別紙３　　Ⅰ．総括研究報告書

厚生労働行政推進調査事業補助金（厚生労働科学特別研究事業）
総括研究報告書

抗Dヒト免疫グロブリン製剤の海外代替医薬品の有効性・品質の調査研究

研究代表者　岩澤 卓弥 東洋大学 研究助手

研究要旨：本研究では、抗Dヒト免疫グロブリン製剤の安定供給危機を踏まえ、代替医薬品開発動向、海外承認済み抗Dヒトモノクローナル抗体Trinbelimabの有効性・安全性・品質上の課題、ならびに国内での代替抗D抗体開発に必要な技術基盤について、文献および関連学会等から調査した。その結果、Trinbelimabは短期的安全性に大きな懸念は認められない一方、DVa、DVI、DFR、DBT、RoHarなど一部のRhD亜型に対する反応性が不十分である可能性、また糖鎖修飾の違いにより血漿由来抗D製剤と比較してADCC活性が低い可能性が課題として明らかとなった。さらに、AIを用いた抗体設計、Affinity Maturation、LC/MS等による品質評価技術を調査した。実験的には、CRISPR-Cas9技術によりFUT8欠損HEK293細胞をシングルクローンとして樹立し、ヒトアフコシル化リコンビナント抗体作製基盤を構築した。今後はRhD亜型反応性、力価、ADCC活性、血中安定性および品質一貫性を評価し、Trinbelimab改変体や新規抗D抗体シーズの開発につなげる必要がある。

A．研究目的

抗Dヒト免疫グロブリン製剤は、Rh血液型不適合妊娠において、次回以降の妊娠時に胎児重症貧血等の致死的な合併症を予防するために必要不可欠な薬剤であり、現時点で我が国において本製剤を完全に代替可能な医薬品は存在しない。しかし、本製剤の原料となる抗D抗体含有血漿は100%海外からの輸入に依存しており、さらに世界的な需要増加、抗D抗体保有ドナーの高齢化・減少、免疫グロブリン製剤全体の需要拡大により、今後、抗D血漿原料の安定供給が深刻な危機に直面する可能性がある。特に、日本ではRh陰性者が全人口の約0.5%と少なく、国内で十分な抗D血漿原料を確保することは事実上困難である。また、血漿分画製剤では原料血漿に由来するロット間差や品質変動を完全に避けることができないため、安定した品質と有効性を有する抗体製剤または同等性能を有する組換えタンパク質製剤等の開発・導入は、医薬品の安定供給およびレギュラトリーサイエンスの観点から重要かつ喫緊の課題である。

我々が令和6年度に実施した医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス政策研究事業「抗Dヒト免疫グロブリン製剤の代替医薬品開発動向の調査研究（24KC2008）」では、インドの製薬企業BSV社が抗Dヒトモノクローナル抗体Trinbelimabの製造開発に成功し、海外で承認を受けていることが明らかとなった。一方で、RhD抗原には遺伝子変異に伴う多数の亜型が存在し、単一のモノクローナル抗体ではすべてのRhD亜型を十分に認識できない可能性がある。また、海外承認済み製剤を我が国に導入する場合であっても、日本人集団で問題となり得るRhD亜型への反応特異性、RhD陽性赤血球除去能、Fc受容体依存的機能、国内規定の生物学的製剤基準に基づく力価試験、ならびに糖鎖修飾や凝集体等を含む品質管理試験を厳密に評価する必要がある。

以上を踏まえ、本研究では、抗Dヒト免疫グロブリン製剤の代替医薬品に関する国内外の開発動向と課題を文献、学会、企業・研究機関等から調査し、特に海外承認済み抗Dヒトモノクローナル抗体Trinbelimabの有効性、安全性、RhD亜型反応性、Fc機能および品質特性について非臨床的観点から検討し、我が国への導入可能性と必要な評価項目を整理することを目的とする。さらに、Trinbelimabを基盤とした改変抗体の開発可能性、Trinbelimabでは反応性が不十分なRhD亜型を補完し得る新規抗D抗体シーズの樹立方法、ならびにAIを用いた抗体設計、Affinity Maturation、Fc改変、糖鎖制御等の高機能性抗体エンジニアリング技術について調査・検討する。これらにより、既存の抗Dヒト免疫グロブリン製剤に代わって臨床使用が可能な代替抗D抗体医薬品を開発するための技術的課題と評価系を明確化し、我が国における研究開発支援および導入に向けた方策を提言することが目的である。

