サノフィ株式会社

SP0047

CTD 第二部 ー 非臨床概要

2.4 非臨床試験の概括評価

Total number of pages: 15

目　　次

2.4 非臨床試験の概括評価 1

目　　次 2

表　目　次 3

略号と用語の定義 4

1　　非臨床試験計画概略 5

2　　薬理試験 7

3　　薬物動態試験 9

4　　毒性試験 10

4.1　　単回投与毒性試験 10

4.2　　反復投与毒性試験 10

4.3　　遺伝毒性試験 11

4.4　　がん原性試験 11

4.5　　生殖発生毒性試験 11

4.5.1　　生殖発生毒性試験をサポートするための免疫原性試験 11

4.5.2　　ウサギを用いた生殖発生毒性試験 12

4.6　　局所刺激性試験 12

4.7　　その他の毒性試験 13

5　　総括及び結論 14

6　　参考文献一覧 15

表　目　次

表 1 - MenACYW 結合型ワクチン製剤の概要 5
表 2 - MenACYW 結合型ワクチンの非臨床試験プログラムの概要 6

略号と用語の定義

[redacted]	[redacted]
$AlPO_4$	リン酸アルミニウム（Aluminum Phosphate）
CBER	生物製剤評価研究センター（Center for Biologics Evaluation and Research）
[redacted]	[redacted]
ELISA	酵素結合免疫吸着測定法（Enzyme-Linked Immunosorbent Assay）
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（Good Laboratory Practices）
GMP	医薬品及び医薬部外品の製造管理及び品質管理の基準（Good Manufacturing Practices）
IgG	免疫グロブリン G（Immunoglobulin G）
IM	筋肉内（Intramuscular）
MenACYW	結合型ワクチン 髄膜炎菌多糖体（血清群 A、C、Y 及び W）破傷風トキソイド結合型ワクチン（Meningococcal Polysaccharide (Serogroups A, C, Y and W) Tetanus Toxoid Conjugate Vaccine）
µg	マイクログラム（Microgram）
mg	ミリグラム（Milligram）
mL	ミリリットル（Milliliter）
mM	ミリモル（Millimole）
NZW	ニュージーランドホワイト（New Zealand White）
PS	多糖体（Polysaccharide）
U.S. FDA	米国食品医薬品局（United States Food and Drug Administration）
WHO	世界保健機関（World Health Organization）

1　非臨床試験計画概略

髄膜炎菌多糖体（血清群 A、C、Y 及び W）破傷風トキソイド結合型ワクチン（SP0047、以下、「MenACYW 結合型ワクチン」）は、すべての年齢グループ（乳児、幼児、小児、思春期未成年、成人及び高齢者）を対象として、本剤に含まれる血清群の細菌に起因する侵襲性髄膜炎菌感染症を広範に予防することを目的としている。MenACYW 結合型ワクチンの有効成分は髄膜炎菌から精製した 4 種類の異なる髄膜炎菌莢膜血清群特異的多糖体（PS）抗原であり、いずれも培養破傷風菌から調製された破傷風トキソイドタンパク質と共有結合している。MenACYW 結合型ワクチンの主要な成分はすべて、国内外で既に承認されているワクチンで広範に使用されており、安全性に問題ないことが示されている。MenACYW 結合型ワクチンの髄膜炎菌 PS は、米国等で承認された[redacted]及び[redacted]ワクチンに含まれるものと同じであり、本剤のキャリアタンパクとして使用される破傷風トキソイドタンパク質は、[redacted]及び[redacted]、並びに[redacted]における[redacted]の破傷風抗原として使用されているものと同じである。

MenACYW 結合型ワクチンは、単回投与用バイアルに充填（0.5 mL）して提供され、筋肉内（IM）注射により接種される。MenACYW 結合型ワクチンは酢酸ナトリウム緩衝生理食塩液により調製され、その 0.5 mL 中には、合計でおよそ 55 µg の破傷風トキソイドタンパク質（破傷風菌から精製）に共有結合させた（結合体）血清群 A、C、W 及び Y 髄膜炎菌莢膜 PS がそれぞれ 10 µg 含まれる。本剤の概要を表 1 に示す。

