

Table 2 タンパク質、細胞との相互作用に関連する評価法の事例

試験方法	説明
直接的な相互作用の試験 タンパク結合率, 血球分配率 <i>in vitro</i>	ブロック共重合体又はブロック共重合体ミセルと血液タンパク質との結合力, 非結合力の分離 (ゲル濾過法や平衡透析法などによる) が困難である場合や, ブロック共重合体の全血中濃度, 血漿中濃度測定が困難である場合も想定される. しかし, 低分子化学合成品で汎用されている手法等を利用し, ミセルのタンパク質結合率や血球分配率を求めることが可能であれば測定を行うことが好ましいと考える.
血液適合性試験 <i>in vitro</i>	溶血性試験 (ミセルと赤血球との相互作用) や, 血液凝固 (血漿成分への影響), 補体系への影響を調べる試験等がある.
ゲル電気泳動と質量分析法 <i>in vitro</i>	ブロック共重合体ミセルと相互作用するタンパク質を同定するための手法として有効である.
間接的な相互作用の試験 動的散乱 <i>in vitro</i>	タンパク質との相互作用によるサイズの変化を追跡し, ミセルの構造安定性を知ることができる. ただし, 血液など多成分のタンパク質が混在する溶液中では, 一般的に適さない.
静的散乱 <i>in vitro</i>	散乱光の角度分布を測定することによって, 粒子の大きさ, 分子量, 粒子の形状, 粒子間相互作用などについて情報を得ることが可能であるため, ミセルの構造安定性を知ることができる.
蛍光色素標識化 <i>in vitro</i> <i>in vivo</i>	ブロック共重合体や有効成分を蛍光標識化し, 消光現象や蛍光共鳴エネルギー移動現象を利用することにより, タンパク質や細胞との相互作用によるミセルの構造安定性を知ることができる. ただし, 蛍光色素による標識の安定性に留意する必要がある.
同位体標識化 主として <i>in vivo</i>	ブロック共重合体や有効成分を標識化し, その動態を追跡することにより, タンパク質や細胞との相互作用による動態への影響を考察することが可能となる. ただし, ミセルの構造安定性に関する情報を得る手法としては, 一般的には適さない.

ラズマ質量分析計 (ICP-MS) などを利用することができる. 注意すべきことは, 分離後の有効成分は, 多くの場合血中タンパク質からも遊離状態にある, という点である.

ブロック共重合体自身の代謝及び排泄経路は, 有効成分の動態に影響を与えるだけでなく, ブロック共重合体自身の安全性という点からも, 有益な情報を与える. しかし, 現在までに, *in vivo* の代謝メカニズムに関する報告はほとんどなく, 今後, 標識法の工夫などによりブロック共重合体の代謝に関する分析手法の開発が課題である. ブロック共重合体ミセル製剤と単独投与された有効成分において薬物動態を比較することにより, ブロック共重合体自身の動態や代謝を考察することは可能であるかもしれない. また, そのような比較試験は, 単独投与された有効成分よりもブロック共重合体ミセル化したほうが, 薬物動態が優れているとの主張を実証するのにも役立つと思われる.

有効成分がミセル形成に主要な要因となっている場合, 有効成分の遊離に伴い内核の凝集力が低下していくことになる. 多くのブロック共重合体ミセルでは, 生理的条件下で有効成分を徐放するような設計になっていることから, 生体内に投与後, ミセルの形状は刻一刻, 変化している (Fig. 2). このような性質から, ある一定の条件下において *in vitro* の有効成分の遊離特性データは測定可能であるが, *in vivo* でミセルと解離したブロック共重合体を区別して詳細に測定することは困難な場合もある. そのような場合には, 可能な限り客観的なデータ (血中では, 遊離の有効成分濃度と有効成分の総濃度, また組織あるいは臓器中では有効成分の総濃度) に基づき, *in vivo* での挙動を考察す

ることが有益であろう.

生体内での安定性が向上したブロック共重合体ミセル医薬品は, 必ずしもミセル製剤化により内封薬物が投与直後に各組織に分布することはないため, サンプルング時間の計画を立てる際に考慮すべき要素として, 投与後の安定性や臓器/組織への局在に関するプロファイルに留意すべきである. 一般的に初期濃度, 例えば投与後 15 分以内など最初の分布相の測定データは, その測定値から分布容積を計算し, 循環血中におけるブロック共重合体ミセルの安定性を評価することができるため, 有益であると考えられる.

4.2 非臨床薬力学

有効成分とミセルの *in vivo* での挙動を考慮し, 適切なモデルを用い, 異なる投与量において効力を裏付ける試験法を設定することが望まれる. 作用機構を考察するための試験を行うにあたっては, 有効成分の体内動態 (*in vivo* における有効成分の放出部位と放出速度), あるいはエンドサイトーシス又は他のシステムによる細胞内への取り込み後のミセル (ブロック共重合体又は他の安定化成分) の体内動態等を考慮して, 適切なモデルを用いるべきである.

ブロック共重合体ミセルの化学的な組成や内殻形成部の特性は, 有効成分の封入量や放出速度に影響する. ポリマー設計やリンカーの工夫により,

- ①細胞外で有効成分を遊離後, 遊離した有効成分が標的細胞に入る
- ②ブロック共重合体ミセルとして標的細胞に取り込ま

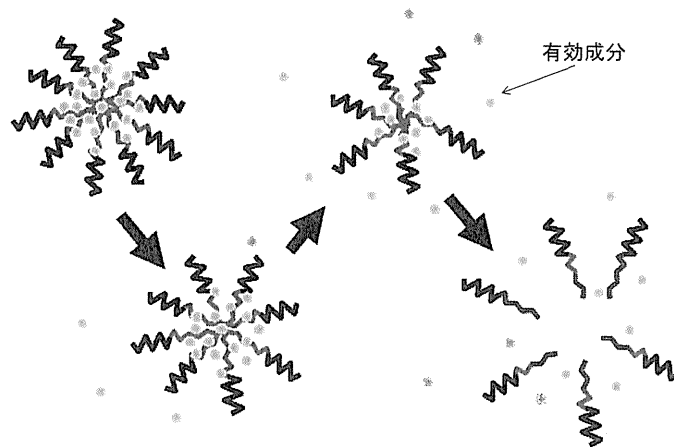


Fig.2 ミセル解離と有効成分遊離の模式図

れた後、有効成分を遊離する

③リンカーを介してポリマーに結合していた有効成分が標的細胞内で遊離する等の機序により有効成分が薬効を発揮すると考えられる¹⁶⁾。ただし、上記のどれか一つに限定されるというわけではない。できる限り、妥当な細胞、あるいは動物モデルを用い、イメージング手法(例えば、共焦点蛍光顕微鏡¹⁷⁾、陽電子放射断層撮影(PET))等の技術を利用し作用機序について考察することが重要であろう。

4.3 非臨床安全性試験

ミセル製剤は、ブロック共重合体と有効成分間における結合様式により、便宜上、以下の三つに分けられるが、ミセルの安定性を高めるために、複数の結合様式が利用される事例も今後想定される。

①有効成分とポリマー部分が(分子内)化学結合を形成していない場合(例えば疎水的相互作用などがある)

②有効成分とポリマー部分との間がミセル形成後に(分子内)化学結合を形成する場合(例えば共有結合、高分子-金属錯体形成などがあるだろう)

