

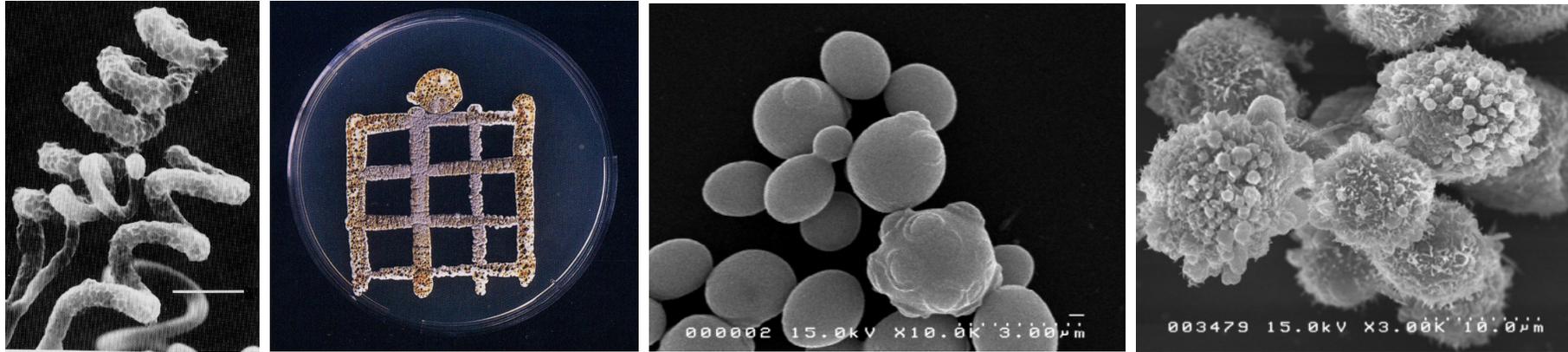
第一三共セミナー

第一三共における次世代抗体医薬品の  
開発を支える抗体製造プロセスについて

第一三共株式会社

バイオロジクス本部  
野中 浩一

2023年 9月 6日



## ● 経歴

- 2023～, テクノロジー統括本部 バイオロジクス本部長
- 2022～, 製薬協 バイオ医薬品委員会 副委員長
- 2017～, バイオ医薬研究所長
- 2010～, バイオ医薬研究所 バイオ研究第一G長
- 2001～2003, ウィスコンシン大学マディソン校 Research associate
- 1993～2009, バイオメディカル研究所／探索研究所／製薬技術研究所
- 1992～, 三共株式会社 醗酵研究所第四室

## 本日本話する内容

- ① 抗体製造プロセスについて  
バイオ医薬品—特に抗体薬物複合体  
抗体はどのようにして製造するか  
バーチャルツアー  
製造基盤の確立
- ② CHO細胞/CHO発現系について  
第一三共独自の製造プロセス



## 本日本話する内容

- ① 抗体製造プロセスについて  
バイオ医薬品—特に抗体薬物複合体  
抗体はどのようにして製造するか  
バーチャルツアー  
製造基盤の確立
- ② CHO細胞/CHO発現系について  
第一三共独自の製造プロセス



# 医薬品の開発動向

## 医薬品世界売上ベスト10(2000年 vs 2020年)

### 2000年

順位	一般名	主な適応疾患	売上高
1	オメプラゾール	抗潰瘍剤	6,260
2	シンバスタチン	高脂血症	5,280
3	アトルバスタチン	高脂血症	5,031
4	アムロジピン	降圧剤	3,362
5	プラバスタチン	高脂血症	3,348
6	ロラタジン	抗アレルギー剤	3,011
7	ランソプラゾール	抗潰瘍剤	2,956
8	エポエチンα	腎性貧血治療剤	2,709
9	セレコキシブ	抗炎症剤	2,641
10	塩酸フルオキサチン	抗うつ剤	2,574

Numbers USD in Millions

### 2020年

順位	一般名	主な適応疾患	売上高
1	アダリムマブ	関節リウマチ	20,389
2	ペムブロリスマブ	がん	14,380
3	アビキサバン	抗血液凝固剤	14,117
4	レナリドミド	多発性骨髄腫	12,106
5	イブルチニブ	リンパ腫	9,442
6	アフリベルセプト	加齢黄斑変性	8,360
7	ウステキヌマブ	乾癬	7,975
8	ニボルマブ	がん	7,888
9	リバーロキサバン	抗血液凝固剤	7,497
10	ビクテグラビル・エムトリンタビン・テノホビルアラフェナミド	HIV感染症	7,259

Numbers USD in Millions

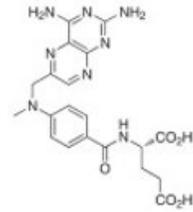
- ✓ バイオ医薬品(特に抗体)が市場を牽引
- ✓ 疾患領域はがんが約50%、炎症・免疫/循環器/感染症/神経・精神/呼吸器と続く
- ✓ 現在は、COVID-19の影響もあり感染症(ワクチン)開発が活発化

出典:GSDユート・ブレーン事業部の調査/  
日経バイオテックを改変

# 抗体薬物複合体(ADC)の歴史



Paul Ehrlich



George Mathé

**1972**  
動物モデルでテストされた非共有結合ADC

**1988**  
ヒト化抗体の報告

**2000**  
FDAによるADCの初めての承認 (Mylotarg®)

**2011**  
Adcetris®承認

**2013**  
Kadcyla®承認

**1913**  
Paul Ehrlich は “magic bullet” という薬物ターゲティングの概念を提唱 (‘haptophore’ が ‘toxophore’ をがんを選択的に運ぶ)

**1958**  
白血病細胞を狙った抗体にMTX\*を結合

**1967**  
提案されたADC: 免疫放射活性剤を発売

**1975**  
ハイブリドーマベースの技術を使用したmABの生産

動物モデルでテストされた共有結合ADC

**1983**  
ADC vindesine- $\alpha$ CEAの臨床試験

**1993**  
高い細胞毒性のカリケアマイシン搭載ADC

**1991**  
マウスmAbsの免疫原性はADC開発における重大な制約

**2010**  
Mylotarg®販売中止

\*MTX = methotrexate

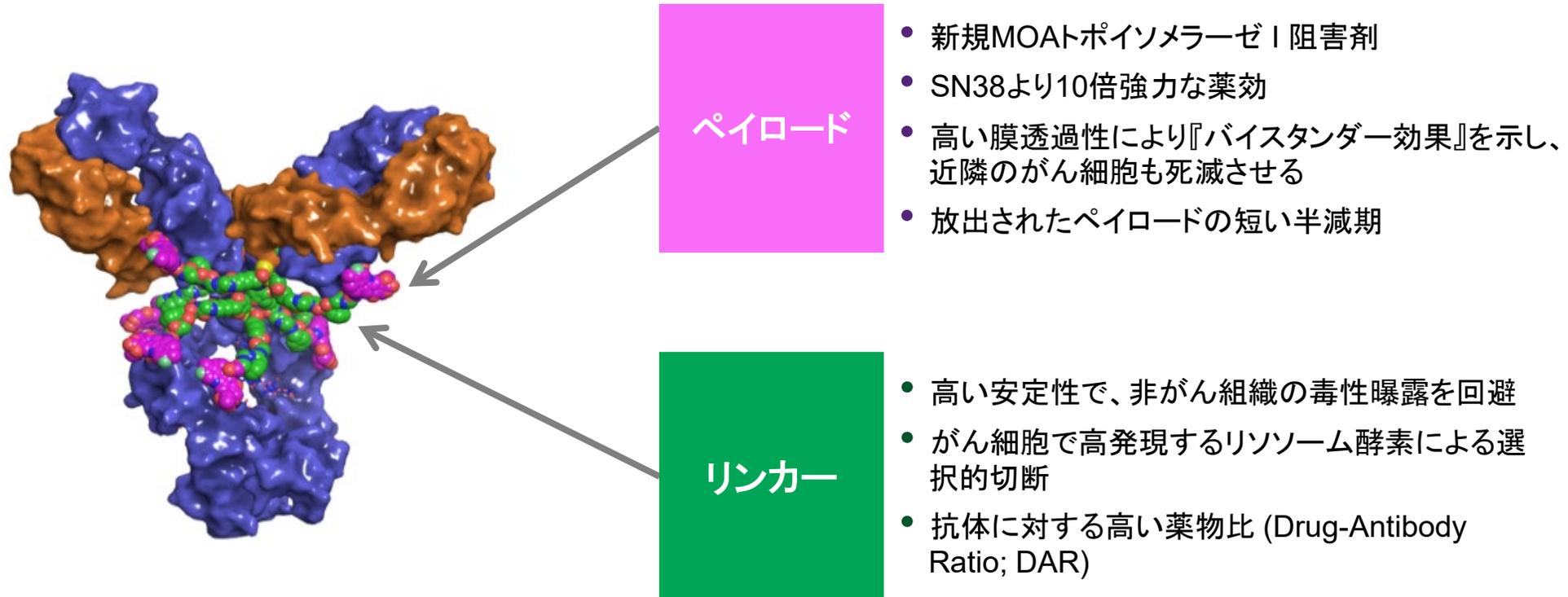
# FDAによって承認されたADCs

Review An Insight into FDA Approved Antibody–Drug Conjugates for Cancer Therapy  
 Juliana T. W. Tong, Paul W. R. Harris, Margaret A. Brimble, and Iman Kavianinia  
 Molecules 2021, 26, 5847. <https://doi.org/10.3390/molecules26195847>  
 を基に作成

ADC	Target	mAb	Linker	Payload	Payload action	DAR
Mylotarg®	CD33	IgG4	Acid cleavable	Ozogamicin/ Calicheamicin	DNA cleavage	2–3
Adcetris®	CD30	IgG1	Enzyme cleavable	MMAE/ Auristatin	Microtubule inhibitor	4
Kadcyla®	HER2	IgG1	Non–cleavable	DM1/ Maytansinoid	Microtubule inhibitor	3.5
Besponsa®	CD22	IgG4	Acid cleavable	Ozogamicin/ Calicheamicin	DNA cleavage	6
Polivyx®	CD79b	IgG1	Enzyme cleavable	MMAE/ Auristatin	Microtubule inhibitor	3.5
Padcev®	Nectin4	IgG1	Enzyme cleavable	MMAE/ Auristatin	Microtubule inhibitor	3.8
Enhertu®	HER2	IgG1	Enzyme cleavable	DXd/ Camptothecin	TOPO1 inhibitor	8
Trodelyv®	TROP2	IgG1	Acid cleavable	SN–38/ Camptothecin	TOPO1 inhibitor	7.6
Blenrep®	BCMA	IgG1	Non–cleavable	MMAE/ Auristatin	Microtubule inhibitor	4
Zynlonta®	CD19	IgG1	Enzyme cleavable	SG3199/ PBD dimer	DNA cleavage	2.3
Tivdak®	Tissue Factor	IgG1	Enzyme cleavable	MMAE/ auristatin	Microtubule inhibitor	4

