目次

略号及び用語の定義 2
2.4　非臨床試験の概括評価 3
2.4.1　非臨床試験計画概略 3
2.4.2　薬理試験 3
2.4.2.1　効力を裏付ける試験 4
2.4.2.2　副次的薬理試験 7
2.4.2.3　安全性薬理試験 7
2.4.2.4　薬力学的薬物相互作用試験 8
2.4.3　薬物動態試験 8
2.4.4　毒性試験 8
2.4.4.1　単回投与（急性）毒性試験 8
2.4.4.2　反復投与毒性試験 8
2.4.4.3　遺伝毒性試験 9
2.4.4.4　がん原性試験 9
2.4.4.5　生殖発生毒性試験 9
2.4.4.6　局所刺激性試験 10
2.4.4.7　その他の毒性試験 10
2.4.5　総括及び結論 11
2.4.6　参考文献 12

略号及び用語の定義

略号	定義	
APA	aluminum phosphate adjuvant	リン酸アルミニウムアジュバント
ARM	adult rhesus monkey	成熟アカゲザル
CFU	colony-forming unit	コロニー形成単位
CRM_{197}	cross reactive material 197	―
CTD	Common Technical Document	コモン・テクニカル・ドキュメント
deOAc15B	de-*O*-acetylated serotype 15B	血清型15B の *O*-脱アセチル化体
ECL	electrochemiluminescent	電気化学発光
ELISpot	enzyme-linked immunosorbent spot (assay)	―
FDA	Food and Drug Administration	アメリカ食品医薬品局
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use	医薬品規制調和国際会議
IFN-γ	interferon gamma	インターフェロンガンマ
IgG	immunoglobulin G	免疫グロブリン G
IL	interleukin	インターロイキン
KC-GRO	keratinocyte-chemoattractant growth regulated oncogene	―
MOPA	multiplexed opsonophagocytic assay	多重オプソニン化貪食アッセイ
OPA	opsonophagocytic activity	オプソニン貪食活性
PBS	phosphate buffered saline	リン酸緩衝生理食塩液
PCV	pneumococcal conjugate vaccine	肺炎球菌結合型ワクチン
PCV7	Pneumococcal 7-valent conjugate vaccine (Prevnar™)	沈降7価肺炎球菌結合型ワクチン（無毒性変異ジフテリア毒素結合体）
PCV13	Pneumococcal 13-valent conjugate vaccine (Prevnar 13™)	沈降13価肺炎球菌結合型ワクチン（無毒性変異ジフテリア毒素結合体）
PCV15	Pneumococcal 15-valent conjugate vaccine (VAXNEUVANCE™)	沈降15価肺炎球菌結合型ワクチン（無毒性変異ジフテリア毒素結合体）
PnPs	pneumococcal capsular polysaccharides	肺炎球菌莢膜ポリサッカライド
PPSV23	Pneumococcal vaccine, polyvalent (23-valent) (PNEUMOVAX™23)	23価肺炎球菌莢膜ポリサッカライドワクチン
Th1	T helper (cell), type 1	―
Th2	T helper (cell), type 2	―
TNFα	tumor necrosis factor alpha	―
V116	pneumococcal 21-valent conjugate vaccine	21価肺炎球菌結合型ワクチン（無毒性変異ジフテリア毒素結合体）
WHO	World Health Organization	世界保健機関

2.4　非臨床試験の概括評価

2.4.1　非臨床試験計画概略

V116は成人を対象とした21価の肺炎球菌結合型ワクチン（PCV）である。本剤は、肺炎球菌（*Streptococcus pneumoniae*）の血清型（3、6A、7F、8、9N、10A、11A、12F、15A、15B、15C、16F、17F、19A、20A、22F、23A、23B、24F、31、33F 及び35B）に起因する侵襲性疾患及び肺炎球菌性肺炎の予防を目的としている。本剤は、小児のワクチン接種率が高い地域の高齢者を対象とした世界的な血清型疫学データに一部基づき、成人の肺炎球菌感染症に関連する主要血清型に対して更に広範に対応するようにデザインされている。

V116は、21種類の血清型（3、6A、7F、8、9N、10A、11A、12F、15A、deOAc15B、16F、17F、19A、20A、22F、23A、23B、24F、31、33F、及び35B）の肺炎球菌莢膜ポリサッカライド（PnPs）を、それぞれ CRM_{197}タンパクに結合させたものである。なお、血清型20A は、本 CTD の非臨床に関する全ての項、並びに非臨床試験の報告書及びデータでは血清型20とされている（従来この血清型を血清型20と称していたが、後に血清型20A であることが判明したため）[4.3: 08B5C0] 。

