセスについても考慮する必要がある。プロセス全体のコストについて検討した結果はあまり公表されていない。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3 g/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<sup>5)</sup>。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

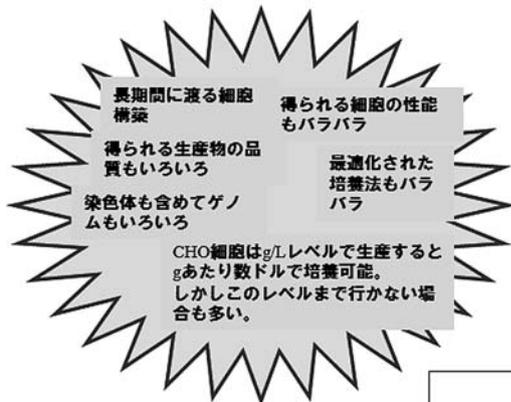
といった後工程のコストが律速になっている。プロセスを設計するためには、g/Lを超える培養を実現することも重要ではあるが、それ以降の製剤化までのプロセスも含めてどのように全体を俯瞰するのが重要なポイントとなる。高濃度生産になると、分離精製担体の開発も、それに対応したリガンドが必要である。また、製剤化プロセス一つをとっても、タンパク質性医薬品の場合は、高濃度のタンパク質溶液の形で製剤化される必要があり、糖タンパク質の高濃度溶液に関する物理化学的基礎研究も必要とされている。

**ヘテロジェネティをどうするか  
バイオ医薬生産のカギとなる**

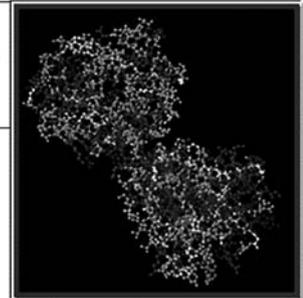
現在のCHO細胞を用いたタンパク質性医薬品生産は、いくつかの欠点はあるものの、実際に多数の抗体医薬シーズの開発に使われ、実際に上市されている抗体医薬の製造プロセスに汎用されている。一方、同じ抗体遺伝子を同じCHO細胞に導入しても、得られる細胞の性質はバラバラであり、それぞれにあわせた製造プロセスの最適化が必要となる。また、抗体の場合は抗原抗体結合活性の観点からアミノ酸置換を行った変異体を利用する

場合も多いが、同じタンパク質でも1アミノ酸置換によって生産性が変動することは、実際の製造現場ではよく知られる事象である。さらに現在用いられているCHO細胞にもさまざまな株が存在し、それぞれ染色体構成も異なっている<sup>9)</sup>。また、生産された糖タンパク質も、糖鎖をはじめとする翻訳後修飾の違いによる多様性が存在する。すなわち、これらの多様性(ヘテロジェネイティ)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(下図)。特に近年の技術的な発展を受けて、この多様性を解析・評価・制御するための基盤的な技術が整いつつあるように筆者には感じられている。すなわち、計算機科学の発展によるタンパク質物性の予測やこれらのタンパク質を実際に発現させることによる生産性の違いの解析、近年の次世代シーケンサの発展に伴う、ヒトと同程度の巨大なゲノムサイズを持つChinese hamsterやCHO細胞のゲノム配列解析を通じた細胞株間の比較や細胞ゲノムの変動解析、さらにはN型のみならずO型糖鎖の解析技術の発展による糖鎖構造の多様性の解明を通じた糖鎖構造を糖鎖修飾酵素反応を制御することにより翻訳後修飾の段階で望みのままに改変する技術や、修飾された糖鎖

**なぜこのような多様性(不均一性)が生じるのか?**

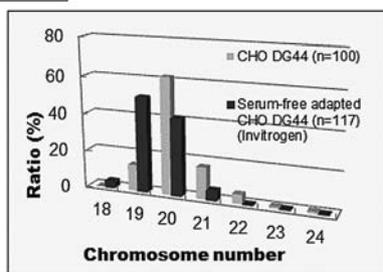
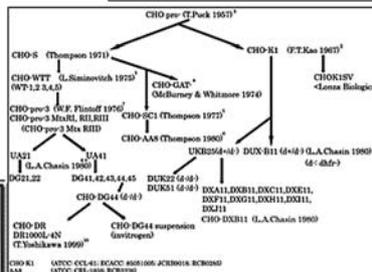
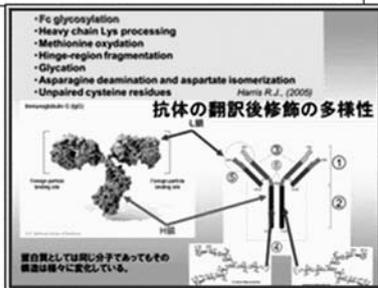


**①蛋白質自身の物性変化  
(1アミノ酸の違いでも大きく異なる)**



**②様々なCHO細胞株が存在し、クローニングされた細胞株でも多様性が存在する。**

**③生産された糖タンパク質にも糖鎖を含めた分子多様性が存在する。**



**タンパク質の物性と分泌生産、CHO細胞基盤整備  
(ゲノム、トランスクリプトーム、プロテオーム等)、糖鎖修飾を含めた基盤的な解明が必要**

## 特 集

を化学反応や酵素反応によって改変する技術の発展によって多様性を解析・評価・制御する技術の基盤が整備されてきている。

## 今後に向けて—プロダクションサイエンスの勧め

現在、遺伝子組換えCHO細胞を用いたタンパク質性医薬品生産では、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、こ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であろうか。答えは否である。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さまざまな発現レベルの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。誰でも簡単にかつロバストに生産系を構築できるようになるためには、タンパク質自身ならびに細胞の個々の性質の違いを解析・解明・制御する技術が今後の鍵となると考えられる。近年、やっとCHO細胞のゲノム解析に焦点があたりはじめ、各国においてゲノム解析競争が始まっている。残念ながら、日本は立ち遅れているのが現状であり、この点からもバイオ医薬品生産における「目的基礎研究」の振興が求められている。現在、我が国は個々の要素技術においては世界的レベルの技術開発能力がある。2013年度から開始される経済産業省プロジェクト「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）」のような場において、個々の要素技術の有機的な結合に

よって、より実証化に近いレベルでの技術開発ならびに技術検証が目的基礎研究発展のためには重要であると考えられる。

我が国では、創薬としてシーズを生み出すことには焦点があたるが、その後の「ものづくり」に必要な種々の課題については、あまり注意は払われてはいない。実際には、創薬のシーズから実際の上市に至る過程においては、さまざまな高度技術の集積が必要であり、それを支える基礎科学、工学（筆者はここでプロダクションにかかわる科学、プロダクションサイエンスと呼称している）の発展ならびに応用なくしては成り立たない。生物工学分野の研究者が、本特集により動物細胞を用いたバイオ医薬品生産分野に興味を持っていただけると幸いである。

## 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に感謝いたします。

## 文 献

- 1) 大政健史：生物工学, **86**, 393 (2008).
- 2) 大政健史：生物工学, **88**, 649 (2010).
- 3) 大政健史：化学と生物, **48**, 255 (2010).
- 4) 大政健史：化学工学, **75**, 143 (2011).
- 5) Heinzle, E *et al.*, "Development of sustainable bioprocesses –modeling and assessment–" West Sussex, John Wiley & Sons, Ltd. (2006).
- 6) 曹 溢華ら：PHARM TECH JAPAN **26**, 95 (2010).