

の完全な特徴付けを行う際に選択された試験である。ロットリリース試験は、ロットが一貫して製造されているという保証の1指標を提供する。ロットリリース試験および規格のバリデーションと確立は、製品開発期間を通じて継続し、承認前に完成させるべきプロセスである。

一部の国では、臨床試験承認の一環として、臨床試験用の治験薬が国家規制当局から要求される。ワクチン開発者は、ワクチン開発期間の早期に適切な規制当局に相談することが望ましい。

2.6 標準品および参照品

標準品および参照品は承認と品質管理プロセスに重要な役割を果たし、その役割の範囲は特定抗原認識試験における使用からワクチンの毒性、免疫原性および効力の測定法までである。国家内、国家間双方の研究所間ならびに臨床試験間で結果を直接比較できるようにするため、ワクチン評価に使用する方法、ならびにワクチン抗原に対する免疫反応の評価に使用する方法の標準化を行うことが重要である。

WHO 国際生物学的製剤標準品 (WHO International Biological Standards) および参照試薬 (Reference Reagents) が世界的に基本的な標準を形成する。加えて、個々の国家規制当局と製造業者が各バッチの品質を立証するために、必要に応じて国際標準品に基づいて換算した自身の国内標準品または作業標準品を定めている。適切な場合には、WHO 国際標準品が参照されている。懸念されるのは、複数の標準品の作製により、国際標準品からの「ずれ」が生じる可能性である。したがって、ワクチンの品質を一層調和させるために、各地域で作業標準品が大規模に製造されている。例えば、欧州評議会 (European Council) の欧州薬品品質局 (European Department for the Quality of Medicines) は、必要に応じて WHO 国際標準品に対し換算されたワクチンの作業標準品を定める活動をしてきた。WHO 国際標準品および標準試薬の完全なリストは、WHO のウェブサイト www.who.int/biologicals に示されている。

3. 免疫原性試験および他の薬力学試験

ワクチン製品に対する薬力学試験は、基本的に免疫原性の評価を意味する。しかし、薬力学試験はアジュバントの実際の薬理作用に及ぶことがある。

臨床開発計画を支持するための有用な「薬効検証」情報が得られるため、動物モデルでの免疫試験を実施すべきである。また、適切な動物モデルに由来する免疫原性データは、製品の免疫学的特徴を確認するのに有用であり、臨床試験で評価すべき用量、スケジュールおよび投与経路を選択する上で役立つものである。非臨床免疫原性試験では、ワクチン接種動物で誘導される免疫反応、例えば体液および/または細胞性免疫反応を評価する。誘導された免疫反応によっては、ワクチン接種動物において当該試験にセロコンバージョン率、抗体力価の幾何平均または細胞性免疫の評価を含める。可能な場合、防御をもたらす機能的免疫反応 (例えば、

中和抗体、オプソニン活性など)を含めた関連免疫反応を評価するように、非臨床試験をデザインするべきである。非臨床試験を、抗原および/または生ウイルス間の干渉を検討するようにデザインする。ワクチンが複数の確定抗原 (defined antigen) から構成される場合は、各抗原に対する反応を評価する (例えば、3~5 種のたん白質からなる無菌体百日咳ワクチン)。必要に応じて、動物モデルの適性を確認するために対応する感染物質を用いて攻撃/防御試験を実施できる。当該試験から得られたデータの解釈で最も関心のある点は、動物モデルがどの程度密接にヒト疾患およびヒトでの免疫反応と似ているかである。動物モデルが、しばしばヒトでの免疫原性と有効性を予測できないことを認識すべきである。

4. 毒性評価

4.1 基本的な毒性評価

進行中のワクチン開発分野と照らし合わせて非臨床安全性評価を検討する必要がある。したがって、利用可能な最良の科学に基づく判断が、常に非臨床安全性試験の必要性、試験の種類ならびに試験デザインに関する決定の基礎となるべきである。同様に、前臨床データの解釈に科学的判断を適用して、リスク/ベネフィット比、動物モデル、投与などを検討すること。例えば、動物モデルにおける過敏反応がかならずしも臨床試験への移行を妨げるものではないが、特定の臨床パラメータを注意深く監視する必要性を示すことがある。

- セクション 4.1 は、ワクチンに対する前臨床毒性試験をデザインするための一般的な枠組みを示す。前臨床安全性試験が必要とみなされる状況で、本セクションで述べるパラメータは、ヒトにおける臨床試験を開始する前の最低安全性評価と考えられる。毒性試験のデザインは製品特有で適応症に基づくものなので、製品の特性、動物モデルの利用可能性、方法などによって、以下に示す枠組みに修正が必要となることがある。
- セクション 4.2 では、個別に特別毒性評価を実施するための追加的な検討を取り上げる。

4.1.1 試験デザイン

臨床的研究に進むことが安全で妥当であるという結論を出すために、前臨床毒性試験はワクチンの潜在的な毒性作用を特定し、検討するのに適切なものである。動物を用いた毒性試験をデザインする際に考慮すべきパラメータは、適切な動物種/系統、投与スケジュールおよびワクチン投与方法ならびにエンドポイントの評価 (例えば、臨床化学、抗体評価、剖検など) のタイミングである。投与経路は臨床試験で使用する経路に一致すること。特定の用具を用いてワクチンをヒト臨床試験で投与する場合、実行可能であるなら、同じ用具を動物試験で使用する (たとえば、サルモデルにおける麻疹エアゾル・ワクチン)。標的臓器、用量、曝露経路、曝露期間と頻度および観察された毒性作用の潜在的な可逆性に関して、製品の潜在的な毒性作用を評価する。ワクチン製剤の毒性評価は、a) 専用の単独の毒性試験または b) 試験デザインに毒性エンドポイントを組み込んだ安全性/活性を併せた試験のいずれかで実施でき

