

and the observation period, in view of the administration method for clinical use.

2.1.2 Selection of animal species/model

Although relevant animal models are not always available for non-clinical safety studies for vaccines, animal species should be selected by vaccine.

Ideally, animal species sensitive to the pathogenic organism or toxin should be used. At least, animal species that are susceptible to the biological activity of the vaccine, e.g. animal species that develop an immune response to the vaccine antigen should be used to assess the safety profile.

Although toxicity studies are generally conducted in one relevant animal species before initiating clinical studies, studies using non-human primates are not always required. Both genders should normally be used or justification should be given for specific omissions.

2.1.3 Test material

The test material that is used in non-clinical safety studies for vaccines should be comparable to the vaccine formulation proposed for clinical studies in terms of the formulation and composition.

2.1.4 Route of administration

The route of administration should be the same as the intended route in clinical studies. If the use of the intended route in clinical studies is not feasible for practical reasons, an alternative route may be acceptable, but justification needs to be given.

2.2 Basic non-clinical safety evaluation: Specific considerations

2.2.1 Single dose toxicity studies

Single dose toxicity studies should be conducted usually in one animal species, using one dose, in terms of the appropriate safety margin over the human clinical dose. The single dose toxicity may be evaluated following the administration of the first dose in a repeated dose toxicity study.

2.2.2 Repeated dose toxicity studies

The repeated dose toxicity should be evaluated usually in one animal species. Concerning the duration and frequency of administration, intermittent administration should be used in view of the proposed schedule for the clinical studies and the frequency of administration should be increased compared to that for clinical use, taking account of the immune response induced such as the antibody response of the animal. The same dose as the human clinical dose per administration (/body) should be chosen. Depending on the animal species used, it is necessary to choose an appropriate dose. Namely, if it is physically difficult to administer the human dose (/body) in rodents, doses exceeding the human dose may be chosen based on mg/kg (or mL/kg) by weight adjustment. If adequate safety margins cannot be established using the human clinical dose per administration

(/body) in non-rodents, a dose that is several times higher than the human clinical dose per administration may be chosen. If toxicological findings are observed at the dose used, a study at a lower dose should be considered. The general condition should be observed, paying special attention to the condition of the administration site and hypersensitivity reactions, etc. Pathologic examination should be performed, paying special attention to the impact on the immunologic organs and the lymph nodes in the vicinity of the administration site, as appropriate. If toxic changes are observed, their reversibility should be assessed. If there is a concern about delayed adverse reactions, additional arms should be included as appropriate.

2.2.3 Reproductive performance and developmental toxicity studies

Evaluation of the effects on fertility and early embryonic development to implantation is needed when histopathologic examination in repeated dose toxicity studies has indicated that the reproductive organs might be affected. Evaluation of the effects on embryo-fetal development is needed when there is no scientifically valid evidence for the assurance of the safety of vaccines to be inoculated to pregnant women or women of child bearing potential. Evaluation of the effects on pre- and postnatal development, including maternal function, is required when there is no scientifically valid evidence for the assurance of the safety of vaccines intended for use in pregnant or nursing women. Studies should normally be conducted in one animal species and the dosage intervals and the frequency of administration should be determined in view of the schedule of administration intended for clinical use.

2.2.4 Genotoxicity studies

In general, genotoxicity studies are not needed for vaccines.

2.2.5 Carcinogenicity studies

In general, carcinogenicity studies are not needed because the frequency of administrations is limited for vaccines.

2.2.6 Local tolerance studies

Local tolerance may be evaluated as separate studies or as part of single or repeated dose toxicity studies.

2.2.7 Safety pharmacology studies

Safety pharmacology studies should be conducted if vaccines potentially adversely affect the physiological functions other than the immune system (central nervous system, respiratory system, cardiovascular system).

2.2.8 Toxicokinetics

In general, assessment of systemic exposure is not needed.

2.3 Special considerations

2.3.1 Adjuvants

If it is a novel adjuvant, the toxicity assessment of the adjuvant by itself is required. Special attention should be paid to local reactions and hypersensitivity reactions, etc. following repeated administration. Toxic reactions may vary between combinations of a novel adjuvant and an antigen. Therefore, regardless of whether the antigen is novel or not, toxicity assessment of the vaccine formulation containing both the novel adjuvant and the antigen is also required. If a combination of an existing adjuvant and an existing antigen potentially has new toxic effects, toxicity assessment for local reactions, etc. is needed.

