サノフィ株式会社

SP0047

CTD 第二部 ー 非臨床概要

2.6.6 毒性試験の概要文

Total number of pages: 19

目　　次

2.6.6 毒性試験の概要文 1

目　　次 2

表　目　次 3

図　目　次 3

略号と用語の定義 4

1　　まとめ 5

2　　単回投与毒性試験 7

3　　反復投与毒性試験 8

3.1　CD ラットを用いた 9 週間 4 回反復筋肉内投与毒性試験及び 2 週間回復性試験（AES/0126 試験） 8

4　　遺伝毒性試験 10

5　　がん原性試験 11

6　　生殖発生毒性試験 12

6.1　ウサギにおける髄膜炎菌多糖体結合体の第 III 相試験用バッチの免疫原性－生殖発生毒性試験の予備検討（RED_00091026 試験） 12

6.2　ウサギを用いた反復筋肉内投与による生殖発生毒性試験（SP00047 DV1701 試験） 12

7　　局所刺激性試験 15

8　　その他の毒性試験 16

9　　考察及び結論 17

10 図表 18

参 考 文 献 19

表 目 次

表 1 - MenACYW 結合型ワクチンの毒性試験プログラム 5

表 2 - 反復投与毒性試験 – 試験デザイン 8

表 3 - ウサギを用いた生殖発生毒性試験－試験デザイン 13

図 目 次

図 1 - ウサギを用いた生殖発生毒性試験－試験スケジュール 13

略号と用語の定義

[redacted]	[redacted]
$AlPO_4$	リン酸アルミニウム（aluminum phosphate）
DART	生殖発生毒性（developmental and reproductive toxicity）
DG	妊娠日数（day of gestation）
DL	分娩後日数（day of lactation）
[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）
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）
mL	ミリリットル（milliliter）
NZW	ニュージーランドホワイト（New Zealand White）
PS	多糖体（polysaccharide）
WHO	世界保健機関（World Health Organization）

1　まとめ

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」）の非臨床安全性試験プログラムにおいて、ワクチンの反復筋肉内（IM）投与による全身毒性及び局所毒性並びに生殖発生毒性を検討した。

非臨床安全性試験の詳細を表 1、並びに 3 項及び 6 項に示す。

表 1 - MenACYW 結合型ワクチンの毒性試験プログラム

試験の種類及び期間	投与経路	動物種	被験物質
反復投与毒性試験（AES/0126試験） 4回投与：1、22、43及び64日目 観察期間：1又は14日間 GLP適用	筋肉内	Crl:CD®(SD)IGS BRラット	- 2 µg PS/血清群/回（第I相試験用ロット[redacted]） - 10 µg PS/血清群/回（第I相試験用ロット[redacted]） - リン酸アルミニウム添加2 µg PS/血清群/回（第I相試験用ロッ[redacted]）
生殖発生毒性試験の予備検討のための免疫原性試験（RED_00091026試験） 0及び21日目の計2回投与 観察期間：35日目まで 非GLP適用	筋肉内	ニュージーランドホワイトウサギ	- 10 µg PS/血清群/回（第III相試験用ロット[redacted]）
生殖発生毒性試験（SP0047 DV1701試験） 交配前30、10日及び妊娠6、12、27日の計5回投与 観察期間：交尾確認後29日又は分娩後21日まで GLP適用	筋肉内	ニュージーランドホワイトウサギ	- 10 µg PS/血清群/回（第III相試験用ロット[redacted]）

略号　PS：多糖体

2 つの毒性試験を現行の「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）」に従って実施した。生殖発生毒性試験のサポートを目的とした免疫原性試験を、GLP 適用の試験施設で実施し

た。反復投与毒性試験の免疫原性評価は、最も適切な科学的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。これら 3 試験で使用した被験物質は、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）」に従って製造した。

非臨床安全性試験方針の根拠についての更なる情報は、Module 2.4 非臨床試験の概括評価に記載した。毒性試験の結果は、Module 2.6.7 毒性試験の概要表に表形式で示した。

2　単回投与毒性試験

単回投与による非臨床安全性は、反復投与毒性試験の一部として評価した（3 項）。

3　反復投与毒性試験

3.1　CD ラットを用いた 9 週間 4 回反復筋肉内投与毒性試験及び 2 週間回復性試験（AES/0126 試験）

当該試験の報告書は Module [4.2.3.2-1] に収載し、要約を本項及び Module 2.6.7 毒性試験の概要表に記載する。

このラットを用いた反復投与毒性試験（AES/0126 試験）の目的は、MenACYW 結合型ワクチン（試験報告書では以前の名称である Tetra MenT を使用）の全身毒性及び局所毒性を評価することであった。

