

## 審議結果報告書

平成 21 年 9 月 8 日  
医薬食品局審査管理課

[販 売 名] サーバリックス

[一 般 名] 組換え沈降 2 価ヒトパピローマウイルス様粒子ワクチン  
(イラクサギンウワバ細胞由来)

[申 請 者] グラクソ・スミスクライン株式会社

[申請年月日] 平成 19 年 9 月 26 日

### [審 議 結 果]

平成 21 年 8 月 31 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上程することとされた。

なお、本品目は生物由来製品に該当し、再審査期間は 8 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 21 年 8 月 20 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、以下のとおりである。

### 記

[販 売 名]	サーバリックス
[一 般 名]	組換え沈降 2 価ヒトパピローマウイルス様粒子ワクチン (イラクサギンウワバ細胞由来)
[申 請 者 名]	グラクソ・スミスクライン株式会社
[申請年月日]	平成 19 年 9 月 26 日
[剤型・含量]	1 シリンジ中に有効成分として HPV-16 L1 VLP 20 $\mu$ g 及び HPV-18 L1 VLP 20 $\mu$ g を含有する薬液 0.5mL (単回投与量) が充填された注射剤
[申請区分]	医療用医薬品 (1) 新有効成分含有医薬品
[特 記 事 項]	優先審査 生物学的製剤基準 (案) 「組換え沈降 2 価ヒトパピローマウイルス様粒子ワクチン (イラクサギンウワバ細胞由来)」が提出されている。
[審査担当部]	生物系審査第二部



## 審査報告 (1)

平成 21 年 6 月 22 日

### I. 申請品目

[販 売 名]	サーバリックス
[一 般 名]	組換え沈降 2 価ヒトパピローマウイルスワクチン (■細胞由来) (仮)
[申 請 者]	グラクソ・スミスクライン株式会社
[申請年月日]	平成 19 年 9 月 26 日
[剤型・含量]	1 シリンジ中に、有効成分として HPV-16 L1 VLP 抗原 20 $\mu$ g 及び HPV-18 L1 VLP 抗原 20 $\mu$ g を含有する薬液 0.5mL (単回投与量) が充填された注射剤
[申請時効能・効果]	<p>本剤は、癌原性ヒトパピローマウイルス (HPV) 16 型及び 18 型による以下の前駆病変及び感染を防ぎ、子宮頸癌 (扁平上皮細胞癌、腺癌) を予防する。</p> <ul style="list-style-type: none"><li>・ 子宮頸部上皮内腫瘍 (CIN) 2 及び 3</li><li>・ 子宮頸部上皮内腫瘍 (CIN) 1</li><li>・ 細胞学的異常 (意義不明異型扁平上皮細胞 (ASC-US)、軽度扁平上皮内病変 (LSIL) 及び高度扁平上皮内病変 (HSIL))</li><li>・ 持続感染</li><li>・ 一時感染</li></ul> <p>本剤は HPV-16 型及び 18 型に加え、系統発生的に近縁な HPV-31 型及び 45 型等の他の癌原性 HPV 型による持続感染に対しても効果が認められる。</p>
[申請時用法・用量]	本剤は 10 歳以上の女性に、通常、1 回 0.5mL を 0、1、6 ヶ月後に 3 回、上腕の三角筋部に筋肉内接種する。
[特記事項]	優先審査 生物学的製剤基準 (案)「組換え沈降 2 価ヒトパピローマウイルスワクチン (■細胞由来) (仮)」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

本申請において、申請者が提出した資料及び独立行政法人医薬品医療機器総合機構 (以下、機構) からの照会事項に対する申請者の回答の概略は、以下のようであった。

#### 1. 起源又は発見の経緯及び外国における使用状況に関する資料

子宮頸癌は、世界中の女性で乳癌に次いで多く発症する癌であり、その主要原因はヒト

パピローマウイルス (HPV) 感染であるとされている (*N Engl J Med.*, 348 (6) :518-27, 2003、*The Aetiology of Cervical Cancer. Published by NHS Cancer Screening Programmes*, 1-80, 2005)。HPV はパポウイルス科に属する約 8k 塩基対の 2 本鎖環状 DNA ウイルスであり、これまでに 100 以上の遺伝子型が報告されている。少なくとも 30 種類の HPV が性器粘膜に感染することが確認されており、HPV 感染は性的に成熟した成人の間で広く認められることが報告されている。HPV 感染の多くは一過性であり自然免疫により排除されるとの報告もあるが (*Lancet*, 364 (9446) :1678-83, 2004、*J Infect Dis.*, 191 (11) :1808-16, 2005)、その分子基盤も含め詳細は不明である。また、およそ 16 種類の HPV が癌原性 HPV として知られており、その感染が持続すると、子宮頸癌の発症リスクが高まることが明らかとなっている (*N Engl J Med.*, 338 (7) :423-8, 1998、*J Pediatr.*, 132 (2) :277-84, 1998、*Virology*, 337 (1) :76-84, 2005、*J Natl Cancer*, 97 (14) :1072-9, 2005)。癌原性 HPV としては、HPV-16 及び HPV-18 の 2 種類が高頻度で検出されており、全世界の子宮頸癌の約 70% (北米では 76%) から HPV-16 又は HPV-18 の検出が報告されている (*Br J Cancer*, 88:63-73, 2003、*Int J Cancer*, 111:278-285, 2004、*Int J Cancer*, 121:621-632, 2007)。

本邦の人口動態統計における 2005 年の子宮頸癌による死亡率は人口 10 万人あたり 3.8 人とされ、近年 20~30 歳代の女性において増加傾向が認められることが報告されている (国立がんセンター がん対策情報センター, 2007)。本邦における子宮頸癌患者及び子宮頸部異形成患者の HPV 感染率は海外の報告同様ほぼ 100%とされ、Miura らの報告によれば、検出される HPV 型は、子宮頸癌では HPV-16 が最も多く、次いで、HPV-18、HPV-52、HPV-58 の順、また、高度子宮扁平上皮内病変 (HSIL) では、HPV-16 が最も多く、次いで、HPV-52、HPV-58、HPV-51 の順とされている。また、本邦における子宮頸癌における HPV-16 と HPV-18 の検出頻度は 58.5%との報告もあるが (*Int J Cancer*, 119:2713-5, 2006)、検体の採取方法あるいは検査方法等が一貫しておらず、一定の評価方法に基づく全国レベルの結果は、現時点では得られていない。

子宮頸癌と診断された場合、国内外を問わず基本的に子宮摘出術や放射線療法などの根治的な治療が行われ、子宮の温存が困難な状況となる場合が多い。本邦における子宮頸癌の予防策は、現在、子宮がん検診が中心である。その対象年齢は 2004 年より 30 歳以上から 20 歳以上に引き下げられたが、その受診率は 10%台前半 (厚生労働省、平成 16 年度地域保健・老人保健事業報告の概況)、あるいは 30%以下 (*医学のあゆみ*, 224:669-80, 2008) と報告されており、二次予防として十分活用されていない。近年、特に 30 歳代の女性における子宮頸癌の推定罹患率及び死亡率が増加傾向にあることも踏まえ、子宮頸癌の予防策の強化が必要といわれている。

サーバリックス (Cervarix<sup>®</sup>、以下、本剤) は、GSK Biologicals 社 (ベルギー) が、XXXXXXXXXX (米国) との連携の下に、癌原性 HPV による子宮頸癌の予防を適応症として開発した HPV ワクチンである。1 回接種量 0.5mL 中、有効成分としてウイルス様粒子 (VLP) を形成した HPV-16 L1 たん白質 20 $\mu$ g 及び HPV-18 L1 たん白質 20 $\mu$ g を含有し、水酸化アルミニウム (アルミニウムとして 500 $\mu$ g) 及び 3-脱アシル化-4'-モノホスホリルリピッド A (MPL) 50 $\mu$ g からなる AS04 アジュバントが添加されている。L1 VLP を抗原とすることによりその特異抗体を誘導し、自然免疫応答の活性化に寄与することが知られる MPL を含有するアジュバントの添加により持続的な高い抗体価及び特異的な細胞性免疫の誘導を意図して

いる。

本剤は、子宮頸癌の予防ワクチンとして、95カ国で承認され（2009年3月9日時点）、2009年5月までの全世界における累積供給数は約680万接種回数分と報告されている。オーストラリアで2007年5月に承認されている他、EUでは、HPV-16及びHPV-18に起因する子宮頸部前癌病変及び子宮頸癌を予防するワクチンとして2007年9月に承認を取得している。なお、米国では、2007年3月に申請され、2009年6月現在、審査中である。

本邦においては、2006年6月以降、海外でのHPVワクチン承認に伴い、2006年10月23日付で日本産科婦人科学会より「子宮頸癌（HPV）ワクチンの早期承認に関する要望書」が提出されるなど子宮頸癌予防策の一つとしてHPVワクチンの臨床使用を求める医療上及び社会的関心が高まり、厚生労働省から申請者に、本剤の審査を迅速かつ適正に進めるため、国内臨床試験が実施されている中、海外臨床試験成績等をもって製造販売承認申請するよう指導が行われた。これを受け、2007年9月、申請者は、海外臨床試験成績を基に臨床データパッケージを構築し、本邦で実施中の臨床試験（HPV-032試験＜第Ⅱ相二重盲検比較試験、対象年齢20～25歳＞及びHPV-046試験＜第Ⅲ相非盲検試験、対象年齢10～15歳＞）成績については、得られ次第当局に提出することとして製造販売承認申請を行った。なお、本剤は、昭和61年3月12日付発出薬審2第98号「注射剤に溶解液等を組み合わせたキット製品等の取扱いについて」に基づき、「キット製品」として申請された。また、申請後、本剤接種により予防効果が期待される子宮頸癌の重篤性、その予防対策としての本剤の有用性等から、2008年1月9日付で優先審査の対象とされている。申請時に実施中であったHPV-046試験については、20■■年■■月■■日付で総括報告書が提出され、HPV-032試験については、中間解析Ⅱ総括報告書が20■■年■■月に提出されており、最終総括報告書は、20■■年■■月末提出予定と報告されている。

## 2. 品質に関する資料

### <提出された資料の概略>

本剤は、有効成分として遺伝子組換え技術を応用して製造されたヒトパピローマウイルス（HPV）16型及び18型のカルボキシ末端切断L1たん白質がそれぞれ会合したウイルス様粒子（以下、VLP）を含有し、3-脱アシル化-4'-モノホスホリルリピッドA（以下、MPL）と水酸化アルミニウムからなるアジュバント複合体を含む注射用シリンジ充てん製剤である。

#### (1) 原薬

##### 1) 製造方法

製造工程は、組換えバキュロウイルスシードとセルバンクを用いた接種原の製造、L1ハーベスタの製造及びL1たん白質の抽出・精製からなる。■■■■細胞株については■■■■マスターセルバンク（MCB）及びワーキングセルバンク（WCB）が確立され、バキュロウイルスシードについてはHPV-16L1及びHPV-18L1それぞれにマスターシード（MS）及びワーキングシード（WS）のシード/ロットシステムが確立されている。■■■■細胞セルバンクシステムはHPV-16L1 VLP及びHPV-18L1 VLPの製造において共通であるが、それ以外については同様の操作手順で別々に製造される。概略は以下のとおりである。

## ① セルバンクシステム

細胞の親株となるセルバンクは、イラクサギンウワバ属( )の卵に由来する細胞株を起点として、回を超える継代を繰り返して樹立され、に供与された。株は、その後、GSK Biologicals社においてクローニングを経て樹立された細胞株(プレマスターセルバンク)であり、無血清培地での浮遊培養が可能である。

MCBは、プレマスターセルバンクを振とうフラスコで継代培養して得(継代)、細胞は分注後、液体窒素下で凍結保存されている。更新の予定はなく、また、保存期間中の品質管理試験の実施も予定されていない。

WCBは、MCBを振とうフラスコで継代培養して得(継代)、MCB同様、分注後、凍結保存されている。WCB作製時と同一の手順によりMCBより更新され、作製時と同じ品質管理試験項目(後述)を実施して適合であることを確認するとともに、更新したWCBを用いて細胞株安定性、バキュロウイルスを感染させたときのウイルス生産量、目的とする遺伝子組換えたん白質発現濃度や品質に関する試験を実施して、基準に適合することを確認することと定められている。

セルバンクの品質管理試験計画は、哺乳動物細胞株を対象とするガイドライン(生物薬品の品質：ヒト又は動物細胞株を用いて製造されるバイオテクノロジー応用医薬品のウイルス安全性評価<ICHQ5A>、生物薬品の品質：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)製造用細胞基材の由来、調製及び特性解析<ICHQ5D>及び生物製剤生産向けの*in vitro*細胞基材として動物細胞の使用に関する基準<WHO技術報告シリーズ878号、1998年—付録1)に従って定められた。セルバンク作製時の品質管理試験として、MCB、WCBそれぞれに対して、確認試験(アイソザイム分析)、純度試験(DNAフィンガープリンティング)、無菌試験(メンブランフィルター法、直接法)、マイコプラズマ否定試験(培養法、DNA染色法)、スピロプラズマ否定試験(培養法、DNA染色法)、外来性ウイルス否定試験(アフリカミドリザル腎細胞(Vero細胞)、ヒト二倍体細胞(MRC-5細胞)、BHK-21細胞、細胞の4種生細胞に対する細胞破碎液添加試験)が実施された。MCBについては、さらに、確認試験(光学顕微鏡及び電子顕微鏡による形態学的試験)、外来性ウイルス否定試験(成体マウス、乳飲みマウス、モルモット、発育鶏卵に対する細胞破碎液接種)、レトロウイルス否定試験(透過型電子顕微鏡、細胞感染後の高感度逆転写酵素活性(PERT)定量)が実施された。これらにつき検討された結果、MCB、WCBとも、検討した項目にいずれも適合していることが確認された。

製造用継代回数(およそ継代)を超えて継代まで培養された細胞(EPC)の特性及び安全性について解析された。確認試験(光学顕微鏡及び電子顕微鏡による形態学的試験、アイソザイム分析)、純度試験(DNAフィンガープリンティング)、外来性ウイルス否定試験(Vero細胞、MRC-5細胞、BHK-21細胞、細胞の4種生細胞に対する細胞破碎液添加試験及び共存培養試験、成体マウス、乳飲みマウス、モルモット、発育鶏卵に対する細胞破碎液接種及び生細胞接種)、レトロウイルス否定試験(透過型電子顕微鏡、細胞感染後の高感度逆転写酵素活性(PERT)定量)が実施され、いずれの項目も適合と判定された。なお、確認試験(アイソザイム分析)、純度試験(DNAフィンガープリンティング)、細胞倍加数(PDL)、バキュロウイルスを感染させたときのウイルス生産量、

目的とする遺伝子組換えたん白質発現濃度による分析結果から、細胞株は 継代以降少なくとも 継代まで安定していることが示されたと申請者は説明している。

保存期間中の WCB の安定性については、毎年 1 回平均細胞倍加数の確認により評価しており、20 年 月現在、液体窒素（-196℃）中で 5 年間の安定性が確認され、今後も継続する旨を申請者は説明している。

セルバンクの品質管理試験項目には設定されていないが、特性解析として以下につき検討された。

細胞は昆虫に由来することから、昆虫ウイルス及びヒトを含む動物に感染することが知られている昆虫媒介性アルボウイルスの存在を確認するため、① 細胞及び 細胞を用いた細胞変性効果及び赤血球凝集効果の確認（MCB 及び EPC）、② 検出用昆虫細胞と共培養したときのイラクサギンウバ感染性昆虫ウイルス及び 由来昆虫ウイルスの PCR 検出（MCB 及び EPC）、③ 検出用昆虫細胞と共培養したときのイラクサギンウバ感染性昆虫ウイルスの PCR 検出（MCB 及び EPC）、④ 存在下ウイルス RNA の直接標識による検出（MCB、WCB 及び EPC）が試みられた。その結果、いずれの試験でもウイルスは全く検出されず、現行の MCB 及び WCB、EPC のいずれの細胞にも外来性昆虫ウイルス及びアルボウイルスの混入はないものと結論された。

細胞の造腫瘍性を評価するために、軟寒天培地での増殖能測定（*in vitro* 試験）とヌードマウスに移植しての腫瘍形成能測定（*in vivo* 試験）が実施された。その結果、軟寒天培地でコロニーは形成するが、ヌードマウスにおける腫瘍形成は認められなかったことから、細胞に造腫瘍性はないと結論された。

細胞の微細構造を電子顕微鏡で解析した結果、細胞質内に約 nm の電子密度の高い亜球状粒子様構造の集合体（細胞質粒子様構造体）が認められたことから、その特徴や性状について検討された。その結果から、申請者は細胞質粒子様構造体については、①細胞内の出現率は低い（%未満）がクローニングでは除去できない、②これまで核内に検出されたことはない、③ストレス下の培養でも増加せず、また、複製能力は観察されない、④哺乳類細胞、昆虫細胞又は動物個体に感染する性質を持たない、⑤これまでセルバンクのスクリーニング結果において昆虫ウイルス等の病原体が検出されていないことから、昆虫ウイルスであるとは考えにくい、⑥製造工程（後述）のウイルス除去能力も踏まえると製品の安全性には影響を及ぼさない、と結論づけている。

## ② 組換えバキュロウイルスのシード/ロットシステム

HPV-16 L1 改変遺伝子をコードするバキュロウイルス組換え体（ ）は、組換えバキュロウイルストランスファーベクター とプロテアーゼ欠損核多角体由来ベクター（社）を用いて作製され、マスターシード（MS）及びワーキングシード（WS）の 2 段階シード/ロットシステムで管理されている。シード/ロットシステムの確立方法、管理方法は以下のとおりである。

には、カルボキシ末端の 残基が改変された アミノ酸からなる HPV-16 L1 たん白質をコードする遺伝子がクローニングされており、その配列はドイツがん研究センターの尖圭コンジローマ標本から分離された DNA の塩基配列（配列）と同一である。 は、バキュロウイルスゲノムと相同性を有する配列の間に、ポリヘドリンプロモーター及びその下流に 配列を有しており、相同組換えによ



りバキュロウイルスベクターに目的とする配列を導入することが可能である。

■■■■■ は、リン酸カルシウム共沈法を用いて ■■■■■ 及び ■■■■■ を ■■■■■ 細胞にトランスフェクトし、これらベクター間の相同組換えにより作製、プラーク精製にて分離された（プレマスターシード）。■■■■■ における改変 HPV-16 L1 遺伝子領域並びにその 3' 及び 5' 近傍フランキング領域の塩基配列決定により、■■■■■ にコードされた配列が保存されていることが確認された。また、■■■■■ を ■■■■■ 細胞に感染させると HPV-16 L1 たん白質が合成され、このたん白質の SDS-PAGE による分子量（約 ■■■ kDa）、VLP の形成、HPV-16 L1 VLP を特異的に認識するモノクローナル抗体（■■■ mAb）との反応性が確認された。プレマスターシードは、細菌、イースト菌、マイコプラズマ及び昆虫フロックハウスウイルス（FHV）の RNA 変異体について全て陰性であることが確認された。

HPV-16 L1 マスターシード（以下、MS）は、■■■■■ MCB（■■ 継代）から細胞を必要量まで増やした後（■■ 継代まで）、プレマスターシードを感染多重度（MOI）が ■■■ となるよう感染させ、■■ 日間培養後、遠心により細胞を沈殿させ、その上清を回収して得た。最終濃度 ■■■ vol% となるようグリセロールが添加され、■■■■■ 容器（■■ mL）に分注して -70°C 以下で凍結保存されている。MS については少なくとも ■■■ 年間使用できる量が確保されているとされ、更新予定はない。

HPV-16 L1 ワーキングシード（以下、WS）は、細胞に MS を MOI が ■■■ となるよう感染させる他は MS 同様にして得、MS 同様に保存されている。WS については作製時と同一の手順で MS より更新し、作製時と同じ品質管理試験に加えて、シードの遺伝学的安定性、バキュロウイルスの産生量、L1 たん白質発現濃度及び品質の試験を実施して、基準に適合することを確認することと定められている。■■■■■ 対照細胞が MS 及び WS の作製と並行して準備され、MS 及び WS の品質管理試験（後述）に用いられた。

バキュロウイルスシード及び関連する対照細胞の品質管理試験計画については、哺乳動物細胞向けに確立されたガイドライン（前述）及び欧州薬局方の提言 2.6.16「ヒトで使用することを目的とするウイルスワクチンにおける外来性病原体の試験」等に従い、2005 年 3 月の The Committee for Medicinal Products for Human Use（CHMP）科学的助言に基づき作成された。

MS、WS それぞれについて、確認試験（HPV-16 L1 遺伝子型（PCR））、無菌試験（メンブランフィルター法）、マイコプラズマ否定試験（培養法及び DNA 染色法）、スピロプラズマ否定試験（培養法及び DNA 染色法）、ヒト型結核菌否定試験（培養法）、外来性ウイルス否定試験（Vero 細胞、MRC-5 細胞、BHK-21 細胞、■■■■■ 細胞の 4 種生細胞に対する細胞破砕液添加試験）、バキュロウイルス含量測定（感染価）が、さらに WS について、外来性ウイルス否定試験（成体マウス、乳飲みマウス、モルモットに対する細胞破砕液接種）、レトロウイルス否定試験（■■■■■ 細胞感染後の高感度逆転写酵素活性（PERT）定量）が実施されている。これらの試験の結果、導入された遺伝子が完全に維持されていること、バキュロウイルスの感染価が維持されていること、シードに外来性病原微生物の混入が認められないこと等が明らかにされた。また、対照細胞について、顕微鏡観察（培養期間中の細胞変性又は培養終了後の赤血球凝集ウイルスの混入）、確認試験（アイソザイム分析）、マイコプラズマ否定試験（培養法、DNA 染色法）、外来性ウイルス否定試験（Vero 細胞、

MRC-5 細胞、BHK-21 細胞、          細胞の 4 種生細胞に対する細胞破碎液添加試験) が実施され、外来性病原微生物の混入を示唆する結果は得られなかった。

この他、生物学的性質及び遺伝学的特性として以下につき検討された。

WS 及び対照細胞について、           RNA 変異体の検出 (直接検出法、           細胞感染後検出)、昆虫ウイルス及び昆虫媒介性アルボウイルスの検出試験 (           細胞及び            細胞を用いた細胞変性効果及び赤血球凝集効果の確認、検出用昆虫細胞と共培養した後のイラクサギンウバ感染性昆虫ウイルスの PCR 検出) が行われており、いずれのウイルスも検出されなかった。

MS、製造段階ハーベスト及び高細胞齢ハーベスト (通常の製造時の細胞齢を超えて            継代培養した            細胞より得られたハーベスト) からサンプリングした HPV-16 L1 組換えバキュロウイルスを用いて、HPV-16 L1 翻訳部位を含む近傍の塩基配列が決定され、L1 配列は理論配列と一致することが明らかにされた。同様のサンプルより抽出した DNA に対して、           後のサザンブロット解析が行われ、いずれのサンプルにおいても理論配列から想定される位置にバンドを認められた。これらの結果から、MS から製造段階、さらには製造段階以降まで継代しても、L1 挿入配列及びバキュロウイルス骨格配列が保存されているとされている。

シード/ロットの安定性については WS のウイルス感染価を毎年測定することにより確認されており、20       年        月現在、少なくとも        ヶ月安定であると申請者は説明している。

### ③ 接種原の製造

HPV-16 L1 接種原は以下のように製造される。

解凍した            WCB 細胞を、       mL 振とうフラスコで        継代、       mL 振とうフラスコで        継代培養した後 (前培養工程)、細胞密度、溶存酸素レベル、温度を管理しながら、無菌バイオリアクター (       L) で        日間培養する。培養終了時に MOI        で HPV-16 L1 バキュロウイルス WS を加え、溶存酸素レベル、温度を管理しながらさらに        日間培養する (感染工程)。その後、細胞/バキュロウイルス浮遊液に最終濃度        vol% となるようグリセロールを添加し、           容器に充てんして -70℃ で凍結保存する (HPV-16 L1 接種原)。

製造工程中、細胞解凍工程 (凍結保存剤の除去)、振とうフラスコ及びバイオリアクター内での培養工程、バキュロウイルス感染工程 (ウイルス接種及び            バイオリアクター培養 (感染工程)) について、それぞれ管理値が設定されており、うち、バキュロウイルス WS を添加する工程については、工程内管理試験 (          ) が設定されている。

HPV-18 L1 接種原は、           WCB に HPV-18 L1 バキュロウイルス WS を感染させる他は HPV-16 L1 接種原と同様に製造される。

HPV-16 L1 接種原及び HPV-18 L1 接種原の有効期間については、これまでに製造されたロット (HPV-16 : 開発用 1 ロット及び実生産用 3 ロット、HPV-18 : 開発用 2 ロット及び実生産用 3 ロット) においてバキュロウイルス力価及び L1 抗原産生能が評価されており、20       年        月現在        ヶ月と設定されている。

### ④ L1 ハーベスト

HPV-16 L1 ハーベストは以下のように製造される。

解凍した [ ] WCB 細胞を [ ] mL 振とうフラスコで [ ] 継代、 [ ] mL 振とうフラスコで [ ] 継代培養し、さらにバイオリアクター ([ ] L) で [ ] 日間、バイオリアクター ([ ] L) で [ ] 時間培養する (前培養工程)。得られた細胞浮遊液を [ ] L バイオリアクターに移し、細胞容量を [ ] L に調整して [ ] 時間培養後、HPV-16 L1 接種原を MOI [ ] となるよう添加する。その後、攪拌速度を減少させ、酸素供給を [ ] 時間停止する (バキュロウイルス吸着段階)。 [ ] / [ ] を新鮮培地とともに培養液に添加後、培養液量を [ ] L とし、酸素供給を回復させ、攪拌速度を増加する。 [ ] 日間培養後、 [ ] / [ ] を再度添加し、さらに [ ] 日間培養して細胞質に HPV-16 L1 を発現させ、感染細胞浮遊液を HPV-16 L1 ハーベストとして回収する。

製造工程中、細胞解凍工程 (凍結保存剤の除去)、全培養工程、バキュロウイルス感染工程について、それぞれ管理値が設定されており、うち、HPV-16 L1 接種原の添加及びウイルスの吸着工程については、工程内管理試験 ([ ]) が設定されている。

HPV-18 L1 ハーベストは、接種原が異なる他は HPV-16 L1 ハーベストと同様に製造される。

#### ⑤ L1 たん白質の抽出・精製

細胞浮遊液を遠心分離して、感染細胞をバイオリアクターから回収し、抽出緩衝液に懸濁して細胞質に発現した L1 たん白質を放出させる。その後、細胞破砕物を除去するため、クロスフロー (TFF) ろ過 ([ ]  $\mu\text{m}$ ) を行う (清澄化)。

HPV-16 L1 たん白質の精製工程は以下のとおりである。

- i) 陰イオン交換クロマトグラフィー工程 1 ([ ] ([ ] ) カラム)
- ii) 陰イオン交換クロマトグラフィー工程 2 ([ ] ([ ] ) カラム)
- iii) 親和性クロマトグラフィー工程 ([ ] ([ ] ) カラム)
- iv) ナノろ過工程 ([ ] フィルター)
- v) 限外ろ過工程
- vi) 陰イオン交換クロマトグラフィー工程 3 ([ ] ([ ] ) カラム)
- vii) 滅菌ろ過工程 (滅菌フィルター)

各工程の主たる目的は、i) ~iii) たん白質、DNA 等の不純物の除去、iv) ウイルス除去、v) [ ] ([ ]、以下、 [ ] ) の除去、並びに pH 及び導電率条件の変更 (これらにより L1 たん白質がウイルス様粒子 (VLP) へと自己会合する)、vi) 不純物 (たん白質) 除去、vii) 滅菌である。i) ~iv) の工程を一定濃度の [ ] 存在下で行うことで、VLP 会合が抑制され、L1 たん白質がカプソマー (五量体等) に保たれる。

得られた滅菌 HPV-16 L1 VLP 精製バルクは、直ちに単価吸着バルク ((2) 製剤、2) 製造方法の項参照) を製造するための専用スチール容器に充てんされ 18.0~25.0°C 又は 2~8°C で保存される (最大 3 日間)。

精製工程は、発熱性物質を含まない無菌性の緩衝液及び溶液を用いて密栓系でカラム及びポンプの操作が行われ、全てのフィルター及びクロマトグラフ溶媒は HPV-16 L1 たん白質専用である。精製工程は [ ] にて行われる。

製造工程中、遠心分離工程、緩衝液中からの L1 たん白質抽出工程、精製工程 i) ~iii) 及び vi) についてそれぞれ管理値が、また、精製工程 iv)、v) 及び vii) についてそれぞれ

フィルターの規格が設定されている。精製工程 v) については、工程内管理試験 ( 含量) が設定されている。

HPV-18 L1 精製バルクの製造方法は、精製工程 vi) において カラムが用いられる点以外は HPV-16L1 精製バルクと同様である。

#### ⑥ 重要工程・重要中間体

原薬の製造工程中、接種原の製造、L1 ハーベストの製造、L1 たん白質の精製が重要工程とされている。

重要中間体としては、接種原及び L1 ハーベストが設定されている。品質管理試験として、外来性ウイルス、細菌及び真菌を検出する試験に加えて、接種原及び接種原に含まれる組換えバキュロウイルス並びに製造に用いた対照細胞が形質又は遺伝子構造を維持していることを確認する試験等が実施される。なお、外来性ウイルス否定試験については、測定対象に組換えバキュロウイルスが含まれていることから、バキュロウイルス反応性の 抗血清を使用し、バキュロウイルスの感染価を中和して実施される。

接種原に係る品質管理試験として、接種原製造に用いられた対照細胞 (細胞及び細胞破砕液) と接種原に対して試験が設定されている。

対照細胞については、確認試験 (アイソザイム分析)、顕微鏡観察 (細胞変性又は赤血球凝集ウイルスの混入) が実施され、その破砕液については、マイコプラズマ否定試験 (培養法、DNA 染色法)、外来性ウイルス否定試験 (Vero 細胞、MRC-5 細胞、BHK-21 細胞、細胞) が実施される。接種原については、確認試験 (HPV-16/18 L1 遺伝子型 (PCR))、無菌試験 (メンブランフィルター法)、マイコプラズマ否定試験 (培養法、DNA 染色法)、ヒト型結核菌否定試験 (培養法)、外来性ウイルス否定試験 (Vero 細胞、MRC-5 細胞、BHK-21 細胞、細胞)、バキュロウイルス含量測定 (感染価) が実施される。

L1 ハーベストに係る品質管理としては、L1 ハーベスト製造に用いられた対照細胞 (細胞及び細胞破砕液) と L1 ハーベストに対して試験が設定されている。

対照細胞については、確認試験 (アイソザイム分析)、顕微鏡観察 (細胞変性又は赤血球凝集ウイルスの混入) が実施され、その細胞破砕液については、マイコプラズマ否定試験 (培養法)、外来性ウイルス否定試験 (Vero 細胞、MRC-5 細胞、BHK-21 細胞、細胞) が実施される。L1 ハーベストについては、無菌試験 (メンブランフィルター法)、マイコプラズマ否定試験 (培養法)、ヒト型結核菌否定試験 (培養法)、外来性ウイルス否定試験 (Vero 細胞、MRC-5 細胞、BHK-21 細胞、細胞) が実施される。