2.3.2 Excipients (excluding adjuvants)

If it is a novel excipient, the toxicity assessment of the excipient by itself is required. The need for toxicity assessment of the vaccine formulation containing a novel excipient should be determined by excipient.

ワクチンの非臨床安全性試験に関するガイドライン案に対するQ & A

製薬協 TF5 案

項目	Q	A
1.2 目的	ワクチン安全性試験の目的について4項目が挙げられているが、その1)及び2)について、 1): ワクチンの安全性試験において、標的臓器の特定は必須か? 2): 臓器毒性がないが、投与局所への影響、あるいは免疫系の活性化がみられた場合、可逆性の確認が必須か?	1)ワクチンは基本的に毒性所見が乏しいため、投与限界量においても、標的臓器(臓器毒性)が特定できない場合があると考えられる。よって、標的臓器が明らかではないことも許容される。 2)過剰な投与による局所の変化、あるいは正常な免疫反応による変化について、可逆性の評価は不要と考えられる。但し、認められた局所反応もしくは免疫反応が予想外に強かったり、変化の質が予想外である場合には可逆性の確認が必要な場合もある。
1.3 適用範囲 (この項目は削除)	毎年製造株が更新されるインフルエンザワクチンはなぜ適用範囲外なのか。	代表株(mock-up)について製造承認を得ているため、同じ製法であれば変更株について新たに評価する必要はない。
2.1.1 試験デザイン	完全には GLP 適合で実施できない状況とどのような事例が想定されるのか。 反復投与毒性試験で実施する血液学的検査あるいは血液生化学的検査において、特に考慮すべき項目はあるか。	各種ワクチンの特殊性により検討されるべきであり、全てのワクチンに共通する例示は困難であるが、例えば以下のような場合が考えられる。 1)生ワクチンの試験では他の試験に悪影響を及ぼさないようにするためにバイオハザードを考慮した特殊な動物飼育施設等が必要となるケースが想定され、このような特殊な施設の GLP 適合が困難な場合。 2)被験物質の特性・安定性の分析に特殊な手法、感染性因子あるいは特殊な施設を使用するなど GLP 適合が困難な場合。 基本的には通常実施されている項目でよいが、血液凝固系パラメータや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。また、検査のタイミングを必要に応じて検討することも有用である。
2.1.2 動物種/モデルの選択	ワクチンの生物学的作用に感受性がある動物種の例として、ワクチン抗原に対する免疫反応を有することが上げられているが、安全性試験の中で抗体産生の確認などにより、免疫反応の有無はどのように確認すればよいのかを確認する必要はないか。	動物を用いて薬効等を検討する段階で、抗体産生などが確認されるはずであり、この段階で生物学的作用の感受性に関する情報が得られる。

	<p>安全性試験の中で抗体産生を確認する必要はないか。(上項に合体させた)</p> <p>感受性を有する動物種が複数種(げっ歯類、霊長類)ある場合にはどの動物種を選択すればよいのか。</p> <p>感受性を有する動物種を見出せない場合の動物種選択はどのように考えればよいのか。</p>	<p>動物を用いて薬効等を検討する段階で、抗体産生が確認されるはずであり、この段階で安全性試験に使用する動物種における抗体応答の有無に関する情報が得られる。</p> <p>感受性の程度、毒性試験動物としての利用のしやすさ(バックグラウンドデータの蓄積、検査のしやすさ)などより総合的に判断すればよい。</p> <p>薬効評価の段階で動物の感受性に関する何らかの情報が取得できると思われる。もし、感受性を有する動物種がなかった場合には、その旨を明らかにしておく必要があるが、感受性を有する動物種がないとしても毒性試験を実施しなくてよいとする理由にはならない。なお、生ワクチンの場合、動物種特異性がある可能性が考えられるが、不活化ワクチンの場合、何らかの抗体応答があるのが一般的である。</p>
2.2.1 単回投与毒性試験	<p>反復投与毒性試験の初回投与後に単回投与毒性を評価する場合には、単回投与毒性と反復投与毒性の投与量が同一量になるが、投与量の設定についてどう考えればよいのか。</p> <p>ワクチンで大量投与時の毒性を評価する必要はあるのか。</p>	<p>単回投与毒性試験では適切な安全域を確保できる用量を選択する必要があるが、例えば小動物などで反復投与毒性試験の用量に単回投与毒性を評価するに妥当な安全域があると判断される場合には、反復投与毒性試験の中で単回投与毒性が評価可能と考えられる。</p> <p>ワクチンも医薬品であること、抗原成分以外に添加物質も含有されていることより、基本的な毒性情報として単回投与毒性が必要と考えられる。なお、生ワクチンについては反復投与毒性試験では初回投与時に産生された抗体により2回目以降に投与されたワクチン抗原が中和される可能性も否定できず、このようなケースにおいては単回投与によって毒性を評価する方がより適しているかもしれない。</p>
2.2.2 反復投与毒性試験	<p>ワクチンのヒトでの投与間隔は長い(数週間～数ヶ月)。臨床投与方法を考慮して投与間隔を設定するとしているが、具体的にどのような投与間隔にするとよいのか。</p> <p>生ワクチンの場合、ワクチン投与により産生された抗体により2回目以降に投与された被験物質(生ワクチン)が中和されてしまう可能性があるが、生ワクチンでは反復投与毒性試験を実施する意義はあるのか。</p>	<p>製剤毎に設定されるものであり、共通の尺度を設けるのは困難であるが、投与後の抗体産生の推移が1つの目安となるかもしれない。</p> <p>生ワクチンにおける反復投与毒性試験の必要性については、抗原以外の成分に対する毒性評価の観点、ヒトでの投与回数などより総合的に判断する必要がある。</p>