③有効成分とポリマー部分が(分子内)化学結合を形成している場合(生体内では、ユニマーとしても存在する可能性がある)

ミセル製剤は、有効成分をミセル製剤化することにより有効成分の薬効の向上や毒性の低減を目的としているが、薬物動態が大きく変わることが多いので、毒性が既知の有効成分であっても、基本的にはミセル製剤を用いたフルパッケージの毒性試験が必要である。有効成分が抗悪性腫瘍薬の場合にはICH S9ガイドライン¹⁸⁾、バイオ医薬品の場合にはICH S6ガイドライン¹⁹⁾に従う。ただし、動物種の選定や試験デザイン等については、有効成分や投与経路

などで様々なケースが想定されるために、それぞれの条件に応じて柔軟に対応すべきである。

①、②の場合、製剤から有効成分を除いたポリマー部分単独(殻ミセル)の毒性評価は基本的に不要である。添加物としてのポリマー部分の安全性評価は、当該製剤に限定した承認とすることを前提として、製剤(ミセル全体)で評価を行うことでよい。ただし、ミセル製剤全体として適切な毒性評価ができない場合(例えば新規成分、蓄積性など)にはポリマー(殻ミセル)だけの毒性評価が求められる場合もある。

有効成分に新規性があり、毒性及びトキシコキネティクス(TK)データが得られていない場合には、前述のようにミセル製剤でのフルパッケージによる毒性/曝露評価を行う。有効成分がフリーの状態で生体内に存在する可能性がある場合は、動物を用いて臨床投与経路による反復投与毒性試験を実施して、毒性発現及びトキシコキネティクスをミセル製剤と比較することが必要な場合がある。

既に有効成分の毒性評価が終了している場合には、ミセル製剤での毒性評価は短期反復投与毒性試験により行い、臨床投与経路における毒性プロファイル及びトキシコキネティクス(TK)を有効成分のそれと比較する。毒性プロファイルが有効成分単独と異なるなど、短期反復投与毒性試験のみでは当該ミセル製剤の毒性が十分に評価できないと判断される場合には、必要に応じて追加の毒性試験を実施する。

一方、従来溶解性等の問題で、有効成分のみでは医薬品としての開発が困難であった有効成分を内封薬物としている場合や、有効成分のみで誘発される重篤な毒性がミセル化することで軽減されるような製剤開発の場合に、有効成分単独で毒性試験を行うことは困難である場合も想定される点を補足しておきたい。

5. ヒト初回投与試験において考慮すべき事項

本項では、通常製剤における配慮 (ICH ガイダンス及び国内ガイダンス) に加えて、ブロック共重合体ミセル医薬品において特に配慮すべきポイントに絞って、ヒト初回投与試験を検討する際に考慮すべき事項を記載する。

ブロック共重合体ミセル医薬品では、ミセル化により有効成分の生体内安定性、生体内分布が大きく変化する。したがって、ヒト初回投与試験までに、非臨床において血中の有効成分の濃度推移の他、標的病変部位と主要臓器への有効成分の分布に関する情報が必要である。

推奨されるヒトへの投与量の設定基準の決定にあたっては、薬理学的な用量反応性、薬理学的/毒性学的プロファイル及び薬物動態を含む、関連する全ての非臨床試験データを考慮する必要がある。しばしば静脈内投与で発生する輸注反応などの過敏症反応は用量依存性が無い場合が多いので、用量制限毒性として扱わないことが適切であろう。

一方、品質における留意点として、ヒト初回投与試験を開始するまでに品質特性に関する試験法をできるだけ確立させておくことが望ましい。有効成分含量、純度、無菌性の保証などの他に製剤ごとに重要品質特性の候補を決めておくことが必要であろう。例えば粒子径、有効成分の放出性、付与したリガンドの活性などである。

6. まとめ

本稿では、現在我が国において臨床応用が進められているブロック共重合体ミセル製剤について、製剤開発、及び製剤評価において考慮すべき点について考察した。今後、更に複雑な製剤設計による製品が開発されることが予想され、製品に応じた評価が必要になるであろう。品質・有効性・安全性を確保するために、製剤の物理的・化学的特性、及び製剤の *in vivo* における特性を理解し、ブロック共重合体ミセル製剤の特性に応じた *in vitro*, *in vivo* の試験が必要とされる。

今後、分析技術、評価手法の開発により、ブロック共重合体ミセルの物理的・化学的特性、製剤の *in vivo* における特性、及びこれらの関連性に関する更なる知識の蓄積が重要であると考えられる。

謝 辞

「ナノ医薬品に関する勉強会」における議論において、また厚生労働科学研究費補助金 (医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業) により、多大なご支援を賜りました厚生労働省に深謝いたします。

文 献

- 1) Gao, L.; Liu, G.; Ma, J.; Wang, X.; Zhou, L.; Li, X. Drug nanocrystals: In vivo performances. *J. Control. Release.* 2012, 160, p.418-430.
- 2) Lynch, I.; Salvati, A.; Dawson, K.A. Protein-nanoparticle interactions: What does the cell see?. *Nat. Nanotechnol.* 2009, 4, p.546-547.
- 3) Harashima, H.; Iida, S.; Urakami, Y.; Tsuchihashi, M.; Kiwada, H. Optimization of antitumor effect of liposomally encapsulated doxorubicin based on simulations by pharmacokinetic/pharmacodynamic modeling. *J. Control. Release.* 1999, 61, p.93-106.
- 4) Cabral, H.; Nishiyama, N.; Kataoka, K. Supramolecular nanodevices: from design validation to theranostic nanomedicine. *Acc. Chem. Res.* 2011, 44, p.999-1008.
- 5) 松村保広, がん治療におけるミセル製剤の臨床開発. *Drug Delivery System.* 2013, 28, p.215-220.
- 6) Nishiyama, N.; Kataoka, K. Current state, achievements, and future prospects of polymeric micelles as nanocarriers for drug and gene delivery. *Pharmacol. Ther.* 2006, 112, p.630-648.
- 7) Valle, J.W.; Armstrong, A.; Newman, C.; Alakhov, V.; Pietrzynski, G.; Brewer, J.; Campbell, S.; Corrie, P.; Rowinsky, E.K.; Ranson, M. A phase 2 study of SP1049C, doxorubicin in P-glycoprotein-targeting pluronic, in patients with advanced adenocarcinoma of the esophagus and gastroesophageal junction. *Invest. New Drugs.* 2011, 29, p.1029-1037.
- 8) Batrakova, E.V.; Li, S.; Alakhov, V.Y.; Miller, D.W.; Kabanov, A.V. Optimal structure requirements for pluronic block copolymers in modifying P-glycoprotein drug efflux transporter activity in bovine brain microvessel endothelial cells. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2003, 304, p.845-854.
- 9) 厚生労働省医薬食品局審査管理課長. ICH Q8 ガイドライン: 製剤開発に関するガイドラインの改定について (ICH Q8 (R2) ガイドライン). 薬食審査発第 0628 第 1 号, 平成 22 年 6 月 28 日.
- 10) ICH Q11 ガイドライン: Development and manufacture of drug substances (chemical entities and biotechnological/ biological entities). http://www.pmda.go.jp/ich/q/step4_q11_e.pdf
- 11) 厚生労働省医薬食品局審査管理課長. ICH Q5E ガイドライン: 生物薬品 (バイオテクノロジー応用医薬品/生物起源由来医薬品) の製造工程の変更にもなう同等性/同質性評価について. 薬食審査発第 0426001 号, 平成 17 年 4 月 26 日.
- 12) Ehmann, F.; Sakai-Kato, K.; Duncan, R.; Hernán Pérez de la Ossa, D.; Pita, R.; Vidal, J.M.; Kohli, A.; Tothfalusi, L.; Sanh, A.; Tinton, S.; Robert, J.L.; Silva Lima, B.; Amati, M.P. Next-generation nanomedicines and nanosimilars: EU regulators' initiatives relating to the development and evaluation of nanomedicines. *Nanomedicine (Lond).* 2013, 8, p.849-856.
- 13) 加藤くみ子. ナノ医薬品開発に関する動向. *薬学雑誌.* 2013, 133, p.43-51.
- 14) Matsumura, Y.; Maeda, H. A new concept for macromolecular therapeutics in cancer chemotherapy: mechanism of tumorotropic accumulation of proteins and the antitumor agent smancs. *Cancer Res.* 1986, 46, p.6387-6392.