る。これには、局所忍容性の評価も含めること。

4.1.2 動物の種、性別、年齢、群の大きさ

毒性試験に使用する動物に関するデータは、供給源、動物種および動物飼育方法（例えば、収容、給餌、動物の取り扱いと管理）に関する情報を含める。一般的に、異系交配動物の使用が推奨される。動物に試験の実施を妨害する可能性のある状態がないことを確認するために、適切な獣医学慣習にしたがって、動物の健康状態を評価する必要がある。例えば、交差感染の危険性を少なくするために、実験動物の単独収容が必要なことがある。

可能な場合、ワクチンの生物学的作用に感受性のある動物種で、製品の安全性プロフィールを検討すること。理想的には、病原微生物または毒素に感受性のあるものとする。使用する動物種はワクチン抗原に免疫反応を生じるものとする。一般的に、臨床試験の開始を支持するためには、毒性試験では1種類の妥当な動物種で十分である。しかし、例えば、ワクチンにより誘導される防御メカニズムが十分に理解されていない場合には、製品を特徴付けるために2種類以上の動物種が必要なことがある（例えば、経鼻インフルエンザワクチンおよび経鼻麻疹ワクチン）。

また、製品の薬力学に関して、種特異的または系統特異的な差が認められる場合は、複数の安全性試験において複数の動物モデルを用い、製品の非臨床安全性を検討する必要がある。

投与群のサイズは選択した動物モデルにより決定される。すなわち、ヒト以外の霊長類を用いた試験の動物数なら、げっ歯類の試験での数より少ないと予想される。ラットやマウスなどの小型動物モデルでは、約10匹/性別/群で試験することが推奨される。

一般的に、試験開始時に、げっ歯類のおおよその年齢は6~8週齢、ウサギでは3~4ヶ月齢である。

4.1.3 用量、投与経路、対照群

候補ワクチンに対する動物の曝露および抗体反応のピークなど誘導される免疫反応を最大にする用量で、毒性試験を実施する。一般的に、基本的な毒性評価の一部としての用量反応評価は不要であり、致死量を求める必要はない。しかし、どの用量が動物モデルで最高の抗体生成を誘導するかを決定するために、用量反応の予備試験を実施できる。実行可能なら、臨床試験で使用する最高用量（絶対値）を動物モデルで評価する。しかし、単回投与で投与できる総容量によって、用量が制限されるので、動物の福祉に関するガイドラインに従うこと。こうした場合は、同じ投与経路を用いて、複数の部位に総容量を投与できる。あるいは、mg/kgでのヒト用量を超える用量、または動物モデルで免疫反応を誘導する量を利用できる。この場合は、ヒトと動物間差を正当とする理由を示すこと。

動物モデルへの投与回数は、ヒトで申請する投与回数以上とする。申請臨床用途をよりよく

シミュレートするために、ワクチン投与は連日投与ではなく、間歇投与とすること。毒性試験で用いる投与間隔は、申請臨床投与間隔より減らすことができる(例えば、2から3週間間隔)。動物モデルで観察される一次および二次の抗体反応の状態に基づいて、非臨床投与間隔を定めることができる。ワクチンで誘導される抗体が、生ウイルスベクターを中和して、対象遺伝子の発現を制限すると予想される状況では(例えば、抗アデノウイルス免疫反応)、または動物に誘導された免疫反応がワクチン製剤中に存在する種特異的蛋白と反応すると予想される場合は(例えば、アジュバントとして使用されるヒト組み換えサイトカイン)、単回投与の試験が実施される。

投与経路は臨床で使用予定の経路と一致するものとする。特定の投与経路(例えば、経鼻)を用いた安全性試験で毒性作用が観察される場合は、異なる投与経路(例えば、静脈内)を用いた別の毒性試験が製品の毒性の全体像を理解するのに有用なことがある。

試験デザインには投与のベースライン・レベルを評価するために陰性対照群を含める。必要に応じて、比較対照群(抗原を含まないワクチン製剤)を追加できる。試験では、投与期間に認められた有害作用の可逆性の評価、潜在的な遅延性有害作用の評価のために、投与後後期の測定点で屠殺して、評価するための追加投与群を設ける。

4.1.4 監視するパラメータ

毒性試験では、輸出リンパ節に対する作用、全身毒性および免疫系に対する作用を含めて、局所炎症反応の可能性を検討する。毒性試験からは広範な情報が得られる。生存中に監視すべきパラメータには、毎日の臨床観察、週毎の体重および週毎の摂餌量を含める。体重と摂餌量は「病気」を示す敏感なパラメータであるので、実行可能なら、投与後第1週では、体重と摂餌量を頻繁に測定することが推奨される。初回と最終投与後1から3日および回復期間終了後に、血液学および血清化学の中間分析を考慮すること。血液学および血清化学分析には少なくとも、それぞれ相対的および絶対的な白血球分類(リンパ球、単球、顆粒球、異形細胞)ならびにアルブミン/グロブリン比、酵素、電解質が含まれる。場合によっては、凝固パラメータ、尿試料、血清免疫グロブリン・クラスなどを評価することも有用かもしれない。投与期間だけでなく、投与を行わない期間後にも(例えば最終投与後2週間以上)、データを収集して、潜在的な有害作用の持続性、増悪および/または可逆性を検討すること。