	遅発性の副作用とはどのようなものを指すのか。	既存のワクチンでは急性散在性脳脊髄炎（接種から2週以内）、急性血小板減少性紫斑病（接種から3週ごろ）などが報告されている。
2.2.3 生殖発生毒性試験	ワクチンの生殖発生毒性の評価では「胚・胎児発生に関する評価」及び「出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する評価」が重視されているが、その理由はなにか。	ワクチン投与による生殖領域への主な懸念は、ワクチン投与により生じた母体抗体の胎児への受動伝達、あるいは免疫反応により生じたサイトカインによる発育中の胚/胎児/新生児に対する潜在的な有害作用である。このため、妊娠可能な女性あるいは妊婦に接種されるワクチンについては「胚・胎児発生に関する評価」及び「出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する評価」が重要である。
	「胚・胎児発生に関する試験」及び「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」について「安全性を担保するための科学的に妥当な根拠」について例示して欲しい。 （この項目は削除）	
	発生毒性試験の投与間隔・期間はどのように設定すればよいのか。	「胚・胎児発生に関する試験」及び「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」のいずれにおいても、臨床の投与計画を考慮して間歇投与を基本とする。いずれの試験でも投与期間は通常生殖発生毒性試験と同様に考えればよいが、投与期間が器官形成期に限定されている「胚・胎児発生に関する試験」では、器官形成期における暴露量及び抗体産生の推移などを考慮して設定する。
	投与期間が短期間のものについては生殖発生毒性試験は不要ではないか。	生殖発生毒性試験の必要性については投与期間、頻度ではなく、製剤が接種される対象者及び製剤の特性により決定されるべきである。
2.2.4 遺伝毒性試験	通常ワクチンについては遺伝毒性試験を必要としないとする理由は何か。	従来型のワクチンは天然に存在する蛋白質であること、またワクチン抗原のような分子量の大きい物質が細胞のDNAに直接作用するとは考え難いため。
2.2.5 がん原性試験	回数が限定されるものの、長期間に渡り投与されるワクチン/アジュバント/添加剤については、がん原性試験が必要か。	毎年接種されているワクチン（インフルエンザや日本脳炎など）であっても、基本的な臨床適用回数は基礎免疫を付与するために接種される回数である。この接種回数を基準に判断すればよい。 なお、長期に使用される可能性のある非感染症治療用ワクチンについては製剤毎に判断されるべきであり、ICH S6 ガイドラインも参考になるかもしれない。

付属文書 1

ワクチンの非臨床評価に関する WHO ガイドライン

本文書は、本領域における規制に関する国際的な期待事項を概説することにより、ワクチンの非臨床評価に関する指針を、国家規制当局 (NRA) およびワクチン製造業者に提供する。ワクチン評価の全プロセスの十分な理解のために、本文書はワクチンの臨床評価に関する指針：規制上の期待事項 (I) と併せて使用すべきである。ワクチンは、多様なクラスの生物学的製剤であり、その非臨床試験プログラムは製品固有の特徴と臨床適応症によって決定される。したがって、以下の本文は勧告ではなく、ガイドラインの形式で書かれている。特定のワクチンに関する問題に関して、ガイドラインは勧告と比してより緩やかな規定となっている。

