

バイオテクノロジー活用医薬品プラント

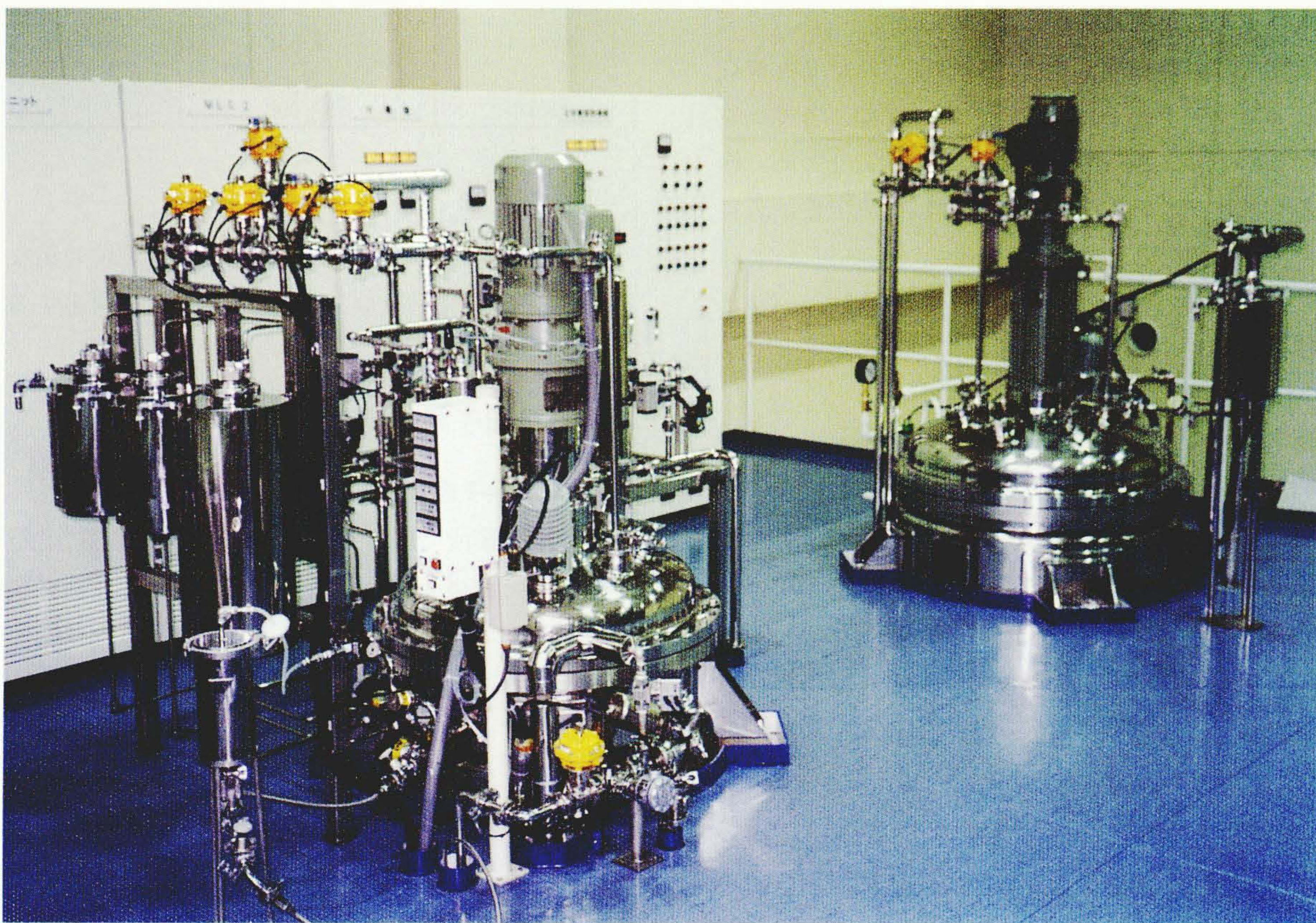
Pharmaceutical Plants Applied by New Biotechnology

菅沼靖夫* *Yasuo Suganuma*

村上 聖** *Sei Murakami*

緒田原蓉二*** *Yôji Odawara*

浦上 毅**** *Takeshi Urakami*



B社納め遺伝子組換え体培養プラント GMPに対応した高付加価値バイオ医薬品生産用として稼動している。

日立製作所の化学プラントの中でも最も古い歴史を持つ分野の一つであるバイオプラントは、原薬製造装置に始まり、医薬品を中心とする各種製品に無菌化、高効率化という一貫した技術で対応しノウハウを蓄積、研究開発を進めてきた。

近年の分子レベルの解明によるバイオ利用医薬など生産に対しては、多くの研究支援機器システムを世に送り出すとともに、遺伝子や細胞そのものの取

り扱いを包括した生産制御技術を開発してきた。

一方、バイオプラントの心臓部である培養槽をはじめとする装置、制御機器および蓄積した技術をトータルシステム化して最新鋭生産プラント建設に反映させており、GMP(Good Manufacturing Practice：医薬品製造規範)に基づくバリデーションがますます強化される動向に対しても積極的に対応している。

* 日立製作所 機電事業部 ** 日立製作所 笠戸工場 技術士(生物工学部門) *** 日立プラント建設株式会社 **** 日立製作所 システム事業部

1 バイオ医薬品プラントの歴史と展望

1.1 バイオプラントの発展

人類は微生物の存在を知ることなく有史以前から発酵技術を利用してきたが、主製品は食品であった。医薬生産として積極的にバイオ技術を活用し始めたのは、第二次世界大戦下での英国であった。

日立製作所は、戦後間もない1946年にペニシリン製造パイロットプラントを手掛けて以来今日まで、各種抗生物質をはじめアミノ酸、農薬、生理活性物質などあらゆる分野のバイオプラントを建設し、170設備以上の納入実績を持つに至っている。

日立製作所のこの分野での技術史を、納入製品実績と開発蓄積技術に対比して表1に示す。

1.2 バイオプラントの展望

財団法人 発酵工業協会(現バイオインダストリー協会)の調査報告書¹⁾によれば、バイオ製品生産額は今後指数関数的に増大し、西暦2000年には、約15兆円に上ると予測されている。バイオ商品生産額は、表2²⁾に示すように年率約50%で着実な伸びが見られるが、現状のバイオ主力製品が少量高付加価値製品であるため、設備投資額の伸びはそれほど顕著ではないが年率約10%が見込まれ