ラットはワクチンの毒性評価についての確立されたモデルであるため選択した。

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 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）を、3 週間間隔（すなわち 1、22、43 及び 64 日目）で 4 回、0.5 mL 投与量で IM 投与した（表 2）。被験物質は臨床の 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 回用量に相当する。

表 2 - 反復投与毒性試験 – 試験デザイン

群	用量（µg PS/血清群/回）	投与量（mL/匹）	動物数	
			雄	雌
1	0	0.5	15	15
2	2	0.5	15	15
3	10	0.5	15	15
4	2（$AlPO_4$ 添加）	0.5	15	15

1 又は 14 日間の観察期間により、投与関連変化の有無を検討した。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臨床検査パラメータの評価とした。観察期間終了時に動物を剖検し、器官の病理組織学的検査用の標本を作製した。4 種類の髄膜炎菌 PS（血清群 A、C、W 及び Y）に対する免疫原性についても、酵素結合免疫吸着測定法（ELISA）により評価した。

アジュバント非添加 2 及び 10 µg PS/血清群を投与したラットにおいて、投与関連変化は認められなかった。投与関連変化は、アジュバント添加 2 µg PS/血清群を投与したラットの注射部位にみられ

たごく軽度の局所反応のみであり、これに関連して注射部位の病理組織学的検査で炎症性変化が観察され、好中球数及び単球数のごく軽度の増加がみられた。注射部位の炎症性反応は、14 日間の観察期間終了時に部分的な回復を示した。これらの投与関連の所見は、アルミニウムアジュバント添加ワクチン製剤に対して予想される一般的な炎症性反応である。

MenACYW 結合型ワクチンの投与によりラットで誘導された髄膜炎菌 PS（血清群 A、C、W 及び Y）特異的な抗体反応は、アジュバント添加群の方がアジュバント非添加群と比較して約 10～100 倍高かった。

以上、MenACYW 結合型ワクチンを 10 µg PS/血清群/回の用量でラットに投与したときの忍容性は良好であった。被験物質投与に関連した変化は、$AlPO_4$ アジュバント添加 2 µg PS/血清群（現在の臨床使用 SP0047 処方ではない）を投与したラットにおける局所炎症性反応のみであった。

4　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)。

5　がん原性試験

MenACYW 結合型ワクチンには遺伝毒性がないと考えられ、したがってがん原性もないと考えられることから、がん原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」に従ったものである(1)。

6 生殖発生毒性試験

6.1 ウサギにおける髄膜炎菌多糖体結合体の第 III 相試験用バッチの免疫原性－生殖発生毒性試験の予備検討（RED_00091026 試験）

当該試験の報告書は Module [4.2.3.5.3-1] 生殖発生毒性試験に収載し、本項及び Module 2.6.7 毒性試験の概要表に要約する。

この試験では、本剤の 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 MenACYW 結合型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、MenACYW 結合型ワクチンのヒト用量 1 回分（10 µg PS/血清群）を、3 週間の間隔で 2 回（すなわち 0 及び 21 日目）、0.5 mL 投与量で IM 投与した。

試験中、ウサギの途中死亡の有無、一般状態の毒性変化及び体重変化を観察した。0、21、30 及び 37 日目に血液検体を採取し、特異的抗体を ELISA により測定した。

投与関連の途中死亡、一般状態の毒性変化及び投与関連の体重変化は認められなかった。

MenACYW 結合型ワクチンの投与後、4 種類の血清型 A、C、W 及び Y すべて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。

6.2 ウサギを用いた反復筋肉内投与による生殖発生毒性試験（SP00047 DV1701 試験）

当該試験の報告書は Module [4.2.3.5.3-2] 生殖発生毒性試験に収載し、本項及び Module 2.6.7 毒性試験の概要表に要約する。

この試験の目的は、雌の受胎能、胚・胎児発生（催奇形性の評価を含む）及び早期生後発達に対する MenACYW 結合型ワクチンの影響の有無を、ウサギを用いて評価することであった。

ウサギを選択した理由として、ウサギはワクチンの生殖発生毒性評価についての確立されたモデルであること、またこのワクチンをウサギに IM 投与すると、血清群 A、C、W 及び Y 髄膜炎菌 PS に対する免疫応答が惹起されることが挙げられる（6.1 項）。

