

審議結果報告書

平成 18 年 12 月 7 日
医薬食品局審査管理課

[販 売 名] アクトヒブ

[一 般 名] 乾燥ヘモフィルス b 型ワクチン (破傷風トキソイド結合体)

[申 請 者] アベンティスパスツール第一ワクチン株式会社
(現サノフィパスツール第一ワクチン株式会社)

[申請年月日] 平成 15 年 3 月 20 日

[審 議 結 果]

平成 18 年 11 月 29 日に開催された医薬品第二部会において、本品目を承認して差し支えないとされ、薬事・食品衛生審議会薬事分科会において審議することとされた。なお、本品目は生物由来製品に該当し、再審査期間は 6 年とし、原体及び製剤ともに劇薬に該当するとされた。

審査報告書

平成 18 年 11 月 17 日

独立行政法人 医薬品医療機器総合機構

承認申請のあった下記の医薬品にかかる医薬品医療機器総合機構での審査結果は、以下の通りである。

記

- [販 売 名] アクトヒブ
- [一 般 名] 乾燥ヘモフィルス b 型ワクチン (破傷風トキソイド結合体)
- [申 請 者] アベンティスパスツール第一ワクチン株式会社 (現サノフィパスツール第一ワクチン株式会社)
- [申請年月日] 平成 15 年 3 月 20 日
- [申請区分] 1- (1) 新有効成分含有医薬品
- [剤型・含量] 有効成分である破傷風トキソイド結合インフルエンザ菌 b 型多糖について、多糖の量として 10 μ g を含有する凍結乾燥製剤であり、添付溶剤として、0.4% 塩化ナトリウム液 0.5mL が添付されている。
- [特記事項] 生物学的製剤基準 (案)「乾燥ヘモフィルス b 型ワクチン (破傷風トキソイド結合体)」が提出されている。
- [審査担当部] 生物系審査部

審査結果

平成 18 年 11 月 17 日

- [販 売 名] アクトヒブ
- [一 般 名] 乾燥ヘモフィルス b 型ワクチン (破傷風トキソイド結合体)
- [申 請 者] アベンティスパスツール第一ワクチン株式会社 (現サノフィパスツール
第一ワクチン株式会社)
- [申請年月日] 平成 15 年 3 月 20 日 (輸入承認申請)
- [審 査 結 果]

提出された資料から本剤のインフルエンザ菌 b 型による感染症の予防に対する有効性及び安全性が示されたと判断する。

有効性については、国内臨床試験の成績から本剤接種によりインフルエンザ菌 b 型による感染症の予防に必要な抗体価が得られることが示されたと判断する。また、安全性については承認を不可とする特段の問題は認められていない。BSE 発生国原産のウシに由来する原料を製造工程で使用しているが、本剤による TSE 伝播のリスクは完全に否定できないものの極めて低く、本剤のベネフィットはリスクを上回ると考える。ただし、本剤の使用にあたっては十分な情報提供がなされる必要があると考える。

以上、医薬品医療機器総合機構における審査の結果、本品目については、以下の効能・効果、用法・用量で承認して差し支えないと判断した。

- [効能・効果] インフルエンザ菌 b 型による感染症の予防
- [用法・用量] 本剤を添付溶剤 0.5mL で溶解し、その全量を 1 回分とする。
- 初回免疫：通常、3 回、いずれも 4～8 週間の間隔で皮下に注射する。
ただし、医師が必要と認めた場合には 3 週間の間隔で接種することができる。
- 追加免疫：通常、初回免疫後おおむね 1 年の間隔をおいて、1 回皮下に注射する。

審査報告 (1)

平成 18 年 10 月 18 日

I. 申請品目

[販売名]	アクトヒブ
[一般名]	乾燥ヘモフィルス b 型ワクチン (破傷風トキソイド結合体)
[申請者]	アベンティスパスツール第一ワクチン株式会社 (現サノフィパスツール第一ワクチン株式会社)
[申請年月日]	平成 15 年 3 月 20 日 (輸入承認申請)
[剤型・含量]	有効成分である破傷風トキソイド結合インフルエンザ菌 b 型多糖について、多糖の量として 10 μ g を含有する凍結乾燥製剤であり、添付溶剤として、0.4%塩化ナトリウム液 0.5mL が添付されている。
[申請時効能・効果]	インフルエンザ菌 b 型による感染症の予防
[申請時用法・用量]	<ul style="list-style-type: none">・ 2 ヶ月齢以上 7 ヶ月齢未満 (標準) 初回免疫：通常、1 回 0.5mL ずつを 3 回、いずれも 4~8 週間の間隔で皮下に注射する。 追加免疫：通常、初回免疫後おおむね 1 年の間隔をおいて、0.5mL を 1 回皮下に注射する。・ 7 ヶ月齢以上 12 ヶ月齢未満 (接種もれ者) 初回免疫：通常、1 回 0.5mL ずつを 2 回、4 週間の間隔で皮下に注射する。 追加免疫：通常、18 ヶ月齢に、0.5mL を 1 回皮下に注射する。・ 1 歳以上 5 歳未満 (接種もれ者) 通常、0.5mL を 1 回皮下に注射する。
[特記事項]	生物学的製剤基準 (案)「乾燥ヘモフィルス b 型ワクチン (破傷風トキソイド結合体)」が提出されている。

II. 提出された資料の概略及び医薬品医療機器総合機構における審査の概略

本品目にかかる審査は医薬品医療機器審査センター (以下、審査センター) において開始されたが、平成 16 年 4 月 1 日に医薬品医療機器総合機構 (以下、機構) が設立され、その審査が移行されたことから、本審査報告 (1) においては、審査センターにおける照会・判断等についても機構の名称に統一し、記載している。

1. 起源又は発見の経緯及び外国における使用状況等に関する資料

インフルエンザ菌は、ヒトの上気道に常在するグラム陰性通性嫌気性桿菌であり、莢膜の有無により無莢膜株と莢膜株に分けられ、莢膜株はさらに莢膜多糖体の血清型により a~f の 6 種類に分類される。莢膜を有するインフルエンザ菌はマクロファージ等の食細胞に抵抗性を示し、主に小児 (特に 5 歳未満の乳幼児) において髄膜炎、咽頭蓋炎、肺炎、敗血症等の組織侵入性 (侵襲性) 感染症

を引き起こす。それらの侵襲性感染症を起こすインフルエンザ菌の血清型は、ほとんどが b 型 (*Haemophilus influenzae* type b : Hib) である。これらの侵襲性 Hib 感染症のうち、約半数を占める髄膜炎は抗菌化学療法によっても予後不良となる場合が多いとされ、神谷らが組織した「インフルエンザ菌性髄膜炎疫学調査研究会」において、1996～1998 年に前向きな大規模調査が行われ (*Pediatr. Infect. Dis. J.*, 1998; 17:183-185、日児誌 1998; 102: 656-665)、国内の 5 歳未満小児人口 10 万人あたりの罹患率は 8.6～8.9 人であり、致死率は約 5%、てんかん、聴力障害等の後遺症が約 23%であった。

小児における Hib 髄膜炎の治療には、その抗菌スペクトル及び髄液への移行性からセフトキシム又はセフトリアキソンが第一選択薬 (*Nelson Textbook of Pediatrics*. 17th ed. 2004; Elsevier Science, Philadelphia, PA., 904-908) とされており、本邦では、これにアンピシリンを加えた併用療法が標準的に行われ、一定の効果を示していた。しかし、近年、Hib のアンピシリンに対する耐性化が急速に進展し、セフェム系抗菌薬に対する感受性の低下も認められている (病原微生物検出情報月報 2002; 23: 36-37、感染症誌 2004; 78: 835-845、感染症誌 2004; 78: 943-951)。このため、現在ではアンピシリンに代わり 2004 年に化膿性髄膜炎に対する効能が追加されたメロペネムの使用が増加しており (感染症誌 2006; 80: 27-38)、日本感染症学会及び日本化学療法学会が監修した「抗菌薬使用のガイドライン 2005」においても、Hib 髄膜炎の治療には、セフトリアキソン、セフトキシム、メロペネムが選択されているが、今後、Hib のセフェム系抗菌薬に対する耐性化が進展すると、Hib 髄膜炎はさらに難治化することが予想される。

Hib 感染症に対するワクチンとしては、Hib 培養上清から抽出精製された莢膜多糖体であるポリリボシルリビトールリン酸 (PRP) を精製したワクチンが 1985 年に初めて米国で認可されたが、18 ヶ月齢未満の乳児には感染予防効果が認められず (*N. Engl. J. Med.*, 1984; 310: 1561-1566)、2 歳未満の乳幼児における罹患が多い Hib 感染症のワクチンとして十分ではなかった。これは、PRP 等の 2 型 T 細胞非依存性抗原は、出生時から免疫応答が惹起される T 細胞依存性抗原と異なり 2 歳未満の乳幼児では免疫応答が不十分であることが原因と考えられた (*Vaccines*, 4th ed., 2004; Elsevier Inc., Philadelphia, PA., 229-268)。そこで、T 細胞依存抗原をキャリアーとして結合した結合体ワクチンの開発が 1980 年代後半から 1990 年代前半にかけて進められ、欧米においては、本剤を含め 4 種類の Hib 結合体ワクチン (PRP-D : ジフテリアトキソイド結合体、HbOC : ジフテリア毒素変異たん白質結合体、PRP-OMP : 髄膜炎菌 outer membrane protein complex 結合体、PRP-T : 破傷風トキソイド結合体) が開発・臨床使用された。これらの Hib 結合体ワクチンの普及に伴い Hib 感染症罹患率は大きく減少し、1998 年に WHO は Hib 結合体ワクチンの乳児への定期接種を勧告した。現在では、90 ヶ国以上で定期接種プログラムに組み込まれており、それらの国々では Hib による重症感染症はほとんど制圧されている。なお、2001 年の時点では、世界の Hib ワクチンの市場での PRP-T ワクチン (本剤、OmniHIB®) 及びこれらと他のワクチンとの混合製剤を含む) のシェアは約 84% である。