- 15) Kim, S.; Shi, Y.; Kim, J.Y.; Park, K.; Cheng, J.X. Overcoming the barriers in micellar drug delivery: loading efficiency, in vivo stability, and micelle-cell interaction. *Expert Opin. Drug Deliv.* 2010, 7, p.49-62.
- 16) Kataoka, K.; Kwon G. S.; Yokoyama, M.; Okano, T.; Sakurai, Y. Block copolymers micelles as vehicles for drug delivery. *J. Control. Release.* 1993, 24, p.119-132.
- 17) 野本貴大, 松本有, 藤加珠子, Christie, R.J., 宮田完二郎, 大庭誠, Cabral, H., 村上真美, 福島重人, 西山伸宏, 片岡一則. リアルタイム生体内共焦点レーザー顕微鏡を用いた drug delivery systems (DDS) の動態評価法. *薬学雑誌*, 2012, 132, p.1347-1354.
- 18) 厚生労働省医薬食品局審査管理課長. ICH S9 ガイドライン：抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドラインについて. *薬食審査発* 0604 第1号, 平成 22 年 6 月 4 日.
- 19) 厚生労働省医薬食品局審査管理課長. ICH S6 (R1) ガイドライン：バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価について. *薬食審査発* 0323 第1号, 平成 24 年 3 月 23 日.
- 20) ブロック共重合体ミセル医薬品の開発について厚生労働省／欧州医薬品庁の共同リフレクション・ペーパー (案). http://www.nihs.go.jp/drug/section4/nanomedicine_j/nano_j.html

《コロキウム》

DDS 製剤開発の活性化と実現に向けた取り組みについて

加 藤 くみ子* Kumiko Sakai-Kato

国立医薬品食品衛生研究所薬品部

1. はじめに

本年2月1日、「ブロック共重合体ミセル医薬品の開発について厚生労働省/欧州医薬品庁の共同リフレクション・ペーパー(案)」¹⁾「Joint MHLW/EMA reflection paper on the development of block copolymer micelle medicinal products, Draft」²⁾が厚生労働省及び欧州医薬品庁(EMA)より発表された。本書は厚生労働省の検討会である「ナノ医薬品に関する勉強会」における議論をふまえ、欧州と共同で作成された。従って本活動は本邦初のナノ DDS 製剤開発に関する文書の作成であるだけでなく、本邦において開発が先行している革新的医薬品の開発における留意点及びその評価に関する国際発信・国際調和の促進と言えるであろう。本邦の DDS 製剤技術研究は世界的にも多くの関心が寄せられており、日本が先導して上述した規制に関わる文書を作成できたのもその表れであると考えている。本稿では、DDS 製剤開発の活性化と実現に向けた取り組みについてその一例を紹介したい。

2. DDS 製剤開発の活性化と実現に向けた取り組みについて

製剤あるいは原薬に工夫を凝らし、溶解性、生物学的利用能、生体内分布等の改善、副作用軽減を目

的とした製剤や、治療と診断など複数の機能を集積化した製品の開発が盛んに行われている。今後もさらに発展し医療のアプローチを根底から変え得る革新的医薬品の開発など、既存の知識では対応できない可能性も十分にあり、そのようなギャップを埋めるためにも新たな評価法の開発に資する更なる科学的研究が不可欠である。これらの活動を通して、開発に際して考慮が必要な要件をまとめる、さらに機能評価法を開発・標準化し、評価法ガイドライン案等を作成することが重要であり、先端的医薬品の臨床応用を早期に実現する上で大きな推進力になると考えられる。

本邦においては、ブロック共重合体ミセル、リポソームなどキャリアによる抗癌剤や核酸等の送達、医療機器との融合など世界的に見ても最先端の研究が盛んに行われている。これらの医薬品は、新規素材による最先端の技術を利用して開発されており、製品としての品質確保の基準が不明確である、また、循環血中に入ったのちも製剤が生体高分子と同等なナノメートルサイズの構成要素を有し、従来の低分子医薬品とは体内での挙動や生体との相互作用など様々に異なる、などの特徴が挙げられる。したがって体内での動態などナノ DDS 製剤の特性に配慮しその開発や評価に関して考慮すべき点を明確にしていくことが急務である。2008年に国立医薬品食品衛生研究所薬品部に新たな室が設立されこれらの課題に取り組んできた。一例としては、ブロック共重合体ミセル製剤やリポソーム製剤等のナノ DDS 製剤の体内動態に関わる品質特性評価法の開発研究が遂行されており、キャリア成分の動態を中心にナノ DDS 製剤の細胞内動態評価法、及び細胞内動態に関

*1995年東京大学薬学部卒業, 1997年東京大学大学院薬学系研究科修士課程修了, 三共株式会社研究員, 武蔵野大学助手, 助教を経て, 2008年より国立医薬品食品衛生研究所薬品部第四室室長。博士(薬学)(東京大学)。現在の研究: 高機能性製剤の品質評価研究。連絡先: 〒158-8501 東京都世田谷区上用賀 1-18-1
E-mail: kumikato@nihs.go.jp

わる品質特性評価法の研究を推進してきた。現在は、ナノ DDS 製剤の物理的・化学的特性と動態との関連性、及びキャリア成分の動態が有効成分の動態や医薬品総体としての安全性へ及ぼす影響について研究を行っている。

一方、先端医薬品の評価法開発に関わる研究推進のためには人材育成も重要である。厚生労働省では昨秋より「革新的医薬品・医療機器・再生医療製品実用化促進事業」が開始された。本事業は、アカデミア（大学・研究所等）が国立医薬品食品衛生研究所及び独立行政法人医薬品医療機器総合機構と連携・人材交流を行い、革新的医薬品・医療機器・再生医療製品の安全性と有効性の評価の確立に資する研究を実施することにより、新薬・新医療機器の審査・安全対策のガイドライン発信、及びレギュラトリーサイエンスの人材育成を目的としている。医薬品分野（全8課題）において、北海道大学大学院薬学研究院を中心に「がん、ナノテクノロジー」をテーマに研究が進行しているところである。このような国家プロジェクトに薬剤学が貢献できることは特筆すべきことであると思われる。

ナノテクノロジーを応用した医薬品の評価については、欧米規制当局においても議論が進んでいる。またEMAを中心とした規制側の専門家会議が開催されている。このような国際的な活動の中で、冒頭で紹介したEMAとの共同リフレクション・ペーパー（案）が作成された。