## 7つの主要な イノベーション

第一三共はADCの2つの重要な要素に対し、7つの主要な技術を創製：ペイロードとリンカー

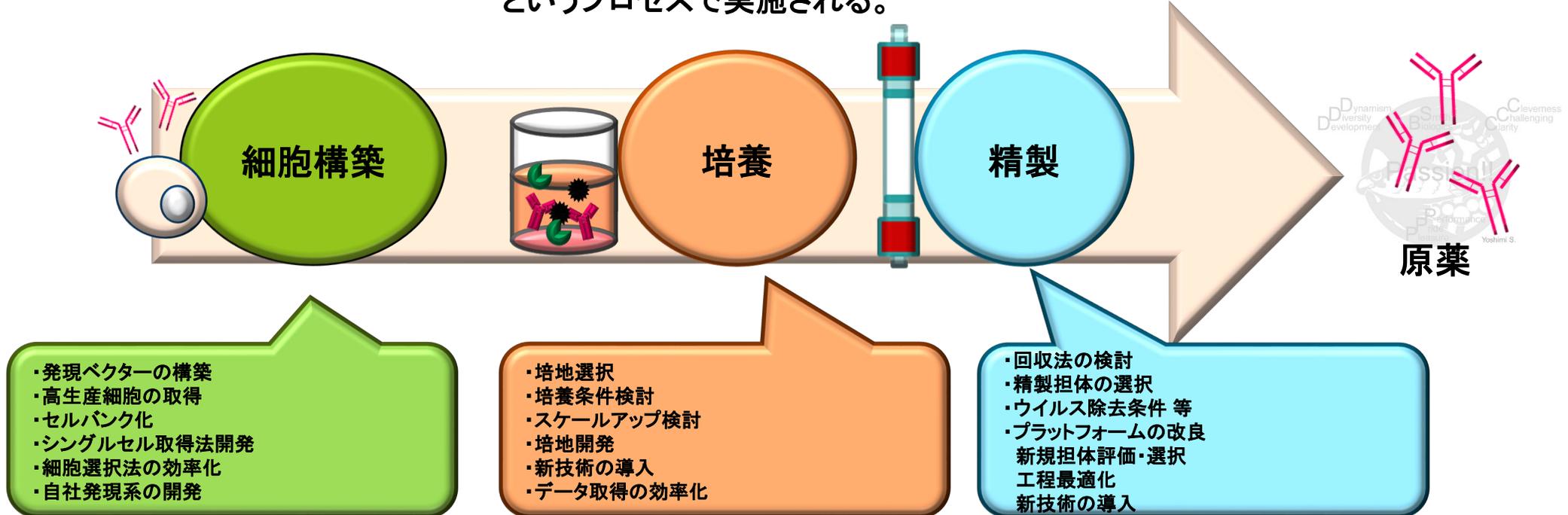


# 抗体はどのようにして製造するのか

## 抗体製造プロセス開発におけるバリューチェーン

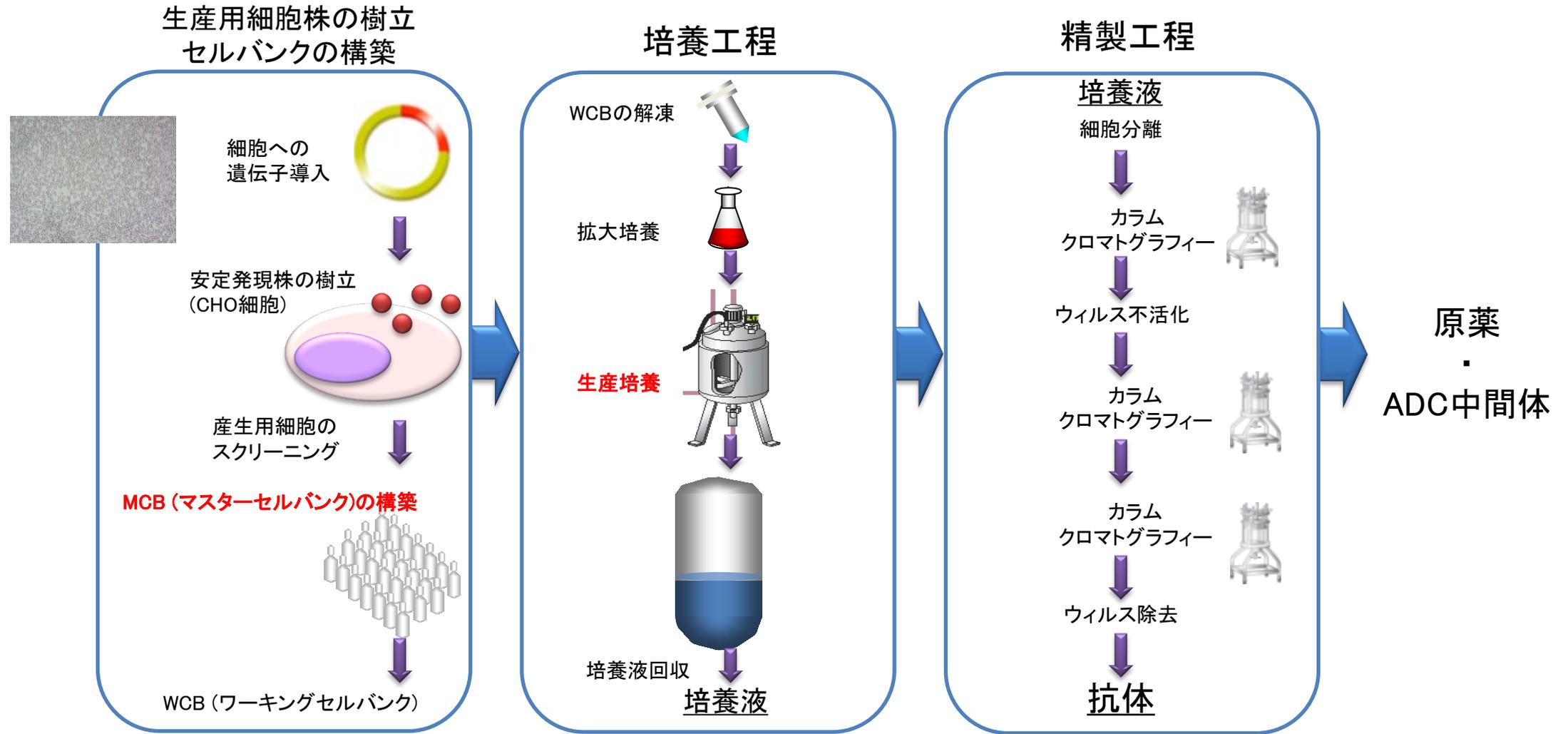


抗体製造は、「抗体生産細胞を造る」、「造った細胞を増やす」、「細胞が造った抗体を回収する」というプロセスで実施される。



# 抗体はどのようにして製造するのか

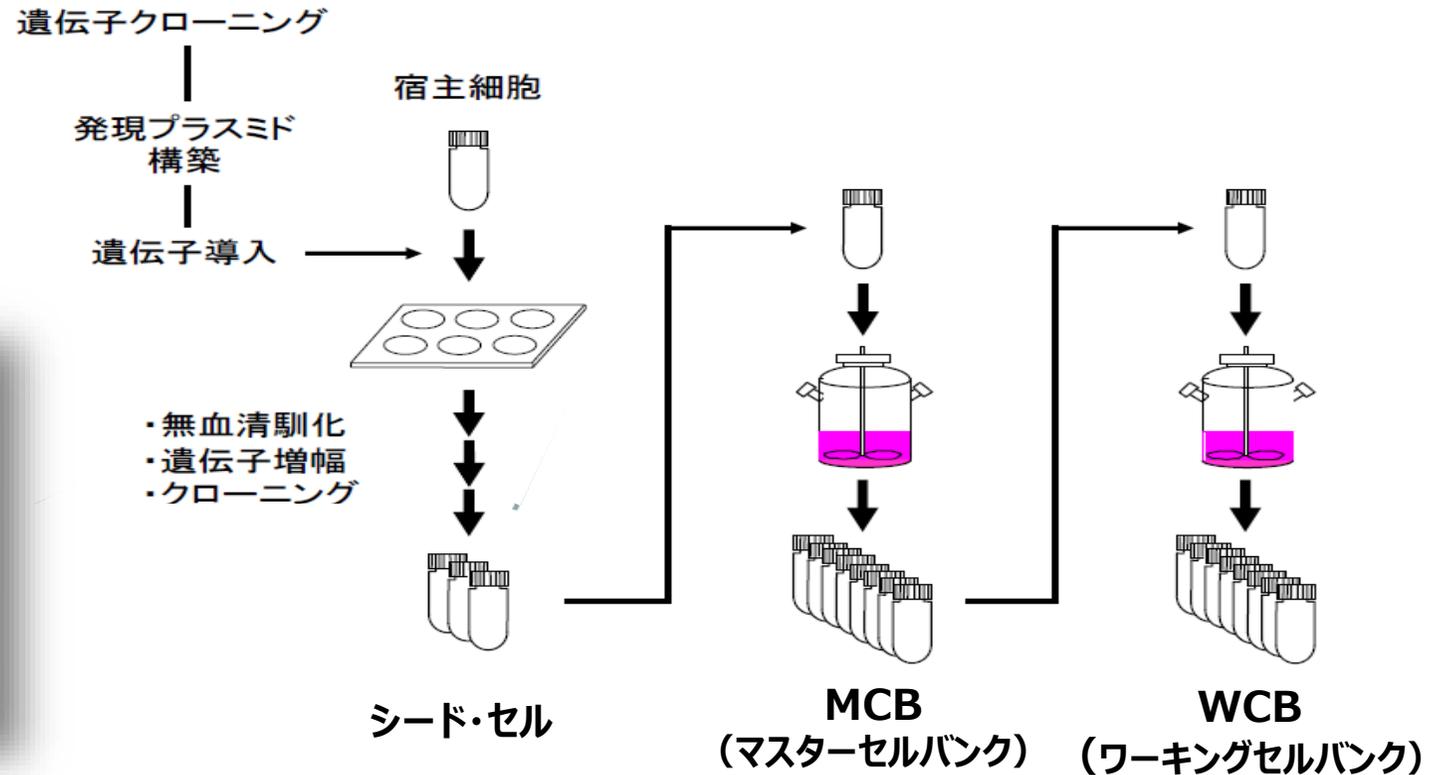
## 主要な3つの工程：細胞構築—培養—精製



「Andrew D, et al. Journal of the National Comprehensive Cancer Network (JNCCN). 2011; 9(suppl4): S1-S22」を一部改変

# 抗体はどのようにして製造するのか セル・バンクシステム

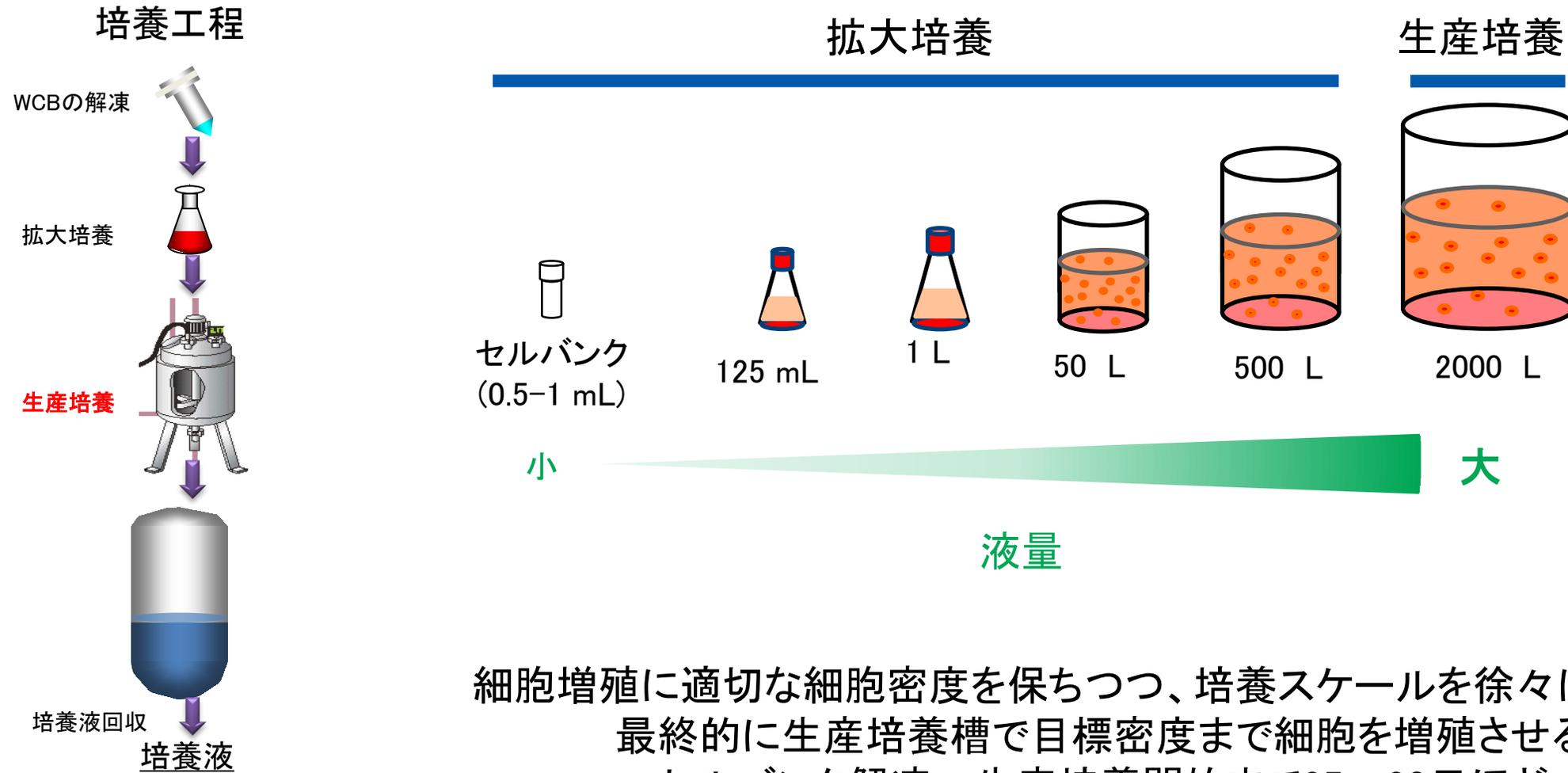
- **品質の恒常性確保のため**、同じ生産細胞(=出発材料)で製造する仕組み
- 2段階(MCB/WCB)のセル・バンクを作製し、全製造期間で同一細胞を使用