	ページ
緒 言.....	2
1. 一般的な所見.....	2
1.1 範 囲.....	3
1.2 用語解説.....	4
2. 候補ワクチンの特徴付け.....	7
3. 免疫原性試験および他の薬力学試験.....	11
4. 毒性評価.....	12
4.1 基本的な毒性評価.....	12
4.2 追加毒性評価.....	15
5. 特別な考慮点.....	17
5.1 アジュバント.....	17
5.2 添加剤 (賦形剤および保存剤).....	18
5.3 ワクチン製剤およびデリバリーデバイス.....	18
5.4 代替投与経路.....	18
6. 特定の種類のワクチンに対する検討.....	20
6.1 生弱毒化ワクチン.....	20
6.2 複合ワクチン.....	20
著 者.....	22
参考文献.....	24
添付資料 反復投与毒性試験で採取する組織の一覧.....	28

緒言

バイオテクノロジーと基礎免疫学における最近の進歩により、新ワクチンの開発が広範囲に行われるようになり、感染症予防の可能性への期待が高まっている(2, 3)。既承認ワクチンに対する改良も検討され、新製品や新アジュバントが導入されている。しかし、これら製品の安全性、効力および品質評価に対する基準が存在するわけではなく、製品が複雑で新規性を有するため、科学および規制上の問題が生じている。製品が多様であり、また新アプローチ、技術および方法の開発が常時進行しているため、現時点で利用可能な最良の科学に基づき、これら製品の非臨床評価の種類と範囲に関する決定を行うべきである。

非臨床評価は、ワクチン候補の開発全般において中心的な役割を担っているが、現在これら製品の非臨床評価プログラムに関する指針は充分ではない。この指針では、特に新ワクチンに対する規制上の期待事項に焦点をあて、ワクチンの非臨床評価の一般原則を検討している。

前臨床試験は、候補ワクチンが実験室から臨床へ移行するために必須であり、あらゆる試験、製品の特徴付け、薬効の証明/免疫原性試験、および製品をヒトに導入する前に実施する動物での安全性試験が含まれる。本文書の中では、非臨床評価は、ワクチンの臨床開発前および臨床開発中に実施する全ての *in vivo* および *in vitro* 試験のことを指す。例えば、製造工程または製品処方が変更される場合、あるいは第 I 相と第 II 相試験から生じた、または同様の製品に関する文献中に記載されていた潜在的な安全上の懸念をさらに評価する際に、非臨床評価が必要となる場合がある。

1. 一般的な所見

非臨床試験は、安全性および免疫原性に関するものなど、候補ワクチンの *in vitro* および *in vivo* の特徴を明らかにする目的で行われる。動物での非臨床試験は、ワクチンに対する潜在的なリスクの特定、およびその後のヒトでの臨床試験のプロトコル検討に有用である。しかし、いかなる場合でも、動物で安全性試験を実施する際には、明確な根拠が存在すべきであり、実験動物の保護に関する国内および国際法(4)、バイオセーフティに関する要件(5)ならびに医薬品の安全性試験の実施に関する基準(GLP)(6)にしたがって実施しなければならない。しかし、GLPを完全には遵守できない状況も想定される。試験または試験の一部をGLPにしたがって実施しなかった場合は、遵守していない箇所を明確にし、遵守していない理由を記述すること。

ワクチン製品に対する潜在的な安全上の懸念には、製品固有の毒性、不純物と混入物質の毒性および製剤中に存在する成分の相互作用に起因する毒性によるものが含まれる。また、ワクチンにより誘導された免疫反応から、有毒な副作用が生じることがある。

非臨床毒性試験での予測を最大限に行う努力をしても、全てのリスクを特定できない可能性が常にある。病因と免疫反応は種特異的であることが多いので、ヒトにおける臨床的安全性および有効性を反映する上での動物試験の限界を認識すべきである。さらに、動物試験時に明らかにされた潜在的な安全上の懸念が、必ずしもヒトで問題を示すわけではない。しかし、非臨床毒性試験で観察されたあらゆる兆候をヒト臨床試験で注意深く検討する必要がある、その兆候により追加の非臨床試験が必要となることがある。動物試験で検出可能な毒性がないことが、ワクチンがヒトで安全であることを必ずしも意味するわけではないことにも留意されたい。特定の種類のワクチン候補に関連する潜在的な安全上の懸念については、セクション6で検討する。