表2 バイオ市場の推移 バイオ商品の売上額急伸に対し、設備投資額は着実な伸びが予測されている。

年代	バイオ商品売上額 (億円/年)	バイオ設備投資額 (億円/年)
1987年	500	720
1988年	770	760
1989年	1,187	790
1990年	1,943	890(推定)
1991/11月	2,648	—
⋮	⋮	—
2000年	150,000	—

る。バイオ利用分野を医薬品、食品、環境対策などに大別し、今後の開発・製品化予測³⁾とこれに対応する設備側の技術課題を表3に示す。

2 遺伝子組換え菌培養プラント

2.1 遺伝子組換え菌培養技術の開発

日立製作所では、複合プラスミド(環境遺伝子)の開発から社内のパイロットプラント設置まで、基礎技術から応用エンジニアリング技術までの一貫した技術開発を行ってきた。以下にこれらの一部について述べる。

(1) 複合プラスミドの開発

表1 日立製作所のバイオ医薬品プラントの歴史 日立製作所が、各種バイオ製品生産プラントを設計、建設した過程で開発または蓄積してきたノウハウを示す。

年 代	対 象 製 品	開 発 技 術 お よ び 蓄 積 ノ ウ ハ ウ	技術動向
1945年	抗生物質(パイロット)	●コンタミ防止技術 ○たまりの少ない機器構造設計 ○たまりがなく、スチームシールシステム ○結露しない無菌エアシステム	無菌化技術
1950年	抗生物質(量産化)		
1955年	アミノ酸	●最適発酵への化学工学的設計 ○酵素供給…通気かくはん動力、ノズル形状 ○発酵熱除去…冷却コイル形状	
1960年	抗生物質(農薬)		大量生産対応スケールアップ技術
1965年	抗生物質(大量培養) 合成医薬品	●大形培養槽の設計・製作技術 ○300 m ³ 培養槽の設計 ○かくはん回転数可変、翼径可変システム ○現地組立製作据え付け	
1970年	酵素 微生物農薬(パイロット) 微生物タンパク(SCP)	●連続滅菌装置 ●エアリフト型超大形連続培養(1,200 m ³) ○日立多孔板式培養槽	
1975年	制がん剤、ビタミン 抗生物質(第三世代)	●自動制御培養システム ●遺伝子組換え体培養システム(バイオハザード対策) ●動物細胞培養、植物組織培養 ●パイロジェンフリー、自動定置洗浄システム	高生産性培養技術
1985年	アルブミン(血液製剤) インターフェロン、朝鮮にんじん 酵素、合成医薬(海外)	●スラリー高粘度用連続滅菌 ●タンパク精製 ●超高粘度培養 ●ケミカルハザード対策	
1990年	ワクチン、生理活性物質 ザンタンガム 免疫抑制剤		
1995年			

注：略語説明 SCP(Single Cell Protein)

表3 バイオ製品と対応技術の展望 バイオテクノロジー活用による各種製品実現化予測と必要な技術を示す。

分野	製品	年代	1990年	1995年	2000年	対応技術または課題
医 薬	第一世代ニューバイオ インシュリン		○			● バイオハザード対策システム
	インターフェロンほか		○			● 高密度細胞培養
	第二世代ニューバイオ TPA, EPOほか		○	○		● 高純度分離精製
	第三世代ニューバイオ 腫瘍壊死(しゅよう えし)因子			○	○	(共通GMP準拠設備および生産管理)
	エイズワクチンほか			○	○	● 大量遺伝子組換え体培養
	老人向け医薬 アルブミン		○	○	○	
食 品	機能性食品 フェニルアラニン		○			● 連続バイオリアクタ
	改質油脂ほか		○	○		● 酵素または菌体の固定化→ バイオリアクタ
	高収量作物			○		● 育種技術と環境制御技術
	高収量海洋牧場			○		● 原料の見直しとクローズドシステム
	SCP			○	○	
環 境 対 策 ほ か	生分解性プラスチック		○	○		● 高粘性液処理酸素供給
	CO ₂ 固定化				○	● 効率のよい光合成システム
	廃棄物から有用物質への 変換				○	● 大量前処理
	化成品全般				○	● バイオリアクタと化学合成の組み 合わせ

注：略語説明ほか TPA (Tissue Plasminogen Activator), EPO (Erythropoietin), GMP (Good Manufacturing Practice), ----- (開発期間), ○—○ (製品化予想時期)

遺伝子組換えによって医薬などの有用物質を効率的に生産するためには、まず、細胞自身に有用物質を生産させる必要がある。そのためには、遺伝子からの有用物質(タンパク質)の合成を開始させるプロモーターを高効率なものにしなければならない。

そこで高効率なプロモーター(trp-プロモーター)を持つ複合プラスミド(pTREZ1)を作製した。この複合プラスミドを大腸菌M182株に導入して菌体全タンパク質の20%以上のβガラクトシダーゼを生成させることができた⁴⁾。

(2) 高生産性培養技術の開発

遺伝子組換え菌による医薬品の製造工程では、品質確保のために過度の精製工程を必要としない高濃度の培養生産物を得る必要がある。また、経済性のためにも培養の生産性を向上させねばならない。このためには、前記の発現ベクタの改良に加えて、培養液中の菌体密度を増加させることが有効である。そこで遺伝子組換えによる有用物質生産には大腸菌が最も多く用いられていることから、発現ベクタpTRE1を導入した組換え大腸菌を用い

て高密度培養技術を検討し、酢酸濃度を指標とした培養が生産性向上に役だつことを確認した。これは、培養液中の酢酸濃度を一定値以下に維持することによって大腸菌を高密度に増殖させることができるものである。

(3) 自動制御培養技術

前記のような酢酸濃度を指標とした培養によって培養の生産性を向上させるためには、各培養条件をモニタして制御するための自動制御培養技術が不可欠である。日立製作所では8ビットマイクロコンピュータの培養専用制御装置から後述するCIM(Computer Integrated Manufacturing)への対応まで、各レベルに応じた制御装置を用意している。

(4) 社内パイロットプラント

遺伝子組換え菌の培養特性は個々の細胞によって異なるため、開発した各技術を実際のプラントに適用するためには、あらかじめパイロットスケールでの確認実験が必要な場合が多い。そこで、200 l培養槽を中心として細胞破砕から分離までの各工程の機器を含んだパイロットプラントを社内に設置した。このプラントは各開発技術

の応用確認や、顧客のプロセスのスケールアップ条件確認のために利用している。

3 動物細胞培養プラント

3.1 動物細胞培養プラントの現況

培養によって生産されるタンパク質が医薬品として品質を確保するための重要な項目として、天然形に匹敵する活性の維持がある。生産されるタンパク質医薬品の高分子化、高機能化に伴い高次構造の形成や糖鎖の付加のような加工が活性維持に必要となってきた⁶⁾。大腸菌のような微生物にはこれらの機能がないために、ほ乳動物細胞が生産に用いられるようになってきた。