(出典)バイオ医薬品ハンドブック

# 抗体はどのようにして製造するのか

## 培養工程 ～拡大培養(細胞の増殖)～



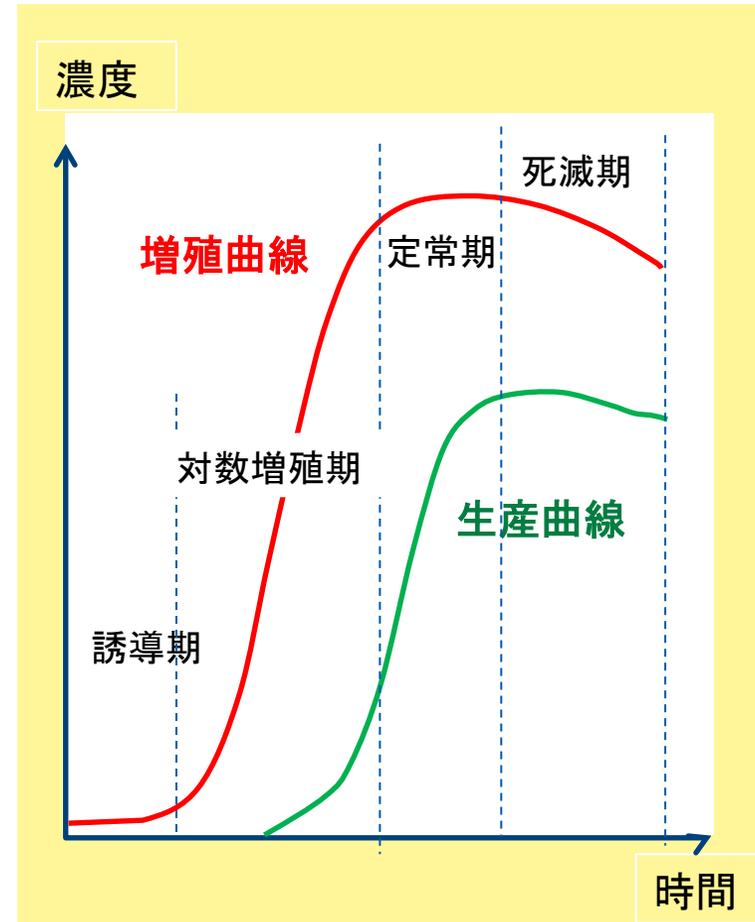
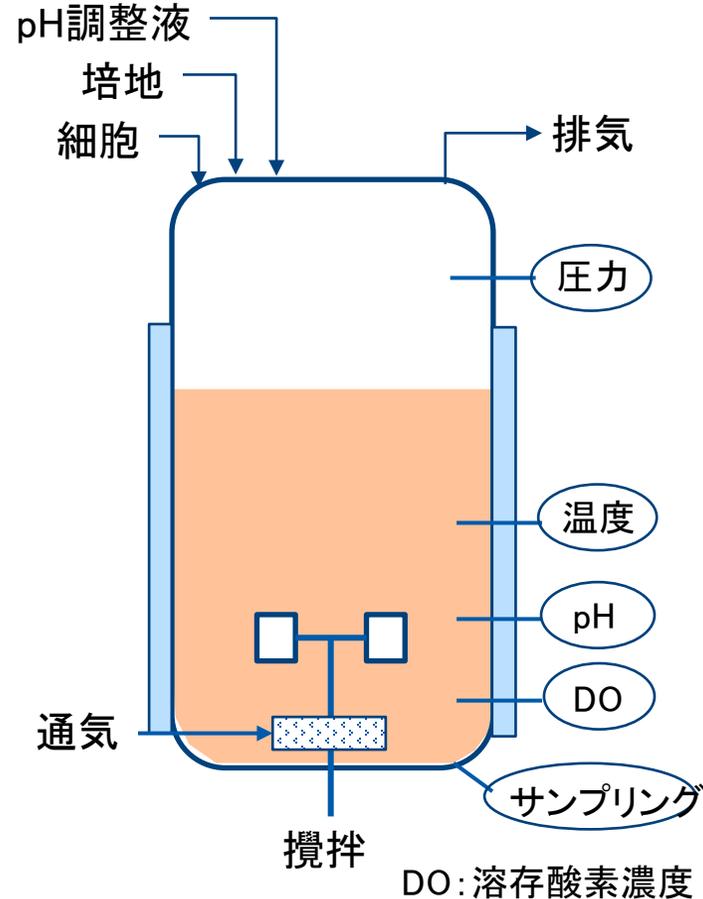
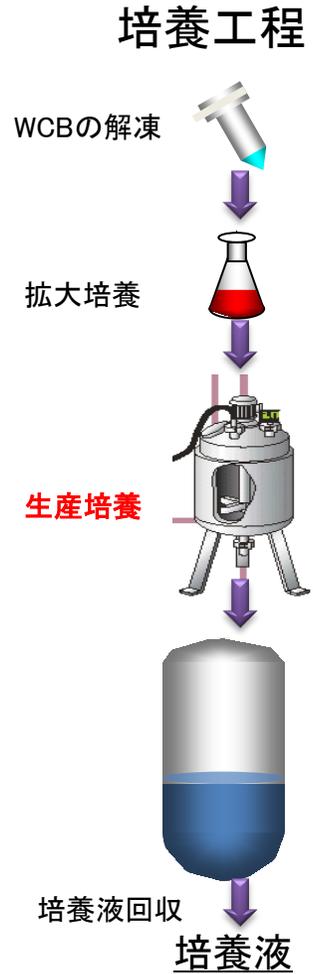
細胞増殖に適切な細胞密度を保ちつつ、培養スケールを徐々に大きくし、最終的に生産培養槽で目標密度まで細胞を増殖させる。セルバンク解凍～生産培養開始まで25～30日ほど。

# 抗体はどのようにして製造するのか

## 培養工程 ～生産培養(抗体の生産)～

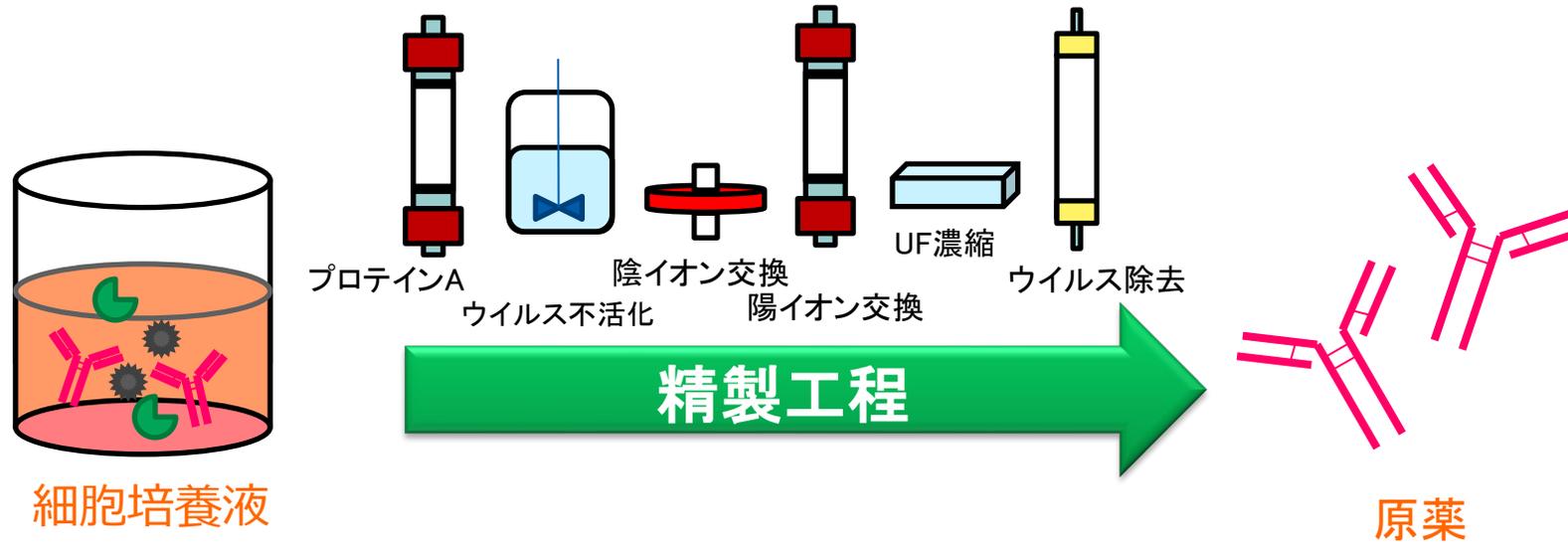
通気攪拌しつつ栄養を与え、抗体を培養液中に分泌させる。培養期間は約11-16日。終了後に細胞を取り除き、上清を精製工程に供する。

培養条件(培地, pH, 温度など)次第で不純物の生成度合いは変化する。



# 抗体はどのようにして製造するのか

## 精製工程 ～不純物の除去～



不純物\*を効率的に除去し、安全性に影響を与えないレベルまで低減。  
原理の異なる5～6の工程を組み合わせる。

\*精製工程で除去する主な不純物

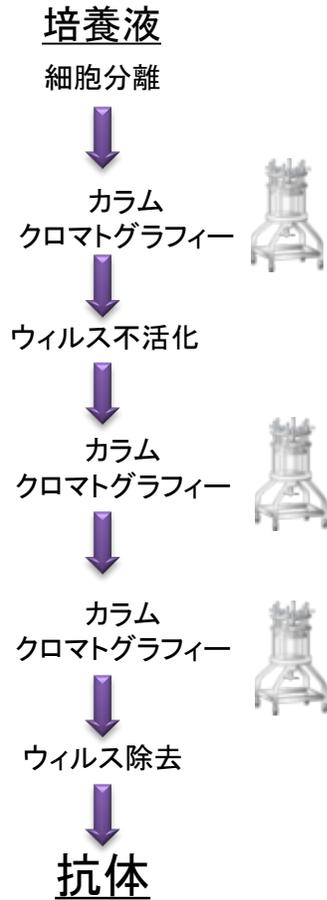
- 類縁物質 (断片体、凝集体)
- 宿主細胞由来の物質 (タンパク質、DNA、脂質)
- プロセス由来の物質