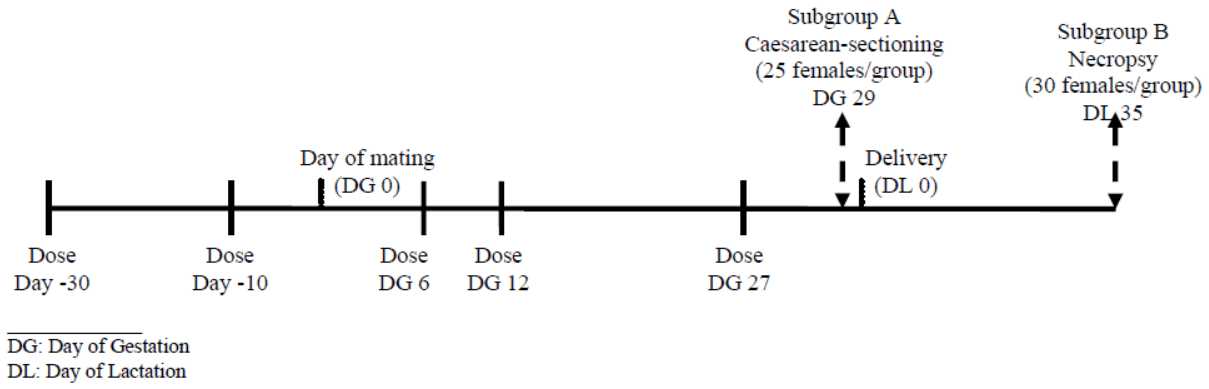
1 群 55 匹からなる 2 群の NZW 雌ウサギに、対照（0.9%塩化ナトリウム）又は第 III 相試験用ロットのヒト用量 1 回分（10 µg PS/血清群）を、交配開始の 30 及び 10 日前（それぞれ -30 及び -10 日目）並びに推定妊娠 6、12 及び 27 日（すなわち交尾確認後 6、12 及び 27 日）に、0.5 mL 投与量で 5 回 IM 投与した（表 3）。

表 3 - ウサギを用いた生殖発生毒性試験－試験デザイン

投与群	雌動物数		投与経路	投与量（mL）	用量（μg PS/血清群/回）
	帝王切開サブグループ	自然分娩サブグループ			
生理食塩液対照	25	30	筋肉内	0.5	0
SP0047	25	30	筋肉内	0.5	10

1 群当たり 25 匹の雌を帝王切開サブグループ（サブグループ A）に、1 群当たり 30 匹の雌を自然分娩サブグループ（サブグループ B）に、それぞれ割り付けた（図 1）。

図 1 - ウサギを用いた生殖発生毒性試験－試験スケジュール



試験中の雌ウサギの評価項目は、途中死亡の有無、一般状態の毒性変化、体重変化、摂餌量及び交配成績とした。

帝王切開サブグループの雌については妊娠期間終了時（交尾確認後 29 日）に帝王切開を実施し、剖検、卵巣及び子宮のパラメータ並びに胎児検査（体重、性別、肉眼的な外表、内臓及び骨格検査）の評価を実施した。

自然分娩サブグループの雌については自然分娩させ、分娩観察、母動物の観察、出生児の発達指標、剖検及び分娩後 35 日の同腹児パラメータの評価を実施した。

免疫原性評価のため、雌ウサギ（1 群 10 匹）、胎児及び出生児から血液検体を採取した。

投与関連の途中死亡はなく、注射部位の反応を含む一般状態の毒性変化は認められなかった。交配前期間、妊娠期間又は分娩後期間中の体重、体重増加量並びに摂餌量には、本剤の影響はみられな

かった。妊娠 29 日（帝王切開サブグループ）及び分娩後 35 日（自然分娩サブグループ）の剖検において肉眼病変は認められなかった。

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、内臓及び骨格の異常（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）には投与関連変化は認められなかった。

血清群 C 莢膜 PS に対する特異的抗体が投与群の雌全例で血清中に検出され、胎児及び出生児への移行が認められた。

7　局所刺激性試験

局所刺激性はラットを用いた反復投与毒性試験の一部として、またウサギを用いた生殖発生毒性試験の一部として評価した（詳細は 3 項及び 6 項）。

8　その他の毒性試験

血清群[redacted]の PS 抗原の免疫原性を改善するために、第[redacted]相臨床試験後にワクチン原薬（血清群[redacted] PS 原薬）の製造工程を変更し、ワクチンにおける古典的な[redacted]である[redacted]と[redacted]を用いる工程とした。[redacted]は既承認ワクチンのメナクトラ®にも用いられる成分であることから、非臨床試験及び臨床試験のいずれにおいても評価済みである。本剤における工程残留物としての 不純物E* の濃度は最大でも[redacted]µg/回（製剤中で[redacted]µg/mL 以下）であり、これまでのデータから、毒性学的懸念はないと考えられる。

第 I 相、第 II 相及び III 相試験用製剤の間で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は、第 II 相及び III 相臨床試験の実施、並びに製造販売承認申請を支持するものと考えられ、MenACYW 結合型ワクチンについて更なる毒性試験は実施しなかった。