2010年9月にはEMAの主催による「ナノメディシンに関する第1回国際ワークショップ」が開催された。この会議には欧州各国の他、米国、カナダ、日本、オーストラリアなど27カ国から産官学、さらに患者団体の代表等が出席し、1) 現在までにどのようなナノメディシンが実用化されてきたか、また開発中であるか、2) 医薬品への実用化に向け取

り組まれている先端技術、3) ナノメディシンの品質特性評価、非臨床評価、リスク管理（ヒト及び環境へのリスク評価）、4) ナノメディシンを用いることによる患者の利益と利益享受のための課題、など広範な内容が議論された。本国際ワークショップの開催は

- ・新たに現れつつある革新的な医薬品に関する情報を得る
- ・課題を明らかにする
- ・患者、市民社会のニーズを知る

等の成果を目指したものである³⁾。ナノテクノロジーに代表される高度な技術を利用した医薬品の開発環境整備には、開発段階からの科学的な対話、知識の共有が重要であると考えられる。

3. おわりに

本項で述べた様々な取り組みにより、本邦において本分野の研究開発が一層推進され、日本発の革新的医薬品の創出、医療水準の更なる向上がもたらされることを期待する。

最後に、関係の諸先生方、共同研究者の皆様、支援頂いた厚生労働省に感謝申し上げます。

引用文献

- 1) ブロック共重合体ミセル医薬品の開発について厚生労働省/欧州医薬品庁の共同リフレクション・ペーパー（案）。Available at <http://www.nihs.go.jp/drug/DrugDiv-J.html>
- 2) Joint MHLW/EMA reflection paper on the development of block copolymer micelle medicinal products, Draft. Available at <http://www.nihs.go.jp/drug/DrugDiv-J.html>
- 3) 1st International Workshop on Nanomedicines 2010 Summary Report, European Medicines Agency. Available at <http://www.nihs.go.jp/drug/DrugDiv-J.html>



抗体医薬品の分子設計

石 井 明 子* Akiko Ishii-Watabe
 鈴 木 琢 雄 Takuo Suzuki
 多 田 稔 Minoru Tada
 川 崎 ナ ナ Nana Kawasaki

国立医薬品食品衛生研究所 生物薬品部

1. はじめに

マウスモノクローナル抗体作製技術の開発を発端に、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。抗体医薬品の分子設計では、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、製造工程についても考慮する必要がある。本稿では、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して概説した上で、抗体医薬品の分子設計においてポイントと考えられる事項を述べ、生物薬剤学の観点で重要となる薬物動態の至適化を目的とした分子設計の例を紹介する。

2. 抗体医薬品とは

抗体医薬品は、免疫グロブリンを医薬品としたものである。古くからヒト血漿より精製した免疫グロブリン製剤が用いられていたが、近年、開発が盛んな抗体医薬品は、ハイブリドーマ法やファージディ

* 国立医薬品食品衛生研究所生物薬品部第二室室長。京都大学大学院薬学研究所修士課程修了(衛生化学教室)、博士(薬学)。研究テーマ: バイオ医薬品の品質評価。連絡先: 〒158-8501 東京都世田谷区上用賀 1-18-1 E-mail: watabe@nihs.go.jp

スプレイ法等を利用して作製されたモノクローナル抗体をリード抗体とし、必要に応じて、様々な分子設計に基づく改変を施したものである。

2.1 IgG の構造と機能

図 1 にヒト IgG1 の構造と機能を示す。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¹⁾。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 1A)。

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、Fcγ 受容体や補体との結合能を持ち、Fcγ 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 1B-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²⁾ (図 1B-ii)。非特異的飲作用であるピノサイトーシス等により細胞に取り込まれた IgG は、エンドソーム内で FcRn に結合し、細胞外にリサイクルされる。この機構により、IgG がリソソームへの輸送と分解を免れるため、ヒト生体内 IgG の血中半減期は約 20 日と極めて長い。IgG は、FcRn により