また、 WCB、WS、接種原、滅菌精製バルクの保存期間に加え、精製工程に用いる精製用資材の有効期間や培地の保存期間についても管理されている。

#### ⑦ 外来性感染性物質の安全性評価

原薬の製造工程で実施される細菌、マイコプラズマ及び真菌の検出を目的とした品質管理試験は表 1 のとおりである。

表1 細菌等に係る否定試験の実施状況

試験項目	参照方法	MCB 及び WCB	MS 及び WS	MS 対照細胞 及び WS 対照細胞	接種原	接種原対照 細胞	L1 ハーベスト	L1 ハーベスト 対照細胞
無菌試験（細菌及び真菌）								
TSB	日局	○	○		○		○	
FTM		○	○		○		○	
マイコプラズマ否定試験								
培養	EP	○	○	○	○	○	○	○
DNA 染色		○	○	○	○	○		
スピロプラズマ否定試験								
培養	EP	○	○					
DNA 染色		○	○					
ヒト型結核菌否定試験								
培養	EP		○		○		○	

EP：欧州薬局方

また、平成12年2月22日医薬審第329号（ICH Q5A）やEUのガイドラインに従って精製工程全体のウイルス除去能力（バキュロウイルスを含む）が評価されており、結果は表2のとおりであった。なお、ウイルスクリアランス試験で使用されているバキュロウイルスはL1遺伝子をコードしていないことを除きL1 VLP製造に使用するウイルスと同じである。

表2 ウイルス感染価の低減効果

ウイルス	X-MuLV RNA ウイルス エンベロープ有り		バキュロウイルス DNA ウイルス エンベロープ有り		FHV RNA ウイルス エンベロープ無し		SV-40 DNA ウイルス エンベロープ無し	
	HPV-16 L1 精製	HPV-18 L1 精製	HPV-16 L1 精製	HPV-18 L1 精製	HPV-16 L1 精製	HPV-18 L1 精製	HPV-16 L1 精製	HPV-18 L1 精製
陰イオン交換クロマトグラフィー工程1 ( )								
新品	≧	≧	≧	≧			≧	≧*
使用済み	≧	≧	≧	≧			≧	≧
親和性クロマトグラフィー工程 ( )								
新品	≧	≧	≧	≧			≧	≧
使用済み	≧	≧	≧	≧			≧	≧
ナノろ過工程								
1回目	≧	≧	≧	≧	≧	≧	≧	≧
2回目	≧	≧	≧	≧	≧	≧	≧*	≧
(合計)	—	—	(≧15.9)	(≧19.7)	(≧13.3)	(≧12.1)	(≧14.7)	(≧13.5)

(注) ウイルス除去指数(平均値)は有効数字2桁とし、標準偏差は省略した

(\*: 平均値±0.5logの範囲を越えたもの)

評価された3工程では、いずれも ( ) が溶液中に一定量存在しており、陰イオン交換クロマトグラフィー工程1 ( ) の溶出液を用いたウイルス除去試験において、 ( ) (18時間保持) による不活化効果は、それぞれ X-MuLV: ≧ (HPV-16) 及び ≧ (HPV-18)、バキュロウイルス: (HPV-16) 及び (HPV-18)、FHV: (HPV-16) 及び (HPV-18)、SV-40: (HPV-16) 及び (HPV-18) であった。この ( ) による不活化効果も併せ、L1 VLP 精製工程 ( ) 工程からナノろ過工程までは効果的なウイルス除去能を有すると申請者は説明している。

### ⑧ 不純物の除去

昆虫細胞-バキュロウイルス発現系不純物については、実生産 ( ) ロットを用いて DNA と宿主由来たん白質 (HCP) の除去効率が検討されている。DNA は陰イオン交換クロマトグ

ラフィー工程1により除去され、たん白質 1mg あたりの DNA 濃度は定量限界に近づく。残った DNA はさらに陰イオン交換クロマトグラフィー工程2、親和性クロマトグラフィー工程により定量限界未満の濃度となり、以降の工程で再び定量限界以上の濃度となることはなかった。宿主由来たん白質 (HCP) については、精製工程において、 $\log_{10}$  を超える除去率を有していた。

製造工程で使用される原材料である感染性組換えバキュロウイルス及び  $\blacksquare$  の除去率が検討されている。組換えバキュロウイルスについては、開発ロット  $\blacksquare$  ロット及び実生産ロット  $\blacksquare$  ロットの結果から、精製工程のごく初期の抽出工程及び清澄化により除去され、陰イオン交換クロマトグラフィー工程1で効率的に除去され、その後は検出されない。検出には  $\blacksquare$  細胞に対する  $\blacksquare$  法を用いた。 $\blacksquare$  については、実生産  $\blacksquare$  ロットの結果から、ナノろ過工程までは意図的に一定濃度を確保するが、それ以降の限外ろ過工程で大幅に除去され、滅菌精製バルクでは定量限界未満かそれに近い濃度となることが示された。

#### ⑨ ヒト又は動物由来原料の管理

$\blacksquare$  セルバンク (MCB、WCB)、HPV-16L1 及び HPV-18 L1 シード/ロット (MS、WS)、滅菌精製バルク製造工程までにヒト又は動物由来原材料は用いられていない。

#### ⑩ 製造工程開発の経緯 (同等性/同質性)

開発においては、第 I 相、第 II a 相臨床開発ロットが製造されたのち、製造技術の移管等による製法変更があり、第 II b 相、第 III 相臨床開発ロットが製造され、実生産に向けた製造工程が確立された。

各精製バルクについては、物理的・化学的性質 (精製バルク出荷時の品質管理試験成績、電気泳動プロファイル、L1 の一次及び二次構造、ウイルス様粒子 (VLP) 構造、不純物量)、免疫学的性質 (立体構造を認識するモノクローナル抗体及びヒトポリクローナル抗体 (ワクチン接種者の血清) と抗原との反応性、製剤化された抗原のヒト及びマウスでの免疫誘導能) 及び安定性を比較検討することにより、ロット間の品質の同等性が確認されている。

#### 2) 特性解析

実生産スケール ( $\blacksquare$  L) で製造された L1 VLP に関して、物理的・化学的性質として、L1 たん白質の電気泳動パターン (還元条件下 SDS-PAGE (クーマシー染色及び銀染色)、L1 VLP 特異的抗体を用いたウェスタンブロット法、キャピラリー電気泳動法)、分子量 (質量分析法 (ES-MS))、L1 たん白質一次構造 (アミノ酸分析、ペプチドマッピング、N 末端及び C 末端配列分析法)、L1 たん白質二次構造 (フーリエ変換型赤外吸収スペクトル測定法 (FTIR)、円偏光二色性分光法 (CD)、示差走査熱量測定法)、VLP の構造及びサイズ (分子ふるいクロマトグラフィー (SEC)、電子顕微鏡、ディスク遠心式粒度分布測定法 (DCS)) が検討されている。DCS の結果、HPV-16 については  $\blacksquare$  nm 付近を中心とした粒子分布 ( $\blacksquare$  % 以上が  $\blacksquare$  ~  $\blacksquare$  nm、残りが  $\blacksquare$  ~  $\blacksquare$  nm)、HPV-18 については  $\blacksquare$  nm 付近を中心とした分布 ( $\blacksquare$  % 以上が  $\blacksquare$  ~  $\blacksquare$  nm、残りが  $\blacksquare$  ~  $\blacksquare$  nm) が認められた。VLP あたりの平均 L1 分子数については、高性能分子ふるいクロマトグラフィーと  $\blacksquare$  法 ( $\blacksquare$ ) を用いて算出されており、計算上、 $\blacksquare$  ~  $\blacksquare$  分子となる。これは HPV のカプシドたん白質が正二十面体に規則正しく配列したときの理論値である  $\blacksquare$  分子に近い値となり、電子顕微鏡像とあわせてウイルス様粒子の形成が示唆された。また、免疫学的性質として、VLP と L1 カプシドたん白質に対するモノクローナル抗体との親和性 ( $\blacksquare$ )

解析法)、L1 VLP 力価 (ELISA)、L1 VLP のポリクローナル抗体との相互作用 (ELISA)、AS04 アジュバント共存下 L1 VLP のマウスにおける免疫原性 (抗 L1 VLP 抗体価の測定 (ELISA)、 $\square$  及び  $\square$  産生量) が検討されている。

不純物に関しては、実生産ロットを用いて DNA、宿主由来たん白質 (HCP)、感染性組換えバキュロウイルス及び  $\square$  の測定が実施されている。各試験についてバリデーションが実施されており、「1) 製造方法⑧不純物の除去」の項で述べたとおり、測定結果はいずれも定量限界以下であった。DNA、宿主由来たん白質 (HCP)、 $\square$  については、ロット分析の実測値からワクチン 1 回の各不純物接種量はそれぞれ  $\square$  pg 未満、 $\square$  ng 未満、 $\square$   $\mu$ g ( $\square$  mg が  $\square$  の 1 日最大許容量) であり、投与回数から考えて十分に安全と考えられると述べられている。

### 3) 規格及び試験方法

原薬である L1 VLP 精製バルクの規格及び試験方法として、確認試験 (ELISA)、純度試験 (SDS-PAGE、クーマシー染色)、エンドトキシン試験 (カイネティック比色法)、たん白質含量測定 (窒素定量法)、L1 VLP 力価 (ELISA) が設定されている。

### 4) 標準物質

L1 VLP 精製バルクの力価試験を行うため、L1 VLP 精製バルクとして過去に製造され、臨床開発用ロットとして用いられたものが、現在、標準物質として使用されている。確認試験 (ELISA)、純度試験 (SDS-PAGE (クーマシー染色))、無菌試験 (メンブランフィルター法)、エンドトキシン試験 (カイネティック比色法)、たん白質含量測定 (窒素定量法) において出荷時の規格に適合することが確認されている。

今後新たに標準物質を確立する際は、L1 VLP 精製バルクの出荷試験に適合することを確認するとともに、たん白質量 (窒素定量法) 及び L1 VLP 力価 (ELISA) については、それぞれ独立した  $\square$  回の試験を実施して評価する。内部標準と少なくとも  $\square$  ロットの实生産 L1 VLP 精製バルクについて新旧両方の標準物質を用いて試験を行い、得られた試験結果の差が  $\square$  % を超えなかった場合に、新しい標準物質はバリデートされたとすることが規定されている。

### 5) 安定性

実生産スケールで製造された 2 ロットの L1 VLP 精製バルクについて、安定性試験 (専用滅菌ステンレス製容器、 $25 \pm 1^\circ\text{C}/3$  日間又は  $2 \sim 8^\circ\text{C}/10$  日間、HPV-18 については  $25 \pm 1^\circ\text{C}/10$  日間又は  $2 \sim 8^\circ\text{C}/3$  日間についても実施) が実施され、外観、たん白質含量 (窒素定量法)、純度 (SDS-PAGE)、力価 (L1 たん白質/総たん白質比)、VLP 構造 (電子顕微鏡)、VLP 粒度 (ディスク遠心式粒度分布)、L1 たん白質泳動パターン (ウェスタンブロット) について検討された。

$\square$  日間の保存では変化は認められなかったが、 $\square \sim \square^\circ\text{C}$  で  $\square$  日間保存したとき、HPV-18 L1 VLP 精製バルクに VLP 構造の変化及びたん白質凝集の傾向が認められたことから、貯法及び有効期間は、 $\square \sim \square^\circ\text{C}$  又は  $\square \sim \square^\circ\text{C}$  で  $\square$  日間とされている。

## (2) 製剤

### 1) 製剤処方並びに容器及び施栓系

本剤は、ヒト 1 回接種量である 0.5mL あたり、有効成分として HPV-16 L1 VLP 及び HPV-18

L1 VLP を抗原たん白質量としてそれぞれ 20 $\mu$ g、アジュバントとして AS04（水酸化アルミニウムをアルミニウムとして 500 $\mu$ g、MPL を 50 $\mu$ g）を含有する。他に、等張化剤、緩衝剤及び溶剤を含む。1 回接種量を担保するよう注射筒（シリンジ）に充てんされている。

シリンジ及び添付される注射針は、本剤のみに使用される。シリンジは、シリコン被覆したガラス製であり日本薬局方のガラス容器試験法に適合する。また、注射針は、日本工業規格 T3209 に、“15. 表示、15.2 二次包装”の項を除き適合する。

製剤処方は、臨床開発期間中に 1 回の変更があり、XXXXXXXXXX 作製にあたっての XXXXXXXXXX XXXXXXXXXX 量に変更されたが、最終製剤における XXXX 及び XXXXXXXXXX 含量の変更を伴うものではなかった。この変更に関しては、品質管理結果や特性解析結果、安定性試験成績、製剤化された抗原のマウス及びヒトにおける免疫反応の比較評価の結果から、処方変更前後の製剤の同等性が確認されている。

## 2) 製造方法

製剤の製造方法は、HPV-16 及び HPV-18 L1 VLP 抗原を水酸化アルミニウムに吸着させる工程（L1 VLP 単価吸着バルク（AMB）製造工程）、MPL 溶液バルクの製造工程、MPL 溶液バルクを水酸化アルミニウムに吸着させる工程（MPL 吸着バルク製造工程）、最終バルクの製造工程、充てん工程、包装工程より構成される。うち、MPL 溶液バルクの製造工程が重要工程とされている。

各 L1 VLP 精製バルクに L1 VLP XXXX $\mu$ g につき XXXX $\mu$ g のアルミニウムイオンとなるよう水酸化アルミニウムを加え、XXXX で攪拌して各単価吸着バルク（L1 VLP AMB）を調製する。別に MPL を XXXX 水に分散し、XXXX 処理後 XXXXXXXXXX して XXXX 化を行い、ろ過滅菌して MPL 溶液バルクを調製する。MPL 溶液バルクに MPL XXXX $\mu$ g につき XXXXmg のアルミニウムイオンとなるよう水酸化アルミニウム懸濁液を加えて水酸化アルミニウムに吸着させ、MPL 吸着バルクを調製する。各 L1 VLP AMB 及び MPL 吸着バルクに水酸化アルミニウム懸濁液を添加して攪拌し、pH を調製して薬液（最終バルク）を得る。最終バルクをガラス製シリンジに無菌的に充てん密封（小分け）し、表示・保管等を行う。

製剤の製造工程において、ヒト由来原材料は使用されていない。MPL はバクテリア由来であり、MPL の製造に用いるカザミノ酸はウシ（ニュージーランド産、オーストラリア産）の乳に由来するものである（5）新添加物の項参照）。

各 L1 VLP AMB、MPL 溶液バルク及び MPL 吸着バルクについて、それぞれ品質管理試験が実施されている。また、MPL 溶液バルクの製造工程では、工程のモニタリングを行い工程の同質性を評価するとともに、工程内管理試験（XXXXXX）を実施している。MPL 吸着バルク製造工程、AMB 製造工程では工程内管理試験は実施されていない。

L1 VLP AMB については、確認試験（ELISA）、無菌試験（メンブランフィルター法）、たん白質含量（窒素定量法）及びアルミニウム未吸着率（窒素定量法）が実施されており、実生産検討用各 XXXX ロットの分析結果が示されている。また、MPL 溶液バルクについては、性状（目視）、MPL 同族体比（XXXXXX 体、XXXXXX 体、XXXXXX 体及び XXXXXX 体（HPLC）、MPL 含量（GC）、無菌試験（メンブランフィルター法）、及び粒子径（XXXXXX 分光法（XXXX））が実施されており、実生産検討用 XXXX ロットの分析結果が示されている。MPL 吸着バルクについては、性状（目視）、pH、MPL のアルミニウム未吸着率（GC）及び無菌試験（メンブランフィルター法）が実施されており、実生産検討用 XXXX



ロットの分析結果が示されている。なお、MPL 溶液バルクについては、その特性として MPL 溶液で刺激した████系細胞株（████）からの █████ 産生量が測定されており、申請者は、検討したいずれの実生産検討用 █ ロットも同様の結果が得られた旨を説明している。

### 3) 規格及び試験方法

製剤（最終バルク）の規格及び試験方法として、無菌試験（メンブランフィルター法）が、製剤（小分け製品）の規格及び試験方法として、性状（目視）、確認試験（HPV-16 L1 VLP (ELISA)）、確認試験（HPV-18 L1 VLP (ELISA)）、無菌試験（メンブランフィルター法）、異常毒性否定試験、pH、採取容量試験、不溶性異物検査、たん白質含量、HPV-16 L1 VLP 力価、HPV-18 L1 VLP 力価、アルミニウム含量、MPL 含量、MPL のアルミニウム未吸着率、HPV-16 L1 VLP のアルミニウム未吸着率、HPV-18 L1 VLP のアルミニウム未吸着率がそれぞれ設定されている。ロット分析結果として、最終バルク（実生産ロット）3 ロット、小分け製品（シリンジ充てん品）3 ロット及び小分け製品（開発ロット）の結果が示されている。

### 4) 標準物質

力価試験において使用される標準物質には、20██年██月現在、小分け製品として製造した 1 ロットが使用されており、当該ロットの分析結果が示されている。新たな標準物質を確立する場合には、小分け製品の規格及び試験方法に適合するもので、██回以上の力価測定を行い、現在の標準物質と新しい標準物質の力価を比較したときに差が試験のバリデーションで得られた変動値以下であるとき、新しい標準物質とすることができると規定されている。20██年██月時点で標準物質の有効期間は設定されていない。

### 5) 新添加物

本剤は、新添加物として MPL 及び水酸化アルミニウム懸濁液（いずれもアジュバント成分）を含有する（＜審査の概略＞（8）新添加物の項参照）。

MPL はグラム陰性菌のリポ多糖（LPS）由来のリピッド A の非毒性誘導体であり、免疫賦活剤として添加されている。*Salmonella minnesota* R595 株を培養し、その菌体から████及び████により得られた抽出物を、████及び████して粗 MPL を得た後、陰イオン交換クロマトグラフィーにて精製し、████溶液を用いて████ MPL を得る。その後、████（████）塩に変換し、凍結乾燥して████ MPL（粉末）を得る。

MPL の製造工程に由来する不純物である LPS 及び████（████）について、申請者は、MPL 全ロットを対象に実施したウサギ発熱性物質試験及び████ MPL 140 以上のロットを対象に実施した████を用いた特性試験等、複数の試験結果から、製造工程において効率的に除去できることが確認されたと説明している。併せて、複数の工程中間体に対し実施した液体クロマトグラフィーの結果から、粗 MPL 中には████が約██%検出されること、続く精製工程（イオン交換クロマトグラフィー）で████が効果的に除去されることを説明している。

MPL の規格及び試験方法として、性状、確認試験（薄層クロマトグラフィー）、ヘキソサミン、リン、同族体比、トリエチルアミン、水分、遊離脂肪酸、微生物限度試験、発熱物質性試験及び残留溶媒が設定されており、臨床試験用及び実生産用 █ ロットが規格に適

合することがロット分析により確認された。また、長期保存試験（2～8℃）により 60 ヶ月間安定であることが確認された。なお、規格試験の他 4 項目の試験に適合するロットが標準物質として用いられている。

## 6) 安定性

実生産スケールで製造された小分け製品の安定性については、臨床試験用製剤 3 ロット及び実生産検討用 3 ロットで長期保存試験（2～8℃）が実施され、輸送時の安定性（37±1℃及び 2～8℃、25±1℃及び 2～8℃）についても検討されている。また、本剤は紙箱に包装され、2～8℃で保存するために冷蔵庫又は保冷容器内の通常暗所に保存されることから、光安定性の評価は不要であると判断され、光安定性試験は実施されていない。

長期保存試験成績は、臨床試験用 3 ロット 36 ヶ月間及び実生産検討用 3 ロット 24 ヶ月間保存時の成績が得られている（2009 年 4 月現在、試験は 48 ヶ月まで継続）。長期保存試験の測定項目は、性状（目視）、確認試験（HPV-16 L1 VLP（ELISA））、確認試験（HPV-18 L1 VLP（ELISA））、無菌試験（メンブランフィルター法）、異常毒性否定試験、pH、採取容量試験、発熱性物質試験、たん白質含量、アルミニウム含量、HPV-16 L1 VLP 力価（マウス）、HPV-18 L1 VLP 力価（マウス）、浸透圧、HPV-16 L1 VLP のアルミニウム未吸着率、HPV-18 L1 VLP のアルミニウム未吸着率、MPL のアルミニウム未吸着率、MPL 含量、HPV-16 L1 VLP 力価（ELISA）、HPV-18 L1 VLP 力価（ELISA）、ウェスタンブロット、SDS-PAGE（クーマシー染色、銀染色）、HPV-16 L1 VLP 力価（ELISA、アルミニウム吸着時）、HPV-18 L1 VLP 力価（ELISA、アルミニウム吸着時）、HPV-16 L1 及び HPV-18 L1 VLP のアルミニウム未吸着率、容器及び施栓系の完全性であった。試験の結果、いずれの項目についても試験に適合又は変化を認めず安定であることが確認された。

また、小分け製品の輸送時の安定性を評価するために、臨床試験用ロットについて以下の条件（ロット数）で安定性試験が実施された。

- ・ 37±1℃で 7 日間保存した後、2～8℃で 36 ヶ月間保存（3 ロット）
- ・ 2～8℃で 36 ヶ月間保存した後、37±1℃で 7 日間保存（3 ロット）
- ・ 2～8℃で 11 ヶ月間保存した後、25±1℃で 1 ヶ月間、2～8℃で 24 ヶ月間保存（2 ロット）

輸送時の安定性評価試験の測定項目は、性状（目視）、無菌試験、pH、HPV-16 L1 VLP 力価（マウス）、HPV-18 L1 VLP 力価（マウス）、MPL のアルミニウム未吸着率、HPV-16 L1 VLP のアルミニウム未吸着率、HPV-18 L1 VLP のアルミニウム未吸着率、HPV-16 L1 VLP 力価（ELISA）、HPV-18 L1 VLP 力価（ELISA）、HPV-16 L1 VLP 力価（ELISA、アルミニウム吸着時）、HPV-18 L1 VLP 力価（ELISA、アルミニウム吸着時）、ウェスタンブロット、SDS-PAGE（クーマシー染色、銀染色）、HPV-16 L1 及び HPV-18 L1 VLP のアルミニウム未吸着率であった。試験の結果、いずれの項目についても試験に適合又は変化を認めず安定であることが確認された。

## <審査の概略>

### (1) ██████████ 細胞で認められた細胞質粒子様構造体について

機構は、██████████ 細胞の電子顕微鏡解析で認められた細胞質粒子様構造体について、申請時に提出された資料において由来が不明確である旨が説明されていたことから、その後得られた知見があれば提示するよう求めたが、申請者からは、特段、新たな知見は得

られていない旨が回答されている。機構は、セルバンクについてこれまで実施された検討、製造工程から想定される製剤への混入リスクの低減、これまでに集積された本剤の安全性に係る情報等を考慮すると、現時点で、宿主細胞における当該構造物の存在を理由に本剤の承認を不可とするものではないと考えるが、未だ由来・挙動等が不明であることから、今後、技術的に可能であれば、当該構造体を単離するなどしてさらなる解析及び情報収集に努め、適切に情報提供すべきであると考え、申請者に対応方針を確認中である。

## (2) ウイルス除去評価について

機構は、■■■■ はウイルス不活化作用を有しており、ウイルス感染価の低減効果について評価された 3 工程（陰イオン交換クロマトグラフィー工程 1、親和性クロマトグラフィー工程及びナノろ過工程）はいずれも ■■■■ が溶液中に一定量存在することから、精製工程のウイルス除去能力が適切に評価されているか申請者に尋ねた。

申請者は、以下のように回答した。■■■■ がウイルス不活化作用を有することから精製工程が有するウイルス除去能を工程毎の除去指数の和として評価することは必ずしも適切ではないと考えるが、工程内サンプリング検体にモデルウイルスを添加し、各精製工程を経た検体と未処理検体の比較により評価を行っていることから、各工程のウイルス除去能力は正確に評価できていると考えている。精製工程全体を見れば少なくともナノろ過工程及び陰イオン交換クロマトグラフィー工程 1 がウイルス除去に効果的であり、さらにエンベロープを有するウイルスに対しては ■■■■ による不活化や親和性クロマトグラフィー工程が効果的であることが判明した。

機構は、以上を了承し、当該精製工程は効果的なウイルス不活化・除去能を有するものと判断した。

## (3) 目的物質関連物質及び目的物質由来不純物について

機構は、原薬（L1 VLP 精製バルク）の目的物質関連物質及び目的物質由来不純物に係る解析結果が示されていなかったことから、申請者にこれらについて説明を求めた。

申請者は、純度試験（SDS-PAGE、クーマシー染色）において主バンド以外のバンドは全て不純物として扱っていること、検出されている不純物は L1 関連たん白質であり発現系細胞由来ではないこと、検出された不純物の単離は技術的に困難であることを説明し、個々の不純物について目的物質関連物質又は目的物質由来不純物に該当するかも含め、更なる構造及び活性に係る解析は行っていない旨を回答した。

機構は、不純物に係る情報は可能な限り収集すべきであると考え、設定されている規格及び試験方法による管理下で市場に提供された製剤のこれまでの臨床使用において、不純物との関連が明らかな安全性に係る問題点も指摘されていないことから、現時点で更なる解析結果の提示を求めるものではないが、一貫した製造工程管理下、品質恒常性の維持に努めるとともに、今後、技術の進歩により新たな知見が得られた場合には、適切に情報提供することが肝要であると考え。

## (4) MPL の製造工程の一貫性について

申請者は、MPL 製造工程の一貫性について、濃縮ハーベスト ■■ ロット、■■■■、粗 MPL、

■ MPL 及び ■ MPL それぞれ ■ ロット、MPL ■ ロットの品質管理データから確認された旨を説明している。

機構は、提出されたデータを確認する限り、MPL 製造の各工程における管理項目の実測値は各ロットで大きくばらついていないものとする。MPL は、リポ多糖 (LPS) 由来リピド A の非毒性誘導体であることから、機構は、今後も引き続き厳格な製造工程管理の下で MPL が製造されることが肝要であるとする。

#### (5) MPL 溶液バルク製造工程の管理について

機構は、MPL 溶液バルクの製造工程が製剤の製造工程のうち重要工程に設定されていることから、設定した理由及び当該工程における管理について申請者に説明を求めた。

申請者は、当該工程で行われる MPL の ■ の程度が本剤の品質に直接影響を与える可能性があるため重要工程と設定したことを説明した。加えて、工程内管理試験 (■) を実施し当該工程を管理している旨を説明した。

機構は、現在、当該工程の他の管理項目についても確認しているところである。

#### (6) 異常毒性否定試験について

申請時、製剤 (小分製品) の規格及び試験方法に異常毒性否定試験が設定されており、当該試験については初めの実生産ロット ■ ロットについてのみ実施する旨が説明されていた。機構は、これまでに実施された試験成績の提示を求めるとともに、当該試験が生物学的製剤基準の一般試験法に準じて実施されているか申請者に尋ねた。

申請者は、臨床開発用 ■ ロット、実生産初期 ■ ロット、並びに本邦及び米国向け製剤の製造所で製造された ■ ロットの試験成績を提示し、いずれも規格に適合し、製造工程の一貫性を確認できたことを説明した。一方、試験方法としては、米国 21CFR610.11 によることが説明された。

機構は、以下の理由から、生物学的製剤基準の一般試験法に準じた異常毒性否定試験を本剤の規格及び試験方法に設定するよう求めた。

- ・ 実生産ロットの当該試験実績は ■+■ ロットに過ぎず、申請者が主張する製造工程の一貫性を十分に確認できたと判断することは困難と考えること。
- ・ 本邦で実施されている試験方法と米国における試験方法とでは、薬剤投与後の観察日及び判定方法が異なっていること (具体的には、本邦では接種直後 (1~2 日目) の体重推移を観察しており毒性を判定する指標となると考えられるが、米国では観察されていない。また、本邦では観察期間中の体重減少をコントロール群と比較し、統計学的な有意差を認めないことを判定基準としていることから、本剤に係る情報も収集され、製剤の特徴を捉える上でより有用と考えられる)。
- ・ 他の試験方法でより合理的な品質管理が可能であるならばこれを受け入れるものであるが、従来、本邦では多くの生物学的製剤の品質が当該試験により確認してきた経緯があるため、代替法が示されていない場合、本剤についても当該試験による確認が適切であるとする。

申請者は機構の指摘を踏まえ、生物学的製剤基準に準じた異常毒性否定試験を規格及び試験方法に設定する旨を回答した。

## (7) 本剤の有効期間について

審査の過程で追加提出された資料において、シリンジに使用するプランジャーストッパー及びチップキャップに2種類の原材料を用いることが説明されたことから、機構は、その背景及びそれぞれの原材料による容器・施栓系での安定性試験成績が得られているか、申請者に説明を求めた。

申請者は、以下のように回答した。安定性試験は[ ]と[ ]を原材料としたプランジャー及びチップキャップを使用した製剤を用いて実施した。製造販売承認後初期は同素材による製剤を供給する予定である。しかしながら、原材料入手の点から、今後、プランジャーストッパーとしては[ ]、チップキャップとしては[ ]をそれぞれ原材料とする予定である。当該変更予定製剤については別途安定性試験(48ヶ月まで継続予定)を実施しており、20[ ]年[ ]月現在、長期保存試験において9ヶ月の安定性を確認している。

機構は、変更後の容器・施栓系による製剤の有効期間については、当該変更の製剤の品質に及ぼす影響が十分に説明されていないことから、実測値に基づき設定する必要があると考える。安定性試験成績の詳細等について確認中であるため、本剤の有効期間については審査報告(2)に記載する。

## (8) 新添加物

### 1) MPL を添加物として扱うことについて

機構は、医薬品添加物とは、日本薬局方製剤総則において「使用される添加物は、その製剤の投与量において薬理作用を示さず、無害でなければならない。」とされていることから、本剤に含有されるMPLを添加物として扱う妥当性について申請者に説明を求めた。

申請者は、以下のように回答した。ワクチンの薬理作用は、感染症に対する特異的な能動免疫の誘導と考える。MPLの免疫系への作用は非特異的な炎症作用であり、当該作用についてはこれまでアジュバントとしてしばしば用いられている水酸化アルミニウムでも報告されている(*Clin Exp Immunol.*, 39:426-34, 1980)。このようにMPLは非特異的な炎症作用は有するが、感染症に対する特異的な能動免疫の誘導作用はなく、ワクチンの薬理作用は有していないものとする。また、非臨床及び臨床試験成績から、MPLをアジュバントとして添加することによる臨床使用上の安全性への懸念はないと考える。