日立製作所では、これらの動向に合わせて表4に示すような動物細胞培養の技術開発を行い、これをベースに表5に示すような国内での主要な動物細胞培養プラントを納入してきた。これらは生産用として稼動しているが、まだ微生物による培養プラントに比べるとその数は少ない。この動物細胞による物質生産の工業化の遅れは、以下のような動物細胞培養特有の問題に起因している。

- (1) 複雑な栄養要求性、加熱滅菌の不可能な培地
- (2) 物理的脆弱性
- (3) 遅い成長速度、雑菌汚染への弱さ
- (4) 自己代謝物毒性
- (5) 微量なタンパク質生成量、低い生産速度
- (6) 付着表面の要求(付着性細胞)

これらの問題の解決策として多くの生産性向上手段が提案されるようになってきており、日立製作所でも次節に述べる高生産性培養技術を開発した。

3.2 高密度細胞培養装置の開発

微生物の場合と同様に、細胞を高密度化することによって生産性を向上させることが可能である。この高密度化のためには、まず、多量の細胞の活性を維持するために必要な酸素の液中への供給速度を増加させなければならない。しかし、微生物培養で一般的に用いられている液中通気(スパージング)では、培地中の血清などのタンパク質成分による強い発泡のため、培養液が培養槽外に流出してしまうという問題が起こる。次に、高密度状態を長く維持するためには、酸素供給速度の増加に加えて栄養成分の供給と老廃物の除去を連続的に行う灌(かん)流培養が必要である。しかし、浮遊性動物細胞培養の場合は、老廃物の除去の際に細胞と培養液を分離することが困難である。

これらの問題に対応した新しい培養技術として、液中通気を可能にする消泡ネット、培養液の連続交換を可能にする細胞分離膜、および細胞へのダメージを軽減するエアリフトかくはんを採用した装置を開発した。

図1に示すような5lの装置を用いてマウス-マウスハイブリドーマ細胞(STK1)を培養した。また、図2に示すように27日間の連続培養によって 4×10^7 cells/mlの細胞密度および100 mg/l・hのモノクローナル抗体(IgG)

表4 日立製作所社内の動物細胞培養技術開発 浮遊および付着性細胞について、各方式の培養を行ってきた。

年 度	1984年	1986年	1988年	1988年	1989年
培養対象	WI-38 (ヒト胎児肺正常細胞)	JTC-1 (ラット腹水肝癌(がん)由来)	JTC-1	JTC-1	STK1 (マウス-マウスハイブリドーマ)
培養方法	マイクロキャリヤ	浮遊培養	浮遊培養	浮遊培養	浮遊培養
培地供給	バッチ	灌(かん)流(沈降分離)	灌流(汙過分離)	灌流(拡散法)	灌流(汙過分離)
細胞密度	1×10^6 cells/cm ³	1×10^7 cells/cm ³	3×10^7 cells/cm ³	2.5×10^7 cells/cm ³	4×10^7 cells/cm ³
培養容量	1l	5l	5l	5l	5l
酸素供給	オーバーレイ	エアスプレー	スパージング	エアスプレー	スパージング

表5 動物細胞培養プラントの納入実績 国内での主要な動物細胞培養プラントを納入してきた。

製作年度	1984年	1984年	1985年	1985年	1989年	1989年
培養対象	付着性細胞	浮遊性細胞	浮遊性細胞	浮遊性細胞	付着性細胞	浮遊性細胞
培養方法	マイクロキャリヤ	浮遊培養	浮遊培養	浮遊培養	マイクロキャリヤ	浮遊培養
自動化	全自動	手動	手動	全自動	全自動	全自動