＊新薬承認情報提供時に置換

9　考察及び結論

MenACYW 結合型ワクチンの非臨床安全性評価には、反復投与毒性試験及び生殖発生毒性試験で得られたデータが含まれる。

反復投与毒性試験及び生殖発生毒性試験において、全身性の毒性変化は認められなかった。MenACYW 結合型ワクチンに関連した変化は、反復投与毒性試験において $AlPO_4$ をアジュバントとして添加したときに病理組織学的検査で観察された注射部位筋肉の軽微かつ一過性の局所炎症のみであった。安全性薬理の評価として、心血管系及び呼吸系の機能並びに体温への影響はみられなかった。ウサギを用いた生殖発生毒性試験において、交尾能、受胎能、胚・胎児発生及び早期生後発達への有害作用は示されなかった。

非臨床安全性試験の結果から、MenACYW 結合型ワクチンのヒト用量 1 回分をラット及びウサギに IM 投与したときの忍容性は良好であることが示された。これらの結果に一致して、臨床安全性データベースでは、MenACYW 結合型ワクチンの接種を受けた成人及び小児において安全性上の懸念は認められなかった。

10　図表

図表はすべて本文中に記載した。

参 考 文 献

1. World Health Organization. Guidelines on Nonclinical Evaluation of Vaccines. WHO Technical Report Series Report No. 927: Annex 1, 2005. p. 31-63.

サノフィ株式会社

SP0047

CTD 第二部 ー 非臨床概要

2.6.7 毒性試験概要表

Total number of pages: 23

目　　次

2.6.7 毒性試験概要表 1

目　　次 2

表　目　次 4

略号と用語の定義 5

1　　毒性試験一覧表 6

2　　トキシコキネティクス試験の一覧表 7

3　　トキシコキネティクス試験成績の一覧 7

4　　毒性試験使用ロット 8

5　　単回投与毒性試験 9

6　　反復投与毒性試験 - 重要な試験以外の試験 9

7　　反復投与毒性試験 10

8　　*In Vitro*遺伝毒性試験 14

9　　*In Vivo*遺伝毒性試験 14

10　　がん原性試験 14

11　　生殖発生毒性試験 - 重要な試験以外の試験 15

12　　生殖発生毒性試験－受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 16

13　　生殖発生毒性試験－胚･胎児発生に関する試験 16

14　　生殖発生毒性試験－出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 17

15　　新生児を用いた試験 22

16　　局所刺激性試験 22

17　　その他の毒性試験 22

参 考 文 献 23

表　目　次

表2.6.7.1 - Toxicology tabulated summary - overview - study program 6

表2.6.7.4 - Toxicology drug substance 8

表2.6.7.7 - Repeat-dose toxicity..... 10

表2.6.7.11 - Reproductive and developmental toxicity - nonpivotal studies – noteworthy findings 15

表2.6.7.14 - Reproductive and developmental toxicity - effects on pre- and postnatal development, including maternal function..... 17

略号と用語の定義

$AlPO_4$	リン酸アルミニウム（Aluminum Phosphate）
BLQ	定量限界以下（Below the Limit of Quantification）
DART	生殖発生毒性（Developmental And Reproductive Toxicity）
DG	妊娠日数（Day of Gestation）
DL	授乳日数（Day of Lactation）
ELISA	酵素結合免疫吸着測定法（Enzyme-Linked Immunosorbent Assay）
F	雌（Female）
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）
IM	筋肉内（Intramuscular）
M	雄（Male）
MenACYW Conjugate Vaccine	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）
mL	ミリリットル（Milliliter）
NA	該当なし（Not applicable）
NZW	ニュージーランドホワイト（New Zealand White）
WHO	世界保健機関（World Health Organization）

1 毒性試験一覧表

表 2.6.7.1 - Toxicology tabulated summary - overview - study program

Test Item: MenACYW Conjugate Vaccine

Type of Study	Species	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (µg polysaccharides/ serogroup/dose)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location of Study Report
Repeat-Dose Toxicity	Crl:CD® (SD)IGS BR rat	Intramuscular	Four injections	2 or 10	Yes, except the immunogenicity phase	[redacted], England	AES/0126	[4.2.3.2-1]
Immunogenicity in Support to Developmental and Reproductive Toxicity	New Zealand White rabbit	Intramuscular	Two injections	10	No	Sanofi Pasteur, Marcy l'Etoile, France	RED_00091026	[4.2.3.5.3-1]
Developmental and Reproductive Toxicity	New Zealand White rabbit	Intramuscular	Five injections	10	Yes	[redacted], France	SP00047 DV1701	[4.2.3.5.3-2]

2　トキシコキネティクス試験の一覧表

世界保健機構（WHO）の「ワクチンの非臨床評価に関するガイドライン」(1)に従い、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（以下、「MenACYW 結合型ワクチン」）のトキシコキネティクス評価は実施しなかった。