試験終了時には、最終体重(絶食)を求める。終了時の血液試料を採取し、セクション4.1.4(監視するパラメータ)に記載するとおり血清化学、血液学および免疫学的検討を行うこと。動物モデルが適切であったことの確認でもある動物曝露を確認するために、ワクチン候補により誘導された免疫反応を評価する。肉眼病変と臓器重量を含む完全な肉眼剖検と組織採取を実施すること(添付資料1、32)。病理組織評価を実施し、免疫臓器、すなわちリンパ節(局所および適用部位から遠位)、胸腺、脾臓、骨髄およびパイエル板または気管支関連リンパ組織、ならびに特定の投与経路により主として影響を受ける臓器に特に注意を払うこと。病理組織学的検討には、常に重要臓器(脳、腎臓、肝臓、生殖臓器)およびワクチン投与部位を含めるこ

と。検討すべき組織リストの範囲（すなわち、免疫および重要臓器に限定した縮小リストから、添付資料1に示す完全リストまで）は、対象ワクチンおよびワクチン成分についてそれらの非臨床および臨床試験で得られた知識と経験により決まる。例えば、過去の非臨床および臨床経験のない新規のワクチンの場合には、組織検討は全て必要となる。関連規制当局と協議した後、必要ならば検査する組織リストを作成する。収集した値について全データを報告し、要約を付けること。

4.1.5 局所忍容性

反復投与毒性試験の一部として、または単独試験として、局所忍容性評価を実施する。投与方法によるワクチン抗原と接触する部位、およびワクチンに偶発的に曝露される部位（眼の曝露）でも、忍容性を求めること。詳細は他の文書に発表されている（24）。

セクション 4.1 に示す基礎的な毒性試験で異常が認められる場合は、毒性作用のメカニズムを評価するために、さらに試験が必要である。

4.2 追加毒性評価

4.2.1 特別な免疫学的検討

場合によっては、非臨床および臨床試験または自然疾患データに由来する免疫反応評価の結果が、毒性の免疫学的側面、例えば、免疫複合体の沈殿、分子的レベルの反応の結果として宿主自身の抗原決定基に対する体液または細胞性免疫反応（Verdier 2002; Wraith, Goldman & Lambert, 2003）または疾患の悪化（例えば、不活化麻疹ワクチン）を示すことがある。こうした場合は、観察された作用のメカニズムを検討するための追加試験が必要だろう。

ワクチン決定基と宿主分子が非常に類似していることから、誘導される自己免疫反応が生じる可能性がある（26）。したがって、分子的な類似がかならずしも自己免疫にかかりやすくする素因とは限らないことが認められているが、宿主抗原との擬態を示す可能性のあるワクチン抗原は慎重に検討すること。

上記の問題を検討するための適切な動物モデルを選択し、開発するには相当な努力が必要であるので、自己免疫病理と関連する疾患に対するワクチンを開発する際は、注意を払い、しっかりとした根拠を示すこと。

データから、ワクチンが対象とする病原菌が自己免疫病変を引き起こす可能性が示唆される場合は、検討のために適切な動物モデルが存在すれば個別に試験を実施する必要がある。

自己免疫反応に対する生物学的マーカーの観察は必ずしも、発病性の結果と関連しないことに留意する。例えば、自己免疫抗体の存在は、必ずしも自己免疫病の誘発を示すわけではない（36）。

抗原、アジュバント、賦形剤および保存剤により誘発される過敏反応が懸念される場合は、追加検討が必要である。

4.2.2 発生毒性試験

小児期の免疫に適応されるワクチンには、一般的に発生毒性試験は必要ない。しかし、ワクチンの標的集団に妊婦および妊娠可能な女性が含まれる場合は、製造業者が発生毒性試験は必要ないという科学的および臨床的に信頼できる証明が行われない限り、発生毒性試験を考慮すること。予防用ワクチンについては、主な懸念は発育中の胚/胎児/新生児に対する潜在的な有害作用であるので、生殖毒性評価は出生前後の発生試験に限定される。受胎能評価と離乳後評価の必要性は、個別に検討する必要がある。選択した動物モデルはワクチンに対して免疫反応を生じるが、通常は血清抗体により測定される。また、臍帯血または胎児血中のワクチン誘導抗体を測定することにより母体の抗体の移行を評価し、母体の抗体に対する胚/胎児の曝露を検証することが重要である。投与経路は臨床投与経路とすること。理想的には、ヒトでの最高用量を投与する。総容量投与の制限などの理由により、ヒト用量全量を投与できないか、または母体に対するストレスを生じるような局所毒性が認められる場合は、mg/kgでのヒト用量を超える用量で、動物で免疫反応を誘導できる量を使用する。