⇒ 物理化学的性質の近い不純物(糖鎖構造異性体など)を分離することは難しい

# 抗体はどのようにして製造するのか

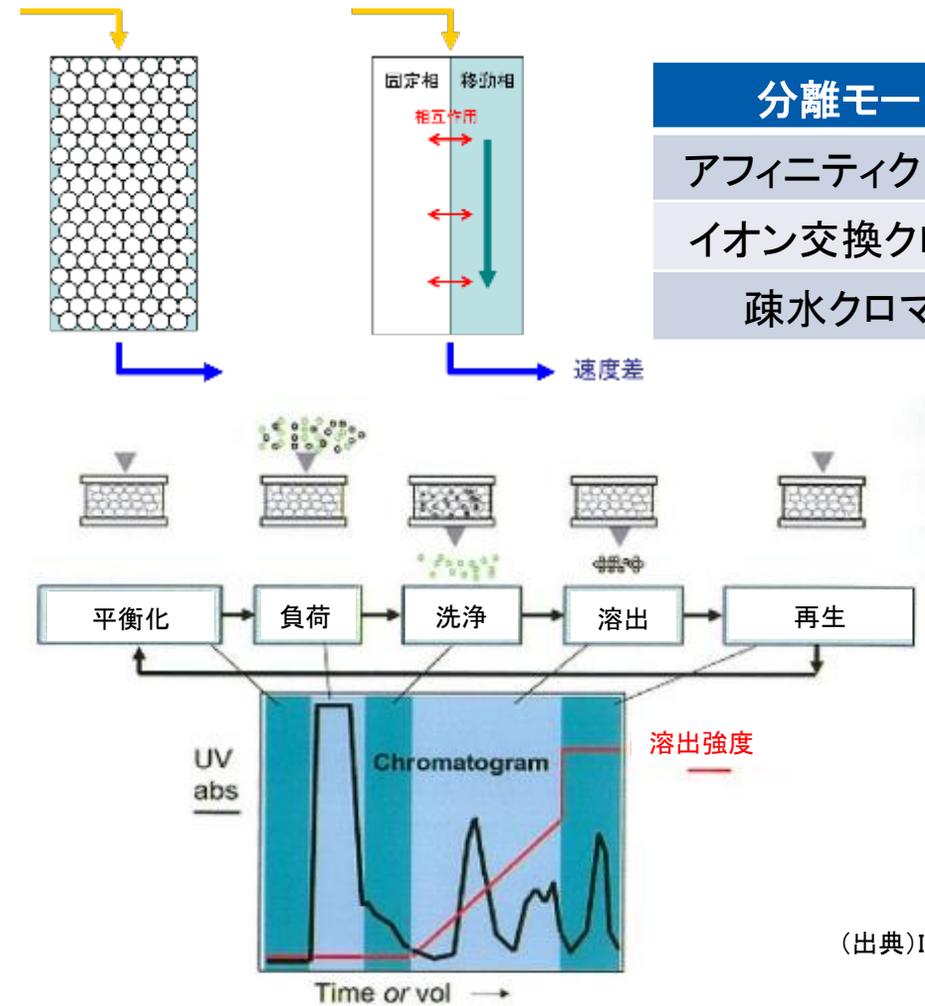
## 精製工程 ~クロマトグラフィー~

### 精製工程



### 【クロマトグラフィー】

■ カラム充填剤と目的物・不純物との相互作用の差を利用して分離



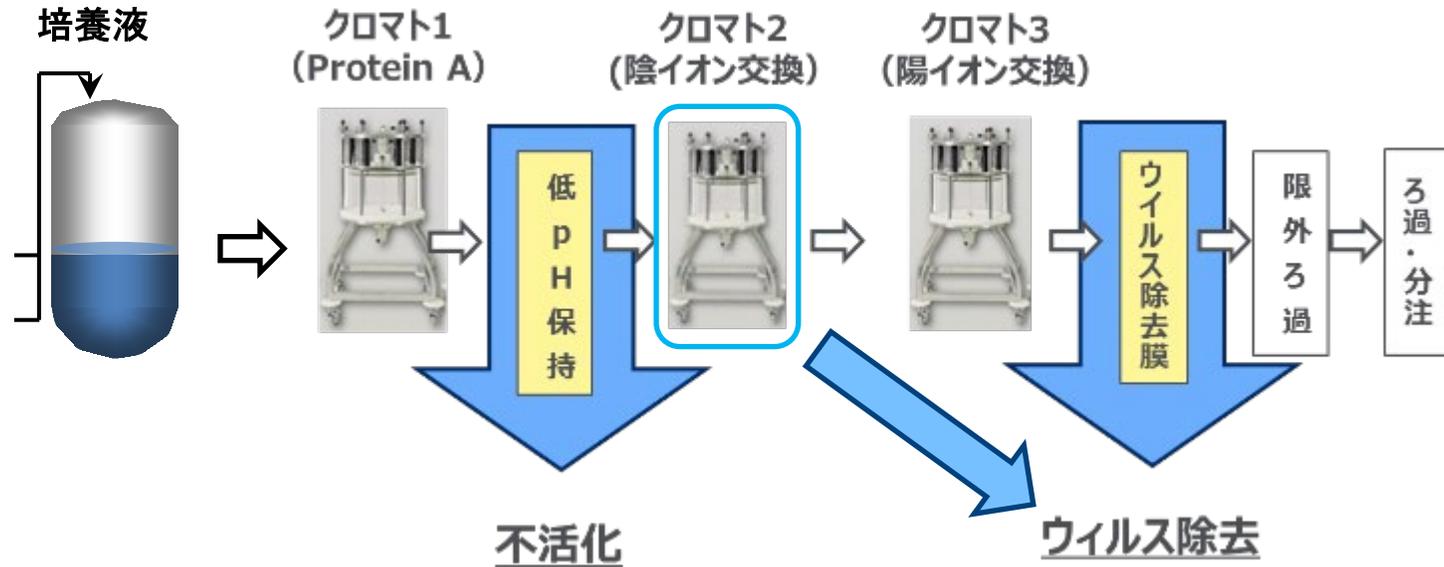
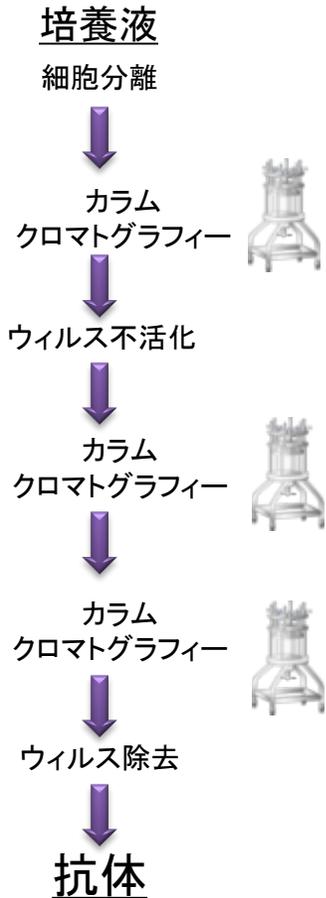
分離モード	相互作用
アフィニティクロマト	結合親和性
イオン交換クロマト	電荷
疎水クロマト	疎水性

# 抗体はどのようにして製造するのか

## 精製工程 ~ウイルス不活化・除去~

外来ウイルスが混入するリスクを低減するため、  
 バイオ医薬品製造プロセスにはウイルス不活化、除去工程が必要

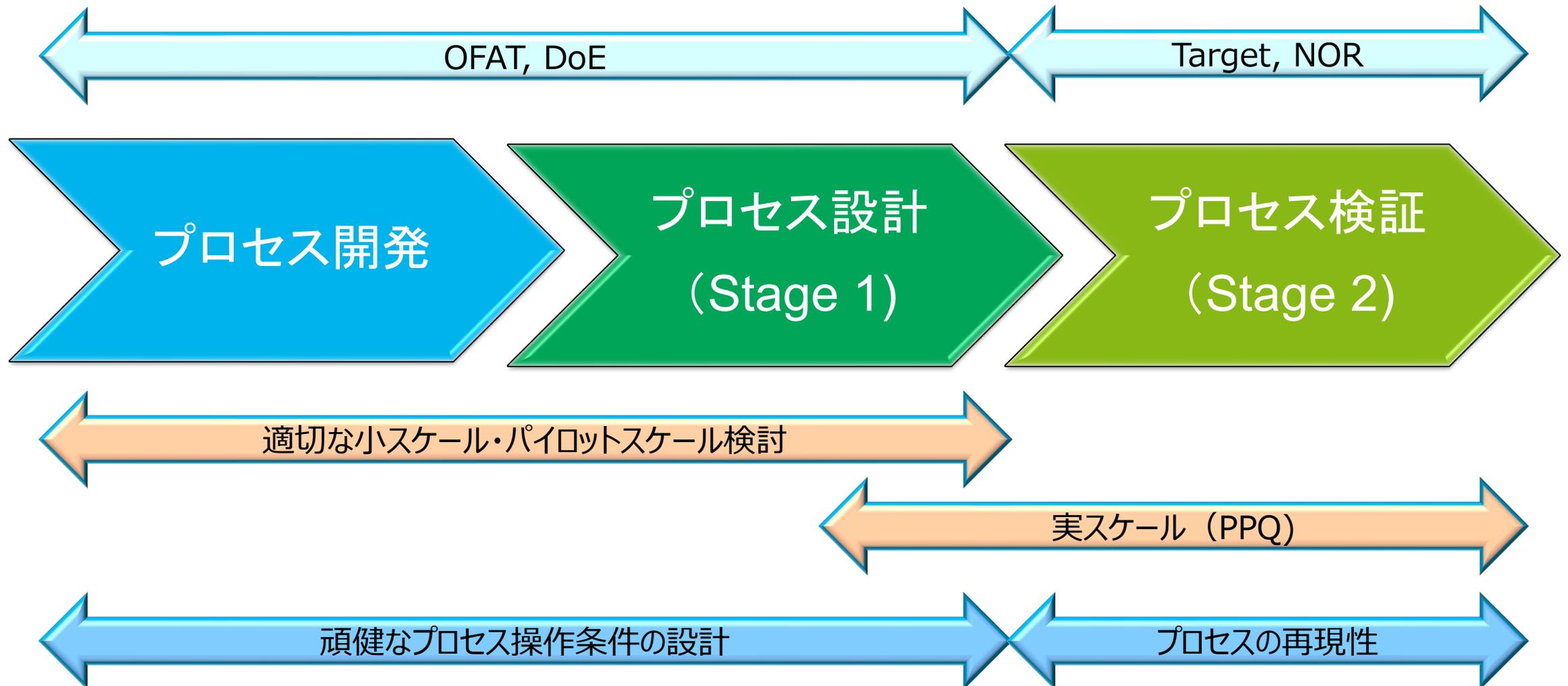
### 精製工程



\*加えて、下記管理等によってウイルス混入リスクを低減する

- ① 原材料(セル・バンク、培地等)のウイルス管理
- ② 中間工程でのウイルス試験(培養液)

# 抗体はどのようにして製造するのか 商用プロセス構築までの歩み



## 抗体の製造工程



# 抗体はどのようにして製造するのか バーチャルツアー

## WCB解凍

### 抗体の製造工程

培養工程(約40日間)

WCB解凍

拡大培養

前培養

本培養

細胞分離



セルバンク バイアル1本を解凍(-165°C ⇒ 37°C、2~3分)



細胞保管庫



安全キャビネット内での無菌操作

# 抗体はどのようにして製造するのか バーチャルツアー 拡大培養

## 抗体の製造工程

培養工程(約40日間)

WCB解凍

拡大培養

前培養

本培養

細胞分離

安全キャビネット内での無菌操作



125mLフラスコへの細胞播種



1L フラスコへの細胞播種



CO<sub>2</sub>インキュベーターにて培養(各5日間)



3L フラスコへ 必要な量の細胞を移送

# 抗体はどのようにして製造するのか バーチャルツアー

## 前培養—培地調整

### 抗体の製造工程

培養工程(約40日間)

WCB解凍

拡大培養

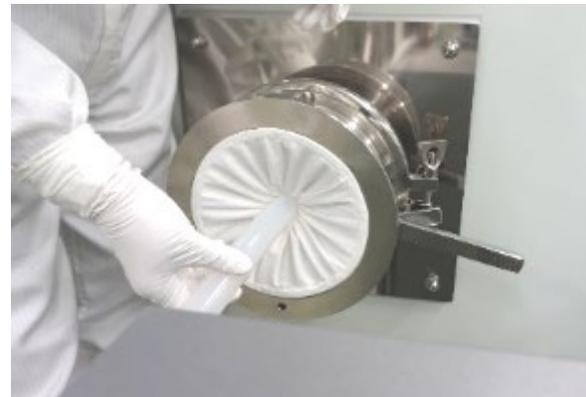
**前培養**

本培養

細胞分離



培地調製(UF水に粉末培地を投入)



培地調製後、培養室へ移送チューブを設置

# 抗体はどのようにして製造するのか バーチャルツアー 前培養

## 抗体の製造工程

培養工程(約40日間)

WCB解凍

拡大培養

前培養

本培養

細胞分離



培地ろ過投入  
(ペリスタポンプ  
にて移送)



50 L 培養槽へ  
細胞播種

# 抗体はどのようにして製造するのか バーチャルツアー 前培養

## 抗体の製造工程

培養工程(約40日間)

