

## バイオ医薬品のコールドチェーン負担軽減策

幅広い種類の治療用バイオ医薬品が入手可能になったことで、現代医療に革命が起きた。医薬品の大半は従来型の低分子であるが、バイオセラピューティクスが登場したことで、これまで難しかった多くの疾患領域の治療が可能になった<sup>1)</sup>。バイオセラピューティクスは大きく成長している（図1）が、社会全体でバイオセラピューティクスへの期待に応えるには、大きな課題を克服する必要がある。開発中のタンパク質治療薬やワクチンの数が増える中、製品開発者が直面する最大の課題の1つは、これらの高分子の安定性である<sup>2,3,4)</sup>。ワクチンを含むバイオ医薬品は、本質的に不安定で分解しやすいものである。そのため、これらのバイオ医薬品は通常、低温（コールドチェーン）での輸送と保管を必要とする。その結果、経済的負担が大きくなり、場合によってはアクセスも制限される。

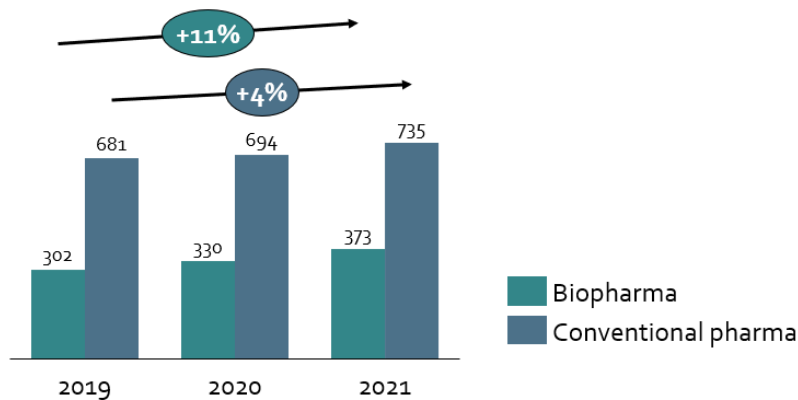


図1. 出典：IQVIA 2022 年、バイオ医薬品と従来型医薬品の売上高（B€）と成長率（CAGR%）

### 今後の成長を鈍化させる安定性の課題

バイオ医薬品は、中型から大型の複雑な高分子から構成されており、タンパク質、核酸、脂質、糖質の4種類に大別される。本文では、タンパク質に焦点を当てる。

### タンパク質の構造

タンパク質の構造は、図2に示すように4つのレベルに分けることができる。タンパク質の立体構造は非常に複雑であり、治療効果に直接関係するものである。もし3次元構造が維持されないと、薬物の治療効果が低下したり、完全に失活する可能

性がある。また、その分子が患者に免疫原性の危険性を引き起こす可能性もある。そのためタンパク質の構造を維持することは非常に重要である。

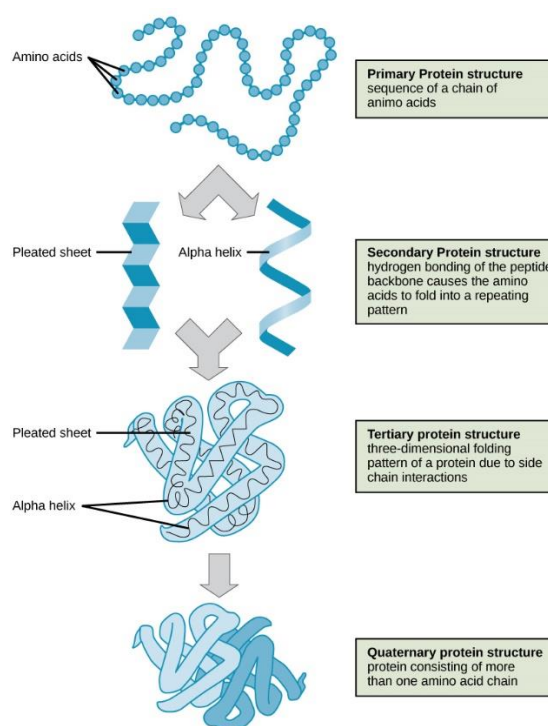


図2 タンパク質の複数レベルの構造 (image: Biology by CNX OpenStax, CC BY 4.0)

## 分解のメカニズム

タンパク質の構造は、低分子化合物に比べて比較的弱いため、課題が生じる。バイオ医薬品には数多くの化学的、物理的、およびコロイド的な分解経路が存在するが、これらの経路を完全にレビューすることは本稿の範囲外である。これ以降、「安定性」という簡略化された用語は、すべての分解経路が活性に悪影響を及ぼす、または安全性を低下させることを意味するものとする。