器官形成期のワクチンの潜在的有害作用を評価するために、一般的に ICH S5a 文書で C、D および E 段階と規定された着床から硬口蓋閉鎖および妊娠終了までの期間に妊娠動物をワクチンに曝露させる (29)。使用するほとんどの動物モデルの妊娠期間は比較的短いので、ワクチンにより誘導される免疫反応に対する胚/胎児の曝露を確実に最高にするために、交配前投与が必要なことが多い。予防用ワクチンについては、投与回数は、反応開始と反応持続期間により決まる。妊娠期間全体にわたり高レベルの抗体を維持するために、そして発生中の胎児をワクチン製剤の実際の成分に曝露させるために、妊娠期間のある時期に追加接種が必要なことがある。エンドポイントには、生存性、吸収、流産、胎児重量および形態が含まれるが、これらに限定されない。胚/胎児の発生に対する製品の潜在的毒性作用を評価するために用いるエンドポイントに関する指針についての他の発表物を参照のこと (29)。試験デザインに出生から離乳までの児動物の出生後フォローアップを組み込んで、正常発育、体重増加、哺乳活動および生存性を評価することが推奨される。したがって、試験群をサブグループに分けて、それにより動物の半数は帝王切開の対象として、半数は児を分娩させるように試験をデザインすること。

4.2.3 遺伝毒性およびがん原性試験

通常は最終ワクチン製剤に遺伝毒性試験は必要ない。しかし、新アジュバントや添加剤など特定のワクチン成分には必要な場合がある。必要に応じて、最初のヒト曝露前に、突然変異および染色体障害を評価するための *in vitro* 試験を実施する。遺伝毒性に対する一連の試験を、臨床試験と平行して実施できる (30)。

ワクチン抗原にがん原性試験は必要ない。しかし、新アジュバントや添加剤など特定のワクチン成分には必要な場合がある。

4.2.4 安全性薬理

安全性薬理の目的は、重要機能に対する候補ワクチンの影響を検討することである。非臨床および/またはヒト臨床試験のデータから、ワクチン (例えば、特定のトキシイドに基づくもの) が免疫系以外の生理的機能 (中枢神経、呼吸、心血管、腎機能) に影響をおよぼす可能性がある場合は、毒性評価に安全性薬理試験を組み込むこと。本主題に関する有用情報は、ヒト用医薬品に対する安全性薬理に関する指針に対する注釈に示されている (31)。

4.2.5 薬物動態試験

通常は薬物動態試験 (例えば、ワクチン成分の血清または組織中濃度の測定) は必要ない。特定の試験の必要性は個別に検討すべきであり (例えば、新アジュバントまたは代替投与経路)、注射部位へのワクチン成分の滞留とその後の分布 (例えば、輸出リンパ節) を評価する局所沈着試験 (local deposition study) を含めることができる。新製剤、新アジュバントまたは代替投与経路を使用する予定の場合は (例えば、経口また経鼻)、分布試験を考慮すること。

5. 特別な考慮点

5.1 アジュバント

特定の抗原に対する免疫反応を増強するか、または特定の免疫反応を標的にするために、アジュバントをワクチン製剤に含めるか、またはワクチンと同時に投与する。使用するアジュバントが当該地域の薬局方要件に適合し、許可されていない毒性を引き起こさないことが重要である。

アジュバントの活性は複数の要因の結果であり、通常、ある特定の抗原/アジュバント製剤で得られた免疫反応を他の抗原に外挿できない。各抗原は物理学的、生物学的特性が異なり、アジュバントからの支援に関しても抗原は異なる可能性がある。どういう型の免疫反応を望むかに基づいてアジュバントを選択して、関連リンパ組織に対する提示を確実にするために両者の分布が至適になるように、アジュバントを抗原と共に製剤化しなければならない。ワクチン

投与経路もアジュバントの有効性と安全性に影響を及ぼす重要要素である。

前臨床免疫原性試験で、アジュバントの作用を証明すること。新アジュバントに対して毒性学的データが存在しない場合は、アジュバントのみの毒性試験を最初に実施する。一般に、新化学物質に対し要求されるとおりに、新アジュバントの評価を行うこと（33、35、35）。ワクチン製造業者またはアジュバント製造者がこれらのデータを準備できる。アジュバント自身の安全性評価に加えて、抗原／アジュバントの組み合わせが個々の成分と比較して動物モデルに相乗的有害作用を起こすかどうかを評価することが重要である（21、22）。新アジュバントとして種特異的な蛋白質を用いる場合は（例えば、サイトカイン）、種特異的な反応の問題を考慮すること。

アジュバント／ワクチンの組み合わせの安全性プロフィールを評価する際は、臨床使用に申請する製剤を使用する。

ワクチン中に存在する全抗原成分とアジュバントの適合性を評価する（例えば、免疫干渉の欠如）。

適合する場合、ワクチン中に存在する全抗原成分の吸着がロット間で一貫していることを示すこと。製品の免疫原性ばかりでなく毒性プロフィールにも影響を与える可能性があるため、製品の有効期間中における抗原の潜在的な脱着の検討を安定性試験の一部として実施し、報告し、規格を定めること。

アジュバントはそれ自体が承認されるのではなく、特定のワクチンの成分としてのみ承認されることに留意されたい。

5.2 添加剤（賦形剤および保存剤）

毒性学的データが存在しない新添加剤を使用する場合は、新化学物質に対するガイドラインにしたがって、添加剤のみの毒性試験を最初に実施し、文書化する（34）。セクション4に示すとおり、動物モデルでの特定の最終ワクチン製剤の毒性学的プロフィールばかりでなく、全てのワクチン抗原と新添加剤の適合性を報告する。