機構は、MPL単独では本剤の目的とする薬効は得られないが、MPLが生体への薬理作用を有することから、本申請においては、MPLについて、添加物の枠組みでの評価に加え、有効成分に準じ製剤の製造工程での管理を含めて評価することとした(〈提出された資料の概略〉(2)製剤、2)製造方法、5)新添加物、〈審査の概略〉(4)MPLの製造工程の一貫性について、(5)MPL溶液バルク製造工程の管理についての項参照)。

### 2) 新添加物の評価

本剤には、筋肉内投与における使用実績のない新添加物であるMPL及び水酸化アルミニウム懸濁液がいずれもアジュバントの目的で含有されている。なお、本邦において水酸化アルミニウム自体は既にアジュバントとして筋肉内投与の使用実績があるが、今回の使用量は本邦における使用前例量を超過している。

### ① 規格及び試験方法並びに安定性について

水酸化アルミニウム懸濁液の規格については特段の問題はないと判断したものの、MPLの規格については、審査の結果、日局等を参考に再設定がなされた。また、安定性については提出された資料から見て特段の問題はないものと判断した。

### ② 安全性について

MPL 及び水酸化アルミニウム懸濁液共に、アジュバントという性質上、局所刺激性等の作用を有することが明らかであり、更に従来のアジュバントに比べ、それらの反応が若干強い可能性が示唆されたが、臨床使用上、許容範囲と考えられる程度にとどまっていることから、使用は差し支えないものと判断した。これらの添加物の局所刺激性等については使用用途上、やむを得ないものと考えられるが、これらの添加物を一般的な添加物として認め、他の薬剤でも幅広く使用することについては問題があるものと考えた。よって、これらの添加物はアジュバントとしての使用用途に限って、製剤におけるベネフィットとのバランスを考慮した上で使用することが適切であると判断した。

### ③ 薬物動態について

MPL の薬物動態については提出された試験は限定的なものではあるが、得られた結果から見て特段の問題はないものと判断した。

以上、機構は MPL 及び水酸化アルミニウム懸濁液について、今回の使用上限量まではアジュバントとしての限定的な使用を認めることが適切と考え、一般的な使用前例としては取り扱わないことが妥当であると判断した。

## 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>

本申請においては、3-脱アシル化-4'-モノホスホリルリピッド A (MPL) 単独の薬理試験成績も提出された。効力を裏付ける試験では、LPS (リポ多糖) が強力な自然免疫の誘導剤であるとの知見に基づき、LPS 誘導体である MPL の自然免疫に関連する種々の因子に対する影響が検討された。その結果から、MPL は抗原提示細胞の成熟促進及び自然免疫の活性化に重要な役割を果たしており、その認識には TLR4 が関与することが示唆されたと申請者は説明している。また、安全性薬理試験では、ビーグル犬で心血管系及び呼吸系に対する MPL の影響が評価され、呼吸・循環器系に対して好ましくない薬理作用を誘発しないことが示されたと申請者は説明している。

#### (1) 効力を裏付ける試験

本剤の効力を裏付ける試験としては、1) AS04 アジュバント及び 2) ~4) 本ワクチンについての 2 系列の試験が実施された。

#### 1) AS04 アジュバントの免疫特性の評価

##### ① ヒト単球における炎症性サイトカイン産生に対する影響

ヒト末梢血単核細胞 (PBMC) を、i) 水酸化アルミニウム 100µg/mL、ii) 3-脱アシル化-4'-モノホスホリルリピッド A (MPL) (0.1、1 又は 10µg/mL) 又は iii) AS04 (水酸化アルミニウム (1、10 又は 100µg/mL) にそれぞれ MPL 0.1、1 又は 10µg/mL を吸着させたもの) の存在下で 37°C、6 時間培養後、CD14 陽性単球における TNF-α 及び IL-6 の細胞内発

現について、フローサイトメトリーにより評価された。TNF- $\alpha$  及び IL-6 を産生する単球の割合は、水酸化アルミニウム単独の場合はバックグラウンドと同程度であったのに対し、AS04 存在下では MPL と同様にサイトカインの産生が確認された。このことから、MPL と AS04 は同程度の単球刺激作用を持つことが示された。

## ② ヒト単球系細胞株における TNF- $\alpha$ 産生に対する影響

Phorbol myristate acetate (PMA) で分化させたヒト単球系細胞株 U937 を、i) 水酸化アルミニウム (10、30 又は 100 $\mu$ g/mL)、ii) MPL (1、3 又は 10 $\mu$ g/mL) 又は iii) AS04 (水酸化アルミニウム (10、30 又は 100 $\mu$ g/mL) にそれぞれ MPL 1、3 又は 10 $\mu$ g/mL を吸着させたもの) の存在下で 4 時間培養後、培養上清中の TNF- $\alpha$  産生について Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 法により評価された。TNF- $\alpha$  産生は、水酸化アルミニウム単独の場合は非常に低レベルであったのに対し、各濃度の AS04 存在下では MPL と同程度の TNF- $\alpha$  産生が誘導され、また MPL と同様の用量依存性が認められた。以上から、PBMC と同様にヒト単球系細胞株 U937 においても、AS04 は MPL と同程度の刺激作用を有することが示された。

## ③ マウス In vivo における抗原提示細胞 (APC) の CD40 発現に対する影響

C57BL/6 マウス (雌、4 匹/群) に、i) 水酸化アルミニウム (35 $\mu$ g/mL)、ii) MPL (1.25、2.5 又は 5 $\mu$ g/mL) 又は iii) AS04 (水酸化アルミニウム (8.75、17.5 又は 35 $\mu$ g/mL) にそれぞれ MPL (1.25、2.5 又は 5 $\mu$ g/mL) を加えたもの) が筋肉内投与され、投与 24 時間後に流入領域リンパ節が採取された。流入領域リンパ節に存在する APC (CD11b 陽性細胞及び、CD 11c 陽性細胞) における CD40 の発現がフローサイトメトリーにより測定された。MPL 群及び AS04 投与群では、上記 ii) 及び iii) の各種用量全てにおいて CD40 の発現が認められ、水酸化アルミニウム単独群に比べると 2~4 倍程度の上昇が示された。

以上の 1)-①~③の AS04 に関する試験成績及び MPL 単独の薬理試験成績から、MPL 及び AS04 は APC の CD40 発現増強及び炎症性サイトカインの誘導活性を示す等、自然免疫の強力な誘導剤として知られる LPS (リポ多糖) と同様に、TLR4 アゴニストとして作用することが示唆され、自然免疫活性化作用を有することが示された。

## 2) マウス免疫応答を指標とした本ワクチン中の水酸化アルミニウム、MPL 及び HPV 抗原含量の検討

### ① 水酸化アルミニウム含量の検討 (PIMS20-0134 試験)

BALB/c マウス (雌、15 匹/群) に、MPL (5 $\mu$ g)、HPV-16 及び HPV-18 L1 VLP (抗原たん白質量として各 2 $\mu$ g) 及び異なる 3 種類の水酸化アルミニウム量 (18、26 又は 50 $\mu$ g) を含有する各種ワクチン 50 $\mu$ L/回が、試験開始日及び 21 日目の計 2 回筋肉内投与された。2 回目投与 14 日後に、血清中の HPV-16 L1 VLP 及び HPV-18 L1 VLP に対する特異的抗体 (以下、抗 HPV-16 及び抗 HPV-18 抗体) 価が ELISA 法により測定された。さらに 2 回目投与 14 日後にマウス脾臓細胞が採取され、HPV-16 又は HPV-18 L1 抗原存在下で 96 時間培養後の培養上清中の IFN- $\gamma$  及び IL-5 の産生量が ELISA 法により測定された。

水酸化アルミニウム (50 $\mu$ g) 添加群では他の水酸化アルミニウム (18 又は 26 $\mu$ g) 添加群に比べて、抗 HPV-16 及び抗 HPV-18 抗体価が 2~5 倍 ( $p < 0.05$ ) の高値を示すこと及び IFN- $\gamma$  の産生量も 2~5 倍の高値を示すことが確認された。一方、IL-5 の産生能については、水酸化アルミニウム添加量の異なる群間で同程度であることが確認された。

以上の成績より、水酸化アルミニウムの最適用量として 50 $\mu$ g が選択された。

### ② MPL 含量の検討 (PIMS20-0755 試験)

BALB/c マウス (雌、10 匹/群) に、水酸化アルミニウム (50 $\mu$ g)、HPV-16 及び HPV-18 L1 VLP (抗原たん白質量として各 2 $\mu$ g) 及び異なる 5 種類の MPL 量 (0、1.25、2.5、5 又は 10 $\mu$ g) を含有する各種ワクチン 50 $\mu$ L/回 が、2) -①と同様の方法により投与され、2 回目投与 14 日後に、血清中の抗 HPV-16 及び抗 HPV-18 抗体価及び IgG サブタイプ (IgG1、IgG2a 及び IgG2b) の割合が ELISA 法により測定された。さらに 2 回目投与 14 日後に、マウス脾臓細胞が採取され、HPV-16 L1 又は HPV-18 L1 存在下で 96 時間培養後の培養上清中の IFN- $\gamma$  及び IL-5 の産生量が Cytometric Bead Array (CBA) 法により測定された。

MPL 添加群では非添加群に比べて、抗 HPV-16 及び抗 HPV-18 抗体価は、 $\blacksquare$ ~ $\blacksquare$  倍上昇した ( $p<0.0001$ )。MPL の用量反応性については、抗 HPV-16 抗体価は、MPL2.5 $\mu$ g 群で 1.25 $\mu$ g 群の  $\blacksquare$  倍 ( $p=0.0072$ ) であったが 5 又は 10 $\mu$ g 群と差はなく、一方、抗 HPV-18 抗体価ならびに両遺伝子型 HPV に対する抗体の IgG サブタイプの割合に関しては、ともに検討した MPL1.25 $\mu$ g~10 $\mu$ g の範囲で用量依存性は認められなかった。

IFN- $\gamma$  産生能については、MPL1.25 $\mu$ g 群ではどちらの抗原においても水酸化アルミニウム単独群よりも約  $\blacksquare$  倍高く、更に、MPL 2.5、5 及び 10 $\mu$ g 群では増加する傾向 ( $>\blacksquare$  倍) が認められた。一方、IL-5 産生能は、16 型及び 18 型ともに、水酸化アルミニウム単独群が最も高く、MPL 1.25~5 $\mu$ g の間では変化がみられず、MPL 10 $\mu$ g で約  $\blacksquare$  に低下していた。

以上の結果に加え、マウスを用いて他に検討された試験成績を総合的に評価し、IFN- $\gamma$  産生能が相対的に高く、IL-5 産生能が相対的に低くなる用量として、MPL 5 $\mu$ g、水酸化アルミニウムと MPL の混合比率が (10 : 1) となるよう設定された。この水酸化アルミニウムと MPL の混合比率 (10 : 1) は、Fendrix<sup>®</sup> (B 型肝炎ワクチン、国内未承認) の臨床成績から得られた最適配合比と一致している。

### ③ HPV-16/18 L1 VLP 含量の検討 (PIMS20-0028 試験)

BALB/c マウス (雌、12 匹/群) に、水酸化アルミニウム (50 $\mu$ g) 又は AS04 (水酸化アルミニウム 50 $\mu$ g + MPL5 $\mu$ g) を添加した異なる 3 用量の HPV-16 及び 18 L1 VLP (抗原たん白質量として各 0.6、2 又は 6 $\mu$ g) を含有する各種ワクチン 50 $\mu$ L/回が、2) -①と同様の方法により投与された。2 回目投与 14 日後に、2) -②と同様の方法により、血清中の抗 HPV-16 及び抗 HPV-18 抗体価及び IgG サブタイプ (IgG1、IgG2a 及び IgG2b) の割合が測定され、さらに脾臓細胞の抗原再刺激による IFN- $\gamma$  及び IL-5 の産生量が測定された。

AS04 添加群と水酸化アルミニウム添加群を比べた場合、全ての HPV-16 及び HPV-18 L1 VLP 用量において、AS04 添加群の抗 HPV-16 及び抗 HPV-18 抗体価は水酸化アルミニウム添加群に比べて有意に高い値 ( $\blacksquare$ ~ $\blacksquare$  倍で、 $p<0.0001$ ~0.0020) を示すことが観察された。HPV-16 及び HPV-18 L1 VLP 抗原量に関する用量反応性については、AS04 添加群では、HPV-16 及び HPV-18 L1 VLP 抗原量を増加させると、抗 HPV-16 及び抗 HPV-18 抗体価は  $\blacksquare$ ~ $\blacksquare$  倍に上昇 ( $p=0.0012$ ~0.0020) したが、水酸化アルミニウム単独添加群では抗原量増加に伴う抗体価の上昇は  $\blacksquare$  倍未満であった。IgG サブタイプの割合に関しては、いずれのワクチン群においても抗原量に関連した影響は認められなかった。サイトカイン産生能は、AS04 添加の抗原含量 6 $\mu$ g 群では、他の 2 用量群に比べて IFN- $\gamma$  産生量は低く ( $\blacksquare$ ~ $\blacksquare$  倍)、IL-5 産生量は高い傾向 ( $\blacksquare$ ~ $\blacksquare$  倍) が認められた。一方、水酸化アルミニウム添加



群では、IFN- $\gamma$  産生量は抗原含量に関連した効果は認められなかったが、IL-5 産生量は 0.6 $\mu$ g 群で高い傾向が (■~■倍) 認められた。

以上から、HPV-16 及び HPV-18 L1 VLP 抗原含量としては、抗体誘導活性及び IFN- $\gamma$  産生能が高く、低 IL-5 産生能を示した、各 2 $\mu$ g と設定された。

以上①~③の検討結果から、本剤の組成 (抗原：水酸化アルミニウム：MPL の重量比) は、1：25：2.5 が適当であると考えられた。

### 3) マウス免疫応答におけるアジュバント添加による影響

#### ① 臨床試験で用いた製剤 4 ロットの免疫原性の同等性 (PIMS20■0026)

2) で設定された本剤の組成を含有する臨床試験用 4 ロット (AS04 添加あるいは水酸化アルミニウム添加の各 2 ロット) に対するマウス免疫応答が検討された。BALB/c マウス (雌、9 匹/群) に、水酸化アルミニウム (50 $\mu$ g) 添加又は AS04 (水酸化アルミニウム 50 $\mu$ g + MPL 5 $\mu$ g) 添加 HPV-16 及び HPV-18 L1 VLP (各 2 $\mu$ g) ワクチンの臨床 4 ロットについて、2) -①と同様の方法により投与され、2) -②と同様の方法により 2 回目投与 14 日後の血清中の抗 HPV-16 及び抗 HPV-18 抗体価、IgG サブタイプ (IgG1、IgG2a 及び IgG2b) の割合、並びに脾臓細胞の抗原再刺激による IFN- $\gamma$  及び IL-5 の産生量が測定された。

AS04 添加群では、水酸化アルミニウム添加群に比べて、抗 HPV-16 抗体価及び抗 HPV-18 抗体価が ■~■倍上昇 ( $p < 0.0001$ ) し、IgG2a 抗体の割合は約 ■% 上昇すること、さらに IFN- $\gamma$  産生は ■~■倍上昇し、IL-5 産生は ■~■倍に低下することが示された。ロット間の同等性については、AS04 添加群及び水酸化アルミニウム添加群のいずれの場合も、これらの臨床試験用ロット間において有意な差は認められなかった。

#### ② アジュバント非添加、水酸化アルミニウム添加又は AS04 添加の比較 (PIMS 20■0365 試験)

アジュバント非添加、水酸化アルミニウム添加又は AS04 添加 HPV-16 及び HPV-18 L1 VLP ワクチンによる、抗原特異的血清抗体誘導能、サイトカインの産生増強作用について比較検討された。

BALB/c マウス (雌、12 匹/群) に、アジュバント非添加、水酸化アルミニウム (50 $\mu$ g) 添加又は AS04 (水酸化アルミニウム 50 $\mu$ g + MPL 5 $\mu$ g) 添加 HPV-16 及び HPV-18 L1 VLP (各 2 $\mu$ g) ワクチンが、2) -①と同様の方法により投与され、2 回目投与 14 日後に、血清中の抗 HPV-16 及び抗 HPV-18 抗体価が ELISA 法により測定された。さらに 2) -①と同様にマウス脾臓細胞が採取され、HPV-16 又は HPV-18 L1 抗原存在下で 48 時間培養後のサイトカイン (IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-2 及び IL-5) 産生量が CBA 法により測定された。

AS04 添加群では、抗 HPV-16 及び抗 HPV-18 抗体価は、アジュバント非添加群の ■~■倍 ( $p < 0.0001$ )、水酸化アルミニウム添加群の ■~■倍 ( $p < 0.0001$ ) に上昇することが観察された。さらに AS04 添加群では、抗ウイルス活性を有する IFN- $\gamma$  及び TNF- $\alpha$  の産生増強作用が認められ、それぞれアジュバント非添加群の ■~■倍及び ■~■倍、水酸化アルミニウム添加群の ■~■倍及び ■~■倍増強されるのに対して、IL-5 産生はアジュバント非添加群の ■~■倍及び水酸化アルミニウム添加群の ■~■倍に低下することが観察された。

#### ③ アジュバント添加による免疫記憶 B 細胞の誘導 (PIMS20■0422 試験)

アジュバント非添加、水酸化アルミニウム添加又は AS04 添加 HPV-16 及び HPV-18 L1

VLP ワクチンによる抗体価の持続性及び免疫記憶 B 細胞の出現頻度について比較検討された。

BALB/c マウス (雌、12 匹/群) に、アジュバント非添加、水酸化アルミニウム (50 $\mu$ g) 添加又は AS04 (水酸化アルミニウム 50 $\mu$ g + MPL5 $\mu$ g) 添加 HPV-16 及び HPV-18 L1 VLP (各 2 $\mu$ g) ワクチンが、それぞれ 50 $\mu$ L/回、2) -①と同様の方法により投与された。2 回目投与 14 日後及び 37 日後に、血清中の抗 HPV-16 及び抗 HPV-18 抗体価が ELISA 法により測定された。2 回目投与 37 日後にマウス (6 匹/群) の脾臓から B 細胞が採取され 5 日間培養後、HPV-16 L1 及び HPV-18 L1 の抗原刺激による抗体産生細胞及び全抗体産生細胞を Enzyme-linked immunospot (ELISPOT) 法により測定することにより、HPV-16 及び HPV-18 L1 特異的免疫記憶 B 細胞の出現頻度が算出された。

AS04 添加群の抗 HPV-16 及び抗 HPV-18 抗体価は、アジュバント非添加群の ■■■～■■■ 倍 ( $p<0.05$ )、水酸化アルミニウム添加群の ■■■～■■■ 倍 ( $p<0.05$ ) にそれぞれ上昇し、2 回目投与 14 日後から 37 日後における抗体価はいずれの群においても安定していることが観察された。HPV-16 及び HPV-18 L1 特異的免疫記憶 B 細胞の出現頻度については、アジュバント非添加群ではいずれも定量限界付近であったが、AS04 添加群は水酸化アルミニウム添加群に比べ ■■■～■■■ 倍の高値を示すことが観察された。

以上のことから、AS04 添加ワクチン投与マウスでは、2 回目投与 37 日後まで血清抗体価が高く維持されており、この時点で免疫記憶 B 細胞の出現頻度は水酸化アルミニウム添加群に比べてより高く、HPV-16 L1 及び HPV-18 L1 抗原のブースター投与に応答可能 (boostability) な状態にあることが示唆された。

#### ④ アジュバント添加による抗体価の持続性 (PIMS20■■■0183 試験)

水酸化アルミニウム添加又は AS04 添加 HPV-16 及び HPV-18 L1 VLP ワクチン投与 (14、36、91 日後) による抗体価の持続性、投与 91 日後の免疫記憶 B 細胞の出現頻度及びサイトカイン産生量について比較検討された。

BALB/c マウス (雌、48 匹/群) に、水酸化アルミニウム (50 $\mu$ g) 添加又は AS04 (水酸化アルミニウム 50 $\mu$ g + MPL5 $\mu$ g) 添加 HPV-16 及び HPV-18 L1 VLP (各 2 $\mu$ g) ワクチンが、それぞれ 50 $\mu$ L/回が 2) -①と同様の方法により投与された。2 回目投与 14、36 及び 91 日後に、抗 HPV-16 及び抗 HPV-18 抗体価が測定された。2 回目投与 91 日後にマウス (12 匹/群) から脾臓が採取され、3) -③と同様の方法により HPV-16 及び HPV-18 L1 特異的免疫記憶 B 細胞の出現頻度を測定し、2) -②と同様の方法により脾臓細胞の抗原再刺激によるサイトカイン産生 (IFN- $\gamma$  及び IL-5) について測定された。

AS04 添加群の血清中の抗 HPV-16 及び抗 HPV-18 抗体価については、水酸化アルミニウム添加群に比べて、抗 HPV-16 抗体に関しては 2 回目投与 14 日後及び 36 日後において ■■■～■■■ ( $p<0.05$ ) 倍高く、抗 HPV-18 抗体に関しては 2 回目投与 14、36 及び 91 日後において ■■■～■■■ 倍 ( $p<0.05$ ) の高値を示すことが観察された。血清中の抗体価の持続性については、抗 HPV-16 及び抗 HPV-18 抗体価ともに AS04 添加群及び水酸化アルミニウム添加群の両群において、2 回目投与 14 日後から 36 日後の間では安定していたが、91 日後には ■■■～■■■ 程度にまで低下することが観察された。2 回目投与 91 日後に採取された脾臓細胞のサイトカイン産生能については、AS04 添加群は水酸化アルミニウム添加群に比べて IFN- $\gamma$  は ■■■～■■■ 倍、IL-5 は ■■■～■■■ 倍であることが観察された。またこの時点での AS04 添

加群の HPV-16/18 L1 特異的な免疫記憶 B 細胞の出現頻度は、水酸化アルミニウム添加群に比べて HPV-16 L1 は同程度 (約 ■■■ 倍) であったが、HPV-18 L1 は ■■■ 倍高く誘導されることが示された。

以上より、AS04 添加ワクチンはアジュバント非添加及び水酸化アルミニウム単独添加ワクチンに比べて、より高いかつ持続的な血中抗体価の上昇を誘導し、さらに抗ウイルス活性を有する IFN- $\gamma$  の産生誘導能を示すことが明らかとされた。さらに AS04 添加ワクチンは、2 回目投与 91 日後においても免疫記憶 B 細胞の誘導能が高い傾向にあることが示された。

#### 4) アカゲザルにおけるアジュバント添加の免疫応答へ及ぼす影響 (PIMS20■■■0121 試験)

アカゲザル (雄 3 匹、雌 2 匹の計 5 匹/群) に、アジュバント非添加、水酸化アルミニウム (500 $\mu$ g) 又は AS04 (水酸化アルミニウム 500 $\mu$ g + MPL50 $\mu$ g) 添加 HPV-16 及び HPV-18 L1 VLP (各 20 $\mu$ g) ワクチンが、それぞれ 500 $\mu$ L/回、試験開始日、28 日目及び 84 日目に 3 回筋肉内投与された。各投与 28 日後の血清中の抗 HPV-16 及び抗 HPV-18 抗体価、中和エピトープである V5 (HPV-16 L1) 及び J4 (HPV-18 L1) に対する抗体価並びに 3 回目投与 28 日後のウイルス中和抗体価も測定された。

AS04 添加群では、水酸化アルミニウム添加群と比較すると、2 回目及び 3 回目投与後に、抗 HPV-16 抗体価及び抗 HPV-18 抗体価は ■■■ ~ ■■■ 倍 ( $p=0.0130\sim 0.0572$ ) 上昇することが確認された。さらに、中和エピトープである V5 (HPV-16 L1) 及び J4 (HPV-18 L1) に対する特異的抗体価は ■■■ ~ ■■■ 倍 ( $p=0.0200\sim 0.0501$ ) 高く、さらに中和抗体価も ■■■ ~ ■■■ 倍 ( $p<0.05$ ) 高いことが観察された。

AS04 添加本ワクチンは、サルにおいても優れた免疫原性プロファイルを示すことが確認された。

## (2) 安全性薬理試験成績の概要

### 1) 心血管系及び呼吸器系に及ぼす影響 (BVR 371/033059 試験)

Wistar ラット (雄、4 匹/群) に AS04 (水酸化アルミニウム 500 $\mu$ g + MPL50 $\mu$ g) 添加 HPV-16 及び HPV-18 L1 VLP (各 20 $\mu$ g) ワクチン 0.1ml が単回筋肉内投与され (予定臨床用量の 24 ~ 56 倍を越えるよう設定)、投与後 2 時間連続して、心血管系パラメータ (血圧、心拍数及び心電図) 並びに呼吸系パラメータ (呼吸数、1 回換気量及び分時換気量) が測定された。対照群にはリン酸緩衝食塩液 0.1ml が筋肉内投与された。本剤 0.1ml/匹を筋肉内投与した場合、試験期間を通じて、心血管系及び呼吸器系機能に対する影響は認められなかった。

## <機構における審査の概略>

### (1) 効力を裏付ける試験

本剤の効力を裏付ける試験においては、血清中の抗 HPV-16 抗体及び抗 HPV-18 抗体価、免疫記憶 B 細胞の出現頻度、サイトカイン (IFN- $\gamma$  及び IL-5) 等の種々因子の変動について評価されている。機構は、本剤の効力を裏付けるための指標として、これらを用いた根拠及び意義について申請者に説明を求めた。

申請者は以下のように回答した。HPV は種特異性が極めて高く、また遺伝子型により組

織特異性や引き起こされる病変も異なること等から、本剤の有効性（感染防御効果）について感染モデル動物を用いて直接評価することはできない。一方、これまでにイヌ、ウサギ、ウシを用いた種特異的パピローマウイルス (PV) のチャレンジ試験成績から、PV L1 VLP に対する血清抗体の誘導能が強力かつ持続的であるワクチンは、PV 感染及びその関連疾患に対して極めて有効なワクチンとなり得ることが示されており (*Proc Natl Acad Sci.*, 92:11553-7, 1995、*Virology*, 219:37-44, 1996)、HPV 感染の場合も同様に、HPV VLP を含むワクチンを投与することにより、HPV により引き起こされる様々な病変に対する防御効果が期待できることが強く示唆されている。本剤も同じく、HPV-16 L1 VLP 及び HPV-18 L1 VLP を有効成分とする HPV VLP ワクチンである。本剤の開発においては、有効性のサロゲートマーカーとして免疫原性についてマウス及びサルを用い、免疫原性の主要評価項目として血清中の抗 HPV-16 及び抗 HPV-18 抗体価を設定した。副次評価項目としては、免疫記憶 B 細胞の出現頻度及び抗体価の持続性に影響を及ぼす細胞性免疫の誘導能として脾臓細胞からの IFN- $\gamma$  及び IL-5 の産生誘導能を検討した。さらに細胞性免疫の特性を知る上で、IgG サブタイプ (IgG1、IgG2a 及び IgG2b) の割合についても測定することが有用と考えた。本剤の組成 (抗原：水酸化アルミニウム：MPL の重量比) は、以上の免疫原性指標の変動を基に、血清中の抗 HPV-16 及び抗 HPV-18 抗体産生能の強い誘導活性、及び免疫記憶 B 細胞誘導、及び抗ウイルス作用を示す IFN- $\gamma$  の産生誘導活性から、1 : 25 : 2.5 が適当であると判断し、その後の開発に適用した。

機構は、以上の申請者の回答を了承した。さらに機構は、免疫原性の主要評価項目として用いられた血清中の抗 HPV-16 及び抗 HPV-18 抗体価上昇の臨床的意義について、申請者に説明を求めた。

申請者は以下のように回答した。子宮頸部粘液中には IgA 抗体及び IgG 抗体の存在が認められている。IgA 抗体は子宮頸部において産生されるが、IgG 抗体については血清由来であること、また子宮頸部粘液中への血清 IgG 抗体の漏出は、子宮頸部における HPV 感染防御にとって重要なメカニズムであることが広く認められている (*10th ed USA McGraw Hill Lange Medical Immunology*, 548-67, 2001)。Nardelli-Haefliger らは、経口避妊薬を服用している女性における HPV-16 L1 VLP ワクチン投与後の血清及び子宮頸部粘液中の HPV-16 L1 VLP IgG 抗体濃度を調べ、血清と子宮頸部粘液中の HPV-16 L1 VLP IgG 抗体濃度が良く相関することを報告した (*J Natl Cancer Inst.*, 95 (15) :1128-37, 2003)。これら臨床及び非臨床試験成績から、血清及び子宮頸部粘液中へ強力かつ持続的な抗 HPV-16 L1 VLP 抗体及び HPV-18 L1 VLP 抗体の産生誘導を可能とするワクチンの開発を目指した。

機構は、以上の申請者の回答から、血清中の抗 HPV-16 及び抗 HPV-18 抗体価の上昇により、子宮頸部におけるこれら抗体価の上昇も期待できることは理解した。しかしながら、これら血清抗体価の上昇と本剤の有効性（感染予防効果）との関連については不明であるため、臨床試験において確認することとした。

## (2) 安全性薬理試験

機構は、安全性薬理試験のうち、中枢神経系に係る試験を省略してもよいと判断した理由を説明するよう申請者に求めた。

申請者は、以下のように回答した。ウサギの単回投与毒性試験並びにウサギ及びラット

の反復投与毒性試験において、本ワクチン群の一般状態観察で中枢神経系の異常は観察されなかった。したがって、本剤が中枢神経系に影響を及ぼす可能性は低いと考えられ、安全性薬理試験のうち中枢神経系に対する試験は実施しなかった。なお、国内外の第 I 及び II 相臨床試験において、中枢神経系への影響を示唆する所見は認められていない。

機構は、以上を了承した。

## (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略>

本申請にあたり、本ワクチン（AS04 添加、HPV-16 及び HPV-18 L1 VLP それぞれを抗原たん白質量として等量含有）、AS04 アジュバント及び MPL に関する毒性試験が実施された。うち、MPL については医薬品新添加剤として評価された。

### (1) 単回投与毒性試験（          1513 試験、          58678 試験）

本ワクチンの単回投与毒性試験は実施されていない。ただし、単回投与時の毒性については、ウサギを用いた反復投与毒性試験における最高用量を 120 $\mu$ g（AS04 添加、HPV-16 及び HPV-18 L1 VLP 各 60 $\mu$ g、以下、同様）とした本ワクチンの変量の筋肉内初回投与時の反応により評価され、単回投与による死亡を含む一般状態の変化は認められなかった（          1513 試験）。また、AS04 アジュバント単独（MPL 50 $\mu$ g 及び水酸化アルミニウム 500 $\mu$ g 含有）あるいは本ワクチン 40 $\mu$ g（AS04 添加、HPV-16 及び HPV-18 L1 VLP 各 20 $\mu$ g、以下、同様）がウサギに単回投与されたとき、いずれの場合も全身性の影響は認められなかった。投与部位での出血、変色、炎症及び筋線維壊死の発現率は AS04 アジュバント単独投与群及び本ワクチン 40 $\mu$ g 投与群で同等であり、いずれも対照群（生理食塩液投与）に比べ高かった（          58678 試験）。