3　トキシコキネティクス試験成績の一覧

WHO の「ワクチンの非臨床評価に関するガイドライン」 (1)に従い、MenACYW 結合型ワクチンのトキシコキネティクス評価は実施しなかった。

4　毒性試験使用ロット

表 2.6.7.4 - Toxicology drug substance

Test Item: MenACYW Conjugate Vaccine

Material	Batch Number	Type of Material	Type of Study	Study Number
MenACYW Conjugate Vaccine	[redacted]	Phase I lot at 2 µg polysaccharides/ serogroup/dose Phase I lot at 10 µg polysaccharides/ serogroup/dose Phase I lot at 2 µg polysaccharides/ serogroup/dose adsorbed to aluminium phosphate (see Module 3.2.P.2.2 Drug Product)	Repeat-dose toxicity	AES/0126
MenACYW Conjugate Vaccine	[redacted]	Phase III lot at 10 µg polysaccharides/ serogroup/dose (see Module 3.2.P.2.2 Drug Product)	Immunogenicity in support to developmental and reproductive toxicity	RED_00091026
MenACYW Conjugate Vaccine	[redacted]	Phase III lot at 10 µg polysaccharides/ serogroup/dose (see Module 3.2.P.2.2 Drug Product)	Developmental and reproductive toxicity	SP0047 DV1701

5　単回投与毒性試験

単回投与後の安全性は反復投与毒性試験の中で評価した（7項）。

6　反復投与毒性試験 - 重要な試験以外の試験

重要な試験以外の反復投与毒性試験は実施していない。反復投与毒性試験は重要な試験として実施した（7項）。

7 反復投与毒性試験

表 2.6.7.7 - Repeat-dose toxicity

Report Title: Tetra Men T - Toxicity study by four intramuscular administrations to CD rats over a 9-week period followed by a 2-week treatment free period

Test Item: MenACYW Conjugate Vaccine (Tetra Men T)

Species/Strain: Crl:CD® (SD)IGS BR rats

Duration of dosing: four injections at 3-week intervals (Days 1, 22, 43 and 64)

Study No.: AES/0126

Initial Age: Approximately 7 weeks

Duration of Post Dose: 1 or 14 days

Location in CTD: [4.2.3.2-1]

Dates of First Dose: [redacted] and [redacted] 20[redacted]

Method of Administration: Intramuscular injections

GLP Compliance: Compliant (except immunogenicity)

Vehicle/Formulation: phosphate buffer saline (control)

Special Features: None

No Observed Adverse Effect Level: Not applicable

Treatment	Control (phosphate buffer saline)		Vaccine (2 µg unadjuvanted)		Vaccine (10 µg unadjuvanted)*		Vaccine (2 µg with adjuvant)	
Dose level/administration (µg antigen/dose)†	0	0	2	2	10	10	2	2
Dose level/administration (µg $AlPO_4$/dose)	0	0	0	0	0	0	125	125
Dose volume/administration (mL)	2 x 0.25	2 x 0.25	2 x 0.25	2 x 0.25	2 x 0.25	2 x 0.25	2 x 0.25	2 x 0.25
Number of animals‡	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
Toxicokinetics	NA§	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Noteworthy findings								
Died or sacrificed moribund	-**	-	-	-	-	-	-	-
Body weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Body weight gain	-	-	-	-	-	-	-	-
Food consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Water consumption	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Clinical observations	-	-	-	-	-	-	-	-

表 2.6.7.7 - Repeat-dose toxicity (continued)

Treatment	Control (phosphate buffer saline)		Vaccine (2 µg unadjuvanted)		Vaccine (10 µg unadjuvanted)*		Vaccine (2 µg with adjuvant)	
Dose level/administration (µg antigen/dose)†	0	0	2	2	10	10	2	2
Dose level/administration (µg $AlPO_4$/dose)	0	0	0	0	0	0	125	125
Local reactions at the injection site								
Erythema (very slight)	-	-	-	-	-	-	1	1
Oedema (very slight)	-	-	-	-	-	-	4	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Clinical pathology on day 2								
Hematology								
Neutrophils (10^9/L)	1.48	0.79	1.70	0.86	1.83	0.83††	2.32	1.22††
Monocytes (10^9/L)	0.40	0.20	0.45	0.21	0.41	0.22	0.78	0.23
Clinical chemistry								
Albumin (g/L)	36	36	34‡‡	35	33‡‡	34	33†	33‡‡
α1 globulin (g/L)	12	11	12	12	12	11	12‡‡	12
α2 globulin (g/L)	4	4	4	4	4	4	5††	5
Albumin/globulin ratio	1.16	1.25	1.12	1.21	1.07‡‡	1.22	1.03††	1.07‡‡
Clinical pathology on day 65								
Hematology								
Neutrophils (10^9/L)	1.98	1.44	2.24	1.44	2.33	1.15	3.12‡‡	2.07
Monocytes (10^9/L)	0.37	0.19	0.47	0.20	0.44	0.19	0.51††	0.29††
Clinical chemistry								
α1 globulin (g/L)	14	10	14	11‡‡	13	11‡‡	13	11‡‡
α2 globulin (g/L)	3	3	3	3	3	3	3	4‡‡
Beta globulin (g/L)	15	14	15	15	15	15	16	17††
Albumin/globulin ratio	0.90	1.16	0.84	1.13	0.85	1.12	0.86	0.98††

