



Title	Development of a general strategy for formulation optimization of therapeutic monoclonal antibodies
Author(s)	Saito, Shuntaro
Citation	大阪大学, 2013, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/26170
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

〔 題 名 〕

Development of a general strategy for formulation optimization of therapeutic monoclonal antibodies
(抗体医薬品 処方最適化ストラテジーの開発)

学位申請者 齋藤 俊太郎

抗体医薬品は、優れた薬効および安全性が期待できる次世代医薬品として世界的な開発が進められている。一般に、溶液状態として調製されるケースが多いが、抗体溶液は個々に特異な物理化学的性質を示すため、品質管理が難しい課題となっている。特に、保管中に発生する抗体の「凝集体」は、副作用の要因として問題視されている。また、高濃度溶液における粘度上昇は、患者への投与経路の制限、あるいは生産性悪化の要因となっている。

抗体の一部アミノ酸配列の最適化や、処方溶液の最適化は、凝集性や粘度を改善する上で有効なアプローチである。しかしながら、最適なアミノ酸配列や処方溶液の予測は難しいため、様々な条件における凝集体や粘度変化を実測する評価方法に基づいて最適化が図られている。こうした従来の方法は、多くの検体と時間を要するため、抗体医薬品開発の律速段階となっている。このような背景から、凝集性や粘度の予測指標に基づいて処方を最適化する「合理的処方」の開発が強く望まれている。本研究では以下の2種類の手法構築を進めながら、製薬において利用可能な方法論を開発した。

高濃度抗体溶液の粘度・凝集性予測法の構築

超遠心分析 沈降平衡法 (AUC-SE) により得た第二ビリアル係数 (B_2) を指標として、低濃度溶液における分子間相互作用と高濃度溶液における凝集性および粘度との関係を調べた結果、可逆的分子間相互作用が凝集および粘度上昇の要因であり、 B_2 が凝集性、粘度上昇の予測指標として有用であることが示された。

抗体医薬品の処方最適化ストラテジーの構築

コロイド安定性(B_2)と立体構造安定性(T_m)の両面から異なるストレスによる凝集メカニズムの解析を試みた。加熱による凝集の場合、コロイド安定性が優位に働き、立体構造安定性の寄与も存在した。この場合、 B_2 と T_m の両方が有効な凝集予測指標と言えた。一方、凍結融解の場合、 T_m のみが有効な凝集予測指標であることが示された。さらに、塩が静電的相互作用のタイプ(引力/斥力)に依存して、抗体を安定化もしくは不安定化する異なる作用を示すことが確認された。この塩の効果を予測するためには、静電的相互作用の正確な評価が必須であり、 B_2 の測定が極めて有効と言えた。

以上の知見に基づいて、予測指標に基づく抗体の処方最適化ストラテジーを構築した。本手法により求めた最適処方、実際に加熱および凍結融解ストレスにおいて最も低い凝集性を示した。さらに、従来法や*In-silico*予測法(分子モデルによるシミュレーション)と比較したところ、本ストラテジーが優位であることを確認した。本研究によって、抗体の凝集および粘度上昇メカニズムの理解が深まり、予測指標に基づいた抗体医薬品開発におけるリスク評価・予測が可能となった。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (齋藤 俊太郎)			
論文審査担当者	(職)	氏 名	
	主 査	教授	福井 希一
	副 査	教授	金谷 茂則
	副 査	教授	仁平 卓也
	副 査	教授	原島 俊
	副 査	教授	大竹 久夫
	副 査	教授	福崎 英一郎
	副 査	教授	村中 俊哉
	副 査	教授	渡邊 肇
	副 査	教授	紀ノ岡 正博
	副 査	教授	藤山 和仁
	副 査	教授	清水 浩
	副 査	教授	四方 哲也
	副 査	教授	永井 健治

論文審査の結果の要旨

蛋白質である抗体を主成分とする抗体医薬品は、優れた薬効および安全性が期待できる次世代医薬品として世界的に開発が進められている。抗体医薬品は、一般に、溶液状態として調製されるケースが多いが、抗体などの蛋白質の溶液中での振る舞いは十分に解明されておらず、そのため、品質管理が課題となっている。特に、保管中に発生する抗体の「凝集体」については、体内で免疫原性を生じる可能性が近年指摘されている。また、患者の負担軽減のため、抗体の濃度を上昇させた高濃度抗体医薬品の開発が進められている。しかしながら、高濃度化に伴い溶液の粘度が上昇するケースが多く、粘度上昇の抑制も重要な課題となっている。そのため、様々な条件における凝集体や粘度変化を実測する評価方法に基づいて最適化が図られているが、こうした従来の方法は、多くの検体と時間を要するため、抗体医薬品開発の律速段階となっている。

学位申請者は、このような背景に基づき、凝集性や粘度の予測指標に従って処方（医薬品溶液の組成）を最適化する「合理的処方」の開発に取り組み、製薬において利用可能な方法論を開発している。

学位申請者が行った本研究の重要性は二点あげられる。まず、抗体分子同士の分子間相互作用の程度を反映するパラメータである第二ビリアル係数が、凝集性や粘度を予測するための指標として有効に利用できることを見出すのである。申請者は、配列が異なり等電点が異なる 3 種類のヒト化抗体を用い、10mg/mL 以下の比較的濃度が低い抗体溶液について超遠心分析沈降平衡法（AUC-SE）を利用して第二ビリアル係数を測定している。いずれの抗体も凝集性・粘度上昇共に第二ビリアル係数と非常に良い相関があり、第二ビリアル係数が凝集性、粘度上昇の予測指標として有用であることが示されている。

次に、第二ビリアル係数に基づいた処方条件の最適化ストラテジーを考案するのである。申請者は、配列と等電点が異なる 4 種類のヒト化抗体の実験に供し、塩濃度が低い場合にも第二ビリアル係数が正・負、両方の値を持つことを見出すのである。さらに、塩濃度が低い組成において引力的な相互作用を示す場合には、塩の添加により静電的相互作用が弱められ、分散性が向上することを見出してい

る。また、第二ビリアル係数と保存中の凝集性には非常に良い相関があることも確認している。これらの結果に基づき、申請者は塩濃度が低い溶液組成で第二ビリアル係数を測定し、分子間に働く静電的相互作用力を評価し、静電的な引力が働いている場合には塩を添加することで相互作用を弱め分散安定性を向上させる処方開発ストラテジーを提案するのである。なお、本研究で提案した処方ストラテジーを、従来から用いられてきた実験計画法や *in-silico* 予測法(分子モデルによるシミュレーション)と比較する中で、本ストラテジーが優位にたつことを確認している。

以上のように、本論文は、抗体の凝集および粘度上昇メカニズムの新たな理解、および従来は困難であったそれらの予測指標に基づいた抗体医薬品の最適組成条件の探索を実現している。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。