V116の主要な薬力学的特性を複数の GLP 非適用試験で評価したところ、本剤はマウス及び成熟アカゲザルにおいて含有する全血清型に対して免疫原性を有することが示された。当該薬理試験の詳細を[2.4.2 項]に記載する。

V116について、独立した安全性薬理試験は実施していない。V116を用いて実施した毒性試験及び臨床試験の成績において、中枢神経系、呼吸器系、心血管系及び腎機能に V116に関連する有害な変化は認められなかった[2.4.2.3 項]。

V116の毒性試験として、マウス（TT#[redacted]-1013）及びラット（TT#[redacted]-1017、TT#[redacted]-1012及び TT#[redacted]-1007）を用いた GLP 非適用の免疫原性試験[2.4.4.7 項]、並びにラットを用いて一般毒性、局所刺激性及び免疫原性を網羅的に評価した GLP 適用の3週間反復筋肉内投与毒性試験（TT #[redacted]-6020）[2.4.4.2 項]を実施した。V116の免疫原性はマウス及びラットを用いた GLP 非適用試験並びにラットを用いた GLP 適用毒性試験で実証され、ラットが V116の毒性評価に適した動物種であることが確認された。加えて、ラットを用いた受胎能、胚・胎児の発生及び出生児の離乳前の発生に関する GLP 適用の生殖発生毒性試験（TT#[redacted]-9019）[2.4.4.5 項]を実施した。V116について実施した全ての毒性試験の一覧を[2.6.7.1 項]に示す。

2.4.2　薬理試験

V116を用いて実施した薬理試験の概要を[2.6.2 項]及び[2.6.3 項]に示す。

2.4.2.1　効力を裏付ける試験

2.4.2.1.1　効力を裏付ける *in vitro* 試験

V116を用いた *in vitro* 試験は実施していない。

2.4.2.1.2　効力を裏付ける in vivo 試験

マウス及び成熟アカゲザルを用いた試験を実施し、V116の免疫原性を評価した。一部の試験［Swiss Webster マウスの感染試験（MS-5B 試験）、CD-1マウスのワクチンロット比較試験（MS-6試験）、並びにアカゲザルの免疫原性試験（ARM-1試験及び ARM-3試験）］では、血清型6A の代わりに血清型6C の結合体を含む V116初期製剤を用いた。血清型6A 結合体を含有する V116を用いた非臨床試験では、ECL 法及び MOPA 法の双方の免疫測定法で、V116投与による血清型6A に対する抗体誘導が認められ、血清型6C に対する交差反応性抗体も誘導された。また、先行試験において血清型6A 及び血清型6C の間に交差反応性が確認された。血清型6の交差反応性は、PCV7又は PCV13を接種した幼若アカゲザルから採取した血清を用いて、OPA 測定法により解析した（OPA 抗体価が1 : 8以上の被験動物の割合を評価）。血清型6B を含有する PCV7投与群の血清は、血清型6B に対して強い応答（100%）、血清型6A に対して部分的な応答（70%）、血清型6C に対して僅かな応答（22%）を示した。一方、血清型6A を含有する PCV13投与群の血清は、血清型6A、6B 及び6C に対してそれぞれ100%、100%及び96%の OPA 応答を示した[4.3: 0570N9]。これに基づき、非臨床試験で用いたその後の V116製剤は、血清型6C に代えて血清型6A を含有している。また、V116製剤には deOAc15B が含まれているが、これは血清型15B を化学処理して *O*-アセチル基を除去することにより作製した抗原であり、15C と構造的に類似している[4.3: 05BM65][4.3: 05H33Z]。deOAc15B を含有した目的は、特異的抗体と交差反応性抗体を組み合わせることにより血清型15C と15B の両方をカバーするワクチンとするためである。非臨床試験では、ECL 法を用いた免疫原性評価により deOAc15B に結合する抗体を定量化し、MOPA 法を用いて15C に対する抗体の機能を評価した。

Swiss Webster マウスに V116初期製剤を腹腔内投与した際（MS-5B 試験）、免疫応答が類似した高用量側（各 PnPs 2 µg 及び4 µg）を除き、V116は特定の血清型で用量依存的な免疫応答を誘導した。V116はまた、Swiss Webster マウスに肺炎球菌を気管内投与した際に、他の肺炎球菌ワクチンには含まれず本剤にのみ含まれる血清型24F についても感染防御効果を示した。その後の CD-1マウスを用いた免疫原性試験（MS-10試験）では、血清型6C ではなく血清型6A の結合体を含有する V116を筋肉内投与したが、V116は含有する全血清型に対して免疫原性を示し、血清型6（6A、6C）及び血清型15（15B、deOAc15B/15C）内の交差反応性を示した。