5.3 ワクチン製剤およびデリバリーデバイス

液剤、カプセルまたは粉末などのワクチン製剤およびデリバリーデバイスが、ワクチンの取り込みやその有効性と安全性に影響を与える可能性のある要素である。理想的には、動物安全性試験で試験されたデリバリーデバイスとワクチン製剤が、臨床的に使用予定のものと同じであること。しかし、臨床用のデリバリーデバイスを使用できる動物モデルが利用可能でないことがある。こうした場合は、適切な動物モデルを開発するために、パイロット試験を実施して動物モデルにおける薬物デリバリー条件を定めて、至適化し、製品の前臨床安全性の評価に使用できるようにすることが必要である。

5.4 代替投与経路

代替投与経路（例えば、経鼻、経口、経皮、直腸、経腔経路）で投与するワクチン製剤を使用する場合、その効力、至適免疫原性、忍容性、毒性および長期安全性は、非経口経路で投与される製品と異なる可能性があるとして想定できる。したがって、異なる投与経路を申請する場合は、適切な動物モデルで、ワクチン製剤および／またはアジュバント単独を用いて非臨床安全性試験を実施して、これらの投与経路によりワクチン投与に関連する特定の安全性問題を検討しなければならない場合がある。代替投与経路を用いて投与されるワクチンについて、本文書の別の場所に記載したものに加えて検討する必要がある問題を、以下で考察する。

5.4.1 動物モデル

代替経路で投与されるワクチンについて特に検討すべきは、選択された特定の動物モデルにおけるワクチン投与部位の解剖と生理、ならびにその試験物質投与に対する親和性である。例えば、経鼻投与製品については、選択される動物種は理想的には製品の噴霧投与を受け入れられるものとする。一般的に、ウサギとイヌは噴霧デバイスの使用に対する有用な試験モデルであるが、嗅球は高度に保護されていて、試験物質がこの器官に確実に届くためには特別の技術が必要だろう。マウスとラットは経鼻投与に対する有用なモデルであるが、試験物質の投与は小滴に限定される。特に経鼻投与後に（例えば、経鼻麻疹ワクチン）対象微生物による感染に感受性がある場合は、ヒト以外の霊長類も考慮できる。

特定の投与経路に関する懸念レベルによって、または候補ワクチンに対する動物の感受性に関して種特異的な差が存在する場合は、複数の安全性試験で、複数の動物モデルで製品の非臨床安全性を検討することが必要だろう。

5.4.2 用量

非経口投与を用いた試験から求めた至適用量は、代替投与経路に対し使用する用量とは異なる可能性があるため、特定の投与経路について用量設定試験を実施する必要がある。投与する試験物質の総容量は安全性試験の転帰に影響を与える可能性があるため、総容量を検討すること。例えば、マウスの鼻孔あたり 5 μ l を越える試験容量の経鼻投与をすれば、試験物質は鼻粘膜に吸着されずに飲み込まれてしまうだろう。

5.4.3 エンドポイント

毒性のエンドポイントには本文書のセクション 4 に記載されたものが含まれることになるが、投与経路、特定の経路に伴う特別の問題および標的器官によって決まる追加検討事項を含めることができる。例えば、経鼻投与後にワクチン成分が脳に通過する可能性に対する懸念がある場合は、免疫組織学試験および“in situ”法および／または神経学的測定と検討を行う必要があるかもしれない。吸入により投与されるワクチンについては、検討事項には肺機能試験と肺の組織病理に関するデータなどが含まれる。新投与経路に関連する潜在的な安全上の懸念を

検討するための適切な方法を開発するために、かなりの努力を払う必要がある。

5.4.4 免疫原性評価

血清学的試験だけでは粘膜ワクチンに対する関連免疫反応を反映しないことがあるので、粘膜免疫反応を測定する適切な測定法の開発が、粘膜免疫原として機能すると予想されるワクチンに重要である。したがって、血清学的反応の測定に加えて、T細胞反応、抗体分泌細胞およびサイトカイン生成を評価することが必要だろう。また、ワクチンの抗原投与から遠位の部位における局所および全身反応の誘発を評価するために、測定法を開発する必要がある。

6. 特定の種類のワクチンに対する検討

セクション3、4および5に示した試験方法に加えて、適切な *in vitro* および *in vivo* 試験法を用いて特定の製品の種類に関する安全性上の問題を検討するために試験が必要なことがある。以下で、生弱毒化ワクチンおよび複合ワクチンに対する特定の試験要件を考察する。他の製品カテゴリーについては、ワクチンの製造と管理に関する詳細情報が製造と管理に関するWHO指針文書に示されているので(6)、参照すること。例えば、最近作成されたDNAおよび合成ペプチドワクチン(17)ならびにHib抱合ワクチンなどの特別なワクチンに対するガイドラインでは(38)、非臨床試験に関連する問題が考察されているので、対象ワクチンの非臨床試験に対する適切なデザインを開発する際に考慮する。

6.1 生弱毒化ワクチン

弱毒化の程度の評価および弱毒株の表現型の安定性が、生弱毒化ワクチンの非臨床試験プログラムに対する重要な検討点である。この目的では、弱毒化の実験室マーカーは非常に有用である。これらのマーカーは弱毒化ワクチンと病原性が完全な野性型を区別できるものであり、理想的には完全病原性への部分復帰を検出できることが望ましい。弱毒株の表現型の安定性を評価するために、製造に使用する最高継代数を超えて製造条件下でワクチンを継代する。ワクチン製造に使用する条件下以外での継代で、弱毒化の安定性も評価できる。例えば、温度を上昇するか、低下することにより毒性復帰に対する選択圧力を与えることができる。次に弱毒化マーカーを用いて、新ワクチンシード調製物の適格性を評価し、弱毒表現型の製造条件下での有意な変更の影響を監視できる。