### (2) 反復投与毒性試験

本ワクチンの反復投与毒性試験として、ウサギを用いた 4 試験、ラットを用いた 1 試験が実施された。

#### 1) ウサギ 4 回反復投与毒性試験（          1513 試験）

NZW ウサギ（雌、18 匹/群）に本ワクチン 40 $\mu$ g（臨床用量（HD）：低用量群）又は 120 $\mu$ g（臨床用量（HD）の 3 倍：高用量群）が 2 週間間隔で 4 回筋肉内投与され、水酸化アルミニウム（500 $\mu$ g）単独投与（水酸化アルミニウム群）と比較された。最終投与後に 2 日あるいは 28 日の休薬期間が設けられ、休薬期間も含め局所及び全身毒性並びに副反応プロファイルが評価された。

それぞれの時期の評価において、一般状態、投与部位を含む臨床症状、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検、器官重量及び病理組織学的検査が実施され、投与部位以外での変化は認められなかった。投与部位での紅斑及び浮腫が水酸化アルミニウム群を含む全投与群において各々数例に認められたが、用量依存的な傾向は認められなかった。ワクチン高用量群及び低用量群の数例に中等度～重度の紅斑及び浮腫が観察された。

また、ワクチン低用量群の1例で一時的な肢の障害がみられたが、この動物に重度の局所作用を示す病理組織学的変化は認められず、肢の障害の原因については特定されなかった。全ての試験で同所見の発現は1例のみであった。投与部位の炎症像は、ワクチン群で対照群より広範囲に認められ、水酸化アルミニウム群ではワクチン群より早期に消退した。

#### 2) ウサギ4回反復投与毒性試験 (■1758 試験)

■1513 試験では投与前と剖検時で採血部位が異なり、正確に検査結果を比較することが困難だったため、血液学的検査を目的とした再試験が実施された。プロトコールは■1513 試験と同様で、生理食塩液、水酸化アルミニウム、本ワクチン 120 $\mu$ g が投与された。最終投与後 16 日間の観察期間が設けられ、血液学的検査が実施された。

一般状態及び体重等に変化はなく、死亡例はなかった。また血液学的検査値や試験終了時の骨髄塗抹検査においても異常所見は認められなかった。

#### 3) ウサギ4回反復投与毒性試験 (■58678 試験)

本ワクチン 40 $\mu$ g (ワクチン群)、AS04 アジュバント単独の臨床用量 (1HD) (AS04 群) 及び生理食塩液 (対照群) が NZW ウサギ (雌、15 匹/群) に単回又は反復 (初回投与後 2、4、8 週間後の計 4 回) 筋肉内投与され、単回投与の場合は投与 3 日後、反復投与の場合は最終投与 3 日後又は 13 週間後に屠殺剖検された。

試験期間中に死亡はなく、一般状態、皮膚反応、体温、体重、体重増加量、摂餌量及び眼科学的検査においても、投与に関連する影響は認められなかった。血清中のワクチン抗原に対する抗体価が測定され (ELISA)、本ワクチンを 4 回投与した全例に抗体産生が確認された。ワクチン群及び AS04 群の単回又は 4 回反復投与直後における投与部位での局所変化として、軽度～中等度の筋線維の限局性変性、壊死又は再生並びに軽度～中等度の亜急性炎症像が認められた。単回投与後の投与部位における局所反応の程度及び発現率には、ワクチン群と AS04 群間で明らかな差は認められなかったが、4 回投与直後では、ワクチン群の局所反応の程度及び発現率が AS04 群に比べやや高かった。投与終了 13 週間後の主な局所変化は筋線維の軽度再生であり、回復過程にあることが示唆された。血液学的検査ではワクチン群及び AS04 群で高値の好中球及びフィブリノーゲンが認められ、投与局所の炎症性変化に起因するものと考えられた。4 回投与 13 週間後の最終検査で、ワクチン群の血小板数は統計学的に有意な低値を示した (対照群値の 36%) が、骨髄及び網内系等の臓器・組織で血小板数の低値を示唆する所見は認められず、血小板数以外の血液学的検査値及び一般状態に変化は認められなかった。血液生化学的検査では、投与群間で変動が認められた項目も散見されたが、一貫性は認められず、投与前値の範囲内であることより、投与に関連した変化ではないと考えられている。また、病理組織学的検査を行った組織での毒性所見は認められなかった。

#### 4) ウサギ4回反復投与毒性試験 (■62369 試験)

■58678 試験において本ワクチン投与群の血小板数が有意な低値を示したことから、血小板数減少に対する再現性及び用量依存性について検討された。本ワクチンの臨床用量 (1HD 群) 又は 1/10 量 (1/10HD 群)、AS04 アジュバントの臨床用量 (AS04 群)、生理食塩液 (対照群) が ■58678 試験と同様に 4 回反復投与された。

体重減少による衰弱のため、対照群 (133 日目) 及び AS04 群 (106 日目) の各 1 例が切迫屠殺されたが、その他一般状態、体重及び体重増加量に投与による影響は認められな

かった。また、血小板数に変動はなく、**58678** 試験で認められた減少には再現性が認められなかった。全身毒性も認められず、軽度の血液学的検査値の変化としてフィブリノーゲン (AS04 群、1HD 群) 及び好中球 (1HD 群) の高値が認められたが、いずれも免疫応答に起因する予測された炎症に相当するものと考えられた。投与部位の局所反応は、1HD 群でもっとも顕著であった。

#### 5) ラット 4 回反復投与毒性試験 (**62370** 試験)

ウサギ 4 回反復投与毒性試験 (**58678** 試験) で血小板数が減少し、再試験 **62369** 試験) では再現性が認められなかったため、種特異性を検討する目的で、ラットを用いた反復投与毒性試験が実施された。投与量は、ラット免疫原性試験 (PIMS20**0475** 試験) の結果に基づき、体重換算で予定臨床用量の約 25~50 倍 (体重により変動) を超える 1/5HD (ヒト 30~70kg、ラット 0.25kg として 24~56 倍) が選択された。

ラット 4 回反復投与毒性試験においては、Wistar ラット (雌、20 匹/群) に本ワクチンの予定臨床用量の 1/5 用量 (ワクチン群)、AS04 アジュバント (AS04 群) 又は生理食塩液 (対照群) を 4 回反復筋肉内投与 (初回投与後 2、4、8 週間後の計 4 回) したときの局所及び全身毒性が評価され、最終投与 13 週間後の回復性が評価された。動物は最終投与 3 日後又は 13 週間後に屠殺された。

死亡例はなく、一般状態、皮膚反応及び眼科学的所見や体重、体重増加量及び摂餌量について検討されたが変化は認められなかった。初回投与 4 時間後の体温に群間差は認められず、24 時間後では AS04 群及びワクチン群で対照群に比べて統計学的に有意に高かったが、48 時間後では群間で差は認められなかった。最終投与では 4 時間後、24 時間後とも群間差は認められなかった。血液学的検査では、AS04 群とワクチン群で好中球の増加 (絶対及び相対数)、フィブリノーゲンの増加及びリンパ球数の減少 (相対数) が認められたが、血小板数の変動は認められなかった。最終投与 3 日後の病理組織学的検査では、投与局所で亜急性炎症、筋線維壊死、限局性出血など投与に関連する変化が認められ、その程度はワクチン群でもっとも顕著であったが、13 週後では対照群と差が認められず、休薬による回復性が認められた。なお、いずれの剖検時においても、AS04 群、ワクチン群とも膝窩リンパ節での炎症反応が観察された。

死亡例はなく、一般状態、皮膚反応及び眼科学的所見や体重、体重増加量及び摂餌量について検討されたが変化は認められなかった。初回投与 4 時間後の体温に群間差は認められず、24 時間後では AS04 群及びワクチン群で対照群に比べて統計学的に有意に高かったが、48 時間後では群間で差は認められなかった。最終投与では 4 時間後、24 時間後とも群間差は認められなかった。血液学的検査では、AS04 群とワクチン群で好中球の増加 (絶対及び相対数)、フィブリノーゲンの増加及びリンパ球数の減少 (相対数) が認められたが、血小板数の変動は認められなかった。最終投与 3 日後の病理組織学的検査では、投与局所で亜急性炎症、筋線維壊死、限局性出血など投与に関連する変化が認められ、その程度はワクチン群でもっとも顕著であったが、13 週後では対照群と差が認められず、休薬による回復性が認められた。なお、いずれの剖検時においても、AS04 群、ワクチン群とも膝窩リンパ節での炎症反応が観察された。

### (3) 遺伝毒性試験及びがん原性試験

EMEA ガイダンス (Note for Guidance on preclinical pharmacological and toxicological testing of vaccines、CPMP/SWP/465/95) 及びヒト用ワクチンのアジュバントに関するガイドライン (Guideline on adjuvants in vaccines for human use、EMEA/CHMP/VEG/134716/2004) に従い、遺伝毒性試験及びがん原性試験は実施されていない。

### (4) 生殖発生毒性試験 (BVR249/033160 試験)

生殖発生毒性試験として、雌受胎能、出生前及び出生後の発生に関する試験が実施され、本ワクチン又は AS04 アジュバントを SD ラット (雌、56 匹/群) に、交配前 ■ 日、妊娠 ■、■、■ 及び ■ 日の計 5 回筋肉内投与され、雌の受胎能、出生前の発生及び出生後の生存に対する影響が検討された (表 3)。なお、EMEA ガイダンス (Note for Guidance on preclinical pharmacological and toxicological testing of vaccines、CPMP/SWP/465/95) において血中抗原濃度の測定が要求されていないことから、トキシコキネティクス試験は実施されていない。

表 3 BVR249/033160 試験における投与群構成

群	交配前 ■ 日投与	妊娠 ■、■、■ 及び ■ 日
1	生理食塩液	生理食塩液
2	生理食塩液	本ワクチン
3	本ワクチン	本ワクチン
4	AS04	AS04

本ワクチン (1/5HD) により誘導された免疫応答について評価され、妊娠前及び妊娠中の雌動物におけるワクチン曝露及び善感が確認された。さらに、抗体の胎児移行性及び乳汁を介した出生児移行性も確認された。

本ワクチン及び AS04 アジュバントの交配前投与では全例の交尾が成立、妊娠し、雌受胎能 (妊娠動物数及び着床数) に対する影響は認められなかった。また本ワクチン及び AS04 群で、性周期や交配期間、膣栓数や膣洗浄液中の精子数についても対照群と差はなかったことから、申請者は、本ワクチン及び AS04 は、性周期及び交尾能に影響を及ぼさないと説明している。

試験期間中に、一般状態、体重及び摂餌量に変化は認められず、胚・胎児発生にもワクチンの影響はみられなかった。妊娠動物の出産率、生存胎児数、胎児体重、生後 ■ 日までの出生児の発育、発達及び生存率にも影響は認められなかった。本ワクチン群及び AS04 群の主な内臓及び骨格所見の種類と発生率は対照群と同程度であり、軽度の心室中隔欠損が 2 例 (本ワクチン/本ワクチン群、AS04/AS04 群各 1 例) に認められたが、生後まもなく消失する程度であり、SD ラットにおける心室中隔欠損の自然発生範囲内であった。また、その他のワクチン投与群でのみ認められた所見はいずれも軽微であり、対照群や背景値と比較し意味のある変動ではないと考えられ、申請者は、本ワクチンの交配前及び妊娠期間の投与は胎児の異常の発現に影響を及ぼさないことが示唆されたと説明している。

### (5) 局所刺激性試験 (■ 1513 試験、■ 58678 試験)

投与部位での局所刺激性は、反復投与毒性試験において検討され、単独での局所刺激性試験は実施されていない。

■ 1513 試験の病理組織学的検査において投与部位の皮下組織及び筋肉で炎症像がみ



られたが、発現率には明らかな用量依存性は認められなかった。対照とされた水酸化アルミニウム投与群でも投与部位に炎症所見が認められたが、ワクチン投与群では水酸化アルミニウム投与群と比べ広範かつ回復期間が延長する傾向が認められた。

58678 試験でも、AS04 アジュバント (AS04 群) 又は本ワクチン (ワクチン群) を 4 回投与したウサギの投与局所で投与に関連した変化が認められた。単回投与でみられた局所反応は反復投与での反応に比べ軽度であり、かつワクチン群と AS04 群では同程度とされた。

以上の検討を踏まえ、申請者は、実施した試験成績から本ワクチンの安全性が示された旨を説明している。

### <審査の概略>

ウサギ 4 回反復投与毒性試験で血小板数の低値が認められたが、再現性がなく、またラットを用いた種差を検討する追加試験が実施された結果、ウサギでの血小板数減少は投与と直接的な関連性は乏しかったことから、申請者は、血小板数の低値は毒性学的意義のない変化と結論づけている。

機構は、申請者の見解は受け入れられるものとする。また、62369 試験において体重減少による衰弱のため屠殺された動物は対照群とアジュバント群であり、他の試験では体重減少及び一般変化が見られないことより、機構は、当該事象は偶発的であり評価に影響はないと判断した。

機構は、ラットの雌受胎能、出生前及び出生後の発生に関する試験において、本ワクチン/本ワクチン群 1/166 例、AS04/AS04 群 1/169 例で認められた心室中隔欠損について、申請者にさらに説明を求めた。

申請者は、筋性部ではなく膜性部の欠損であり、他に発達遅延を示唆する所見は認められなかった旨を説明した。

機構は、他の内臓及び骨格異常で対照群と比べ増加している所見はなく、特段の変化は認められないことから、心室中隔欠損については偶発的な所見であるとする。

本ワクチン及び AS04 アジュバントの投与部位では投与回数の増加と共に炎症とそれに起因する関連所見が認められており、局所反応はアジュバント単独よりもワクチン投与で明らかに増強されていたことから、機構は、投与回数と組織傷害性の関連性について申請者に説明を求めた。

申請者は、投与部位において投与回数が増えることにより限局性血管周囲炎の発現がみられたが、可逆的であったことを説明した。

機構は、ウサギ反復投与試験では左右の傍脊椎筋に交互に投与されたため同一箇所への複数回投与刺激性については不明であるが、臨床使用では投与局所の注意深い観察や次回投与は前回と同一箇所への投与を避けるなど局所刺激反応に対する注意が必要とする。

#### 4. 臨床に関する資料

##### <提出された資料の概略>

本申請において、下表に示す健康女性を対象とした臨床試験成績が評価資料として提出された。

相	試験	主要評価項目	対象年齢	先行試験	追跡調査	延長	進行中/延長
I	HPV-002	安全性	18-30 歳	56 日間 n=49 (0)		54 ヶ月間 n=7 (0)	
II a	HPV-003	安全性	18-30 歳	12 ヶ月間 n=61 (31)			
	HPV-004	抗体反応、安全性	18-30 歳	12 ヶ月間 n=60 (20)		48 ヶ月間 n=38 (12)	
	HPV-005	用量設定 (免疫応答)、安全性	18-30 歳	12 ヶ月間 n=209 (63)		48 ヶ月間 n=35 (25)	
II b	HPV-001/007	一時感染に対する有効性	15-25 歳	18 ヶ月間 n=1113 (560)	最長 27 ヶ月間 n=1113 (560)	HPV-007 (24 ヶ月目時点) 60 ヶ月間 n=776 (393)	HPV-007 (36 ヶ月目時点) 72 ヶ月間 n=699 (359)
	HPV-032	持続感染 (6 ヶ月定義) <sup>†</sup> に対する予防効果	20-25 歳 (日本人)	~18.5 ヶ月間 n=1040 (519)		追跡調査	
III	HPV-008	HPV-16 又は HPV-18 に起因する CIN2+ に対する有効性	15-25 歳	~15 ヶ月間 n=18665 (9319)		48 ヶ月間[20]	
	HPV-012	ロット間の免疫原性の一貫性	10-25 歳	7 ヶ月間 n=770 (770)	12 ヶ月間 n=733 (733)	48 ヶ月間[20]	
	HPV-013/013Ext	安全性 (重篤な有害事象の発現)、免疫原性 (延長試験)	10-14 歳	7 ヶ月間 n=2067 (1035)	12 ヶ月間 n=2023 (1014)	18 ヶ月間 n=1245 (626)	48 ヶ月間 [20]
	HPV-014/014Ext	免疫応答 (血清抗体陽転率)、免疫原性 (延長)	15-55 歳	7 ヶ月間 n=666 (666)	12 ヶ月間 n=635 (635)	HPV-014Ext (18 ヶ月目時点) 18 ヶ月間 n=524 (524)	48 ヶ月間 [20]
	HPV-015	持続感染 (6 ヶ月定義) に対する有効性、HPV-16 又は HPV-18 に起因する CIN1+ に対する有効性 (複合評価項目)	26 歳以上	7 ヶ月間 n=5751 (2880)		36 ヶ月間[20]	
	HPV-016	免疫原性 (ロット間の一貫性)	18-25 歳	7 ヶ月間 n=798 (798)		12 ヶ月間[20]	
	HPV-046	免疫原性、安全性	10-15 歳 (日本人)	7 ヶ月間 n=100 (100)			

調査期間の長さ (日又は月) は 1 回目ワクチン接種後の期間。n: 被験者数、( ): 本ワクチン接種被験者数  
<sup>†</sup> 持続感染 (6 ヶ月定義): HPV DNA PCR 検査により、同一のウイルス遺伝子型が 2 回以上陽性となり、約 6 ヶ月の間隔 (>150 日) をあけて DNA 陽性の 2 検体が採取された時点の間に DNA 陰性の検体が採取されていない場合と定義する

以下に、主要な臨床試験の概要を示す。

##### (1) 国内第 II b 相試験 (HPV-032 試験、公表論文なし、評価資料、実施期間 2006 年 4 月 ~、20 年 月 日データ固定 (中間解析 II))

20~25 歳の日本人健康女性を対象 (目標症例数 1,000 例、各群 500 例) とし、A 型肝炎ワクチン (エイムゲン<sup>®</sup> (HAV/0.5µg)) を対照ワクチンとして、AS04 添加 HPV-16/18 (20µg/20µg) L1 VLP ワクチン (以下、本項においては、同組成の製剤を本剤とする) の HPV-16 又は HPV-18 の持続感染 (6 ヶ月定義、HPV DNA PCR 検査により、同一のウイルス遺伝子型が 2 回以上陽性となり、約 6 ヶ月の間隔 (>150 日) をあけて DNA 陽性の 2 検体が採取された時点の間に DNA 陰性の検体が採取されていない場合と定義する) に対する予防効果を検討することを目的とした多施設共同無作為化二重盲検並行群間比較試験が国内 13 施設にて実施された。

主な組み入れ基準として、尿による妊娠検査が陰性であること、妊娠の可能性がないこと、HPV ワクチン及び A 型肝炎ワクチンの接種歴がないこと、3-脱アシル化-4'-モノホスホリルリピッド A (MPL) の投与歴がないこと等が設定された。用法・用量は、本剤又は対照ワクチンを、0、1、6 ヶ月の計 3 回筋肉内接種することとされた。

本試験では 2 回の中間解析と最終解析が計画された。各中間解析は、中間解析 I が 7 ヶ月目時点、中間解析 II が ATP コホート (ATP: According To Protocol) で HPV-16 又は HPV-18 の持続感染 (6 ヶ月定義) が 8 例以上に認められた時点に実施するとされた。中間解析 I では安全性と免疫原性が検討され、中間解析 II では有効性、免疫原性及び安全性が評価された。中間解析による試験の早期中止は計画されなかった。中間解析に伴う有意水準の調整には、Wang-Tsiatis の境界 ( $\Delta=0.2$ , *Biometrics*,43:193-199,1987) が用いられ、中間解析 II 及び最終解析の有意水準 (両側) はそれぞれ 0.01、0.045 とされた。中間解析 II については、20■■年 ■月 ■日にデータ固定が行われ、解析は社外の統計担当者により行われた。有効性、安全性及び免疫原性の最終解析は 24 ヶ月時点で行われることとされた。なお、最終解析の結果については、■■月 ■日時点で提出されていない。

本試験には 1,046 例が組み入れられ 1,040 例 (本剤群 519 例、HAV 群 521 例) が少なくとも 1 回ワクチンの接種を受け、TVC コホート (TVC: Total Vaccinated Cohort) とされ、安全性の解析対象とされた。そのうち、「ベースライン時の細胞診がハイグレード又は測定不能である」「試験ワクチンがプロトコールに従い接種されなかった」等の理由により 38 例が除外され、1,002 例 (本剤群 501 例、HAV 群 501 例) が有効性に関する ATP コホートとされた。

主要評価項目は、HPV-16 又は HPV-18 の子宮頸部への持続感染 (HPV DNA PCR 検査により、同一のウイルス遺伝子型が 2 回以上陽性となり、約 6 ヶ月の間隔 (>150 日) をあけて DNA 陽性の 2 検体が採取された時点の間に DNA 陰性の検体が採取されていない場合と定義する) とされ、評価対象は、当該 HPV 型について 0 ヶ月目で血清抗体陰性かつ 0 及び 6 ヶ月目で PCR により HPV DNA 陰性が確認されている被験者とされた。

中間解析 II における HPV-16 又は HPV-18 の子宮頸部への持続感染に対する有効性の結果は表 4 のとおりであり、HPV-16 及び/又は HPV-18 (以下、HPV-16/HPV-18) において VE (Vaccine Efficacy:  $VE = (1 - (n1/T1) / (n2/T2)) \times 100 (\%)$ )、n1: 本剤群において持続感染が認められた症例数、T1: 本剤群の総追跡調査期間、n2: HAV 群において持続感染が認められた症例数、T2: HAV 群の総追跡調査期間) の 99%信頼区間の下限は 0 を上回っており、有意差が認められた。

表 4 HPV-16 又は HPV-18 の子宮頸部への持続感染

(6ヶ月定義) に対する有効性 (有効性に関する ATP コホート、中間解析 II)

Event Type	投与群	n/N	T	VE (Vaccine Efficacy)	
				%	99%信頼区間
HPV-16/HPV-18	本剤群	0/358	366.79	100	[20.5, 100]
	HAV 群	9/367	363.98		
HPV-16	本剤群	0/305	311.59	100	[-44.5, 100]
	HAV 群	6/319	317.36		
HPV-18	本剤群	0/321	330.17	100	[-373.6, 100]
	HAV 群	3/321	322.57		

N: 解析対象症例数、n: 持続感染が認められた症例数、T: 総追跡調査期間 (年)

VE = (1 - (n1/T1) / (n2/T2)) × 100 (%)

n1: 本剤群において持続感染が認められた症例数、T1: 本剤群の総追跡調査期間、n2: HAV 群において持続感染が認められた症例数、T2: HAV 群の総追跡調査期間

また、有効性の副次評価項目の主な結果は表 5 のとおりであった。

表 5 副次評価項目の主な結果 (有効性に関する ATP コホート、中間解析 II)

Event Type	評価項目	投与群	n/N	T	VE (Vaccine Efficacy)	
					%	99%信頼区間
HPV-16 /HPV-18 (by PCR)	一時感染	本剤群	6/403	399.09	82.2	[46.2, 95.8]
		HAV 群	33/406	391.53		
	細胞診の異常 (ASC-US+)	本剤群	1/402	349.36	83.4	[-116.2, 99.9]
		HAV 群	6/406	347.54		

N: 解析対象症例数、n: 各評価項目に該当する症例数、T: 総追跡調査期間 (年)

ASC-US+ (細胞異常): ASC-US (意義不明異型扁平上皮細胞)、LSIL (ローグレード子宮扁平上皮内病変)、HSIL (ハイグレード子宮扁平上皮内病変)、ASC-H (異型扁平上皮細胞) 及び AGC (異型腺細胞)

安全性については、中間解析 II の実施時点において、死亡例は認められなかった。重篤な有害事象は本剤群に 16 例 20 件、HAV 群に 15 例 17 件認められ、うち本剤群の 1 件 (2 回目接種後 15 日目に報告された自然流産) は、治験責任医師によりワクチン接種と因果関係の可能性ありと判定された。主な有害事象 (いずれかの群で発現率 5%以上) は表 6 のとおりであった。

表 6 いずれかの群で 5%以上の症例に認められた特定症状及び特定外症状 (TVC、中間解析 II)

	症状	本剤群						HAV 群					
		有害事象			副作用			有害事象			副作用		
		N	n	%	N	n	%	N	n	%	N	n	%
特定局所症状*	注射部位疼痛	512	508	99.2	-	-	-	510	214	42.0	-	-	-
	注射部位紅斑	512	455	88.9	-	-	-	510	287	56.3	-	-	-
	注射部位腫脹	512	401	78.3	-	-	-	510	165	32.4	-	-	-
特定全身症状	関節痛	512	123	24.0	512	113	22.1	511	61	11.9	511	48	9.4
	疲労	512	341	66.6	512	316	61.7	511	300	58.7	511	254	49.7
	発熱/ (腋窩) (≥ 37.5°C)	512	41	8.0	512	28	5.5	511	28	5.5	511	19	3.7
	胃腸障害	512	172	33.6	512	135	26.4	511	167	32.7	511	124	24.3
	頭痛	512	250	48.8	512	201	39.3	511	222	43.4	511	181	35.4
	筋痛	512	262	51.2	512	252	49.2	511	128	25.0	511	109	21.3
	発疹	512	33	6.4	512	30	5.9	511	24	4.7	511	22	4.3
	特定外症状	注射部位そう痒感	519	83	16.0	519	83	16.0	521	15	2.9	521	15
	注射部位熱感	519	69	13.3	519	69	13.3	521	6	1.2	521	6	1.2
	鼻咽頭炎	519	110	21.2	519	11	2.1	521	91	17.5	521	7	1.3
	頭痛	519	19	3.7	519	2	0.4	521	27	5.2	521	5	1.0

特定 (局所及び全身) 症状: ワクチン接種後 7 日間 (0-6 日目) に報告された事象及び症状

特定外症状: ワクチン接種後 30 日以内 (0-29 日目) に報告された事象及び症状

N: 1 回以上接種した症例数、n: 症状の報告例数、%: 発現率

\*特定局所症状についてはワクチン接種との因果関係は判定されていない

1例が重篤な有害事象により治験の中止に至った（1回目接種後40日目に階段から転落し入院となった症例であり、頭蓋骨骨折及び脳挫傷と診断された）。治験の中止に至った有害事象は5件（本剤群4件、HAV群1件）に認められた（蕁麻疹3件、胃腸症状1件、皮膚描記症の悪化1件）。これらの事象については、治験責任医師によりワクチン接種との因果関係なしと判定された。

7例に8件の慢性疾患の新たな発症（以下、NOCD）が報告され（本剤群5件、HAV群3件）、内訳は蕁麻疹4件（本剤群1件、HAV群3件）などであった。関節リウマチ1件及びアレルギー性肉芽腫性血管炎1件は自己免疫疾患の新たな発症（以下、NOAD）と分類された。

68例の症例が72件の妊娠を報告した。転帰は、選択的妊娠中絶が27例、正常児を出産が23例、自然流産が8例、妊娠継続中が14例であった（＜審査の概略＞（4）安全性について、7）妊娠の項参照）。

## **（2）国内第Ⅲ相試験（HPV-046試験、公表論文なし、実施期間2007年7月～2008年3月、評価資料）**

10～15歳の日本人健康女性を対象（目標症例数100例）とし、本剤を3回接種したときの免疫原性及び安全性を評価することを目的とした非盲検非対照試験が、国内8施設にて実施された。用法・用量として、本剤を0、1、6ヶ月のスケジュールで筋肉内接種することとされた。本試験には101例が組み入れられ、100例が本剤の投与を終了し、安全性TVCコホートとされた。そのうち、試験ワクチンがプロトコールに従い接種されなかった1例を除く99例が免疫原性ATPコホートとされた。主要評価項目は、7ヶ月目のHPV-16及びHPV-18に対する免疫原性及び各回の本剤接種後7日以内（0～6日目）に報告された特定有害事象の評価とされた。

免疫原性の結果は表7のとおりであり、試験開始時に血清抗体陰性であった全ての被験者が、3回目接種の1ヶ月後（7ヶ月目）にHPV-16及びHPV-18に対する血清抗体が陽転していた。また、試験開始時に抗体陽性であった被験者における抗HPV-16抗体価は、試験開始時に抗体陰性と判定された被験者の抗体価と同程度まで上昇した。

表7 抗 HPV-16 抗体及び抗 HPV-18 抗体の陽性率（免疫原性 ATP コホート）

	接種前 血清抗体	抗体測定 時期	N	陽性率 (≥8 EU/mL)			血清抗体価 (EU/mL)			
				n	%	95%信頼区間	GMT	95%信頼区間	最小値	最大値
HPV-16	陰性	接種前	92	0	0	[0, 3.9]	4	[4, 4]	*	*
		3回接種	92	92	100	[96.1, 100]	19513.8	[16837.7, 22615.3]	2930	120711
	陽性	接種前	7	7	100	[59, 100]	16.6	[10.1, 27.3]	9	39
		3回接種	7	7	100	[59, 100]	23101.1	[12334.5, 43265.7]	9804	58846
	計	接種前	99	7	7.1	[2.9, 14]	4.4	[4.1, 4.8]	*	39
		3回接種	99	99	100	[96.3, 100]	19748	[17147.7, 22742.7]	2930	120711
	接種前 血清抗体	測定時期	N	陽性率 (≥7 EU/mL)			血清抗体価 (EU/mL)			
				n	%	95%信頼区間	GMT	95%信頼区間	最小値	最大値
HPV-18	陰性	接種前	94	0	0	[0, 3.8]	3.5	[3.5, 3.5]	*	*
		3回接種	94	94	100	[96.2, 100]	8998.4	[7746.7, 10452.2]	1710	61503
	陽性	接種前	4	4	100	[39.8, 100]	12.2	[8.1, 18.3]	9	16
		3回接種	4	4	100	[39.8, 100]	4730.3	[955.7, 23412]	2506	21186
	計	接種前	98	4	4.1	[1.1, 10.1]	3.7	[3.5, 3.9]	*	16
		3回接種	98	98	100	[96.3, 100]	8765.3	[7543.8, 10184.4]	1710	61503

\* : カットオフ値未満、抗 HPV-16 抗体及び抗 HPV-18 抗体の測定カットオフ値はそれぞれ 8 ELISA Unit [EU]/mL、7 EU/mL とし、抗体価がカットオフ値以上であった被験者を陽性例とする（カットオフ値は定量限界に基づき設定した）、GMT : 血清抗体価幾何平均（カットオフ値未満の数値はカットオフ値の 1/2 の値として計算した）  
 N : 接種前の測定結果が得られた被験者数、n : 抗体陽性被験者数、  
 (1 例は HPV-18 に対する抗体価測定結果が得られなかった)