WCB解凍

拡大培養

**前培養**

本培養

細胞分離



50 L ⇒ 500 L 培養槽へ細胞播種(3日間培養)

# 抗体はどのようにして製造するのか バーチャルツアー 本培養

## 抗体の製造工程

培養工程(約40日間)

WCB解凍

拡大培養

前培養

**本培養**

細胞分離



2000 L  
培養バッグの設置



500 L⇒ 2000 L 培養槽 (高さ約3.5 m)へ細胞播種  
栄養を足しながら11~16日間培養する。

# 抗体はどのようにして製造するのか バーチャルツアー

## 細胞分離

### 抗体の製造工程

培養工程(約40日間)

WCB解凍

拡大培養

前培養

本培養

細胞分離



本培養終了後、フィルターろ過による細胞除去を行い、抗体を含むろ過液を回収する。

2000 L 培養液は数時間かけて除細胞され、精製室のタンクへ移送される



# 抗体はどのようにして製造するのか バーチャルツアー

## ProAクロマト

### 抗体の製造工程

#### 精製工程（約5日間）

プロテインAクロマト

ウイルス不活化

陰イオン交換クロマト

陽イオン交換クロマト

濃縮・バッファー交換

ウイルス除去

小分け・凍結保管



#### クロマト装置 と クロマトカラム

- 直径60cm超の大型カラム
- 1日に4000L以上の水・バッファーを使用
- 1つのクロマト工程の所要時間：4-5時間
- 90%以上の高い工程収率



#### バッファータンク

# 抗体はどのようにして製造するのか バーチャルツアー ウイルス除去

## 抗体の製造工程

### 精製工程（約5日間）

プロテインAクロマト

ウイルス不活化

陰イオン交換クロマト

陽イオン交換クロマト

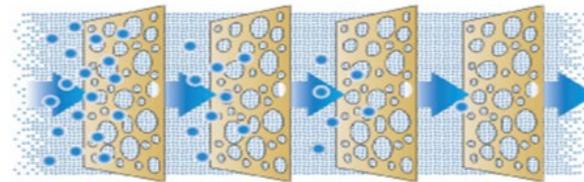
濃縮・バッファー交換

ウイルス除去

小分け・凍結保管



ウイルス除去装置とウイルス除去フィルター



ウイルスは数十nmの孔径をもつ中空糸に捕捉されるが、抗体は中空糸を通過する。  
所要時間：約5時間

# 抗体はどのようにして製造するのか バーチャルツアー

## 小分け・凍結保管

### 抗体の製造工程

#### 精製工程(約5日間)

プロテインAクロマト

ウイルス不活化

陰イオン交換クロマト

陽イオン交換クロマト

濃縮・バッファー交換

ウイルス除去

小分け・凍結保管

#### セルシウス 12 L バッグ への分注



内装  
(シングルユースバック)

#### 凍結・保管(-70°C)



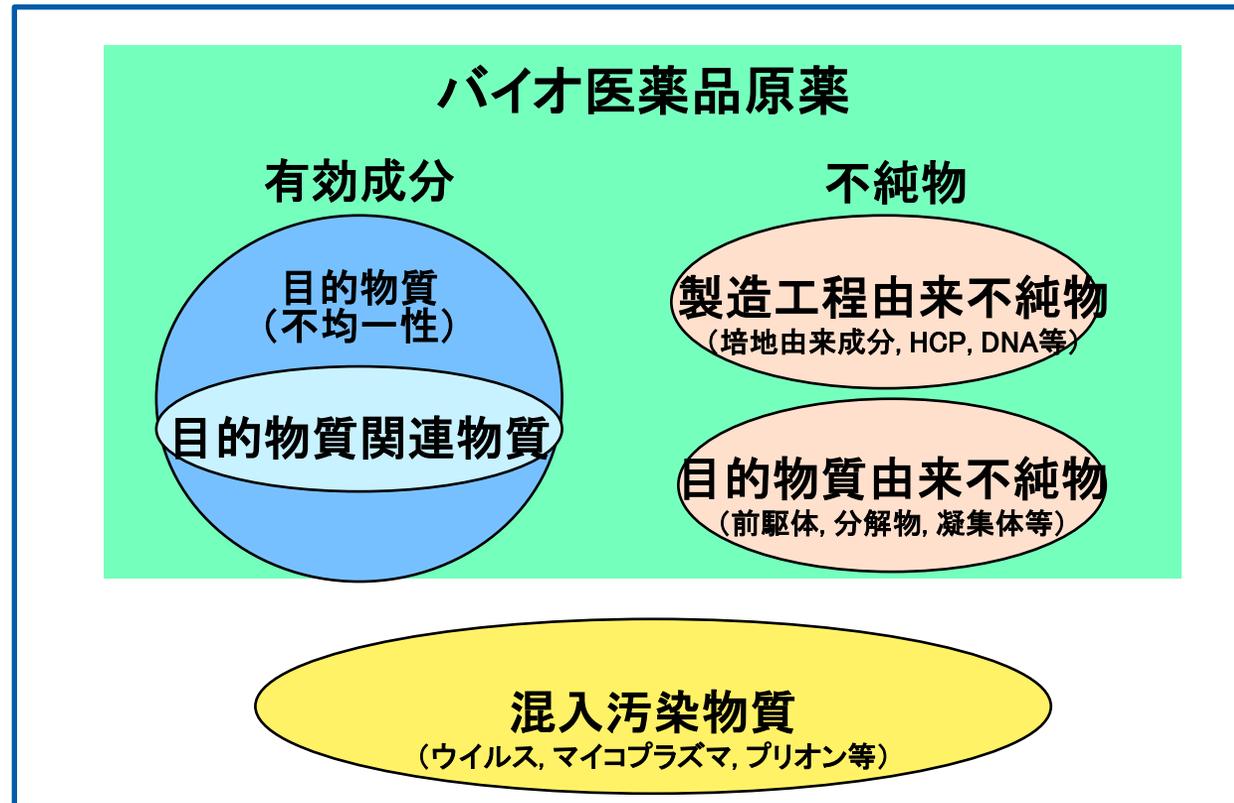
パノラマ  
映像

原薬は、2-12L容の専用容器に分注され、出荷までディープフリーザーにて保管される。

# 抗体はどのようにして製造するのか

## 品質管理 ～工程試験・品質試験～

バイオ医薬品の品質評価には複数の方法・指標を用いる



### Product Variants

- Aggregation
- Fragmentation
- Conformation
- Glycation
- C-Terminal Lysine
- Glycosylation
- Deamidated Isoforms
- Oxidation
- Disulfide Bonds
- Thioether link

Product Development and Realisation Case Study A-Mab

### Purity (including Process-related impurities)

- Microbiological Purity
- Viral Purity
- DNA
- HCP (Host Cell Protein)
- Protein A
- Selective agent
- Cell Culture Medium Components
- Purification Buffer Components

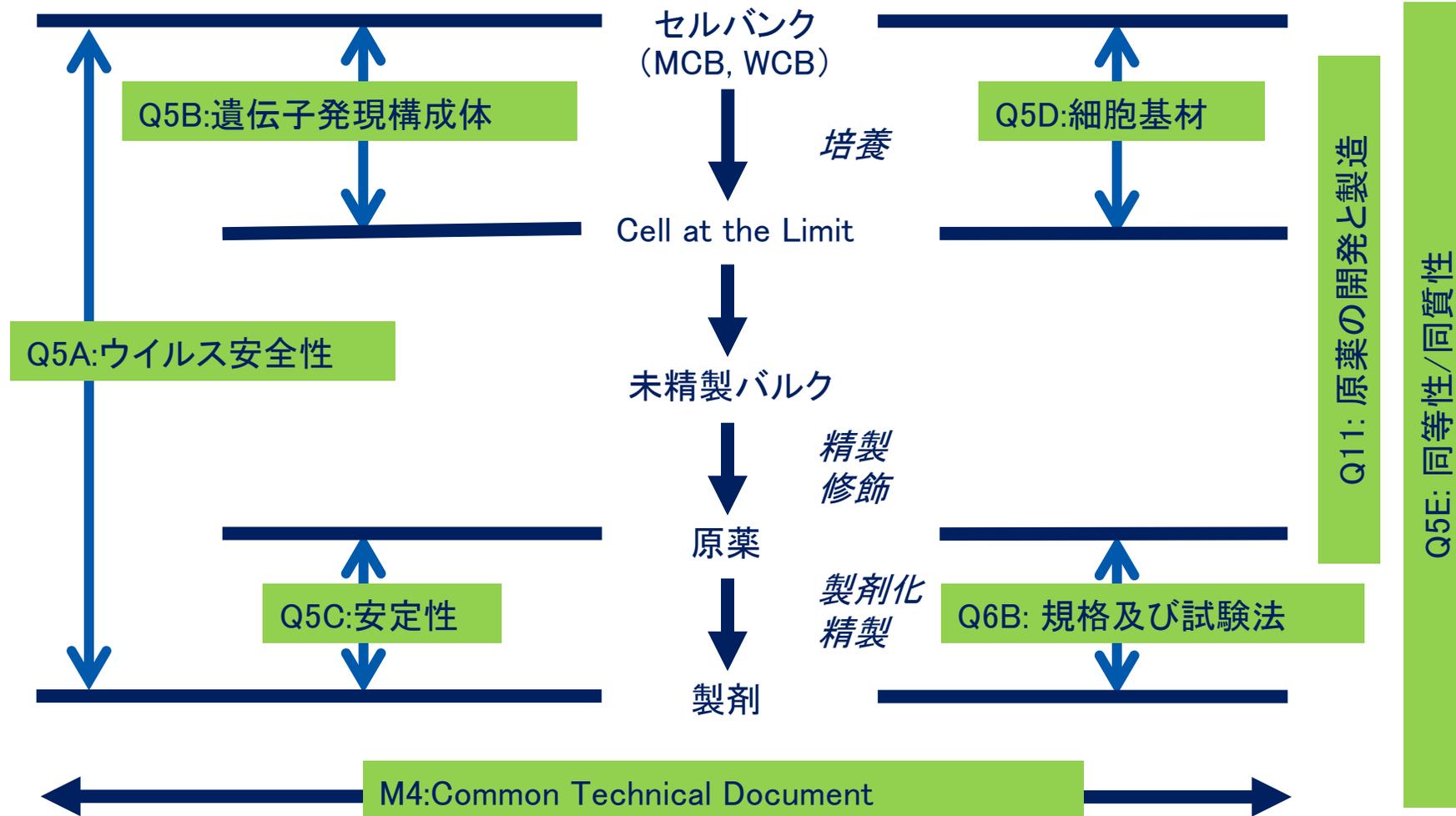
Product Development and Realisation Case Study A-Mab

(出典) バイオ医薬品ハンドブック

# バイオ医薬品の品質管理、安全性

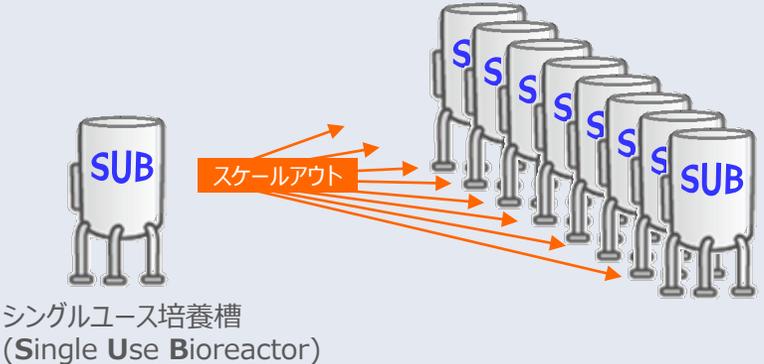
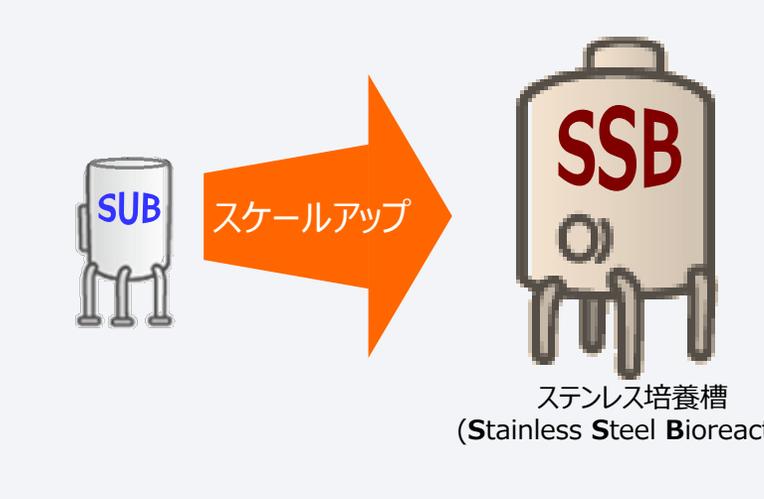
## バイオ医薬品などを申請すべき際に考慮すべき事項