野性型微生物が神経親和性であるか、ウイルスワクチンの弱毒化に神経組織による継代が使用された場合は、少なくともワクチンシードのレベルで神経病原性に対する試験を実施する。神経病原性試験は必ずしも全ての生弱毒化ワクチンに必要なわけではない。適切な神経病原性試験に対する規格は、被験微生物によって決まり、弱毒化ワクチンと病原性が完全な野性型を区別するものであり、理想的には完全病原性への部分復帰を検出できることが望ましい。このため、特定の標準品が必要なことがある。小動物モデルでの神経病原性試験は許可される。

生弱毒化ワクチンが遺伝子組み換え微生物に基づいている場合は、前臨床評価の一部として環境リスクアセスメントが必要なことがある。投与後におけるワクチン微生物排泄の可能性に関する検討は、環境リスクアセスメントに貢献する。全ての生弱毒ワクチンについては、非ワクチン株との遺伝情報交換の可能性に関する情報が必要とされることがあり、この目的のためのデータを提供できる適切な非臨床試験をデザインできる。

6.2 複合ワクチン

ヒト臨床試験開始前に、利用可能なら、動物モデルで、製剤について、あるいは抗原または血清型の再構成時に生産される新複合物について適切な免疫原性の検討を行う（7、8）。複合抗原を適当な物理化学的方法で検討して、アルミニウム・アジュバントに対する吸着の程度などの複合による抗原特性の変化の可能性ならびに複合の安定性を評価すること。

反応の質、潜在的な干渉および複合抗原間の不適合を含めて、ワクチン中の各抗原に対する免疫反応を評価する。動物で個々の抗原と比較して新複合ワクチンを試験して、反応の増強または減少が生じるかどうかを判定するのが望ましい。

特に複合する抗原および／またはアジュバントが毒性問題を引き起こす懸念がある場合は（例えば新アジュバント）、個別に新複合ワクチンの安全性を動物モデルで評価すること。

既に承認された複合ワクチンから新候補単成分ワクチンを開発する場合にも（例えば、一価 OPV 対三価 OPV）、非臨床試験に関する同様の検討を適用する。

著 者

ワクチンの前臨床評価に関する本ガイドラインの第一草案は、2002年3月14～15日に RIVM で開催された会議後に、WHO 起草グループにより作成された。

Dr M. Gruber, Scientific Reviewer, Division of Vaccines and Related Products Application, Center for Biologics Evaluation and Research, Food & Drug Administration, Rockville, MD, USA;

Dr A. Homma, Bio-Manguinhos Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro, Brazil;

Dr J.G. Kreeftenberg, Bureau for International Cooperation, National Institute of Public Health and the Environment (RIVM), Bilthoven, the Netherlands;

Dr J.W. van der Laan, National Institute of Public Health and the Environment (RIVM), Bilthoven, the Netherlands;

Dr E. Griffiths, Coordinator, Quality Assurance and Safety of Biologicals Team, WHO;

Dr I. Knezevic, Quality Assurance and Safety of Biologicals Team, WHO.

1) 参加者 (Dr Florence Fuchs, Dr Dominique Masset, Dr Christelle Ratignier and Dr Marc Pallardy (AFSSAPS)) により 2002年6月17日に AFSSAPS、リヨンで開催された特別免疫学的検討に関する討議、および 2) 2002年7月1～2日にジュネーブで開催された起草グループの会議後に、第二草案が作成された。

以下の参加者により 2002年12月12～13日にジュネーブで開催された非公式な WHO Consultation on Preclinical Evaluation of Vaccines: Regulatory Expectations 後に、第三草案が起草グループにより作成された。

Dr T. Bektimirov, Deputy Director, Tarasevic State Research Institute for Standardization and Control of Medical Biological Preparations, Moscow, Russian Federation; Dr E. Chaves Leal, Vice Director, Instituto Nacional de Control de Qualidade Saude, Rio de Janeiro, Brazil; Dr W. Egan, Acting Director, Office of Vaccines Research and Review, Center for Biologics Evaluation and Research, Food & Drug Administration, Rockville, MD, USA; Dr E. Griffiths, Associate Director General, Biologics and Genetic Therapies, Health Canada, Ottawa, Canada; Dr M. Gruber, Scientific Reviewer, Division of Vaccines and Related Products Application, Center for Biologics Evaluation and Research, Food & Drug Administration, Rockville, MD, USA; Dr M. Haase, Paul Ehrlich Institut, Langen, Germany; Dr A. Homma, Developing Country Vaccine Manufacturer's Network., c/o Bio-Manguinhos Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro, Brazil; Dr J.G. Kreeftenberg, Bureau for International Cooperation, National Institute of Public Health and the Environment (RIVM), Bilthoven, the Netherlands; Dr J.W. van der Laan, National Institute of Public Health and the Environment (RIVM), Bilthoven, the