接種後 7 日間における特定局所症状の発現率（接種回数に基づく集計）は 96.6%（288/298 回）であった。発現頻度が高かった局所症状は注射部位疼痛：95.0%（283/298 回）、発赤：72.5%（216/298 回）及び腫脹：66.4%（198/298 回）であった。グレード 3 の特定局所症状は 12.4%（37/298 回）において報告された。接種後 7 日間における特定全身症状の発現率（接種回数に基づく集計）は 40.6%（121/298 回）であった。発現頻度の高かった症状は疲労：22.5%（67/298 回）、頭痛：15.8%（47/298 回）及び筋痛：13.1%（39/298 回）であった。グレード 3 の報告件数は 3 件であり、発現率は 0.7%（2/298 回）であった。

死亡例は認められなかった。試験中止に至る重篤又は非重篤の有害事象は発現しなかった。主な有害事象は表 8 のとおりであった。

表 8 5%以上の症例に認められた特定症状及び特定外症状 (TVC コホート)

	症状	有害事象			副作用		
		N	n	%	N	n	%
特定局所症状*	注射部位疼痛	100	98	98.0	-	-	-
	注射部位紅斑	100	85	85.0	-	-	-
	注射部位腫脹	100	81	81.0	-	-	-
特定全身症状	関節痛	100	15	15.0	100	11	11.0
	疲労	100	40	40.0	100	37	37.0
	発熱/ (腋窩) (≥ 37.5°C)	100	10	10.0	100	6	6.0
	胃腸障害	100	17	17.0	100	16	16.0
	頭痛	100	33	33.0	100	31	31.0
	筋痛	100	26	26.0	100	25	25.0
	発疹	100	5	5.0	100	5	5.0
特定外症状	腹痛	100	6	6.0	100	1	1.0
	注射部位そう痒感	100	16	16.0	100	16	16.0
	注射部位熱感	100	9	9.0	100	9	9.0
	鼻咽頭炎	100	18	18.0	100	1	1.0
	月経困難症	100	6	6.0	100	0	0.0

特定 (局所及び全身) 症状: ワクチン接種後 7 日間 (0-6 日目) に報告された事象及び症状

特定外症状: ワクチン接種後 30 日以内 (0-29 日目) に報告された事象及び症状

N: 1 回以上接種した症例数、n: 症状の報告例数、%: 発現率

\*特定局所症状についてはワクチン接種との因果関係は判定されていない

### (3) 海外第 II a 相試験 (HPV-005 試験、実施期間 1999 年 10 月～2001 年 5 月、公表論文なし)

18～30 歳の健康成人女性を対象 (目標症例数 210 例) とし、SBAS4 (AS04 に同じ) 又は水酸化アルミニウムをアジュバントとして添加した MEDI-517: HPV-16/18 VLP (HPV-16 及び HPV-18 のウイルス様粒子 (VLP) を等量含有するワクチン) の安全性及び免疫原性 (3 回目の接種後 30 日目の HPV-16 及び 18 に対する血清抗体価 (ELISA にて測定)) の評価を目的とした無作為化二重盲検用量比較試験が、米国 25 施設で実施された。

主な組み入れ基準として、HPV-16 及び 18 血清抗体陰性、ハイリスク型 HPV DNA 陰性、パップスメアの結果が正常、等が設定された。SBAS4 をアジュバントとする 12µg 群、40µg 群及び 120µg 群 (以下、SBAS4 12µg 群 (目標症例数 60 例、以下同)、SBAS4 40µg 群 (60 例)、SBAS4 120µg 群 (60 例))、及び水酸化アルミニウムをアジュバントする 40µg 群 (以下、水酸化アルミニウム 40µg 群 (30 例)) が設定され、用法・用量は、各群ともに治験薬 0.5ml を試験 0 日目、30 日目及び 180 日目に各 1 回、計 3 回筋肉内接種することとされた。

本試験には 210 例 (SBAS4 12µg 群 60 例、SBAS4 40µg 群 64 例、SBAS4 120µg 群 59 例、水酸化アルミニウム 40µg 群 27 例) が組み入れられ、治験薬の接種を受けた。そのうち、ワクチン接種前に同意を撤回した 1 例を除く 209 例 (SBAS4 12µg 群 60 例、SBAS4 40µg 群 63 例、SBAS4 120µg 群 59 例、水酸化アルミニウム 40µg 群 27 例) が安全性の解析対象とされた。また、3 回の治験薬の接種を完了した 163 例 (SBAS4 12µg 群 52 例、SBAS4 40µg 群 48 例、SBAS4 120µg 群 42 例、水酸化アルミニウム 40µg 群 21 例) が主要な免疫原性の解析対象とされた。

安全性について、試験中の死亡例はなかった。重篤な有害事象は 5 例 (SBAS4 12µg 群 2 例、水酸化アルミニウム 40µg 群 3 例) で 6 件の重篤な有害事象 (自然流産及び胆嚢炎: 各 2 件、卵子提供による卵巣過剰刺激症候群及び胃腸炎: 各 1 件) が発現した。自然流産の 1 件では試験ワクチン (SBAS4 12µg 群) との因果関係を否定できないと判定されたが、

治験責任医師より被験者が妊娠中に使用していた併用薬が事象発現に寄与した可能性があるとの意見が出された。3例（SBAS4 40 $\mu$ g 群及び120 $\mu$ g 群で各1例、アルミニウム 40 $\mu$ g 群で1例）が有害事象（それぞれ注射部位紅斑、頻脈及び咽喉絞扼感、疲労）のため接種を中止した。

主な有害事象は表9のとおりであった。

表9 いずれかの群で5%以上の症例に認められた有害事象

	症状	SBAS4 12 $\mu$ g 群			SBAS4 40 $\mu$ g 群			SBAS4 120 $\mu$ g 群			水酸化アルミニウム 40 $\mu$ g 群		
		有害事象			有害事象			有害事象			有害事象		
		N	n	%	N	n	%	N	n	%	N	n	%
特定局所症状	注射部位疼痛	60	59	98.3	63	61	96.8	59	59	100.0	27	23	85.2
	注射部位紅斑	60	32	53.3	63	29	46.0	59	28	47.5	27	7	25.9
	注射部位腫脹	60	22	36.7	63	25	39.7	59	31	52.5	27	5	18.5
特定全身症状	頭痛	60	42	70.0	63	39	61.9	59	36	61.0	27	19	70.4
	胃腸障害	60	25	41.7	63	28	44.4	59	26	44.1	27	15	55.6
	疲労	60	38	63.3	63	38	60.3	59	35	59.3	27	15	55.6
	発疹	60	3	5.0	63	3	4.8	59	1	1.7	27	0	0.0
	そう痒症	60	12	20.0	63	11	17.5	59	12	20.3	27	8	29.6
	発熱 ( $\geq 37.5^{\circ}\text{C}$ )	60	29	48.3	63	28	44.4	59	29	49.2	27	11	40.7
特定外症状	損傷	60	0	0.0	63	1	1.6	59	3	5.1	27	2	7.4
	発熱	60	1	1.7	63	2	3.2	59	0	0.0	27	2	7.4
	頭痛	60	5	8.3	63	4	6.3	59	3	5.1	27	1	3.7
	注射部位反応	60	8	13.3	63	7	11.1	59	10	16.9	27	1	3.7
	悪心	60	0	0.0	63	2	3.2	59	3	5.1	27	0	0.0
	浮動性めまい	60	2	3.3	63	4	6.3	59	4	6.8	27	1	3.7
	不眠症	60	4	6.7	63	0	0.0	59	0	0.0	27	0	0.0
	咽頭炎	60	4	6.7	63	2	3.2	59	4	6.8	27	2	7.4
	鼻炎	60	4	6.7	63	7	11.1	59	7	11.9	27	1	3.7
	副鼻腔炎	60	2	3.3	63	2	3.2	59	2	3.4	27	2	7.4
	上気道感染	60	5	8.3	63	5	7.9	59	4	6.8	27	2	7.4
	子宮頸部スミア異常	60	1	1.7	63	1	1.6	59	5	8.5	27	0	0.0
	尿路感染	60	1	1.7	63	1	1.6	59	1	1.7	27	2	7.4
	膣カンジダ症	60	2	3.3	63	0	0.0	59	0	0.0	27	2	7.4

特定（局所及び全身）症状:ワクチン接種後7日間（0-6日目）に報告された事象及び症状

特定外症状:ワクチン接種後30日以内（0-29日目）に報告された事象及び症状

N:1回以上接種した症例数、n:症状の報告例数、%:発現率、

免疫原性の主要評価項目である、AS04 アジュバント群における7ヶ月目のHPV-16及びHPV-18に対する血清抗体価（ELISAで測定）は表10のとおりであった。

表10 HPV-16又はHPV-18に対する7ヶ月目の血清抗体価（免疫原性コホート）

	投与群	N	GMT (EU/mL)	抗体価 (log10)	
				平均値	95%信頼区間
HPV-16	SBAS4 12 $\mu$ g 群	51	3655.7	3.6	[3.4, 3.7]
	SBAS4 40 $\mu$ g 群	47	5248.2	3.7	[3.6, 3.8]
	SBAS4 120 $\mu$ g 群	42	5944.5	3.8	[3.6, 3.9]
HPV-18	SBAS4 12 $\mu$ g 群	51	3402.6	3.5	[3.4, 3.7]
	SBAS4 40 $\mu$ g 群	47	3443.4	3.5	[3.4, 3.7]
	SBAS4 120 $\mu$ g 群	42	4228.5	3.6	[3.5, 3.7]

GMT:血清抗体価幾何平均、N:測定結果が得られた被験者数（SBAS4 12 $\mu$ g 群、SBAS4 40 $\mu$ g 群各1例は結果が得られなかった）



**(4) 海外後期第Ⅱ相試験 (HPV-001 試験、公表論文 *Lancet*, 364:1757-65, 2004、実施期間 2001 年 1 月～2003 年 4 月、評価資料)**

15～25 歳の健康な女性を対象 (目標症例数 1,000 例、各群 500 例) とし、AS04 添加、HPV-16 及び HPV-18 L1 VLP を抗原たん白質量としてそれぞれ 20µg ずつ含有するワクチン (以下、本剤) の、HPV-16 又は HPV-18 の子宮頸部への感染予防効果を評価する無作為化プラセボ対照二重盲検比較試験が、海外 3 カ国 32 施設にて実施された。

主な組み入れ基準として、スクリーニングにおいて子宮頸部細胞診の結果が正常 (液状固定法による)、HPV-16 及び HPV-18 に関する血清抗体陰性 (ELISA)、ハイリスク型 HPV に関する DNA 陰性 (PCR) 等が設定された。用法・用量は、本剤あるいはプラセボ (水酸化アルミニウム) を、それぞれ 0、1、6 ヶ月のスケジュールで筋肉内に接種することとされた。

本試験では 3 回の中間解析 (20 年 月 日時点、HPV16/18 の一時感染例が 28 例に達するか又は 20 年 月 日時点、18 ヶ月時点の HPV PCR の測定結果が得られた被験者数が 12 ヶ月時点の測定結果が得られた被験者数の少なくとも 50% に達した時点) と最終解析が計画された。1 回目の中間解析では安全性のみ検討され、2 回目の中間解析では有効性及び免疫原性、3 回目の中間解析では有効性について解析された。中間解析に伴う有意水準の調整には、O'Brien-Fleming の方法が用いられ、2 回目及び 3 回目の中間解析及び最終解析の有意水準 (両側) はそれぞれ 0.005、0.005、0.046 とされた。なお、試験の早期中止は計画されておらず、2 回目及び 3 回目の中間解析は、その後の本ワクチンの開発計画を検討するために、社外の統計担当者により行われた。

本試験には 1,113 例 (本剤群 560 例、プラセボ群 553 例) が組み入れられ、「併用禁止ワクチンの接種」、「割付の失敗」等の理由により 32 例が除外され、1,081 例 (本剤群 540 例、プラセボ群 541 例) が ATP 安全性コホートとされた。そのうち、「組み入れ時における、HPV-16 又は 18 の血清抗体陽性、癌原性 HPV DNA 陽性、又は細胞診の結果異常」、「ワクチン接種スケジュールの不遵守」、「6 ヶ月目時点で HPV-16 又は HPV-18 の DNA が陽性であった」等の理由により 360 例が除外され、721 例 (本剤群 366 例、プラセボ群 355 例) が ATP 有効性コホートとされた。

主要評価項目は、6～18 ヶ月目における、全ての検体 (被験者が自己採取した子宮頸腔部検体と医師が採取した子宮頸部検体) についての HPV-16 又は HPV-18 の子宮頸部への一時感染 (PCR により 1 回以上認められた HPV-16 又は HPV-18 DNA 陽性反応と定義) と設定された。6～18 ヶ月目における、3 回目接種後の HPV-16/HPV-18、HPV-16 単独、及び HPV-18 単独の一時感染に対する有効性 ( $VE = (1 - (n1/N1) / (n2/N2)) \times 100 (\%)$ )、N1: 本剤群の解析対象症例数、n1: 本剤群において一時感染が認められた症例数、N2: プラセボ群の解析対象症例数、n2: プラセボ群において一時感染が認められた症例数) は表 11 のとおりであった。

表 11 HPV-16 又は HPV-18 の一時感染に対する有効性 (6~18 ヶ月目、ATP 有効性コホート、最終解析)

検体	HPV Type (s)	本剤群			プラセボ群			Vaccine Efficacy (VE)		p 値*
		N	n	発生率 (%)	N	n	発生率 (%)	%	95%信頼区間	
子宮頸部検体及び子宮頸部検体 (自己採取及び医師採取)	HPV-16/HPV-18	366	8	2.2	355	36	10.1	78.4	[54.3, 89.8]	<0.001
	HPV-16	366	3	0.8	355	25	7.0	88.4	[61.8, 96.5]	<0.001
	HPV-18	366	5	1.4	355	15	4.2	67.7	[12.0, 88.1]	0.023
子宮頸部検体 (医師採取)	HPV-16/HPV-18	366	2	0.6	355	23	6.5	91.6	[64.5, 98]	<0.001
	HPV-16	366	0	0	355	18	5.1	100	[79.4, 100]	<0.001
	HPV-18	366	2	0.6	355	7	2.0	72.3	[-32.5, 94.2]	0.102

N : 解析対象症例数、n : 一時感染が認められた症例数

VE = (1 - (n1/N1) / (n2/N2)) × 100 (%)

N1 : 本剤群の解析対象症例数、n1 : 本剤群において一時感染が認められた症例数、

N2 : プラセボ群の解析対象症例数、n2 : プラセボ群において一時感染が認められた症例数

※ : Fisher の直接確率検定

副次評価項目について、6~18 ヶ月目及び 6~27 ヶ月目における、HPV-16 又は HPV-18 の持続感染 (PCR により少なくとも 6 ヶ月の間隔をおいて 2 回以上認められた同一 HPV に対する HPV DNA 陽性反応と定義) に対する有効性は表 12 のとおりであった。

表 12 HPV-16 又は HPV-18 の持続感染に対する有効性 (ATP 有効性コホート、最終解析)

	検体	HPV Type (s)	本剤群			プラセボ群			Vaccine Efficacy (VE)	
			N	n	発生率 (%)	N	n	発生率 (%)	%	95%信頼区間
6~18 ヶ月目	全ての検体 (自己採取頸部検体及び医師採取頸部検体)	HPV-16/HPV-18	366	0	0	355	10	2.8	100	[63.0, 100]
		HPV-16	366	0	0	355	10	2.8	100	[63.0, 100]
		HPV-18	366	0	0	355	0	0	-	-
	子宮頸部検体 (医師採取頸部)	HPV-16/HPV-18	366	0	0	355	7	2.0	100	[47.0, 100]
		HPV-16	366	0	0	355	7	2.0	100	[47.0, 100]
		HPV-18	366	0	0	355	0	0	-	-
6~27 ヶ月目	全ての検体	HPV-16/HPV-18	366	0	0	355	16	4.51	100	[76.8, 100]
		HPV-16	366	0	0	355	13	3.66	100	[71.5, 100]
		HPV-18	366	0	0	355	4	1.13	100	[7.2, 100]

N : 解析対象症例数、n : 持続感染が認められた症例数

ATP コホートの 6~18 ヶ月目における細胞診の結果は表 13 のとおりであった (注: 試験実施計画書に基づき、細胞診の解析に用いる子宮頸部検体は 18 ヶ月目までしか採取されていない)。試験期間中に子宮頸部腺癌又は扁平上皮癌と診断された症例はなかった。また、6~18 ヶ月目において、病理組織診で子宮頸部上皮内腫瘍 (CIN) 1 あるいは 2 と診断されたのは本剤群 1 例 (CIN1、HPV-18 に関連) 及びプラセボ群 3 例 (CIN1 が 2 例及び CIN2 が 1 例、いずれも HPV-16 に関連) であった。

表 13 HPV-16 又は HPV-18 の子宮頸部感染に起因する細胞診の異常に対する有効性  
(ATP 有効性コホート、最終解析)

	細胞学的異常	HPV Type (s)	本剤群			プラセボ群			Vaccine Efficacy (VE)	
			N	n	発生率	N	n	発生率	%	95% 信頼区間
6~18ヶ月目	ASC-US	HPV-16/HPV-18	366	0	0	355	8	2.25	100.0	[53.7, 100.0]
		HPV-16	366	0	0	355	5	1.41	100.0	[25.8, 100.0]
		HPV-18	366	0	0	355	5	1.41	100.0	[25.8, 100.0]
	LSIL	HPV-16/HPV-18	366	1	0.27	355	8	2.25	87.9	[3.6, 98.5]
		HPV-16	366	0	0	355	8	2.25	100.0	[53.7, 100.0]
		HPV-18	366	1	0.27	355	0	0	-191	[-7019, 88.1]
	Any lesion (≥ASCUS)	HPV-16/HPV-18	366	1	0.27	355	15	4.23	93.5	[51.3, 99.1]
		HPV-16	366	0	0	355	12	3.38	100.0	[69.1, 100.0]
		HPV-18	366	1	0.27	355	5	1.41	80.6	[-65.2, 97.7]

N：解析対象症例数、n：対応する HPV 型に関連した病変が認められた症例数  
プラセボ群の n が 0 例だった場合には、表中の N と n に「0.5」を加えた上で VE を算出した。

本試験については、最終解析終了後かつ治験総括報告書の作成前に、治験依頼者によるデータの品質保証及び GCP 遵守に関するモニタリングの過程で、ブラジルの 2 施設において GCP 等遵守に関する問題を確認したことに伴い、データの修正及び除外を行った上での解析を実施したが、その結果は、当初の有効性解析の結果と同様であった。

安全性について、主な有害事象は表 14 のとおりであった。

表 14 いずれかの群で 5%以上の症例に認められた特定症状及び特定外症状 (ATP コホート、最終解析)

	症状	本剤群						プラセボ群					
		有害事象			副作用			有害事象			副作用		
		N	n	%	N	n	%	N	n	%	N	n	%
特定局所症状*	注射部位疼痛	531	496	93.4	-	-	-	538	469	87.2	-	-	-
	注射部位紅斑	531	189	35.6	-	-	-	538	131	24.3	-	-	-
	注射部位腫脹	531	182	34.3	-	-	-	538	113	21.0	-	-	-
特定全身症状	疲労	531	308	58.0	531	214	40.3	538	289	53.7	538	189	35.1
	胃腸障害	531	178	33.5	531	89	16.8	538	172	32.0	538	99	18.4
	頭痛	531	331	62.3	531	180	33.9	538	329	61.2	538	194	36.1
	そう痒症	531	130	24.5	531	80	15.1	538	109	20.3	538	75	13.9
	発疹	531	60	11.3	531	31	5.8	538	54	10.0	538	32	5.9
	発熱 (≥ 37.5°C)	531	88	16.6	531	37	7.0	538	73	13.6	538	28	5.2

特定 (局所及び全身) 症状: ワクチン接種後 7 日間 (0-6 日目) に報告された事象及び症状

特定外症状: ワクチン接種後 30 日以内 (0-29 日目) に報告された事象及び症状

プラセボ群: 水酸化アルミニウム群

N: 1 回以上接種した症例数、n: 症状の報告例数、%: 発現率

\*特定局所症状についてはワクチン接種との因果関係は判定されていない

\*\* 特定外症状は WHO Body System にて分類されている。長期追跡試験の盲検性を担保する観点から試験報告書作成時点では PT による再分類は実施されていない

被験者の死亡例はなかった。重篤な有害事象は本剤群 22 例及びプラセボ群 19 例に認められたが、いずれもワクチン接種との因果関係は否定された。

有害事象に関連する中止例は 4 例であり、うち 3 例がプラセボ群における重篤でない有害事象による中止例、1 例が本剤群における重篤な有害事象 (2 回目の接種 132 日後に発生した自然流産) による中止例であった。これらの事象はいずれも治験責任医師によりワクチン接種とは関連がないと判定された。試験中、88 例 (本剤群 44 例、プラセボ群 44 例) において妊娠が報告された。転帰が自然流産と報告されたものは本剤群 5 例及びプラセボ群 3 例であった。プラセボ群では、1 例において双子児の新生児死亡が報告された。妊娠に伴う事象はいずれも治験責任医師によりワクチン接種とは関連がないと判定された。

(5) 海外後期第Ⅱ相試験 (HPV-007 試験、*Lancet*, 367:1247-55, 2006、実施期間 2003 年 11 月～2007 年 8 月、評価資料)

HPV-001 試験で治験薬を 3 回接種された女性を対象とし、本剤の、HPV-16 又は HPV-18 の子宮頸部への感染予防効果を長期間評価する追跡調査試験が実施された。

HPV-001 試験に登録された 1,113 例のうち、本剤又はプラセボ (水酸化アルミニウム) の接種を 3 回受け、接種内容が開鍵されなかった全ての被験者を組入れ可とした。776 例 (本剤群 393 例、プラセボ群 383 例) が組み入れられ、盲検性を維持したまま 36 ヶ月間 7 回 (6 ヶ月ごと) の来院により長期追跡することとされた。本試験では 2 回の間中解析 (12 ヶ月時点、24 ヶ月時点) と最終解析 (36 ヶ月時点) が計画された。中間解析に伴う有意水準の調整には、Haybittle-Peto の方法が用いられ、1 回目、2 回目の中間解析及び最終解析の有意水準 (両側) はそれぞれ 0.001、0.001、0.049 とされた。なお、中間解析は本剤の長期の有効性、免疫原性及び安全性の概要を規制当局へ提出することを目的として、社外の統計担当者により行われた。

776 例のうち、「併用禁止ワクチンの接種」、「割付の失敗」等の理由により 34 例が除外され、742 例 (本剤群 373 例、プラセボ群 369 例) が ATP 安全性コホートとされた。そのうち、「0 ヶ月目又はスクリーニング時点において結果 (HPV DNA、細胞診又は血清抗体) が測定不能」、「スクリーニング時点において血清抗体陽性 (HPV-16 又は 18) 又は、細胞診の結果異常」等の理由により 53 例が除外され、689 例 (本剤群 349 例、プラセボ群 340 例) が ATP 有効性コホートとされた。

主要評価項目は HPV-16 又は HPV-18 の子宮頸部への一時感染 (PCR により 1 回以上認められた HPV-16 又は HPV-18 DNA 陽性反応と定義) とされ、副次評価項目として持続感染 (6 ヶ月及び 12 ヶ月定義) に対する有効性、子宮頸部組織の病変部位における HPV-16 又は HPV-18 感染 (PCR) に起因する CIN2+ (CIN2+は、CIN2、CIN3、上皮内腺癌 (AIS) 及び浸潤性子宮頸癌と定義) に対する予防効果等が設定されている。主要評価項目である一時感染に対する有効性 (VE =  $(1 - (n1/T1) / (n2/T2)) \times 100$  (%))、n1: 本剤群において一時感染が認められた症例数、T1: 本剤群の総追跡調査期間、n2: プラセボ群において一時感染が認められた症例数、T2: プラセボ群の総追跡調査期間) の結果は、表 15 のとおりであった。

表 15 HPV-16 又は HPV-18 の子宮頸部への一時感染に対する有効性 (ATP 有効性コホート、最終解析)

Event Type	投与群	N	n	T	Vaccine Efficacy (VE)		p 値*
					%	95%信頼区間	
HPV-16/HPV-18	本剤群	303	2	830.25	96.7	[87.4, 99.6]	<0.0001
	プラセボ群	267	47	644.66			
HPV-16	本剤群	304	1	833.70	97.5	[85.3, 99.9]	<0.0001
	プラセボ群	270	33	676.11			
HPV-18	本剤群	303	1	832.31	96.3	[77.5, 99.9]	<0.0001
	プラセボ群	281	24	731.50			

子宮頸部検体のみ

N: 解析対象症例数 (接種時 (HPV-001 試験、0 ヶ月時点) で HPV DNA 陽性である被験者を除く)、n: 一時感染が認められた症例数、T: 総追跡調査期間 (年)

VE =  $(1 - (n1/T1) / (n2/T2)) \times 100$  (%)

n1: 本剤群において一時感染が認められた症例数、T1: 本剤群の総追跡調査期間、n2: プラセボ群において一時感染が認められた症例数、T2: プラセボ群の総追跡調査期間

※: Fisher の直接確率検定

副次評価項目である持続感染（6ヶ月及び12ヶ月定義）に対する有効性は表16のとおりであった。

表16 HPV-16又はHPV-18の子宮頸部への持続感染に対する有効性（ATP有効性コホート、最終解析）

	投与群	持続感染（6ヶ月定義）				持続感染（12ヶ月定義）			
		N	n	T	Vaccine Efficacy (VE : %) [95%信頼区間]	N	n	T	Vaccine Efficacy (VE : %) [95%信頼区間]
HPV-16/HPV-18	本剤群	304	0	835.76	100	304	0	835.76	100
	プラセボ群	277	24	708.27	[85.9, 100]	285	15	748.15	[75.0, 100]
HPV-16	本剤群	304	0	835.76	100	304	0	835.76	100
	プラセボ群	277	17	722.75	[79.0, 100]	285	12	755.03	[67.5, 100]
HPV-18	本剤群	304	0	835.76	100	304	0	835.76	100
	プラセボ群	285	10	760.84	[59.4, 100]	285	4	770.74	[-39.7, 100]

子宮頸部検体のみ

N：解析対象症例数（接種時（HPV-001試験、0ヶ月時点）でHPV DNA陽性である、又はHPV-001試験において持続感染が認められた被験者を除く）、n：持続感染が認められた症例数、T：総追跡調査期間（年）

安全性は、HPV-001試験の終了時からHPV-007試験の全期間にわたりデータを収集したATP安全性コホート（本剤群373例、プラセボ群369例）において、NOCDの報告例数は、申請者の判定で本剤群5例（1.3%）及びプラセボ群6例（1.6%）であり、このうち重篤と判定されたのは1件のNOCD（肺炎）のみであった。治験責任医師の判定に基づくNOCDの報告例数は本剤群18例（4.8%）とプラセボ群21例（5.7%）で同程度であった。

NOCDのうち、NOADに分類されたのは本剤群2例（0.5%）及びプラセボ群4例（1.1%）であり、その内訳は甲状腺機能低下症、自己免疫性甲状腺炎及び潰瘍性大腸炎であった。

死亡例は認められなかった。重篤な有害事象は本剤群では31例（7.9%）に36件、プラセボ群で39例（10.2%）に46件各々報告されたが、治験責任医師の判定で、ワクチン接種との因果関係を否定できない重篤な有害事象は報告されなかった。

HPV-007試験中に217例から合計261件（本剤群130件、プラセボ群131件）の妊娠が報告された。正常分娩に至らなかった（自然流産、胎児の異常、選択的妊娠中絶、稽留流産、及び死産となった）件数は、本剤群19件及びプラセボ群29件であった。

#### （6）海外第Ⅲ相試験（HPV-008試験、Lancet, 369:2161-70, 2007、実施期間2004年5月～、評価資料、20██年██月██日データカットオフ（中間解析））

15～25歳の健康女性を対象（目標症例数18,000例、各群9,000例）とし、本剤を投与したときのHPV-16/HPV-18持続感染に起因する子宮頸癌の予防効果を検討することを目的とした多施設共同無作為化二重盲検並行群間比較試験が、海外14カ国133施設で実施された。対照ワクチンはA型肝炎ワクチン（Havrix<sup>®</sup>ベースの試験製剤：抗原720EL.U及び水酸化アルミニウム500μgを含有）とされた。主な組み入れ基準として、1回目接種時に15～25歳の健康女性で、尿検査にて妊娠反応が陰性であること、HPV又はA型肝炎のワクチン接種歴がなく、MPL投与歴がない等が設定された。用法・用量は、本剤又は対照ワクチンを3回（0、1、6ヶ月目）、筋肉内投与することとされ、各被験者は約48ヶ月評価されることとされた。本試験では1回の中間解析（HPV-16又はHPV-18感染に起因するCIN2+が23例に認められた時点）と最終解析（HPV-16又はHPV-18感染に起因するCIN2+が36

例に認められた時点、又は脱落しなかった全ての症例が 48 ヶ月まで完了した時点) が計画され、中間解析では有効性、免疫原性及び安全性が評価された。中間解析による試験の早期中止は計画されなかった。中間解析に伴う有意水準の調整には、O'Brien-Fleming の方法が用いられ、中間解析及び最終解析の有意水準(両側)はそれぞれ 0.021、0.039 とされた。中間解析については、20██年██月██日にデータ固定が行われ、解析は社外の統計担当者により行われた。なお、最終解析の結果については、現時点で提出されていない。

本試験には 18,729 例が登録され、18,665 例に治験薬が投与された。このうち、21 例(後述)を除く 18,644 例(本剤群 9,319 例、対照群 9,325 例)が TVC コホートとされ、安全性の解析対象とされた。そのうち、ベースライン時の細胞診がハイグレード又は測定不能である 119 例を除いた 18,525 例(本剤群 9,258 例、対照群 9,267 例)が有効性の TVC コホート 1 (TVC-1) とされた。なお、本試験については、データの品質保証と GCP の遵守に関する治験依頼者の定期的なモニタリング活動において、試験の実施及びデータの完全性に関して問題となりうる事項が、中間解析の前に 1 つの治験実施施設で確認された。この問題については現在も調査中であるが、本施設で登録された全被験者(21 名)が全ての解析から除外された。

主要評価項目は、子宮頸部組織の病変部位における HPV-16 又は HPV-18 感染(PCR)に起因する CIN2+に対する予防効果とされ、最終解析においては 0 及び 6 ヶ月目において HPV-16 及び HPV-18 の DNA が陰性(PCR)であった被験者を対象に全 3 回接種後に評価することとされた。

中間解析においては、0 ヶ月目に HPV-16/18 DNA が陰性でベースライン時の細胞診で正常又は軽度異形成と判定された対象者における、1 回目接種後の有効性について評価された。中間解析時における解析対象集団(TVC-1)は、ワクチンを 1 回以上接種し有効性評価指標のデータが利用できる被験者のうち、0 ヶ月目の HPV-16 又は HPV-18 の HPV DNA (PCR) が陰性であり 0 ヶ月目の細胞診で正常又は軽度異形成と判定された全ての被験者とされた。CIN2+に対する有効性(VE = (1 - (n1/T1) / (n2/T2)) × 100 (%))、n1: 本剤群において CIN2+が認められた症例数、T1: 本剤群の総追跡調査期間、n2: 対照群において CIN2+が認められた症例数、T2: 対照群の総追跡調査期間)は表 17 のとおりであった。