表 1 - MenACYW 結合型ワクチン製剤の概要

	分量[a]（0.5 mL用量）
成分	
髄膜炎菌多糖体 - 破傷風トキソイド結合体（血清群A）	10 µg[b]
髄膜炎菌多糖体 - 破傷風トキソイド結合体（血清群C）	10 µg[b]
髄膜炎菌多糖体 - 破傷風トキソイド結合体（血清群W）	10 µg[b]
髄膜炎菌多糖体 - 破傷風トキソイド結合体（血清群Y）	10 µg[b]
塩化ナトリウム	3.35 mg
酢酸ナトリウム水和物	1.23 mg
注射用水	**適量[c]**

a **1製剤単位は1バイアル**

b **多糖体としての量。破傷風トキソイドタンパク質量は、全血清群の結合体の合計でおよそ55 µgであるが、用いる原薬の多糖体／タンパク質比によって変動する。**

c **全量で**0.5 mL

MenACYW 結合型ワクチンの開発及び製造販売承認申請のため、非臨床薬理試験及び毒性試験プログラムを計画した。その目的は、髄膜炎菌 PS 抗原（血清群 A、C、W 及び Y）に対する本剤の特異的免疫応答誘導能を確認するとともに、全身性及び局所性の変化を含む本剤の毒性プロファイル並びに妊娠可能な女性及びその出生児への潜在的リスクを把握することであった。非臨床試験プログラムの概要を表 2 に示す。

表 2 - MenACYW 結合型ワクチンの非臨床試験プログラムの概要

試験の種類	試験番号	使用物質
マウスを用いた免疫原性試験	RED_00005602	[redacted] （第I相試験用デモロット）
	RED_00022956	[redacted] （第I相試験用デモロット）
	RED_00038955	[redacted] （第II相試験用GMP適用ロット）
ラットを用いた反復投与毒性試験	AES/0126	[redacted] （第I相試験用GMP適用デモロット）
ウサギを用いた生殖発生毒性試験	RED_00091026	[redacted] （第III相試験用GMP適用ロット）
	SP00047 DV1701	[redacted] （第III相試験用GMP適用ロット）

2　薬理試験

MenACYW 結合型ワクチンの PS 特異的抗体反応誘導能を、マウスを用いて評価した。実験用マウスでは、ヒトの乳児と同様、遊離型 PS に対してはわずかな抗体反応を示すのみであるが、担体タンパク質に結合させた PS に対しては強力な抗体反応を示す。これらの動物は、同じ結合体製剤を用いたその後の投与に対して、同様に強力な特異的抗体の二次応答を示す。

MenACYW 結合型ワクチンの免疫原性を評価するためのマウスを用いた数試験を、Sanofi Pasteur で実施した。破傷風トキソイド結合 4 価髄膜炎菌 PS（血清群 A、C、Y 及び W）のアジュバント非添加製剤の免疫原性試験に使用する適切なマウス系統及びワクチン用量を特定するための試験を実施した（[RED_00005602] 試験報告書）。

本試験で使用したマウスの系統は、それぞれが異なるハプロタイプ（BALB/c［H-2K^{d}］、C3H/HeN［H-2K^{k}］、C57BL/6［H-2K^{b}］）を有することから選択した。これらの系統における抗体反応を、ICR（非近交系）マウスでの抗体反応と比較した。ICR マウスは、成人及び思春期未成年への使用を意図した髄膜炎菌 PS 結合型ワクチン製剤の免疫原性評価において歴史的に使用されている。本試験の結果から、ICR マウスを用いた髄膜炎菌 PS（血清群 A、C、Y 及び W）の 0.25 µg 用量で 2 回皮下投与（14 日間隔）しての免疫は、4 価髄膜炎菌 PS（血清群 A、C、Y 及び W）破傷風トキソイド結合体製剤の免疫原性評価に適切な実験条件であることが示唆された。