本剤は 1980 年代に米国の国立衛生研究所 (NIH) により創製され、フランスのアベンティスパスツール社で開発が進められたインフルエンザ菌 b 型結合体ワクチンで、PRP と破傷風トキソイドとの結合体 (PRP-T) が有効成分である。1991～1992 年にかけて実施された 16 の臨床試験 (2 つの感染予防試験を含む) の成績をもって 1992 年にフランスで最初に承認された後、1993 年には米国で承認され、現在では 106 ヶ国 (2006 年 3 月時点) で承認されている。

本邦においては、2000～2002 年にかけて健康乳児 122 例を対象として本剤の免疫原性及び安全性を検討する臨床試験が実施された。当初、国内臨床試験成績とともに欧州における申請に使用され

た非臨床及び臨床試験の成績を加えたデータパッケージをもって本邦で承認申請する計画であったが、海外における開発から10年以上を経て、海外で実施された非臨床及び臨床試験のうち、原資料等、評価資料としての信頼性担保に必要な資料の存在が確認できないものは、参考資料とされた。

2. 品質に関する資料

<提出された資料の概略>

本剤は、有効成分である破傷風トキソイド結合インフルエンザ菌 b 型多糖を、多糖の量として1バイアルあたり 10µg を含有するワクチン（凍結乾燥製剤）であり、溶剤である 0.4%塩化ナトリウム溶液入りの注射針付きガラス製注射器が添付されている。

なお、申請時の品質に関する資料は本剤の製造方法、規格及び試験方法を含めた品質管理の方策を理解するための情報が不十分であったことから、多くの照会・修正を重ねた。資料整備を経た後、実質的な審査の対象とした資料の概略は以下の通りである。

(1) 原薬

1) 製造方法

図1に示すように、①インフルエンザ菌 b 型多糖の製造で得られるPRPと②破傷風トキソイド液の製造で得られる破傷風トキソイドを、③破傷風トキソイド結合インフルエンザ菌 b 型多糖 (PRP-T) 原薬の製造の工程において結合させて原薬を得る。

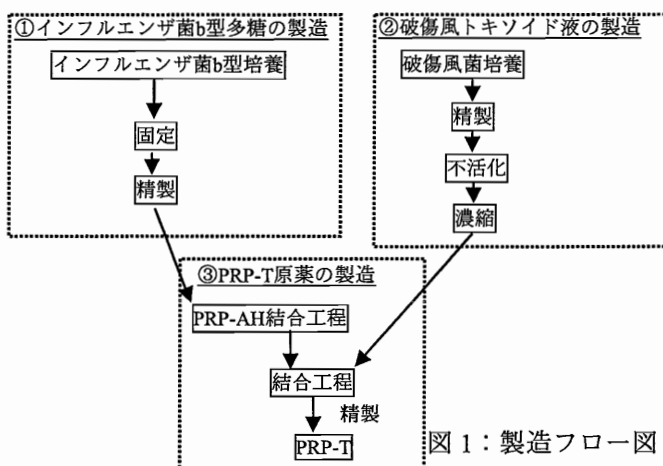


図1：製造フロー図

①インフルエンザ菌 b 型多糖 (PRP) の製造

①-1 インフルエンザ菌 b 型シードバンクの調製及び管理

よりインフルエンザ菌 b 型 No.1482 株（凍結乾燥品）を入手し、シードバンクの管理試験により評価した株を元に、プレマスターシードバンク、さらにマスターシードバンク、ワーキングシードバンクが調製され、凍結乾燥後に \pm °C の条件で保存されている。これらのシードバンクの作製時・更新時・保存時の管理試験として、純度試験及び発育特性の確認（種々の培地で培養を行う）、同定試験（グラム染色、生化学的性状及び特異的抗血清を用いた抗原性の確認）が実施される。これらのシードバンクは、残数が少なくなったとき、マスターシードバンクはプレマスターシードより、ワーキングシードバンクはマスターシードより更新する。

①-2 インフルエンザ菌 b 型の培養工程

種培養工程では、ワーキングシードを寒天培地で培養（第 種培養）した後、液体培地で第 種培養、第 種培養と拡大培養し、最終的に L の培養槽を用いて $37 \pm 2^\circ\text{C}$ 、 ～ 時間攪拌して生産培養を行う。第 及び第 種培養における社内工程管理として、グラム染色、純度試験及び透過率が設定されており、生産培養液については、それらに加えて同定試験及び抗原含量試験が設定されている。

①-3 PRP 分離工程

培養液に、ホルマリン溶液（ホルムアルヒド濃度 36%）を ■ mL/L となるように加え、■ °C 以下で ■ 時間以上固定した後、遠心分離し、上清を濃縮する。それにセトリミドを ■ ~ ■ w/v% となるように加えて莢膜多糖類を沈殿させ、遠心分離によりセトリミドペレットを得る。

①-4 PRP 精製工程

<予備精製>：セトリミドペレットを ■ mol/mL ■ 溶液に再懸濁した後、遠心分離によってセトリミドを沈殿として除去する。この上清に ■ を加えることで生じる莢膜多糖類の沈殿を低温下の ■ で洗浄する。

<最終精製>：予備精製で得られた沈殿を緩衝液に懸濁後、フェノールで洗浄して水層を回収し、■ 及び ■ でフェノールを除去する。この水層に、■、■ を添加することで沈殿した莢膜多糖類を回収して、■、■ 及び ■ で順次洗浄した後、■ ± ■ °C で真空下乾燥し PRP（重要中間体）を得る。PRP は ■ °C で保存され、有効期限は ■ 年間とされている。

PRP に対する工程内管理試験として、リン含量、リボース含量、分子サイズ分布試験、インフルエンザ菌同定試験、たん白質含量、核酸含量、エンドトキシン試験及び発熱試験が設定されており、エンドトキシン試験または発熱性物質試験で不適になった場合、■ として ■ 回のみ ■ 工程が実施される。

②破傷風トキソイド液の製造

②-1 破傷風菌シードバンクの調製及び管理

■ より破傷風菌 Harvard ■ 株 No. ■ 株を入手し、後述のシードバンク管理試験で評価した株を元に、マスターシードバンク、さらにワーキングシードバンクが作製され、凍結乾燥後に ■ ± ■ °C の条件で保存されている。マスターシードバンク及びワーキングシードバンクの作製時・更新時・保存時の管理試験として、同定試験と純度試験が実施されている。同定試験においては、培養した菌のグラム染色、発育特性、生化学的性状を評価する。純度試験においては、各種培地による発育及び汚染菌の混入の可能性等を評価する。これらのシードバンクの残数が少なくなったときに、マスターシードバンクは ■ から新たに入手した株から、ワーキングシードバンクはマスターシードから更新する。

②-2 破傷風菌の培養

ワーキングシードを ■ の入った試験管に接種し培養する。■ による初回種培養を ■ ~ ■ 回行った後、■ による第 ■ 種培養、第 ■ 種培養へと拡大培養し、その後 ■ L 又は ■ L の培養槽を用いて 35 ± 1 °C、■ 日 ± ■ 時間、生産培養を行う。社内工程管理試験として、初回種培養前についてはグラム染色を、第三種培養、生産培養の培養液については、グラム染色及び純度試験、■、OD 値測定を行い、適合を確認する。破傷風毒素の Lf (Limit of flocculation) 値は生産培養の終了時に参考値として測定し、約 ■ Lf/mL であることを確認する。培養液を攪拌条件下、■ 及び ■ を添加、冷却し、破傷風毒素を遊離させる。

②-3 破傷風トキソイド液の精製

<分離工程>：遠心分離及びろ過により上清を分離し、分画分子量 ■ の限外ろ過膜で濃縮し

て得られる粗毒素液を緩衝液中で透析ろ過し、濃縮する。

＜精製工程＞：粗毒素液に硫酸アンモニウム及び活性炭をそれぞれ 〇〇～〇〇mg/mL 及び 〇〇mg/mL になるように添加し、生じた破傷風菌由来のたん白及び菌の残留物の沈殿をろ過して除去する。ろ液に硫酸アンモニウムを 〇〇～〇〇mg/mL になるように添加し、得られた沈殿をリン酸緩衝液に溶解し、同緩衝液中で透析する。この画分について破傷風毒素の Lf 値の測定を行い、ろ過滅菌する。