表 17 HPV-16 又は HPV-18 に起因する CIN2+に対する有効性 (TVC-1、中間解析)

HPV type	投与群	N	n	T	Vaccine Efficacy (VE)		p 値*
					%	97.9%信頼区間	
HPV-16/18	本剤群	7788	2	9613.75	90.4	[53.4, 99.3]	<0.0001
	対照群	7838	21	9682.00			
HPV-16	本剤群	6701	1	8279.75	93.3	[47.0, 99.9]	0.0005
	対照群	6717	15	8284.32			
HPV-18	本剤群	7221	1	8903.55	83.3	[-78.8, 99.9]	0.1249
	対照群	7258	6	8947.82			

N: 解析対象症例数、n: CIN2+が認められた症例数、T: 総追跡調査期間(年)

VE = (1 - (n1/T1) / (n2/T2)) × 100 (%)

n1: 本剤群において CIN2+が認められた症例数、T1: 本剤群の総追跡調査期間、n2: 対照群において CIN2+が認められた症例数、T2: 対照群の総追跡調査期間

\*:Fisher の直接確率検定

なお、ワクチン接種前の血清抗体の有無を問わない場合の HPV-16/18 に対する VE は

91.6% (97.9%信頼区間は[60.2, 99.4]) であった。

TVC-1 における持続感染 (6 ヶ月及び 12 ヶ月定義) に対する有効性は表 18 のとおりであった。

表 18 HPV-16 又は HPV-18 の持続感染に対する有効性 (TVC-1、中間解析)

	HPV type	本剤群			対照群			VE	
		N	n	T	N	n	T	%	97.9%信頼区間
持続感染 (6-month)	HPV-16/18	6344	38	8149.58	6402	193	8129.85	80.4	[70.4, 87.4]
	HPV-16	5493	23	7076.92	5520	144	7035.66	84.1	[73.5, 91.1]
	HPV-18	5896	15	7590.88	5939	58	7635.60	74.0	[49.1, 87.8]
持続感染 (12-month)	HPV-16/18	3386	11	5062.64	3437	46	5104.85	75.9	[47.7, 90.2]
	HPV-16	2945	7	4407.73	2972	35	4422.78	79.9	[48.3, 93.8]
	HPV-18	3143	4	4711.21	3190	12	4774.48	66.2	[-32.6, 94.0]

N : 解析対象症例数 (ベースラインにおいて解析対象の HPV 型の HPV DNA 陰性及び血清抗体陰性の被験者を対象)  
n : 持続感染が認められた症例数、T : 総追跡調査期間 (年)

安全性について、中間解析実施時点において、主な有害事象は表 19 のとおりであり、特定局所症状 (注射部位疼痛、注射部位紅斑及び注射部位腫脹) の発現率は、いずれも本剤群で対照群より高かった。

表 19 いずれかの群で 5%以上の症例に認められた特定症状及び特定外症状 (TVC コホート、中間解析)

	症状	本剤群						対照群					
		有害事象			副作用			有害事象			副作用		
		N	n	%	N	n	%	N	n	%	N	n	%
特定局所症状*	注射部位疼痛	3077	2786	90.5	-	-	-	3080	2402	78.0	-	-	-
	注射部位紅斑	3077	1348	43.8	-	-	-	3080	851	27.6	-	-	-
	注射部位腫脹	3077	1292	42.0	-	-	-	3080	609	19.8	-	-	-
特定全身症状	関節痛	3076	633	20.6	3076	390	12.7	3080	551	17.9	3080	317	10.3
	疲労	3076	1771	57.6	3076	1223	39.8	3080	1652	53.6	3080	1110	36.0
	発熱(腋窩) (≥37.5°C)	3076	381	12.4	3076	223	7.2	3080	337	10.9	3080	208	6.8
	胃腸障害	3076	850	27.6	3076	473	15.4	3080	841	27.3	3080	458	14.9
	頭痛	3076	1665	54.1	3076	943	30.7	3080	1579	51.3	3080	897	29.1
	筋痛	3076	1606	52.2	3076	1209	39.3	3080	1382	44.9	3080	981	31.9
	発疹	3076	312	10.1	3076	183	5.9	3080	258	8.4	3080	131	4.3
	蕁麻疹	3076	298	9.7	3076	117	3.8	3080	244	7.9	3080	92	3.0
特定外症状	インフルエンザ	3184	155	4.9	3184	6	0.2	3187	177	5.6	3187	3	0.1
	頭痛	3184	218	6.8	3184	20	0.6	3187	241	7.6	3187	19	0.6

N : 1 回以上接種した症例数、n : 症状の報告例数、% : 発現率

特定 (局所及び全身) 症状: ワクチン接種後 7 日間 (0-6 日目) に報告された事象及び症状

特定外症状: ワクチン接種後 30 日以内 (0-29 日目) に報告された事象及び症状

\* 特定局所症状についてはワクチン接種との因果関係は判定されていない

死亡例は 5 例認められ (交通事故 2 例、骨肉腫、性的暴行及び殺人の被害者、糖尿病性ケトアシドーシス各 1 例)、いずれも治験薬との因果関係は否定された。重篤な有害事象は 653 例で計 761 件報告され、このうち 330 例が本剤群、323 例が対照群であった。もっとも多く報告された重篤な有害事象は自然流産 (本剤群 24 例 (0.3%)、対照群 25 例 (0.3%) であった。ワクチン接種との因果関係を否定されなかった重篤な有害事象は本剤群 9 例及び対照群 6 例であった。重篤な有害事象による試験中止は 8 件報告され、うち 3 件が本剤群、5 件が対照群であった。また、重篤でない有害事象による試験中止は 9 件報告され、そのうち 6 件が本剤群、3 件が対照群であった。3 例が重篤な有害事象 (頭部損傷、自然流

産及び皮膚感染)により試験中止に至った。治験責任医師によりワクチンと関連あるかもしれないと判定された重篤な有害事象はなかった。試験の中止に至った重篤でない有害事象は、蕁麻疹、子宮内膜症、頭痛、感覚鈍麻、胃腸炎、顔面痛、発疹、疼痛及び卵巣嚢胞であり、うち、蕁麻疹、頭痛、顔面痛及び疼痛は治験責任医師によりワクチンと関連あるかもしれないと判定された。

## <審査の概略>

### (1) 臨床データパッケージについて

本申請にあたり提出された臨床データパッケージについて、申請者は次のように説明している。

本剤の有効性については、子宮頸部標本の採取が可能であり、HPV感染率が最も高い年齢層である15～25歳の女性を対象としたHPV-001試験、HPV-007試験及びHPV-008試験において評価している。HPV-001試験では癌原性HPVの感染歴がない女性のみを対象とし(予めスクリーニング検査を実施)、HPVに曝露されていない集団で評価したが、HPV-008試験では癌原性HPVの感染歴を問わず組み入れ可能とし、一般的な集団で評価した。これらの臨床試験は、有効性の評価に子宮頸部検体が必要であること(15歳未満の女性ではウイルス学的、細胞学的及び組織学的評価項目に対する評価は倫理的、実際的な観点等から実施困難であるため)、HPV感染率がもっとも高い年齢範囲が思春期及び若年成人女性であることから、思春期前でなく思春期及び若年成人女性を対象とした。上記理由から、若年の思春期女性(10～14歳)を含む試験(HPV-012試験、HPV-013試験等)では免疫原性を指標に評価した。また、26歳以上の女性を含む試験(HPV-014試験等)においても免疫原性を指標に評価した。本剤の安全性については、海外で実施された各臨床試験成績に加え、これらを併合した解析によっても評価している。本申請においては、機構相談を踏まえ、本邦で20～25歳の女性を対象とし持続感染を指標に有効性を検討したHPV-032試験、10～15歳の女性を対象とし免疫原性について検討したHPV-046試験の成績を含めた臨床データパッケージとした。

機構は、海外で実施されたHPV-008試験(目標症例数18,000例)を本剤の有効性を示す主要な試験として評価するとともに、本邦における有効性及び安全性について、海外臨床試験成績と国内で実施されたHPV-032試験及びHPV-046試験の成績を併せて評価することとした。なお、本審査報告(1)作成時点では、HPV-032試験成績として中間解析Ⅱ(有効性におけるATPコホートにおいてHPV-16又はHPV-18に起因する持続感染(6ヶ月定義)が8例以上発生した時点で実施)の結果が提出されている。なお、機構は、本剤の承認に先立ち、今後提出される最終解析の結果が中間解析Ⅱの結果と矛盾しないことを確認することとしている。

### (2) 製剤処方について

#### 1) 有効成分について

申請者は、子宮頸癌を予防する目的でHPV-16及びHPV-18のウイルス様粒子(VLP)を有効成分とするHPVワクチンを開発した背景について次のように説明している。

3種類の動物モデル(イヌ、ワタオウサギ及びウシ)において、種特異的なL1 VLPのワ



クチン接種により、相同のパピローマウイルス感染及びその後の病変発現に対する防御免疫が誘導されたことが報告されている (*Proc Natl Acad Sci.*, 92:11553-7, 1995、*Virology*, 187:612-619, 1992、*Clinics in Dermatology*, 15:237-247, 1997、*Virology*, 219:37-44, 1996)。また、ヒトの試験において、HPV-16 L1 VLP ワクチン投与後の血清中及び子宮頸部粘液中の HPV-16 L1 VLP IgG 抗体濃度が良く相関することが報告され (*J Natl Cancer Inst.*, 95 (15) :1128-37, 2003)、癌原性 HPV の子宮頸部感染に対する防御作用をもたらす因子としてワクチンが誘発する血清 IgG 抗体反応が重要であることが示唆されている (3. 非臨床に関する資料、(i) 薬理試験成績の概要<審査の概略> (1) 効力を裏付ける試験の項参照)。一方、International Agency for Research on Cancer (IARC) による研究において、癌原性 HPV と子宮頸癌との相関性はヒトの癌でこれまで観察されたもっとも強いものの一つであり、癌原性 HPV 型の持続感染が浸潤性子宮頸癌のほとんど全ての症例に関与することが確認されている。中でも HPV-16 及び HPV-18 は、他の癌原性 HPV と比べて持続感染及び癌に進行するリスクが高いことが示されており (*Br J Cancer*, 89:101-5, 2003、*Cancer Epidemio. Biomarkers Prev.*, 14 (5) :1157-64, 2005)、両型を合わせると全世界の扁平上皮子宮頸癌の 70%以上及び腺癌の 85%に関与することが報告されている。本邦でも、浸潤性子宮頸癌患者を対象に HPV 型の分布を調査した 14 件の研究報告のメタアナリシスにおいて、合計 1,142 例の子宮頸癌患者から検出された HPV 型のうち、HPV-16 及び HPV-18 が最も多く認められ、50%以上の子宮頸癌患者から検出されたことが報告された。また、高度子宮扁平上皮内病変 (HSIL) が認められた日本人女性における HPV 型を調査した 7 件の研究報告のメタアナリシス (合計 338 例) の結果も同様であった (*Int J Cancer*, 121(3):621-32, 2007)。

機構は、子宮頸癌の罹患に対する HPV の関与は知られており、HPV の持続的な感染を予防することにより子宮頸癌及びその前駆病変を予防するという本剤の開発コンセプトは理解できるものと考ええる。また、機構は、癌原性 HPV として知られる HPV-16 及び HPV-18 感染の子宮頸癌及び HSIL 患者で占める割合は、国内外で若干異なることを示唆する報告もある (*Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 10:45-52, 2001) が、ともに高頻度で検出されており、これらを主要なターゲットとしてそれぞれの L1 VLP を有効成分としたことは受け入れられるものと考ええる。

## 2) アジュバントの選択について

申請者は、アジュバントを選択した経緯について、以下のように説明している。非臨床試験結果を踏まえて、本剤のアジュバントを選択し、抗原、水酸化アルミニウム及び MPL の重量比を 1 : 25 : 2.5 と設定した (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、2) マウス免疫応答を指標とした検討の項参照)。ヒトでは、HPV-004 試験において、HPV-16 VLP 20 $\mu$ g 及び HPV-18 VLP 20 $\mu$ g を含有する 3 種類の HPV-16/18 ワクチン製剤 (水酸化アルミニウムをアジュバントとする製剤、AS04 をアジュバントとする製剤及びアジュバント非添加製剤) の血清中の抗体価 (ELISA) の比較検討を行った。その結果、抗体価 (ELISA) は、AS04 群がアルミニウム群又はアジュバント非添加群と比較し、7ヶ月目及び12ヶ月目で高かった (表 20)。

表 20 抗 HPV-16 及び抗 HPV-18 抗体 (ELISA により評価) (HPV-004 試験、免疫原性 ATP コホート)

抗原	接種群	血清抗体価 評価時期	N	幾何平均抗体価	抗体価 (log <sub>10</sub> )	
					平均値	95%信頼区間
HPV-16	AS04 40µg 群	Month 0	20	1.2	0.1	[0.0, 0.2]
		Month 7	19	11199.0	4.0	[3.9, 4.2]
		Month 12	18	4550.5	3.7	[3.4, 3.9]
	Alum 40µg 群	Month 0	17	1.2	0.1	[0.0, 0.2]
		Month 7	17	4076.0	3.6	[3.4, 3.8]
		Month 12	15	2076.9	3.3	[3.0, 3.6]
	No adjuvant 群	Month 0	20	1.0	0.0	[0.0, 0.0]
		Month 7	20	2488.3	3.4	[3.3, 3.5]
		Month 12	18	935.3	3.0	[2.8, 3.1]
HPV-18	AS04 40µg 群	Month 0	20	1.2	0.1	[0.0, 0.2]
		Month 7	19	4794.2	3.7	[3.5, 3.8]
		Month 12	18	1536.1	3.2	[2.9, 3.4]
	Alum 40µg 群	Month 0	17	1.2	0.1	[0.0, 0.2]
		Month 7	17	1960.4	3.3	[3.1, 3.5]
		Month 12	15	637.1	2.8	[2.6, 3.0]
	No adjuvant 群	Month 0	20	1.2	0.1	[0.0, 0.2]
		Month 7	20	1305.2	3.1	[2.9, 3.3]
		Month 12	18	229.7	2.4	[2.1, 2.7]

N: 測定結果が利用可能な被験者数、定量限界以下の抗体価は1として計算した

RT-PCR による中和抗体測定 (希釈した血清サンプルと HPV 感染細胞を共培養し、その感染阻害を測定。感染量は HPV の mRNA 量を RT-PCR にて測定) 及びリンパ球の増殖応答並びに IFN-γ 及び IL-5 産生量の測定による細胞性免疫の測定も行ったところ、HPV-16 に対する中和抗体価では AS04 群において反応が最も高くなる傾向が示され、HPV-18 に対する反応は AS04 群とアルミニウム群とで差は認められなかった。両抗原に対する中和抗体価が最も低かったのはアジュバント非添加群であった。HPV-16 及び HPV-18 に対する中和抗体の推移は、ELISA での評価による免疫応答と類似していた。HPV-16 及び HPV-18 双方に対する抗原特異的な液性及び細胞性免疫応答は、治験ワクチンの 2 回接種後に認められ、全ての群で 12 ヶ月目でもベースライン値を大幅に上回っていた。以上の結果から、以降の臨床試験においては、最も高い免疫応答が誘導された AS04 をアジュバントとして添加した製剤を用いることとした。HPV-005 試験及び HPV-004 試験の 1 回目ワクチン接種後 4 年までの追跡調査について、AS04 添加 40µg 群の結果及びアルミニウム添加 40µg 群の結果をそれぞれ併合し、2 試験全体での解析を実施したところ、AS04 添加ワクチンの免疫原性はアルミニウム添加ワクチンと比較して高く、抗 HPV-16 抗体価及び抗 HPV-18 抗体価も AS04 群がアルミニウム群と比較しワクチン接種後 4 年まで高かった。競合 ELISA 法 (中和エピトープである V5 又は J4 に対するモノクローナル抗体を用いて、血清中の抗体と競合させて中和抗体量を測定) 及び偽ウイルス粒子法による中和抗体測定 (希釈した血清サンプルと HPV L1、L2 及び分泌型アルカリフォスファターゼ遺伝子含有の感染性偽ウイルス粒子を細胞と共培養し、その感染阻害で測定。感染量はアルカリフォスファターゼ活性により測定) でも、AS04 添加ワクチンはアルミニウム添加ワクチンと比較し 4 年目まで抗体価が高かった。さらに、AS04 添加ワクチンでは、HPV-16 及び HPV-18 に対する T 細胞及び記憶 B 細胞の応答も高かった。

機構は、有効性の観点から AS04 をアジュバントとして選択したことは妥当であったと考える。また、安全性の観点からも、AS04 に含有される新添加物 MPL の評価 (3. 品質に関する資料<提出された資料の概略> (2) 製剤 5) 新添加物、<審査の概略> (8) 新添

加物の項参照)及び臨床試験における安全性評価(後述、<審査の概略>(4)安全性についての項参照)に基づき、現時点で、特段の問題はないものと判断している。

### (3) 有効性について

#### 1) HPV-008 試験について

機構は、本剤の有効性を示す主たる試験として実施された HPV-008 試験において、主要評価項目を子宮頸部組織の病変部位における HPV-16 又は HPV-18 感染に起因する CIN2+ (CIN2+は、CIN2、CIN3、上皮内腺癌 (AIS) 及び浸潤性子宮頸癌と定義) とした妥当性について、申請者に説明を求めた。

申請者は、以下のように説明した。子宮頸部検診は、細胞診に使用するパップスメア又は子宮頸管スメアの採取から始まる多段階のプロセスにより行われており、子宮頸部の細胞の採取及びパニコロー染色を行うパップスメアの導入により、上皮内癌に先行する前癌病変を検出できるようになった。細胞診で異常がみられた被験者に対しては、コルポスコピーによる検査や子宮頸部の生検による組織診が実施される場合がある。現在、子宮頸部細胞診の結果判定には、Bethesda 分類システムが広く利用されており、組織診断との対応は概ね下図のとおりである。細胞診及び組織診はともに、ローグレード及びハイグレードな前癌病変を診断するが、細胞診のグレードと組織診のグレード間に直接的な関連性はないことに注意が必要である。検診プログラムにおいて生検で診断された CIN2+病変の外科治療が子宮頸癌を減少させることが明らかとなったことから、CIN2+病変が HPV ワクチンの臨床試験で有効性を示す適切な評価項目であると考えられている。したがって、本剤の有効性を評価する臨床試験において、子宮頸癌の予防効果を検討する評価指標として CIN2+を用いることとした。

Bethesda System 1999	CIN System	Interpretation
Negative for intraepithelial lesions or malignancy	Normal	No abnormal cells
ASC ASC-US (atypical squamous cells of undetermined significance)		Squamous cells with abnormalities greater than those attributed to reactive changes but that do not meet the criteria for a squamous intraepithelial lesion
ASC-H (atypical squamous cells, cannot exclude HSIL)		
LSIL (low-grade squamous intraepithelial lesions)	CIN1	Mildly abnormal cells; changes are almost always due to HPV
HSIL (high-grade squamous intraepithelial lesions) with features suspicious for invasion (if invasion is suspected)	CIN2/3	Moderately to severely abnormal squamous cells
Carcinoma	Invasive squamous cell carcinoma Invasive glandular cell carcinoma (adenocarcinoma)	The possibility of cancer is high enough to warrant immediate evaluation but does not mean that the patient definitely has cancer

図 Bethesda 分類システム及び CIN 分類システム (Clin Microbiol Rev1,.6 (1) :1-17, 2003 より引用)

機構は、本剤の子宮頸癌の予防効果を検討する目的で実施された HPV-008 試験の主要評価項目を CIN2+と設定したことは妥当であると考え。また、臨床試験においては一定の観察期間で本剤の有効性を評価する意義はあるが、HPV 感染から子宮頸癌罹患までの期間を考慮すると、その後長期間の予防効果も併せて評価していく必要があると考えことから、本剤の有効性評価において CIN2+を指標にした中間解析を実施し評価したこと、及びその後も継続して評価したことは理解できるものとする。その中間解析結果において、本剤の HPV-16 又は HPV-18 に起因する CIN2+に対する予防効果が示されていると考え（〈提出された資料の概略〉（6） HPV-008 試験の項参照）。子宮頸癌とその前駆病変の進行過程を踏まえると、本剤の HPV-16 又は HPV-18 に起因する子宮頸癌及びその前駆病変である子宮頸部異型上皮に対する予防効果即ち有効性は認められるものとする。しかしながら、現時点で本剤の有効性を評価した期間は、例えば、HPV-001 試験開始から HPV-007 試験の Visit3 までの平均追跡期間が約 4 年であるなど限られており、HPV 感染から子宮頸癌及びその前駆病変への罹患までの期間を考慮すると、本剤の予防効果が永続的であるかについては明確でないことは留意すべきであり、今後、引き続き長期的な情報収集等を行う必要があると考え。

## 2) 本邦における本剤の有効性について

本邦においては 20～25 歳の女性を対象に本剤の持続感染（6 ヶ月定義）に対する予防効果、免疫原性及び安全性を評価する HPV-032 試験、及び 10～15 歳の女性を対象に免疫原性及び安全性を評価する HPV-046 試験が実施された。HPV-032 試験は中間解析が実施されその結果が提出されているが、機構は、「HPV-008 試験について」に記載したのと同様、本剤の有効性評価においては、一定期間の観察ののちに中間解析で有効性を評価し、その後も継続して評価したことは理解できると考える。

申請者は、HPV-032 試験及び HPV-046 試験の結果について次のように考察している。

HPV-032 試験で得られた免疫原性データは、海外臨床試験の同年齢層で得られた免疫原性の成績と同程度であり、主要評価項目である「持続感染（6 ヶ月定義）に対する予防効果」の成績は、HPV-001 試験及び HPV-008 試験における「持続感染（6 ヶ月定義）に対する予防効果」の成績と同程度であった。このことから、HPV-001 試験の追跡試験である HPV-007 試験及び HPV-008 試験において確認された前駆病変（CIN2+）に対する予防効果は、日本人女性（15～25 歳）においても同様に期待できると考える。また、HPV-046 試験で得られた低年齢層における免疫原性の結果は、海外で実施した HPV-012 試験及び HPV-013 試験の同年齢層から得られた免疫原性の成績と同程度であった。海外 HPV-012 試験において、接種後 7 ヶ月目の GMT は、抗 HPV-16 抗体、抗 HPV-18 抗体とも、10～14 歳の年齢層で 15～25 歳の年齢層の 2 倍以上であったが、HPV-046 試験と HPV-032 試験との成績を比較した場合においても、10～14 歳の年齢層の GMT は 15～25 歳の年齢層の GMT の 2 倍以上であり、海外と同様の傾向を示した。したがって、HPV-001 試験、HPV-007 試験及び HPV-008 試験及び HPV-032 試験の有効性の成績を、本剤を本邦の 10～15 歳の女性に接種した場合における有効性として利用することが可能と考える。

機構は、HPV-008 試験（中間解析）において HPV-16 又は HPV-18 に起因する CIN2+に対する予防効果が示され、HPV-032 試験において海外 HPV-001 試験及び HPV-008 試験同様、持続感染（6 ヶ月定義）に対する本剤の予防効果が示されたことから、本邦においても、

20～25歳の女性における HPV-16 又は HPV-18 に起因する CIN2+に対する予防効果、また、子宮頸癌及びその前駆病変である子宮頸部異型上皮に対する予防効果が期待できるものとする。しかしながら、持続感染については、申請者も病変発生に先行するのか、病変発生と相関関係にあるのかについて現時点では結論が得られていないことを説明しており、真のエンドポイントに対する代理的な指標に過ぎず、その臨床的意義については、製造販売後臨床試験の結果等、今後得られる知見と併せて解釈する必要があると考える。なお、若年女性における免疫原性の評価については後述する（＜審査の概略＞（5）接種対象者について、1）対象年齢についての項参照）。

### 3) HPV-16 又は HPV-18 以外の HPV に対する有効性について

申請者は、HPV-16 及び HPV-18 以外の HPV に対する本剤の有効性について次のように説明している。HPV-008 試験において、HPV-16/18 に次いで子宮頸癌の原因として検出頻度が高い癌原性 HPV（HPV-45、31、33、52 及び 58）の持続感染（6 ヶ月定義）に対する有効性について評価した結果、HPV-31 についての VE は 36.1%（95%信頼区間は[0.5, 59.5]、以下同様）、HPV-45 では 59.9%[2.6, 85.2]、HPV-52 では 31.6%[3.5, 51.9]であり、有意な有効性が認められた。一方、HPV-16 及び HPV-18 と近縁度が低い HPV-33 及び HPV-58 については、ともに有意な有効性は認められなかった。12 ヶ月定義の持続感染に対する有効性は、12 ヶ月持続感染の症例数が少なかったため、結論を導くことはできなかった。癌原性 HPV の一時感染を 1 回目ワクチン接種後 6.4 年にわたり追跡調査した 001 試験と 007 試験の併合解析では、HPV-16 及び HPV-18 以外の癌原性 HPV（HPV-45、31、33、52 及び 58）に関して、各型の感染についての Kaplan-Meier 曲線を求めた。HPV-16 及び HPV-18 と系統発生的に類似した HPV-31 及び HPV-45 については、本剤群と対照群の曲線に明らかな乖離が認められ、これら HPV の一時感染に対する交差予防が長期にわたり維持されることが示唆された。HPV-52 については、交差予防効果の持続期間が短いことが示唆された。HPV-33 及び HPV-58 については、有効性を示唆する結果は得られなかった。

機構は、HPV-16 及び HPV-18 以外の HPV 型に対する感染予防効果については、HPV-16 及び HPV-18 に対して得られている VE（HPV-16：100% [79.0, 100]、HPV-18：100% [59.4, 100]）で示されているほどの有効性は示されておらず、さらには子宮頸癌及びその前駆病変の予防効果が期待できるものであるかは不明であるとする。

### （4）安全性について

全ての国内臨床試験及び海外臨床試験において、比較的良好にみられた有害事象は、特定局所症状（ワクチン接種後 7 日間（0～6 日目）に発現した次の症状；注射部位疼痛、注射部位紅斑及び注射部位腫脹）、特定全身症状（疲労、発熱、胃腸障害（悪心、嘔吐、下痢、腹痛を含む）、頭痛及び発疹）及び特定外症状に分類して評価された。

以下、主に、国内臨床試験（HPV-032 試験及び HPV-046 試験）並びに海外で 18,000 例を対象に実施された HPV-008 試験成績に基づき本剤の安全性について評価した。

#### 1) 局所反応

HPV-032 試験、HPV-008 試験とも、特定局所症状の発現率は本剤群で対照群よりも高く、また、海外では注射部位疼痛の発現率が他の 2 症状（注射部位紅斑、注射部位腫脹）と比較して顕著に高かったが、国内では、3 症状ともに発現率が高い傾向が認められた。HPV-032

試験及び HPV-046 試験における特定局所症状（3 症状）の発現率に特段の差異は認められなかった（例数及び発現率については＜提出された資料の概略＞（1）HPV-032 試験、（2）HPV-046 試験、（6）HPV-008 試験の項参照）。

機構は、国内における特定局所症状の発現率が海外と比較して高い傾向があり、その多くは軽度から中等度とされているが、重度の局所症状の発現率についても海外と比較して国内で高い傾向が認められる点については留意すべきであると考え。また、HPV-032 試験及び HPV-008 試験において、注射部位紅斑及び注射部位腫脹については接種回数の増加に伴い上昇する傾向が見られた点にも留意すべきであると考え。なお、HPV-046 試験ではそのような傾向は認められていない。一方、国内での特定局所症状の発現率について、年齢による大きな差異は認められておらず、またこれら症状の大部分が一過性（平均持続時間 2.2～3.4 日）とされていることから、これら事象による懸念から本剤の接種を止めるものではなく、当該事象につき年齢の違いにより別途注意喚起を要するものではないと考える。しかしながら、非臨床試験においても投与部位での炎症所見が認められており（(iii) 毒性試験成績の概要＜審査の概略＞参照）、接種回数を増すごとに発現率が上昇する傾向がみられた症状もあることから、接種部位については注意深く観察し、2 回目あるいは 3 回目接種時には前回接種部位を避けるなど局所刺激反応に対する注意が必要であると考え。

## 2) 全身反応

HPV-032 試験、HPV-046 試験、HPV-008 試験とも、特定全身症状の発現率は、局所症状の発現率に比べて低く、ワクチン接種後 7 日間（0-6 日目）に報告された主な症状は、疲労、筋痛及び頭痛であった。HPV-032 試験と HPV-046 試験とでは、これら症状の発現率の全てで HPV-032 試験で高い傾向がみられた。HPV-032 試験では、疲労、筋痛、関節痛の発現率は本剤群で HAV 群より高く、重度の発現率についても本剤群で HAV 群より高い傾向が認められた（疲労の全 3 回接種後の接種回数及び接種症例数に基づく発現率は、それぞれ、本剤群で 1.8%（26/1,452 回）及び 4.5%（23/512 例）、HAV 群で 0.8%（11/1,456 回）及び 2.0%（10/511 例）、同じく筋痛は、本剤群で 1.0%（14/1,452 回）及び 2.3%（12/512 例）、HAV 群で 0.1%（1/1,456 回）及び 0.2%（1/511 例）、関節痛は本剤群で 0.6%（9/1,452 回）及び 1.6%（8/512 例）、HAV 群で 0.1%（1/1,456 回）及び 0.2%（1/511 例））。なお、接種回数の増加に伴う臨床的に意義のある症状の発現率の上昇、グレード 3 の症状の発現率の上昇は認められなかった。HPV-008 試験においては、本剤群での筋痛の発現率が HAV 群に比較して高く、重度の筋痛の発現率についても本剤群で高かった（全 3 回接種後の接種回数及び接種症例数に基づく発現率は、それぞれ、本剤群で 1.8%（154/8,687 回）及び 4.6%（141/3,076 例）、HAV 群で 0.6%（52/8,751 回）及び 1.5%（47/3,080 例））。

本剤群について、HPV-032 試験、HPV-046 試験いずれにおいても 10%以上の症例に認められた因果関係が否定できない有害事象（以下、副作用）は、関節痛、疲労、胃腸障害、頭痛、筋痛であり（例数及び発現率については＜提出された資料の概略＞（1）HPV-032 試験、（2）HPV-046 試験の項参照）、いずれも HPV-032 試験における発現率の方が HPV-046 試験における発現率より高かった。また、HPV-008 試験における 10%以上の症例に認められた副作用も国内臨床試験と同様であったが（例数及び発現率については、＜提出された資料の概略＞（6）HPV-008 試験の項参照）、海外で HPV-046 試験と同年齢層（10～14 歳）を対象に実施された HPV-013 試験においては、HPV-008 試験に比べて副作用の発現率が低