PS 特異的殺菌性抗体反応に関する適切な免疫及び採血スケジュール並びに免疫用量を選択するための試験を実施した（[RED_00022956] 試験報告書）。各 PS を 0.25 µg PS/回の用量で 2 回又は 3 回免疫したマウスと、減量レジメン（各血清群について 0.5、0.25 及び 0.13 µg PS/回の用量）で 2 回又は 3 回免疫したマウス共に、PS 特異的総 IgG 及び殺菌性抗体価が検出された。最終接種の 2 週間後に採取した血清検体における PS 特異的総 IgG 及び殺菌性抗体価は、最終接種の 3 週間後と同程度であった。3 回投与スケジュールでは、短期間で抗体反応が誘導された 2 回投与スケジュールを上回る優位点は得られなかった。このことから、ICR マウスにおける PS 特異的総 IgG 及び PS 特異的殺菌性抗体を測定するためには、0.25 µg PS/回の用量での 2 回免疫又は 3 回免疫スケジュール、並びに最終接種 2 週間後又は 3 週間後の血清検体採取のいずれも適切であると判断された。

MenACYW 結合型ワクチンの GMP 適用ロットの免疫惹起能を、マウスを用いた特異的総 IgG 及び殺菌性抗体価の測定により評価した（[RED_00038955] 試験報告書）。MenACYW 結合型ワクチンにより、高レベルの血清群（A、C、W 及び Y）特異的総 IgG 及び殺菌性抗体反応が誘導された。これ

らの結果から、MenACYW 結合型ワクチンには免疫原性があり、特異的殺菌性抗体を誘導することが示された。

3　薬物動態試験

薬物動態評価はワクチンについては必要とされていないため実施しなかった。また、これは世界保健機関（WHO）の「ワクチンの非臨床評価に関するガイドライン」に従ったものである(1)。

4　毒性試験

非臨床安全性評価の一環として、MenACYW 結合型ワクチンの全身毒性及び局所毒性を評価するための反復投与毒性試験を、ラットを用いて実施した。また妊娠可能女性への MenACYW 結合型ワクチンの接種をサポートするため、ウサギを用いた生殖発生毒性試験を実施した。

反復投与毒性試験で用いたラットはワクチンの毒性評価において確立されたモデルであるため選択した。また、反復投与毒性試験においてラットに MenACYW 結合型ワクチンを IM 投与すると髄膜炎菌血清群 A、C、W 及び Y の各 PS に対する免疫応答が惹起されることも確認された。生殖発生毒性試験には、免疫原性データに基づき、またワクチンを用いたこの種の試験で選択される動物モデルであることから、ウサギを選択した。

毒性試験は「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）」を適用して実施したが、例外としてラットを用いた反復投与毒性試験の免疫原性測定は、被験ワクチンに対する免疫応答の評価において最も適切な専門性を有すると考えられる GLP 非適用の試験施設で実施した。生殖発生毒性試験をサポートするための免疫原性試験は、GLP 適用の試験施設で実施した。

非臨床安全性試験で使用した製剤は、現行の「医薬品及び医薬部外品の製造管理及び品質管理の基準（GMP）」に従って製造された。

4.1　単回投与毒性試験

単回投与時の安全性評価は反復投与毒性試験で実施したため、単回投与毒性試験は必要ないと考えられた。

4.2　反復投与毒性試験

ヒトにおける第 I 相臨床試験 MET28 を開始する前に、MenACYW 結合型ワクチンの全身毒性及び局所毒性を評価するため、ラットを用いた反復投与毒性試験（[AES/0126] 試験）を実施した。4 群の CD ラット（1 群雌雄各 15 匹）に、対照（リン酸緩衝生理食塩液）、MenACYW 結合型ワクチンの第 I 相試験用ロットを 2 µg PS/血清群（リン酸アルミニウム［$AlPO_4$］アジュバント添加又は非添加）、又は 10 µg PS/血清群（$AlPO_4$ アジュバント非添加）の用量で、3 週間間隔で 4 回（すなわち 1、22、43 及び 64 日目）、0.5 mL 投与量で IM 投与した。被験物質は臨床 MET28 試験で使用したのと類似のものであった。アジュバント非添加の 10 µg PS/血清群の用量は、MenACYW 結合型ワクチンのヒト 1 回投与量に相当する。現在の臨床使用ワクチンはアジュバント非添加 10 µg PS/血清群であるため、

