

医薬品および医療材料用蛋白質大量発現技術の実用化研究

育成研究：JSTイノベーションプラザ北海道 平成19年度採択課題

「蛋白質大量発現細胞株の確立と産生蛋白質（バイオジェネリック医薬品等）の有効性評価」



代表研究者：北海道大学 人獣共通感染症リサーチセンター
教授 鈴木 定彦

■ 研究概要

生物によってのみ生み出されるインターフェロン(C型肝炎薬)のようなバイオ医薬品は、従来の医薬品と比べて生産コストが高いため治療費が高くなる傾向にある。故に、医薬品業界では、低コストで大量のバイオ医薬品を生産する技術が求められてきた。本研究では、バイオ医薬品を生産する上で安全性の高いCHO細胞の発現性を高める独自技術をシーズとし、バイオ医薬品あるいは特許が切れたバイオ後続医薬品をより安く供給できる技術を開発する事により、国の医療に貢献する事を目的とした。また、本技術は原理的に医薬品以外の蛋白質にも応用可能なため、今後大きな需要が期待できる材料、特に医療材料用コラーゲンに注目し、その応用可能性を探った。

■ 研究内容、研究成果

(1) バイオ後続医薬品用高発現細胞の構築

対象としたバイオ後続医薬品候補のうちエリスロポエチン(腎性貧血薬)、インターフェロン- (C型肝炎薬)、顆粒球コロニー刺激因子(癌化学療法)、ダルベポエチン((第2世代エリスロポエチン:腎性貧血薬)および顆粒球・マクロファージコロニー刺激因子(免疫療法)の高発現細胞の樹立に成功した。また、対象としたバイオ医薬品候補のうちエリスロポエチン、インターフェロン-、顆粒球コロニー刺激因子および顆粒球・マクロファージコロニー刺激因子の生物活性が市販品と同等であり、医薬品化に適合している事を確認した(表)。

(2) 精製方法およびスケールアップ技術の確立

体系的な対象蛋白質エリスロポエチンの精製法を確立した。スケールアップ可能なバイオリクターを用いて中規模培養試験を実施し、目的を大きく上回る量の生物活性を有するエリスロポエチン生産が可能であることを確認した(図1)。

更に、第3世代エリスロポエチンの生産基盤を確立するためにポリエチレングリコール化とその精製を試み、これに成功した。

(3) 生産コスト低減化のための新規外来遺伝子産物高発現ベクターの開発

高生産細胞スクリーニングのための選択マーカーとしてジヒドロ葉酸還元酵素(DHFR)を選定し、DHFR遺伝子を完全欠損したCHO細胞を宿主とした高発現ベクターpDC6の構築に成功した。pDC6の性能は本研究開発のシーズと同様であったが、高生産細胞スクリーニングに要する費用はシーズ技術の20分の1に、生産用細胞の培養に要する費用もシーズ技術の10分の1に低減できた。

表 バイオ後続品としての標的蛋白質の目標生産量、達成生産量と発見された蛋白質の市販品に対する比活性

蛋白質	目標生産量 (mg/L)	達成生産量 (mg/L)	市販品に対する比活性
インターフェロン α	4	16	1.4-1.8
エリスロポエチン	65	143	≥ 1.0
顆粒球コロニー刺激因子	50	77	0.6-1.0
ダルベポエチン	15	135	未分析
顆粒球マクロファージコロニー刺激因子	100	221	0.8-1.9

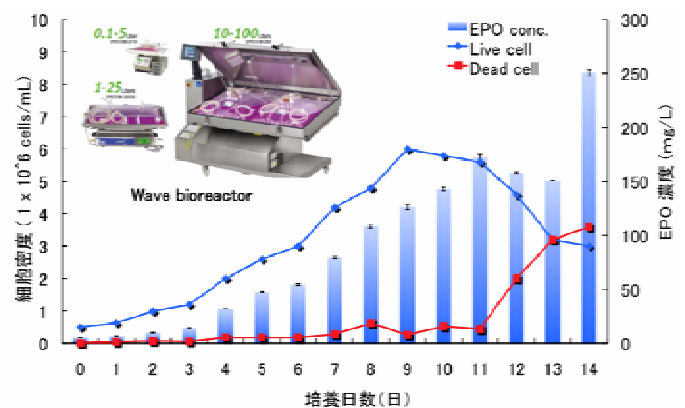


図1 エリスロポエチンの中規模培養試験における細胞濃度の推移(生細胞:◆、死細胞■)と生産量推移(青縦棒)。

(4) 医療用材料の開発

歯槽膿漏の治療への応用が期待されるⅠ型コラーゲン鎖を発現するCHO細胞の樹立に成功した。更に、組換えコラーゲンの簡易精製法を確立した。骨芽細胞接着支持能を指標とした生物活性の評価では、精製した組換えⅠ型ヒトコラーゲン鎖が十分な活性を有している事が確認できた(図2)。



図2 天然型および組換えコラーゲンのヒト骨芽細胞接着支持活性の比較。組換えコラーゲンにおいて天然型ヒトコラーゲンと同等のヒト骨芽細胞接着支持活性が認められた。

■ 今後の展開、将来の展望

研究代表者が開発した技術では、独自のベクターDNAを用いて目的蛋白質をコードする遺伝子が染色体上の転写活性(メッセンジャーRNAを合成する活性)の非常に高い領域に挿入された細胞のみを選択する。そのため、従来の方法に比べて低いコスト(約20%)で大量の組換え蛋白質を産生できる細胞を樹立することが可能となった。従って、この系を用いて蛋白質を製造することにより安価なバイオ後続医薬品の上市が可能となる。

(1) バイオ医薬品開発に向けた研究開発

プロジェクトで開発した高発現ベクターを有効活用するために高発現ベクターをビジネスアイテムとした事業展開を図ることとし、バイオ医薬関連企業と交渉をスタートした。

(2) バイオ医薬品シーズ発掘に向けた共同研究

本高発現ベクターを用いたバイオ医薬品製造に関し、他大学から共同研究の依頼があり、新規バイオ医薬品の開発を企図している。

(3) 医療用材料としての製品化に向けた事業展開

共同研究企業では、本プロジェクトで開発した組換えコラーゲンの骨・軟骨充填剤、スキャホールド、形成外科用材、歯科用充填剤、止血材などの医療用材料への応用による製品化を目指し、研究開発を進めている。

■ 研究体制

◆ 代表研究者

北海道大学 人獣共通感染症リサーチセンター 教授 鈴木 定彦

◆ 研究者

宮崎 忠昭 (北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター)

田原 寛 (北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター)

鈴木 祐介 (北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター)

鳥谷部 夏美 (北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター)

城本 麻衣 (北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター)

植村 英俊 (扶桑薬品工業株式会社研究開発センター)

山本 啓一 (扶桑薬品工業株式会社研究開発センター)

北原 譲 (扶桑薬品工業株式会社研究開発センター)

◆ 共同研究企業

扶桑薬品工業株式会社

■ 研究期間

平成20年4月 ~ 平成23年3月