表 2.6.7.7 - Repeat-dose toxicity (continued)

Treatment	Control (phosphate buffer saline)		Vaccine (2 µg unadjuvanted)		Vaccine (10 µg unadjuvanted)*		Vaccine (2 µg with adjuvant)	
Dose level/administration (µg antigen/dose)†	0	0	2	2	10	10	2	2
Dose level/administration (µg $AlPO_4$/dose)	0	0	0	0	0	0	125	125
Clinical pathology on day 79								
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical chemistry								
Albumin (g/L)	34	40	33	39	32††	40	34	39
Beta globulin (g/L)	14	15	16‡‡	16	16‡‡	15	17††	17
Gamma globulin (g/L)	3	4	4‡‡	5	5††	5	5††	4
Albumin/globulin ratio	1.01	1.13	0.88‡‡	1.06	0.83††	1.13	0.87‡‡	1.07
Urinalysis	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Necropsy Day 65 (1 day post last dose):	M: 10	F: 10	M: 0	F: 0	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
Organ weights	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Heamorrage to the left injection site	0	0	0	0	0	0	0	6
Pale area in left and/or right injection site(s)	0	0	0	0	0	0	1	2
Histopathology§§	-	-	-	-	-	-	-	-
Mixed inflammatory cells	5 (+)	3 (+)	NA	NA	7 (+)	8 (+)	10 (++ to +++)	9 (+ to +++)
Granulomatous inflammation	0	0	NA	NA	0	0	10 (++ to +++)	9 (++)
Fibrosis or fibroblast proliferation	0	0	NA	NA	0	0	10 (+ to +++)	9 (+ to ++)
Oedema	0	0	NA	NA	0	0	9 (++ to +++)	9 (+ to ++)
Eosinophilic material	0	0	NA	NA	0	0	8 (+ to +++)	9 (+ to +++)
Haemorrhage	1 (++)	4 (+)	NA	NA	4 (+ to ++)	7 (+ to ++)	7 (+ to ++)	10 (+ to +++)
Necropsy Day 79 (14 days post last dose):	M: 5	F: 5	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 5	F: 5
Organ weights	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Pale area in left and/or right injection site(s)	0	0	0	0	0	0	2	4

表 2.6.7.7 - Repeat-dose toxicity (continued)

Treatment	Control (phosphate buffer saline)		Vaccine (2 µg unadjuvanted)		Vaccine (10 µg unadjuvanted)*		Vaccine (2 µg with adjuvant)	
Dose level/administration (µg antigen/dose)†	0	0	2	2	10	10	2	2
Dose level/administration (µg $AlPO_4$/dose)	0	0	0	0	0	0	125	125
Histopathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Mixed inflammatory cells	0	0	NA	NA	NA	NA	4 (+ to ++)	5 (+ to ++)
Granulomatous inflammation	0	0	NA	NA	NA	NA	4 (+ to ++)	5 (+ to ++)
Fibrosis	0	0	NA	NA	NA	NA	2 (++)	5 (+ to ++)
Eosinophilic material	0	0	NA	NA	NA	NA	2 (++)	2 (++)
Immunogenicity* **								
Incidence on day 65	0/10	0/10	9/10	10/10	9/10	9/10	10/10	10/10
Incidence on day 79	0/10	0/10	5/5	4/5	5/5	5/5	5/5	5/5

* MenACYW Conjugate Vaccine

† Per A, C, W and Y polysaccharides

‡ M: male; F: female

§ NA: not applicable

** -: no noteworthy findings

†† Significantly different from the control group value ($p < 0.01$ Student's t-test or William's test)

‡‡ Significantly different from the control group value ($p < 0.05$ Student's t-test or William's test)

§§ Changes observed in the interfascicular region of the injection site; +: minimal; ++: slight; +++: moderate

*** ELISA testing for specific meningococcal polysaccharides (serogroups A, C, W, Y), reported as positive response to at least one serogroup

8 *In Vitro* 遺伝毒性試験

MenACYW 結合型ワクチンはバイオロジクス製剤であること、また既に上市済みの他のワクチンと比較して遺伝毒性試験が必要となるような新規成分を含有しないことから、MenACYW 結合型ワクチンの遺伝毒性試験は実施していない。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」に従った判断である(1)。

9 *In Vivo* 遺伝毒性試験

MenACYW 結合型ワクチンはバイオロジクス製剤であること、また既に上市済みの他のワクチンと比較して遺伝毒性試験が必要となるような新規成分を含有しないことから、MenACYW 結合型ワクチンの遺伝毒性試験は実施していない。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」に従った判断である(1)。

