

日本医療研究開発機構
次世代治療・診断実現のための創薬基盤技術開発事業
(国際競争力のある次世代抗体医薬品製造技術開発)
事後成果報告書

I 基本情報

研究開発課題名: (日本語) 次世代抗体医薬品の開発を加速する RI 標識に関する基盤技術開発と RI 標識抗体
医薬の実用化研究

(英語) Practical study of a new antibody-radionuclide conjugate and development of
RI-labeling technology for accelerating R&D of next-generation antibody drugs

研究開発実施期間: 令和 3 年 7 月 1 日～令和 8 年 3 月 31 日

研究開発代表者 氏名: (日本語) 辻 祥太郎
(英語) Shoutaro Tsuji, Ph.D.

研究開発代表者 所属機関・部署・役職:
(日本語) 学校法人昌賢学園 群馬医療福祉大学・医療技術学部 医療技術学科・教授
(英語) Gunma University of Health and Welfare・Department of Medical Technology
& Clinical Engineering・Professor of Molecular Pathology

II 研究開発の概要

バイオ医薬品製造技術の国産化は、医薬品の安定供給や将来の日本の医療を支える上で、早急に整備すべき課題の一つと言える。α線源の RI 標識抗体医薬は、他の抗体医薬と比べて少量の投与量で十分な薬効が期待でき、安全性評価から治療薬製造までを国内の小規模な生産設備のみで一気通貫に実施することができる。そのため、開発の迅速化と製造の国産化を達成しやすいモダリティの一つと考えられる。本課題では、我々が開発した中皮腫に対して類を見ない高い特異性を示すモノクローナル抗体 SKM9-2 を用いて、純国産技術によるバイオ医薬品 (RI 標識抗体医薬) の製造プロセスを確立することを目標に研究開発を進めた。

研究開発項目 1 の RI 標識抗体医薬の実用化検討について、抗体薬製造では国産 CHO-MK 細胞を用いてヒト化 SKM9-2 を高生産するマスターセルバンクを作製し、次世代バイオ医薬品製造技術研究組合で開発された槽振とう型培養装置を用いて、商業スケール (200L)、非臨床試験グレード (non-GMP グレード) での抗体原薬生産に成功した。さらに、改良小型化された槽振とう型培養装置を用いて、治験薬 GMP グレードの RI 標識用リンカー付き抗体の一気通貫での生産にも成功した。GMP 製造に際し、PMDA より共用設備における交叉汚染リスク評価を行う必要があると指摘されたため、RI 標識用リンカーの変異原性評価試験を行い、PDE を算出した。また、ICH Q5A ガイドラインに従い、製造工程中の未精製バルクに対するウイルス否定試験を実施した。

製造品はすべての品質試験項目について出荷規格値を満たし、 -20°C 以下の保存条件下で製造後 11 か月目（研究開発期間の最終時点）まで安定であった。また、公募研究開発課題 2 との連携により詳細な抗体の品質分析を行い、RI 標識用リンカーの付加位置やリンカー付加による翻訳後修飾に関する評価も実施し、製造に関するすべての確認項目をクリアした。

RI 標識のリンカーには、新たに開発された細胞内滞留性を亢進させる新規キレートリンカーを採用し、スケールアップ製造検討の実施および品質試験法の検討を行って、臨床試験スケールでの製造プロセスを確立した。このリンカーと non-GMP および GMP 製造の RI 標識用リンカー付き抗体を用いて、RI 標識ヒト化 SKM9-2 の試製造を行い、RI 標識の GMP 製造品（治験薬用）が問題なく製造できることを確認した。

非臨床試験に係る項目のうち、RI 標識用リンカー付き抗体を用いた 28 日間反復静脈内投与毒性試験（ラット）、GLP ヒト組織交差反応性試験、FcR/C1q、ADCC/CDC 活性評価などの項目を完了した。また、RI 標識体の毒性評価予備検討として、 ^{225}Ac 標識ヒト化 SKM9-2 を投与した中皮腫モデルマウスの組織を用いた病理評価を行った。移植腫瘍塊の中皮腫細胞はほとんど死滅している一方で、正常臓器に重篤な変化は認められず、 ^{225}Ac 標識ヒト化 SKM9-2 が正常組織に及ぼす毒性は低いと考えられた。さらに、安全性に関する重要な参考資料として、 ^{89}Zr 標識ヒト化 SKM9-2 を用いた非ヒト霊長類（マーモセット）における PET イメージングによる体内動態解析を実施した。ヒト化 SKM9-2 は対照となる承認済み抗体よりも正常組織への集積性がさらに低く、体内動態に優れることが明らかとなった。現在までに安全性に関わる問題は生じておらず、抗体および SKM9-2 標的抗原（シアル化 HEG1）に問題は認められていない。