CD-1マウスを用いて実施した MS-6試験において、V116の2つのロットである EIT-1（[redacted]）及び EIT-2（[redacted]）を筋肉内投与したところ、全ての血清型について両ロットで同程度の免疫原性が認められたことから、ロット間には類似性があり、CD-1マウスにおける V116の免疫原性にはロットの差による影響はないことが示された。

CD-1マウスに V116を筋肉内投与した試験（MS-20試験）では、CRM_{197}特異的 T 細胞応答が誘導され、V116はワクチンに含まれる全ての血清型に対して免疫原性を示した。

成熟アカゲザルに V116を反復筋肉内投与した際の抗体価は、含有する大部分の血清型で初回投与後にプラトーに達する傾向を示した。また、PCV13、PPSV23及び PCV15との共通血清型では、V116は同程度又はそれ以上の免疫原性を示した。非臨床薬理データからは、V116が免疫原性を示し、臨床試験で使用した用量を被験者に接種することで機能的抗体を誘導できることが示唆された。

マウスでの免疫原性及び感染防御能

V116の免疫原性及び感染防御能を Swiss Webster マウスで評価した（PD001、[2.6.3.1 項]参照）。Swiss Webster マウス（8週齢）に V116を Day 0、Day 14及び Day 28に腹腔内投与した（10匹／群）。V116の用量は各 PnPs（3、6C、7F、8、9N、10A、11A、12F、15A、deOAc15B、16F、17F、19A、20、22F、23A、23B、24F、31、33F 及び35B、それぞれ CRM_{197}に結合）で1回あたり4、2、0.4、0.08又は0.016 µg とした。投与前及び3回目投与1週間後（Day 35）に血清を採取した。V116は Swiss Webster マウスで免疫原性を示し（ECL 法により測定）、機能的抗体を誘導した（MOPA 法により測定）。V116を投与したマウスの抗体価は、高用量側（各 PnPs 2 µg 及び4 µg）では概して同程度であったが、最低用量（各 PnPs 0.016 µg）では他の用量よりも低かった。また、各 PnPs 0.4 µg 及び0.08 µg における抗体価は概して V116の最高用量と最低用量の間にあったが、血清型に依存していた。

機能的抗体の産生は、3回目投与の3週間後にマウスに肺炎球菌（血清型24F）を致死量［10^5コロニー形成単位（CFU）］で気管内投与した際の生存率とも関連していた。V116を投与したマウスは全て、陰性対照の非投与マウスと比較して有意に感染が防御された。

マウスを用いた別試験では、CD-1マウス（7～8週齢）に V116を Day 0、Day 14及び Day 28に筋肉内投与した（10匹／群）。V116の用量は各 PnPs（3、6A、7F、8、9N、10A、11A、12F、15A、deOAc15B、16F、17F、19A、20、22F、23A、23B、24F、31、33F 及び35B、それぞれ CRM_{197}に結合）で1回あたり0.4 µg とした（PD001、[2.6.3.1 項]参照）。投与前及び3回目投与1週間後（Day 35）に血清を採取し、ECL 法による血清型特異的 IgG 抗体価、及び MOPA 法による機能的抗体価を測定した。V116は血清型6グループ（6A 及び6C）及び血清型15グループ（15B 及び deOAc15B/15C）内の交差反応を含め、ワクチンに含まれる全ての血清型に対して免疫原性を示した。

CD-1マウスを用いて実施した非臨床薬理試験（MS-6試験）で V116の免疫原性を評価し、V116の2つのロットである EIT-1（[redacted]）及び EIT-2（[redacted]）の免疫原性を比較した。このときの組成には、血清型6A の代わりに6C の結合体が含まれていた。CD-1マウスに0.4 µg の各 PnPs 結合体（3、6C、7F、8、9N、10A、11A、12F、15A、deOAc15B、16F、17F、19A、20、22F、23A、23B、24F、31、33F 及び35B、それぞれ CRM_{197}に結合）を Day 0、Day 21及び Day 42に筋肉内投