10 がん原性試験

MenACYW 結合型ワクチンは遺伝毒性を示すとは考えられないこと、そしてがん原性を持たないと考えられることから、MenACYW 結合型ワクチンのがん原性試験は実施していない。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」に従った判断である(1)。

11　生殖発生毒性試験 - 重要な試験以外の試験

表 2.6.7.11 - Reproductive and developmental toxicity - nonpivotal studies – noteworthy findings

Test Item: MenACYW Conjugate Vaccine

Species/ Strain	Method of Administration	Dosing Period	Doses (µg / administration)*	No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number
New Zealand White female rabbit	Intramuscular	Two injections 3 weeks apart	10	3	All non-pregnant female rabbits showed specific antibodies against all four serotypes A, C, W and Y	RED_00091026 [4.2.3.5.3-1]

*　Per A, C, W and Y polysaccharides

12　生殖発生毒性試験－受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

MenACYW結合型ワクチンの独立した受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験は実施していない。生殖発生毒性は1件の重要な試験で評価した（14項）。

13　生殖発生毒性試験－胚･胎児発生に関する試験

MenACYW結合型ワクチンの独立した胚･胎児発生に関する試験は実施していない。生殖発生毒性は1件の重要な試験で評価した（14項）。

14　生殖発生毒性試験－出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

表 2.6.7.14 - Reproductive and developmental toxicity - effects on pre- and postnatal development, including maternal function

Report Title: MenQuad-TT-Developmental and Reproductive Toxicity Study Following Repeated Intramuscular Administrations in the Rabbit

Test Item: MenACYW Conjugate Vaccine (Tetra Men T)

Design Similar to ICH 4.1.3: No (design adapted from FDA CBER Guidance for Industry)

Duration of Dosing: Days 30 and 10 before mating (M-30 and -10) and Days 6, 12 and 27 after mating (DG6, 12 and 27)

Study No.: SP00047 DV1701

Species/Strain: Rabbit New Zealand White females

Day of Mating: Day 0 of presumed gestation (DG0)

Location in CTD: [4.2.3.5.3-2]

Day of C-Section: DG29

Day of Dams and Litters Necropsy: post-natal day 35 of lactation (PND 35)

Initial Age: 18 to 19 weeks at time of first injection (corresponding to 22 to 23 weeks old at mating).

Method of Administration: intramuscular (5 different injection sites)

Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Vehicle/Formulation: 0.9% sodium chloride

GLP Compliance: Compliant

Special Features: Design adapted from FDA Guidance for Industry. Cohort of rabbits allowed to naturally deliver and sacrificed on PND 35

No Observed Adverse Effect Level: Not applicable

Treatment	Saline control	Vaccine
Days of administration	M-30 and -10, DG6, 12 and 27	M-30 and -10, DG6, 12 and 27
Dose level/ administration (per A, C, W and Y polysaccharides)	0	10
Dose volume/ administration (mL)	0.5	0.5*
Dams		
Number of Animals	55† (25 + 30)	55 (25 + 30)
No.‡ Pregnant	50	54

表 2.6.7.14 - Reproductive and developmental toxicity - effects on pre- and postnatal development, including maternal function (continued)

Treatment	Saline control	Vaccine
Days of administration	M-30 and -10, DG6, 12 and 27	M-30 and -10, DG6, 12 and 27
Dose level/ administration (per A, C, W and Y polysaccharides)	0	10
No. Failed to Mate	3	1
Fertility Index (%)	96	100
No. Died or Euthanized for Ethical Reasons	0	0
Clinical Observations (including location reactions at the injection site)	-§	-
Body Weight Change (%)**		
Premating (DG -30 to -3)	417.0 / 504.9	+11.5 / -7.1
Gestation (DG0 to 29)	376.5 / 356.3	-19.1 / +6.3
Lactation (PND 4 to 35)	-69.3	-60.5
Food Consumption (%)††		
Premating (DG -30 to -3)	167.23 / 182.22	+1.82 / -4.71
Gestation (DG0 to 29)	145.58 / 152.41	-4.60 / +3.40
Lactation (PND 0 to 35)	449.05	-5.80
Necropsy Observations including Organ Weights	-	-
No. Aborted or with Total Resorption of Litter (caesarean group)	0	1
Mean No. Corpora Lutea (caesarean group)	10.4	9.3
Mean No. Implantations (caesarean group)	9.7	8.8
Mean % Preimplantation Loss (caesarean group)	6.31	6.17
Mean % Postimplantation Loss (caesarean group)	3.42	2.36
Mean Duration of Gestation (days)	31.3	31.2
Abnormal Parturition (littering group)	1	1

表 2.6.7.14 - Reproductive and developmental toxicity - effects on pre- and postnatal development, including maternal function (continued)