＜不活化工程＞：粗毒素液の破傷風毒素 〇〇が 〇〇mL となるように希釈した後、ホルムアルデヒド濃度が 〇〇 μ mol/mL となるようホルマリン溶液を加え、〇〇にて 〇～〇日間、〇 \pm °C で 〇日間、〇 \pm °C で 〇～〇日間、〇 \pm °C で 〇日間不活化する。これをろ過滅菌して得られる精製破傷風トキソイド液（重要中間体）の工程内管理試験として、たん白窒素/総窒素比、OD₂₈₀/OD₂₆₀比、抗原精製度、分子サイズ分布試験及び無菌試験を実施する。

＜濃縮工程＞：精製破傷風トキソイド液を透析及び濃縮した後、ろ過滅菌して得られる濃縮破傷風トキソイド液（重要中間体）の工程内管理試験として、リン含量、OD₂₈₀/OD₂₆₀比、抗原精製度、分子サイズ分布試験、ホルムアルデヒド含量、特異毒性試験、破傷風トキソイド無毒化試験、発熱試験及び無菌試験を実施する。

③破傷風トキソイド結合インフルエンザ菌 b 型多糖（PRP-T）原薬の製造

＜PRP-AH 結合工程＞：PRP を精製水に溶解し、臭化シアンを加えて 〇〇～〇〇分間活性化後、アジピン酸ジヒドラジド（ADH）を加えて 〇 \pm °C で 〇分間ゆるやかに攪拌し、〇 \pm °C で一晩放置する。反応液を濃縮した後、ろ過して得られた PRP アジピン酸ヒドラジド誘導体（PRP-AH）液（重要中間体）の工程内管理試験として、インフルエンザ菌 b 型多糖結合アジピン酸ジヒドラジド（結合 ADH）含量、シアン化物含量、多糖含量、遊離 ADH/総 ADH 比、分子サイズ分布試験（Kd 値 0.20 の前に溶出する多糖含量及び多糖の Kd 値）、インフルエンザ菌同定試験を実施する。

＜結合工程＞：PRP-AH 液と濃縮破傷風トキソイド液を各々 〇〇mg/mL 以下の濃度で等量混合後、エチルジメチルアミノプロピルカルボキシイミド（EDAC）を 〇〇mol/L となるよう添加し、〇 \pm °C、pH 〇〇～〇〇で 〇分間反応することで共有結合させる。反応液を透析後、ショ糖密度勾配遠心により、ショ糖濃度 〇〇～〇〇%の画分の PRP-T を回収する。

＜原薬調製工程＞：PRP-T 液に緩衝液や糖を添加し、pH を調製してろ過滅菌し、PRP-T 原薬を得る。

④重要工程・重要中間体及びプロセス・バリデーション

以下の 5 工程が重要工程として位置付けられている。

・ PRP の製造工程における生産培養及び精製工程

インフルエンザ菌 b 型の大量培養により PRP を得て不純物を除去する工程であり、PRP の品質に影響すると考えられる。

・ 破傷風トキソイド液の製造工程における生産培養、精製及び不活化工程

破傷風菌の大量培養により破傷風毒素を得て不純物を除去する工程及び精製破傷風毒素を不活化する工程であり、重要中間体である破傷風トキソイド液の品質に影響すると考えられる。

・ 破傷風トキソイド液の製造工程における濃縮工程

過量のホルムアルデヒドを除去し、破傷風トキソイドを濃縮する工程であり、重要中間体であ

る濃縮破傷風トキソイド液の品質に影響すると考えられる。

・ PRP-T 原薬の製造工程における PRP-AH 結合工程

PRP にスパーサの AH を結合し、不純物を除去する工程であり、重要中間体である PRP-AH 液の品質に影響すると考えられる。

・ PRP-T 原薬の製造工程における PRP-T 結合工程

PRP-AH に破傷風トキソイドを結合させて PRP-T を得て、不純物を除去する工程であり、PRP-T 原薬の品質に影響すると考えられる。

また、PRP、PRP-AH 液、破傷風トキソイド液及び濃縮破傷風トキソイド液が重要中間体に位置付けられている。

2) 特性解析

原薬の PRP-T については、規格及び試験方法に示された試験以外に、破傷風トキソイド無毒化試験、インフルエンザ菌同定試験及び破傷風トキソイド同定試験が実施されている。また、重要中間体である PRP について、プロトン (^1H) -核磁気共鳴 (NMR) スペクトルを測定し、その化学構造が確認されている。

3) 不純物

PRP の不純物としては、Hib 由来たん白質、核酸及びエンドトキシンがヨーロッパ薬局方 (EP) に準拠した工程内管理試験として管理されている。残留溶媒であるエタノール、アセトン、ジエチルエーテルについては、日米 EU 医薬品規制調和国際会議 (ICH) の「医薬品の残留溶媒のガイドライン」において許容される残留量の \blacksquare 分の 1 以下のため日常検査は実施されていない。フェノールについては、原薬の規格及び試験方法により管理されているためこの段階では管理されていない。

PRP-AH の不純物としては、工程内管理試験により遊離 ADH が遊離 ADH/総 ADH 比: \blacksquare 以下 (遊離 ADH: \blacksquare $\mu\text{g}/\text{dose}$ 以下相当)、シアン化物含量が $5\mu\text{g}/\text{mL}$ 以下 (\blacksquare pg/dose 未満相当) に管理されている。臭化物含量はプロセスバリデーションにより十分除去されることが確認されている。

濃縮破傷風トキソイド液では、多糖含量の値に影響を及ぼすリン含量を、その後の透析で十分除去可能な \blacksquare $\mu\text{g}/\text{たん白質 mg}$ 未満に、ホルムアルデヒドは \blacksquare $\mu\text{g}/\text{たん白質 mg}$ 未満 (容器あたり EP 基準値の約 \blacksquare 分の 1) になるよう工程内管理試験として管理されている。

原薬については、EDAC 含量を検出限界値の \blacksquare ng/dose 、フェノール含量は $1\mu\text{g}/\text{mL}$ (EP ヒト用ワクチン基準値 2500 分の 1 の濃度) に、遊離破傷風トキソイド及び遊離多糖含量についても、それぞれ 1%未満、 \blacksquare %未満に、いずれも原薬の規格試験として管理されている。

4) 規格及び試験方法

原薬について、以下のような規格試験が設定されている。

呈色反応により定量する多糖/たん白比試験、EDAC 含量試験及びフェノール含量試験、サイズ排除クロマトグラフィーによる分子サイズ分布試験、SDS-PAGE による遊離破傷風トキソイド含量、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) による遊離多糖含量試験の他、pH 試験、無菌試験が設定されている。なお、EDAC 及びフェノール以外の工程由来不純物については、前述のように重要中間

体に対する工程内管理試験において管理されている、もしくはプロセスバリデーションにより除去されることを確認しており、原薬の規格及び試験方法としては設定されていない。

5) 安定性

原薬の安定性試験としては、 $\blacksquare^{\circ}\text{C}$ 以下における \blacksquare カ月の長期保存試験及び $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ 及び $5\pm 3^{\circ}\text{C}$ での苛酷試験が実施された。

長期安定性試験では、原薬の規格及び試験方法に設定された試験項目の他、リン含量、多糖含量、精製白糖含量、高分子結合体含量、インフルエンザ菌同定試験、破傷風トキソイド同定試験、破傷風トキソイド無毒化試験について評価された。その結果、 \blacksquare ロット中 \blacksquare ロットが \blacksquare カ月、 \blacksquare カ月及び \blacksquare カ月において、別の \blacksquare ロットが \blacksquare カ月において無菌試験で不適合となった。

苛酷試験では、 \blacksquare 量、 \blacksquare 試験、マウス \blacksquare 試験、破傷風トキソイド無毒化試験について評価された。 $\blacksquare^{\circ}\text{C}$ 、 \blacksquare カ月間保管した PRP-T は \blacksquare ロット \blacksquare 量が不適合となり、 \blacksquare 試験 \blacksquare 量も低下した。 $\blacksquare^{\circ}\text{C}$ 、 \blacksquare カ月の苛酷試験では、破傷風トキソイドから破傷風毒素への毒性の回復は認められなかった。 $\blacksquare^{\circ}\text{C}$ での保存では \blacksquare 年間安定であった。

以上の結果から、原薬の有効期間は $\blacksquare^{\circ}\text{C}$ 以下で \blacksquare カ月とされている。

(2) 製剤

1) 製剤処方及び容器施栓系

本剤は「破傷風トキソイド結合インフルエンザ菌 b 型多糖 (PRP-T)」を多糖として $10\mu\text{g}$ 含有する乾燥製剤であり、添加剤として、トロメタモール、精製白糖、塩酸を含んだ緩衝液を使用している。添付溶剤は、0.4%塩化ナトリウム液であり、ホウケイ酸ガラスの針付きガラス製シリンジに封されている。シリンジの潤滑油としてシリコン油を使用しており、当該シリンジは医療用器具として、別途承認申請をしており、承認見込みで審査中である。

本剤使用時には、凍結乾燥製剤にシリンジ中の添付溶解を加えて再溶解した後、そのシリンジでバイアルから薬液を採取し、投与する組合せ医薬品である。

2) 製造方法

凍結保存されていた原薬を解凍後、原薬の規格試験で求めたリン含量に基づき、1 製剤 (0.5mL) あたり PRP 量が $10\mu\text{g}$ (リン含量として $\blacksquare\mu\text{g}$) 含まれるよう緩衝液を添加し、ろ過滅菌して最終バルクを調製する。最終バルクについては、バイオバーデン、フィルター完全性試験を行う。滅菌バイアルに目標量 $\blacksquare\text{mL}$ で充てんし、凍結乾燥を行う。その後、塩素化ブチル製ゴム栓が打栓され、アルミキャップの巻締めを行い、包装工程へ進む。包装工程においては、凍結乾燥した本剤と添付溶剤をプリスター容器 (ポリ塩化ビニル) に詰めて外箱に収納する。

