

表1 リポソーム製剤の補体活性化のリスクを高めることが報告されている主な要因*

- ・正あるいは負の表面電荷
- ・サイズの増加
- ・不均質性
- ・凝集体の存在
- ・リポソーム外に有効成分が存在すること (特にドキソルピシンや類似薬)
- ・高い割合 (>50%) で膜中にコレステロールが存在すること
- ・不電荷のリン脂質にPEGが結合したリポソーム
- ・リポソーム表層のポリアミノ基修飾
- ・エンドトキシン^{**}の混入

*参考文献2
 エンドトキシン^{}の混入はリポソーム自体の特性ではないが、製剤に起因する要因として記載した。

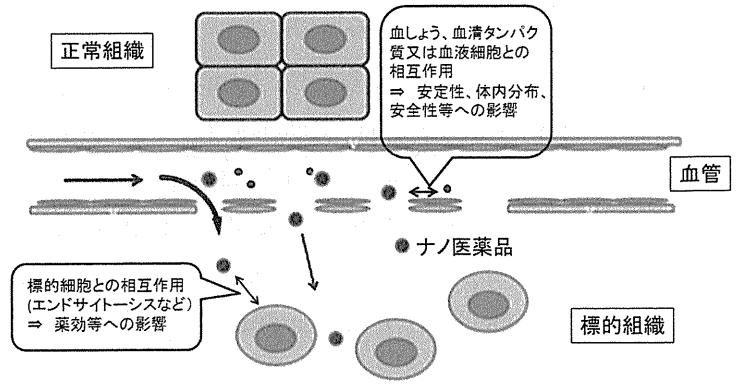


図1 ナノDDS製剤と細胞やタンパク質との相互作用に関する概念図

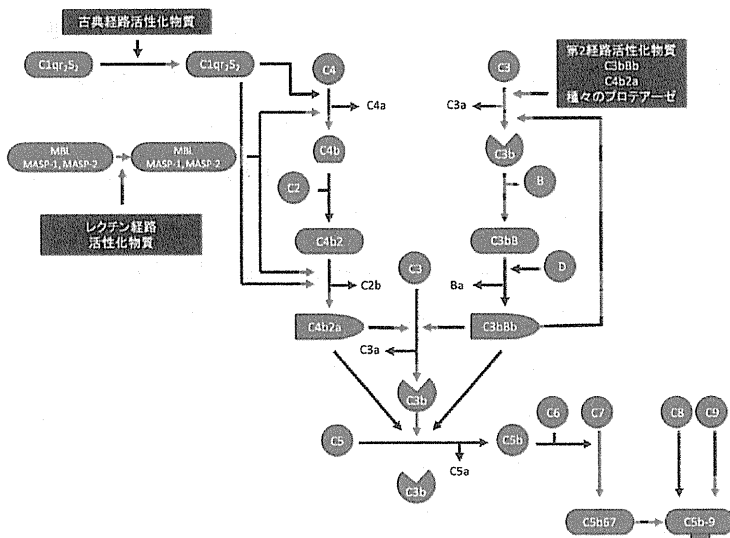


図2 補体系活性化経路の模式

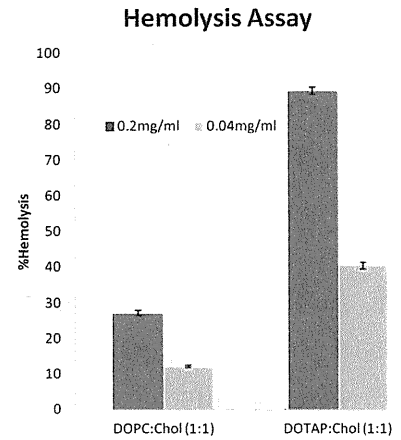


図3 中性リポソーム及びカチオン性リポソームの溶血率 (%)

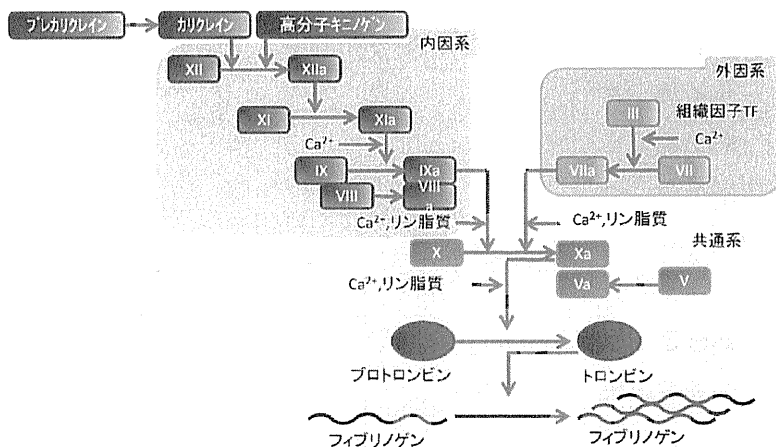


図4 血液凝固機構の模式図

改変タンパク質製剤（改変型抗体医薬品）の評価に関する RS 研究

研究分担者 石井明子 国立医薬品食品衛生研究所 生物薬品部 第二室長

研究要旨 改変型抗体医薬品に代表される改変タンパク質製剤は、高い標的特異性を持つ次世代医薬品として期待されている。その開発に際しては、治療効果はもとより、免疫原性等の安全性や、製剤の安定性等、様々な要素を考慮して分子設計を行うことが必要である。本邦でも様々な開発が進む改変型抗体医薬品の品質・有効性・安全性確保の要件を明らかにし、その開発環境整備を行うことを目的に、本年度は、改変型医薬品の分子設計について、薬理作用・体内動態・免疫原性・製剤化・製造工程を考慮して、留意すべき事項をまとめた。また、Fcγ 受容体結合親和性プロファイリングに適した SPR 解析法構築し、改変型抗体医薬品の非臨床評価において課題となる Fcγ 受容体結合親和性の種差を解析した。

研究協力者

多田 稔 国立医薬品食品衛生研究所

生物薬品部 第三室 室長

鈴木琢雄 国立医薬品食品衛生研究所

生物薬品部 第一室 主任研究官

性・安全性確保の要件を明らかにし、その開発環境整備を行うことを目的に、本年度は、まず、IgG の構造と機能に基づき、抗体医薬品の薬理作用及び薬物動態に関する基本的な知見を整理した上で、改変型抗体医薬品の開発事例をもとに、分子設計において重要と考えられる事項を整理した。

また、抗体医薬品の有効性・安全性には、標的抗原との結合性に加え、免疫エフェクター細胞の活性化に関与する Fcγ 受容体が関わることをふまえ、抗体医薬品の非臨床試験に用いられるマウス及び非ヒト霊長類の Fcγ 受容体と抗体医薬品の結合性を解析し、非臨床試験結果のヒトへの外挿における留意点について考察した。

A. 研究目的

マウスモノクローナル抗体作製技術の開発を端緒に、キメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体と進化した抗体医薬品は、IgG サブクラス置換、アミノ酸置換、糖鎖改変、薬物修飾、低分子化、PEG 化等の分子設計技術の応用により、多様化している。抗体医薬品の開発では、目的とする適応疾患、剤形、投与経路等を念頭に、有効性・安全性を得るために必要な薬理作用、薬物動態、ならびに、製剤化を考え、構造の至適化が進められるが、その他に、有効性低下や有害反応発生につながる可能性のある免疫原性、さらには、製造工程や品質管理の効率についても考慮した分子設計が必要である。

本研究では、改変型抗体医薬品の品質・有効

B. 研究方法

B.1 抗体医薬品の体内動態及び分子設計に関する調査研究

バイオ医薬品の製造と開発に関する考え方として、ICH Q11 ガイドラインに記載されている目標製品品質プロファイルや重要品質特性の考え方、ならびに、改変型抗体に関する学術文献をも

とに、改変型抗体医薬品製剤の分子設計において求められる要件を考察した。

B.2 表面プラズモン共鳴 (SPR) 法による Fc γ 受容体結合親和性の解析

SPR 解析には Biacore T200 (GE ヘルスケア) を使用した。アミンカップリングによりセンサーチップ CM5 に抗 His 抗体 (GE ヘルスケア) を固定化した。His-tag 付加された Fc γ R 細胞外ドメインの組換えタンパク質 (Sino Biologicals) をキャプチャーし、アナライトとして各種の抗体医薬品を用いて結合親和性の解析を行った。

測定用緩衝液は HBS-EP+ (10 mM HEPES, 150 mM NaCl, 3 mM EDTA and 0.05% Surfactant P20), 再生用緩衝液は 10 mM glycine (pH1.5) を用いた。キャプチャー分子の濃度は 1 μ g/ml, 結合時間は 1 分, 流速は 10 μ l/min とした。アナライト結合, 解離, 再生の時間はそれぞれ 3 分, 5 分, 1 分とし, 流速は 30 μ l/min とした。解析には, Fc γ RI, Fc γ RIIa, Fc γ RIIIa についてそれぞれ, 1:1 binding model, steady state model, two state reaction model を適用し, 結合解離定数 (K_D) を算出した。

(倫理面への配慮)

調査研究については検体を用いることがないため, 倫理面への配慮を必要としない。実験に用いたタンパク質等の試薬類は, 市販の組換えタンパク質であり, 倫理面での配慮を要するものではない。

C. 研究結果

C.1 分子設計における要件

基礎研究あるいは医薬品開発を目的に作製されている改変型抗体医薬品の具体例を調査し, 開発目標となる適応疾患, 用法, 薬理作用・体内動態・免疫原性・製剤化・製造工程等を考慮した分子設計における要件をまとめた。