B．調査・研究方法

本研究では、抗Dヒト免疫グロブリン製剤の代替医薬品開発動向、海外承認済み代替候補であるTrinbelimabの有効性・安全性・品質上の課題、ならびに国内で臨床使用可能な代替抗D抗体シーズを樹立するための技術基盤について、文献調査、関連学会における情報収集、および実験的検討を行った。

研究代表者および分担研究者は、関連する学会として、第98回日本生化学会大会（2025年11月3日～5日、京都）、第4回日本抗体学会学術大会（2025年12月1日～3日、埼玉）、第54回日本免疫学会学術集

会（2025年12月10日～12日、兵庫）に参加し、抗体医薬品開発、抗体エンジニアリング、AIを用いた抗体設計、Affinity Maturation、Fc機能制御、糖鎖制御、抗体品質評価技術等に関する国内外の最新動向について調査した。特に、機能性の高い抗D抗体を新規に樹立するための抗体シーズ作製技術、RhD亜型に対する広範な反応性を有する抗体の設計方法、ならびに既存抗体の高機能化に資する技術について情報収集を行った。

また、国内外の文献、公開データベース、企業公開情報、学会発表資料等を用いて、抗Dヒト免疫グロブリン製剤の代替医薬品開発動向を調査した。調査対象には、海外で承認・使用されているTrinbelimabおよびRhoclone、過去に臨床開発が進められたRoledumab、組換えポリクローナル抗体であるRozrolimupab/SYM001、ならびに近年報告されているFc改変抗RhDモノクローナル抗体等を含めた。これらについて、開発段階、作用機序、RhD亜型への反応性、Fc受容体依存的機能、ADCC活性、糖鎖修飾、安全性、品質管理上の課題を整理し、我が国での導入可能性および追加評価が必要な項目を検討した。

Trinbelimabについては、前向き多施設共同第Ⅳ相試験に関する文献情報を収集し、安全性評価、有害事象の種類、重篤な有害事象の有無、投与中止例の有無等を整理した。また、非臨床評価に関する情報を収集し、RhD亜型への反応性、既存の血漿由来抗Dヒト免疫グロブリン製剤との機能差、ならびに糖鎖修飾の違いによるADCC活性低下の可能性について検討した。

さらに、代替抗D抗体医薬品の品質評価に必要な技術として、LC/MSを用いたMulti-attribute method、糖鎖解析、ペプチドマッピング、ラマン分光法による凝集体発生予測、非標識NMRによる構造評価、クライオ電子顕微鏡による抗体医薬品評価、Fc受容体結合評価、FcRn結合評価等について情報収集を行い、今後の非臨床評価系および品質管理試験への応用可能性を検討した。

実験的検討としては、Trinbelimabおよび既存の抗D抗体シーズ候補においてADCC活性の不足が課題となる可能性を踏まえ、アフコシル化抗体作製基盤の構築を行った。具体的には、ヒト由来HEK293細胞を用い、CRISPR-Cas9技術により糖鎖合成酵素FUT8を欠損させた細胞を作製した。遺伝子編集後、シングルクローン化を行い、未編集細胞の混入がないFUT8 KO HEK293細胞を樹立した。本細胞株を、抗体Fc領域のコアフコース付加を選択的に抑制したヒトアフコシル化リコンビナント抗体作製プラットフォームとして位置づけ、今後のTrinbelimab改変体および新規抗D抗体シーズの機能評価に用いる基盤とした。

以上の調査および実験的検討により、海外代替医薬品候補の導入に必要な非臨床評価項目を整理するとともに、我が国で抗Dヒト免疫グロブリン製剤に代替し得る抗体医薬品を開発するための技術的課題、評価系、ならびに研究開発支援の方策について検討した。

C．研究結果

【調査結果】

本研究では、国内外の抗Dヒト免疫グロブリン製剤の代替医薬品開発動向、海外承認済み抗Dヒトモノクローナル抗体Trinbelimabの有効性・安全性・品質上の課題、ならびに新規代替抗D抗体シーズの作製に必要な技術基盤について調査を行った。

研究代表者および分担研究者は、第98回日本生化学会大会、第4回日本抗体学会学術大会、第54回日本免疫学会学術集会に参加し、抗体医薬品開発、AIを用いた抗体設計、Affinity Maturation、Fc改変、糖鎖制御、抗体品質評価技術等に関する最新情報を収集した。その結果、抗Dヒト免疫グロブリン製剤の代替医薬品を開発するためには、単にRhD抗原に結合する抗体を得るだけでなく、RhD亜型に対する広範な反応性、RhD陽性赤血球除去に関わるFc受容体依存的機能、ADCC活性、血中安定性、糖鎖修飾を含む品質一貫性を総合的に評価する必要があることが確認された。