3) 規格及び試験方法

製剤の規格試験として、凍結乾燥品の外観、再溶解後の外観、含湿度、浸透圧比、pH、無菌試験、多糖含量、インフルエンザ菌同定試験、破傷風トキソイド同定試験、遊離多糖含量を設定している。なお、インフルエンザ菌同定試験及び破傷風トキソイド同定試験は、オクタロニー法により行う。

4) 安定性

3 ロットの製剤を用いて長期保存試験（2～8℃/暗所）が実施され、規格及び試験方法に規定された項目の他、精製白糖含量、リン含量、発熱試験、分子サイズ分布試験、高分子結合体含量、マウスを用いた免疫原性試験、破傷風トキソイド無毒化試験、異常毒性否定試験、不溶性微粒子試験の項目について評価された。不溶性微粒子試験は 36 ヶ月まで、遊離多糖含量は 39 ヶ月まで、他の項目は 48 ヶ月まで評価され、すべて適合した。

また、再溶解後の安定性試験として、再溶解した製剤を 5±3℃（1 時間、2 時間、6 時間）、25±2℃（1 時間）、37±2℃（1 時間）の条件で保存した後、外観、pH、分子サイズ分布試験、高分子結合体含量、マウスを用いた免疫原性試験、無菌試験が実施され、すべて適合した。

添付溶剤の安定性試験として、長期保存試験（5±3℃）が実施されている。規格試験項目に加えて異常毒性否定試験を実施した結果、66 ヶ月まで規格に適合していた。

以上から、本剤の有効期間は 2～8℃で 3 年、添付溶剤の有効期間は 2～8℃で 年とされている。

<機構における審査の概略>

(1) 生物由来原料について

原薬の製造に用いられる原料のうち、動物由来原料を表 1 に示す。

表 1：原薬製造工程で使用される動物由来原料

使用される工程	培地	原料	由来
Hib 作製、 種培養	培地	脱線ウマ血液	ウマ
		チャコールアガー	
		ウシ心臓浸出液	ウシ心臓（米国）、ウシ骨格筋（オーストラリア）
		ペプトン	ブタ皮
Hib 種培養～ 生産培養	液体培地 1	カゼイン酸加水分解物	ウシ乳（ニュージーランド）
		ヘミン	ウシ血液（米国）
Hib 作製、 種培養	培地	カゼインパンクレアチン 消化物	ウシ乳 （米国、カナダ、ニュージーランド）
破傷風菌作 製～種培養	培地		
破傷風菌 作製	培地	肉エキス	ウシ肝臓、肺（フランス）
破傷風菌第 種培 養生産培養	培地	トリプトン V	ウシ乳（ニュージーランド）
		ウシ心臓浸出液	ウシ心臓（米国）
		カゼインペプチド N3	ウシ乳（フランス、ニュージーランド）
		L-チロシン	羽毛
Hib 及び破傷風菌 作製	保存用培地	スキムミルク	ウシ乳（米国）
Hib 第・第種 培養、生産培養、 破傷風菌作 製種培養	液体培地 1 培地	L-シスチン	羽毛

は反芻動物原料基準(3)を満たさないもの

1) ウシ由来原料について

本剤の製造には平成 15 年 5 月 20 日厚生労働省告示 210 号、生物由来原料基準の第 4 の 1、反芻動物由来原料基準 (3) に掲げる原産国に該当しないウシ由来原料が使用されているが、申請者は、20

年を目処に動物由来原料を使用しない製造工程への変更を計画しており、海外でその変更が導入された際は、日本においても速やかにその変更に伴う承認事項一部変更承認申請を行うことを確約すると回答している。反芻動物由来原料基準（3）に適合しない原料は以下の通りである。

・ 肉エキス（フランス産；肝臓及び肺）

破傷風菌マスターシードの培養に使用される [] 培地に []g/L の肉エキスが含まれる。申請者は、現在使用されているマスターシードは 1991 年 [] 月 [] 日に調製されたことから、その際に使用された肉エキスはフランスで牛海綿状脳症（BSE）が報告された 1991 年以前に製造された可能性が高いこと、また、当該成分が使用される工程は、平成 16 年 2 月 18 日付薬食発第 0218004 号通知において、米国産のウシ由来原料の場合は当面の切り替えが猶予されている工程区分に該当することから、本剤投与により伝達性海綿状脳症（TSE）に感染するリスクは非常に低いと考えられると説明した。なお申請者は、次のマスターシード更新時（20[]～20[]年頃と予測）には当該フランス産ウシ由来成分を除いた培地に変更して製造する予定としている。

・ チャコールアガー（米国産ウシ心臓浸出液含有）

[] のマスターシードバンク及びワーキングシードバンク作成時の培地と、初回種培養の [] 培地作成に用いるチャコールアガーにウシ心臓浸出液 500g/L が含まれている。申請者は、ウシ原産国をオーストラリアもしくはニュージーランドに変更可能かをチャコールアガー供給元に打診したが、変更は困難としている。また申請者は、このチャコールアガーについては、2002 年 3 月 [] 日付 European Directorate for the Quality of Medicines（EDQM、欧州薬局方委員会）発行、2005 年 2 月 [] 日更新の証明書により一定の安全性を保証されているとしている。

・ ヘミン（米国産ウシ血液由来）

[] の種培養及び生産培養に使用される液体培地 1 にヘミン []mg/L が含まれている。申請者は、ヘミンの供給元が限られているため米国以外を原産国とするウシ由来ヘミンは入手困難であり、ブタヘミンあるいはプロトポルフェリンへの切り替え等を検討したが、スケジュール的に動物由来原料を使用しない製法への切り替えを優先させることとしたと説明している。また申請者は、このヘミンについては 2004 年 11 月 [] 日付 EDQM による証明書が発行され一定の安全性が保証されているとしている。

・ ウシ心臓浸出液（米国産ウシ心臓由来）

破傷風菌種培養及び生産培養に使用される [] 培地にウシ心臓浸出液 50g/L が含まれている。申請者は、現時点で BSE 非発生国由来の原料に変更可能か確認できていないとしている。このウシ心臓浸出液については、2001 年 5 月 [] 日付発行 2006 年 5 月 [] 日更新の EDQM による証明書が発行され一定の安全性が保証されているとしている。

以上の米国産のウシ由来原料については、申請者はさらに、食用に適したウシから採取されること、またアメリカでの食用ウシの飼育に反芻動物由来の肉骨粉飼料は使用していない他、と殺方法、特定危険部位の除去等については、日本での規制と同様に管理されていると説明している。

機構は、平成 15 年 8 月 1 日付薬食審査発第 0801001 号及び薬食安発第 0801001 号二課長通知に基づくリスク評価を行うよう申請者に求めた。申請者は、原料の原産国、使用部位、製造プロセスでの希釈、不活化除去等について下表の数値を示し、いずれの成分についても、当該通知において一定の安全性を確保する目安と考えられるリスク評価値-3 を下回ることが確認できたと説明した。申請者はさらに、製造工程には上記評価で考慮されていないたん白質が除去される工程も含まれてい

るため、実際のリスクはさらに軽減すると考察している。

表2：アクトヒブの理論的リスク（製剤 1g 単位におけるプリオン ID50 タイターの Log 値）

	原料の国、部位によるリスク		製造プロセスでの原料の希釈	不活化除去等によるリスク低減	投与経路によるリスクの減少	使用期間によるリスク	合計
	臓器部位のリスク	BSE 発生のリスク					
肉エキス	+3	-4	■	■	-2	0	-13
チャコールアガー	+3	-4	■	■	-2	0	-8
ヘミン	+3	-4	■	■	-2	0	-7
ウシ心臓浸出液	+3	-4	■	■	-2	0	-9

機構は以下のように考える。EDQM の証明書は、原産国の地理的 BSE リスク（GBR）、BSE と関係ない群の動物に由来すること、ウシのと殺方法や危険部位除去等に関する原産国の TSE 対策状況、動物性飼料を用いず飼育されていること等の管理条件を踏まえ、医薬品製造に適していると認められる原料に対して発行され、2004 年 8 月に GBR が変更された米国産のウシ由来原料については 2005 年以降に証明書が改訂されている（2004 年 10 月付 EDQM Public Document）が、ヘミンについては、現時点ではそれ以前の証明書しか入手できてない。また、生物由来原料基準の第 4 の 1、反芻動物由来原料基準（4）に定められた、これらの原料製造に使用したウシの月齢や個体識別等を含めた製造記録の確認もできていない。しかしながら表 2 に示されるように、これらのウシ由来原料に由来するリスクが高いとは考えにくいこと、また、例えばこれらのウシ由来原料の代替品が入手可能であっても、原料の変更が製品の品質に及ぼす影響の確認に長期の時間を要することから、代替原料への変更より動物由来原料を使用しない製法への切り替えの検討を優先する申請者の方針は理解する。従って、当面の期間、これらの原料の使用を継続することの妥当性については、生物由来原料基準、第 4、1、反芻動物由来原料基準（5）に基づき、リスクとベネフィットを評価して判断することが必要と考える。