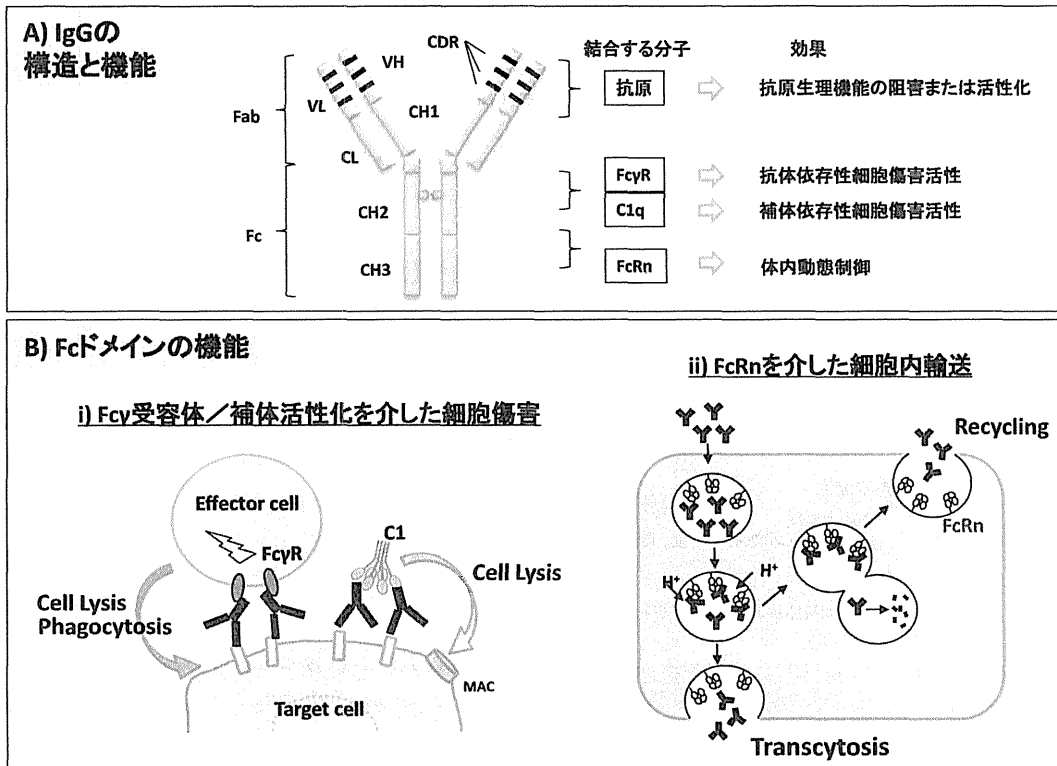


図1 IgGの構造と機能

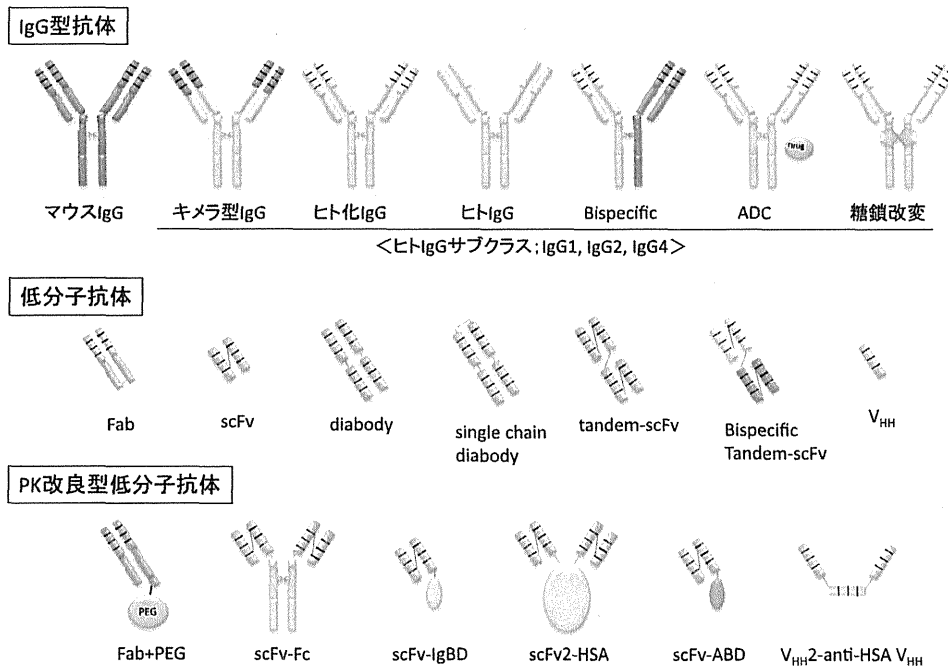


図2 抗体医薬品の骨格構造の例

トランスサイトーシスされることも知られており、胎盤では、IgGがFcRnを介して母親から胎児に輸送される。

2.2 抗体医薬品の構造

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、抗体医薬品の骨格を图示した。IgG型抗体には、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がある。キメラ

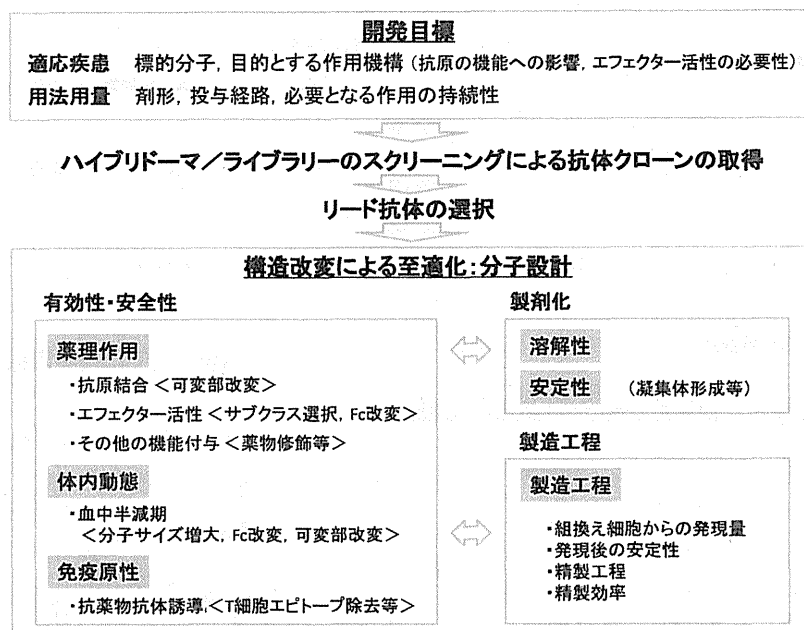


図3 開発目標に応じた抗体医薬品の分子設計において考慮すべき主な事項

抗体は、マウス抗体の定常部をヒト抗体に置換したもの、ヒト化抗体は、マウス抗体のCDR以外を全てヒト抗体に置換したものである。キメラ抗体やヒト化抗体は、マウスIgG配列をヒトIgG配列に置換することにより、免疫原性の低減とヒトFcRn結合能の付与を実現したもので、抗体医薬品の実用化に大きく貢献した分子設計である。

低分子抗体には、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}などがある。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ている。現在のところ、日米欧で承認されている抗体医薬品の中で、低分子抗体は、Fabが2品目、PEG化Fab'が1品目であり、IgG型抗体と比較すると少ない。抗体医薬品をはじめ、バイオ医薬品の承認品目については、国立医薬品食品衛生研究所生物薬品部HPにて情報提供している (<http://www.nihs.go.jp/dbcb/mabs.html>)。

3. 抗体医薬品の分子設計において考慮すべきこと

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¹⁾。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¹⁾。

選択されたリード抗体の至適化においては、(1)有効性・安全性に関連する薬理作用、薬物動態、免疫原性、(2)製剤化に関連する溶解性、安定性、さらに、(3)製造工程を考慮して、構造の至適化が行われる。

3.1 有効性・安全性

3.1.1 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Fcγ受容体や補体との結合に依存するため、これらの結合能を至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) 抗原結合の至適化

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³⁾。

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⁴⁾。二重特異性抗体の例として、腫瘍細胞表面抗原とT細胞表面抗原に結合する抗体があり、腫瘍細胞近傍でT細胞を活性化することで、抗腫瘍効果を示す。

(2) エフェクター活性の至適化

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至適化において、まず、IgG サブクラスの選択が行われ、さらに、必要に応じて、Fcγ 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が特徴で、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きことや、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 FcγRIII への結合親和性を上げ、ADCC 活性を増強する技術が日本で開発されている。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、酸加水分解、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。

3.1.2 薬物動態

化学薬品では、薬物動態の制御における製剤設計の重要性が高いが、抗体医薬品では、有効成分の構造が薬物動態に関わるため、その分子設計において、薬物動態を考慮することになる。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。本章第 4 節 (抗体医薬品の体内動態制御のための分子設計) で述べるように、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遊離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ている。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。

3.1.3 免疫原性

免疫原性は、*in vivo* で免疫応答を生じさせる性質であり、抗体医薬品を含むバイオ医薬品の有効性・安全性確保に関する懸念事項の一つとなっている。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。