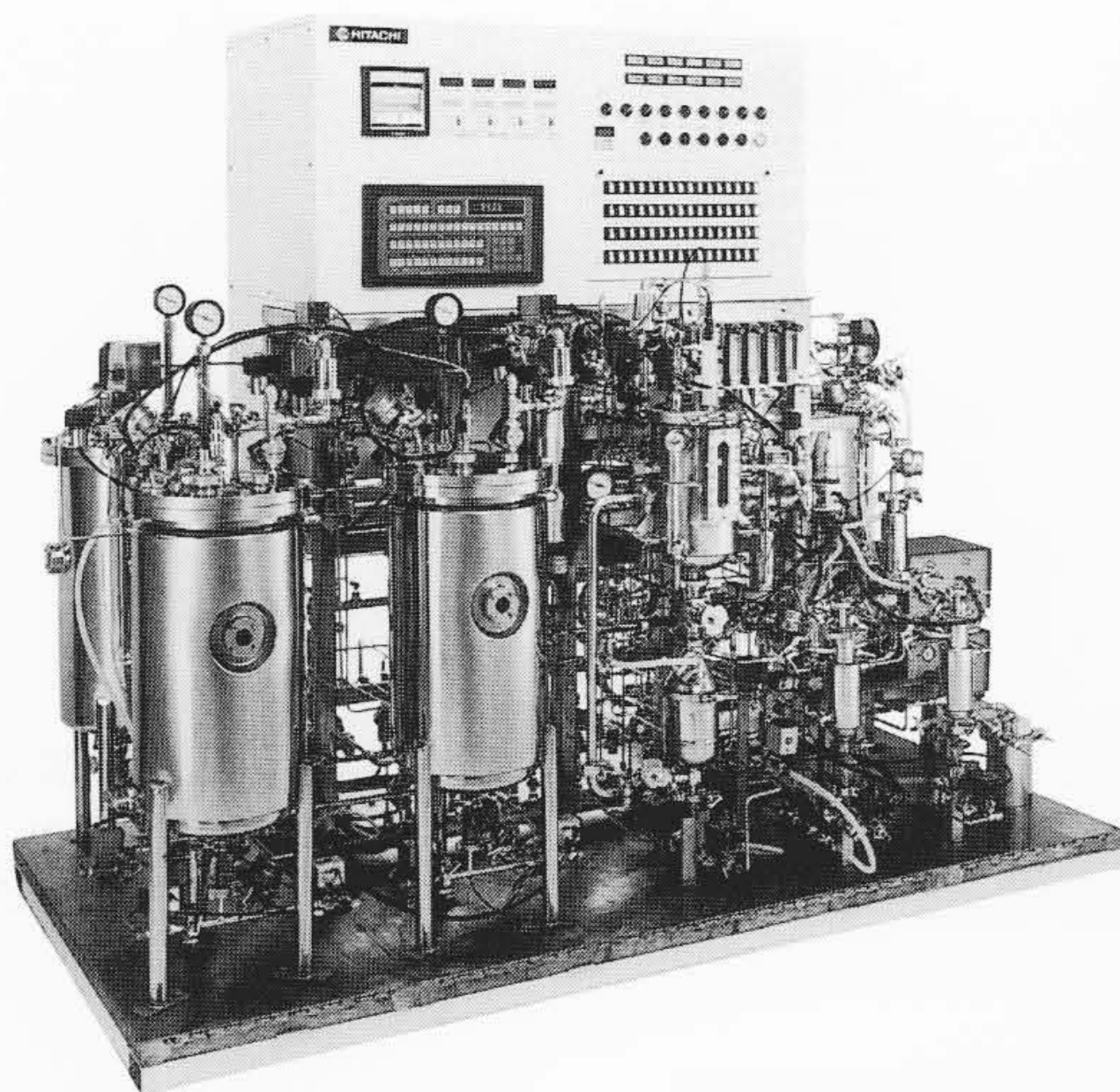


図1 高密度細胞培養装置 5 l培養槽と、20 lの培地貯槽、回収槽とで構成される。

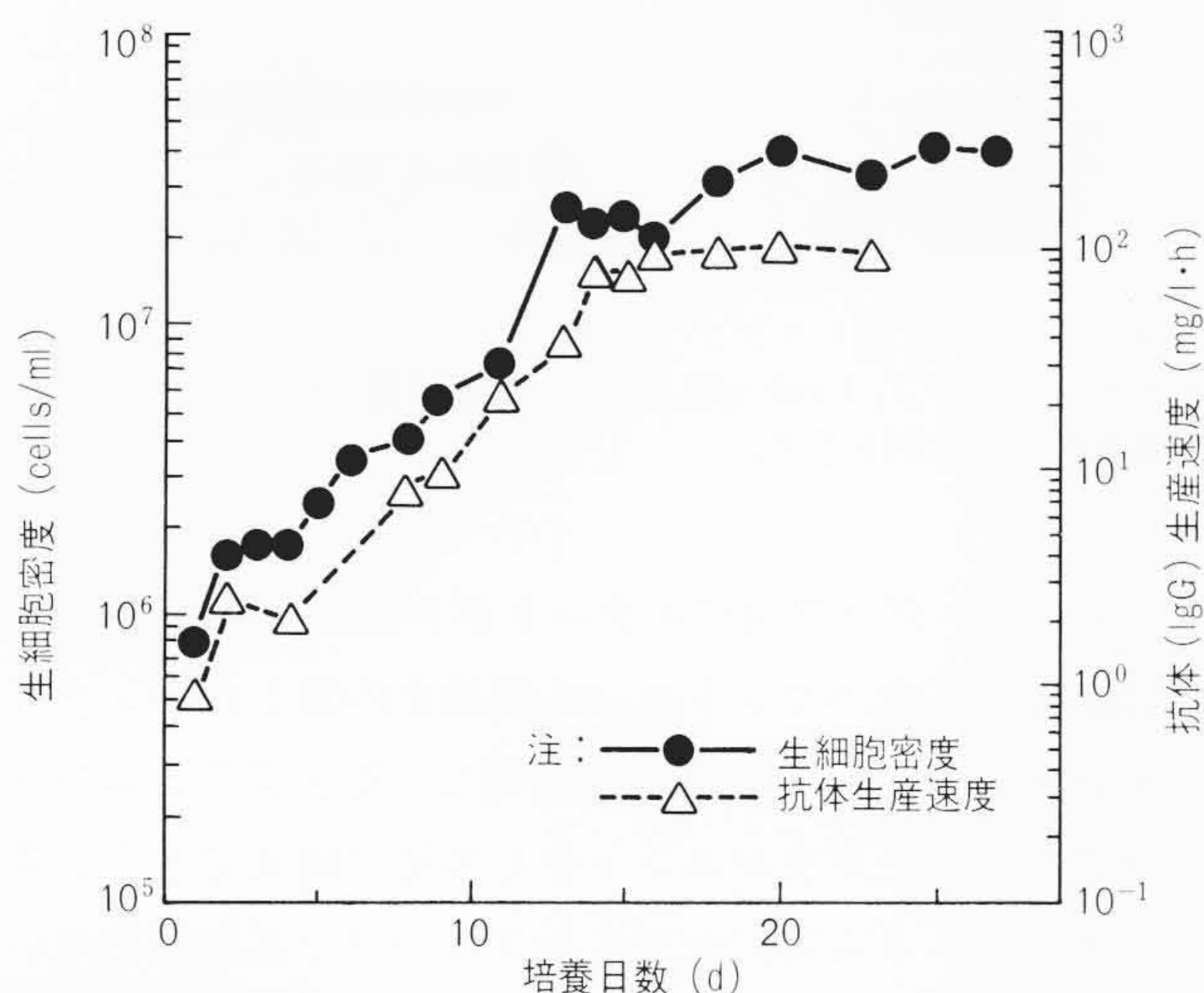


図2 培養実験結果 ハイブリドーマ細胞を用いて、高生産性培養を行った。

生産速度を得た⁷⁾。これは、従来のローラーボトルによるバッチ培養と比べ、細胞密度で20倍、抗体生産速度で50倍に相当する。

今回開発した装置は液中の気泡の上昇力を利用するエアリフト方式のかくはんを採用しており、金属性のかくはん翼を回転することによって強制的に液を混合する機械かくはん方式に比べて、

- (1) 細胞に与えるダメージが少ない。
- (2) 流動特性が把握しやすい。
- (3) 形状的には気液接触時間の長いスリムな形となり、酸素供給に有利である。
- (4) かくはん軸シールや駆動部がなく、無菌性に優れ、

保守が容易である。

といった特長を持ち、スケールアップが容易なので工業規模生産設備に適している。

4 バイオテクノロジー研究の支援機器およびシステム

4.1 バイオテクノロジー研究の特質と機器開発

遺伝子組換え技術は他分野の技術と異なり、基礎科学ときわめて密接な関連をもって進歩している。例えば、遺伝情報発現メカニズム研究の基本技術として生まれた遺伝子操作技術は、従来、特定の生体内で、しかも少量しか得られなかったホルモンや酵素を、微生物によって工業規模での生産を可能にしたことや、免疫の基礎研究に必要な抗体取得技術としての細胞融合技術が抗体の製造技術として実用化されたことなどに示されている。したがって、生化学者によって創案された技術の装置化に際しては、機器メーカーの立場から見直すとともに、いかに創案者の意図を理解して組み込むかが重要なポイントとなる。一方、企業間の新薬開発競争は激しさを増し、基礎研究の重要度が一段と高まるとともに、研究の効率化、開発期間短縮の要請はますます強くなっている。これらのことは、生物関連の固有技術を理解した上で、高速化、自動化、省力化された機器をいかに開発するかが重要であることを示している。