このように多くの分解経路があるため、バイオ医薬品は一般的に、サプライチェーン全体、ひいては医薬品が投与されるまでコールドチェーンを維持することが求められる。もし、高分子が必要な条件下で維持・保管できなければ、結果として、製品の廃棄、治療効果の損失、あるいは免疫原性のリスクなどが発生する可能性がある。

たとえ頑健なコールドチェーンが構築されていても、それを維持するための経済的影響は、バイオ医薬品が高価格であるひとつの要因となっている。さらにコールドチェーンが利用でき、医薬品が手頃な価格である場合でも、バイオ医薬品の保存期間は従来の低分子医薬品に比べ短いのが一般的である。以下では、バイオ医薬品の安定性を高め、コールドチェーンの負担を軽減するために採用されている複数の戦略について簡単に説明する。

## 軽減策

コールドチェーンの負担を軽減するためには、さまざまなアプローチがあり、以下のセクションで非網羅的に要約して議論する。最終的には複数の戦略が必要であると考えるのが妥当である。

バイオーセラピューティクスが発見と開発の多くの段階には、安定性プロファイルを強化する機会がある。強力な *in silicon* モデリングツールにより、開発可能性の高い高分子をスクリーニングすることができる<sup>5,6)</sup>。上流工程では、治療効果や安定性を高めるために、翻訳後修飾が行われることがある。さらに下流工程では、効率的な分離、精製、最適化されたバッファシステムを使用することで、さらなる利益を得ることができる。

## 下流工程

安定性向上のための最も明確な例として、下流の分離・精製工程が挙げられる。ここでは、タンパク質断片化などの分解を引き起こす生成物を除去するため、高度に選択的なプロセスステップを採用することが重要である。あまり考慮されないのは、完全に最適化されたバッファの選択である。これは非常に重要なステップであり、最終用途を念頭に置いて選択する必要がある。一般的に、最大化される主なレスポンスは収率である。安定性も考慮しなければならないが、長期的な安定性を予測するための分析方法は代表的なものではないかもしれない。例えば、低純度の原料から混入した微量の不純物は、製品寿命の後半に安定性の問題につながる可能性があるが、迅速なスクリーニング技術ではこうした長期的な影響を見分けることができないことがよくある。不純物は最終的に凝集を引き起こす可能性があり、凝集の発生は下流工程であるがその検出は最終製剤でだけであるため、デバッグが非常に困難になることがある。したがって、緩衝液を選択する際には、リスクに応じた保守的なアプローチをとることが賢明である。

DFE ファーマは、BioHale® Sucrose と BioHale® Trehalose からなるバイオ医薬品専用の BioHale®ポートフォリオを有している。

活性物質と添加剤の相互作用を理解することは、タンパク質ベースの治療薬やワクチンを安定化させるための処方を合理的に設計する上で非常に重要である。適切な添加剤の選択と使用により、新規治療法や堅牢な医薬品の開発が可能になる。

### BioHale®の約束

- 妥協のない品質

経口とは異なり、非経口投与製剤では体の防御機能が働かないため、より大きなリスクを伴う。そのため、物理的、化学的、生物学的な汚染物質がなく、極めて高い純度が要求される。したがって、添加剤にも同様の要件が当てはまる。そのため、DFE ファーマは高純度、低エンドトキシン添加剤 BioHale® ポートフォリオを持っている。

ヨーロッパのオランダにある cGMP に適合した、FDA 査察済みの最新鋭の製造施設では、最高のアクティブ精製技術を使用し、純度やエンドトキシンのレベルを完全に管理することで、市場をリードする仕様を実現した。ICH Q7 ガイドラインに従って製造された当社の添加剤は、マルチ・コンペンディアル仕様で、製薬業界の公定規格（Ph.Eur., USP-NF, JP, ChP）に適合する。BioHale® Sucrose と BioHale® Trehalose は、加工中および最終製剤において、分解しやすい生体分子を安定化させるために使用される。

- 供給の安定性

DFE ファーマは、パンデミック時でも、信頼性の高い安定供給を行ってきた長い経験により、サプライチェーンの安定性を確立し、お客様の信頼を得ている。DFE ファーマは、ヨーロッパ、米国、日本に現地在庫を持ち、現在および将来にわたって BioHale®ブランドの添加剤の完璧な供給を保証する能力を有する。アクティブ精製技術により、当社製品は原料の変動、供給、生産キャンペーンへの依存度が低い。