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* アッセイを利用すること等が考えられる。

3.2 製剤化

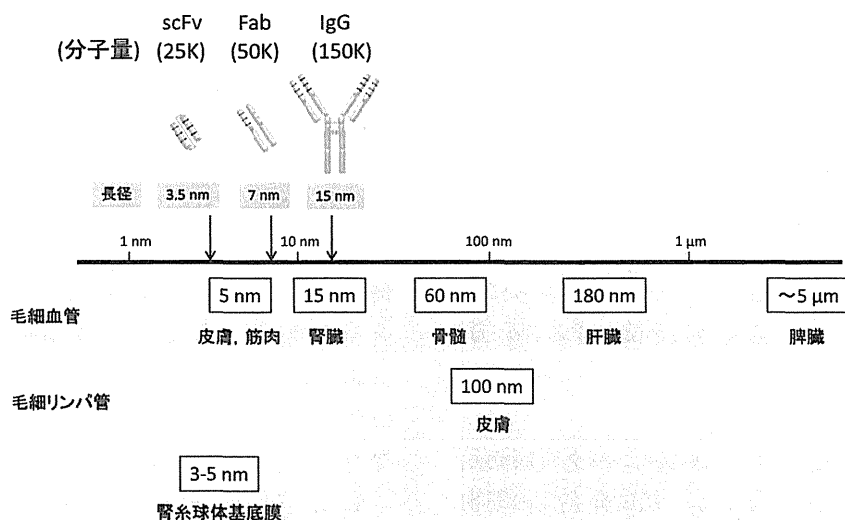
3.2.1 溶解性

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、

表1 日本で承認された抗体医薬品

	構造	標的分子	一般名	販売名	剤形	投与経路	主な適応疾患
抗腫瘍薬							
マウス	IgG1κ (MX-DTPA : ⁹⁰ Y 標識)	CD20	イブリツモマブ チウキセタン	ゼヴァリン 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
キメラ	IgG1κ	CD20	リツキシマブ	リツキサン	溶液	点滴静注	B細胞性非ホジキンリンパ腫
キメラ	IgG1κ	EGFR	セツキシマブ	アービタックス	溶液	点滴静注	結腸・直腸がん
ヒト化	IgG1κ	VEGF	ベバシズマブ	アバスチン	溶液	点滴静注	結腸・直腸がん
ヒト化	IgG1κ	HER2	ベルツズマブ	パージェタ	溶液	点滴静注	乳がん
ヒト化	IgG1κ	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
ヒト化	IgG1κ (糖鎖改変)	CCR4	モガムリズマブ	ポテリジオ	溶液	点滴静注	成人T細胞白血病リンパ腫
ヒト化	IgG4κ (カリケアマイシン修飾)	CD33	ゲムツズマブオゾガマイシン	マイロターグ	凍結乾燥	点滴静注	急性骨髄性白血病
ヒト	IgG1κ	CD20	オフアツムマブ	アーゼラ	溶液	点滴静注	慢性リンパ性白血病
ヒト	IgG2κ	EGFR	パニツムマブ	ベクティビックス	溶液	点滴静注	結腸・直腸がん
免疫調節薬							
キメラ	IgG1κ	TNFα	インフリキシマブ	レミケード	凍結乾燥	点滴静注	関節リウマチ
キメラ	IgG1κ	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
ヒト化	IgG1κ	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
ヒト化	IgG1κ	IgE	オマリズマブ	ゾレア	凍結乾燥	皮下	気管支喘息
ヒト化	IgG1κ	RS ウイルス	バリビズマブ	シナジス	凍結乾燥, 溶液	筋肉内	RS ウイルス感染
ヒト化	Fab' (PEG化低分子抗体)	TNF 抗体	セルトリズマブ ベゴル	シムジア	溶液	皮下	関節リウマチ
ヒト	IgG1κ	TNFα	アダリムマブ	ヒュミラ	溶液	皮下	関節リウマチ
ヒト	IgG1κ	IL12/ IL23-p40	ウステキヌマブ	ステラーラ	溶液	皮下	尋常性乾癬
ヒト	IgG1κ	TNFα	ゴリムマブ	シンボニー	溶液	皮下	関節リウマチ
ヒト	IgG1κ	IL-1β	カナキヌマブ	イラリス	凍結乾燥	皮下	クリオピリン関連周期性症候群
ヒト	IgG2/4κ	補体 C5	エクリズマブ	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							
ヒト化	Fab (低分子抗体)	VEGF	ラニビズマブ	ルセンチイス	溶液	硝子体内	加齢黄斑変性症
ヒト	IgG2	RANKL	デノスマブ	ランマーク, プラリア	溶液	皮下	骨病変, 骨粗鬆症

一般名の (遺伝子組換え) は省略して表記した。



(参考文献: Klein JS et al. JBC 106, 7385, 2009; Sarin H, J Angiogenesis Res 2, 13, 2010, Bagby TR et al. Pharmaceutics 4, 276, 2012, Moeller MJ and Tenten V Nat. Rev. Nephrol. 9, 266, 2013)

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

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。言うまでもなく、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になる。

3.2.2 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°C 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、特に注意が必要とされる。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可能性が高い。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。凝集体形成を起こしやすいアミノ酸配列を予測

する方法が検討されており⁵⁾、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。

3.3 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。

4. 抗体医薬品の体内動態制御のための分子設計

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⁶⁾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、腎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。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。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)。

4.1 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日程度のものである。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行われている。血中半減期の延長には、Fcドメインのアミノ置換により、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⁷⁾。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⁸⁾。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、皮下投与製剤の開発可能性も高めるものと考えられる。

4.2 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⁹⁾。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⁷⁾。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(図2)。

4.2.1 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¹⁰⁾。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。

4.2.2 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結合部位に近いので、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。

4.2.3 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。

5. おわりに

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。アミノ酸配列が一つでも異なれば別

の医薬品となるため、開発途中での構造改変は、その抗体医薬品の開発中止を意味する。実生産スケールでの製造や、ヒトでの有効性・安全性等、開発の後期にならないと分からないことも多い中、最適と思われる構造を選択していかなければならない。タンパク質工学を中心に、開発に関わる様々な分野の連携が重要と思われる。

引用文献

- 1) 西島正弘, 川崎ナナ編, “バイオ医薬品 開発の基礎から次世代医薬品まで”, 化学同人, 東京, 2013.
- 2) 石井明子, 鈴木琢雄, 多田 稔, 川西 徹, 山口照英, 川崎ナナ, 抗体医薬品の体内動態制御に関わる受容体: FcRn, 日薬理誌, **136**, 280–284 (2010).
- 3) T. Igawa, H. Tsunoda, T. Kuramochi, Z. Sampei, S. Ishii, K. Hattori, Engineering the variable region of therapeutic IgG antibodies, *mAbs*, **3**, 243–252 (2011).
- 4) C. May, P. Sapra, H. Gerber, Advances in bispecific biotherapeutics for the treatment of cancer, *Biochem. Pharmacol.*, **84**, 1105–1112 (2012).
- 5) A. C. Tsolis, N. C. Papandreou, V. A. Iconomidou, S. J. Hamodrakas, A consensus method for the prediction of ‘aggregation-prone’ peptides in globular proteins, *PLoS One*, **8**, e54175 (2013).
- 6) T. Suzuki, A. Ishii-Watabe, M. Tada, T. Kobayashi, T. Kanayasu-Toyoda, T. Kawanishi, Importance of neonatal FcR in regulating the serum half-life of therapeutic proteins containing the Fc domain of human IgG1: a comparative study of the affinity of monoclonal antibodies and Fc-fusion proteins to human neonatal FcRn, *J. Immunol.*, **184**, 1968–1976 (2010).
- 7) 石井明子, 鈴木琢雄, 多田 稔, FcRn 結合親和性を利用した次世代抗体医薬品の体内動態制御. 熊谷泉編. 次世代医薬開発に向けた抗体工学の最前線, シーエムシー出版, 東京, 2012, pp. 102–115.
- 8) T. Igawa, S. Ishii, T. Tachibana, A. Maeda, Y. Higuchi, S. Shimaoka, *et al.*, Antibody recycling by engineered pH-dependent antigen binding improves the duration of antigen neutralization, *Nat. Biotechnol.*, **28**, 1203–1207 (2010).
- 9) P. Holliger, P. J. Hudson, Engineered antibody fragments and the rise of single domains, *Nat. Biotechnol.*, **23**, 1126–1136 (2005).
- 10) D. B. Powers, P. Amersdorfer, M. Poul, U. B. Nielsen, M. R. Shalaby, G. P. Adams, L. M. Weiner, J. D. Marks, Expression of single-chain Fv-Fc fusions in *Pichia pastoris*, *J. Immunol. Methods*, **251**, 123–135 (2001).