与した。Day -1、Day 20、Day 41及びDay 63に血清を採取し、ECL 法により血清型特異的IgG 抗体価を測定した。一般状態における有害な変化は認められなかった。この試験では、V116は含有する全血清型に対して免疫原性を示した。V116ロットの EIT-1（[redacted]）及び EIT-2（[redacted]）の免疫原性は同程度でロット間で類似していたことから、CD-1マウスにおける V116の免疫原性にはロットの差による影響はないことが示された。

さらに、V116筋肉内投与後の T 細胞応答を CD-1マウスで評価した（MS-20試験）。CD-1マウスに28日間隔で V116を3回（Day 0、Day 28及び Day 56）投与した。用量は0.8 µg の各 PnPs 結合体（3、6A、7F、8、9N、10A、11A、12F、15A、deOAc15B、16F、17F、19A、20、22F、23A、23B、24F、31、33F 及び35B、それぞれ CRM_{197}に結合）とした。3回目投与の2週間後（Day 70）に脾細胞を採取して、ELISpot アッセイ及び *in vitro* 刺激試験の両方で CRM_{197}ペプチドプールを用いて刺激し、CRM_{197}特異的 T 細胞応答について評価した。Th1関連サイトカインである IFN-γ を識別する ELISpot アッセイ（p = 0.0001）及び Th2関連サイトカインである IL-4を識別する ELISpot アッセイ（p＝0.0445）の両方で、非投与対照と比較して V116投与動物で CRM_{197}に特異的な T 細胞が有意に誘導された。

In vitro 刺激試験から、Th1関連サイトカインである IFN-γ 及び IL-2の有意な誘導が示された。V116の投与後に腫瘍壊死因子 α（TNF-α）が誘導されたが、バックグラウンド減算後の非投与群に大きなばらつき（0.1～80 pg/mL）がみられたため、p 値は有意ではなかった（p＝0.055）。V116の投与後に Th2関連サイトカインである IL-4、IL-5及び IL-10、並びに IL-1β 及び IL-12p70が有意に誘導された。ケラチノサイト化学誘引物質・成長調節癌遺伝子（KC-GRO）も増加したが、その傾向は統計学的に有意ではなかった。

MS-20試験のデータから、V116により CRM_{197}特異的 T 細胞応答を引き起こすことが可能であることが示された。このことは PCV に関する予想と一致している。CRM_{197}結合ペプチド刺激後の強力なサイトカイン応答は、T 細胞依存的な免疫応答経路に関与することで T 細胞の作用を補助する能力を示唆している。マウスモデルで認められたサイトカイン発現は、同様の PCV である PCV15について実施・報告された結果をよく反映しており、このことから両ワクチンとも T 細胞依存的な B 細胞の免疫記憶を形成させうることが示唆される [4.3: 04QN6Y]。

Swiss Webster マウスを用いて同様な試験を実施したところ、ELISpot アッセイ及び *in vitro* 刺激試験の結果で類似の傾向が認められた。しかし、全般的な反応の程度は、Swiss Webster マウスの方が低かった[4.3: 089RTH]。

<u>成熟アカゲザルでの免疫原性試験</u>

成熟アカゲザルを用いて V116の免疫原性を総 IgG（ECL 法）及び機能的抗体（MOPA 法）をもとに評価した（PD002、[2.6.3.1 項]参照）[4.3: 03QSF5][4.3: 03RMHW]。V116を Day 0、Day 28及び Day 56に筋肉内投与した。V116の用量は各 PnPs（3、6C、7F、8、9N、10A、11A、12F、15A、deOAc15B、

16F、17F、19A、20、22F、23A、23B、24F、31、33F 及び35B、それぞれ CRM_{197}に結合）で1回あたり1 μg とした。投与前（Day 0）、Day 14（1回目投与後）、Day 42（2回目投与後）及び Day 70（3回目投与後）に血清を採取した。

ARM-1試験において V116は成熟アカゲザルで免疫原性を示し、対象である肺炎球菌株を死滅させる機能的抗体を全ての測定時点で誘導した。本試験では1回の投与により免疫原性が認められた。ECL 法による抗体価は、ほとんどの血清型で1回目投与後にプラトーに達した。血清型6C、12F 及び24F では追加投与による効果が認められた。全ての測定時点でプール血清又は個々の血清を MOPA 法により測定した。大部分の血清型について、V116の投与前と比較して3回目投与後で機能的抗体の幾何平均抗体価が上昇した。