ワクチン候補の動物における非臨床評価の代替としての *in vitro* 試験の開発とその後のバリデーションは、非臨床試験の改善ならびに動物利用の減少につながる可能性があるため、奨励される。

非臨床試験の必要性和範囲は、検討対象の製品によって決まる。例えば、非臨床および臨床での検討が過去にない製品については、既に承認され、ヒトで使用されているワクチンの非臨床試験より大規模なものになると予想される。場合によっては、第I相臨床試験を開始する前に、前臨床安全性試験を実施する必要がないことがある。例えば、技術承継の場合は、最初に開発されたワクチンのデータベースが利用できるため、製品の開発をさらに進めるために、非臨床ブリッジ試験由来のデータ（例えば、物理化学的特徴付けおよび簡略化 *in vivo* 試験）を基にすることができるだろう。

非臨床試験の要件および種類に関して合意するために、ワクチン製造業者と管轄の規制当局間の早期コミュニケーションが推奨される。

1.1 範囲

本文書では、ワクチンは、感染症に対し特異的、能動的かつ防御的な宿主免疫を誘導できる免疫原物質を含有する異種の医薬品とみなす。

ワクチンのほとんどは、曝露前および曝露後の予防のために開発されているが、場合によっては、感染症、例えばヒト免疫不全ウイルス（HIV）、ヒト乳頭腫ウイルス（HPV）などに対する治療用に適応とされることがある。感染症を適応症とする予防および治療ワクチンの両方を、本文書で検討する。

ヒト用ワクチンには次のものが1つ以上含まれる。化学的および/または物理的手段により不活化され、適切な免疫原性を保持している微生物；免疫原性を保持しつつ、弱毒性のために

選択された生きている微生物；微生物から抽出されたか、微生物により分泌されるか、組み換え DNA 技術により製造された抗原；キメラ微生物；生きたベクターあるいは核酸投与後に宿主で *in vivo* で生成された抗原、または *in vitro* で化学合成により製造された抗原。抗原は、その天然の状態であるか、突然変異体導入で切断または修飾されたか、化学または物理的手段で無毒化されたか、免疫原性を増加するために凝集、重合または担体に結合されている。抗原は、そのまま、またはアジュバントと結合させて、または他の抗原、添加剤および他の賦形剤と共に提供される。

非感染症用の治療ワクチン（例えば、一部の癌ワクチン）および免疫原として使用されるモノクローナル抗体は、本文書では検討しない。

1.2 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、初回ワクチン接種後に一定の間隔をおいて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、複数の疾患、または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 種類の疾患を防止するためのもの。

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に関する基準 (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網羅し、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の臨床的特性（診断、治

療または予防) が適切に文書化されることを保証する臨床試験に関する基準

医薬品の安全性試験の実施に関する基準 (GLP)

非臨床衛生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保証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、製品がその用途に適切で販売承認により要求される品質基準にしたがって一貫して製造・管理されていることを保証するものである。本ガイドラインでは、GMP とは WHO が発表する最新 GMP ガイドラインのことを指す。

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、臨床開発の全期間にわたり、ワクチンの潜在的毒性を評価する必要がある。

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に実施される、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、製品の特徴付け、薬効の証明/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出荷が含まれるが、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、用いる動物種は試験する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

医薬品の製造管理および品質管理に関する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

2. 候補ワクチンの特徴付け

2.1 ワクチン製造

出発原料の生物学的性質、製造工程、および製品のバッチを特徴付けるために必要な試験方法は、ワクチンの非臨床試験のデザインと解釈において考慮すべき重要な要素である。多くのワクチンは、原核微生物または真核微生物を用いて製造され、これらの微生物のわずかな変化がワクチン製品に根本的に影響を及ぼす可能性がある。したがって、シードロット・システムの確立が、ワクチン生産には不可欠である。さらに、これらの製品の品質、安全性および効力は、一般的に製造条件の変化に敏感である。ワクチン製剤の品質と安全性は最終製剤の試験のみでは保証できず、医薬品の製造管理および品質管理に関する基準（GMP）（7）の原則にしたがった製造工程の厳密な管理が必要である。これには、出発原料（原材料およびシード）の純度と品質の証明、工程内管理試験、工程添加剤と工程中間産物の試験、およびロット出荷試験の確立が含まれる。さらに、物理化学的特性とこれらの製品の免疫原性と有効性の相関は完全には明らかにされていないことが多いので、生物学的測定法を用いた生物学的特徴付けにより、必ず物理・化学的な製品の特徴付けを補足すること。その成分ならびに安全性と効力に関してワクチン製剤を特徴付けるための適切な実験法の開発が、細菌、ウイルスまたは寄生虫に対するあらゆる新規のワクチンの臨床使用に対する必須条件である。