C.1.1 IgG 及び抗体医薬品の構造と機能

C.1.1.1 IgG の構造と機能

IgG1 は, 2 本の H 鎖及び 2 本の L 鎖からなる分子量約 150,000 の糖タンパク質で, CH2 ドメインの Asn297 に N-結合型糖鎖付加部位が存在する。可変部の配列が各抗体により異なり, 可変部に含まれる相補性決定部 (CDR) が抗原結合に関わる。定常部は, 遺伝子多型による数個のアミノ酸残基の違いを除き, IgG サブクラスが同じ抗体に共通する配列である。可変部と定常部の間はヒンジ部と呼ばれ, H 鎖間のジスルフィド結合が位置する (図 1 A)。

ヒンジ部の一部, CH2, 及び CH3 ドメインからなる Fc ドメインは, Fc γ 受容体や補体との結合能を持ち, Fc γ 受容体の活性化による抗体依存性細胞傷害 (ADCC) 活性, 及び, 補体の活性化による補体依存性細胞傷害 (CDC) 活性に関与している (図 1 B-i)。

また, Fc ドメインは, IgG の輸送担体である新生児型 Fc 受容体 FcRn との結合能を持ち, FcRn によるリサイクリングあるいはトランスサイトーシスに関与する (図 1 B-ii)。

C.1.1.2 抗体医薬品の骨格構造

図 2 に, IgG 型抗体, 低分子抗体, PK 改良型低分子抗体に分類して, 現在開発されている抗体医薬品の骨格を示した。

典型的な IgG 型抗体としてマウス抗体, キメラ抗体, ヒト化抗体, ヒト抗体があり, その他に, 二重特異性抗体, 抗体薬物複合体, 糖鎖改変抗体, アミノ酸配列改変抗体等の改変型抗体が開発されている。

低分子抗体として, 可変部と定常部 CL 及び CH1 ドメインからなる Fab の他, 可変部のみからなる scFv, 2 つの scFv が会合した diabody, 2 つの scFv をリンカーでつないだ tandem-scFv, 1 本鎖で抗原結合能を持つラマ由来抗体可変部 V_{HH} などが開発されている。これら低分子抗体においても, キメラ化やヒト化等, 免疫原性を低減する改変が行われている。また, 低分子抗体では,

PEG 化や FcRn 結合性の付与等, 血中半減期延長に寄与する修飾が行われることがあり, 図 2 では, これらを PK 改良型低分子抗体として示した。

C.1.2 抗体医薬品の分子設計における要件

開発目標に応じた抗体医薬品の分子設計において重要と考えられる主な事項を図 3 にまとめた。

抗体医薬品の開発では, まず, 目的とする適応疾患に応じて抗原が選択され, ハイブリドーマやファージディスプレイライブラリー等のスクリーニングにより, 目的とする抗原への結合能を持つ抗体クローンが取得される。得られた抗体クローンの中から, 抗原との結合親和性や特異性, 及び, 抗原の生理機能への影響を評価して, 開発候補となるリード抗体が選択される。

めんえきげん

C.1.2.1 有効性・安全性

C.1.2.1.1 薬理作用

抗体医薬品の薬理作用は, 抗原との結合, 及び, エフェクター活性に寄与する Fc γ 受容体や補体との結合に依存するため, これらの結合能を最適化するための改変が行われる。また, 目的とする薬理作用に応じ, 二重特異性抗体への改変や, 化学薬品による修飾等が行われることもある。

(1) 抗原結合の最適化

抗原結合には, 可変部の構造が関与する。リード抗体の抗原結合親和性が不十分な場合や, ヒト化に伴い親和性が低下した場合, あるいは, 特異性の向上が必要となる場合, CDR 及びその周辺のフレームワーク部のアミノ酸置換が行われる。

1 つの抗体が 2 種類の抗原に結合することで薬理作用の発揮が期待できる場合, 1 つの抗体に 2 種類の可変部を持たせ, 二重特異性抗体とすることがある。

(2) エフェクター活性の最適化

ADCC 活性や CDC 活性等のエフェクター活性

には, Fc ドメインのアミノ酸配列及び糖鎖構造が関与している。通例, 細胞傷害活性を期待する抗体医薬品ではエフェクター活性を増強, 中和活性のみを期待する抗体医薬品ではエフェクター活性を低減する方向で改変が行われる。

エフェクター活性を考慮した最適化において, まず, IgG サブクラスの選択が行われ, さらに, 必要に応じて, Fc γ 受容体や補体結合に関与するアミノ酸残基の改変が行われる。ヒト IgG には, IgG1~4 のサブクラスがあり, これまでに承認されている抗体医薬品の多くでは, IgG1 サブクラスが用いられているが, IgG2, IgG4, あるいは, IgG2 と 4 のキメラ定常領域が用いられている例がある。IgG4 はエフェクター活性が弱く, 特に補体活性化能が低い点の特徴で, 中和のみを目的とする抗体に選択される。IgG3 はエフェクター活性が強いという特徴を持つが, ヒンジ領域が長く分子間ジスルフィド結合の数が多くことや, 遺伝子多型が多いこと等が懸念され, これまでのところ, 抗体医薬品に使われている例はない。

糖鎖構造改変の例として, Asn297 に結合する N 結合型糖鎖において, フコシル化された糖鎖の含量を低減することで Fc γ RIII への結合親和性を上げ, ADCC 活性を増強する技術が開発されている。抗 CCR4 抗体モガムリズマブがこの例である (表 1)。

(3) 化学薬品による修飾

抗腫瘍効果を期待する抗体医薬品では, 抗体と強力な細胞傷害作用を持つ薬物を共有結合させた抗体薬物複合体 (ADC) として開発されることがある。細胞表面抗原に結合した ADC は, 抗原の細胞内移行に伴いエンドソームに移行し, 酸性化, 酵素消化等により, 薬物が放出される。薬物の放出性はリンカーの構造に依存するため, ADC の分子設計においてはリンカーの設計が重要である。

C.1.2.1.2 薬物動態

抗体医薬品は、それ自身が標的指向性を持っているため、薬物動態に関しては、血中滞留性や組織移行性が課題となる。抗体医薬品の体内動態には、有効成分の分子サイズ、荷電、及び、FcRn 結合性等が関与する。図 4 に、抗体医薬品の分子サイズと、組織毛細血管、リンパ管、及び、糸球体基底膜の細胞間隙の大きさを示した。皮下投与の際、低分子抗体は、毛細血管及びリンパ管から吸収される大きさで、IgG 型抗体はリンパ管から吸収される大きさである(図 5)。低分子抗体は、糸球体ろ過を受けるサイズであるため、消失には、糸球体ろ過の寄与が大きい(図 6)。IgG 型抗体は、糸球体ろ過されず、その消失には、細胞への非特異的取り込みに伴う分解、及び、標的介在性の薬物消失 (Target mediated drug disposition)、さらに、これらに対する FcRn の抑制効果が関与する(図 1B-ii)。

IgG 抗体では、Fc ドメインの改変による FcRn 結合親和性向上や、可変部の改変による抗原非結合型抗体のリサイクリング等を目的とした分子設計が行われる。低分子抗体では、主に、血中半減期延長のための分子設計が行われる。

(1) IgG 型抗体

IgG 型の抗体医薬品では、他のタンパク質医薬品と比較して血中滞留性はよいが、標的介在性の薬物消失等により、血中半減期が 2~5 日程度のものもある。また、一度、抗原に結合した抗体医薬品は、リサイクルされても、再度別の抗原に結合することはできず、生体内に存在しても機能を発揮できない。これらの課題を踏まえ、血中半減期の延長や、抗原の結合していない遊離型抗体をリサイクルさせるための分子設計が必要となる。

血中半減期の延長には、Fc ドメインのアミノ酸置換により、FcRn 結合親和性を上昇させる分子設計が行われており、動物実験では、野生型の 4 倍程度までの血中半減期の延長がみられている。遊離型抗体のリサイクリングには、細胞内エンドソームの酸性条件下で荷電状態が変わる His 残基

を CDR に導入する手法が開発されており、この手法を用いると、抗原抗体複合体が細胞内に取り込まれた後、エンドソーム内で抗原が抗体から解離するため、遊離型抗体のみが FcRn によりリサイクルされる。これらの分子設計による体内動態改良は、投与量や投与頻度の低減につながり、慢性疾患治療用抗体で望まれる皮下投与製剤の開発可能性も高めるものと考えられる。

(2) 低分子抗体

IgG 型の抗体医薬品とは対照的に、Fc ドメインを持たない低分子抗体医薬品は、FcRn によるリサイクリングを受けず、また、糸球体ろ過により消失するため、半減期が数時間程度と短い。血中半減期を延長し、有効血中濃度を維持するための分子設計として、Fc ドメイン、あるいは、IgG に結合するペプチドと低分子抗体を融合することで、直接あるいは間接的に FcRn 結合性を付与する試みがなされている。また、FcRn には、IgG のみならず、アルブミンも結合するため、Fc に代わり、アルブミンを利用することも試みられている。

(2)-1 直接的 FcRn 結合性付与

低分子抗体-Fc 融合タンパク質として、scFv、あるいは、二重特異性 scFv と Fc の融合タンパク質等の作製が報告されており、scFv では 3.5 時間であった血中半減期が、scFv-Fc では 93 時間に延長された例もある。また、低分子抗体-アルブミン融合タンパク質として、scFv、あるいは、single chain diabody とアルブミンの融合タンパク質、また、diabody とアルブミンドメイン III 融合タンパク質等の分子設計の例がある。