- 専門家によるサポート

当社の BioHale® チームは、製剤サポート、分析サポート、添加剤専門知識、規制または品質関連のいずれについてもお客様をサポートする。

## 製剤処方

多くの安定性最適化アプローチは、単一分子に対して非常に特異的である。そのため、結論が外挿できないような高価で時間のかかる研究が行われることも少なくない。タンパク質の安定性を向上させるには、より一般的なアプローチを取るのが得策である。分解経路にはすべて共通の前提条件があり、ある程度の分子運動が必要である<sup>5)</sup>。したがって、分子運動性を低下させることができれば、分解速度を低下させることが期待できる。生物学的システムの連続相である水を除去することは、堅牢で安定した医薬品を調製する上で大きな可能性をもたらす。

タンパク質水溶液から水分を除去する技術はいくつかあるが、凍結乾燥は特にバイオ医薬品への応用が期待されている。凍結乾燥では、まず製品を凍結させ、次に昇華により氷を除去する。この後、二次乾燥工程を経て、残留水分1%未満の粉末を得ることができる<sup>7)</sup>。

しかし、凍結乾燥の過程で、複雑な要因があり、生体分子はタンパク質の物理的または化学的分解につながる可能性のあるストレスにさらされる。pHシフト、イオン強度の増加、機械的せん断応力、脱水などのすべてのストレスが発生する可能性がある<sup>7)</sup>。タンパク質を保護するためには、プロセスパラメーターと添加剤の適切な組み合わせが必要である。プロセスの最適化と合理的な処方設計により、安定性の高い医薬品が得られ、場合によってはコールドチェーンが完全に回避できることもある。

## 安定性を最大化する糖質系

バイオ医薬品の大部分は非経口的に投与されるため、添加剤の選択が非常に重要である<sup>3,4)</sup>。優れた安全性プロファイルを持つ高純度の添加剤の需要が最も重要であるが、選択肢はかなり限定されている。大きな可能性を示す分子の1クラスは糖質である。スクロース、トレハロース、マンニトールは、凍結保護効果または凍結乾燥保護効果を提供することが古くから知られている<sup>7)</sup>。最適な添加剤選択の一般的なルールはないが、様々な困難があるモノクローナル抗体 (mAbs) のような高分子の安定化にトレハロースは大きな可能性を示している。

表1 トレハロース水和物を含む市販のモノクローナル抗体製剤の例示<sup>1)</sup>

INN	タイプ
Durvalumab	注射剤
Ocrelizumab	注射剤
Adalimumab	注射剤
Blinatumomab	凍結乾燥注射剤
Obinutuzumab	注射剤
Ranibizumab	注射剤
Bevacizumab	注射剤
Trastuzumab	凍結乾燥注射剤
Brentuximab	凍結乾燥注射剤
Pertuzumab	注射剤

凍結乾燥中に糖質がタンパク質を安定化させる一般的なメカニズムは、水置換説とガラス化説の2つの有力な説がある。これらの理論における重要な要件は、生体物質、糖類およびその他の添加剤からなる非晶質ガラスマトリックスが形成されることである。ガラスであり続けるためには、製品はマトリックスのガラス転移温度 ( $T_g$ ) 以下であり続けなければならない。したがって、非常に高い  $T_g$  を持つガラス状態ができれば、タンパク質が常温以上でも安定している可能性がある。水分も考慮する必要があり、水分は可塑剤として働き、効果的に  $T_g$  を低下させ、より低い温度での再結晶を可能にする。

タンパク質を安定化させるためには、糖質のガラス化を利用するのが一般的である。タンパク質の保護に成功するためには、糖質は高い  $T_g$ 、低い吸湿性、遅い結晶化速度を持つ必要がある。さらに、最大濃縮相ガラス転移温度 ( $T_g'$ ) が望ましい<sup>8)</sup>。二糖類であるトレハロース二水和物はこれらの特性をすべて備えているため、広く使用されている。しかし、トレハロースに高分子量の糖質を配合することで、安定化をさらに強化できることを示す有力な研究がある。

最近の研究では、モデルタンパク質である  $\beta$ -ガラクトシダーゼを用いた凍結乾燥製剤の調製時に、トレハロース (二糖類) と様々なレベルのプルラン (多糖類) の二元混合物を使用した<sup>9)</sup>。30°C/RH56%で4週間保存した特定の比率の二成分混合物では、約80%の  $\beta$ -ガラクトシダーゼ活性が保持されていることが観察された。