成熟アカゲザルを用いた別の試験（ARM-3試験）で、V116の免疫原性を他の肺炎球菌ワクチン（PCV15、PCV13及び PPSV23）と比較した。本試験では、サルに V116を各 PnPs 結合体（3、6C、7F、8、9N、10A、11A、12F、15A、deOAc15B、16F、17F、19A、20、22F、23A、23B、24F、31、33F 及び35B、それぞれ CRM_{197}に結合）の用量を1 μg として単回投与した。投与前（Day 0）及び投与後（Day 28）に血清を採取した。

V116を投与したアカゲザルを PCV15、PCV13又は PPSV23を投与した動物と比較した。V116投与動物と PCV13又は PCV15投与動物では、共通血清型の免疫原性にほとんど差はなかった。PCV13投与動物では、V116投与動物よりも血清型3に対する抗体価が低かった。PPSV23投与動物では、V116投与動物よりも血清型3、7F、15B、17F 及び20に対する抗体価が低かった。

APA をアジュバントとして添加した V116の免疫原性と、アジュバント非添加の V116の免疫原性を比較した。アジュバント非添加 V116は、APA をアジュバントとして添加した V116と比較して、IgG 抗体価及び MOPA 法による機能的抗体価のいずれにおいても同程度又はそれ以上の免疫原性を示した。

2.4.2.2　副次的薬理試験

予想される免疫応答以外に全身への影響が認められなかったため、V116の副次的薬理試験は実施しなかった。

2.4.2.3　安全性薬理試験

V116について、独立した安全性薬理試験は実施していない。WHO の「Guidelines on Nonclinical Evaluation of Vaccines」（2005）[4.3: 03R07T]及び厚生労働省の「感染症予防ワクチンの非臨床試験ガイドライン」では、ワクチンの安全性薬理試験は、非臨床又は臨床試験のデータでそのワクチンが免疫系以外の生理機能（中枢神経系、呼吸器系、心血管系及び腎機能）に影響を及ぼす可能性が懸念される場合にのみ実施する旨が記載されている。ラットを用いた V116の GLP 適用毒性試験（TT#[redacted]-6020）の一般状態観察、臨床検査及び病理検査で中枢神経系、呼吸器系、心血管系

及び腎機能を評価した際に、V116による毒性変化は認められなかった[2.6.6.3.1 項]。また、臨床試験で、中枢神経系、呼吸器系、心血管系及び腎機能に V116に関連する有害事象は認められなかった[2.7.4 項]。

総合すると、非臨床試験及び臨床試験で V116による生理機能への影響は認められなかった。このため、V116について独立した安全性薬理試験は不要と判断した。

2.4.2.4　薬力学的薬物相互作用試験

V116の薬力学的薬物相互作用試験は実施しなかった。他の薬剤又はワクチンとの相互作用については、臨床試験でのみ検討可能である。

2.4.3　薬物動態試験

V116について、薬物動態試験は実施していない。このことは WHO の「Guidelines on Nonclinical Evaluation of Vaccines」（2005）[4.3: 03R07T]及び厚生労働省の「感染症予防ワクチンの非臨床試験ガイドライン」に準拠しており、当該ガイドラインでは新規アジュバントを含まないワクチンや新規投与経路によらないワクチンの薬物動態試験（ワクチン成分の血清中又は組織中濃度測定を目的とした試験など）は不要とされている。

2.4.4　毒性試験

2.4.4.1　単回投与（急性）毒性試験

単回投与毒性試験は実施していない。V116の急性毒性は、ラットに V116を3週間の間隔で2回（試験1及び22日）筋肉内投与した GLP 適用の反復投与毒性試験（TT #[redacted]-6020）[2.4.4.2 項]で評価した。すなわち、V116の急性毒性を初回投与後の一般状態、体重、摂餌量、体温、血液学的検査、血液生化学的検査及び血中 IL-6濃度の成績より評価した。

V116の投与による急性毒性を示唆する所見は認められなかった。反復投与毒性試験の検査の詳細は[2.6.6.3.1 項]に示す。

2.4.4.2　反復投与毒性試験

ヒトへの投与の裏付けとして V116の毒性を評価するため、WHO の「Guidelines on Nonclinical Evaluation of Vaccines」（2005）[4.3: 03R07T]及び厚生労働省の「感染症予防ワクチンの非臨床試験ガイドライン」の原則に準拠したラットを用いた GLP 適用の反復筋肉内投与毒性試験（TT #[redacted]-6020）[2.6.6.3.1 項]を実施し、一般毒性、局所刺激性及び免疫原性を網羅的に評価した。本試験で頑健な免疫応答が示され、ラットが V116の毒性評価に適した動物種であることが確認された。