(2)-2 間接的 FcRn 結合性付与

IgG 結合配列として、IgG 結合性を持つタンパク質である Protein A、Protein G、あるいは Protein L 由来のペプチド配列を低分子抗体に付与する方法が開発されており、低分子抗体-IgG 結

合性ペプチド融合タンパク質として、scFv、あるいは、single chain diabody と IgG 結合性ペプチドの融合タンパク質等が報告されている。IgG 上の Protein A 及び Protein G 結合部位は、FcRn 結合部位に近いいため、IgG の FcRn への結合を阻害しないペプチド配列を選択することが重要となる。ペプチドを利用する方法では、Fc ドメインやアルブミンとの融合タンパク質とする場合と比べ、分子量が大きくなるため、組織浸透性を保てる可能性が高くなると考えられる。

(2)-3 その他

他のバイオ医薬品の血中半減期延長のために用いられている PEG 化は、低分子抗体医薬品にも応用されており、PEG 化された Fab 構造を持つセルトリズマブ ペゴルがその例である(表 1)。有効成分の構造を改変する手法の他、開発中の製品では、ポンプを用いて低分子抗体を持続注入する方法も用いられており、投与デバイスの工夫で有効血中濃度を維持する手法も含め、体内動態の制御には、様々な手法が考えられる。

C.1.2.1.3 免疫原性

投与された医薬品が免疫原性を示し、抗薬物抗体が産生されると、薬物の血中半減期への影響や、有効性の低下、免疫応答による有害作用発生につながる可能性がある。ヒトに対する免疫原性の程度は、臨床試験を実施しなければ分からないが、臨床試験段階で免疫原性の問題が生じると、開発の続行が危ぶまれるため、分子設計の段階で、免疫原性に寄与する構造についても考慮する必要がある。

免疫原性の回避について、今のところ定型化された手法はないが、分子設計に寄与する情報を得る方法として、抗原提示に関わる MHC クラス II 分子に結合するペプチド配列(T 細胞エピトープ)を推定することや、リード抗体選択に際し、ヒト T 細胞の活性化を指標とした *in vitro* アッセイ等が利用される。

C.1.2.2 製剤化

C.1.2.2.1 溶解性

これまでに承認されている抗体医薬品は、全て注射剤であり、投与経路は、抗腫瘍薬では点滴静注、免疫調節薬では皮下投与が多い(表 1)。免疫調節薬が用いられる慢性疾患では、自己注射が可能な皮下投与製剤が好まれる傾向が強くなっており、静脈内投与製剤が承認されて数年後に、皮下投与製剤が開発・承認される例も出てきている。皮下投与製剤では液量が限られ、高濃度の溶液が必要となる。抗体医薬品の投与量は高く、数十 mg/ml 程度の高濃度の溶液が必要になることもあり、製剤処方最適化のみでは目的とする濃度での溶液製剤の作製が困難な場合もあり得るため、分子設計の段階から、製剤化を考慮した分子の選択が必要である。

C.1.2.2.2 安定性

抗体医薬品製剤は、溶液製剤または凍結乾燥製剤で、通例、4℃で保存される。有効期間の設定には、実時間実保存条件での安定性試験が必要であり、最終的な評価には長時間を要する。安定性の評価項目は、有効性・安全性に影響する品質特性となるが、製剤の保存中にもその含量が増加し得る凝集体は、免疫原性等、安全性への影響が懸念される不純物であるので、製剤の安定性を考える上で、特に注意が必要である。また、脱アミドや酸化等の化学的な修飾、高次構造変化等も有効性・安全性に影響する品質特性として、安定性の評価項目になることが想定される。安定性試験結果で問題が生じる事態を避けるため、分子設計の段階で、凝集体形成や化学修飾の懸念が少ないアミノ酸配列を選択することが望ましい。凝集体形成を起しやすくないアミノ酸配列を予測する方法が検討されており、これらに一致する配列を回避する等の分子設計が考えられる。

C.1.2.3 製造工程

IgG 骨格を持つ典型的な抗体医薬品の製造工程としては、プラットフォーム化された技術があり、分子設計の際に考慮すべきことは多くない。しかし、その他の改変抗体では、個別に対応すべき問題を考慮して、分子設計を行う必要がある。

代表的な例は二重特異性抗体である。抗原 A に結合する H 鎖、L 鎖、抗原 B に結合する H 鎖、L 鎖からは、10 通りの分子種が生じ得るため、目的とする抗体の収率は低い。これを回避するため、2 種類の H 鎖にそれぞれ鍵と鍵穴となるアミノ酸置換を施し、目的とする H 鎖の会合を促進する方法や、L 鎖の共通化等の分子設計が行われている。

また、Fc ドメインを持たない低分子抗体の精製には、IgG 型抗体で汎用される Protein A カラムを用いることができないため、別のアフィニティーカラムに結合させるためのアミノ酸配列が導入される例もある。培養上清中の安定性が悪い等、大量生産に適さない抗体は、除外すべきである。

C.2 ヒト Fc 領域を持つ抗体医薬品の Fcγ 受容体結合の種差

抗体医薬品の有効性・安全性には、標的抗原との結合を介した作用の他、Fcγ 受容体の活性化を介した作用が関与する。Fcγ 受容体の活性化は、抗体依存性細胞傷害作用に関与し、抗腫瘍作用を期待する抗体医薬品の薬理作用発現に寄与する一方で、インフュージョン反応の発現等の有害反応につながる可能性もあることから、非臨床試験に用いる動物種の選択や、非臨床試験結果のヒトへの外挿の際には、抗体医薬品と標的抗原の結合のみならず、Fcγ 受容体結合に関する種差を考慮する必要がある。

C.2.1 Fcγ 受容体ファミリー

表 2 に、ヒト、マウス、非ヒト霊長類の Fcγ 受容体ファミリーの特徴をまとめた。ヒトでは 4 つの活性化型受容体 (FcγRI, FcγRIIa, FcγRIIIa, FcγRIIIb) と 1 つの抑制性受容体 (FcγRIIb) が存在し、抗腫瘍活性を目的とする抗体医薬品では

NK 細胞に発現する FcγRIIIa を介した ADCC 活性が主要な薬理メカニズムの一つとして知られている。最近では、マクロファージや好中球を介した抗体医薬品の細胞傷害活性の発揮における FcγRIIa および FcγRIIIb の関与が報告され、FcγRIIIa を含むこれら Fcγ 受容体への親和性を増強した抗体医薬品の開発が進展している。また炎症性サイトカインの中和など免疫系の抑制を目的とする抗体医薬品では抑制性受容体である FcγRIIb との親和性の向上も試みられている。

マウスには 3 つの活性化型 Fcγ 受容体 (FcγRI, FcγRIII, FcγRIV) と一つの抑制性 Fcγ 受容体 (FcγRII) が存在する。マウス FcγRI はヒト FcγRI の相同タンパク質であり、主な機能はヒト・マウスともに抗原提示細胞における抗原-抗体複合体の貪食である。マウス FcγRII は抑制性の受容体であり、構造的にも機能的にもヒト FcγRIIb と類似している。

一方、マウスには、ヒト FcγRIIIa の直接的な相同タンパク質は存在しない。マウス FcγRIII は NK 細胞に発現する唯一の Fcγ 受容体であり、ヒト FcγRIIIa と同様に CD16 と命名されているが、系統学的にはヒト FcγRIIIa と類似している。しかし、マウス FcγRIII の細胞内ドメインには ITAM 配列が存在しないため、機能的な面では、細胞内ドメインに ITAM 配列を持つヒト FcγRIIIa と異なる可能性が考えられる。

マウスにはヒト FcγRIII と一次配列上約 60% の相同性を有する FcγRIV が存在するが、FcγRIII をはじめとするヒトの低親和性 Fcγ 受容体と比較して、単量体の IgG に対する結合親和性が高いことや、IgE 受容体としても機能すること等の特徴があり、マウス FcγRIV は、ヒトのどの Fcγ 受容体とも異なる特性を有する受容体である。

非ヒト霊長類はヒトと同様の各種 Fcγ 受容体を有しており、カニクイザルの Fcγ 受容体はヒトとの間で FcγRI 90%, FcγRIIIa 89%, FcγRIIb 92%,

FcγRIIIa 91%と一次構造上、高い同一性を有している。一方で、カニクイザル FcγRIIIa ではヒト FcγRIIIa において IgG との結合に参与するとされるアミノ酸残基が異なっており、ヒト IgG に対する結合親和性が異なることが報告されている。さらにカニクイザル、アカゲザルにはヒト FcγRIIIb の相同タンパク質が存在しないことも大きな特徴の一つである。

C.2.2 ヒト IgG サブクラスの Fcγ 受容体結合性

図 7 に、SPR 解析により、ヒト IgG 由来 Fc 領域を持つ抗体医薬品のヒト Fcγ 受容体 (FcγRI, IIa, IIIa) 結合親和性を解析した結果を示す。用いた抗体医薬品は、ヒトマウスキメラ型 IgG1 抗体 (セツキシマブ)、糖鎖改変型ヒト化 IgG1 抗体 (モガムリズマブ)、ヒト IgG2 抗体 (パニツムマブ)、ヒト化 IgG4 抗体 (ナタリズマブ) である。結合親和性の指標である K_D は、3 回の測定 of 平均値として示した。

各 Fcγ 受容体への抗体の結合および解離により、それぞれ特徴的なセンサーグラムが得られた。FcγRI と抗体との結合及び解離は比較的遅く、また、 K_D が数十 nM 程度と、高親和性を示した。FcγRIIIa は、結合と解離がともに速く、 K_D が数 μ M 程度と、低親和性を示した。