2 頁以降の Running title

[井上：核酸医薬品開発の動向]

[医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス, PMDRS, 45(4), 000~000 (2014)]

総説

核酸医薬品開発の動向

井上 貴雄^{*}

Development Trends for Oligonucleotide Therapeutics

Takao INOUE^{*}

^{*} 国立医薬品食品衛生研究所遺伝子細胞医薬部第 5 室（核酸医薬室） 東京都世田谷区上
用賀 1-18-1 (〒158-8501)
Division of Cellular and Gene Therapy, National Institute of Health Sciences,
1-18-1, Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan

1. はじめに

アンチセンス、siRNA、アプタマーに代表される核酸医薬品は、これまで“Undruggable”とされてきた分子を標的にすることが可能であることから、抗体医薬品に続く次世代医薬品として注目を集めている^{1, 2)}。核酸医薬品は抗体医薬品と同様に高い特異性と有効性が期待される一方で、低分子医薬品と同じく化学合成により製造することができる。また、その物質的性質、機能的性質から、一つのプラットフォームが完成すれば短期間のうちに新規の核酸医薬品が誕生すると考えられており、開発期間の面からも注目される。本稿では、核酸医薬品の基本的性質と開発動向について概説する。

2. 核酸医薬品の分類

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」を指す。遺伝子治療薬も核酸で構成される医薬品であるが、作用発現に蛋白質への翻訳を介する点、生物学的に製造される点において核酸医薬品とは異なる。核酸医薬品は構造や標的、作用機序の違いから様々な種類が存在するが、細胞の内側で機能するか、外側で機能するかにより、大きく二つに分類することができる (Table 1, Fig. 1, 2)。細胞内で作用する核酸医薬品としては、mRNA (メッセンジャーRNA) を標的とする「アンチセンス」や「siRNA (small interfering RNA)」が挙げられ、また、転写因子等の蛋白質と結合して転写段階を抑制する「デコイ」がある (Fig. 1)。一方、細胞外で作用する核酸医薬品としては、抗体医薬品と同様に細胞外蛋白質と結合して機能を阻害する「アプタマー」が広く知られている (Fig. 2)。更に、Toll様受容体9 (TLR9) に作用して自然免疫を活性化させる医薬品として「CpGオリゴ (CpG oligodeoxynucleotides: CpG ODN)」が開発されている (Fig. 2)。CpGオリゴはエンドサイトーシスによって細胞に取り込まれた後、エンドソーム内でTLR9に作用するが、膜との配向性を考えると細胞質と膜を挟んで反対側 (つまり細胞の“外側”) で機能する。細胞膜を通過する必要がないという点ではアプタマーと同様であり、細胞“外”で作用すると捉えることができる (Fig. 2)。

「標的」の観点で分類すると、アンチセンス、siRNAは核酸 (RNA) が標的であり、アプタマー、デコイ核酸、CpGオリゴは蛋白質が標的である (Table 1)。前者については、標的となるRNAも核酸医薬品の種類によって異なっており、エクソンスキッピング療法に用いられるスプラシング制御型アンチセンスの標的はpre-RNA、mRNAを分解する機能を有するGapmer型アンチセンスやsiRNAの標的はmRNAである。近年、「DNA→RNA→蛋白質」のセントラルドクマに乗らない非コードRNAの存在が明らかになっており、その代表格としてマイクロRNA (miRNA) の機能が注目されているが、miRNAを標的とした核酸医薬品も開発されている (miRNAアンチセンス)。

以上に述べた作用部位、標的、構造等の観点から核酸医薬品を分類し、一覧表として取りまとめた (Table 1)。簡略化のため、各項目には例外が含まれる場合があるのでご留意願いたい。

3. 核酸医薬品の特徴

3.1 核酸医薬品の大きさ

核酸医薬品の基本骨格であるヌクレオチドの分子量は310-330程度であり、近年開発が進む修飾型核酸でもその値は大きくは変わらない。したがって、10~30塩基長の核酸医薬品を考えた場合、分子量は3,000~10,000程度となる。既に上市されたアンチセンス医薬品であるVitravene® (一般名: Fomivirsen, 21塩基長, $C_{204}H_{243}N_{63}Na_{20}O_{114}P_{20}S_{20}$) 及びKynamro® (一般名: Mipomersen, 20塩基長, $C_{230}H_{305}N_{67}Na_{19}O_{122}P_{19}S_{19}$) は分子量がそれぞれ7,122、7,595である。siRNAは一般に20数塩基の長さであるが、2本鎖であることから分子量は13,000程度となる。アプタマー医薬品は三次元的に蛋白質を認識するという特徴から塩基鎖が長い傾向にあり、また、血中滞留性を向上させるためにPEG化されるケースも多い。日本で承認されているRNAアプタマーMacugen® (一般名: Pegaptanib, 28塩基長, $C_{294}H_{342}F_{13}N_{107}Na_{28}O_{188}P_{28}[C_2H_4O]_{2n}$, $n \approx 900$) もPEG化されており、分子量は50,000程度である。以上のように、核酸医薬品はいずれの種類も数千を超える分子量を持っており、同じ化学合成によって製造される低分子医薬品 (一般に分子量1000未満) と比べ、遥かに大きい医薬品といえる。

3.2 核酸医薬品の体内分布

核酸医薬品は負電荷を持つホスホジエステル構造が連続したポリアニオン構造を有するため、疎水性の細胞膜を透過しにくいという特徴がある。この電荷的な特性と高分子量であるという特徴から、全身投与された核酸医薬品の体内分布は毛細血管の内皮細胞の構造に依存する。毛細血管は内皮細胞の構造により連続型毛細血管、有窓型毛細血管、洞様毛細血管に分類されるが、オリゴ核酸は内皮細胞が隙間なく敷きつめられた連続内皮を通過することができない。一方、内皮細胞が薄く、窓のような構造を持つとされる有窓型毛細血管や内皮細胞間に隙間のある洞様毛細血管では内皮細胞シートを通過することが可能となる。実際、このように“緩い”内皮細胞シートを持つ肝臓、腎臓、脾臓、骨髄、固形癌などにオリゴ核酸は集積しやすい。

上述の核酸医薬品の分類の中で、細胞の内側で機能する核酸医薬品に関しては、オリゴ核酸が毛細血管の内皮細胞シートを通過した後、更に、組織を構成する細胞の細胞膜を通過して細胞内に到達しなければならない。オリゴ核酸の細胞内への移行に関しては詳細な分子機構はわかっていないが、エンドサイトーシスによって取り込まれたオリゴ核酸がエンドソーム内に移行した後、エンドソーム膜を通過して細胞質に入ると考えられている。エンドソームは「初期エンドソーム→後期エンドソーム→リソソーム」と成熟していくた

め、エンドソーム膜を通過できなかつたオリゴ核酸はリソソーム内で分解される。このため、核酸医薬品が有効性を発揮するためには、エンドソームの段階で細胞質側に脱出する必要がある（エンドソームエスケープ）。上述のように、核酸医薬品は分子量数千以上のポリアニオンであることから、疎水性のエンドソーム膜を通過できるオリゴ核酸の割合は低いと考えられている。この問題を克服するため、核酸の分子内に疎水性を高める改変を加えたり、オリゴ核酸の末端に修飾を施すなど、膜との親和性を増大させる試みが行われている。