### ICH関連の品質ガイドライン



# 製造基盤の確立

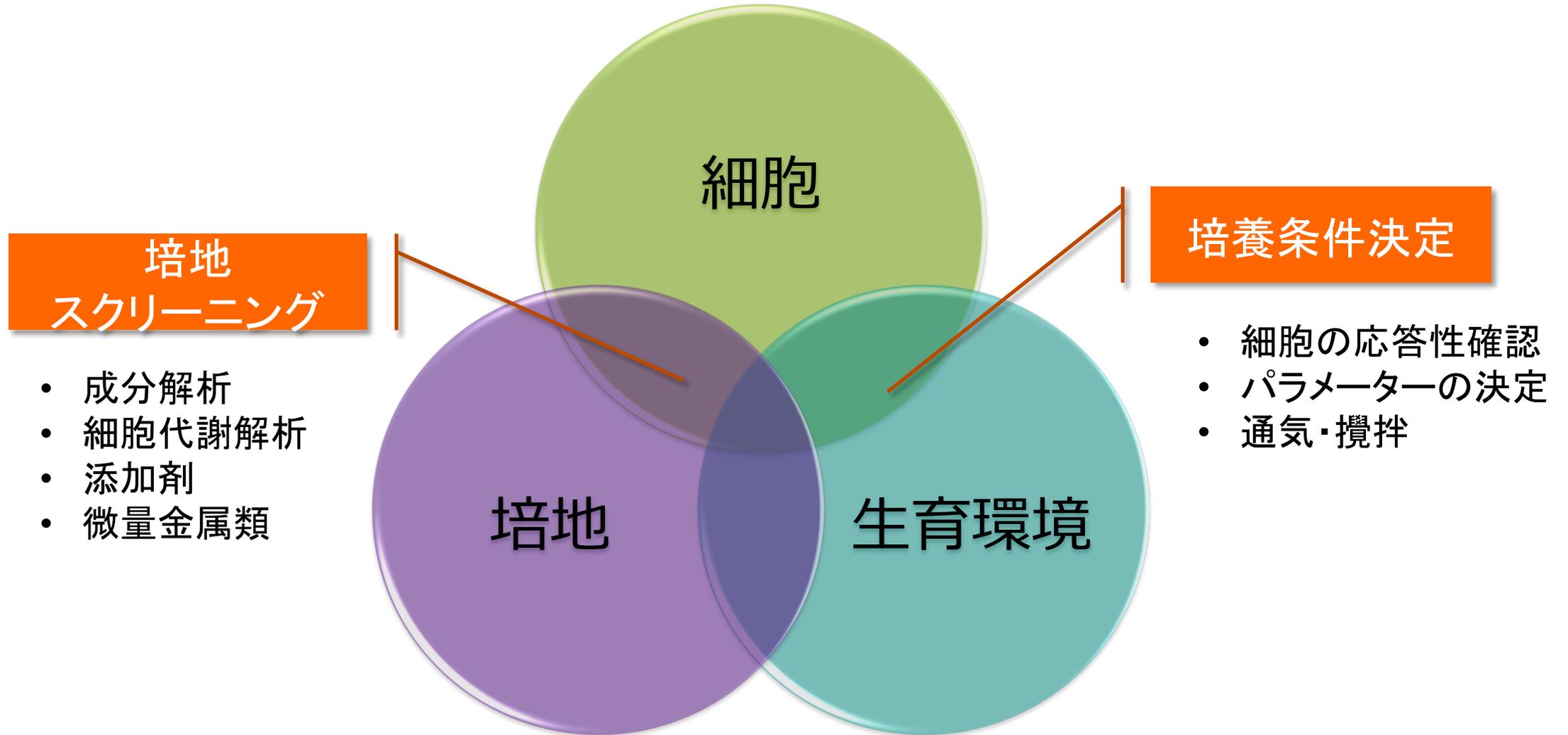
## 拡張戦略 ～スケールアウトとスケールアップ～

拡張戦略			Pros.Cons.
スケールアウト	同一の培養槽を増やすことによる 大量製造	 <p>スケールアウト</p> <p>シングルユース培養槽 (Single Use Bioreactor)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ 同一機種の培養槽で製造(委託)するため、技術移転が比較的スムーズ</li> <li>■ コンパビリティリスク小</li> <li>■ 製造量拡大には多くの培養槽とバッチ数が必要</li> </ul>
スケールアップ	培養槽の変更(大型化)による 大量製造	 <p>スケールアップ</p> <p>ステンレス培養槽 (Stainless Steel Bioreactor)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ 1バッチ製造量が増大する(単位時間当たりの生産性が向上)</li> <li>■ 培養槽が全く異なるため技術移転に時間がかかる場合もある</li> <li>■ コンパビリティリスクがある場合もある</li> </ul> <p>目標生産性の達成 培養profile制御 抗体品質制御 不純物プロファイル制御</p>

スケールアウト戦略とスケールアップ戦略をうまく使い分け・組み合わせることによる  
製造基盤の確立

# 製造基盤の確立

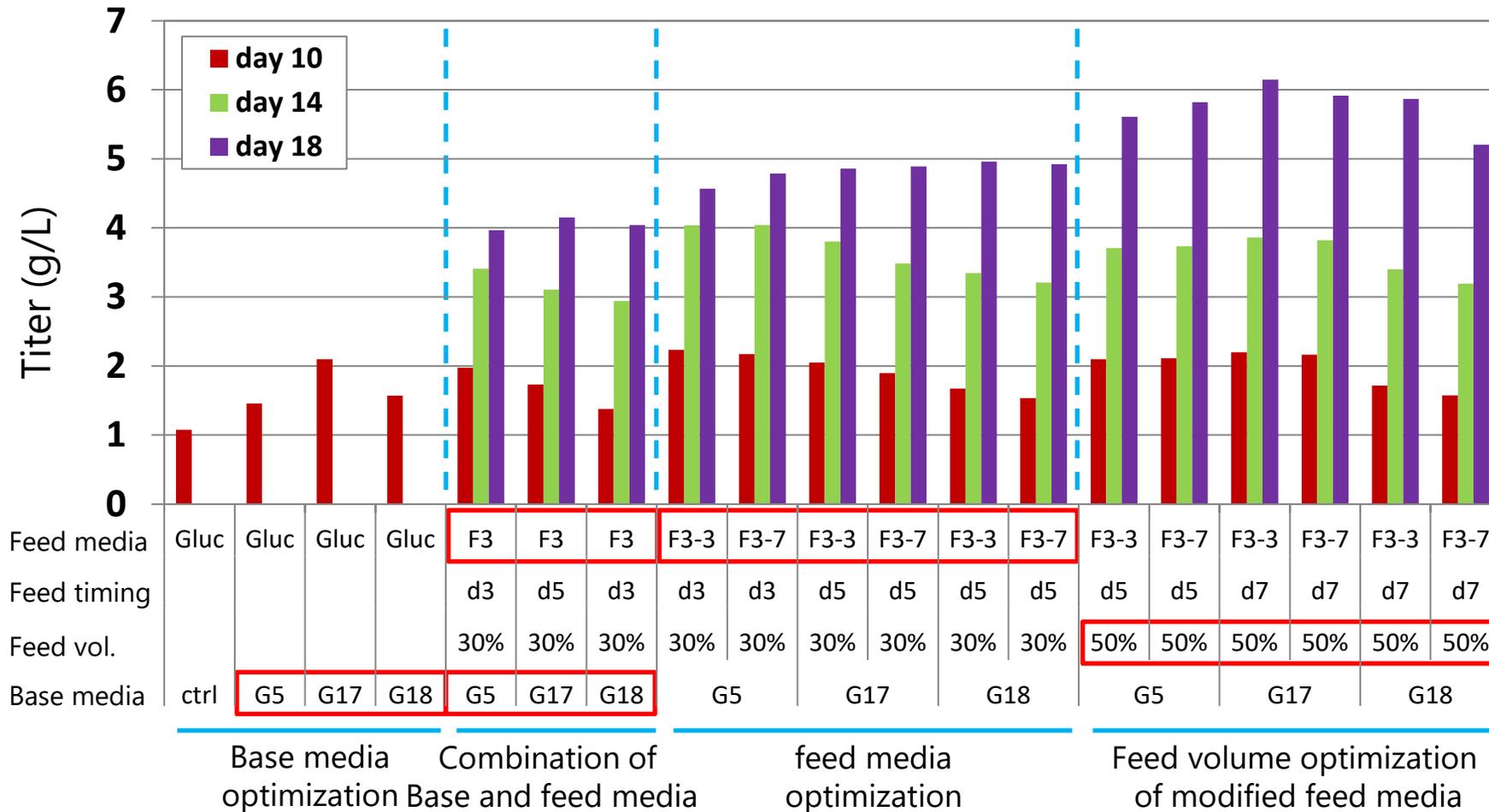
## 培養プロセス開発



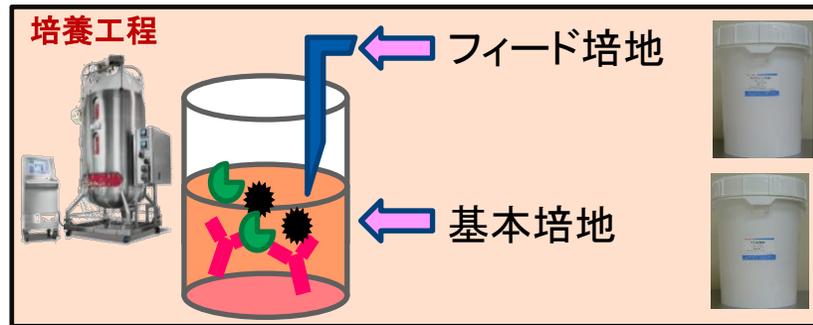
# 製造基盤の確立

## 培養プロセス開発の一例

培地開発と培養条件を検討し、生産性を向上させる



### ■ 自社開発培地の開発：品質制御、コスト削減および調達・在庫管理の効率化



従来は個々の抗体生産細胞に最適な培地を各々選択していた

プロジェクトの多くに適用、かつ高い生産性が得られる汎用培地を開発

#### 自社培地の開発・使用による利点

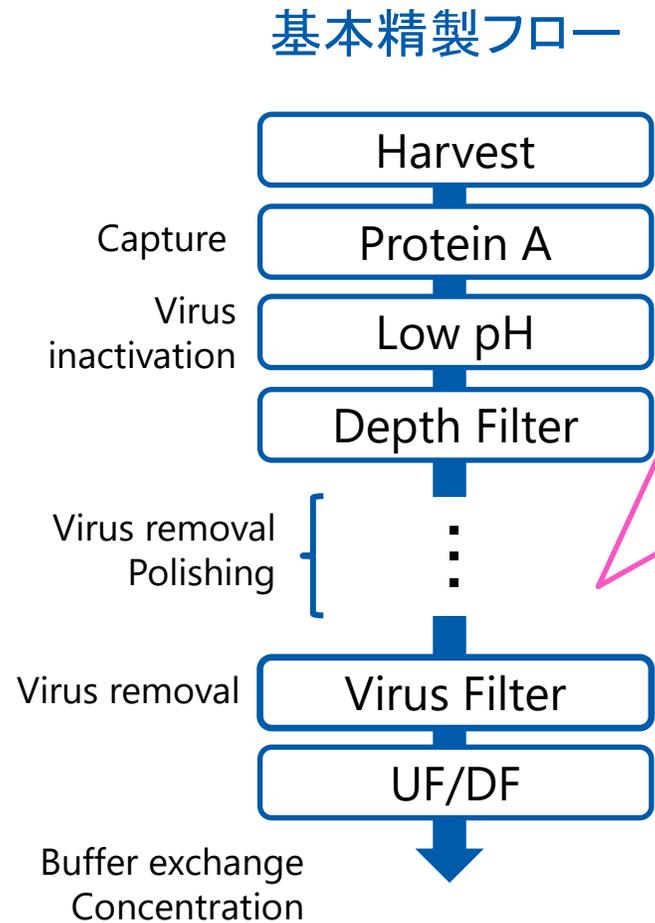
- 培地成分を把握しており、培地の管理・生産物の品質管理、培地組成・培養最適化が短期間で可能になる
- 調達面における効率化
  - 保有(在庫)すべき培地量を管理しやすい
  - 在庫によって発注・入手までのリードタイムを調整・管理できる
- 一括発注によるコスト削減が可能