これらの諸問題を解決するために、日立製作所研究所の生化学グループの研究成果を取り入れるとともに、エレクトロニクス、画像処理技術、レーザ利用技術、システム制御ソフトなどにその持てる先端技術を活用して、有効な機器を開発すべきであると考えている。これらの考え方に基いて開発した製品の一部を次に例示する。

4.2 主な製品

(1) レーザ式セルプロセッサ(図3)

遺伝子組換えを行った動物細胞による医薬品の生産方式が実用化されているが、この装置は遺伝子組換えの生産効率化や細胞機能の解析を目的として開発した。基本原理を理化学研究所から導入し装置化したもので、本体中に収納されたレーザ発振器、光学諸部品およびテーブル上の位相差顕微鏡と制御装置から構成されている。CRT画面に示される細胞の目標部位にライトペンでタッチすることで、容易かつリアルタイムでレーザ照射できるようになっている。さらに、自動走査に切り替えることで顕微鏡視野全体をスキャンしながら照射できるなど、非接触で高速微細加工ができることを特長としている。

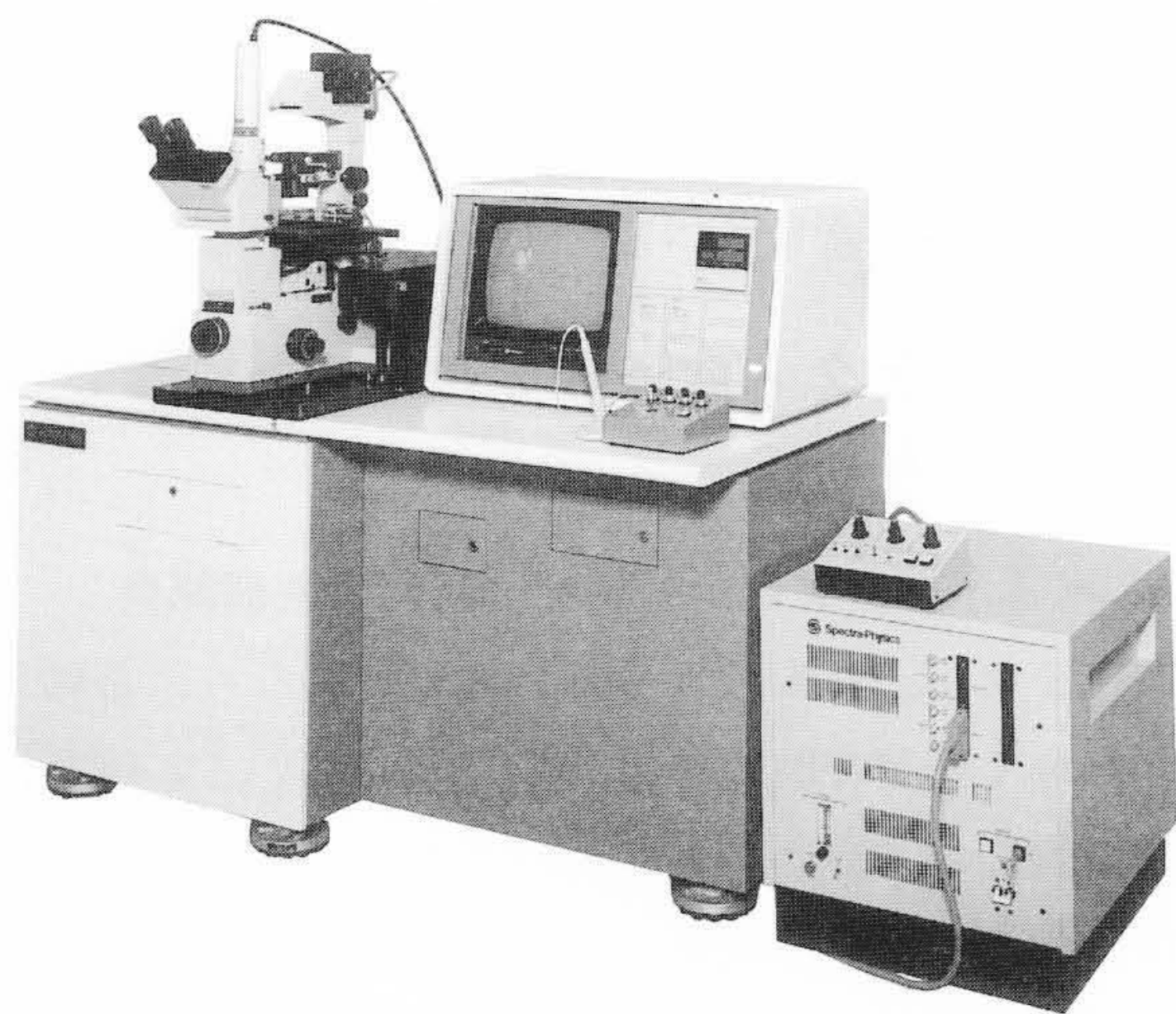


図3 レーザ式セルプロセッサ 生細胞試料は装置左側の倒立顕微鏡上に置かれる。右側の箱はレーザ電源装置である。

(2) 蛍光式DNAシーケンサ(SQ-3000)(図4参照)

生化学研究の重要な手法の一つにRI(ラジオアイソトープ)を用いたトレーサ実験がある。しかし、RI管理者の指導管理下で専用設備を用いること、RI使用量は法律で制限を受ける等々、種々な制約条件がある。したがって、実験からRIを追放できるならば研究効率は著しく向上すると考えられる。ところで遺伝子(DNA)塩基配列の分析、解析はバイオテクノロジーの基礎であり、研究者が気軽に分析・解析ができるようになることは研究の効率向上だけでなく、質的向上に大きく貢献すると考えられる。そこで、大きな障害になっているRIを蛍光色素標識に切り替えるとともに、リアルタイムでシーケンスを読み取れる機能を加え、さらにレーザ光源や照射方法をくふうして感度を上げ、RI法と同量のピコモルレベルの供試料量で分析できるものとした。