二本鎖の siRNA は一本鎖のアンチセンスに比べて分子量、負電荷とも大きくなることから、膜透過性は更に低下する。この一本鎖と二本鎖の違いは培養細胞にオリゴ核酸を添加する実験を行うとイメージしやすい。すなわち、リポフェクトアミン等の遺伝子導入試薬を使用せず、“Naked”な状態でオリゴ核酸を添加した場合、一本鎖アンチセンスでは数 100nM まで濃度を上げると細胞内に取り込まれるが、二本鎖 siRNA は高濃度にしても取り込まれない。これは *vivo* においても同様であり、一般に「一本鎖はキャリアがなくても取り込まれるが、二本鎖ではキャリアが必要」とされている。取り込み効率には、分子量、電荷、構造、物性といったオリゴ核酸側の要因のみならず、生体側のシステムにも大きく依存すると考えられる。例えば、スカベンジャー受容体を多く発現する貪食細胞はポリアニオンを認識して、オリゴ核酸を効率よく取りこむ（その後、分解される）。また、筋細胞の破壊・再生が繰り返し起こっている筋ジストロフィーの疾患においては、健常人の筋細胞よりオリゴ核酸が取りこまれやすいとされる³⁾。投与経路にも依存しており、硝子体内注射や肺への吸入など局所的に投与する場合にはキャリアを必要としない場合がある。

核酸医薬品の体内分布に関しては本誌 43 巻に優れた総説が発表されているので、詳細はこちらを参照して頂きたい⁴⁾。

4. 修飾型核酸の開発

上に述べたオリゴ核酸の体内分布は、ヌクレアーゼ耐性を獲得し、全身投与が可能となった“新しい核酸医薬品”を念頭においたものである。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）及び 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。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。更に、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）に置換したホスホロチオアート修飾（S化）がよく知られており（Fig. 3）、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。一方、S化すると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⁵⁾。現時点では、リン原子の立体化学による異性体はいずれも有効成分であるという前提で開発が進められている。また、Sオリゴは天然型と比較し、非特異的な蛋白質結合が増加することが知られている。

糖部の修飾には、2'位の修飾と架橋型修飾がある（Fig. 4）。2'位の修飾は核酸医薬品開発の初期段階から試みられており、2'-F、2'-O-Methyl（2'-OMe）、2'-O-Methoxyethyl（2'-MOE）などが知られている。既に上市された核酸医薬品（Table 2）を例にとると、Vitravene[®]はS化のみで糖部は修飾されていないが、Macugen[®]ではピリミジン塩基の核酸（シトシン、ウラシル）が2'-F化されており、プリン塩基の核酸（アデニン、グアニン）は2'-OMeが施されている。Kynamro[®]については、S化に加えて、オリゴ核酸の両端に2'-MOEが導入されている（後述）。架橋型修飾は、「揺らぎのある頭部の立体配座を架橋により固定化する」というコンセプトにより創製されたもので、近年特に注目を集めている。通常、核酸はRNA型（N型）とDNA型（S型）の両方のコンフォメーションをとることができるが、頭部2'位と4'位を化学的に架橋することにより、厳密にRNA型（N型）に固定することができる。これにより、相補鎖との結合力が顕著に向上すると共に、ヌクレアーゼに対する立体障害によりヌクレアーゼ耐性も付与される⁶⁾。架橋型核酸は日本が世界に先駆けて開発を進めており、1997年に大阪大学薬学部の今西、小比賀らによって2',4'-BNA〔2',4'-Bridged Nucleic Acid、別名LNA（Locked Nucleic Acid）〕が開発されたのが最初の報告である⁷⁾。架橋型核酸としては、他にBNA^{COC}、BNA^{NC}、ENA（2'-O,4'-C-Ethylene-bridged Nucleic Acids）、cEt BNAなどが開発されている。糖部の“修飾”ではないが、糖部分をモルフォリノ環に置換した核酸類縁体も核酸医薬品の原料として用いられている。モルフォリノオリゴ核酸はヌクレアーゼで分解されず、また毒性が低いという利点がある。

オリゴ核酸の塩基部は相補鎖との結合に特に重要であることから、相補鎖形成が前提であるRNAを標的とする核酸医薬品において塩基部が修飾されることはほとんどない。一方で、三次元的な立体構造により蛋白質を認識するアプタマーでは、立体構造の多様性獲得あるいは蛋白質との親和性増強を狙って、塩基部が修飾されるケースがある。アプタマーの配列選択に用いられる試験管内人工進化法（SELEX法）ではPCRのステップが含まれることから、アプタマー選別の際に用いられる核酸はポリメラーゼに認識される必要があり、

また、相補鎖を形成するカウンター核酸が必要である。このことから、アプタマー開発においては、修飾型核酸を認識する改変ポリメラーゼの開発が行われており、また、A、U、G、Cに続く第5、第6の核酸を生む人工塩基対の開発も試みられている⁸⁾。

5. 核酸医薬品の開発状況

これまで承認まで至った核酸医薬品はアンチセンス 2 品目 (Vitravene[®], Kynamro[®])、アプタマー1 品目 (Macugen[®]) の 3 品目である。それぞれの承認国、承認年、標的、適応、投与ルートを Table 2 にまとめた。特筆すべきは、2013 年に入り、アンチセンス医薬品 Kynamro[®]が全身投与の核酸医薬品として初めて上市された点である。Kynamro[®]は ApoB-100 の mRNA をターゲットとする家族性高コレステロール血症治療薬であり、キャリア無しで皮下投与される。上述のように、全身投与したオリゴ核酸は肝臓や腎臓等を集積する性質があるが、Kynamro[®]は肝臓に発現する ApoB-100 mRNA を分解することで有効性を発揮する。今後は、従来から開発されている局所投与型の核酸医薬品に加えて、静注/皮下注が可能な全身投与型の核酸医薬品が上市されてくると予想される。現状では、全身投与した際の標的はオリゴ核酸が集積しやすい肝臓、腎臓、癌などに限定されるため、まずはこれらの組織で核酸医薬品の有用性、優位性が示されていくと考えられる。

現在、非臨床/臨床の段階に入っている核酸医薬品の候補品数は、「シード・プランニング社 2012 年版 世界の核酸医薬品開発の現状と将来展望」⁹⁾並びに「HS 財団平成 25 年度規制動向調査報告書 核酸医薬品の開発と規制の動向」¹⁰⁾において詳しく調べられている。それによると、最も開発候補品が多いのはアンチセンスであり、非臨床/臨床を合わせて 100 近くの候補品がある。次いで、siRNA が 50 品目程度、アプタマーは 10 品目程度が非臨床/臨床の開発段階にある。miRNA 関連の核酸医薬品は、現段階で臨床段階にあるのは Miravirsin (Phase II) の 1 品目のみであるが、非臨床段階の開発品が増えており、今後大きく進展すると予想されている。デコイ核酸に関しては、Anges-MG と Adynxx の 2 社が開発を行っている (2 品目)。CpG オリゴはワクチンアジュバントとしての使用や既存薬との併用が多く、CpG オリゴが主剤になるケースは少ないとされている。開発状況の集計データはないが、Phase 2 に進んでいるものがある。

核酸医薬品開発の全体像を俯瞰すると、RNA を標的とする核酸医薬品 (アンチセンス、siRNA) の開発が特に進展しており、抗体医薬品と競合するアプタマーは伸び悩んでいる印象を受ける。対象疾患としては、核酸医薬品でしか治療できないアンメット・メディカルニーズに対する開発が中心であり、まず遺伝性疾患や難治性疾患を対象とした核酸医薬品の実用化が先行すると思われる。以降、各々の核酸医薬品について、トピックを挙げる。

5.1 アンチセンス

5.1.1 Gapmer 型アンチセンス