い傾向は見られていない。

機構は、HPV-032 試験及び HPV-046 試験いずれにおいても、HPV-008 試験及び HPV-013 試験とは異なり、認められた特定全身症状の多くについて因果関係が否定できないとされている点は、今後の製造販売後調査、PSUR 等での動向についても留意すべきであると考ええる。また、HPV-032 試験、HPV-008 試験とも、対照群に比較して本剤群で重度の筋痛が認められたことについて、接種回数の増加に伴う発現率の上昇は特にみられなかったこと、筋痛の平均持続期間は本剤群と対照群とで大きく異なること（それぞれ、2.8 日間及び 2.3 日間）を考慮すると、留意すべき点ではあるが、特段の問題とはならないと考える。国内臨床試験でこの他に認められた疲労及び関節痛についても同様と考える。なお、国内外臨床試験とも、15～25 歳の年齢層（国内では 20～25 歳）に比較して、10～15 歳の年齢層で高い抗体価が得られているが（(3) 有効性について、2) 本邦における本剤の有用性についての項参照）、15～25 歳の年齢層と 10～15 歳の年齢層で、発熱の発現率に大きな差異は認められていない。以上の結果を踏まえると、少なくとも現時点において、全身反応に関し、年齢層の違いにより特段異なる注意を要するものではないと考える。

### 3) 重篤な有害事象及び中止に至った有害事象

#### ① 死亡

国内臨床試験（HPV-032 試験及び HPV-046 試験）では、死亡に至った事象は報告されなかった。

HPV-008 試験では、データ固定日の 2006 年 9 月 30 日までに死亡が 5 例報告されたが、いずれも治験責任医師により治験ワクチンとは関連がないと判定された（＜提出された資料の概略＞主要な臨床試験の概要 (1) ～ (6) の項参照）。

現在実施中の試験（HPV-007 試験（24 ヶ月時の中間解析実施後）、HPV-012 Ext 試験、HPV-013 Ext 試験（18 ヶ月時の中間解析実施後）、HPV-014 Ext 試験（18 ヶ月時の中間解析実施後）及び HPV-009 試験）ではデータ固定日の 2006 年 9 月 30 日までに 7 例の死亡例が認められ、全て HPV-009 試験にて報告された。7 例のうち 1 例（クローン病：この症例のみ開鍵された）のみが治験責任医師によりワクチン接種と関連があるかもしれないと判定された。それ以外の海外臨床試験では、死亡に至った事象は報告されていない。

#### ② 重篤な有害事象

国内臨床試験において、HPV-032 試験では、中間解析 II 実施時点までにおいて計 1040 例中 31 例（3.0%）に計 37 件の重篤な有害事象が認められた。最も多く報告された重篤な有害事象のプライマリー器官別大分類（SOC）は「妊娠、産褥及び周産期の状態」（10 件）であり、次いで「傷害、中毒及び処置合併症」（7 件）、「感染症及び寄生虫症」（7 件）であった。うち、自然流産 1 例が治験責任医師によりワクチン接種と関連ありと判定された。HPV-046 試験では重篤な有害事象は報告されなかった。

海外臨床試験において報告された重篤な有害事象について併合解析が実施され、その要約は表 21 のとおりである。HPV 群の重篤な有害事象が 1 件以上認められた症例の割合（2.8%、459/16,142 例）は、ALU 群（2.2%、75/3,454 例）及び HAV360 群（2.4%、25/1,032 例）と同程度であり、HAV720 群（3.5%、323/9,325 例）より低かった。

表 21 重篤な有害事象の要約 (TVC コホート)

	接種群				合計 N = 29,953 D = 85,229
	HPV 群 N = 16,142 D = 45,988	ALU 群 N = 3,454 D = 9,217	HAV360 群 N = 1,032 D = 3,068	HAV720 群 N = 9,325 D = 26,956	
重篤な有害事象の発現例数	459	75	25	323	882
重篤な有害事象が発現した接種の数	472	78	25	335	910
重篤な有害事象の発現件数 (MedDRA PT 分類) *	533	84	28	372	1,017
重篤な有害事象の報告件数	542	86	28	372	1,028

HPV : HPV-001/007 試験、HPV-003 試験、HPV-004 試験、HPV-005 試験、HPV-008 試験、HPV-012 試験、HPV-013 試験、HPV-013Ext 試験、HPV-014 試験、HPV-014Ext 試験、HPV-015 試験及び HPV-016 試験

ALU : HPV-001/007 試験、HPV-003 試験及び HPV-015 試験

HAV360 (抗原を 360EU/mL 含有する A 型肝炎ワクチン) : HPV-013 試験

HAV720 (抗原を 720EU/mL 含有する A 型肝炎ワクチン) : HPV-008 試験

\* ある症例において接種後に発現した複数の症状が同一の PT に分類された場合は 1 回のみカウントした。

N : 症例数、D : 接種回数

HPV 群で 0.1%以上の症例に認められた重篤な有害事象 (表 22) のうち、主なものは自然流産であったが、HPV 群、対照群 (ALU 群及び HAV 群) で同程度の発現率であった。なお、各年齢集団における重篤な有害事象の発現率は、10~14 歳において、HPV 群 2.3% (27/1,194 例)、HAV360 群 2.4% (25/1,032 例)、15~25 歳において、HPV 群 3.4% (395/11,591 例)、ALU 群 8.4% (49/581 例)、HAV720 群 3.5% (322/9,315 例)、26 歳以上において HPV 群 1.1% (37/3,357 例)、ALU 群 0.9% (26/2,873 例)、HAV720 群 10% (1/10 例) であり、HPV 群と HAV 群で同程度であったが、15~25 歳の集団では ALU 群のほうが高かった。

表 22 HPV 群で 0.1%以上の症例に認められた重篤な有害事象の発現率 (TVC コホート)

SOC	PT	HPV 群 N = 16,142		ALU 群 N = 3,454		HAV360 群 N = 1,032		HAV720 群 N = 9,325	
		n	%	n	%	n	%	n	%
合計		459	2.8	75	2.2	25	2.4	323	3.5
感染症及び寄生虫症	虫垂炎	25	0.2	4	0.1	5	0.5	23	0.2
	腎盂腎炎	11	0.1	2	0.1	0	0	5	0.1
	急性腎盂腎炎	12	0.1	0	0	0	0	5	0.1
妊娠、産褥及び周産期の状態	自然流産	34	0.2	14	0.4	0	0	25	0.3
	完全自然流産	14	0.1	1	0	0	0	6	0.1
	不全自然流産	23	0.1	2	0.1	0	0	12	0.1
精神障害	うつ病	16	0.1	2	0.1	0	0	12	0.1
生殖系及び乳房障害	卵巣嚢胞	10	0.1	0	0	1	0.1	4	0

HPV : HPV-16/18 ワクチン群 (HPV-001 試験、HPV-003 試験、HPV-004 試験、HPV-005 試験、HPV-007 試験、HPV-008 試験、HPV-012 試験、HPV-013 試験、HPV-014 試験、HPV-015 試験及び HPV-016 試験の 10 歳以上の被験者)

ALU : 水酸化アルミニウム対照群 (HPV-001 試験、HPV-003 試験、HPV-007 試験及び HPV-015 試験の 15 歳以上の被験者)

HAV360 (抗原を 360EU/mL 含有する A 型肝炎ワクチン) : HPV-013 試験

HAV720 (抗原を 720EU/mL 含有する A 型肝炎ワクチン) : HPV-008 試験

合計 : 症状を 1 件以上経験した (MedDRA PT は問わない)

N : 1 回以上接種した症例数、n : 症状の報告例数、% : 発現率

治験責任医師によりワクチン接種との因果関係を否定できないと判定された重篤な有害事象は 103 例 (121 件) 報告された。うち、重篤かつ予測不能と判断された 114 件について開鍵され、60 件が HPV 群、54 件が対照群 (HAV 群 48 件、ALU 群 6 件) であった。なお、76 例 (85 件) は HPV-009 試験において報告されたものであるが、申請者は、当該試験では最終月経期 (LMP) がワクチン接種後 60 日以内であった症例における異常な妊娠の転帰はワクチン接種との因果関係を否定できないとした取扱いが影響したと考えられる



と説明している（6）妊娠の項参照）。

### ③ 中止に至った有害事象

有害事象により試験を中止した症例の割合は、国内臨床試験においては、HPV-032 試験では中間解析Ⅱ時点の試験継続例は 460/519 例（88.6%）で、本剤群と対照群との間で中止例の割合に差はみられなかった。重篤な有害事象による中止例は 1 例（転落による頭蓋骨骨折及び脳挫傷）で治験薬との因果関係は否定された。重篤でない有害事象による中止例の割合は本剤群 0.8%（4/519 例）、対照群 0.2%（1/521 例）で、内訳は蕁麻疹 3 例、皮膚描記症の悪化及び胃腸症状の各 1 例であった。これら 5 例は未開鍵の症例である。HPV-046 試験においては、試験を中止した症例はなかった。

海外臨床試験において有害事象により試験を中止した症例の割合は、HPV 群（0.21%、34/16,142 例）、対照群（ALU 群、HAV360 群、HAV720 群）（0.15%、21/13,811 例）とも同程度であった。死亡に至った 5 例（自動車事故 2 例、殺人 1 例、骨肉腫 1 例、糖尿病性ケトアシドーシス 1 例）（継続中の 009 試験の死亡数は含まない）の他、HPV 群 4 例（自然流産 2 例、多発性硬化症及び椎間板突出各 1 例）、HAV 群 1 例（神経性無食欲症）、未開鍵症例 5 例（子宮脱、乳癌、腎膿瘍、中等度の皮膚感染、自動車事故による多発外傷）が重篤な有害事象により試験を中止したが、全て治験薬との因果関係は否定された。その他の重篤でない有害事象により試験を中止した症例は計 40/29,953 例で、内訳は HPV 群 27/16,142 例（0.17%）、ALU 群 8/3,454 例（0.23%）、HAV360 群 2/1,032 例（0.19%）、HAV720 群 3/9,325 例（0.03%）で、29 例（注射部位疼痛、関節痛、疲労等）以外は、治験責任医師によりワクチン接種との関連性はないと判定された。

機構は、国内外試験とも、死亡及び重篤な有害事象の発現率について、本剤群と対照群で差は認められず、本剤群で有害事象プロファイルに関する一定の傾向も認められていないことから、本剤接種により死亡及び重篤な有害事象に至るリスクはごく低いものと考えられる。

### 4) 慢性疾患及び自己免疫障害の新たな発症

HPV-001 試験、HPV-003 試験、HPV-004 試験及び HPV-005 試験を除く各試験について、慢性疾患の新たな発症（NOCD；自己免疫障害、喘息、インスリン依存性糖尿病及び過敏症ならびにこれらの疾患の特徴的徴候及び症状等）及び自己免疫障害の新たな発症（NOAD）の収集が行われ、3 つの追跡期間（ワクチン接種後 0～7 ヶ月目、ワクチン接種後 7～12 ヶ月目及び 12 ヶ月目以降）について併合解析結果が検討された（表 23）。

表 23 報告期間別の NOCD 発現率（TVC コホート）

報告期間	HPV 群 N = 13,591			ALU 群 N = 984			HAV360 群 N = 1,032			HAV720 群 N = 9,325		
	n	%	95%信頼区間	n	%	95%信頼区間	n	%	95%信頼区間	n	%	95%信頼区間
0～7 ヶ月目	159	1.2	[1.0, 1.4]	10	1.0	[0.5, 1.9]	22	2.1	[1.3, 3.2]	87	0.9	[0.7, 1.1]
7～12 ヶ月目	46	0.4	[0.3, 0.5]	NA	NA	NA	6	0.6	[0.2, 1.3]	37	0.4	[0.3, 0.5]
12 ヶ月目超	44	0.4	[0.3, 0.5]	6	1.1	[0.4, 2.3]	3	0.3	[0.1, 0.8]	33	0.4	[0.2, 0.5]

N：1 回以上接種した症例数、n：症状の報告例数、%：発現率、NA：該当報告期間の試験が無い

NOCD の発現率は、HPV 群（1.2%）は、ワクチン接種後 0～7 ヶ月目では対照群（ALU 群 1.0%、HAV360 群 2.1%、HAV720 群 0.9%）に比べ低いと同程度で、これ以降の期間で

は接種群による差は認められなかった。10～14歳の年齢層の発現率が15～25歳あるいは26歳以上と比較して高い傾向がみられたが、HPV群と対照群とでは同程度であった。主なNOCDは喘息、蕁麻疹及び過敏症で、接種群による発現率の差は認められていない。国内臨床試験でも、HPV-032試験のNOCDの発現率は本剤群0.8%（4/519例）及び対照群HAV群0.6%（3/521例）と同程度であり、蕁麻疹及び喘息が主であった。

NOADは主に甲状腺障害に関連するもので全体的に発現率は低く、明らかな年齢集団間差及び接種群間差は認められなかった。国内臨床試験では、HPV-032試験のNOAD2件（関節リウマチ及びアレルギー性肉芽腫性血管炎）は、ワクチン接種との因果関係は否定された。HPV-046試験においてNOCDあるいはNOADと判定された事象はなかった。

申請者は、以上の結果から安全性上の問題は認められなかったが、一般集団におけるNOCD及び自己免疫障害の発現率はきわめて低いが、本臨床開発プログラムにおける検診には限界があるため、現在実施中の各臨床試験及び今後の製造販売後業務において引き続き評価する旨を説明している。

機構は、申請者の説明を了承した。

#### 5) 失神・昏睡等の発現状況について

本剤の類薬であるGardasil<sup>®</sup>（Merck社、国内未承認）に関しては、米国のNational Vaccine Information Center ホームページ（<http://www.nvic.org/Diseases/HPV/HPVrpt.htm>）において、失神、昏睡、ギラン・バレー症候群、麻痺等の有害事象に関する情報提供がなされている。機構は、本剤の国内外の臨床試験における同様の有害事象の発現状況を説明するよう申請者に求めた。

申請者は、以下のように説明した。実施中もしくは終了した臨床試験（HPV-008試験、HPV-012試験、HPV-012Ext試験、HPV-013試験、HPV-013Ext試験、HPV-014試験、HPV-014Ext試験、HPV-015試験及びHPV-016試験）の本剤接種者15,469例及び対照ワクチン接種者13,228例については、昏睡、麻痺、ギラン・バレー症候群の報告はないが、失神は43例46件報告され、うち7件が重篤とされていた。当該46件のうち5件はワクチン接種当日の発現で、内訳は本剤群3件（非重篤2件、重篤1件）、対照群2件（いずれも非重篤）であった。接種1,000例あたり発現率は、本剤群0.16件、対照群0.15件と差は認められなかった。小児及び若年成人では、注射によるワクチン接種と時間的関連性のある血管迷走神経性失神が報告されている（*Arch Pediatr Adolesc Med.*, 151:255-259, 1997）が、本剤群1例のみがワクチン接種後5分以内の発現で、残り42例は全て25日以上経過後の発現であった。発現時期及び臨床経過からは、失神の大部分は他の基礎疾患により引き起こされたものと推察され、本剤接種については昏睡昏睡、麻痺、ギラン・バレー症候群及び失神に関する安全上の特段の懸念はないと考える。なお、海外の製造販売後データには失神の報告はない。

機構は、以上の説明から、現時点で、本剤接種により失神、昏睡、ギラン・バレー症候群、麻痺等の罹患リスクが特段高まるものではないと考えるが、引き続きこれら事象に留意の上、情報収集することが必要であると考えます。

#### 6) 妊娠

安全性の併合解析の対象試験において、2006年9月30日までに報告された計1,737件の妊娠の転帰は表24のとおりで、自然流産の発現率は、米国の疫学研究において報告されて

いる一般集団における自然流産の発現率 (13-16%) に比べ低く (*Epidemiology*, 2 (1) :33-39, 1991、*Vital Health Stat.*, 21 (56) , 2000.)、群間の差は見られていない。なお、死産 6 件のうち 5 件は未開鍵の症例 (HPV 群又は HAV720 群) であった。

表 24 妊娠件数\*\*及び妊娠の転帰 (TVC コホート)

転帰	HPV 群 N = 870		ALU 群 N = 172		HAV360 群 N = 9		HAV720 群 N = 686		合計 N = 1,737	
	Value or n	%	Value or n	%	Value or n	%	Value or n	%	Value or n	%
妊娠継続中	241	27.7	24	14.0	5	55.6	233	34.0	503	29.0
正常児	399	45.9	104	60.5	2	22.2	264	38.5	769	44.3
早産	16	1.8	3	1.7	1	11.1	17	2.5	37	2.1
胎児の異常	6	0.7	4	2.3	0	0.0	8	1.2	18	1.0
選択的妊娠中絶	103	11.8	13	7.6	1	11.1	93	13.6	210	12.1
治療的流産	1	0.1	0	0.0	0	0.0	2	0.3	3	0.2
子宮外妊娠	6	0.7	1	0.6	0	0.0	3	0.4	10	0.6
自然流産	81	9.3	22	12.8	0	0.0	52	7.6	155	8.9
死産	*	*	1	0.6	0	0.0	*	*	6	0.3
追跡不能	11	1.3	0	0.0	0	0.0	13	1.9	24	1.4
その他	1	0.1	0	0.0	0	0.0	1	0.1	2	0.1

N : 妊娠件数、n : 妊娠の転帰の件数、Value : パラメータの数値

% : 転帰の件数 / 転帰が入手できた妊娠の総数 × 100

自然流産には稽留流産を含めた。

その他 : (例:あざ、絨毛性腫瘍)

\* = HPV-007 試験、HPV-008 試験及び HPV-015 試験は実施中であるため、接種群の盲検性が維持されている。

\*\* = 双子を妊娠した場合は 1 件とカウントした。

妊娠の転帰を群間で比較したところ、HPV 群と対照群との間に大きな差は認められなかった。胎児の異常 (先天異常を含む) の発現率は、HPV 群で 0.7% (6/870 例) であり、ALU 群 (2.3%、4/172 例) 及び HAV720 群 (1.2%、8/686 例) に比べ低く、全 18 例に特定の事象が多く発現することはなかった。

新生児死亡は 9 例 11 件報告され、うち 5 件は早産による死亡、3 件は、新生児呼吸窮迫症候群 (2 件) 及び頭蓋内出血 (1 件) と、早産児にみられる典型的な状態による死亡で、残り 3 件は、嚥下性肺炎、羊水過少、腹壁破裂を伴う先天性嚢胞性腎疾患によるものであった。

国内臨床試験では、HPV-032 試験において、計 72 件 (本剤群:36 件、対照群:36 件) 68 例の妊娠が被験者から報告された (表 25)。14 件 (19.4%) の妊娠について追跡調査が進行中であるが、2009 年 6 月現在、死産及び転帰が胎児の異常 (先天異常を含む) とされた症例は報告されていない。HPV-046 試験において妊娠の報告はなかった。

申請者は、国内外の試験において、妊娠したほとんどの被験者が正常児を出産しており、胎児の異常の発生例数は非常に少数であるが、ワクチン接種との関連については慎重に解釈する必要があること、また引き続き情報収集を行う旨を説明している。

表 25 妊娠の報告件数及び妊娠の転帰 (HPV-032 試験、TVC コホート)

	HPV 群 N = 36		HAV 群 N = 36		合計 N = 72	
	n	%	n	%	n	%
転帰						
選択的妊娠中絶	12	33.3	15	41.7	27	37.5
正常児	10	27.8	13	36.1	23	31.9
妊娠継続	9	25.0	5	13.9	14	19.4
自然流産*	5	13.9	3	8.3	8	11.1

N: 妊娠件数、n: 妊娠の転帰の件数

%: 転帰の件数 / 転帰が入手できた妊娠の総数 × 100

\*自然流産には稽留流産を含めた。

機構は、本剤接種による妊娠の転帰に関して、これまでに提出された資料及び回答からは、胎児の異常の発現状況が通常が発現率と大きく異なる傾向は認められていないが、海外製造販売後安全性情報を含め最新の情報を確認中のため、その内容も踏まえて審査報告 (2) においてまとめて議論する。

## (5) 接種対象者について

### 1) 対象年齢について

本剤の子宮頸癌及び前駆病変に対する予防効果を検討した臨床試験 (HPV-001 試験、HPV-007 試験及び HPV-008 試験) は、15~25 歳の女性を対象として実施されたが、その他の年齢層における本剤の有効性について、申請者は次のとおり説明している。

10~14 歳を対象に実施した HPV-013 試験及び HPV-013Ext 試験では、本剤の免疫原性及び安全性が確認された。また、3 ロット間の免疫原性の一貫性及び 10~14 歳の女性の 15~25 歳の女性に対する非劣性の評価を目的とした HPV-012 試験では、全ての被験者で血清抗体陽転が確認され、HPV-16 及び HPV-18 について 15~25 歳の年齢層と 10~14 歳の年齢層で血清抗体陽転が認められた割合の差の両側 95%信頼区間の上限は事前に定めた許容限界の 10%を下回っていた (表 26)。

表 26 接種後 7 ヶ月目の HPV-16 及び HPV-18 に対する血清抗体陽転率  
(HPV-012 試験、免疫原性 ATP コホート)

	被験者集団	N	%	被験者集団	N	%	血清抗体陽転率の差* (%)	95%信頼区間
HPV-16	10~14 歳	143	100	15~25 歳	118	100	0.00	[-3.15, 2.62]
HPV-18	10~14 歳	141	100	15~25 歳	116	100	0.00	[-3.21, 2.65]

\*: (15~25 歳の被験者集団 - 10~14 歳の被験者集団) N: 測定結果が利用可能な被験者数

%: 血清抗体陽転率 (抗 HPV-16 IgG 抗体価 ≥ 8EU/mL 又は抗 HPV-18 IgG 抗体価 ≥ 7EU/mL である被験者の割合)

また、15~25 歳の年齢層と 10~14 歳の年齢層による 7 ヶ月目における HPV-16 及び HPV-18 についての GMT は、それぞれ、7438.9 及び 3070.1、17272.5 及び 6863.8 であった。

HPV の感染率は性行動を開始した若い女性で最も高く、思春期の女性では子宮頸部に生物学的変化が生じることから若い女性は特に HPV に感染しやすいと考えられる。また、この時期は性行動が始まる時期でもあり、HPV 感染が性行動の開始直後から起こることは、米国の 14~19 歳の女性で癌原性 HPV の感染率が高いことから明らかになっており、この年齢層 (10~14 歳) にワクチンを接種することは、癌原性 HPV の感染予防、さらには子宮頸癌の予防という観点で重要であると考えられる。本剤の免疫応答が接種から 18 ヶ月 (現

在までの最長追跡調査期間) 以上にわたって持続することが確認されていることから、性行動を開始する前の若い女性に本剤を接種することで、長期にわたり持続的な予防効果が得られると考える。

26歳以上の女性を対象に実施した HPV-015 試験では、本剤の安全性が確認され、有効性及び免疫原性については調査継続中である。血清抗体陽転率について 26～45 歳の女性及び 46～55 歳の女性の、15～25 歳の女性に対する非劣性の評価を目的とした HPV-014 試験 (15～55 歳を対象) では、年齢層が高くなるにつれて GMT が低下する傾向が認められたが、全ての年齢群 (15～25 歳、26～45 歳、46～55 歳) で得られた GMT は ELISA のカットオフ値を大きく上回っていた。また、全ての年齢群で 3 回目接種後 1 ヶ月目に両抗原の血清抗体陽転が認められた (表 27)。

表 27 HPV-16 及び HPV-18 に対する血清抗体陽転率 (HPV-014 試験、免疫原性 ATP コホート)

Group	年齢層	時期	N	n	%	95%信頼区間 [上限, 下限]	GMT	95%信頼区間 [上限, 下限]
HPV-16	15～25	PRE	224	29	12.9	[8.8, 18.1]	5.1	[4.6, 5.6]
		P II (M2)	224	224	100	[98.4, 100]	3162.2	[2875.7, 3477.4]
		P III (M7)	219	219	100	[98.3, 100]	7790.3	[6849.2, 8860.7]
	26～45	PRE	219	55	25.1	[19.5, 31.4]	7.5	[6.4, 8.8]
		P II (M2)	219	219	100	[98.3, 100]	2379.1	[2067.8, 2737.3]
		P III (M7)	217	217	100	[98.3, 100]	4060.0	[3510.8, 4695.0]
	46～55	PRE	199	60	30.2	[23.9, 37.0]	7.1	[6.1, 8.2]
		P II (M2)	199	199	100	[98.2, 100]	1768.7	[1522.3, 2055.0]
		P III (M7)	196	196	100	[98.1, 100]	2835.8	[2450.9, 3281.2]
HPV-18	15～25	PRE	223	16	7.2	[4.2, 11.4]	3.9	[3.7, 4.2]
		P II (M2)	223	223	100	[98.4, 100]	2234.4	[2009.6, 2484.2]
		P III (M7)	218	218	100	[98.3, 100]	3452.9	[3071.8, 3881.3]
	26～45	PRE	218	32	14.7	[10.3, 20.1]	4.5	[4.1, 4.9]
		P II (M2)	218	218	100	[98.3, 100]	1441.7	[1284.6, 1617.9]
		P III (M7)	216	216	100	[98.3, 100]	1880.9	[1660.7, 2130.3]
	46～55	PRE	201	26	12.9	[8.6, 18.4]	4.4	[4.0, 4.9]
		P II (M2)	201	201	100	[98.2, 100]	1015.8	[898.7, 1148.1]
		P III (M7)	198	198	100	[98.2, 100]	1377.5	[1212.8, 1564.6]

GMT : 抗体価幾何平均値、N : 接種前測定結果が利用可能な症例数

n : 血清抗体陽性症例数 (ELISA による抗 HPV-16 抗体価  $\geq$  8EU/mL 及び抗 HPV-18 抗体  $\geq$  7EU/mL)

PRE : 接種前、P II (M2) : 2 回目接種後 1 ヶ月目 (Month 2)、P III (M7) : 3 回接種後 1 ヶ月目 (Month 7)

HPV-16 及び HPV-18 について、15～25 歳の年齢層と 26～45 歳又は 46～55 歳の年齢層で血清抗体陽転が認められた被験者の割合の差に関して、両側 95%信頼区間の上限が事前に定めた許容限界の 10%を下回った (表 28)。

表 28 血清抗体価陽転が認められた症例割合 (HPV-014 試験、免疫原性 ATP コホート)

Antibody	Group 1	N	陽転率 (%)	Group 2	N	陽転率 (%)	抗体陽転率の差 (Group 2 - Group 1) (%)	95%信頼区間	
HPV-16	26～45 歳	164	100	15～25 歳	191	100	15～25 歳 - 26～45 歳	0	[-1.97, 2.29]
HPV-18	26～45 歳	185	100	15～25 歳	202	100	15～25 歳 - 26～45 歳	0	[-1.87, 2.03]
HPV-16	46～55 歳	136	100	15～25 歳	191	100	15～25 歳 - 46～55 歳	0	[-1.97, 2.75]
HPV-18	46～55 歳	172	100	15～25 歳	202	100	15～25 歳 - 46～55 歳	0	[-1.87, 2.18]

N : 測定結果が利用可能かつ試験開始時に血清抗体陰性である症例者数

陽転率% : 7 ヶ月目に抗体陽性である症例の割合

18ヶ月目の両抗原に対する抗体価は、自然感染時の抗体価よりもはるかに高く、全被験者における抗 HPV-16 抗体及び抗 HPV-18 抗体の分布は、HPV-007 試験で防御の持続が確認された際の値を概ね上回った。以上より、26歳以上の被験者に認められた免疫応答は、子宮頸癌の原因となる HPV-16 又は HPV-18 の感染を予防するのに十分であると考えられる。性行動を行う女性では HPV 感染のリスクが継続し、また、年齢が高くなるに従い HPV の持続感染のリスクが高くなるため (*J Infect Dis.*, 191:1808-16, 2005)、高年齢層ではハイグレード病変や子宮頸癌を発症するリスクも高くなると考えられ、26歳以上の女性も常に新たな感染及び感染に起因する疾患のリスクに曝されていることから、本剤の接種が必要であると考えられる。

機構は、10～14歳の被験者を含む臨床試験の評価項目として、倫理的及び実施可能性の観点から免疫原性を設定したことは理解できるものと考えられるが、抗体価と長期間にわたる感染予防効果及び子宮頸癌とその前駆病変の予防に関する有効性と相関性については現時点では明確でないと考える。しかしながら、得られた試験成績からこれら対象集団においても本剤の HPV に対する感染予防効果は期待でき、また、安全性についても他の年齢層と比較して特段問題となる事象は認められなかったことから、当該年齢層を接種対象とすることは可能であると考えられる。なお、抗体価の持続期間や予防効果が期待される閾値等に関し、現時点で十分な情報が得られているとは言えないことから、追加接種の要否も含め、引き続き情報収集が必要であると考えられる。一方、10歳未満については、有効性及び安全性が確立されていないことから、接種対象とすることは適切ではないと考えられる。26歳以上の女性については、子宮頸部の検体採取が可能な対象集団であり、本来であれば有効性を評価する臨床試験を実施すべきであったと考えられる。これら集団において抗体陽転は認められており本剤の有効性は示唆されるが、年齢が高まるにつれ HPV 既感染者も増えることが予想され、本剤の有用性がより低年齢の集団とは異なる可能性があることに留意すべきと考えられる。HPV-16 又は HPV-18 既感染者への接種については、次項で述べる。

## 2) HPV-16 又は HPV-18 既感染者への接種について

機構は、抗 HPV 抗体あるいは HPV DNA 陽性の女性に本剤を接種することの妥当性について、接種前のスクリーニングの要否も含め、申請者に説明を求めた。

申請者は、以下のように回答した。HPV 感染女性の約 50%では血清抗体陽転が認められないといわれており、過去に感染歴があり現在は HPV DNA 陰性の女性又は現在 HPV 関連病変を有する女性の約 20～50%では、型特異的な抗 HPV 抗体が血清学的試験では認められないことが確認されている (*J Infect Dis.*, 181:1911-9, 2000)。また、自然感染の結果獲得される抗体レベルでは、同じ HPV 型又は系統発生的に近縁の HPV 型の再感染を完全に防御することはできないことが報告されている (*Cancer Epidemiology*, 13:324-327, 2004)。ウイルスの自然感染により獲得された抗体で再感染を防御できるか否かを評価するため、第Ⅲ相有効性試験 (HPV-008 試験) の対照群に組み入れられた 15～25歳の女性における HPV-16 又は HPV-18 に関連する評価項目 (一時感染、持続感染、CIN1+) の試験期間中の発現率を集計したところ、自然感染に伴うそれぞれの事象の発現率は HPV DNA 陰性/血清抗体陰性の女性と HPV DNA 陰性/血清抗体陽性の女性で同程度であった。したがって、自然感染により HPV-16 又は HPV-18 の血清抗体が陽性となった場合においても、再感染を防御することはできないと考えられた。HPV-008 試験において、血清抗体陽性かつ HPV DNA