雌雄ラットに V116を0又は総 PnPs 42 µg/回の用量で試験1及び22日に計2回（臨床レジメンの単回投与に1回追加した回数）筋肉内投与した。この用量（総 PnPs 42 µg/0.5 mL）は、ラットに投与可能な最大容量（0.5 mL）に基づいて第 I 相試験用製剤（総 PnPs 84 µg/mL）の半量とした。体重換算で臨床用量（総 PnPs 84 µg/回）の100倍に相当する用量を投与しても、V116の投与に関連した毒性所見は認められなかった。

2.4.4.3　遺伝毒性試験

V116について、遺伝毒性試験は実施していない。WHO の「Guidelines on Nonclinical Evaluation of Vaccines」（2005）[4.3: 03R07T]及び厚生労働省の「感染症予防ワクチンの非臨床試験ガイドライン」では、ワクチンの遺伝毒性試験は通常不要とされている。

2.4.4.4　がん原性試験

V116について、がん原性試験は実施していない。WHO の「Guidelines on Nonclinical Evaluation of Vaccines」（2005）[4.3: 03R07T]及び厚生労働省の「感染症予防ワクチンの非臨床試験ガイドライン」では、ワクチンのがん原性試験は通常不要とされている。

2.4.4.5　生殖発生毒性試験

成人適用の開発を支持するために、V116を投与したラットで受胎能、胚・胎児の発生及び出生児の離乳前の発生に対する影響を評価できるように特別に計画された GLP 適用生殖発生毒性試験（TT #[redacted]-9019）[2.6.6.6.1 項]を実施した。同試験は、WHO（Guidelines on Nonclinical Evaluation of Vaccines、2005）[4.3: 03R07T]、FDA（Considerations for Developmental Toxicity Studies for Preventive and Therapeutic Vaccines for Infectious Disease Indications、2006）[4.3: 03RMZP]、ICH（ICH S5(R3) : Guideline on Detection of Reproductive and Developmental Toxicity for Human Pharmaceuticals、2020）及び厚生労働省（感染症予防ワクチンの非臨床試験ガイドライン）から公表されているワクチン及び医薬品の非臨床安全性試験に関するガイドライン及び原則に基づいて計画した。V116を乳幼児に直接曝露するのではなく、妊娠中に母体のワクチン接種を介して意図せず V116に曝露される可能性のある胚・胎児に対するリスクを評価するために計画した。

雌ラットに V116を0（対照群）又は総 PnPs 42 µg/回（V116群）の用量で無処置の雄との交配28及び7日前並びに妊娠6日及び授乳7日に計4回筋肉内投与した。この用量は、GLP 適用反復投与毒性試験（TT #[redacted]-6020）で用いた用量と同じであり、同用量に設定した根拠を[2.6.6.6.1 項]に記載した。母動物において、V116の忍容性は良好であり、V116の投与に関連する一般状態の変化及び死亡は認められなかった。妊娠6日の投与後（妊娠6及び7日）に対照（PBS）群及び V116群の両群で後肢の片側（投与部位）に有害ではない一過性の腫脹が認められた。観察された後肢の腫脹の性質及び程度は対照群と V116群とで類似しており、発現頻度に意味のある差は認められなかった。

後肢の腫脹は、これより早い時期（交配前の2回の投与後）及び4回目（授乳7日）の投与後には対照群及びV116群のいずれの動物においても観察されなかった。したがって、この所見は実験手技に関連したものであり、V116の投与との関連はないと考えられた。評価した卵巣、子宮、同腹児、自然分娩、胎児及び出生児のいずれのパラメータにもV116の投与に関連する影響は認められなかった。この生殖発生毒性試験の全般的なデータに基づくと、体重換算で臨床用量（総 PnPs 84 µg/0.5 mL）の100倍に相当する用量を投与しても、V116は交尾及び受胎能並びに胚・胎児及び出生児の発生に影響を及ぼさなかった。全体として、V116の投与により、世代間で免疫応答が維持された。

2.4.4.6　局所刺激性試験

V116について、独立した局所刺激性試験は実施していない。V116の局所刺激性は、ラットを用いたGLP適用反復投与毒性試験（TT#[redacted]-6020）[2.6.6.3.1 項]の投与部位及び流入領域リンパ節の肉眼的病理検査及び病理組織学的検査により評価した。V116群の筋肉内投与部位における組織反応は対照（PBS）群でみられた特徴及び程度と同様であり、忍容性が良好なワクチンで想定される典型的なものであり、このことは筋肉内投与部位での忍容性が良好なことを示している。加えて、流入領域リンパ節にもV116の投与に関連する変化は認められなかった。