国内外の文献および公開情報を調査した結果、インドBSV社が開発した抗Dヒトモノクローナル抗体Trinbelimabは、抗Dヒト免疫グロブリン製剤の代替候補として海外で承認・使用されていることが確認された。一方で、Trinbelimabを含む単一モノクローナル抗体では、RhD抗原の多様な亜型をすべて十分に認識できない可能性が課題として明らかとなった。特に、オランダの研究グループであるImmunoglobulin Research LaboratoryによるRhocloneおよびTrinbelimabの非臨床評価データから、TrinbelimabではDVa、DVI、DFR、DBT、RoHarなど一部のRhD亜型に対する反応性が不十分である可能性が示された。このことから、Trinbelimabを我が国へ導入する場合には、日本人集団で問題となり得るRhD亜型を含めた反応特異性評価が不可欠であると考えられた。

Trinbelimabの安全性については、インド中央医薬品基準管理機構（CDSCO）の要請により実施された前向き多施設共同第Ⅳ相試験、市販後安全性評価に関する情報を収集した。本試験はインド国内29施設で実施され、Rh陰性女性に対するTrinbelimab投与後の有害事象が評価された。その結果、治験責任医師によりTrinbelimabに関連すると判断された治療関連有害事象として、注射部位紅斑、注射部位疼痛、注射部位腫脹等が認められたものの、重篤な有害事象、死亡例、または有害事象による試験中止例は認められなかった。また、すべての有害事象は試験期間中に回復しており、短期的な安全性について大きな懸念は確認されなかった。一方で、当該試験は主として安全性評価を目的としており、RhD陽性赤血球除去能、RhD亜型反応性、Fc受容体依存的機能、国内の生物学的製剤基準に基づく力価評価については、追加の非臨床評価が必要であると考えられた。

品質および機能面では、Trinbelimabを含む既存の抗Dモノクローナル抗体候補において、血漿由来抗Dヒト免疫グロブリン製剤中のポリクローナル抗体と比較して、糖鎖修飾の違いによりADCC活性が低い可能性が明らかとなった。特に、抗体Fc領域のコアフコース修飾はFcγRIIIa結合性およびADCC活性に大きく影響することから、抗D代替抗体医薬品の開発では、可変領域によるRhD結合性に加え、Fc糖鎖制御によるエフェクター機能の最適化が重要であると考えられた。

また、Trinbelimab以外の代替候補として、Roledumab、Rhoclone、Rozrolimupab/SYM001、Fc改変抗RhDモノクローナル抗体等について調査した。Roledumabは低フコース化抗RhDモノクローナル抗体として臨床段階まで進んだ重要な候補であるが、近年の開発継続を示す公開情報は限定的であった。Rozrolimupab/SYM001は複数の抗RhDモノクローナル抗体を組み合わせた組換えポリクローナル抗体として、RhD亜型カバーの観点から重要な先行例であるが、現時点でHDFN予防薬として開発が継続していることを示す情報は乏しかった。以上より、Trinbelimab以外に直ちに国内導入可能な代替医薬品は確認されず、我が国においてはTrinbelimabの評価と並行して、国内で独自に高機能抗D抗体シーズを樹立する研究開発支援が必要であると考えられた。

さらに、AIを用いた抗体設計、AlphaFold等による抗原抗体複合体予測、分子動力学シミュレーション、Affinity Maturation、抗体分子マイニング等の最新技術について情報収集を行った。これらの技術は、RhD亜型に対して広範な反応性を示す抗体の設計や、既存抗体の親和性・特異性・物性改善に有用であると考えられた。また、品質管理技術として、LC/MSを用いたMulti-attribute method、糖鎖解析、ペプチドマッピング、ラマン分光法による凝集体発生予測、非標識NMRによる構造評価、クライオ電子顕微鏡による抗体評価等について調査し、代替抗D抗体医薬品の非臨床評価および品質管理に応用可能であることを確認した。

【実験結果】

調査結果から、Trinbelimabおよびこれまで開発されてきた抗Dモノクローナル抗体候補では、糖鎖修飾の違いにより、血漿由来抗Dヒト免疫グロブリン製剤と比較してADCC活性が低い可能性が課題として明らかとなった。この課題を踏まえ、本研究では、抗D抗体のFc機能を高めるための基盤技術として、ヒトアフコシル化リコンビナント抗体作製プラットフォームの構築を行った。