また、各サブクラスの抗体の Fcγ 受容体の結合性も特徴的なパターンを示した。FcγRI との結合は、IgG2 では検出されず、IgG4 では、IgG1 より低親和性であった。FcγRIIIa との結合は、IgG1、糖鎖改変 IgG1、IgG2、及び、IgG4 の 4 種類の抗体全てで検出されたが、IgG4 では他の 3 種類と比較して低親和性であった。FcγRIIIa との結合親和性は、糖鎖改変 IgG1 で顕著に高久、糖鎖改変 IgG1 の K_D は、IgG1 に対して 1/6 程度であった。IgG2 及び IgG4 では、FcγRIIIa との結合は、検出されなかった。

C.2.3 ヒト IgG1-Fc 領域を持つ抗体医薬品のヒト、マウス、非ヒト霊長類 Fcγ 受容体結合親和性

解析

図 8 に、ヒトマウスキメラ型 IgG1 抗体インフリキシマブについて、ヒト、マウス、及び、カニクイザル Fcγ 受容体結合親和性を解析した結果を示す。実験の繰り返し数が十分でないため、今年度の結果としては、センサーグラムの形状のみを示している。

ヒト IgG1-Fc を持つ抗体インフリキシマブとの結合性に関して、ヒトとマウスを比較すると、FcγRI 結合性に関しては、マウス FcγRI との結合速度および解離速度ともに大きく、ヒト FcγRI と比較して、結合親和性が低い結果となった。

マウス FcγRIII との結合は、結合及び解離速度が共に大きく、ヒト FcγRIIIa 結合と類似したセンサーグラムになった。マウス FcγRIII との結合量が低く、リガンドとして用いた組換えタンパク質の失活等の可能性も考えられたが、マウス IgG2b であるムロモナブ CD3 を用いた実験では、マウス FcγRIII との結合が十分検出されており (data not shown)、失活等が起こっている可能性は少ないと考えられる。ヒト FcγRIIIb、及び、マウス FcγRII との結合は、いずれも、結合速度、解離速度が大きいセンサーグラムとなり、類似していた。また、ヒトには存在しないマウス FcγRIV に対して、ヒト IgG1-Fc を持つ抗体インフリキシマブは明確に結合性を示した。

D. 考察

D.1. 分子設計

抗体医薬品の分子設計において考慮すべきポイントについて、薬理、薬物動態、免疫原性、溶解性、安定性、製造工程、品質管理の効率の観点から考察した。抗体医薬品の分子設計は、生産用細胞株の樹立、治験薬製造、非臨床試験、臨床試験等からなる一連の開発過程の入り口である。生産に適した高発現株の樹立には、数か月以上の期間と多大な労力がかかるとされており、適切な生産用細胞を効率的に構築することが、開発初期段階での重要課題の一つとなっている。開発途中で

アミノ酸配列を変更することになると、生産用細胞の構築、非臨床試験等を全てやり直すことになるため、開発過程で考慮すべき事項を早期に明確化して解析を行い、必要に応じて改変を行う等、適切な分子設計を行うことが必要である。

D.2. Fc γ 受容体結合性

SPR 法を用いた Fc γ 受容体結合性プロファイリングにより、ヒト IgG1、糖鎖改変 IgG1、IgG2、及び IgG4 由来 Fc を持つ抗体の Fc γ 受容体の特徴が明らかになった (図 7)。糖鎖改変 IgG1 抗体モガムリズマブでは、非改変 IgG1 由来 Fc を持つ抗体と比較して、Fc γ RIIIa 結合親和性が上昇していることが確認された。また、Fc γ RIIIb 結合親和性も上昇していた (data not shown)。モガムリズマブでは、フコシル化糖鎖の含量が低減されているが、これによる Fc γ RI 及び Fc γ RIIIa 結合への影響はあまりないことも確認された。

IgG2 抗体パニツムマブは、図に示した 3 種類の Fc γ 受容体の中では、Fc γ RIIIa にのみ結合性を示した。また、パニツムマブと Fc γ RIIIb 及び Fc γ RIIIb との結合は検出されなかった (data not shown)。これらの結果から、IgG2 は、専ら、Fc γ RIIIa を発現する好中球やマクロファージ等をエフェクターとする免疫応答を惹起すると考えられる。

IgG4 抗体ナタリズマブは、Fc γ RIIIa との結合性が検出されず、Fc γ RI 及び Fc γ RIIIa との結合親和性も低かった。IgG4 は、エフェクター活性が低いことが特徴とされており、その知見と一致する結果であった。

ヒト、マウス、カニクイザルの Fc γ 受容体結合親和性解析の結果から、ヒト Fc γ 受容体とマウス Fc γ 受容体では、ヒト IgG1-Fc を持つ抗体医薬品の結合性が異なることが明らかになった。抗体医薬品の非臨床試験では、標的抗原トランスジェニックマウスやヒト由来癌細胞を移植したマウス等が用いられるが、マウスでは、Fc γ 受容体を介した生体応答が、ヒトと異なることを考慮して、

試験結果を解釈する必要があると考えられる。

ヒト Fc γ 受容体とカニクイザル Fc γ 受容体の結合に顕著な差は認められなかったが、カニクイザルでは Fc γ RIIIb が存在しない点は、本質的に異なる点である。Fc γ RIIIb を介する反応が、非臨床試験では検出されていないことに留意する必要があるだろう。今年度は、ヒト IgG1 由来 Fc を持つインフリキシマブを例に、Fc γ 受容体結合性の解析を行ったが、他の IgG サブクラス由来 Fc を持つ抗体や、代表的な改変型抗体についても同様の解析を行い、改変型抗体医薬品の非臨床試験における留意点をまとめる予定である。

E. 結論

抗体医薬品の分子設計における留意点を考察すると共に、Fc γ 受容体結合親和性の種差を解析し、以下の点を明らかにした。

- 1) 改変型医薬品の開発では、薬理作用や体内動態のみならず、免疫原性等の安全性、製剤化、及び、製造工程を考慮した分子設計を行うことが重要である。
- 2) ヒト Fc γ 受容体とマウス Fc γ 受容体では、ヒト IgG1 由来 Fc を持つ抗体の結合親和性に相違が認められた。ヒト Fc γ 受容体とカニクイザル Fc γ 受容体に対する抗体の結合性には、大きな違いはなかった。Fc γ RIIIb は、マウスやカニクイザルには存在しないため、非臨床試験結果のヒトへの外挿において、注意が必要である。

F. 研究発表

(1) 総説

- 1) 石井明子, 鈴木琢雄, 多田稔, 川崎ナナ: 抗体医薬品の分子設計 薬剤学 74(1), 1-8 (2014)
- 2) 多田 稔, 石井明子, 川崎ナナ: 新薬開発にむけた臨床試験 (第 I ~ III 相臨床試験) での適切な投与量設定と有効性/安全性評価 第 4 章 ヒト初回投与量設定方法 第 2 節 バ

イオ医薬品 サイエンス&テクノロジー出版
東京, pp. 72-86 (2013)

(2) 学会発表

- 1) 石井明子, 多田稔, 鈴木琢雄, 川崎ナナ: 次
世代抗体医薬品の非臨床評価 日本薬学会
第134年会シンポジウム 2014年3月 熊本

G. 知的財産権の出願・登録状況

- (1) 特許取得 なし
- (2) 実用新案登録 なし
- (3) その他 なし

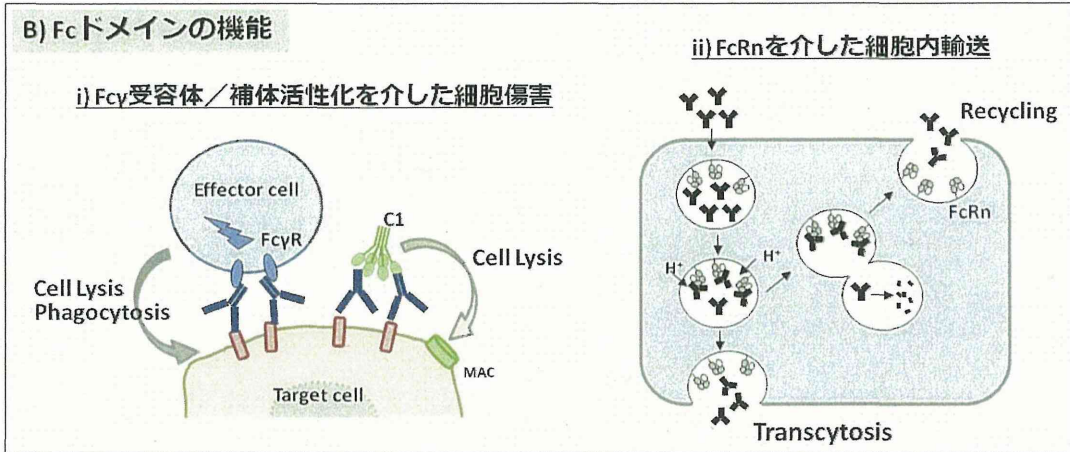
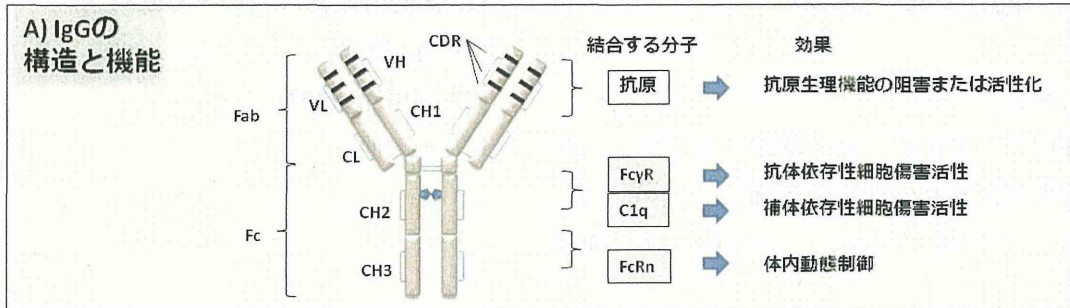