Netherlands; Dr R. Leke, Department of Immunology and Microbiology, Faculty of Medicine, University of Yaounde, Yaounde Cameroon; Dr Lei Dianliang, Deputy Director, National Institute for the Control of Pharmaceutical and Biological Products, Beijing, People's Republic of China; Dr Lazara Martínez Muñoz, Centro para el Control Estatal de la Calidad de los Medicamentos, Havana, Cuba; Dr D. Masset, Agence française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé, Saint-Denis Cedex, France; Dr R. Mignolet, RLM Consulting, Wavre, Belgium; Dr P. Minor, Head, Division of Virology, National Institute for Biological Standards and Control, Potters Bar, UK; Dr G. Oreffici, Istituto Superiore di Sanita, Rome, Italy; Dr M. Pallardy, AFSSAPS Veille Toxicologique/Vigilance, St Denis Cedex, France; Dr J. Petriciani, Carlsbad, USA; Dr P. Pitisuttithum, Vaccine Trial Centre, Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University, Bangkok, Thailand; Dr F. Reigel, Vice Director, Swissmedic, Biological Medicines and Laboratories, Bern, Switzerland; Dr J. Robertson, National Institute for

Biological Standards and Control, Potters Bar, UK; Dr L. Slamet, Deputy for Therapeutic Products, Narcotic, Psychotropic and Addictive Substance Control, Directorate General of Food and Drug Control, Ministry of Health, Jakarta, Indonesia; Dr A.K. Tahlan, Central Drugs Laboratory, Central Research Institute, Kasauli, India; Ms C. Chamberlin, Scientific Secretary of European Pharmacopoeia Group of Experts on Vaccines, Strasbourg, France; Dr B. Meignier, IABS c/o Director, External R&D, Aventis Pasteur SA, Marcy l'Etoile, France; Dr B.J. Ledwith, Director, Biologics Safety Assessment, Merck Research Labs., West Point, PA, USA; Dr F. Verdier, Head, Product Safety Assessment, Aventis Pasteur, Marcy l'Etoile, France; Dr G. del Giudice, Head, Animal Models and Serology, Research Center, Chiron SpA, Siena, Italy; Dr M.P. Kieny, Director, IVR, WHO; Dr L. Rago, Coordinator, QSM, WHO; Dr D. Wood, Acting Coordinator, QSB, WHO; Mr L. Belgharbi, ATT, WHO; Dr N. Dellepiane, ATT, WHO; Dr P. Duclos, VAM, WHO; Dr D. Kioy, TDR, WHO; Dr I. Knezevic, QSB, WHO; Dr E. Uramis Diaz, ATT, WHO; Dr S. Osmanov, VIR, WHO.

生物学的製剤標準化に関する専門家委員会 (Expert Committee on Biological Standardization) により 2003 年 2 月に開催された会議で示されたコメントならびに文書の審査者から示されたコメントを考慮に入れて、最終草案は Geneva で 2003 年 6 月 9~10 日に開催された会議で、Dr E. Griffiths、Dr M. Gruber、Dr D. Masset、Dr F. Verdier、Dr D. Wood および Dr I. Knezevic により作成された。

添付資料 1

反復投与毒性試験で採取する組織の一覧

副 腎

大動脈

骨（大腿骨）および関節

骨（胸骨）と骨髓

骨髓塗抹標本（1）

脳

気管支（主管）

盲 腸

結 腸

十二指腸

精巣上体

眼

心 臓

回 腸

注射部位（注射した領域から試料を採取）

空 腸

腎 臓および尿管

喉 頭

-
- (1) 試験中に屠殺された瀕死動物を含め、全動物について予定した剖検時に、骨髓塗抹標本を調製する。塗抹標本はメタノールで固定後、May Grunwald-Giemsa 法で染色する。

肝 臓

肺

リンパ節（下顎）

リンパ節（腸間膜）

乳 腺

食 道

視神経

卵巣と卵管

脾 臓

副甲状腺

パイエル板

下垂体

前立腺

直 腸

唾液腺（下顎、耳下、舌下）

坐骨神経

精 囊

骨格筋

皮 膚

脊髄（頸部、胸部、腰部）

脾 臓

胃

精 巣

胸 腺

甲状腺

舌

気 管

尿 管

膀 胱

子宮 (角+頸部)

腔

全肉眼病変

添付資料 2

用語解説

以下に示す定義は、本ガイドラインで使用する用語に適用する。他の状況では、異なる意味を持つことがある。

アジュバント:ワクチンの関連する免疫反応およびその後の臨床的有効性を増強するための物質

追加ワクチン接種:免疫反応を増強し、長期防御を誘導するために、初回ワクチン後に一定間隔で与えるワクチン接種

複合ワクチン:製造業者により複合されるか、投与直前に混合する2種類以上の抗原から構成されるワクチンで、1) 複数の疾患または 2) 同じ微生物の異なる株または血清型により引き起こされる1種類の疾患を防御するためのもの。

播種 (Dissemination) : 環境への生ワクチンの放出の評価 (例えば、ウイルス排泄)

遺伝子組み換え生物 (GMO) : 交配および/または自然組み換えにより自然に生じない形で遺伝物質が改変されている生物または微生物。この定義はウイルス、ウイロイド、動物由来のものを含む細胞培養に適用されるが、ネイキッド (naked) 組み換え DNA やネイキッド (naked) 組み換えプラスミドには適用されない。

医薬品の臨床試験の実施の基準 (GCP) : 試験のデザイン、実施、モニタリング、中止、監査、分析、報告および文書化を包含し、試験が科学的、倫理的に信頼できるものであること、および対象の医薬品 (診断、治療または予防) の臨床的特性が適切に文書化されることを確実にする臨床試験に対する基準