#### 安定供給・コスト削減/低価格化

- 複数プロジェクトでの共通化
- 培養プロセス検討期間の短縮
- スケールメリットによる低価格化の実現
- 廃棄量の削減
- 緊急時の対応

# 製造基盤の確立

## プラットフォーム ～精製～



### Polishing step

プロセス	導入の目的
AEX	ウイルス除去 HMWS除去、HCP除去、DNA除去
AC Activated Carbon	ウイルス除去 LMWS除去、HCP除去
HIC Hydrophobic Chromatography	HMWS除去、HCP除去、 特定HCP除去
CEX	HMWS除去、HCP除去

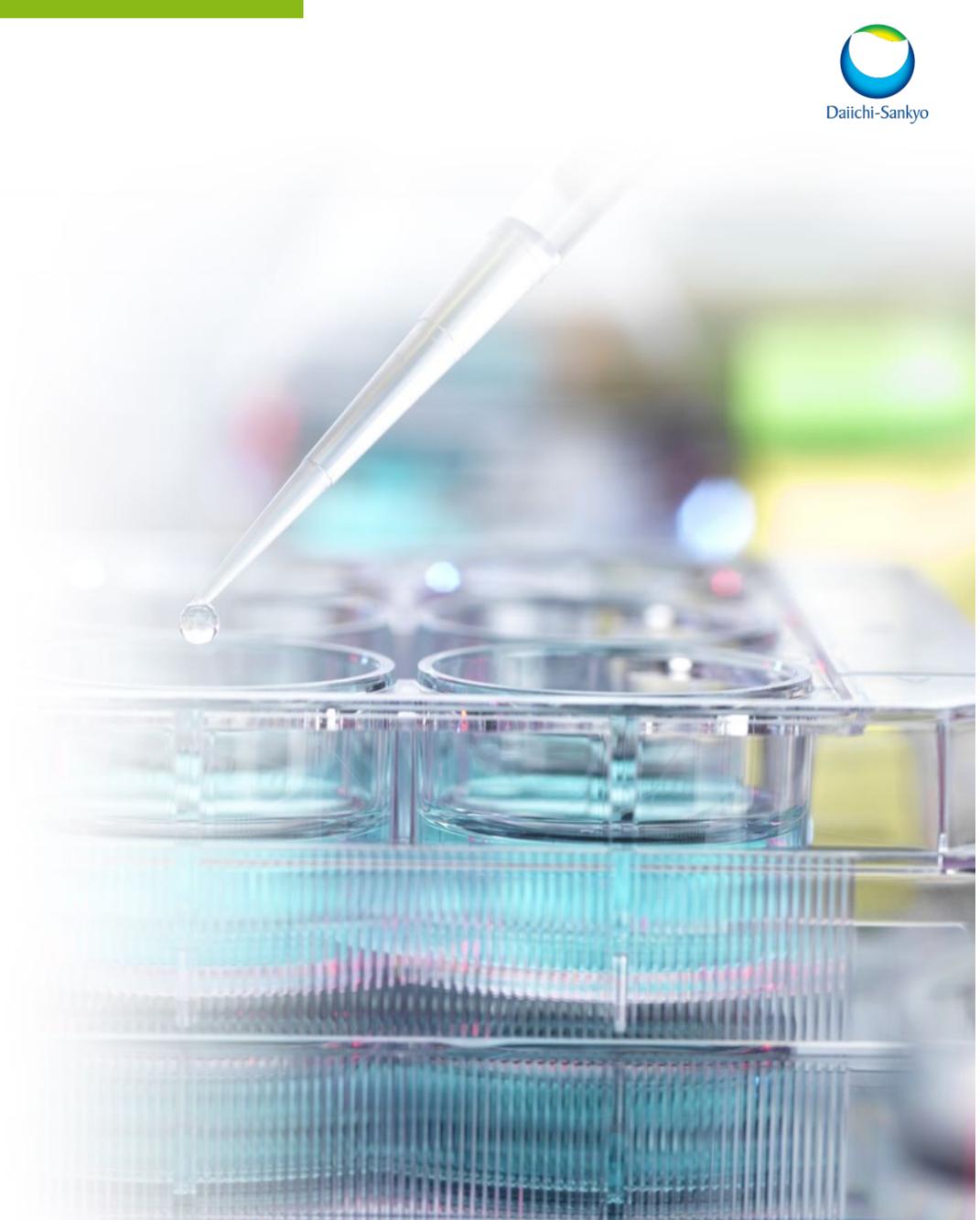
Polishing stepに何を適用するのは抗体の特性に依存する

- ◆ 社内外で製造することを考慮したプロセスの設計
- ◆ Problematic HCPへの対応
- ◆ 細胞・培養技術の改良による処理量増加への対応
- ◆ 多様化する次世代抗体へ適用するプロセスの最適化
- ◆ 原材料調達問題への対応

- 開発されることが決まった最終候補抗体は、組換え動物細胞(CHO細胞)によって製造されます
- 製造プロセスは、細胞構築工程、培養工程(除細胞工程を含む)、精製工程によって構成されています。
- 培養工程では、スケールアウト、または、スケールアップによって製造能力を拡張します
- 安定した製造プロセスを確立し、高品質な抗体を製造(供給)します
- プラットフォーム技術の開発は、安定製造に大きく貢献します

## 本日本話する内容

- ① 抗体製造プロセスについて  
バイオ医薬品一特に抗体薬物複合体  
抗体はどのようにして製造するか  
バーチャルツアー  
製造基盤の確立
- ② CHO細胞/CHO発現系について  
第一三共独自の製造プロセス



# CHO細胞/CHO細胞発現系について

## 抗体医薬品製造に汎用されるCHO細胞株

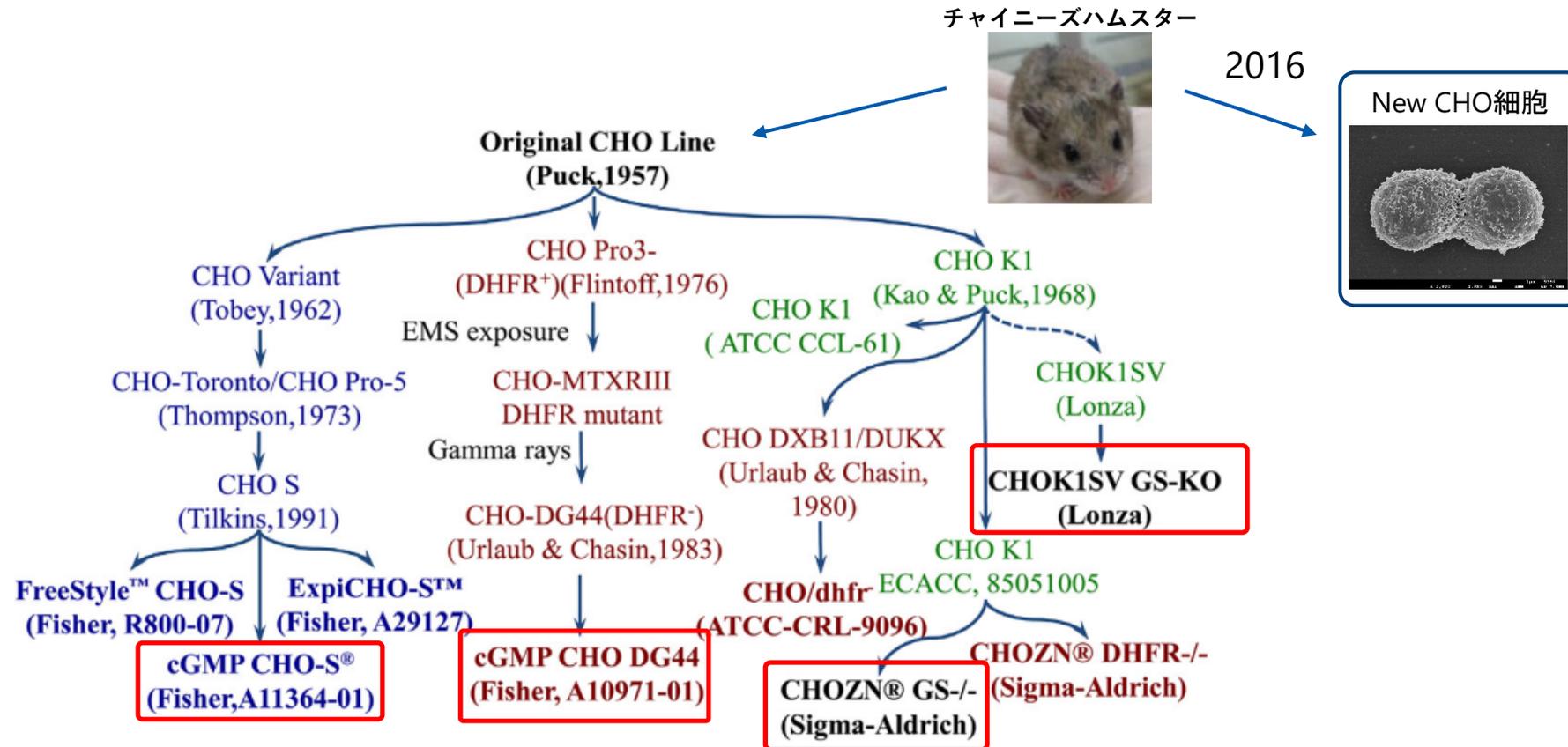


Fig. 1. Cell lineage of CHO cells.

N. Xu et al. / Biochemical Engineering Journal 124 (2017) 122–129

# CHO細胞/CHO細胞発現系について

## 抗体医薬品製造に汎用されるCHO細胞株

- 動物細胞(CHO細胞)で初めて製造された組換えタンパク質は、1987年に承認されたr-tPA, Activase® (alteplase)
- CHO細胞は、HIV, influenza, polio, herpes, measles を含む 44の human pathogenic viruses の複製能が試験された(1989)
- CHO細胞は、無血清培地(合成培地)が使用でき、浮遊培養が可能であったため、産業利用しやすい攪拌培養が適応できた

# CHO細胞/CHO細胞発現系について

## CHO細胞による抗体生産量の変遷

1980年代: 1-100 mg/L・・・batch 培養

1990年代: 1g/L, 10-14 日間・・・以下、fed-batch 培養

2010: Biogen, 10g/L on day18 in CD media

American Institute of Chemical Engineers Biotechnol. Prog., 26, 1400-1410, 2010 DG44

2013: Genentech, over 9g/L on day18 in CD media

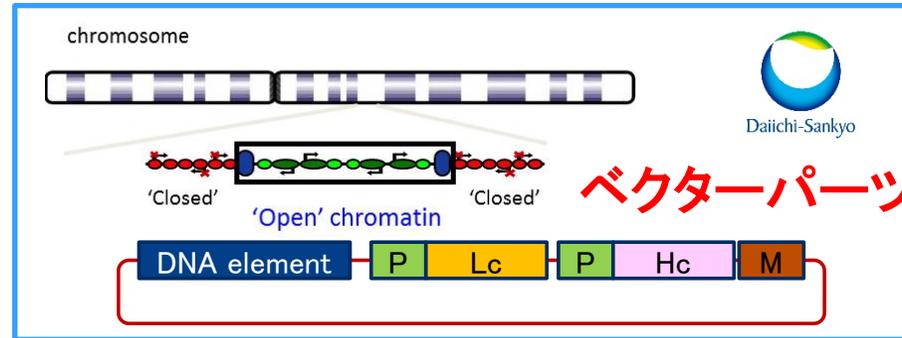
Biotechnology and Bioengineering, Vol. 110, No.1, 2013 CHO