本剤のベネフィットに関して、申請者は以下のように説明している。現在日本には Hib 髄膜炎を予防する手段はなく、国内における Hib の年間罹患率は 5 歳未満の全乳幼児あたり 600 人、当該年齢層 10 万人あたりの年間罹患率が 8～9 人、年間の死亡または後遺症の発生率は 2～3 人である。表 2 に示すアクトヒブの理論的リスク最高値が -7 であることから、本剤により現在発生している Hib の罹患を防止できることは、ベネフィットがリスクを上回る。

機構は、ウシ由来原料使用に関するリスク評価に関しては、ウシ成分を製造工程に使用している以上、本剤による TSE 伝播の理論的リスクを完全には否定し得ないものの、実際に、本剤に異常プリオンが混入する可能性は非常に低く、TSE 伝播のリスクは極めて低いと考える。これに対し、予想されるベネフィットは、髄膜炎等の侵襲性 Hib 感染症の予防であり、本剤はベネフィットがリスクよりも十分に上回ると考える。しかし、本剤は治療薬ではなく健全な乳幼児に接種される予防薬であることを踏まえ、これらのリスクについて適切に医療現場及び被接種者（保護者）に情報を提供することが必要であると考ええる。

以上の機構の判断に関しては、専門委員の意見を伺った上で最終的に判断したい。

2) 動物由来成分のウイルス安全性について

動物由来原料のウイルス安全性について申請者は以下のように説明した。

羽毛由来の原料は、すべてアミノ酸（L-シスチン、L-チロシン）で高度精製品であり、ウシ乳由来の成分についても食用として人が摂取している乳を使用しており、ウイルス混入の可能性は低いと考える。また、チャコールアガー、ヘミン、ウシ心臓浸出液及び肉エキスの製造工程には、それぞれ下記の表に示す処理工程でウイルスが不活化されると考える。

表3：乳を除くウシ由来原料の製造工程における処理

ウシ由来原料	処理内容
チャコールアガー	加水分解工程、 \blacksquare 分以上の煮沸後、約 \blacksquare ～ \blacksquare ℃、 \blacksquare ～ \blacksquare 時間の乾燥工程により構成される。
ヘミン	pH \blacksquare において \blacksquare 中に \blacksquare 時間保存後、 \blacksquare ℃、 \blacksquare 時間加熱した後にヘミンを分離する。
ウシ心臓浸出液	pH \blacksquare におけるウシ心臓浸出液の加水分解後、煮沸及び \blacksquare ℃で \blacksquare 分間保持する。さらに製品の微粒化前に2回目の煮沸を行う。
肉エキス	pH \blacksquare あるいはpH \blacksquare における加水分解工程、煮沸及び \blacksquare ℃で \blacksquare 分間保持する工程から構成される。さらに製品の微粒化前にこれらの2回目の煮沸を行う。

表3に示した処理以外にも、ウシ心臓浸出液及び肉エキスが使用される破傷風トキソイドの製造工程にはホルマリンによる不活化処理工程によりウイルスは不活化・除去されると考える。脱線維ウマ血液は、獣医師により衛生管理された履歴の明白な健康なウマのみから無菌的に採取し、80℃15分の加熱処理後に培地に添加し使用されるため、ウイルスの混入の可能性はかなり低いと考える。さらに、本薬の製造工程で使用される動物由来原料は、いずれも培地添加物として使用されることから、万一ウイルスが混入しても、ヘミン及び脱線維ウマ血液以外の成分については培地の高圧蒸気滅菌（チャコールアガー；122℃、60分、肉エキス；122℃、60分、ウシ心臓浸出液；115℃、25分）により不活化されると考えられる。

機構は、以上の申請者の説明を了承した。

(2) シードバンクの変更について

本剤の開発当初に作製したインフルエンザ菌b型及び破傷風菌のシードバンクを維持する過程でヨーロッパ産のウシ由来原料が使用されていたことから、1990年代末以降、ヨーロッパ産のウシ由来原料を極力排除してシードバンクが新たに作製されている。申請資料の非臨床試験、臨床試験等で使用された製剤の製造には旧シードバンクが使用されたが、承認後に販売される製剤は新シードバンクより製造されることから、機構は、変更の具体的内容及びこの変更が製剤の品質・有効性・安全性に及ぼす影響について説明を求め、申請者は以下のように回答した。

インフルエンザ菌b型のシードについては、従来シードの起源であるインフルエンザ菌b型No.1482株を \blacksquare より再度入手し、シード作成培地に添加されていたオランダ産ウシ血液由来ヘミンを米国産に、ウシ乳由来カゼインパンクレアチン消化物をヨーロッパ産から米国/ニュージーランド/オーストラリア産に変更し、新たに作成された。新旧シードバンクの管理試験、新旧シードバンク由来のPRP及びPRP-AHの工程内管理試験、PRP-Tの規格試験、PRPの $^1\text{H-NMR}$ 及び $^{31}\text{P-NMR}$ のスペクトルの比較を行ったが、差異は認められなかった。破傷風菌については、シードバンク製造用チオグリコレート培地に添加するフランス産のウシ肝臓及び肺由来肉エキスを牛乳由来成分に変更してワーキングシードバンクが更新されたが、マスターシードバンクについては対応されていない。この変更前後について、培養工程の社内工程管理値、濃縮破傷風トキソイド液の工

程内管理試験成績の比較を行ったが、差異は認められず、これらのシードが変更された後の製剤は既に多数の使用実績があり問題は見られていないと回答された。

機構は、以上の申請者の説明を了承した。

(3) 培養工程の工程内管理試験について

インフルエンザ菌及び破傷風菌の各培養工程について菌の確認試験が行われ、生産培養工程後には、グラム染色あるいは純度、同定試験等の菌を確認する試験の他、透過率（OD 値）、力価あるいは抗原含量等、菌あるいは成分の量を評価する試験が社内工程管理として実施されているが、生産培養後の菌の確認を含むこれらの試験は品質確保の観点から重要であるため、機構は工程内管理試験とするよう求めた。申請者は、インフルエンザ菌の生産培養工程については、純度、同定、抗原含量、破傷風菌の生産培養工程については、純度及び力価について工程内管理試験として実施すると回答し、機構はこれを了承した。

また、破傷風菌の培養工程の追加培養の継代数については ■～■ 回と広い幅で規定されていたため、その妥当性について申請者に説明を求めたところ、申請者は、継代数を現在実施している ■ 回と規定し、将来追加培養を実施する必要がある場合はその妥当性を検証した後、承認事項一部変更承認申請等の対応を適切に行うと回答した。機構はこれを了承した。

(4) 原薬の規格及び試験方法について

多糖/たん白質比の規格値が EP に基づき規定されていたが、海外での規格値の幅はより狭いことから、機構は見直すよう申請者に求め、海外と同じ規格値に修正された。

遊離多糖含量試験の規格値は 20%未満とされていたが、有効成分量は多糖含量として管理されており、遊離多糖含量が多いと本来の有効成分である結合体多糖（PRP-T）の割合が減少することになる。機構は、遊離多糖含量の規格値を実測値に即して見直すように求めたところ、原薬及び製剤の規格値は ■%未満に修正された。

また、国内治験薬製造時に設定されていた原薬の規格試験のうち、試験方法が変更（遊離多糖含量）、あるいは試験項目が削除（インフルエンザ菌同定試験、破傷風トキソイド同定試験及び破傷風トキソイド無毒化試験）された試験があることから、機構はその経緯について説明を求めたところ、以下のように回答された。

遊離多糖含量試験の測定方法については、エタノール沈殿させた高分子結合体中の多糖量をリン含量の定量により求め、全多糖量に対する比を 100%から差し引いて算出する高分子結合体法から、超遠心上清中の遊離多糖を HPLC によって測定し全多糖量に対する比で表す遊離多糖試験に変更した。試験間で検出感度は比較していないが、2つの試験による測定値に差は認められず、2つの測定法は同等であると思われる。インフルエンザ菌及び破傷風菌同定試験については、20■年に PRP-T 原薬の規格試験から削除したが、製剤の規格試験として実施されていることから担保可能である。破傷風トキソイド無毒化試験については、破傷風トキソイドの毒性の復活が一般的に知られていることから（生物学的製剤基準 1986 年解説編 p119、*Japan J. Med. Sci. Biol.*, 1971; 24: 181-182）当初は原薬の規格試験として実施してきた。しかし、■年間の ■ロット以上で不適となった例はなく、PRP-T の結合工程で毒性が復帰する危険性は極めて低いと考えられること、濃縮破傷風トキソイド液の工程内管理試験として実施されていることにより、20■年 ■月に欧州医薬品庁は本試験を削除

することに同意した。また、破傷風トキソイドは、WHOの破傷風無毒化試験により■℃■日間のみのホルマリン処理によって無毒化を確認しているため、実製造のホルマリン処理条件（■で■日間、■℃で■日間、■℃で■日間、■℃で■日間のホルマリン処理を行う）は、十分な安全マージンを確保している。また、結合前の濃縮破傷風トキソイド液及び原薬の両方について、破傷風トキソイド無毒化試験を■年間実施したが毒性は見られなかったことから、PRPと破傷風トキソイドの結合反応によって毒性復帰は起らない。したがって、破傷風トキソイド無毒化試験の削除は妥当であると考えられる。