具体的には、ヒト由来HEK293細胞に対してCRISPR-Cas9技術を用い、抗体Fc糖鎖のコアフコース付加に関与する糖鎖合成酵素FUT8を欠損させた。遺伝子編集後、シングルクローン化を行い、未編集細胞の混入がないFUT8 KO HEK293細胞を樹立した。本細胞株は、抗体Fc領域のN型糖鎖におけるコアフコース付加を選択的に抑制できることが期待されるため、FcγRIIIa結合性およびADCC活性の向上を目的としたヒトアフコシル化リコンビナント抗体作製基盤として位置づけられる。

本FUT8 KO HEK293細胞を用いることにより、抗体可変領域を変更することなく、Fc糖鎖修飾のみを制御した抗D抗体を作製・評価することが可能になると考えられた。これにより、Trinbelimabや既存抗D抗体シーズを基盤としたFc機能改変体の作製、ならびに新規抗D抗体候補のADCC活性向上に向けた評価が可能となる。また、YB2/0細胞など非ヒト由来細胞で作製される低フコース化抗体と比較して、FUT8 KO HEK293細胞ではヒト由来細胞の糖鎖合成機構を背景にアフコシル化抗体を作製できるため、非ヒト型糖鎖に起因する免疫原性リスクを低減し得る点でも有用であると考えられた。

以上より、本研究では、代替抗D抗体医薬品の機能向上に資する基盤技術として、シングルクローン由来のFUT8 KO HEK293細胞を樹立し、ヒトアフコシル化リコンビナント抗体作製プラットフォームを構築することに成功した。今後、本プラットフォームを用いて、Trinbelimab改変体や新規抗D抗体シ

ーズを作製し、RhD陽性赤血球への結合性、RhD亜型反応性、FcγRIIIa結合性、ADCC活性、血中安定性、糖鎖修飾および品質一貫性を評価することで、既存の抗Dヒト免疫グロブリン製剤に代替し得る抗体医薬品の開発に展開できると考えられた。

D．考察

本研究により、抗Dヒト免疫グロブリン製剤の代替医薬品開発においては、単に抗D抗体を組換え抗体として作製するだけでは不十分であり、RhD亜型に対する反応性、Fc受容体依存的機能、糖鎖修飾、血中安定性、品質一貫性を総合的に評価する必要があることが明らかとなった。

海外承認済みのTrinbelimabは、血漿由来抗Dヒト免疫グロブリン製剤に代わる抗Dヒトモノクローナル抗体として重要な候補である。市販後安全性評価では、重篤な有害事象や死亡例は確認されず、短期的安全性については大きな懸念は示されていない。しかし、同試験は主として安全性評価を目的としており、RhD陽性赤血球除去能やRhD亜型反応性を十分に検証したものではない。したがって、Trinbelimabを我が国に導入する場合には、国内の生物学的製剤基準に基づく力価試験に加え、日本人集団において問題となり得るRhD亜型を含めた反応性評価、Fc受容体結合性、ADCC活性、血中安定性、糖鎖修飾、凝集体、電荷バリアント等を含む包括的な品質評価が必要である。

特に重要な課題は、RhD抗原に多数の亜型が存在する点である。血漿由来抗Dヒト免疫グロブリン製剤はポリクローナル抗体であり、複数のエピトープを認識することで多様なRhD抗原に対応していると考えられる。一方、Trinbelimabのような単一モノクローナル抗体では、認識エピトープが限定されるため、特定のpartial Dに対する反応性が低下する可能性がある。本研究で収集した情報からも、TrinbelimabではDVa、DVI、DFR、DBT、RoHarなどへの反応性が不十分である可能性が示されており、単一抗体による完全代替には限界がある可能性が示唆された。したがって、今後の代替医薬品開発では、Trinbelimab単独の導入可能性を検討するだけでなく、Trinbelimabの改変体、Trinbelimabを補完する新規抗D抗体、または複数抗体の組み合わせによる組換えポリクローナル様製剤の開発も視野に入れる必要がある。

また、抗D抗体の機能には、抗原結合性だけでなくFc領域の機能が重要である。特に、RhD陽性赤血球の除去においては、Fcγ受容体を介したエフェクター機能が関与すると考えられ、FcγRIIIa結合性およびADCC活性は代替抗D抗体の重要な品質・機能指標となる。本研究では、Trinbelimabおよび既存抗Dモノクローナル抗体候補において、糖鎖修飾の違いにより血漿由来抗D製剤と比較してADCC活性が低い可能性が課題として示された。抗体Fc領域のコアフコースはFcγRIIIa結合性を抑制する主要因であるため、アフコシル化抗体の作製はADCC活性の向上に有効な戦略である。