生産の一貫性が不可欠であり、臨床試験において安全で免疫原性および防御性が適切であることが示されたワクチンのロットと、製品が同一のものであるという証明が、ワクチンの評価、承認およびバッチ出荷の根幹をなす。このため、製造業者はこれらの臨床ロットの特徴付けにあらゆる努力を払い、可能な場合は今後の参照用にロットの一部を保存しておく。

効力を試験するための適切な動物モデルが存在しない場合、または臨床的防御の直接的な血清学および免疫学的相関物が利用可能でない場合、攻撃試験は、各生産バッチが、臨床試験で防御性が証明されたバッチと同じ防御効果を有することを確認するものでなければならない。こうした場合は、以前には不可能だった正確さで製品の特徴づけを可能にする、最新の物理、化学および免疫学的方法を用いて、製造の一貫性を保証することに重点が置かれる。

前臨床試験に使用するワクチンのロットは、臨床試験での使用を意図した製剤を適切に代表するものとし、理想的には、臨床試験に使用するのと同じロットで前臨床試験を行う。これが実行可能でない場合は、試験用のロットは、物理化学的データ、安定性、処方に関して同等でなければならない。

少なくとも、臨床試験用の候補ワクチンは、治験薬の医薬品の製造管理および品質管理に関する基準（GMP）（8）の条件下で製造すること。ただし、臨床開発の後期段階では、完全なGMP準拠が要求される（7、9）。

ワクチン開発中に製造工程について提案された変更を注意深く検討し、ワクチンの品質、安

全性および有効性に対する影響および追加の非臨床および臨床検討の必要性を評価すること。

製品承認後の製造方法の変更またはスケールアップには、追加の製品特徴付けを行って、製品の安全性と有効性を証明するために用いた原ロットとの同等性を証明する必要がある。必要とされる同等性試験の範囲は、実施する変更の性質により決まる(10)。これらの変更は文書化し、国の規制当局に相談すること。規制当局は、通知のみが必要な変更と実施前に正式承認が必要な変更とを明確に定義して、規則に盛り込むべきである(11)。

既存の承認済みの従来のワクチンの特徴付けと管理に使用された手順は、同じ感染を防止するために最新技術を用いて開発された新製品に、適用できないと考えられる。例えば、無菌体百日咳ワクチンの製造と管理に関して特定のガイドラインが作成されているが、これは全菌体百日咳ワクチンに適用されるガイドラインとは異なる(12)。同様に、従来の非経口用の不活化コレラワクチンの特徴付けと管理に適用される試験は、経口投与用の新不活化全菌体コレラワクチンには必ずしも適用できないので、経口ワクチン用の適切な効力試験を開発する必要がある。

2.2 効力

効力試験はワクチンの生物学的活性を測定するが、必ずしもヒトでの防御機序を反映するわけではない。効力測定は、製造工程の一貫性を検証するために使用されることが多い。ワクチンの効力試験に関する当初の概念は、抗原性成分が十分に定義されていない場合に、生物学的活性が明らかである参照品と比較し、当該ワクチンの生物学的活性を定量化することだった。

被験ワクチンで免疫した動物における古典的な攻撃試験が開発され、日常的な効力測定法となった(ジフテリアおよび破傷風トキソイドなど)。全菌体百日咳効力測定法は、免疫および非免疫動物の脳内攻撃からなるが、この場合は、ヒトでの臨床的防御との相関性が確認された(11)。適切な動物チャレンジモデルが存在しない場合、効力は、免疫反応、通常は血清学的反応の測定に基づくことが多い(例えば、インフルエンザおよびB型肝炎ワクチン)。

最近になって、組み換えDNA技術および現代の物理化学技術により、従来の生物学的製剤より良好に特徴付けできる高度に精製された製品が製造されるようになった。しかし、こうした製品についても、「適切な」生物学的活性を測定することができない場合がある。これらの製品については、抗原量、抗原のサイズ、蛋白含量などの物理化学的パラメータを用いた特徴付けを一貫性の指標として使用できるが、必ずしもワクチンの効力の指標として利用できるわけではない。