機構は以上の申請者の説明を了承した。

(5) 原薬の安定性について

原薬の長期安定性試験の無菌試験において、■ロット中■ロットで異なる測定時期に同じ混入菌が検出されて不適合とされていることについて、機構は申請者に説明を求め、直近の実生産ロットについて安定性試験を実施していればその成績を提出するよう求めた。申請者は、以下のように説明した。実生産ロットで追加実施した安定性試験は、現在継続中の■ロットの試験のみであり、実施した■ヵ月までは全試験項目に適合していた。申請資料の長期安定性試験では、サンプリング時に菌の混入が発生したことが無菌試験不適となった原因と考えられる。EPの再試験規定に従い、同ロットの保存サンプルについて再試験を行った結果、適合することを確認しており、日本薬局方においても再試験ができることになっているため、再試験をもって無菌試験適合と判定したと回答した。機構は、日局の再試験の規定は検体採取時の菌汚染に適用されないと考えるものの、原薬製造の最終段階で無菌ろ過が行われること、凍結保存中に原薬で菌が増殖するとは考えにくいこと、凍結保存した原薬は、融解後にろ過滅菌を行ってから製剤化に使用されることから、製剤化工程に及ぶ菌混入の可能性は極めて低いと判断した。

(6) 製剤の規格及び試験方法について

遊離多糖含量の規格値については、原薬の規格及び試験方法の項で述べたように、規格値は■％に修正された。

日本薬局方製剤総則の注射剤に規定されている不溶性異物試験及び不溶性微粒子試験、さらに生物学的製剤基準の通則に規定されている重量偏差試験を規格試験に設定するよう申請者に求めたところ、申請者はこれらを規格試験に設定すると回答した。

日局製剤総則の注射剤に規定されている採取用量試験を実施しない理由について、申請者は以下のように説明している。本剤は凍結乾燥品と添付溶剤の組み合わせ医薬品であるため、採取容量試験は添付溶剤について実施し、凍結乾燥製剤については、多糖含量によりその含量を担保すると説明した。機構は、添付溶剤は採取容量試験により担保され、僅かながら過量を採取可能であるが(0.5mLの添付溶剤であるが、充てん量は■±■mL)、凍結乾燥製剤は過量仕込みがされておらず、また製剤に添付されるシリンジには目盛りがないことから、成分及び分量に規定された有効成分量を確実に採取して投与できることは、どのように担保されるのか申請者に尋ねた。申請者は、本剤を溶解後に回収できる量は使用者の手技等により変動する可能性はあるが、国内及び海外の臨床試験並びに海外での約1億dose以上の使用実績から特段の問題は見られておらず、また、当該ワクチンは投与量が1/2～1/10に減少しても、抗体価の上昇は変わらないとの報告（*Vaccine*, 2004; 23: 802-806、

Pediatr Infect Dis J., 2002; 21: 138-141) があり、現在海外で実施している多糖含量試験及び添付溶剤の採取用量試験により、十分有効性を担保できると説明した。機構は申請者の説明を了承するが、厳密には1回接種量として0.5mLを正確に投与することは困難なため、承認用法・用量については現実に則して設定する必要があると考える。

エンドトキシン試験は製剤の規格試験項目に設定されていなかったが、グラム陰性菌由来物質である本剤においてはエンドトキシン値の管理は必須と考えられ、またWHOのRecommendations (WHO Technical Report Series, 2000; 897: 27-60) においても求められていることから、機構はこれを規格に設定するよう申請者に求めたところ、申請者はエンドトキシン試験を製剤の規格試験として設定すると回答した。規格値については現在検討中である。

また、国内治験薬製造時に評価されていた製剤の規格試験項目のうち、試験方法が変更(遊離多糖含量試験)あるいは試験項目が削除(マウス免疫原性試験、異常毒性否定試験)された項目があることから、機構はその経緯について説明を求めたところ、申請者は以下のように説明した。遊離多糖含量試験については原薬の規格及び試験方法と同様である。20██年に異常毒性否定試験及びマウスを用いた免疫原性試験については、連続██ロット以上不適合が出なかった実績により削除した。また、免疫原性試験については、全多糖含量、たん白質/多糖比、遊離多糖、遊離トキソイド含量に基づいて、有効成分である破傷風トキソイドに結合している多糖(PRP-T)の量を管理する方が、マウスを用いた試験よりも感度が優れている。機構は、マウスを用いた免疫原性試験の削除については申請者の説明を了承する。しかしながら、原薬及び製剤において安全性評価を目的とした試験は設定されていないこと、国内の破傷風トキソイド含有ワクチンについては異常毒性否定試験が実施されており、本剤についても安全性を同様に確保するという観点から異常毒性否定試験を実施するよう求め、申請者はこれを製剤の規格試験に設定すると回答した。

3. 非臨床に関する資料

(i) 薬理試験成績の概要

<提出された資料の概略>

(1) 効力を裏付ける試験

1) マウスにおける免疫原性試験

約6週齢のCD1系マウス(雌)にHib多糖アジピン酸ヒドラジド誘導体(PRP-AH) 2.5µg/bodyと破傷風トキソイド(TT) 6.25µg/bodyとを同時に(PRP-AH+TT)、又はPRP-AHとTTを縮合して製造される本剤(DF-098) 2.5µg/bodyを0、14、28日目に皮下接種(0.5mL)し、血清中の抗PRP抗体価、抗TT抗体価が測定された。抗体価測定に用いた検体は、マウスを麻酔下で採血し、無処置対照群は試験開始日に屠殺して採血している。抗PRP抗体価の測定は放射性免疫測定法、抗TT抗体価の測定は酵素免疫測定法を用いている。

表4：マウス抗 PRP 抗体価及び抗 TT 抗体価

実験群	接種日 (日目)	抗 PRP 抗体価 (µg/mL)			
		上段	抗 TT 抗体価 (Log10 arbitrary ELISA units)		
		下段	0 日目	7 日目	21 日目
無処置対照		<0.1	—	—	—
		1.0	—	—	—
PRP-AH+TT	0	—	<0.1	<0.1	<0.1
		—	2.3±0.5	3.6±1.1	3.7±0.3
	0+14	—	—	<0.1	<0.1
		—	—	5.1±0.2	5.2±0.3
	0+14+28	—	—	—	<0.1
		—	—	—	5.3±0.2
DF-098	0	—	0.09±2.9	3.2±1.9**	2.8±2.0**
		—	1.7±0.2	4.3±0.3	4.6±0.3
	0+14	—	—	3.7±1.9§§	5.8±1.8§§(¶)
		—	—	4.6±0.2	4.8±0.2
	0+14+28	—	—	—	5.8±1.7††(¶)
		—	—	—	4.9±0.3

成績は、各群 8 例の幾何平均抗体価と標準偏差を示した。

—：採血せず

抗 PRP 抗体価：DF-098 と PRP-AH+TT 接種（対照群）の同回数接種群間の差を Wilcoxon 順位和検定を用いて検討した（**：P=0.001 vs 単回接種対照群、§§：P<0.001 vs 2 回接種対照群、††：P<0.001 vs 3 回接種対照群）。実験 35 日目における DF-098 接種群間での接種回数間の差を Dunnett type の多重比較によって検定した（¶）：P<0.05 vs DF-098 単回接種群）。

抗 TT 抗体価：TT に対する抗体のサブクラスは IgG1 及び IgG2a が測定され、IgG1 のみ検出された。

抗 PRP 抗体価は、PRP-AH+TT 同時接種群では接種回数にかかわらず検出されなかった（検出限界以下）。一方、本剤接種群では単回接種後 21、35 日目に抗 PRP 抗体価は本剤単回接種時と比較して有意に高値を示した（幾何平均抗体価（GMT）µg/mL：3.2±1.9、2.8±2.0）。また、本剤 2、3 回接種群 35 日目の抗 PRP 抗体価もそれぞれ有意に高値を示した（2、3 回接種時（GMT）µg/mL：5.8±1.8、5.8±1.7）。しかしながら、本剤 2、3 回接種群間に差は認められなかった。

以上の結果より、申請者は、本剤のマウスに対する免疫原性並びに反復接種による抗体産生増強効果が確認されたとしている。

抗 TT 抗体価は、PRP-AH+TT 同時接種群及び本剤接種群ともに 1 回目接種後 7 日目から誘導され、21 日目及び 35 日目では、本剤群は PRP-AH+TT 同時接種群に比べて抗体価が上回る傾向を示した。一方、本剤を 2、3 回反復接種しても抗体産生の増強は認められず、その抗体価は PRP-AH+TT を反復接種した時のそれと比較して明らかな違いは認められなかった。

以上の結果から、申請者は、抗 TT 抗体価は、PRP-AH+TT 接種群と本剤接種群間で明らかな差を認めず、TT に対するマウスの抗体応答性は PRP-AH との共有結合による影響を受けないことが示されたとしている。

2) 参考資料

参考資料として提出された資料の概略を以下に示す。

本剤又は PRP-AH+TT を 3 回接種した場合の抗体応答の比較が 6 週齢、OF1 系マウス（雌）を用いて行われ、前述の試験結果と同様に 3 回接種後の抗 PRP 抗体価の上昇が本剤接種群でのみ確認され、抗 TT 抗体価の上昇は本剤接種群と PRP-AH+TT 接種群とでは同程度であった。