それとは異なるアジュバント添加及び非添加の 2 µg PS/血清群の結果は、いずれも本項には記載しない。

1 又は 14 日間の観察期間により投与関連の変化の有無を評価した。評価項目は、一般状態及び注射部位の局所反応の観察、摂餌量及び体重の測定、眼科学的検査並びに 1 回及び／又は反復投与後の臨床検査評価項目分析の評価とした。最終投与翌日（65 日目）に 1 群雌雄各 10 匹を剖検し、残りの 1 群雌雄各 5 匹を最終投与 14 日後（79 日目）に剖検した。器官重量を測定するとともに、組織を採取して保存し、病理組織学的検査用の標本を作製した。被験物質への曝露量を、酵素結合免疫吸着測定法（ELISA）により評価した。

被験物質投与に関連した一般状態の毒性変化はみられず、体重、摂餌量、眼科学的検査及び器官重量には被験物質関連の変化は認められなかった。アジュバント非添加の 10 µg PS/血清群を投与されたラットにおいて、被験物質関連の変化はみられなかった。MenACYW 結合型ワクチンにより免疫されたラットでは、特異的な髄膜炎菌 PS（血清群 A、C、W 及び Y）抗体反応が認められた。

以上、MenACYW 結合型ワクチンのラットにおける忍容性は良好であった。

4.3 遺伝毒性試験

MenACYW 結合型ワクチンは生物製剤であり、他の市販のワクチンと比較して遺伝毒性試験が必要と考えられる新たな成分はないことから、遺伝毒性試験は実施しなかった。また、これは WHO の「ワクチンの非臨床評価に関するガイドライン」に沿ったものである(1)。

4.4 がん原性試験

ワクチンには適用されない。

4.5 生殖発生毒性試験

4.5.1 生殖発生毒性試験をサポートするための免疫原性試験

免疫原性試験（[RED_00091026] 試験）において、MenACYW 結合型ワクチンの 2 回 IM 投与により誘導される抗体反応を検討することで、ウサギが本ワクチンの生殖発生毒性試験に適切なモデルであるか否かを評価した。

4 匹の非妊娠ニュージーランドホワイト（NZW）雌ウサギに、第 III 相試験用ロットのヒト用量 1 回分（10 µg PS/血清群）を、3 週間間隔で 2 回、0.5 mL の投与量で IM 投与した。それぞれの投与の前及び 2 回目投与後に 2 回、血液検体を採取し、特異的抗体を ELISA により測定した。

MenACYW 結合型ワクチンの忍容性は良好で、4 種類の A、C、W 及び Y すべての血清群に対する特異的抗体が誘導された。本試験において、ウサギは MenACYW 結合型ワクチンの生殖発生毒性試験のための適切な動物モデルであることが確認された。

4.5.2 ウサギを用いた生殖発生毒性試験

本生殖発生毒性試験（[SP00047 DV1701] 試験）の目的は、MenACYW 結合型ワクチンを雌ウサギに交配前、交配期間中及び着床を通して胎児の硬口蓋閉鎖まで投与したときの雌ウサギ並びに出生前及び出生後の次世代児の発生への影響（催奇形性評価を含む）の有無を評価することであった。本試験は、米国食品医薬品局（FDA）生物製剤評価研究センター（CBER）の「感染性疾患を適応症とする予防用及び治療用ワクチンの発生毒性試験についての考察に関する企業向けガイダンス（2006 年）」に従って実施した(2)。

1 群 55 匹の NZW 雌ウサギに、対照（0.9%塩化ナトリウム）又は第 III 相試験用ロットのヒト用量 1 回分（10 µg PS/血清群/回）を、0.5 mL の投与量で 5 回（交配開始前 2 回及び妊娠期間中 3 回）IM 投与した。1 群雌 25 匹からなる第 1 のサブグループは妊娠期間終了時に帝王切開し、剖検、卵巣及び子宮のパラメータの評価並びに胎児検査（体重、性別、肉眼的外表検査及び内臓検査、骨格検査）を実施した。1 群雌 30 匹からなる第 2 のサブグループは自然分娩させ、分娩観察、母動物観察、出生児の発達指標、剖検及び分娩後期間中の同腹児パラメータの評価を実施した。被験物質への曝露量並びに胎児及び出生児への抗体の移行を ELISA により評価した。