弱毒生ワクチンについては、一般的に効力測定に対するアプローチは異なる。通常、生ウイルスワクチンの効力は、細胞培養またはニワトリ胚での最低感染用量の測定に基づいている。実際には、これは効力の代用マーカーとみなすことができるが、効力測定そのものではない。弱毒生細菌ワクチン、カルメット-گران杆菌(BCG)および腸チフスワクチン(生 Ty21A

経口)の効力測定にも、同様のアプローチが用いられる。ここでは、存在する生微生物の数が効力の指標である。

異種ワクチン抗原をエンコードする挿入物を発現するワクチン(ウイルスまたは細菌ベクターによるワクチン)については、コロニー形成単位(CFU)または感染価を測定することにより、挿入された構築物の「生物学的活性」を測定するのでは十分でない。このようなワクチンの場合は、挿入物の発現の定量またはベクターワクチンの有効量(ED₅₀)の評価など、他の代替法を検討する。

2.3 安定性

ワクチンは、環境要因により非常に不活化されやすいので、その安定性評価は複雑である。生物学的活性に基づく効力試験が不可能な場合を除いて、用語解説で定義されている効力を、安定性試験の一部として測定すること。物理化学的な製品の特徴付けは安定性評価に含める。ヒト臨床試験に進む製品については、前臨床および臨床試験期間にわたる製品の安定性を支持するために、十分なデータを収集すること。場合によっては、加速安定性データを、通常の保存温度で求めた予備データを支持するために利用できる。承認を支持するための安定性データは、申請保存条件で取得し、長期、リアルタイム安定性試験に基づくものとする。最後に、関連するパラメータの測定に使用する手順が確実に標準化されていることを確認するために、標準品および参照品の安定性も検討する必要がある。

2.4 国際的ガイドラインと国内ガイドライン

世界保健機構(WHO)は、国際的な協議を重ね、ワクチンおよび他の重要な生物学的製剤の製造と管理に関する勧告およびガイドラインを作成した(13)。これらの文書が、世界的に製品の許容性を保証する基礎となり、シードロット・システムや細胞バンクなどの適切な出発原料の必要性；確立されたプロトコルの厳密な遵守；製造中の特定段階における純度、効力および安全性試験；ならびに適切な記録の保管を規定する。特定のワクチンに関する問題に関して、ガイドラインは勧告と比してより緩やかな規定となっている。

WHOは、ワクチン製造に関わる製造施設に関するガイドラインも提供している。勧告は、生物学的製剤の製造管理および品質管理に関する基準についてのWHO文書に示されている(7)。製造工程と試験手順の双方の標準作業手順書の作成に、特に注意を払う必要がある。標準作業手順書はワクチンの開発期間のできるだけ早期に導入し、第Ⅲ相臨床試験を実施し、販売承認申請書を提出する時まで適切に定めること。ワクチンの製造および管理に関する基本原則は、WHO Technical Report Series(7, 14~18)に示されている。特定のワクチンに関する個別のWHOガイドラインや勧告も提供しているので、必要に応じて参照すること。

WHOの勧告およびガイドラインは、科学的かつ助言的な性質をもつものであり、各国規制当局およびワクチン製造業者に指針を与えることを目的としている。これらの文書は、各国保

健当局により最終的な国家規則として採用されるか、または国家規則の基礎として利用される。これらの文書は、世界的な予防接種プログラムに利用するために、国連児童基金（UNICEF）などの国連機関が、購入用ワクチンの許容性を決定するための基礎としても利用される。ワクチンや他の生物学的製剤に対する規制要件は、欧州医薬品審査庁（EMA）や米国生物学的製剤評価研究センター（CBER）など、他の組織も作成しており（19）、これらの文書は適切なウェブサイト（www.emea.eu.intおよびwww.fda.gov/cber）に示されている。加えて、ワクチンに関して欧州薬局方などの薬局方要件も定められており、ウェブサイトwww.phEur.orgに示されている。

新開発製品については、特定の WHO、国家または薬局方要件は提供されていない可能性があるため、各国規制当局が、臨床試験および承認のための製品評価時に、製造業者と規格に関して個別に合意する必要がある。これら新製品の一部について、製造および管理に関する WHO からの一般的な指針は、DNA やペプチドワクチンを記載した文書（14、16）ならびに生物学的製剤の製造に使用する動物細胞基質に関する勧告（14）などの関連文書に示されている。

加えて、一般に生物学的製剤の品質をどう保証するかに関する情報および製造を承認する手順と各国家で管理する研究施設を設立する手順に関する情報は、WHO の関連ガイドラインに示されている（17、18）。全世界で販売されるワクチンについては、その開発には多くの国際協力に関わるので、HIV 予防ワクチンなどの新製品に対する行政アプローチの一貫性を確保することが不可欠となる（19）。