マウス抗体応答に及ぼす製剤（水性製剤、凍結乾燥製剤）の相違、PRP-T 原液の異なる 3 バッチ

間の相違の影響が検討された。被験薬を6週齢、OF1系マウス（雌）に試験開始日、14日目の計2回、皮下接種（0.5mL）した結果、水性製剤（2.5又は10 μ g/body）、凍結乾燥製剤（2.5又は10 μ g/body）及びPRP-T原液（2.5又は10 μ g/body）では抗PRP抗体が検出され、製剤間及びPRP-T原液バッチ間における抗PRP抗体産生の誘導に差は無かった。

マウス抗体応答に及ぼす諸因子（マウス系統、週齢、接種経路及び接種用量）の影響について検討された。本剤を3、6週齢のOF1、DBA/2及びCBA系マウス（雌）に試験開始日、21日目に計2回、皮下（0.16～10 μ g/body、0.2mL）又は筋肉内（0.16～5 μ g/body、0.1mL）接種した結果、週齢の影響はマウス系統間で差が認められた。すなわち、DBA/2及びCBA系マウスでは、6週齢の方が3週齢に比較して高い抗体応答を示したが、OF1系マウスでは、1回接種後21日目の抗PRP抗体価は3週齢マウスの方が高かった。接種経路については、皮下接種と筋肉内接種時の抗体応答に明らかな違いは認められなかった。また、抗体応答の程度はマウスの系統、週齢及び接種経路により異なるものの、その応答性は本剤の接種用量に依存していた。

本剤接種時のウサギにおける免疫原性が、2.30～2.60kgのNew Zealand Hy/Cr雑種アルビノウサギ（雌雄）を用いて検討された。本剤（10 μ g/body）は2週間毎に計3回、皮下接種し、試験開始日及び2、4、6週目に採血し、抗PRP抗体価及び血清のインフルエンザ菌b型Madigan株に対する殺菌活性を測定した。本剤は1回目皮下接種後から抗PRP抗体産生を誘導し、2回目の接種後には6匹中4匹で抗体産生増強効果が認められた。抗PRP抗体価と血清の殺菌活性との相関が認められ、抗PRP抗体は殺菌的機能を有していることが示された。また、約2kgのNew Zealandウサギ（雌）に試験開始日、71日目に本剤（10 μ g/body）を筋肉内接種した結果、1回目筋肉内接種後から抗PRP抗体産生を誘導し、2回目接種後には、1回目接種後の最高抗体価を上回る抗体産生増強効果が認められた。また、抗PRP抗体価と血清の殺菌活性との相関も認められ、抗PRP抗体は殺菌的機能を有していることが示された。

本剤又はPRP-AH+TT接種時のモルモットにおける免疫原性の比較が、体重300g前後のHartley系モルモット（雌）を用いて行われた。本剤（2.5又は10 μ g/body）又はPRP-AH（10 μ g/body）とTT（20 μ g/body）は2週間毎に計3回、皮下接種し、試験開始日及び2、3、4、5、6、26、52週間に採血し、抗PRP抗体価、血清のインフルエンザ菌b型Madigan株に対する殺菌活性及び抗TT抗体価を測定した。本剤接種群では接種用量2.5、10 μ gともに2回目接種後に、抗PRP抗体価の上昇を示す個体が認められ、3回接種後には、本剤10 μ g接種群の方がより高い抗PRP抗体価の上昇が認められた。一方、抗TT抗体価については実験期間を通じて本剤群の方が、抗体価が低い傾向が認められた。マウスの試験においても、抗TT抗体価については、低い傾向が認められている。なお、血清中和活性との相関が認められ、抗TT抗体は生物学的機能を有していることが示された。

本剤又はPRP-AH筋肉内接種時のウサギにおける抗体応答が抗PRP抗体価を指標に比較され、本剤は1回目接種後からウサギに抗PRP抗体産生を誘導した。さらに、2回目接種後には、1回目接種後の最高抗体価を上回る抗体産生増強効果が認められた。

以上の結果より、申請者は本剤の抗体産生メカニズムについて以下のように説明している。*in vivo*試験において、PRP-AHは抗PRP抗体を産生することができないが、PRP-AHとTTを結合した本剤では、いずれの*in vivo*試験においても本剤1回接種により抗PRP抗体産生の応答を示し、さらに本剤の反復接種により明らかな抗PRP抗体産生の増強を認めた。これらの結果は、PRPによるB細胞刺激と同時に、PRP-AHに結合したTTの刺激によりT細胞の介助によって本剤が免疫原性を発揮で

きると考えられ、本剤反復接種による抗体産生の増強作用は T 細胞依存性反応によるものと示唆されるとしている。

(2) 安全性薬理試験

該当する試験は実施されていない。

(3) 薬力学的薬物相互作用試験

該当する試験は実施されていない。

<審査の概略>

(1) 安全性薬理試験が実施されていないことについて

機構は、安全性薬理試験を実施する必要はないと判断した理由を説明するよう申請者に求め、以下の説明がなされた。

本剤は 1992 年にフランスで承認されて以降、現在までに 100 ヶ国以上で承認され、市販されているが、延べ 1 億回以上の接種が行われた使用実績からは、本剤が中枢神経系、呼吸器系及び心血管系の生命維持機能に悪影響を及ぼす可能性は示唆されていない。毒性試験において、ラット及びカニクイザルに臨床用量の 25 倍の用量を 13 週間間歇反復投与したが、呼吸速拍・緩除や不整呼吸等の呼吸器系に及ぼす影響は認められず、中枢神経系が関与するような姿勢及び行動の異常も認められなかった。カニクイザルの試験では、さらに血圧測定及び心電図検査（心拍数、PR、QT、P 及び QRS）を実施したが、心血管系に及ぼす影響は認められなかった。これらの知見から、本剤の国内開発及び申請にあたり安全性薬理試験を実施しなくとも良いと判断した。なお、国内第Ⅲ相試験における全身性の副反応としては、不機嫌（14.7%）の他、不眠（症）、食欲不振、下痢、嘔吐、傾眠、発熱が 1%以上 10%未満の頻度で見られたが、これらは海外の臨床試験で既に報告されている症状とも類似していた。さらに、国内第Ⅲ相試験期間中の死亡例はなく、本剤接種に関連性のある重篤な有害事象も認められなかった。したがって、海外の成績と同様に日本人においても本剤が中枢神経系、呼吸器系及び心血管系に対して影響を及ぼす可能性は低いと考えられる。

機構は、以上の申請者の説明について了承した。

(2) 他のワクチンとの相互作用について

薬力学的薬物相互作用試験を実施していないことについて申請者は以下の見解を示している。

本剤と DTaP の接種時期が重なることから、市販後に DTaP が本剤と同時に接種される可能性がある。海外では本剤は DTaP 等の他ワクチンと同時に接種されている。米国 CDC の予防接種ガイドライン（*MMWR*, 1994; 43(RR-1); 1-40）においても、一般的にワクチンの併用接種は有効性及び安全性に問題はないとされており、本剤との併用を禁止されているワクチンはない。

特に破傷風トキソイドに対する抗体価については、マウスとモルモットによる試験において、結合させた本剤と PRP-AH と TT を同時に接種したものを比較した際、本剤接種による抗 TT 抗体価の上昇は、結合させてないものの同時接種よりも高くない。本剤は抗 TT 抗体を誘導するため、DTaP との併用による破傷風に対する過剰免疫が理論上では懸念されるが、実際には海外における臨床試験においても過剰免疫は認められていないと申請者は説明した。

機構は、現時点で、動物を用いた薬力学的薬物相互作用試験を実施する必要はないと判断するが、本剤と国内 DTaP とを同時に接種した場合に影響が生じる可能性は否定できない（4. 臨床に関する審査の概略（6）DTP ワクチンとの併用についてを参照）と考える。

（3）動物での抗体価上昇とヒトでの感染予防効果の関連について

機構は、動物での本剤投与による抗体価の上昇がヒトでの感染予防効果につながることを根拠について申請者に確認した。その概略は以下の通りである。

ウサギにおいて、本剤接種により抗 PRP 抗体価の上昇が認められた血清はインフルエンザ菌 b 型株に対する殺菌力も併せて増強することから、この抗 PRP 抗体は殺菌作用を示す機能的な抗体であることが示された。このような抗 PRP 抗体の殺菌活性は、参考資料ではあるがフィンランド免疫原性試験（No.7）の臨床試験で検討され、本剤 2 回接種後の血清では、抗 PRP 抗体価の上昇に伴い、殺菌活性の上昇が確認されている。また、本剤は、マウス、モルモット、ウサギ及びヒトで抗 PRP 抗体産生を誘導することが明らかにされており、このことは TT の刺激による T 細胞の介助により、B 細胞による抗 PRP 抗体産生を種を問わず誘導可能であることを裏付けるものである。本剤は T 細胞及び B 細胞を保有する哺乳類であれば、その抗体価（実数値）に差はあれ抗 PRP 抗体産生を誘導することが可能と推測できる。したがって、*in vivo* の非臨床薬理試験において、本剤接種による血清中の抗体産生の誘導が確認されれば、ヒトにおいても抗 PRP 抗体の上昇が得られ、感染予防効果が期待できると考えている。