MenACYW 結合型ワクチンの忍容性は良好で、血清群 C 莢膜 PS に対する特異的抗体が母動物の血清中に検出され、胎児及び出生児への移行が認められた。交配、受胎能、器官重量、卵巣及び子宮のパラメータ並びに自然分娩パラメータには、投与関連の変化は認められなかった。投与に関連した胎児の外表、内臓及び骨格異常（帝王切開サブグループ）はみられず、出生児の生存、成長及び発達（自然分娩サブグループ）には投与関連の変化は認められなかった。

なお、反復投与毒性試験において生殖器官の病理組織学的検査を行ったところ、対照と比較して本剤により誘導された変化はみられなかった。

4.6 局所刺激性試験

局所刺激性については反復投与毒性試験及び生殖発生毒性試験において評価した（4.2 項及び 4.5 項）。

4.7　その他の毒性試験

MenACYW 結合型ワクチンについて、その他の毒性試験は実施しなかった。

MenACYW 結合型ワクチンの非臨床安全性試験及び臨床試験において、心血管系、呼吸系及び中枢神経系への生理学的影響を示唆する全身性の変化はみられなかったことから、独立した安全性薬理試験は実施しなかった。

ラットを用いた反復投与毒性試験の実施後に、本剤の製造工程を変更した。主要な変更として、PS [redacted] 抗原の[redacted]として使用する[redacted]と[redacted]を用いる工程とした。[redacted] は承認済み製剤メナクトラ®の製造工程で使用され、非臨床試験及び臨床試験の両方で評価されている。本剤における工程残留物としての 不純物E* の濃度実測値は最大でも [redacted] µg/回（製剤中で [redacted] µg/mL 以下）であり、毒性学的懸念はないと考えられる。ほかには製剤における重要な変更はなかったことから、第 I 相試験用ロットを用いたラット反復投与毒性試験で得られたデータは、MenACYW 結合型ワクチンの製造販売申請を支持するものと考えられる。

＊新薬承認情報提供時に置換

5　総括及び結論

ICR マウスを用いて実施した試験により、GMP 適用ロットの MenACYW 結合型ワクチンは高レベルの血清群（A、C、W 及び Y）特異的抗髄膜炎菌 IgG 及び殺菌性抗体を誘導することが示された。

MenACYW 結合型ワクチンの非臨床安全性を評価するため、ラットを用いた反復投与毒性試験及びウサギを用いた生殖発生毒性試験を、いずれも IM 経路により実施した。MenACYW 結合型ワクチンの非臨床安全性試験において、全身性の毒性変化は認められなかった。生殖発生毒性試験では、母動物毒性がみられなかったことに加えて、受胎能、胚・胎児発生（催奇形性評価を含む）及び早期生後発達に対する有害作用は示されなかった。

第 I 相と第 [redacted] 相の間での製剤の変更は限定的であり、安全性上の懸念はないと考えられた。したがって、第 I 相試験用ロットを用いた試験で得られた非臨床安全性データによりその後の臨床試験の実施が支持され、さらに MenACYW 結合型ワクチンの製造販売承認申請を支持するものと考えられる。更なる反復投与毒性試験は実施しなかった。

以上、MenACYW 結合型ワクチンは、免疫原性試験及び非臨床安全性試験で確認されたように、免疫原性を有し、かつ安全性に問題はなく、本剤の反復投与による忍容性は良好であることが示された。これらの結果は臨床試験で観察された結果に一致する（Module 2.5 臨床に関する概括評価）。

6　参考文献一覧

1. World Health Organization. Guidelines on Nonclinical Evaluation of Vaccines. WHO Technical Report Series Report No. 927: Annex 1, 2005. p. 31-63.
2. Food and Drug Administration. Center for Biologics Evaluation and Research. Guidance for Industry: Considerations for Developmental Toxicity Studies for Preventive and Therapeutic Vaccines for Infectious Disease Indications. February 2006.