薬効薬理に関しては、課題内で開発された新規キレートリンカーの採用により RI の集積率が向上し、PET イメージングにより生体内診断薬（ ^{89}Zr 標識）の *in vivo* POC の取得に成功した。さらに、治療薬（ ^{225}Ac 標識）の *in vivo* POC（抗腫瘍効果）の取得にも成功し、薬効薬理に関する非臨床予備試験を完了した。

以上の成果から、RI 標識ヒト化 SKM9-2 は有望な RI 標識抗体医薬シーズであり、臨床試験に進むにあたって懸念される問題点がないことが確認された。

研究開発項目 2 の RI 標識抗体医薬の基盤技術構築について、RI 標識抗体医薬の基盤技術構築では、RI の細胞内滞留性を亢進させる新規キレートリンカーの開発に成功し、特許出願を行った。さらに、医薬品応用型に改良した新規キレートリンカーの設計と、その大量製造が可能な合成プロセスの開発にも成功し、ヒト化 SKM9-2 の RI 標識リンカーとして採用した。金属 RI とキレート剤との錯形成反応を行った後に抗体とのコンジュゲート反応を行うプレラベリング法をフローケミストリーに応用し、効率的に RI 標識抗体を連続製造する基盤技術を開発するとともに、新規キレートリンカーを導入した RI 標識抗体の合成への応用にも成功した。

二重特異性（バイパラトピック）抗体の開発を行い、がん集積性の評価と新規製造技術を確立して特許出願を行った。また、SKM9-2 を用いたバイパラトピック抗体を作製し、抗体の内在化効率を向上させることにも成功した。

抗体シーズ開発の迅速化に寄与する新規バイシストロン発現系の開発と改良を行い、特許出願を行った。本技術により、抗体生産細胞の樹立の効率化に寄与するだけでなく、二重特異性抗体の開発で重要な抗体 Fab を、小容量で迅速かつ容易に多数製造することが可能となった。

また、RI 標識抗体医薬の新規シーズとなる高い親和性を有する新規モノクローナル抗体を作製し、シーズ候補となる複数のクローンを取得した。

以上の成果の実用化により、「治療法のない中皮腫に対する特効薬」が創出され、中皮腫の予後の改善が期待される。さらに、各種疾患に対する新しい抗体シーズ候補の開発を進め、本課題で創出された RI 標識のアプローチを適用することで、新たな RI 標識抗体医薬の創製が期待される。

The domestic establishment of biopharmaceutical manufacturing technologies is an urgent priority to ensure a stable supply of pharmaceuticals and to support future healthcare in Japan. Radiolabeled antibody therapeutics using alpha-emitting radionuclides can achieve high efficacy at low doses and can be manufactured in an integrated manner—from safety evaluation to therapeutic production—using small-scale domestic facilities. Therefore, this modality is well suited for rapid development and domestic production. In this project, we aimed to establish a manufacturing process for radiolabeled antibody therapeutics using SKM9-2, a monoclonal antibody with exceptionally high specificity against mesothelioma.

In R&D Item 1, we established a master cell bank of humanized SKM9-2 using domestic CHO-MK cells and achieved antibody production at a commercial scale (200 L) under non-GMP conditions using a new bioreactor. We also succeeded in GMP-grade production of linker-conjugated antibodies for investigational use. In response to PMDA requirements, we conducted mutagenicity assessment of the linker and calculated PDE, and performed viral safety testing in accordance with ICH Q5A. All products met release specifications and remained stable for up to 11 months at -20°C . Detailed analyses confirmed linker conjugation sites and post-translational modifications, and all manufacturing criteria were satisfied.

A newly developed chelating linker that enhances intracellular retention was applied and established a clinical-scale manufacturing process. Trial production confirmed that GMP-grade radiolabeled SKM9-2 can be manufactured without issues. Nonclinical studies with non-RI antibody, including toxicity, human tissue cross-reactivity, and Fc-related functional assays, were completed. In mesothelioma model mice, ^{225}Ac -labeled SKM9-2 showed strong antitumor effects with no severe toxicity in normal organs. In non-human primates, ^{89}Zr -labeled SKM9-2 demonstrated lower normal tissue accumulation and favorable pharmacokinetics compared to approved antibodies, with no safety concerns identified to date.

Pharmacological studies demonstrated improved radionuclide accumulation with the new linker, achieving in vivo proof-of-concept (POC) for both diagnostic (^{89}Zr) and therapeutic (^{225}Ac) applications. These results indicate that radiolabeled humanized SKM9-2 is a promising candidate with no apparent barriers to clinical development.

In R&D Item 2, we developed and patented a novel chelating linker and its scalable synthesis process and established a continuous manufacturing platform using flow chemistry and a pre-labeling strategy. We also developed bispecific (biparatopic) antibodies with improved tumor targeting and internalization, and a bicistronic expression system enabling efficient cell line generation and rapid Fab production. In addition, multiple high-affinity monoclonal antibody candidates were generated as new seeds.

These achievements are expected to lead to the development of a breakthrough therapy for mesothelioma and to facilitate the creation of new radiolabeled antibody therapeutics based on the platform established in this project.