図 1 IgG の構造と機能

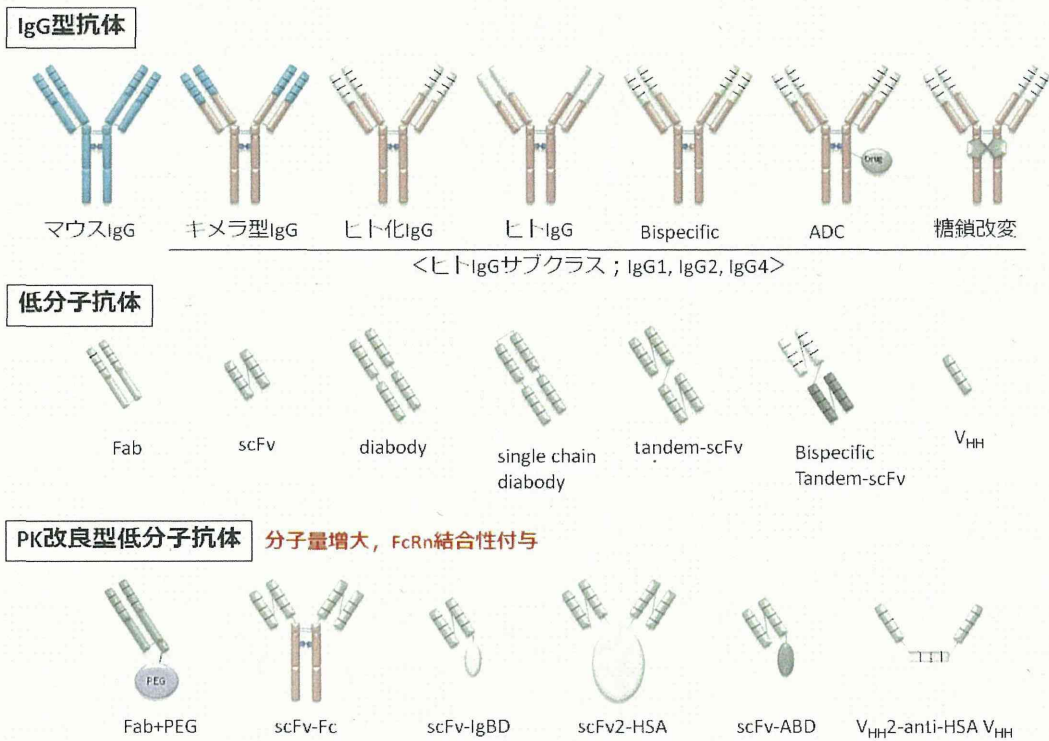


図2 抗体医薬品の骨格構造の例

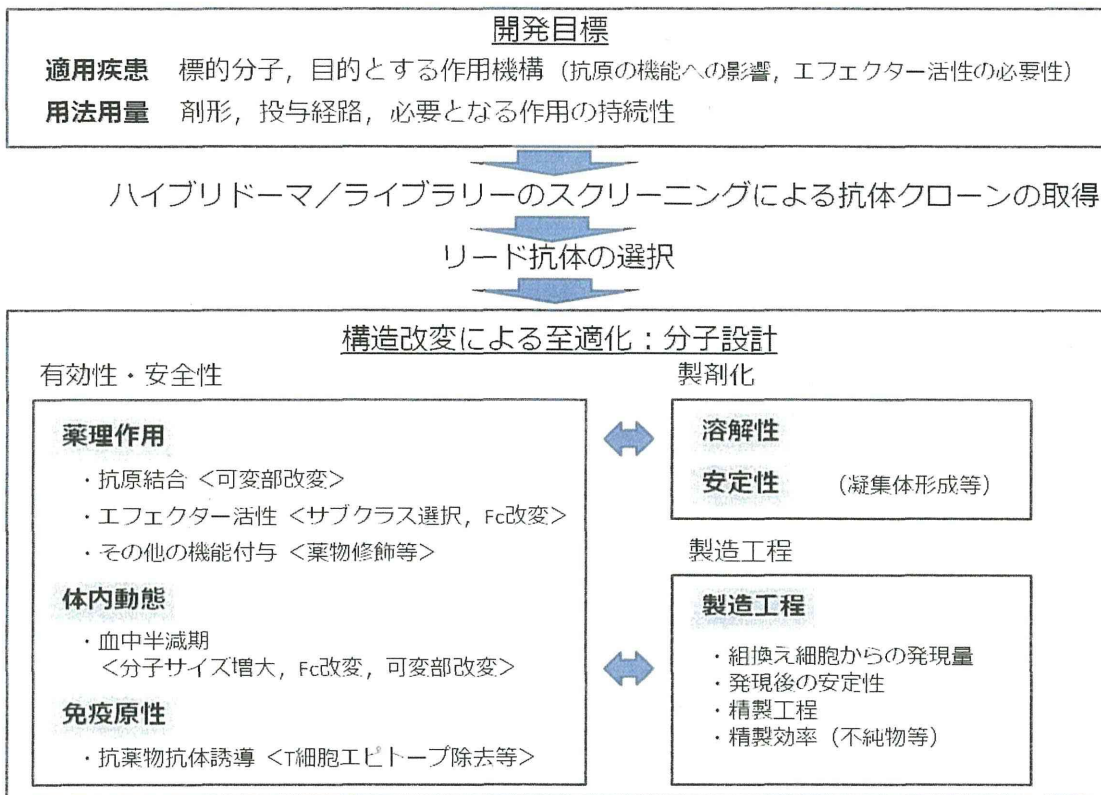


図3 開発目標に応じた抗体医薬品の分子設計

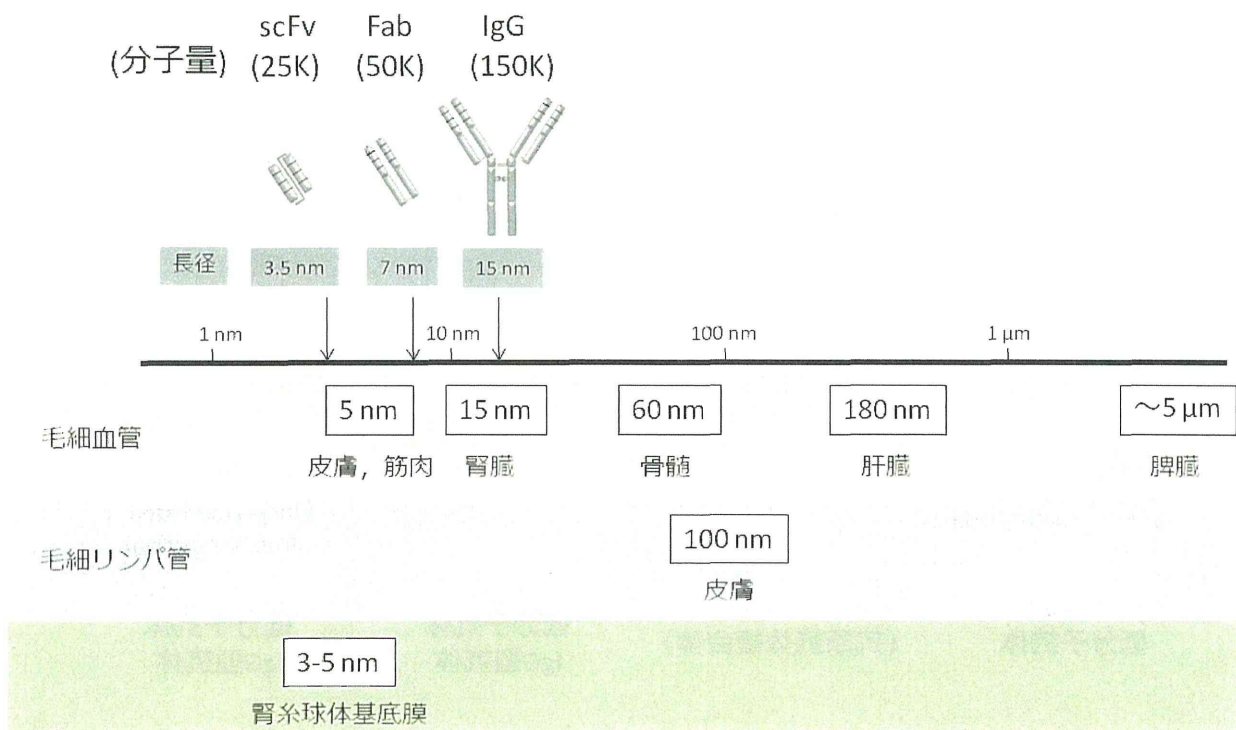


図4 抗体医薬品の分子量・分子サイズと細胞間隙経路の大きさ

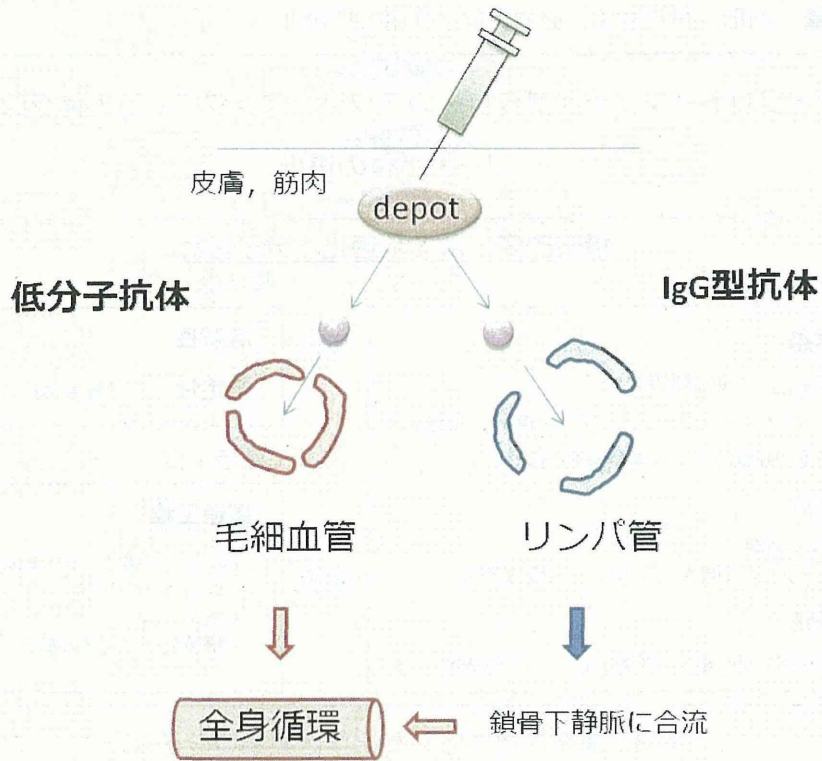


図5 皮下, 筋肉からの薬物の吸収

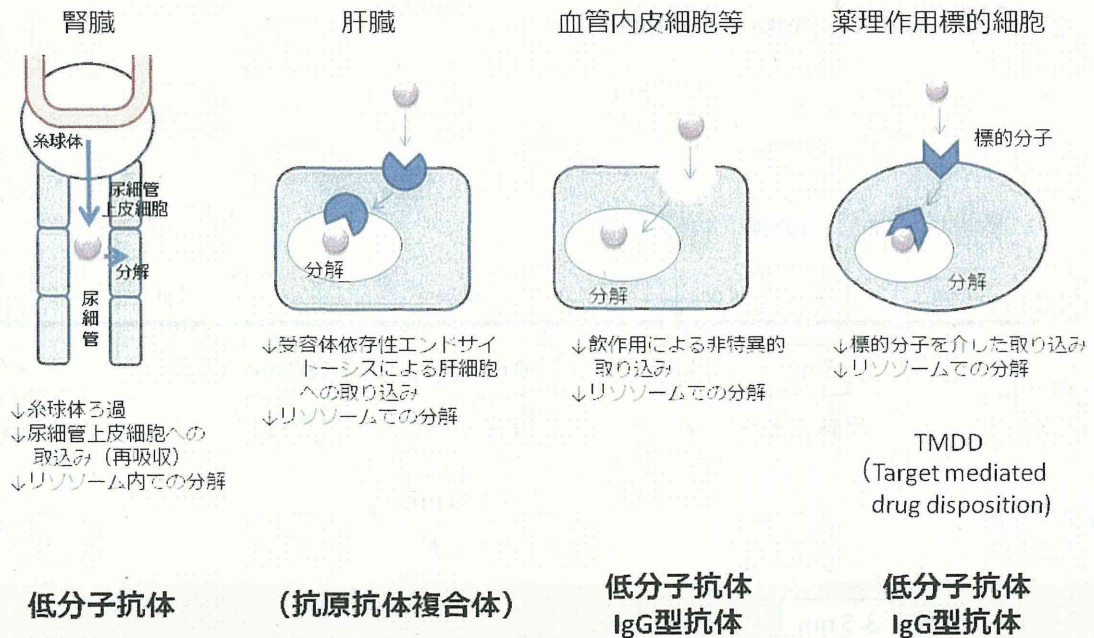


図6 種々の組織におけるバイオ医薬品の消失機構

表1 日本で承認された抗体医薬品の性状および投与経路

構造	標的分子	一般名	販売名	性状	投与経路	主な適用疾患
抗腫瘍薬						
マウス IgG1K (MX-D1PA 糖鎖修飾)	CD20	イブリツモマブ チウキセタン	ゼブラレン イットリウム	溶液	点滴静注	B細胞性非ホジキンリンパ腫
ヒト IgG1K	CD20	リツキシマブ	リツキナン	溶液	点滴静注	B細胞性非ホジキンリンパ腫
ヒト IgG1K	EGFR	ニツキシマブ	ア・ピタックス	溶液	点滴静注	結腸・直腸がん
ヒト IgG1K	VEGF	ベバシズマブ	アバスタチン	溶液	点滴静注	結腸・直腸がん
ヒト IgG1K	HER2	ペルツズマブ	ハーシェタ	溶液	点滴静注	乳がん
ヒト IgG1K	HER2	トラスツズマブ	ハーセプチン	凍結乾燥	点滴静注	転移性乳がん
ヒト IgG1K (糖鎖改変)	CCR4	モコムリスマブ	ボテリジオ	溶液	点滴静注	成人T細胞白血病リンパ腫
ヒト IgG4K (アリケアマイシン修飾)	CD33	ゲムツズマブオゾガマイシン	マイロターゲット	凍結乾燥	点滴静注	急性骨髄性白血病
ヒト IgG1K	CD20	オファツムマブ	アーゼン	溶液	点滴静注	慢性リンパ性白血病
ヒト IgG2K	EGFR	パニツムマブ	ペクティビックス	溶液	点滴静注	結腸・直腸がん
免疫調節薬						
ヒト IgG1K	TNF α	インフリキシマブ	レミケド	凍結乾燥	点滴静注	関節リウマチ