(3) バイオ分析システム

バイオテクノロジー分野の主な分析項目として、タンパク質ペプチド、アミノ酸などの生体構成成分があり、次いで重要な基質である糖類、さらに代謝物の一種としての有機酸がある。これらの諸物質はそれぞれの分類の中で、生化学的性質は大きく異なっても物理的あるいは物理化学的性質は近似しているものが非常に多く、分離・精製が困難である。したがって、試料の調整方法をも含めて、中心技術に液体クロマトグラフィーの適用が盛んである。日立製作所でも、上記各物質をそれぞれ精度高く、かつ効率よく分析できるシステムを開発し、総称してバイオ分析システムとして製品化している。例えば、タンパク質、ペプチド分析・分取システム(図5)で

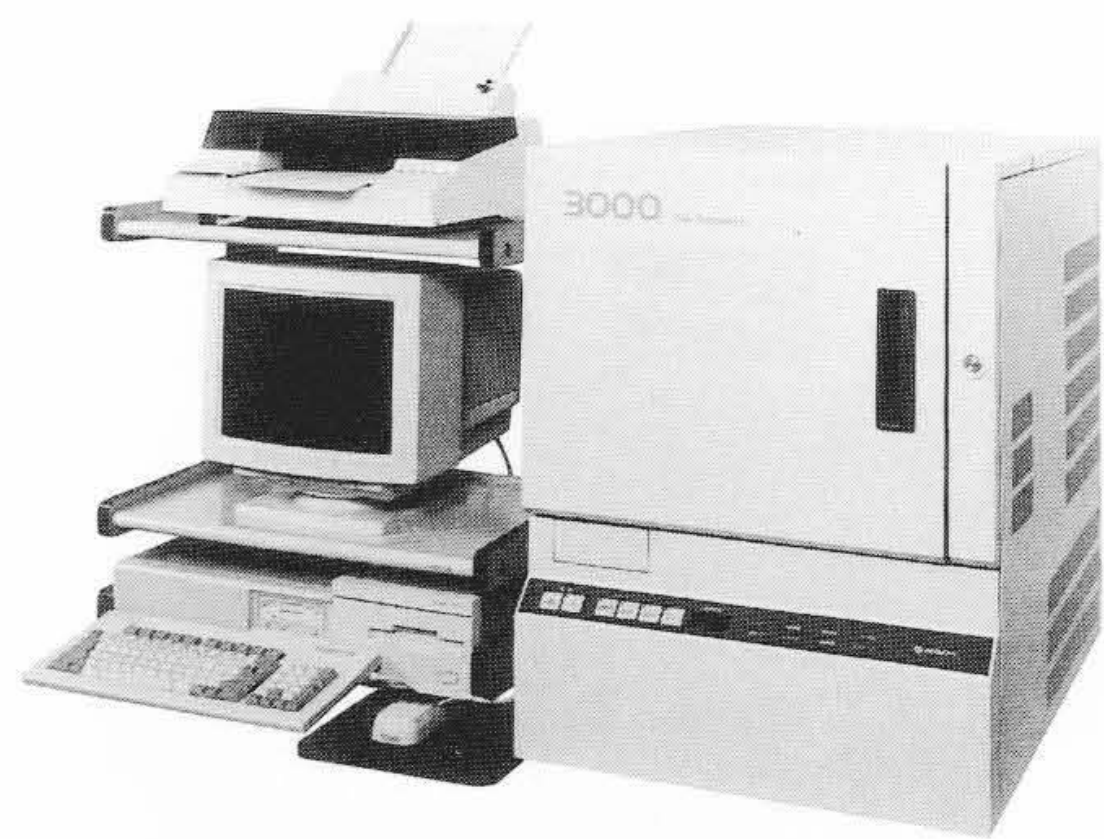


図4 蛍光式DNAシーケンサ(SQ-3000) 蛍光標識されたDNA断片にAr, レーザを照射し励起光を検出するシーケンサ本体、およびDNA塩基配列を解析するワークステーションから構成される。

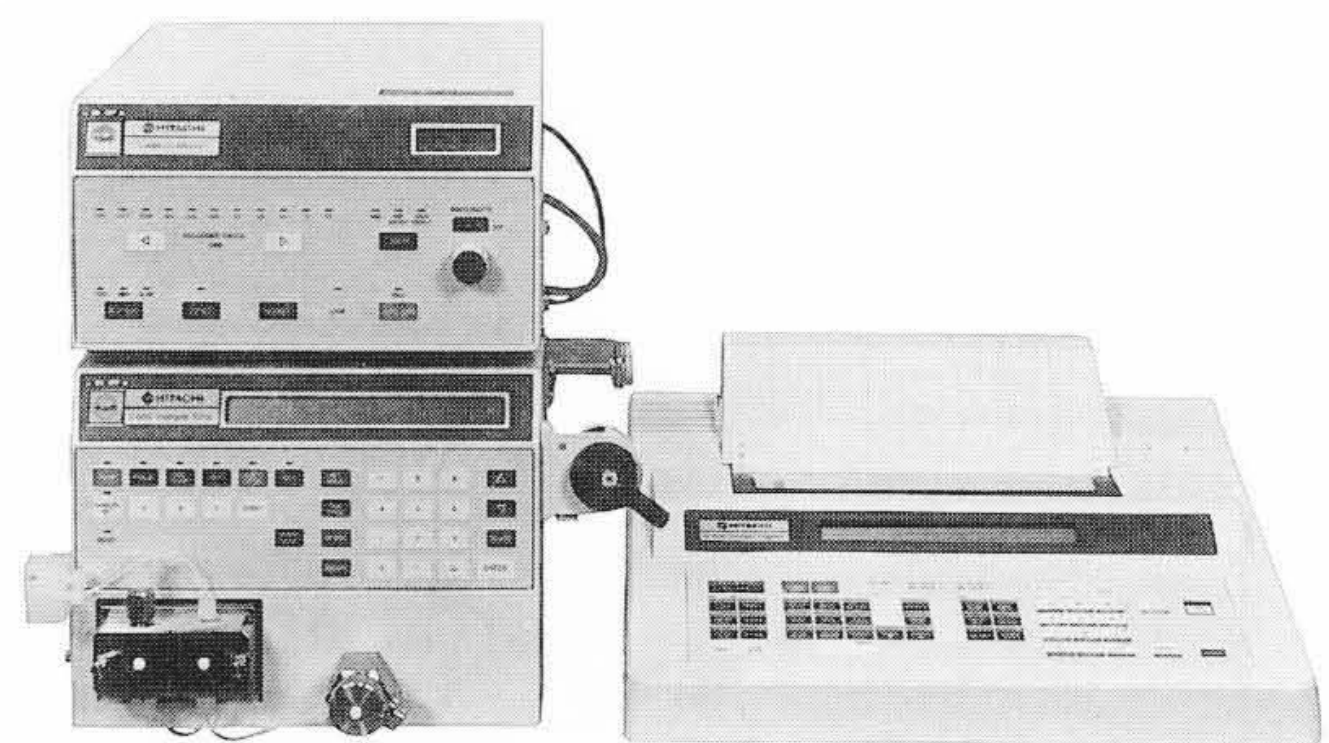


図5 タンパク質・ペプチド分析システム インテリジェントイナートポンプ、UV検出器、データ処理装置、インジェクタなどを組み合わせた例を示す。

は、クロマトグラフ用にイナートポンプ(L-6010形)あるいは流量、圧力のコントロール機能を内蔵したインテリジェントポンプ(L-6210形)を装備し、高圧グラジエントだけでなく低圧グラジエントをも容易に構成できるシステムとした。さらに、セラミックスやフッ素樹脂を用いたポンプや配管系を用いて、金属イオンの溶出による試料の生理活性低下(失活)を防止するなど、生化学用分析機器としての配慮をしたものとなっている。