医薬品の安全性試験の実施に関する基準 (GLP) : 非臨床および環境安全性試験を計画、実施、モニター、記録、保管、報告する組織プロセスと条件に関する品質システム。GLP 原則は、試験の品質、信頼性および完全性、検証可能な結論の報告ならびにデータのトレーサビリティを確実にするための基盤として、満たすべき一連の基準とみなされる。

医薬品の製造管理および品質管理に関する基準（GMP）：医薬品の品質保証の一部であり、製品が意図された使用に適切かつ市販承認により要求される品質基準において一貫して製造・管理されていることを確実にするものである。本ガイドラインでは GMP とは WHO で発表される最新 GMP ガイドラインのことを示す。

免疫原性：抗体媒介性および／または細胞媒介性免疫および／または免疫記憶を誘導するワクチンの能力

ワクチンの非臨床評価：ワクチンの臨床開発前および臨床開発中に実施される全ての *in vivo* および *in vitro* 試験。ヒトでの試験開始前ばかりでなく、臨床開発の全範囲にわたり、ワクチンの潜在的毒性を明確にすべきである。

プラスミド：細菌細胞中で複製可能な二重鎖環状 DNA 分子

効力：適切な定量的生物学的測定法を用いて測定した、関連する生物学的特性と関係する製品の属性に基づいた生物学的活性の指標

ワクチンの前臨床評価：ヒトでのワクチンの初回試験前の全ての *in vivo* および *in vitro* 試験。これは臨床試験開始に対する必須条件であり、ヒトに製品を導入する前に実施する製品の特徴付け、概念の証明／免疫原性試験および動物安全性試験が含まれる。

前臨床毒性試験：候補ワクチン製品の安全性と忍容性を証明するという主要目的でデザインされた試験。前臨床毒性試験デザインは、「試験デザイン」の項に記載された意図した臨床試験を支持するとみなされる基準に適合するべきである。

初回ワクチン接種：臨床的防御を誘導するための最初のワクチン接種、または 6 カ月以下の投与間隔で事前に規定した期間に投与される一連のワクチン接種

製品の特徴付け：特定の製品について実施する一連の物理、化学および生物学的試験。この試験には、工程内管理試験、外来物質の試験、工程添加剤および工程中間産物の試験ならびにロットリリースが含まれるが、これらに限定されない。

プロトコルまたは試験計画：非臨床試験の背景、根拠および目的を記載し、統計的検討を含めてそのデザイン、方法および組織、ならびにそれを実施し管理する条件を説明する文書

適切な動物モデル：ワクチン接種後に予想されるヒト反応と似た免疫反応を生じる動物。種特異的な免疫反応の差が存在する可能性が認められている。理想的には、用いる動物種は病原菌または毒素に対し感受性があること。

投与経路：候補ワクチン製品を宿主に導入する手段。投与経路には、静脈内、筋肉内、皮下、経皮下、皮内、経皮、経口、鼻腔内、節内、腔内および直腸内経路が含まれる。

セロコンバージョン：血清反応陰性から血清反応陽性への変化と関連すると考えられる抗体濃度の事前に規定された増加で、ワクチンの免疫原性に関する情報を提供する。既存の抗体がある場合は、セロコンバージョンは幾何平均抗体濃度の4倍など、事前に規定された低濃度から有意に高い規定濃度までの変化と定義される。

バリデーション：医薬品製造基準の原則にしたがって、手順、工程、機械設備（使用するソフトウェアまたはハードウェアを含む）、材料、活性またはシステムが実際に予想された結果をもたらすことを証明する措置

添付資料 3

参考文献

1. (1997) Biological Standardization and control. A scientific review commissioned by the UK National Biological Standards Board. World Health Organization. WHO/BLG/97.1.
2. (1997) Biotechnology and world health. Risks and benefits of vaccines and other medical products produced by genetic engineering. Proceedings of a WHO meeting. WHO/VRD/BLG/97.01.
3. (2003) Guidelines on Transmissible Spongiform Encephalopathies in relation to Biological and Pharmaceutical Products. WHO/BCT/QSD/03.01.
4. (in press) WHO guidelines for clinical evaluation of vaccines: regulatory expectations. *WHO Technical Report Series*.
5. Griffiths, E. (1988) Efficacy of whole-cell pertussis vaccine, in *Pathogenesis and Immunity in Pertussis* (Wardlaw, A. C. and Parton R., eds.), Wiley, Chichester, pp. 353-374.
6. (2002) Recommendations and guidelines for biological substances used in medicine and other documents, *WHO Technical Report Series* 910, 99-102.
7. (1997) Guidance for Industry for the evaluation of combination vaccines for preventable diseases: production, testing and clinical studies. US FDA.
8. (1999) CPMP/BWP/477/97 - Note for Guidance on Pharmaceutical and Biological aspects of combined vaccines.
9. (1992) Guidelines for national authorities on quality assurance for biological products, *WHO Technical Report Series* 822, 31-46.
10. (1995) Regulation and licensing of biological products in countries with newly developing regulatory authorities, *WHO Technical Report Series* 858, 21-35.
11. (2002) Scientific considerations for the regulation and clinical evaluation of HIV/AIDS preventive vaccines, *AIDS*, 16, W15-W25.
12. (1992) Good manufacturing practices for biological products. *WHO Technical Report Series* 822, 20-30.