2017: Osaka Univ., over 9g/L on day16 in CD media

Cytotechnology, Vol. 69, 511-521, 2017 GS-CHO

# CHO細胞/CHO細胞発現系について

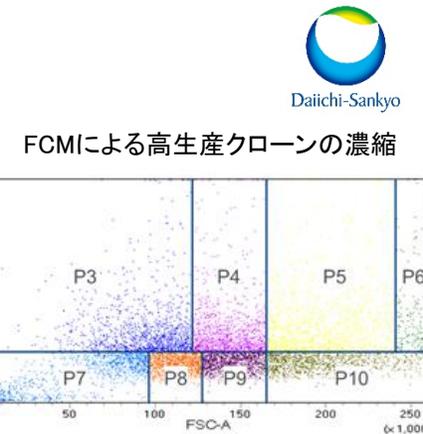
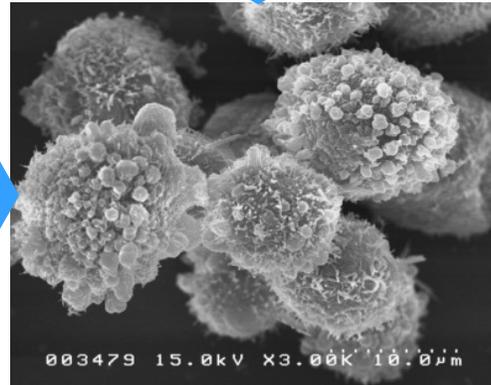
## CHO細胞発現系の開発



Novel cell line development strategy for monoclonal antibody manufacturing using translational enhancing technology

Kenji Masuda et al.,  
J. Bioscience and Bioengineering,  
133(3), 273-280, 2022

高機能宿主改良パーツ



スクリーニング法の開発

カスタム培地開発

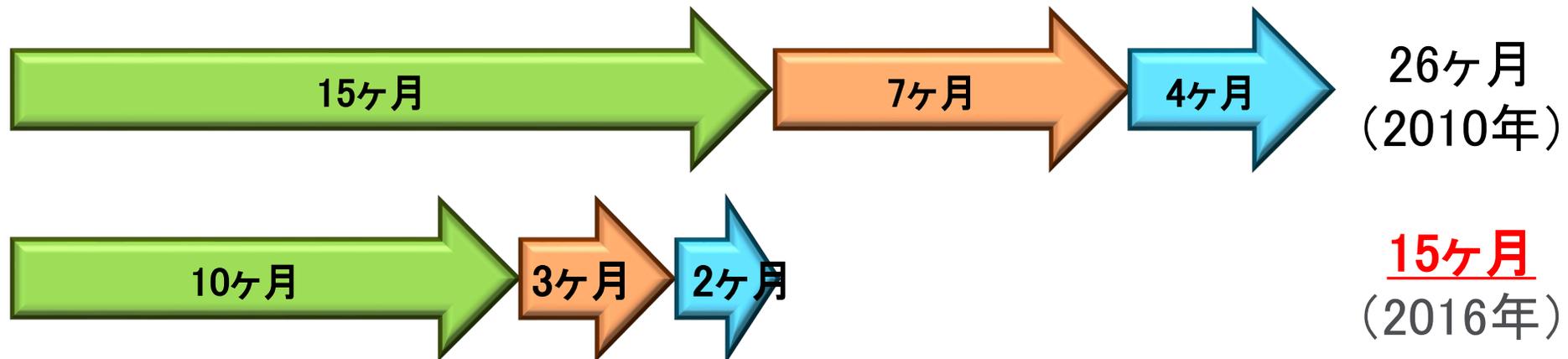
# CHO細胞/CHO細胞発現系について

## 初期プロセス開発(FIHまで)の加速化

初期プロセス開発期間を11ヶ月短縮することが可能になった

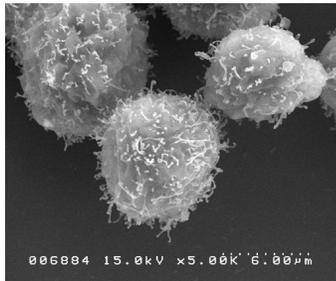


### 初期プロセス開発期間



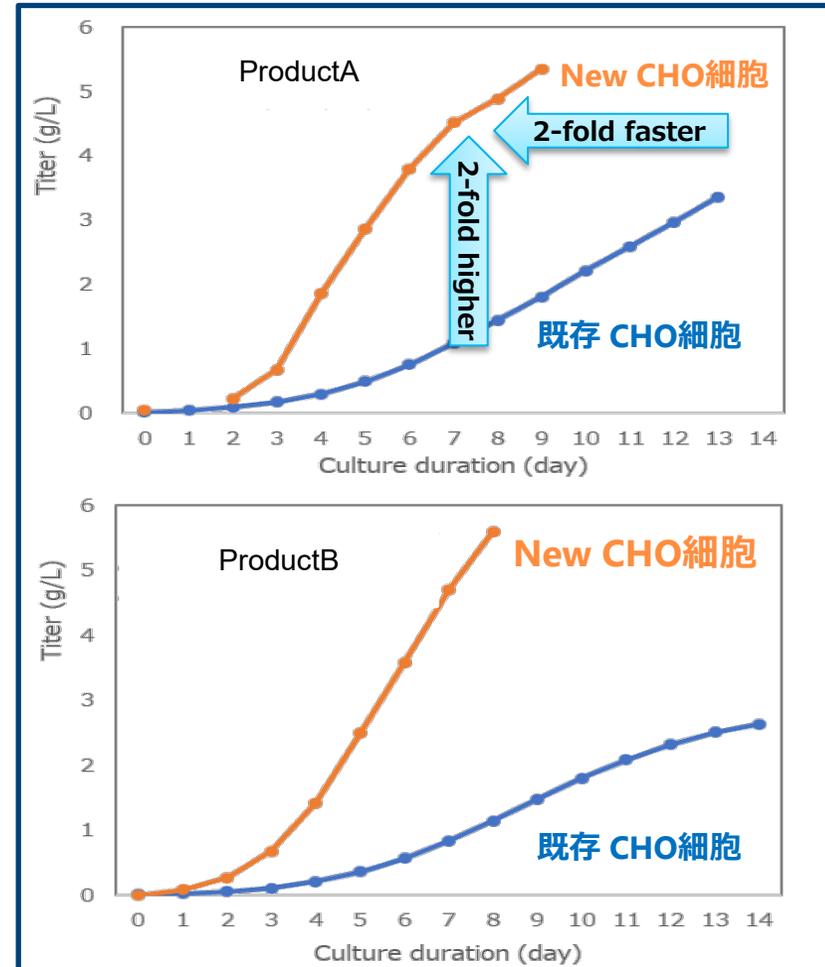
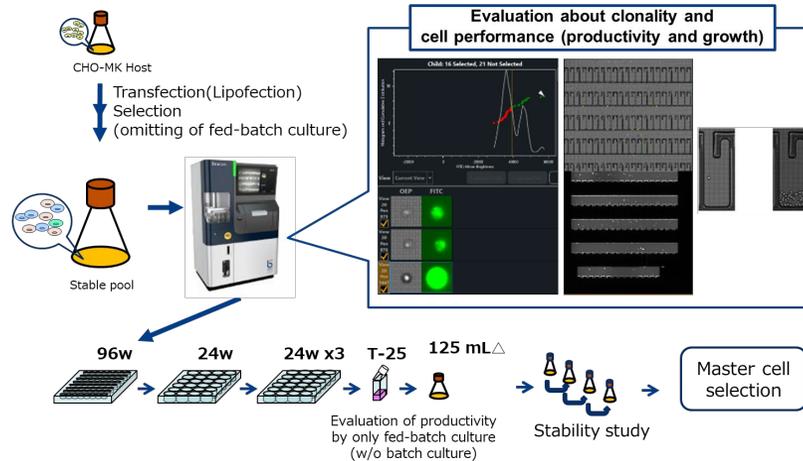
# CHO細胞/CHO細胞発現系について 更なる高速プロセスの開発に向けて

## DS独自技術を用いた抗体産生細胞の確立



- toolbox A
- toolbox B
- .....

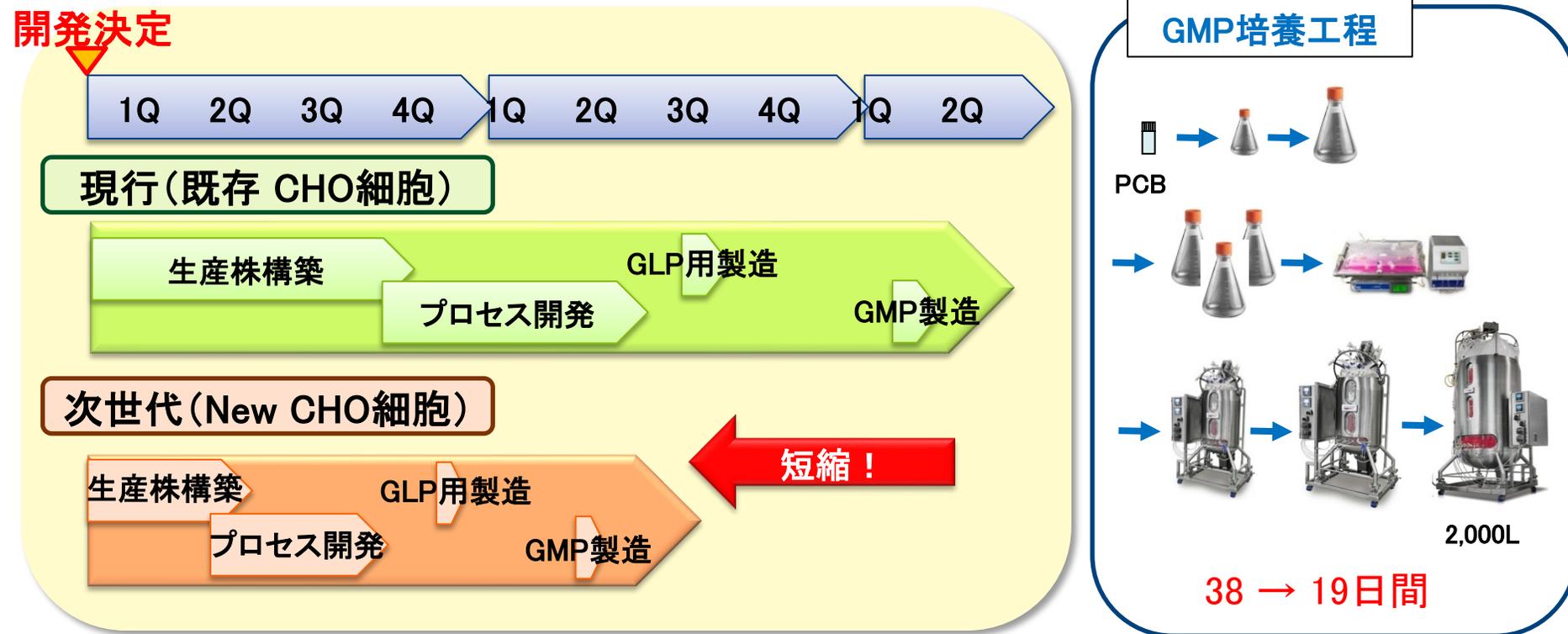
## DS独自の抗体高産生細胞の高速樹立システムの確立



# CHO細胞/CHO細胞発現系について

更なる挑戦 次世代DS発現系

- ✓ 開発決定から1st GMP製造までの期間短縮（生産株構築期間を半分に）
- ✓ 製造期間短縮によるバイオリジクス製造の生産効率向上（拡大・製造培養期間を半分に）



- CHO細胞発現系は、医薬品製造（抗体）において安心して使用されている発現系です
- 抗体の製造において、～10g/Lの生産性を示すことが可能になっています
- プラットフォーム化が進むとプロセス開発期間の短縮に貢献できます
- 新しいCHO細胞の開発は、効率化だけでは実現できない高速プロセスを提供できます
- 新しいCHO細胞を活用することによって、研究開発の加速、プロセス開発の高速化、製造期間の短縮が期待されます

本資料に関するお問い合わせ先

**第一三共株式会社**  
**コーポレートコミュニケーション部**

TEL: 03-6225-1125 (株式市場関係者の皆様)

03-6225-1126 (報道関係者の皆様)

Email: [DaiichiSankyoIR@daiichisankyo.co.jp](mailto:DaiichiSankyoIR@daiichisankyo.co.jp)