ヒト IgG1K	CD25	バシリキシマブ	シムレクト	凍結乾燥	静脈内	腎移植後の急性拒絶反応抑制
ヒト IgG1K	IL6R	トシリズマブ	アクテムラ	溶液	点滴静注, 皮下	関節リウマチ
ヒト IgG1K	IgE	オマリズマブ	ゾレア	凍結乾燥	皮下	気管支喘息
ヒト IgG1K	RSウイルス	パリズマブ	シゲジス	凍結乾燥, 溶液	筋肉内	RSウイルス感染
ヒト Fab' (PEG化低分子抗体)	TNF抗体	セントリスマブ ベゴル	シムジア	溶液	皮下	関節リウマチ
ヒト IgG1K	TNF α	アダリムマブ	ヒュミラ	溶液	皮下	関節リウマチ
ヒト IgG1K	IL12/IL23-p40	ウスデキヌマブ	ステララ	溶液	皮下	尋常性乾癬
ヒト IgG1K	TNF α	ゴリムマブ	シンボニー	溶液	皮下	関節リウマチ
ヒト IgG1K	IL 1 β	カナキヌマブ	イラリス	凍結乾燥	皮下	クリアピリン関連周期性症候群
ヒト IgG2/4K	補体C5	エクリスマブ	ソリリス	溶液	点滴静注	発作性夜間ヘモグロビン尿症
その他						
ヒト Fab (低分子抗体)	VEGF	ラニズマブ	ルセンティス	溶液	硝子体内	加齢黄斑変性症
ヒト IgG2	RANKL	デノスマブ	ランマ・ク, プラリア	溶液	皮下	骨病変, 骨粗鬆症

表2 ヒト, マウス, 非ヒト霊長類の Fc γ 受容体ファミリーの特徴

ヒト	マウス	非ヒト霊長類
Fc γ RI	Fc γ RI 構造, 発現分布および生理機能の点 でヒトとの類似性は比較的高い	Fc γ RI ヒトとの相同性高い (90%)
Fc γ RIIa	直接的な相同タンパク質は 存在しない	Fc γ RIIa ヒトとの相同性高い (89%) ITAM部分の配列異なる
Fc γ RIIb	Fc γ RII	Fc γ RIIb ヒトとの相同性高い (92%)
Fc γ RIIIa	Fc γ RIII NK細胞に発現. 細胞外領域の構造 はヒトFc γ RIIIaにより近い.	Fc γ RIIIa ヒトとの相同性高い (91%) IgG結合部位のアミノ酸配列異なる
Fc γ RIIIb	なし Fc γ RIV IgGに対して比較的親和性高い IgE受容体としても機能	なし