機構は、申請者の説明を了承した。

（4）薬理試験データパッケージについて

本申請の評価資料として提出された試験結果は、マウスにおける免疫原性試験 1 試験のみであった。これについて申請者は、評価資料として提出したマウスにおける免疫原性試験の結果は、参考資料として提出した欧州での申請に用いたマウス免疫原性試験成績を再現しており、欧州での申請時の試験成績は参考資料ではあるものの本剤の薬理特性を示すものであると主張している。

機構は、評価資料として提出された試験成績は 1 試験のみであるが、参考資料の試験成績も踏まえ、現時点で追加の薬理試験を実施する必要はないと判断した。

（ii）薬物動態試験成績の概要

該当する試験は実施されていない。

（iii）毒性試験成績の概要

<提出された資料の概要>

本剤及び製造に用いられたアジピン酸ジヒドラジド（ADH）、エチルジメチルアミノプロピルカルボジイミド（EDAC）について以下の試験が実施されている。

本剤の単回投与毒性試験として、マウスは 1000µg/kg（PRP 量）を濃度 40µg/mL の投与液、ラットは 400µg/kg を濃度 40µg/mL の投与液を用いて静脈内投与で検討された。一般状態に変化はなく概略の致死量はマウスで 1000µg/kg、ラットで 400µg/kg 以上と判断された。反復投与毒性試験として、ラットは 80µg/kg を濃度 40µg/mL の投与液を用い週 2 回で 13 週間の皮下投与、カニクイザルは

40 μ g/kg を濃度 40 μ g/mL の投与液を用い週 2 回で 13 週間の筋肉内投与がされた。いずれも動物の死亡は認められず、ラットでは体重の軽度な増加抑制（雄のみ）、脾臓のリンパ過形成と注射部位の線維化を伴う炎症が雌雄で認められた。サルでは末梢血中の好酸球の軽度増加と投与部位の炎症が認められ、無毒性量はそれぞれ 80 μ g/kg 及び 40 μ g/kg 未満と判定された。

本剤の局所刺激性試験はウサギで 10 μ g/body を濃度 20 μ g/mL の投与液を用いて皮下に単回投与したが刺激性は認められなかった。その他の試験としてウサギでのアルサス反応試験及びモルモットを用いた遅延型及び即時型過敏反応試験が用量を変えて 2 試験実施された。その結果、アルサス反応及び遅延型過敏反応は認められなかったが、即時型過敏反応については、高用量群（8 μ g/body 皮内投与で感作し、20 日後に 2 μ g/body 皮内投与及び 40 μ g/body 静脈内投与で 1 回目誘発、36 日後に 40 μ g/body 静脈内投与で 2 回目誘発）の 2 回目誘発で、9 匹中 2 匹に軽度のアナフィラキシー反応（鼻なめ、後肢による鼻の引掻き、くしゃみ又は 3 回以上のせき）が認められている。

ADH に関しては、マウス、ラットへの腹腔内単回投与毒性試験が実施され、概略の致死量は兩種雌雄とも 2000mg/kg を超えると判断された。一般状態にも投与による影響は認められていない。遺伝毒性試験としては *S. typhimurium* TA98、TA100、TA1535、TA1537 及び TA1538 を 0.1 から 10mg/plate で処理した復帰突然変異試験、チャイニーズ・ハムスター肺組織由来株化細胞（V79）を 10 から 1000 μ g/plate で 4 時間処理した染色体異常誘発試験、チャイニーズ・ハムスター肺組織由来株化細胞（V79）を 93 から 15000 μ g/plate で非代謝活性化 2 時間処理又は代謝活性化 6 時間処理した遺伝子突然変異試験及び 1000mg/kg/day と 4000mg/kg/day を濃度 100mg/mL の投与液を用いて、マウスに 2 日間腹腔内反復投与し、最終投与 6 時間後の骨髓細胞における小核誘発試験が実施された。代謝活性化の有無に係わらずいずれの試験においても遺伝毒性は認められていない。

EDAC に関しては、マウスとラットを用いた腹腔内単回投与毒性試験が実施され、マウスでの概略の致死量は雄 70mg/kg 及び雌 100mg/kg、ラットは雌雄とも 70mg/kg と判断されている。遺伝毒性については *S. typhimurium* TA98、TA100、TA1535、TA1537 及び TA1538 を 0.1 から 10mg/plate で復帰突然変異試験、10 及び 40mg/kg/day を濃度 1 及び 4mg/mL の投与液を用い、マウスの腹腔内に 2 日間反復投与し、最終投与 6 時間後の骨髓細胞における小核誘発能試験が検討されているが、いずれの試験結果も陰性であった。

<審査の概略>

機構は、提出された資料について特段の問題は無いと判断したが、本剤には TT が含まれるため、TT 含有ワクチン接種者において本剤投与によりアナフィラキシー反応等が惹起される頻度が上昇する可能性について申請者に確認した。その概略は以下の通りである。

TT 接種歴とアナフィラキシー反応発現率の関連について検討した成績はない。しかし海外の使用実績において乳幼児のアナフィラキシー反応が報告されるのは非常に希で（約 5.500 万 dose に対しアナフィラキシー関連報告 5 件）あることや、TT 含有ワクチン接種既往者でアナフィラキシー反応が増加するという報告もない。しかしながら、TT による感作回数が増加すれば理論上、アレルギー反応が増加する可能性は否定できないことより、添付文書において「接種不相当者」及び「接種上の注意」に記載し注意喚起する事とした。

機構は、追加の毒性試験等の必要性は無いと判断するが、安全性情報の収集に関しては、4. 臨床に関する資料の項に記載した。

4. 臨床に関する資料

<提出された臨床試験結果の概略>

有効性及び安全性の評価資料として、国内試験は第Ⅲ相試験 1 試験 (DF098-01)、海外試験はフランス免疫原性試験 7 試験 (No.5、No.6、No.8、No.9、No.10、No.11、No.12) の成績が提出された。なお、上記に加えて、安全性評価資料として、フランスにおける大規模安全性試験 (No.17) が提出された。また、参考資料として、海外感染予防試験 2 試験 (No.15、No.16) 及びその他の海外試験 7 試験 (No.1、No.2、No.3、No.4、No.7、No.13、No.14) が提出された。

【評価資料】

(1) 国内臨床試験

1) 国内第Ⅲ相試験 DF098-01 (添付資料 5.3.5.2-1、<2000 年 2 月～2002 年 6 月>、公表論文：富樫武弘. 小児感染免疫 2002; 14: 241-245.他)

日本の健康乳児における本剤の免疫原性及び安全性を検討し、外国臨床データの外挿可能性を確認する目的で、2～6 ヶ月齢の健康乳児を対象とした多施設共同非盲検非対照試験が国内 19 施設で実施された。

用法・用量は本剤を Hib 多糖の量として 10 μ g/回を皮下接種し、接種回数及び接種間隔は治験前期 (初回接種) に 4 週間隔で 3 回、初回接種終了 1 年後の治験後期 (追加接種) に 1 回の計 4 回接種とされた。

免疫原性の主要評価項目は 3 回目接種 4 週後における 1 μ g/mL 以上の抗体保有率とされ、副次評価項目として、①3 回目接種 4 週後における 0.15 μ g/mL 以上の抗体保有率と幾何平均抗体価 (GMT)、②追加接種前及び追加接種 4 週後における 1 μ g/mL 以上の抗体保有率、0.15 μ g/mL 以上の抗体保有率及び GMT の 2 項目が設定された。安全性については各接種の 7 日後までに発現した局所反応 (注射部発赤、注射部腫脹、注射部硬結、注射部疼痛、その他) 及び全身反応 (発熱、不機嫌、異常号泣、食欲不振、嘔吐、下痢、不眠、傾眠、その他) について調査された。

目標登録例数 120 例に対し 122 例が登録され、代諾者の申し出により 3 回目以降の接種を中止した 1 例を除いた 121 例が 3 回の初回接種 (治験前期) を完了した。追加接種を含む 4 回の接種を完了した被験者は 118 例であった。免疫原性解析対象集団は最大の解析対象集団 (Full Analysis Set: FAS) とし、治験薬が 3 回接種されて、その 4～6 週後の抗体価測定結果が得られた被験者と定義された。本試験においては全登録例 122 例から「選択・除外基準違反」、「来院時期逸脱」、「中止」各 1 例を除外した 119 例が FAS として採用された。安全性解析対象集団は登録された全 122 例とされた。

FAS として採用された 119 例における背景因子別の内訳について、男児は 64 例 (53.8%)、女児は 55 例 (46.2%) であった。月齢は平均 4.1 ヶ月で、5 ヶ月齢が最も多く 26.1% (31 例)、次いで 3 ヶ月齢 23.5% (28 例)、6 ヶ月齢 21.0% (25 例)、2 ヶ月齢 17.6% (21 例)、4 ヶ月齢 11.8% (14 例) の順であった。治験薬接種前の抗 PRP 抗体価は、0.15 μ g/mL 未満が 86.6% (103 例) であったが、0.15 μ g/mL 以上の被験者が 13.4% (16 例)、1 μ g/mL 以上の被験者が 2.5% (3 例) 認められた。

有効性について、免疫原性の主要評価項目である 1 μ g/mL 以上の抗体保有率、副次評価項目である 0.15 μ g/mL 以上の抗体保有率、及び GMT は表 5 の通りであった。