

別記様式第 6 号 (第 16 条第 3 項, 第 25 条第 3 項関係)

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士 (薬学)	氏名	山田 剛士
学位授与の条件	学位規則第 4 条第①・2 項該当		
論文題目			
デプスろ過膜を用いた抗体医薬品の完全フロースルー精製に関する研究			
論文審査担当者			
主査	教授	松尾 裕彰	印
審査委員	教授	小池 透	
審査委員	准教授	熊谷 孝則	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>抗体関連医薬品は、その特異性の高さから有効性・安全性に優れているが高価であり、医療費の増大という課題の中で重要な問題となってきた。抗体関連医薬品の生産過程では、宿主細胞由来タンパク質 (HCP) や抗体の重合体 (HMWs) が不純物として生じるが、一般的に医薬品品質としてそれぞれ 100 ppm 未満, 5% 未満での管理が求められる。これらは抗体と性質が似ていることから精製の難易度が高い。そのため抗体精製には、その使用実績と堅牢性の高さからプラットフォームプロセス (PF) と呼ばれるプロセスで精製されることが多い。通常, PF は、細胞分離, プロテイン A アフィニティークロマトグラフィー, ウイルス不活化, 2 段階の Polishing クロマトグラフィー, ウイルス除去, 濃縮緩衝液置換の順に実施されている。しかしながらこの PF を用いるとコストがかかるため、抗体医薬品の価格を下げるためには革新的な精製プロセスが必要である。本研究では、新たな精製法としてろ過法の一つであるデプスろ過法に着目した。デプスろ過膜は、PF で細胞分離や清澄化に実績があり、弱いながらも不純物吸着性能を有していることが報告されている。これらの知見を基に、デプスろ過膜が有する不純物除去性能を高めることが出来れば、抗体医薬品精製法に適用し、革新的な精製プロセスが構築出来ると考え、研究を行った。</p> <p>培養上清に対し、限外ろ過膜を用いて 10 mM Tris-HCl (pH8.0) に緩衝液置換 (DFS) すると、デプス膜への HCP 吸着性能が飛躍的に向上することが明らかになった。また、HMWs も、緩衝液置換により飛躍的な除去性の向上が確認された。緩衝液置換によって除去性が向上したことから、デプス膜の有する静電的相互作用が増強されたことが原因と考えられた。</p> <p>2 種のデプスろ過膜 (A1HC 及び EXT) を組み合わせて 2 段階処理を行い、その不純物除去性の確認を行った。その結果、同じデプスろ過膜よりも異なるデプスろ過膜を組み合わせた方が、不純物除去性能が高いことが明らかになった。この結果は、それぞれのデプスろ過膜が異なる集団の不純物を除去している可能性を示している。</p> <p>不純物含量や抗体種が異なる 3 種の DFS を用い、A1HC 及び EXT の組み合わせに加え、フロースルーモード精製が可能である活性炭デプスろ過 (AC) や陰イ</p>			

オン交換精製 (NH₂) を実施し完全フロースループロセスの検証を行った。その結果、いずれの DFS を用いた場合でも、安定的に医薬品品質を達成できることが確認できた。この結果から、完全フロースループロセスが、不純物含量や抗体種に対する汎用性、医薬品品質に対する堅牢性を有することが確認できた。一方、収率はプラットフォームプロセスと比較すると低い値を示したため、収率の改善は課題である。収率改善のアプローチとしては、pH の最適化が効果的である可能性を見出している。

完全フロースルー精製では、連続精製が可能になることから、中間体保管用タンクやクロマト装置の削減が可能となり、緩衝液使用量の大幅な減少に伴い、緩衝液タンク、試薬の削減が可能となった。さらに連続化に伴い、作業時間が大幅に短縮可能となることも示唆された。

以上の結果から、本論文は抗体医薬品製造にとって極めて有用性の高いシステムを構築している点で高く評価され、薬学研究の発展に資するところ大である。よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士（薬学）の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。

別記様式第7号（第16条第3項関係）

最終試験の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（薬学）	氏名	山田 剛士
学位授与の条件	学位規則第4条第①・2項該当		
論文題目			
デブスろ過膜を用いた抗体医薬品の完全フロースルー精製に関する研究			
最終試験担当者			
主査	教授	松尾 裕彰	印
審査委員	教授	小池 透	
審査委員	准教授	熊谷 孝則	
〔最終試験の結果の要旨〕			
判 定 合 格			
<p>上記3名の審査委員会委員全員が出席のうえ、平成29年12月12日の第36回広島大学研究科発表会（薬学系）及び平成30年2月7日、本委員会において最終試験を行い、主として次の試問を行った。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1 高分子量体不純物（HMWs）の免疫原性について 2 ウイルス不活化や除去操作の位置づけと原理，効果について 3 スケールアップの方法とデバイス形態改良の方向性について 4 デブス膜の検討の経緯とアプローチについて 5 不純物除去の原理や精製法の選択方法について <p>これらに対して極めて適切な解答をなし、本委員会が本人の学位申請論文の内容及び関係事項に関する本人の学識について試験した結果、全員一致していずれも学位を授与するに必要な学識を有するものと認めた。</p>			