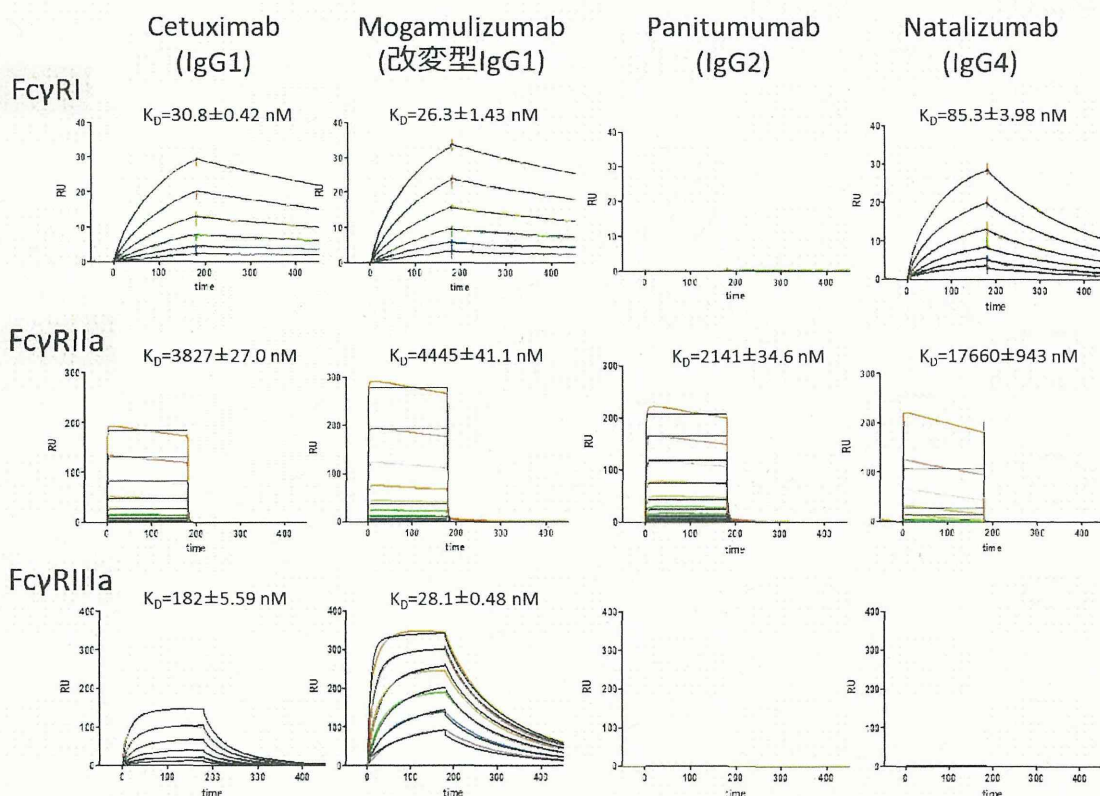


図7 SPR法によるヒトIgG各サブクラスの抗体医薬品のヒトFc γ 受容体結合親和性解析

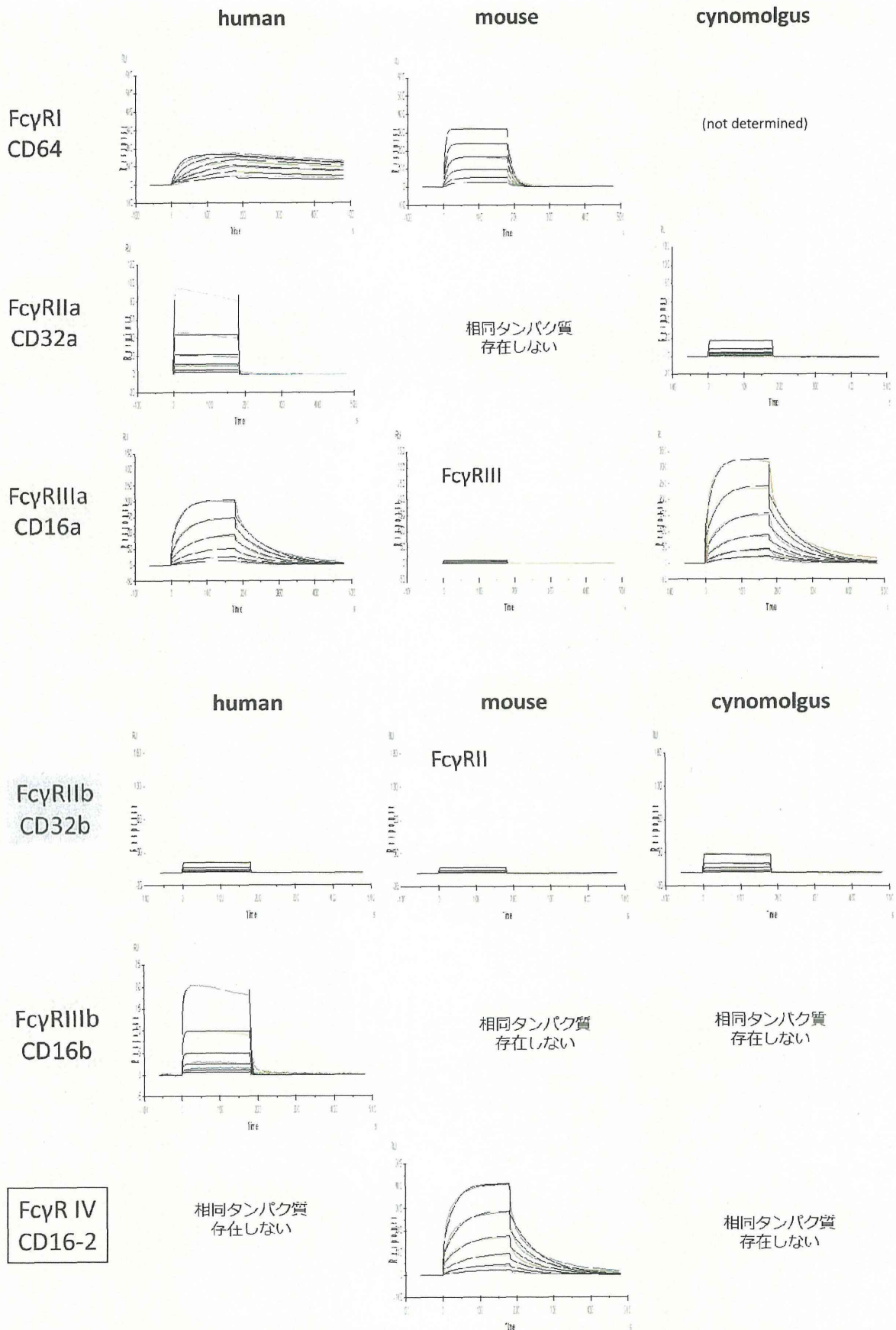


図8 ヒト IgG1Fc 領域を持つ抗体 (インフリキシマブ) の
ヒト, マウス, カニクイザル Fcγ 受容体結合親和性解析

核酸医薬品の開発環境整備を目指したレギュラトリーサイエンス研究

研究分担者 井上 貴雄 国立医薬品食品衛生研究所 遺伝子細胞医薬部 室長

本研究では、国内外においてガイドラインが存在しない核酸医薬品について、開発環境整備を目指したレギュラトリーサイエンス研究を行う。核酸医薬品は化学合成によって製造される医薬品であるが、低分子医薬品やバイオ医薬品をベースとした規制では対応できない核酸医薬特有の性質がある。その中で特に重要とされるのが「相補的結合依存的なオフターゲット効果」の発現であり、その評価法の確立や判断基準の設定が喫緊の課題となっている。すなわち、①低分子医薬品等の開発で得られた知見/経験が応用できず全く新規の課題であること、②安全性評価の課題でありながら動物を用いた試験ができないことから、核酸医薬品開発の現場でも対応についてコンセンサスが得られておらず、開発が遅延する恐れ出ている。本年度は、複数のタイプが存在するアンチセンス医薬品について調査研究を行い、それぞれのアンチセンス医薬品に対してオフターゲット効果の評価法を考察、提案した。さらに、Kynamro®の上市で注目を集めている Gapmer 型アンチセンスに関して、マイクロアレイを用いてオフターゲット効果の誘導を検証した。

A. 研究目的

本研究では、国内外においてガイドラインが存在しない核酸医薬品について、品質・安全性を評価する試験法の確立、審査指針の根拠となる実験的データの創出、基準策定の土台となるコンセプトの提案など、開発環境整備を目指したレギュラトリーサイエンス研究（RS 研究）を行う。これにより、核酸医薬品の開発を促進し、日本初となる、日本発の核酸医薬品を上市するための体制を整える。さらに、ケーススタディを積み重ねながら、核酸医薬品の開発/審査/承認が滞りなく進行する環境を整備し、核酸医薬品の適用が期待されている難治性疾患や希少疾患の領域にいち早く医薬品を届ける体制を構築する。

1. 核酸医薬品の特性とそれに付随する課題

本研究では、核酸医薬品の RS 研究を行う前

提となる「核酸医薬品に特有の性質」について調査を行ってきた。解決すべき課題を包括的に理解するため、まず核酸医薬品の性質を整理したい。

核酸医薬品とは一般に、「核酸あるいは修飾型核酸が直鎖状に結合したオリゴ核酸を薬効本体とし、蛋白質発現を介さず直接生体に作用するもので、“化学合成により製造される”医薬品」と定義できる。従って、核酸医薬品の規制は基本的には化学合成医薬品をベースに考えればよいと思われる。低分子医薬品やバイオ医薬品と比較し、核酸医薬品に特徴的な点としては、以下の項目を挙げることができる。

- ① 核酸医薬品は化学合成により製造されるが、分子量は一般的な低分子医薬品より遥かに大きい（3,000–15,000 程度）。また、リ

ン酸部に負電荷を有するポリアニオンであることから細胞膜を通過しにくい。以上の特徴から全身投与された核酸医薬品は特徴的な体内分布を示す(肝臓、腎臓、脾臓、骨髄、固形癌等に集積)。