5 バイオプラントの統合管理システム

5.1 システム化の動向

バイオプラントのシステム構築は1980年代から顕著に行われ始めた。これはDCS(Distributed Digital Control System:分散形デジタル計装システム)の発展に伴うプラントの自動化、集中監視の実現によって統合管理システム化の基盤ができたことによる。日立製作所ではこの動向に対応し、初期の統合管理システムの主要機能は以下の4項目である。

- (1) プロセス監視・制御の自動化、集中化
- (2) 製造記録の自動作成
- (3) 在庫管理の自動化

(4) プラントデータの解析

これらは現在でもシステムの重要機能であるが、1980年代後半に入り、社会状況の変化、コンピュータ技術の進歩などにより、システムの構成、運用は大きく変化している。

システムの構築に関し大きな影響を与えた要因としては、以下の三つがあげられる。

- (1) コンピュータバリデーションの具体化
- (2) CIM構想の導入
- (3) パソコン(パーソナルコンピュータ)、ワークステーションおよびネットワークの機能向上

システム化動向の変遷をまとめ図6に示す。

5.2 コンピュータバリデーションへの対応

コンピュータバリデーションは1983年にFDA(米国食品・医薬品管理庁)が発行した「医薬品製造工程に用いられているコンピュータシステムの査察ガイド」によって示されたもので、現在、わが国でも厚生省、日本製薬工業協会が中心となり査察基準が作成されつつある。コンピュータバリデーションの基本的目的は、システムが目的どおり確実に機能し、過去でもそうであり、さらに将来もそれを継続するであろうという十分な証拠を示すことである。

コンピュータバリデーションでハードウェア、ソフトウェア自体にも増して重要となるのは、人間の判断、操作に依存する作業のある工程でのコンピュータ使用であり、人間の作業に関する慎重な分析が設計段階で必要と

なる。

5.3 統合管理システムの構築

前述の諸項およびCIM構想を加味した「先進的バイオ関連プラント」の統合管理システムが満たすべき条件をまとめると下記の4項目となる。

- (1) DCS(Distributed Control System)を核とした自動化の実現
- (2) DCSで収集されたデータを格納し、ワークステーションからの検索を可能とするファイルサーバの具備
- (3) ワークステーションとファイルサーバ(または機能サーバ)の連携による秤(ひょう)量システムの実現
- (4) 上位生産管理システムとの結合、および異機種ワークステーションの接続を含むシステム増設に対応するオープンシステムの採用

以上の条件から、これからの統合管理システムは図7に示すような構成となると考えられる。同図はサーバに24時間運転に適した制御用ミニコンピュータ(OS:リアルタイムUNIX^{※)}、ネットワークとしてIEEE802.3 V. 2.0を採用している。これは、ネットワークによりDCS、ファイルサーバ、各工程の品質データ入力端末、秤量ステーション、および上位システムの有機的結合を実現するものである。また、逐次導入が予想される分析

※) UNIXは、UNIXシステムラボラトリー社が開発しライセンスしている。

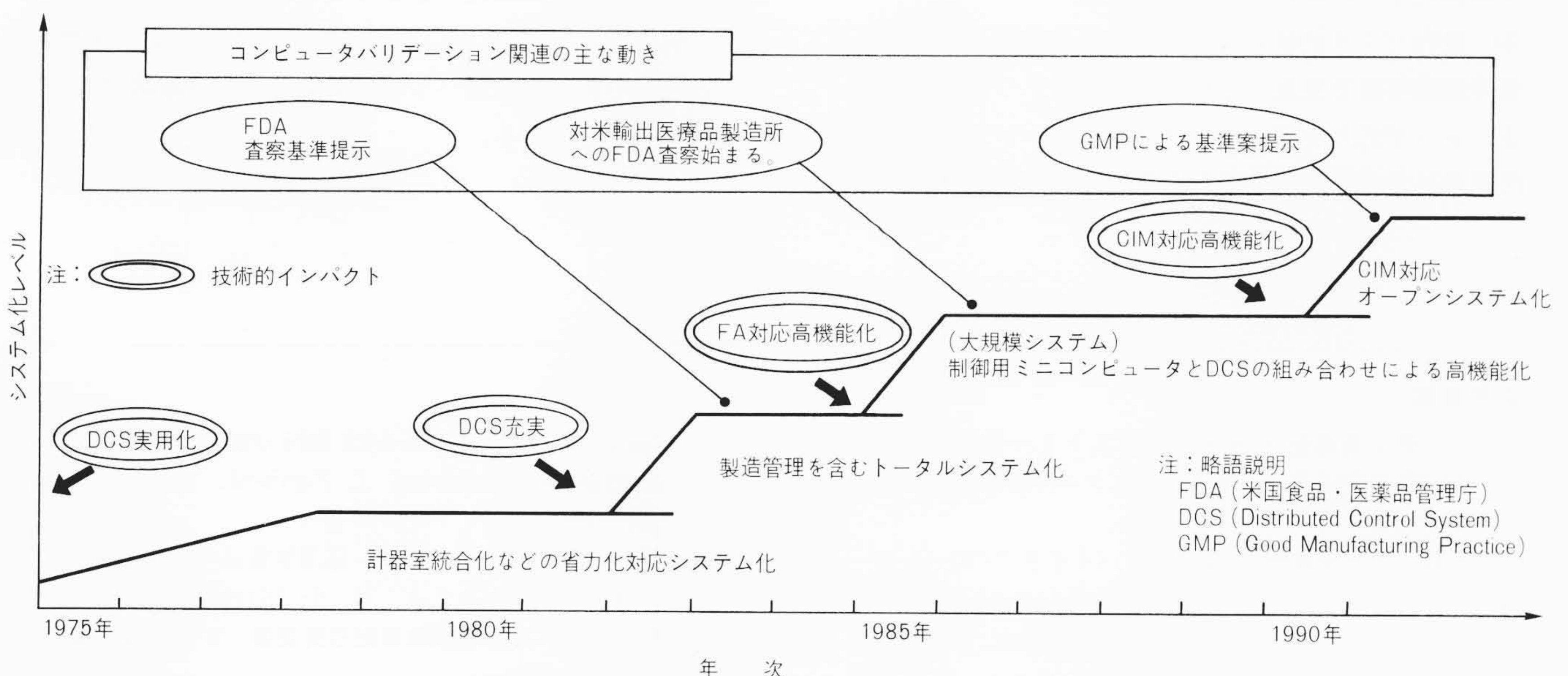


図6 バイオ関連プラントのシステム化動向 時代とともにシステムは高度化しており、その歩調は他産業の高度化と合っている。しかも、医薬品特有の管理基準は強化の方向にあり、今後、対応策も高度化していくと思われる。