2.5 バッチ出荷と独立研究所による評価

生物学的製剤の製造方法の潜在的な変動が、ワクチンの品質を保証する手順ならびに製造業者間および長期間にわたる一貫性を評価するための手順を規定する、国家および国際要件の策定につながった。承認ワクチンは、市場に出荷される前に、国家規制当局／国家で管理する研究施設による、独立したバッチ出荷（製造業者から独立した、ワクチンのバッチ出荷のレビュー、試験、認定）の対象となる。独立評価には、少なくとも製造業者のバッチ出荷データの評価（プロトコル・レビュー）が必要だが、多くの場合、製造業者により実施される試験に加えて、独立研究所による試験が含まれる。

バッチまたはロット出荷試験は、製品の純度、安全性および効力を証明するための、製品の完全な特徴付けを行う際に選択された試験である。ロット出荷試験は、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。ロット出荷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、臨床試験用のワクチンのサンプル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に及ぶ。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も重要である。

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、世界的に使用されている基本的な標準品である。加えて、国家規制当局と製造業者が、ロット間でワクチンの品質を試験するための、二次的な (地域、国家で使用する) 作業標準品を作製する場合がある。これらの作業標準品は、国際標準品がある場合は、それに基づいて換算しなければならない。懸念されるのは、複数の二次的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。二次的な作業標準品 (例えば、地域ベースのもの) の大規模な作製により、使用される二次的標準品の数が減少し、ワクチンの品質試験の精度が改善されるはずである。例えば、欧州評議会の欧州薬品品質局 (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、一般的に免疫原性を評価するために実施される。しかし、薬力学試験はアジュバントの薬理作用にも及ぶことがある。

臨床開発計画を支持するための有用な「薬効の証明」情報が得られる可能性があるため、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関連免疫反応、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ける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当該試験に含める。可能な場合は、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べきである。これらの試験は、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してもよい。ワクチンが複数の確定抗原 (defined antigen) から構成される場合 (例えば、3~5 種の蛋白質からなる無菌体百日咳ワクチン) は、各抗原に対する反応を評価する。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を判断

することである。動物モデルでは、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

進行中のワクチン開発分野と照らし合わせて、ワクチンの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、前臨床試験で得られた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は必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している場合がある。

- 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、特定の製品の特性、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、個別に必要とされる場合がある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 基本的な毒性評価

4.1.1 試験デザイン

試験担当者が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は、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、検討するのに適したものでなければならない。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したものとする。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は、実行可能であれば、同じ用具を動物試験で使用する（例えば、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、専用の単独の毒性試験または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には、供給源、動物種および動物飼育方法（例えば、動物の収容、給餌、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、交差感染のリスクを最小限に抑えるために、実験動物の単独収容が必要なことがある。

可能な場合は、試験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、毒性試験では妥当な動物種1種類で十分である。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（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）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となることがある。

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は、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、試験開始時のおおよその年齢は、げっ歯類で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が最大になる用量で、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判定するために、用量反応の予備試験を実施してもよい。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、用量が制限される場合があるので、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してもよい。あるいは、mg/kgでのヒト用量を超え、動物モデルで免疫反応を誘導する用量を利用できる。この場合は、ヒトと動物間の用量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、ヒト臨床試験用に提示されている臨床投与間隔より小さくしてもよい。

(例えば、2～3 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(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(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)は、単回投与の試験を実施してもよい。

投与経路は、ヒト臨床試験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)を試験に含めることができる。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、流入領域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。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接種量を含める。体重と接種量は「病氣」を示す敏感なパラメータであるので、実行可能なら、投与第1週は、体重と接種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1～3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、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、電解質を含める。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。投与期間中だけでなく回復期間後にも(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(絶食後)を求める。終了時の血液試料を採取し、前段落に記載されたとおりに血清化学、血液学および免疫学的検討を行うこと。選択した動物モデルが適切であったことを確認するために、ワクチン候補により誘導された免疫反応を評価する。完全な肉眼剖検を実施し、組織を採取・保存し、肉眼病変を調べて臓器重量を記録すること(23)。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、ならびに特定の選択投与経路により影響を受けると予想される臓器に特に注意を払うこと。病理組織学的検討には、必ず重要臓器(例えば、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(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までの非臨床および臨床試験で