2.4.4.7　その他の毒性試験

GLP適用の反復投与毒性試験に用いる適切な動物種を選択するため、GLP非適用の探索的免疫原性試験をラット（TT#[redacted]-1017、TT#[redacted]-1012及びTT#[redacted]-1007）及びマウス（TT#[redacted]-1013）を用いて実施した。

最初の探索的免疫原性試験（探索的な毒性の検討を含む）（TT#[redacted]-1017）[2.6.6.8.1 項]はラットを用いて実施した。ラットにV116初期製剤を総PnPs 42 µg/回（各PnPs 2 µg/回）の用量で試験1及び22日に筋肉内投与した。なお、この初期製剤には、GLP適用反復投与毒性試験（TT#[redacted]-6020）及びGLP適用生殖発生毒性試験（TT#[redacted]-9019）で用いた市販予定製剤に含まれる血清型6Aではなく、血清型6Cが含まれていた[2.6.7.4 項]。病理組織学的検査用に選択した組織を最終投与の3日後及び3週間後に採取し、免疫原性評価用の血液を最終投与の3週間後に採取した。生前検査、肉眼的病理検査及び病理組織学的検査にV116の投与に関連した変化は認められなかった。免疫原性測定法としてのスクリーニング検体の検査では、全ての報告結果で測定法として許容可能な性能を示した。しかしながら、ラットの検体で測定したほとんどの血清型の免疫原性のレベルは、GLP適用の毒性試験で使用する動物種の適切性確認又は測定法の性能確認としては不十分であった。本試験ではV116の明らかな曝露がなかったことが考えられ、本試験の毒性評価項目における成績の意義は限定的である。

最初のラット探索的試験で十分な血清型特異的免疫応答が認められなかった原因を調べるため、

GLP 非適用の追加の探索的試験を行ったが、原因を特定することはできなかった。

GLP 適用毒性試験の適切な動物種を選定し、免疫原性測定法の性能に適した検体を得るため、ラット（TT#[redacted]-1012）[2.6.6.8.2 項]及びマウス（TT#[redacted]-1013）[2.6.6.8.3 項]を用いた追加の探索的筋肉内投与免疫原性試験を、軽微な変更（調製に用いるガラス器具及び投与シリンジの変更、APA の添加）を加えて実施した。血清型15A 及び緩衝液のロットの変更を除き、本試験で用いた製剤の組成は最初の試験と同様であった。なお、この初期製剤には、ラットの GLP 適用毒性試験（TT#[redacted]-6020及び TT#[redacted]-9019）で用いた市販予定製剤に含まれる血清型6A ではなく、血清型6C が含まれていた[2.6.7.4 項]。

ラットの追加試験（TT#[redacted]-1012）では、ラットに PBS を3週間の間隔で計4回（第1群）、APA の添加若しくは無添加の V116初期製剤（各 PnPs 2 µg/回、総 PnPs 42 µg/回の用量）を試験1及び22日に計2回（それぞれ第2及び3群）、又は APA 無添加の V116初期製剤（総 PnPs 42 µg/回の用量）を3週間の間隔で計4回（第4群）、いずれも筋肉内投与した。免疫原性評価用の検体は、第1、2及び3群の試験22日の投与の3週間後、並びに第1及び4群の初回及び最終投与の2週間後に採取した。本試験では剖検による評価は実施しなかった。V116を投与したラットでは全ての採取時点でほとんどの血清型に対して頑健な免疫応答がみられ、第4群では2回目の採取時点でブースター効果が認められた。このことは、ラットが V116の毒性評価に適した動物種であることを示している。

別の試験（TT#[redacted]-1013）で、マウスに PBS 又は V116初期製剤（各 PnPs 0.4 µg/回、総 PnPs 8.4 µg/回の用量）を3週間の間隔で計3回筋肉内投与した。免疫原性評価用の検体は、最終投与の3週間後に採取した。全てのマウスで頑健な V116特異的免疫応答が認められた。

マウスを用いた別の探索的な追加試験を異なる試験施設で実施し、ラットで十分な免疫応答が認められなかった試験（TT#[redacted]-1017）で使用した試験器具と、ラット及びマウスで頑健な免疫応答が認められた試験（それぞれ TT#[redacted]-1012及び TT#[redacted]-1013）で使用した試験器具とを比較した。各試験器具の評価結果は同様であり、異なる試験施設において調製の違いがマウスの免疫原性に影響を及ぼさないことを確認した。このため、ラットを用いた最初の試験（TT#[redacted]-1017）で十分な免疫原性が認められなかったことは、何らかの他の要因によるものと考えられた。