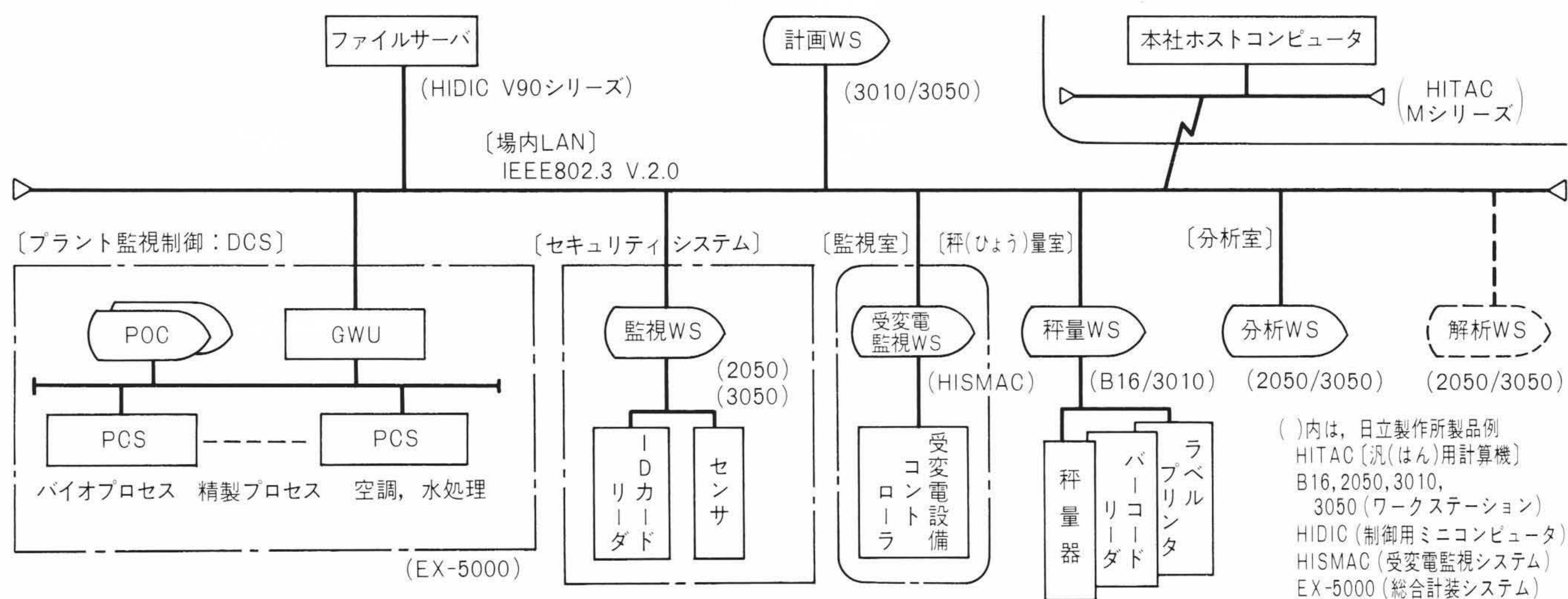


図7 バイオプラントに対する日立製作所提案の統合管理基本システム構成 今後のシステム化の方向として考えられるオープンシステムタイプの構成と、業務別ワークステーションとファイルサーバの組み合わせによるCSS(Client Sever System)の実現を特長とする。

用ワークステーションの接続を意識し、オープンシステム構成としている。

6 おわりに

以上述べたように、日立製作所のバイオ医薬品プラントは、多くの建設納入実績を持つが、この背景には下記の主要素が大きく貢献している。

- (1) バイオプラント建設ごとに蓄積した設備のノウハウや無菌化などの運転ノウハウの活用
- (2) 社内バイオ試験設備による実際の遺伝子組換え菌培養や細胞培養を実施して得た運転制御ノウハウの活用
- (3) レーザ式セルプロセッサ, DNAシーケンサの開発に代表される分子レベルからの研究開発, 社内体制による

バックアップ

(4) 高度に発達したコンピュータ制御, 通信システムとプロセス設備との有機的な組み合わせを構築し, バイオ医薬品製造に対するプロセスバリデーションへの強力な支援

実際のバイオプラント建設では, 研究開発, プラントエンジニアリング建設工事など, 各分野で技術やノウハウを伝承し, これらを有機的システムに統合するエンジニアの育成と組織化が重要なことは言うまでもない。日立製作所は, 今後さらにバイオエンジニアリングを磨き, 信頼性の高い最新鋭バイオ医薬品プラント建設に寄与したいと考えている。

参考文献

- 1) 財発酵工業協会 バイオインダストリー事業部編：西暦2000年におけるバイオテクノロジーの産業構造に及ぼすインパクト
- 2) 日経バイオ年鑑90/91及び日経バイオテク('91-12-2)
- 3) G. R. Sacco Timelines to Commercialization: Biomedical Products(Updated) (August. 1987)
- 4) 清水, 外：遺伝子組換え菌の培養システム, 日立評論, 69, 4, 295~300(昭62-4)
- 5) N. Shimizu, et al.: Fed-Batch Cultures of Recombinant Escherichia coli with Inhibitory Substance Concentration Monitoring, J. Ferment. Technol., 66, 187~191(1988)
- 6) 早川：バイオテクノロジー応用医薬品の品質確保, トキシコロジーフォーラム, 11, 9~19(1988)
- 7) 村上, 外：高密度動物細胞培養装置, 日立評論, 73, 6, 623~630(平3-6)
- 8) 西内, 外：製薬工場における生産機能連動倉庫管理システム, 日立評論, 91, 11, 1057~1064(平3-11)