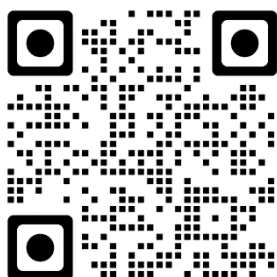
相対湿度が非常に低い環境では、トレハロース単独に対する二元混合物の利点は限定的であった。しかし、RH50%以上にさらされるより現実的な環境では、その利点は明らかだった。研究者らは、プルランそのものが最適な多糖類ではない可能性があることを指摘した。高分子量かつ高 $T_g$  (261°C) であるにもかかわらず、プルランは直線的で剛直な構造を持つ嵩高い分子である。研究者たちは、これがタイトな分子パッキングを妨げ、安定化ポテンシャルを制限している可能性があるかと仮定している<sup>9)</sup>。

オリゴと多糖類は非常に複雑な分子であり、さらなる研究が進められている<sup>10)</sup>。現在、この製剤設計は、完璧なコールドチェーンを必要としない、安定した凍結乾燥タンパク質医薬品を開発するための有力なアプローチとして大きな期待が寄せられている。

## 結論

バイオ医薬品が社会全体で最大の可能性を発揮するためには、コールドチェーンによる負担を軽減する必要がある。この野心的な目標を達成するための重要なステップは、より厳しい環境条件下でタンパク質を安定化させることができる技術を利用できるようにすることである。凍結乾燥は、それを可能にする重要な技術として議論されている。もう一つの重要な技術として、「次世代糖質ガラス」が提案されている。具体的には、トレハロースの確立された利点と、イヌリン、プルラン、その他のオリゴおよび多糖類などの高分子量糖質を組み合わせることにより、コールドチェーン保存を必要としないバイオ医薬品の実現が期待される。

Article published on the journals International Biopharmaceutical Industry and International Pharmaceutical Industry. Please scan here to access the article:



## 参考文献

1. Hopkins AL, Groom CR. The druggable genome. *Nat Rev Drug Discov.* 2002;1:727-730.
2. Kitney, R. I., Bell, J., & Philp, J. (2021). Build a sustainable vaccines industry with synthetic biology. *Trends in Biotechnology*, 39(9), 866-874. doi:10.1016/j.tibtech.2020.12.006
3. Ngo HX, Garneau-Tsodikova S. What are the drugs of the future?. *Medchemcomm.* 2018;9(5):757-758. Published 2018 Apr 23. doi:10.1039/c8md90019a
4. Batta A, Kalra BS, Khirasaria R. Trends in FDA drug approvals over last 2 decades: An observational study. *J Family Med Prim Care.* 2020;9(1):105-114. Published 2020 Jan 28. doi:10.4103/jfmprc.jfmprc\_578\_19
5. Chennamsetty N, Voynov V, Kayser V, Helk B, Trout BL. Design of therapeutic proteins with enhanced stability. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009;106(29):11937-11942. doi:10.1073/pnas.0904191106
6. Voynov V, Chennamsetty N, Kayser V, Helk B, Trout BL. Predictive tools for stabilization of therapeutic proteins. *MAbs.* 2009;1(6):580-582. doi:10.4161/mabs.1.6.9773
7. Bjelošević M, Zvonar Pobirk A, Planinšek O, Ahlin Grabnar P. Excipients in freeze-dried biopharmaceuticals: Contributions toward formulation stability and lyophilisation cycle optimisation. *Int J Pharm.* 2020;576:119029. doi:10.1016/j.ijpharm.2020.119029.
8. de Jonge J, Amorij JP, Hinrichs WL, Wilschut J, Huckriede A, Frijlink HW. Inulin sugar glasses preserve the structural integrity and biological activity of influenza virosomes during freeze-drying and storage. *Eur J Pharm Sci.* 2007;32(1):33-44. doi:10.1016/j.ejps.2007.05.112.
9. Teekamp N, Tian Y, Visser JC, et al. Addition of Pullulan to Trehalose Glasses Improves the Stability of  $\beta$ -Galactosidase at High Moisture Conditions. *Carbohydr Polym.* 2017;176:374-380. doi:10.1016/j.carbpol.2017.08.084
10. Singh RS, Kaur N, Hassan M, Kennedy JF. Pullulan in biomedical research and development - A review. *Int J Biol Macromol.* 2021;166:694-706. doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.10.227
11. Dickhoff, B et al, The importance of disaccharide excipients in biologics, accessed on 6 Oct 2022, <https://www.europeanpharmaceuticalreview.com/article/143124/the-importance-of-disaccharide-excipients-in-biologics/2/>