陰性被験者における有効性を検討したところ、HPV-16 又は HPV-18 の持続感染（6 ヶ月定義）に対する有効性は 56.1%（97.9%信頼区間[0.4%, 82.3%]）であり、血清抗体陽性でも本剤の有効性は期待できると考える。

HPV-008 試験、HPV-015 試験及び HPV-032 試験は、組入れ時に HPV-16 又は HPV-18 の DNA が陽性であった女性も組み入れられワクチン接種を受けた。これらの試験では、25 歳超の女性ではワクチン型の両方の HPV DNA が陰性であった割合は 95.9~100%であるのに対し、15~25 歳の女性では 90.1~92.8%であった。HPV-008 試験の中間解析で得られた有効性の結果から、本剤接種時点で HPV DNA 陽性であり HPV-16/18 感染に起因する組織病理学的病変を有している女性では、統計学的に有意な有効性は認められず、予防効果を発揮しないことが示された。しかしながら、HPV-16 及び HPV-18 のうちいずれか一方の HPV 型の HPV DNA が陽性であってももう一方の陰性であるウイルス型に対する本剤の有効性は期待できる。両方の HPV 型に既に感染しており本剤接種によるベネフィットが期待できない女性の割合は、年齢層に関係なく 0.1~0.7%と低かったことを踏まえると、多くの女性は本剤接種によりベネフィットを得られると考える。なお、本剤接種時点で HPV DNA 陽性であり HPV-16/18 感染に起因する組織病理学的病変を有している被験者でワクチン接種により HPV-16/18 に起因する子宮頸部病変が悪化するというエビデンスはない。また、26 歳以上の女性 6,000 名以上から得られた安全性データ（HPV-014 試験及び HPV-015 試験）においても、ベースライン時においてワクチン型の DNA が陽性であった女性に本剤を接種して病態進展のリスクが増加することはなかった。

以上、本剤は、過去又は現在 HPV に感染している女性に対しても安全で良好な忍容性を有しており、ワクチン接種前の血清抗体価が本ワクチンの有効性に影響を与えることはほとんどなく、ワクチン接種前のスクリーニング（血清抗体又は HPV DNA）については不要であると考ええる。

機構は、接種前に抗 HPV 抗体が陽性であるか陰性であるかは本剤の有効性に大きく影響しないと考えられることから、接種前に抗 HPV 抗体検査をする必要はないと考える。一方、HPV DNA については、陽性である者に対する当該型に係る本剤の有効性は期待できないと考える。しかしながら、HPV-16 と HPV-18 の両方とも HPV-DNA 陽性である者の割合は低いこと、HPV-DNA 陽性又は抗 HPV 抗体陽性の被験者への接種において安全性の観点から特に問題が指摘されていないことを考慮すると、HPV DNA 検査についても接種前に課す必要はないと考える。

#### **(6) 本剤の臨床的位置づけについて**

機構は、本剤の臨床的位置付けについて、以下のように考える。「(2) 製剤処方について 1) 有効成分について」に記載したとおり、子宮頸癌の罹患に対する HPV の関与は知られており、癌原性 HPV のうち感染頻度の高いウイルス型である HPV-16 及び HPV-18 の持続的な感染を予防することによる子宮頸癌及びその前駆病変の予防という本剤の意義は認められるものとする。本剤の有効性を検討した臨床試験において CIN2+に対する有効性が示されていることから、本剤は子宮頸癌の一次予防の目的において有用であると考えられる。しかしながら、HPV-16 及び HPV-18 以外の癌原性 HPV に起因する子宮頸癌及びその前駆病変については有効性が示されていないと考えることから、子宮頸癌を完全に予防しうる

ものではないことに特に留意する必要がある、本剤を接種した場合でも二次予防としての子宮がん検診は必要であると考える。

### (7) 効能・効果について

申請効能・効果は、下記のようにであった。

本剤は癌原性ヒトパピローマウイルス（HPV）16型及び18型による以下の前駆病変及び感染を防ぎ、子宮頸癌（扁平上皮細胞癌、腺癌）を予防する。

- ・子宮頸部上皮内腫瘍（CIN）2及び3
- ・子宮頸部上皮内腫瘍（CIN）1
- ・細胞学的異常（意義不明異型扁平上皮細胞（ASC-US）、軽度扁平上皮内病変（LSIL）及び高度扁平上皮内病変（HSIL））
- ・持続感染
- ・一時感染

本剤はHPV-16型及び18型に加え、系統発生的に近縁なHPV-31型及び45型等の他の癌原性HPV型による持続感染に対しても効果が認められる。

機構は、HPV-008試験においてHPV-16及び18感染に起因するCIN2+の予防効果が示されていることから、効能・効果としてこれらHPV型に起因する子宮頸癌及び前駆病変であるCIN2及び3を設定することは可能と考える。一方、当該試験においてHPV-16及びHPV-18以外のHPV型に起因するCIN2+に対する有効性は明確に示されていないと考える。また、細胞学的異常については、臨床試験の主要評価項目として検討されたものではないこと、組織学的異常と必ずしも1対1で対応していないこと等から、効能・効果として特に併記する必要はないと考える。持続感染の予防については、申請者が臨床試験で確認したのは申請者が定義した持続感染（6ヶ月間及び12ヶ月間）に関する有効性であること、持続感染については、申請者も病変発生に先行するののか、病変発生と相関関係にあるのかについて現時点では結論が得られていないことを説明していること、一時感染についても真のエンドポイントとの関係は明確ではないこと等から、持続感染及び一時感染を効能・効果に特に記載する必要はないと考える。以上を踏まえ、機構は、効能・効果を下記のように設定することが妥当であると考える。

本剤はヒトパピローマウイルス（HPV）16型及び18型感染に起因する子宮頸癌（扁平上皮細胞癌、腺癌）及びその前駆病変（子宮頸部上皮内腫瘍（CIN）2及び3）を予防する。

この機構の判断の妥当性については、専門協議での議論も踏まえ、最終的に判断したい。

### (8) 用法・用量について

申請用法・用量は、「本剤は10歳以上の女性に、通常、1回0.5mLを、0、1、6ヶ月後に3回、上腕の三角筋部に筋肉内接種する」であった。

#### 1) 用量の選択について



申請者は、用量の設定理由について、次のように説明している。

HPV-005 試験において、AS04 添加 HPV-16/18 ワクチンの 3 用量 (VLP 12 $\mu$ g、40 $\mu$ g 及び 120 $\mu$ g) と水酸化アルミニウム添加 HPV-16/18 ワクチン 40 $\mu$ g を 3 回接種したときの免疫原性 (AS04 アジュバント群における 7 ヶ月目の HPV-16 及び HPV-18 に対する血清抗体価 (ELISA で測定)) を比較した。その結果、平均抗体価 ( $\log_{10}$ ) は HPV-16 及び HPV-18 とともに AS04 添加ワクチン 120 $\mu$ g 群で最も高く、HPV-16 では 40 $\mu$ g 群が 12 $\mu$ g 群と比較し高かったが、HPV-18 では差が認められなかった。(＜提出された資料の概略＞ (3) HPV-005 試験の項参照)。12 $\mu$ g では他の用量より免疫原性が低かったこと及び 120 $\mu$ g での高い反応性を踏まえ、AS04 アジュバント添加 40 $\mu$ g をそれ以降に実施する臨床試験で採用することとした。

機構は、AS04 添加 40 $\mu$ g (HPV-16 VLP 20 $\mu$ g、HPV-18 VLP 20 $\mu$ g) を用いて実施された HPV-008 試験において本剤の有効性が示されており、当該組成の製剤を用いて本剤の有効性及び安全性に係る国内外臨床試験成績が得られていることを踏まえ、本剤の有効成分の用量として HPV-16 VLP 20 $\mu$ g、HPV-18 VLP 20 $\mu$ g が選択されたことは妥当であったと考える。

## 2) 接種回数を選択について

申請者は、第 I 相試験である HPV-002 試験において、試験 0 日目及び 28 日目の 2 回接種に加えて、112 日目に 3 回目接種を受けた全例で血清免疫応答の増強が認められたことから、以降の試験において、0、1、6 ヶ月の 3 回接種のスケジュールを採用した。なお、当該試験において、有効成分である HPV-16 と HPV-18 間に干渉作用がなかったことも確認された。

機構は、上記 3 回接種スケジュールにより実施された臨床試験において本剤の有効性が示され、安全性及び 3 回接種遵守率の観点からも特に問題がなかったことを踏まえ、本剤の用法・用量として当該内容を設定することは妥当であると考えます。

## 3) 追加接種の要否について

申請者は、追加接種の要否について次のように説明している。

HPV-007 試験 (HPV-001 試験の長期追跡試験) では、HPV-001 試験での 1 回目ワクチン接種後 5.9 年 (最長 6.4 年) の追跡が行われ、一時感染、持続感染 (6 ヶ月定義、12 ヶ月定義)、細胞異常及び組織病変に対する本剤の長期の有効性が示されている。また、HPV-16 及び HPV-18 に対する免疫応答は最長 76 ヶ月間持続しており、約 99%以上の被験者が ELISA により血清抗体陽性を維持し、GMT 値は HPV-16 又は HPV-18 の自然感染により得られた GMT よりも 10 倍以上の高値を維持した。偽ウイルス粒子中和法においても同様の機能的抗体反応が認められ、期間中に抗体価が減少することもなかった。構築された 3 つの異なる数理モデルにこれらのデータを当てはめたところ、本剤接種により得られる抗体価は、3 回接種完了後少なくとも 20 年間は、自然感染で得られる抗体価の値を上回ることが予測された (David *et al.*, *Gynecologic Oncology*. 2009 (in press))。したがって、本剤の 3 回接種完了後 20 年間は、追加接種を行う必要はないと考える。なお、HPV-001/007 試験の追跡調査試験として、ブラジル人を対象に本剤の有効性及び抗体価の持続性を更に 3 年間追跡することを目的とした HPV-023 試験を実施中である。中間データでは、抗体価が 1 回目ワクチン接種後最長 88 ヶ月間持続することが示されている。なお、有効性データは現時

点で得られていない。

機構は、抗体価が長期にわたって持続する可能性は示されており、本剤の子宮頸癌及びその前駆病変に対する予防効果も現時点で観察されているより更に長期間持続することは期待できると考える。しかしながら、自然感染で得られる抗体価を上回ることで予防効果を期待できるかについては現時点においては不明確であり、また、20年間とする抗体価の持続期間も予測値に過ぎないことから、本剤の予防効果の持続に関しては引き続き情報収集を行う必要があると考える。

### (9) 製造販売後について

申請者は、製造販売後に国内で実施する調査及び臨床試験について、以下のとおり説明している。

本剤の製造販売承認後、国内の使用実態下での安全性を確認する目的で、総接種回数として1,500回接種（500例登録）の情報を収集する使用成績調査を計画している。本調査では各回（0、1、及び6ヶ月目）のワクチン接種後30日間の有害事象を主に評価する予定である。国内臨床試験であるHPV-032試験及びHPV-046試験において、既に本剤の総接種回数として1,777回接種時のデータ（HPV-032試験（20～25歳）519例（1479回接種）、HPV-046試験（10～15歳）100例（298回接種））が得られていることを踏まえ、HPV-032試験における接種回数と同規模となるよう例数を設定した。臨床試験における接種回数と今後実施する調査の接種回数を合わせると、日本人女性における本剤の累積接種回数が3,000回以上となることから、0.1%の発現頻度の有害事象を95%以上の確率で検出することが可能となる。さらに、HPV-032試験に参加した被験者を対象とした長期追跡調査試験（HPV-063試験）を実施することとした。HPV-032試験の最終来院（Visit 7、24ヶ月目）を完了した被験者（HPVワクチン及び対照HAVワクチン）を更に2年間（累積4年間）追跡し、有効性、免疫原性及び安全性を評価することを目的としている。

機構は、日本人における長期の有効性及び安全性に係る情報収集を行うことは重要であることから、HPV-032試験の被験者を対象とした長期追跡調査を行うとした申請者の判断は妥当であり、得られた結果を適切に情報提供していくことが重要と考える。また、使用実態下における情報収集の観点から製造販売後調査は必要と考える。申請者は、HPV-032試験における本剤接種者数を含めて製造販売後調査の症例数を設定することを提案しているが、機構は、製造販売後調査において新たに接種される回数を基に症例数を設定することが適切と考える。なお、調査期間等については、申請者の提案する内容に特段の問題はないものとする。

製造販売後調査等の計画については、専門協議での議論を踏まえ、最終的に判断したい。

## III. 機構による承認申請書に添付すべき資料に係る適合性調査結果及び判断

### 1. 適合性書面調査結果に対する機構の判断

薬事法の規定に基づき承認申請書に添付すべき資料に対して書面による調査が実施された。その結果、特に問題は認められなかったことから、提出された承認申請資料に基づき審査を行うことについて支障ないものと機構は判断した。

## 2. GCP 実地調査結果に対する機構の判断

薬事法の規定に基づき承認申請書に添付すべき資料（5.3.5.1.8：HPV-032 試験（中間解析Ⅱ）、5.3.5.2.8：HPV-046 試験）に対して GCP 実地調査が実施された。その結果、一部の治験実施医療機関において割り付けられた薬剤番号と異なる治験薬を一部交付していたこと、及び当該事実が被験者に対し情報提供されていなかったこと、治験実施計画書からの逸脱（検査の一部未実施等）、症例報告書と原資料（有害事象に関する記載）との不整合が一部認められた。治験依頼者においては重篤で予測できない副作用等の情報入手から治験責任医師及び治験実施医療機関の長に速やかに通知されていない例がみられたほか、上記の症例報告書と原資料の不整合については手順書に従った適切なモニタリングが実施されたとは言い難い状況であったが、提出された承認申請資料に基づき審査を行うことについては支障のないものと機構は判断した。

## IV. 総合評価

提出された資料から、本剤の国内におけるヒトパピローマウイルス（HPV）16 型及び 18 型感染に起因する子宮頸癌の予防効果が期待できると判断する。安全性については、回答未提出の事項について重大な問題がないことを確認する必要があるが、現時点で提出された資料及び回答からは特段の問題はないと考える。しかしながら、新規アジュバント成分を含有すること、昆虫細胞をタンパク質発現細胞とする本邦初の遺伝子組換え製剤であることを踏まえ、製造販売後調査等において、安全性に係る情報を適切に収集・評価する必要があると考える。

専門協議での検討を踏まえ特に問題がないと判断できる場合には、今後提出される最終解析の結果が中間解析Ⅱの結果と矛盾しないことを確認した上で、本剤の製造販売を承認して差し支えないと判断する。

## 審査報告 (2)

平成 21 年 8 月 20 日

### I. 申請品目

[販 売 名]	サーバリックス
[一 般 名]	組換え沈降 2 価ヒトパピローマウイルス様粒子ワクチン (イラクサギンウワバ細胞由来)
[申 請 者]	グラクソ・スミスクライン株式会社
[申請年月日]	平成 19 年 9 月 26 日

### II. 審査内容

医薬品医療機器総合機構 (以下、機構) は、審査報告 (1) をもとに専門委員に意見を求めた。専門委員との協議を踏まえた審査の概要及び審査報告 (1) 作成時までに審査が終了していなかった品質関連事項、専門協議後に提出された臨床試験成績に関する事項について以下に記載する。

なお、本専門協議の専門委員は、本申請品目についての専門委員からの申し出等に基づき、平成 20 年 12 月 25 日付 20 達第 8 号「医薬品医療機器総合機構における専門協議等の実施に関する達」の規定により、指名した。

#### 1. 品質について

##### (1) 細胞で認められた細胞質粒子様構造体について

申請者より、細胞質粒子用構造体 (審査報告 (1)、II. 2. 品質に関する資料、< 審査の概略 > (1) 参照) については本剤開発の全期間にわたり検討しているが、現時点では、実施済みの特性解析結果以上の情報を持ち合わせていないこと、今後も調査を継続し、その構造解析に有意義な方法が見つかった際には実施結果を適切に当局に情報提供する旨が回答された。

機構はこれを了承した。

##### (2) MPL 溶液バルクの製造工程について

MPL 溶液バルク製造工程では工程内管理試験 ( ) (審査報告 (1)、II. 2. 品質に関する資料、< 審査の概略 > (5) 参照) が設定されているが、当該工程で行われる MPL の の具体的な操作について申請者より説明された。機構は、当該工程において、温度、圧力、スケール等が管理されていることを確認した。

##### (3) 製剤の規格及び試験方法について

機構は、本剤 (小分け製品) の規格及び試験方法として、注射剤の不溶性微粒子試験、含量均一性試験及び浸透圧試験の設定を検討するよう申請者に求めた。

申請者は、注射剤の不溶性微粒子試験については試験方法のバリデーションを実施した上で、2009 年 12 月末までに規格及び試験方法として設定すること、また、含量均一性試験についても規格及び試験方法に設定する旨を回答した。一方、浸透圧については、小分け製品でモニタリングした 145 ロットの成績を示し、一貫した成績が得られていることか

ら規格及び試験方法には設定せず工程内管理項目とする旨を回答した。

機構は以上を了承した。

#### (4) 本剤の有効期間について

容器・施栓系変更後の製剤について実施された長期保存試験（審査報告（1）、Ⅱ. 2. 品質に関する資料、＜審査の概略＞（7）参照）の12ヶ月間時点までの成績が、専門協議後に追加提出された。

機構は、申請者に、当該試験成績に基づき容器・施栓系変更後の製剤の有効期間を設定した場合、供給上問題がないか確認を求めた。

申請者は、現時点で設定可能な有効期間では、容器・施栓系変更後の製剤を支障なく本邦で供給することは困難と考える旨を回答し、併せて、今後の安定性試験計画を提示した。

機構は、当面、容器・施栓系変更前の製剤が本邦で供給されることが適切と判断し、その有効期間は、36ヶ月保存時の長期保存試験成績が得られていることから、申請時のとおり「製造日より36ヶ月」とすることが妥当であると判断した。

## 2. HPV-032 試験について

平成■年■月■日付で HPV-032 試験の最終総括報告書が提出された。有効性の主要評価項目である HPV-16 又は HPV-18 の子宮頸部への持続感染（6ヶ月定義）について、VE は 100%（95.5%信頼区間：[71.3, 100]）であり、95.5%信頼区間の下限が 0 を上回っており有意差が認められた。持続感染は本剤群には認められず、HAV 群に 15 例認められた。また、中間解析Ⅱの時点で 72 件の妊娠が報告され、うち 14 件が妊娠継続中であったが、全て正常児を出産し、母子ともに問題がなかったことが報告された。その他の結果も含め、機構は、当該報告書に記載された最終解析の有効性及び安全性の結果が、中間解析Ⅱの結果と異なるものではないことを確認した。

## 3. 効能・効果について

本剤の効能・効果を下記とすることが妥当とする機構の判断は、専門委員に支持されたことから、機構は、申請者に対応を求めたところ、申請者はこれを了承した。

[効能・効果] ヒトパピローマウイルス（HPV）16 型及び 18 型感染に起因する子宮頸癌（扁平上皮細胞癌、腺癌）及びその前駆病変（子宮頸部上皮内腫瘍（CIN）2 及び 3）の予防

## 4. 用法・用量について

### 1) 接種対象者について

本剤の接種対象者を 10 歳以上の女性とし、年齢が高まるにつれ既感染者の割合も高くなることから本剤の有用性が年齢層によって異なる可能性がある点を情報提供する必要があるとする機構の判断は、専門委員より支持された。加えて、10 歳未満の女性への接種については、投与経験がなく有効性及び安全性が不明確であるため、推奨すべきでないとする機構の判断についても、専門委員より支持された。

なお、専門委員より、性的活動を開始する前に本剤の接種が行われることが重要である

が、長期の有効性は不明であるため若年女性に接種した際の長期的な有効性を確認することが肝要であるとの意見が出された。長期的な有効性の確認については後述する（7. 製造販売後の検討事項についての項参照）。

## 2) 接種スケジュールについて

専門委員より、2回目接種から3回目接種まで約5ヶ月の間隔があることから、3回接種が確実に行われる方策を検討する必要があるとの意見が出された。機構は、申請者に対し、接種スケジュール遵守のための方策について説明するよう求めた。

申請者は以下のように説明した。被接種者には、本剤接種後の注意事項（定期的な子宮がん検診の勧め等を含む）に加え、接種履歴を記載する記録カードが付加された冊子を配布する予定である。この記録カードには全3回の接種年月日及び接種医療機関名を記録する欄を設け、2回目及び3回目接種をスケジュールどおりに接種する必要性を強調することとする。また、登録した被接種者には、2回目接種と3回目接種の時期を事前に知らせるリマインドメールを送信し、次の受診を促すシステムを構築する予定である。

機構は、上記回答については了承した。なお、機構は、本剤接種にあたっては、接種後の留意点も含め、接種対象者に対する適切な情報提供が極めて重要と考えており、本報告書作成時点で、接種者及び被接種者に配布される情報提供用資材（案）の一部が提出された（情報提供用資材については、6. 被接種者への情報提供についての項参照）。

また、専門協議において、接種途中における妊娠時の対応についても考慮が必要であるとの意見、妊娠中は免疫が抑制されており本剤の有効性が期待できない可能性があることに留意すべきとの意見が出された。

機構は、臨床試験における接種途中での妊娠及びその転帰に関し現時点までに得られている情報を踏まえると、本剤接種後に妊娠が発覚した場合であっても、母児に対し安全性の大きな懸念はなく、安全性の観点からは、その妊娠を中断する必要はないと考える。しかしながら、妊娠中は免疫応答が通常と異なる可能性があり、現時点において、妊娠中に本剤を接種した場合の有効性及び本剤接種後に妊娠が発覚した場合の追加接種の要否については情報が集積されておらず不明であると考え。以上を踏まえ、機構は、添付文書において、妊婦における本剤の有効性及び安全性は確立されていないこと、本剤接種後に妊娠が発覚した場合の追加接種の要否については不明である旨の情報提供は必要と判断した。

## 5. 接種前スクリーニングの要否について

機構は、本剤の接種前に HPV DNA 検査及び抗 HPV 抗体検査を一律に課す必要はないと判断している。この機構の判断は専門委員に支持された。

なお、専門委員より、既に細胞診の異常がみられるなど HPV 感染が強く疑われる症例では接種前の検査が考慮される場合もあり、その際には医師が患者の状態を個別に判断して HPV DNA 検査の要否を検討し、患者に十分な説明が行われたうえでの検査及び接種が行われるべきであるとの意見が出された。

機構は、添付文書案において、既に生じた病変の進行予防効果は期待できないことについて記載されているが、本剤接種に先立ち当該事項が被接種者に適切に説明され理解されることが必要であると考え（被接種者への情報提供については、6. 被接種者への情報提供についての項参照）。

## 6. 被接種者への情報提供について

専門協議において、専門委員より、ワクチン被接種者の発癌（HPV-16、18 以外が原因）が報告されており（*Obstet Gynecol*, 113:550-552, 2009）被接種者への情報提供の必要性が強調されていることが紹介され、被接種者に、本剤の効果は HPV-16 及び-18 に限定的であり、子宮頸癌の罹患を完全に予防しうるものではないこと、現時点では限られた期間の情報しか得られておらず予防効果の持続期間については不明であることを情報提供する必要性が確認された。併せて、本邦の子宮がん検診受診率が米国等の海外と比較して低い水準にあることは従来からの問題であること、本剤接種による子宮頸癌の一次予防と併せて、二次予防である子宮がん検診受診の啓発を行うことが重要であることが確認された。

機構は、以下のように考える。添付文書案において、本剤の他の HPV 型に対する有効性は期待できず子宮頸癌を完全に予防しうるものではないこと、予防効果の持続期間については不明であること、本剤接種後も子宮がん検診が必要であることが記載されている（効能・効果に関連する接種上の注意の項参照）が、本剤接種に先立ち、本剤の有用性に加え、上記を初めとする本剤接種に係る留意すべき点について医師が個々の被接種者に十分な説明を行い、被接種者が説明内容を理解したことを確認した上で本剤を接種すべきである。また、本剤の有用性に関して得られている情報及びがん検診の必要性については、情報提供用資材等により、正確に接種対象者に情報提供される必要がある。以上を踏まえ、機構は、申請者にこれらの情報を提供する方策について説明を求めた。

申請者は、次のように回答した。本剤の接種にあたっては、事前に被接種者又はその保護者に対し、医師から予診票に記載された事項に対する説明を行い、同意書への自筆のサインを求めることとする。この予診票の記載事項に、これら提供すべき情報を記載することとする。また、医師から被接種者又はその保護者に対する説明に用いる資材も作成し、同様の内容を記載する。さらに、被接種者には本剤接種後の注意事項を説明するための冊子を配布する。この他、本剤接種の有無に関わらず定期的な子宮がん検診の受診が必要であることについて、申請者として疾患啓発活動を行うこととしている。

前述のとおり、本報告書作成時点で、接種者及び被接種者に配布される情報提供用資材（案）の一部が提出されたが、機構は、その記載につき更なる検討が必要と考え、現在申請者と調整中である。また、未提出の資材についても、本剤上市までには、その内容を確認することとしている。

## 7. 製造販売後の検討事項について

機構は、HPV-063 試験として実施される HPV-032 試験の長期追跡調査試験（最終来院（24 ヶ月目）を完了した被験者を更に 2 年間追跡）は、本邦における本剤の有効性、免疫原性及び安全性に係る情報を収集する上で有意義であると判断した。また、製造販売後調査の症例数については、既に実施された国内臨床試験における接種回数を考慮せずに設定することが適切であると判断した。以上の機構の判断は、専門委員によって支持されたことから、機構は、製造販売後調査の症例数を再度検討するよう申請者に求めた。

申請者は次のように回答した。製造販売後調査の予定症例数は 1,000 例（3,000 回接種）と設定し、使用実態下での安全性に関する情報収集を目的として実施する。登録期間は 2

年間、観察期間は各回（0、1及び6か月目）のワクチン接種後30日間とする。

なお、本邦における情報収集については、さらに長期にわたり実施されるべきであるとの意見が出されたことを踏まえ、機構は、海外における長期追跡調査及び試験の実施状況について、申請者に説明を求めた。

申請者は、HPV-008試験の長期追跡調査を試験として実施計画中であること、HPV-012試験、HPV-013試験、HPV-014試験及びHPV-007試験については長期追跡調査を臨床試験として実施中であることを説明した。一方、自己免疫障害の発生率を本剤とA型肝炎ワクチンとで比較するとともに妊娠中に本剤を接種した際の安全性を検討する目的で計画されていた長期追跡調査については、興味を示す医師が期待より少なく実現性が低いとの理由で中止されたことを回答した。

機構は、長期の有効性に係る情報収集が重要であると考える一方、実施可能性の観点から、本邦で現在計画されている長期追跡調査試験の試験期間を更に延長することは、現時点では困難と考える。なお、本剤が導入されて以降の、国内における子宮頸癌の一次予防及び二次予防の包括的な評価が、疫学研究等として実施され、結果が還元されることは重要であると考える。

また、専門協議の際、専門委員より、ワクチンのアジュバントについては、自己免疫疾患への関与の可能性等も指摘されており、新規アジュバント成分を含有する本剤は特に自己免疫疾患に関する情報を精査する必要があるとの意見が出された。

機構は、本剤上市後の自己免疫疾患の発生への対策について説明するよう申請者に求めた。

申請者は、次のように回答した。自己免疫疾患の発現及び増悪に関しては海外で実施中の臨床試験で評価を行っている。MPLを含むワクチン全体でのメタアナリシスも実施し評価を行っているが、現時点までで特記すべき安全性上の懸念は認められていない。しかしながら、国内外の製造販売後調査及び臨床試験（実施中の臨床試験の長期継続試験を含む）における安全性情報の収集において自己免疫疾患及び他の慢性疾患に関する情報も引き続き収集する予定である。また、フィンランドで実施する大規模試験（HPV-040試験）において、自己免疫疾患の発現の可能性を含む長期の安全性を評価する予定である。国内では、HPV-063試験による長期の情報収集に加え、上市後に自己免疫疾患が報告された場合には、患者の既往歴や家族歴も含む詳細情報を収集することとする。このように集積された国内外の情報に基づき定期的に自己免疫疾患の発現状況及び発現傾向について検討し、添付文書改訂等の適切な措置の実施の必要性について検討する。

機構は、製造販売後に実施される臨床試験及び調査に係る情報に加え、国内外で得られた本剤の長期的な有効性及び安全性に関する情報は速やかに情報提供されるべきであると考える。

### III. 総合評価

以上の審査を踏まえ、機構は、効能・効果、用法・用量を下記のように整備した上で、本剤の製造販売を承認して差し支えないと判断する。本剤の再審査期間は8年、原体及び製剤は劇薬に該当し、生物由来製品に該当すると判断する。



[効能・効果] ヒトパピローマウイルス（HPV）16 型及び 18 型感染に起因する子宮頸癌（扁平上皮細胞癌、腺癌）及びその前駆病変（子宮頸部上皮内腫瘍（CIN）2 及び 3）の予防

[用法・用量] 10 歳以上の女性に、通常、1 回 0.5mL を 0、1、6 ヶ月後に 3 回、上腕の三角筋部に筋肉内接種する。

#### IV. 審査報告 (1) の訂正事項

審査報告 (1) を以下のとおり訂正する。なお、これらの変更により審査結果に変更は生じない。

頁	行	訂正前	訂正後
3	9	HPV-16 L1 VLP <u>抗原</u>	HPV-16 L1 VLP
3	10	HPV-18 L1 VLP <u>抗原</u>	HPV-18 L1 VLP
4	3	<u>パポバウイルス科</u>	<u>パピローマウイルス科</u>
6	8	<u>更新の予定はなく、また、保存期間中の品質管理試験の実施も予定されていない。</u>	また、保存期間中の品質管理試験の実施は予定されていない。
8	16	MS については少なくとも ■ 年間使用できる量が確保されていると <u>され、更新予定はない。</u>	MS については少なくとも ■ 年間使用できる量が確保されている。
24	8	臨床試験で用いた製剤 4 ロットの免疫原性の <u>同等性</u>	臨床試験で用いた製剤 4 ロットの免疫原性
24	19	<u>ロット間の同等性については、AS04 添加群</u>	AS04 添加群
43 44	表 注	N:解析対象症例数(接種時(HPV-001試験、0ヶ月時点)で	N:解析対象症例数(接種時(HPV-001試験、0ヶ月及び6ヶ月時点)で
49	1	(希釈した血清サンプルと HPV 感染細胞を共培養し、その感染阻害を測定。感染量は HPV の mRNA 量を RT-PCR にて測定)	(希釈した血清サンプルと HPV を反応させた後、細胞に感染させ、血清の感染阻害能を測定する。感染量は、細胞内の HPV の mRNA 量を RT-PCR にて測定する。)
61	29	過去に感染歴があり現在は HPV DNA 陰性の女性又は現在 HPV 関連病変を有する女性の約 20~50%では、	「過去に感染歴があり現在は HPV DNA 陰性の女性又は現在 HPV 関連病変を有する女性」の約 20~50%では、