Treatment	Saline control	Vaccine
Days of administration	M-30 and -10, DG6, 12 and 27	M-30 and -10, DG6, 12 and 27
Dose level/ administration (per A, C, W and Y polysaccharides)	0	10
Cesarian Litter Data:		
No. Litters Evaluated	22	24
Mean No. Live Fetuses	9.4	8.5
Mean No. Early Resorptions	0.1	0.2
Mean No. Late Resorptions	0.2	0.0
No. of Litters with Dead Fetuses	0	0
Mean Fetal Body Weight (g)	43.48	43.27
Fetal Sex Ratio (% males)	45.91	46.81
Foetal Abnormalities		
Visceral Malformations		
No. of Fetuses (Litters) examined (head)	97 (22)	96 (23)
No. of Fetuses (Litters) malformed (head)	0 (0)	0 (0)
No. of Fetuses (Litters) examined (body)	207 (22)	205 (24)
No. of Fetuses (Litters) malformed (body)	1 (1)	0 (0)
Skeletal Malformations		
No. of Fetuses (Litters) examined (head)	110 (22)	109 (24)
No. of Fetuses (Litters) malformed (head)	0 (0)	0 (0)
No. of Fetuses (Litters) examined (body)	207 (22)	205 (24)
No. of Fetuses (Litters) malformed (body)	0 (0)	0 (0)
Foetal Anomalies	-	-

表 2.6.7.14 - Reproductive and developmental toxicity - effects on pre- and postnatal development, including maternal function (continued)

Treatment	**Saline control**	**Vaccine**
Days of administration	M-30 and -10, DG6, 12 and 27	M-30 and -10, DG6, 12 and 27
Dose level/ administration (per A, C, W and Y polysaccharides)	0	10
Immunogenicity‡‡ **Females at pretest / M-3 / G29**	BLQ / BLQ / BLQ§§	BLQ / 3.819 / 3.132
Fetuses at G29* **	BLQ	3.505
Post-partum litter data F1:		
No. of Natural Deliveries	28	28
No. of Litters with Stillborn Pups	4	9
No. of litters with All Stillborn Pups	1	1
Mean No. Pups/Litter	9.3	7.9
Mean No. Liveborn Pups	249	206
No. of Total Litters Losses	0	2
Pre-Birth Loss (%)	4.25	6.74
No. of viable litters at Weaning (PND 35)	27	27
Gestation Index (%)	96	93
Live Birth Index (%)	95.8	92.8
Postnatal Survival to Day 1 (%)	100	100
Postnatal Survival to Weaning (No. of pups)	228	194
Weaning Index (PND 1-PND 35) (%)	91.6	94.2
Sex ratio at Weaning (Males %)	52.8	46.6
Change in Pup Body Weight (g) (PND 4 to 35)	-	-
Physical Development	-	-
Sensory Function (reflexes)	-	-

表 2.6.7.14 - Reproductive and developmental toxicity - effects on pre- and postnatal development, including maternal function (continued)

Treatment	**Saline control**	**Vaccine**
Days of administration	M-30 and -10, DG6, 12 and 27	M-30 and -10, DG6, 12 and 27
Dose level/ administration (per A, C, W and Y polysaccharides)	0	10
Pup Clinical Signs	-	-
Pup Necropsy Observations	-	-
Immunogenicity		
Females at pretest / M-3 / PND 35	BLQ / BLQ / BLQ	BLQ / 3.823 / 2.922
Pups at PND 35†††	BLQ	1.975

* Approximately 0.5 mL (one human dose volume)

† 25 and 30 females in caesarean and littering subgroups, respectively

‡ Number

§ -: no noteworthy findings

** For controls, group means are shown (kg). For treated group, the percentage of the control group value is shown. Caesarean / Littering group.

†† For controls, group means are shown (g/day). For treated group, the percentage of the control group value is shown. Caesarean / Littering group.

‡‡ Mean ELISA titers in Log_{10} (Elisa Unit) from 10 females/group

§§ BLQ: Below the Limit of Quantification

*** From 10 pooled litters/group

††† From 10 litters/group

15　新生児を用いた試験

ラットを用いた反復投与毒性試験で特段の懸念が示されなかったため、MenACYW 結合型ワクチンの幼若動物を用いた試験は実施していない。なお、ワクチンでは通常幼若動物試験は実施されない(1)。

16　局所刺激性試験

MenACYW 結合型ワクチンの局所刺激性は、反復投与毒性試験及び生殖発生毒性試験の中で評価した（7項及び14項）。

17　その他の毒性試験

MenACYW 結合型ワクチンのその他の毒性試験は実施していない。

参 考 文 献

1. World Health Organization. Guidelines on Nonclinical Evaluation of Vaccines. WHO Technical Report Series Report No. 927: Annex 1, 2005. p. 31-63.