- ② 核酸医薬品は 3'末端から一塩基ずつ連結していく固相合成法により製造される。このため、N 塩基長のオリゴ核酸を合成する場合、途中で塩基が抜けた N-1、N-2 などの不純物が含まれる。技術的な限界から、核酸医薬品の不純物は低分子医薬品と比べて含有率が高くなると考えられる。
- ③ 核酸医薬品ではヌクレアーゼ耐性を付与するため、一般にリン酸ジエステル部がホスホロチオアート化 (S 化) されている(図表 5)。これによりリン原子上に不斉点が発生し、合成されたオリゴ核酸は立体異性体が混在した化合物となる。例えば、11 塩基長のオリゴ核酸を考えた場合、核酸の連結部(不斉点)は 10 箇所存在するため、 $2^{10}=1024$ 個の異性体の混合物となる。現在の技術では、これらの異性体を完全分離することができないため、「リン原子の立体化学に起因する異性体はいずれも有効成分」という前提で開発が進められている。実際、アメリカ食品医薬品局で既に承認されている核酸医薬品である Vitravene® (一般名: Fomivirsen) および Kynamro® (一般名: Mipomersen) (図表 2) はいずれもキラルが制御されていない異性体の混合物である。
- ④ 核酸医薬品は Toll 様受容体に代表されるパターン認識受容体を介して自然免疫系を活性化する場合がある。研究の進展に伴い、受容体に認識されるオリゴ核酸の配列法則性などが明らかにされつつある。
- ⑤ アンチセンスや siRNA に代表される「RNA

を認識する核酸医薬品」は、標的 RNA と相補的に結合することにより有効性を発揮する。これらの核酸医薬品では、標的遺伝子以外の遺伝子と結合することにより発現を抑制する「相補的結合依存的なオフターゲット効果」のリスクが危惧されている。

- ⑥ 核酸医薬品をマウス、ラット、サルに投与して観察される共通の毒性として、血液凝固時間の延長、補体の活性化、免疫性細胞の活性化、肝毒性、腎毒性などが知られる。これらの毒性の発現は、配列によって強弱があり、オリゴ核酸の物理化学的性状に依存すると考えられているが、発症機構は不明である。ケーススタディも不足しているため、ヒトへの外挿性に関しては慎重を要する。

2. 安全性担保の観点から見た核酸医薬品開発の課題

以上に挙げた核酸医薬品の性質の中で、安全性担保の観点では、②と関連して「不純分の許容範囲の設定」、⑤と関連して「相補的結合依存的なオフターゲット効果が起こる条件の解明」、⑥と関連して「ヒトにおける毒性発現を予測する評価法の確立」が特に重要な点と認識されている。「不純分の許容範囲の設定」に関しては、主な不純物が N-1 等の「配列が変化したオリゴ核酸」であるため、そのリスクとしては、「N-1 のオリゴ核酸が標的以外の遺伝子に相補的に結合し、発現を抑制する」という懸念である。従って、不純物に関する課題は、⑤に記載したオフターゲット効果の課題と本質的には同一であり、まずは、オフターゲット効果が起こる条件(配列、濃度等)に関して、基盤研究を進めるべきである。

「ヒトにおける毒性発現を予測する評価法の確立」に関しては、現時点では毒性発現の分子機構がわかっていないため、科学的根拠に裏付

けられた直接的な評価法を構築することは困難である。まずは分子機構を解明する基礎研究が必要であろう。現状では、臨床開発候補品を選択する際、肝毒性等を指標に簡易的にネガティブセレクションを行う場合があり、その後、通常の非臨床安全性試験を行い、慎重な考察に基づいて First-in-man 試験に入ることになる。なお、ヒトと動物では核酸医薬品の標的となる遺伝子配列が異なるため、安全性試験を行う際には、サロゲートの利用やヒト遺伝子を導入したトランスジェニック動物の使用が検討される場合がある（ここでは詳細は割愛する）。「相補的結合依存的なオフターゲット効果」に関しては、ゲノム配列の異なる動物では評価できないため、通常の非臨床安全性試験では対応不可能である。従って、核酸医薬品に特有の評価系/判断基準が必要となる。

3. 「相補的結合依存的なオフターゲット効果」に関する知見

以上に述べた、核酸医薬品の RS 研究に関する課題を俯瞰し、本研究では「相補的結合依存的なオフターゲット効果」の評価法確立、判断基準の設定が特に緊急性を要すると判断した。理由としては、①低分子医薬品等の開発で得られた知見/経験が応用できず、全く新規の課題であること、②安全性評価の課題でありながら、動物を用いた試験ができないことが挙げられ、日本の規制当局においても、オフターゲット効果をどのように扱えばよいか、対応に迫られている現状がある。

現在、様々なタイプの核酸医薬品が開発されているが（図表 1, 3, 4）、「相補的結合依存的なオフターゲット効果」の発現を考慮すべき核酸医薬品は、RNA を標的とする医薬品であり、現実的にはアンチセンス医薬品および siRNA 医薬品の 2 種類である（図表 1, 3, 7）。これら 2 つの核酸医薬品は開発段階、開発品目数で見れば、上位 1 位、2 位に相当する。今年度

の開発動向を調査したところ（文献 1, 図表 7）、臨床試験段階にあるアンチセンス医薬候補品は約 50、うち 8 品目が phase 3 であり、2 品目は既に上市されている。一方、siRNA 医薬品は臨床段階にあるのが約 15、うち 1 品目が phase 3 に入ったところである（上市された siRNA 医薬品はまだ存在しない）。すなわち、アンチセンス医薬品の開発が大きくリードしているのが現状である。一方、オフターゲット効果に関する研究については、siRNA に関しては基盤研究が進んでおり、オフターゲット効果が起こる条件が明らかにされているが（Nat Biotechnol. 21(6), 635-637, 2003 など）、アンチセンスについてはほとんど解析されていない。特に、近年開発されている高機能性アンチセンス（後述）を用いたオフターゲット効果の検討は皆無である。以上の点から、アンチセンス医薬品によって引き起こされるオフターゲット効果を本研究課題の中心テーマに設定した。

同じアンチセンス医薬品の範疇にあっても、標的となる RNA の種類（mRNA, pre-mRNA, miRNA）や作用機構（RNA 分解、立体障害）が異なる医薬品が存在し（図表 7）、種類によってオフターゲット効果の概念や評価法が変わってくると予想される。従って、平成 25 年度においては、まず、「①アンチセンス医薬品の開発動向と機能的分類に関する調査研究」を行ったのち、それぞれのアンチセンス医薬品に対してオフターゲット効果の評価法を考察、提案した。さらに、アンチセンス医薬品の中でも最も開発が進んでいる Gapmer 型アンチセンスに関して、「②Gapmer 型アンチセンスによって引き起こされるオフターゲット効果の実験的検証」を行った。以下に、具体的な研究成果を述べる。

B. 研究方法

1. アンチセンス医薬品の開発動向と機能的分類に関する調査研究

国内外の学術集会において、アンチセンス医

薬品の研究開発状況を調査した(第9回核酸医薬国際学会、第6回 AsiaTIDES、第23回アンチセンスシンポジウム、第15回日本RNA学会など)。また平成25年度は、ヒューマンサイエンス振興財団規制動向調査ワーキンググループの調査対象が核酸医薬品であったため、本メンバーと密接に情報交換を行い、調査内容を共有した。さらに、実際にアンチセンス医薬品開発を行っている国内の主要製薬企業とミーティングを行い、オフターゲット効果の評価法に関して議論を行った。

2. Gapmer 型アンチセンスによって引き起こされるオフターゲット効果の実験的検証

現在、最も開発段階が進んでいる Gapmer 型アンチセンスを対象にオフターゲット効果を解析した。具体的には、GFP を安定発現するヒト細胞 (HEK293 細胞) に対して、GFP に対するアンチセンスを添加し、抗 GFP アンチセンスと相補的に結合するヒト内在性遺伝子がどのように発現変化するかをマイクロアレイおよび定量 PCR により解析した。

(倫理面への配慮)

本研究では、倫理面への配慮が必要な試料・資料の取り扱いはない。

C. 研究結果及び考察

1. アンチセンス医薬品の開発動向と機能的分類に関する調査研究

アンチセンス医薬品の機能的分類を理解する上で修飾型核酸の開発状況を把握することが必須であるので、まず、修飾型核酸の開発状況に関して調査した結果を述べる。次に、アンチセンス医薬品の開発動向と機能的分類を整理する。

1.1 修飾型核酸の開発状況

従来、核酸医薬品は体内でヌクレアーゼにより速やかに分解される易分解性が課題となってきた背景から、分解の影響を受けにくい局所投与型の核酸医薬品が先行して開発されてきた。実際、2012年までに承認された Vitravene® (アンチセンス) および Macugen® (アプタマー) はいずれも硝子体内へ局注する医薬品であった(図表2)。しかし、近年、修飾型核酸の開発が顕著に進展したことにより、オリゴ核酸のヌクレアーゼ耐性が向上し、体内での安定性は大きく改善した。また、化学修飾により標的配列との結合性が著しく向上し、細胞内への取り込み効率も従来に比べて改善している。さらに、これら一連の流れにより、より低濃度で有効性を得ることが可能となり、問題とされてきた細胞毒性の問題も大きく低減した。Toll 様受容体を介する自然免疫活性化も化学修飾により回避できる可能性が指摘されている。以上のような利点から、現在開発されているほとんどの核酸医薬品は何かしらの化学修飾が施されている。

核酸の化学修飾は、リン酸部の修飾、糖部の修飾、塩基部の修飾に分類することができる。リン酸部の修飾としては、O (酸素原子) を S (硫黄原子) に置換した S 化がよく知られており(図表5)、現在開発されている多くの核酸医薬品において S 化がベースとして導入されている(S 化された核酸により合成されたオリゴ核酸は“S オリゴ”と呼ばれる)。S 化は核酸と核酸をつなぐリン酸ジエステル結合部の修飾であることから、ヌクレアーゼ耐性の獲得に大きく寄与し、また、疎水性が増すことから細胞内への取り込みも改善する。上述のように、リン酸部の S 化によりリン原子上に不斉点が発生するため、S オリゴは立体異性体が混在した化合物として合成される。この点は品質管理の観点から重要であり、核酸医薬品に特有の考慮が必要となる。