ラットはワクチンの毒性試験で用いられる標準的な動物モデルであり、試験施設での使用経験も豊富であることから、その後の GLP 適用毒性試験の動物種にはラットを選択した。最初の探索的免疫原性試験で十分な免疫応答が認められなかった原因は特定できなかったものの、ラットを用いた GLP 適用毒性試験の試験条件（シリンジ、ガラス器具など）は、良好な結果が得られたラットの探索的免疫原性試験のものを可能な限り踏襲した。

ラットが V116に免疫応答を示すことを更に確認するため、GLP 適用毒性試験で使用する試験器具を用いて、ラットを用いた追加の探索的免疫原性試験（TT#[redacted]-1007）[2.6.6.8.4 項]を実施した。ラット（雌雄各5匹）に V116を総 PnPs 42 µg/回の用量（GLP 適用毒性試験でラットに投与するのと同じ用量）で単回筋肉内投与し、投与の2週間後に採血した。ラットで十分な免疫応答がみられ、

ラットが GLP 適用毒性試験に適した動物種であることを支持した。

ラットを用いた GLP 適用反復投与毒性試験（TT #[redacted]-6020）において、頑健な V116特異的免疫応答が認められ、ラットが GLP 適用毒性試験に適した動物種であることを確認した[2.4.4.2 項]。

2.4.5　総括及び結論

薬理試験成績より、マウス及び成熟アカゲザルにおいて V116は含有する全血清型に対して免疫原性を示した。

マウス（TT #[redacted]-1013）及びラット（TT #[redacted]-1017、TT #[redacted]-1012及び TT #[redacted]-1007）を用いた GLP 非適用の探索的免疫原性試験、並びにラットを用いた GLP 適用の反復筋肉内投与毒性試験（TT #[redacted]-6020）で V116を検討した。GLP 非適用の免疫原性試験及びラットを用いた GLP 適用の反復投与毒性試験で V116に特異的な免疫応答が認められたことから、ラット及びマウスはいずれも適切な動物種であると考えられた。ラットを用いた GLP 適用反復投与毒性試験では、体重換算で臨床用量（総 PnPs 84 µg/回）の100倍に相当する用量（総 PnPs 42 µg/回）を投与しても、V116の投与に関連した毒性所見は認められなかった。

ラットを用いた GLP 適用の生殖発生毒性試験（TT #[redacted]-9019）を実施し、V116（総 PnPs 42 µg/回）を F_0母動物の妊娠前、妊娠中及び授乳中に投与し、F_1世代に及ぼす影響を評価するとともに V116の免疫原性を F_0母動物と F_1世代（胎児及び出生児）の双方で評価した。F_0母動物において、V116の忍容性は良好であり、V116の投与に関連すると考えられる一般状態の変化及び死亡は認められなかった。また、評価した卵巣、子宮、同腹児、自然分娩、胎児及び出生児のいずれのパラメータにも V116の投与に関連する影響は認められなかった。全体として、V116の投与により、世代間で免疫応答が維持された。この生殖発生毒性試験の全般的なデータに基づくと、体重換算で臨床用量（総 PnPs 84 µg/回）の100倍に相当する用量（総 PnPs 42 µg/回）で投与しても、V116は交尾及び受胎能、並びに胚・胎児及び出生児の発生に影響を及ぼさなかった。

ラットとヒトにおける用量比の概要を[表 2.4-1]に示す。

表 2.4-1 ラットとヒトにおける用量比

試験の種類	種	体重（kg）	総 PnPs 量（µg）	総 PnPs 量／体重（µg/kg）	PnPs 量比 [a]
反復投与毒性試験及び生殖発生毒性試験	ヒト	60	84[a]	1.4	NA
	ラット	0.3	42	140	100倍

NA：該当せず
[a] V116の臨床用量［21種類の血清型 PnPs（3、6A、7F、8、9N、10A、11A、12F、15A、deOAc15B、16F、17F、19A、20、22F、23A、23B、24F、31、33F 及び35B）を各4 µg 含有］に基づく用量比

V116の毒性プロファイルは十分に評価されており、非臨床試験成績は PCV としての V116の製造販売承認申請を支持する。

2.4.6　参考文献

参考文献は、[1.12 項]の「4.3 参考文献」に示した。