この観点から、本研究で樹立したFUT8 KO HEK293細胞は、代替抗D抗体開発において重要な基盤技術となる。FUT8 KO HEK293細胞を用いることで、抗体可変領域を変更することなくFc糖鎖のみを制御し、抗原結合性とFc機能を分離して評価することが可能となる。さらに、本細胞株はシングルクローン由来で未編集細胞の混入がないため、コアフコース付加を再現性高く抑制したアフコシル化抗体の作製が期待される。YB2/0細胞など非ヒト由来細胞を用いた低フコース化抗体作製法と比較して、ヒト由来細胞を背景とするFUT8 KO HEK293細胞では、非ヒト型糖鎖に起因する免疫原性リスクを低減できる可能性がある。一方で、HEK293細胞由来抗体であっても、高マンノース糖鎖、ガラクトース化、シアル化、凝集体、電荷バリアント、酸化・脱アミド化等の翻訳後修飾や品質特性は培養条件やクローン特性に依存するため、LC/MS等を用いた詳細な品質評価が不可欠である。

さらに、AIを用いた抗体設計やAffinity Maturationは、RhD亜型に対するカバー率を高める上で有用な技術となる可能性がある。RhD抗原は膜タンパクであり、立体構造や細胞外ループの変化が抗体反応性に影響するため、AlphaFold等による構造予測、分子動力学シミュレーション、RhD亜型発現細胞パネルを用いたフローサイトメトリー評価を組み合わせることで、より合理的な抗体設計が可能になると考えられる。今後は、RhD WTおよび代表的なpartial Dを発現する細胞パネルを構築し、抗D抗体候補の反応性を比較する評価系を整備することが重要である。

以上より、抗Dヒト免疫グロブリン製剤の代替医薬品開発では、海外承認済み製剤の単純な導入だけでなく、我が国で必要とされる非臨床評価系の整備、RhD亜型反応性の確認、Fc機能の最適化、品質評価技術の導入、新規抗体シーズの探索が必要である。本研究で得られた調査結果およびFUT8 KO HEK293細胞を用いた抗体作製基盤は、国産代替抗D抗体医薬品の開発に向けた重要な足掛かりとなる。

E．結論

本研究では、抗Dヒト免疫グロブリン製剤の代替医薬品開発動向および海外代替医薬品の有効性・品質に関する調査を行い、海外承認済み抗Dヒトモノクローナル抗体Trinbelimabの導入可能性と課題を検討した。その結果、Trinbelimabは短期的安全性について大きな懸念は認められない一方、DVa、DVI、DFR、DBT、RoHarなど一部のRhD亜型への反応性が不十分である可能性があり、我が国への導入にはRhD亜型反応性、RhD陽性赤血球除去能、Fc受容体依存的機能、ADCC活性、力価、糖鎖修飾、血中安定性および品質一貫性に関する厳密な非臨床評価が必要であることが明らかとなった。

また、Trinbelimab以外に直ちに国内導入可能な代替医薬品候補は確認されず、既存製剤の導入評価と並行して、国内で独自に高機能な抗D抗体シーズを樹立する必要性が示された。特に、単一モノクローナル抗体では多様なRhD亜型を完全にカバーできない可能性があるため、Trinbelimabの改変体、新規抗D抗体、または複数抗体の組み合わせによる組換えポリクローナル様製剤の開発が重要であると考えられた。

実験的検討では、CRISPR-Cas9技術によりシングルクローン由来のFUT8 KO HEK293細胞を樹立し、未編

集細胞の混入がないヒトアフコシル化リコンビナント抗体作製プラットフォームを構築した。本細胞株は、抗体Fc領域のコアフコース付加を抑制し、FcγRIIIa結合性およびADCC活性の向上が期待される抗D抗体を作製するための有用な基盤である。今後、本プラットフォームを用いてTrinbelimab改変体や新規抗D抗体シーズを作製し、RhD亜型反応性、ADCC活性、血中安定性、糖鎖修飾および品質特性を評価することで、既存の抗Dヒト免疫グロブリン製剤に代替し得る国産抗D抗体医薬品開発へ展開できる可能性が示された。

F．健康危険情報
該当なし

G．研究発表
1.　論文発表、2.　学会発表
該当なし

H．知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）
該当なし