

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データがない新規ワクチンの場合には、組織検討は全て必要となる。このため、関連規制当局と協議した後、個別に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、要約すること。

#### 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。投与方法により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（例えば、エアゾル投与の際の眼の曝露）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、さらに試験が必要となることがある。

### 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、分子擬態の結果としての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は非常に類似していることから、分子擬態に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、分子擬態が必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扱うこと。

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なので、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、適切な動物モデルが存在すれば、この問題に対処するために個別に試験を実施する必要があるだろう。

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、必ずしも自己免疫疾患の誘発を示すわけではない(25)。

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、

追加検討を実施する根拠となるだろう。

#### 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、製造業者が科学的小児および臨床的に信頼できる証明を行って発生毒性試験は必要ないと示さない限り、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、生殖毒性評価は一般的に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、それは通常血清抗体測定により求められる。また、臍帯血または胎仔血中のワクチン誘導抗体を測定することにより、母体抗体の移行を評価し、母体抗体に対する胚/胎仔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に準じたものとする。理想的には、ヒトでの最高用量を試験動物に投与する。総投与容量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、動物で免疫反応を誘導できる用量を使用する。

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、ICH S5a 文書で C、D および E 段階と規定されている、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 (27)。使用するほとんどの動物モデルは妊娠期間が比較的短いので、ワクチンにより誘導される免疫反応に対する胚/胎仔の曝露を確実に最大限に高めるために、交配前投与が必要なことが多い。予防用ワクチンの場合、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し、発生中の胚をワクチン製剤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の評価に用いるエンドポイントに関する指針については、他の刊行物を参照のこと (27)。また、試験デザインに出生から離乳までの仔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。このため、試験群をサブグループに分けて、動物の半数は帝王切開の対象とし、残りの半数は仔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してもよい (28)。

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（例えば、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な情報は、*ヒト用医薬品に対する安全性薬理試験に関する指針の注釈（29）*に示されている。

#### 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を使用する場合）、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、流入領域リンパ節）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多数の要因の結果であり、通常は、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することはできない。個々の抗原は物理学的、生物学的特性が異なり、アジュバントとの相互作用も異なる可能性がある。希望の免疫反応の型に基づいてアジュバントを選択し、関連リンパ組織に確実に行き渡るように両者の分布を最適化するべく、その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な要素である。

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。新アジュバントについて毒性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（30～32）。ワクチン製造業者またはアジュバント製造者が、これらのデータを入手してもよい。アジュバント自体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も重要である（33、34）。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ァイルを評価する際は、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）。

妥当な場合、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ァイ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、その結果を報告して規格を定めること。

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(31)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。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ァイルと共に、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

ワクチン製剤（すなわち、液剤、カプセルまたは粉末）およびデリバリーデバイスは、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がある。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が望ましい。しかし、臨床用のデリバリーデバイスを試験できる動物モデルが、利用可能でない場合がある。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、製品の非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、経膈経路）で投与するワクチン製剤を使用する場合、その効力、関連免疫原性、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検討する必要のある特定の問題を、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問題は、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、ならびにそのワクチン投与のやりやすさである。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には特別の技術が必要となる。マウスとラットは有用なモデルであるが、経鼻投与を行うには技術的な困難が伴う。当該感染因子に感受性がある場合は、ヒト以外の霊長類への経鼻投与が推奨される。

特定の投与経路に関する懸念のレベルによって、または候補ワクチンに対する感受性に種特異的な差が動物モデル間に存在する場合は、複数の安全性試験と複数の動物モデルで、製品の前臨床安全性を検討することが必要だろう。

#### 5.4.2 用量

非経口投与経路を用いた試験から求めた至適用量は、代替投与経路で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。また、投与する総容量は安全性試験の結果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、鼻孔あたり 5  $\mu\text{l}$  を越える試験製剤をマウスに経鼻投与すれば、試験製剤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、投与経路および特定の経路と標的器官に伴う特別の問題によって決まる結果判定基準を追加してもよい。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、結果判定に肺機能試験と肺の組織病理に関するデータなどを含めることがある。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が反映されないことがあるため、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。他の種類のワクチンの製造と管理については、詳細情報が製造と管理に関する WHO 指針文書(13)に示されているので、参照すること。例えば、最近作成された DNA (16) および合成ペプチドワクチン (18, 35) ならびに Hib 抱合ワクチン (26) などの特別なワクチンに対するガイドラインでは、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の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の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た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、温度を上げるか下げることにより、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することもできる。

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の試験を実施する。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容される。

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。投与後の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、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してもよい。

### 6.2 複合ワクチン

ヒト臨床試験開始前に、利用可能ならば動物モデルで、処方によって、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 (36, 37)。

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、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。

動物モデルで新複合ワクチンの安全性を評価する必要性は、個別に考慮する。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）、必要となることが多い。

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、一価経口ポリオワクチン対三価経口ポリオワクチン）、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 National Institute of Public Health and the Environment (RIVM) (オランダ) 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。この会議には、以下の者が出席した。

Dr M. Gruber, Scientific Reviewer, Division of Vaccines and Related Products Application, Center for Biologics Evaluation and Research, Food and 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, Bilthoven, the Netherlands; Dr J.W. van der Laan, National Institute of Public Health and the Environment, Bilthoven, the Netherlands; Dr E. Griffiths, Coordinator, Quality Assurance and Safety of Biologicals, World Health Organization, Geneva, Switzerland; Dr I. Knezevic, Quality Assurance and Safety of Biologicals, World Health Organization, Geneva, Switzerland.

2002年6月17日に Agence Française de Sécurité Sanitaire de Produits de Santé (フランス、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。特別免疫学的検討に関する討議には、以下の者が参加した。

Dr F. Fuchs, Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé, Lyon, France; Dr D. Masset, Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé (AFSSAPS), St Denis, France; Dr C. Ratignier Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé, St Denis, France; Dr Marc Pallardy, Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé (AFSSAPS), St Denis, France.

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 and 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 and Drug Administration, Rockville, MD, USA; Dr M. Haase, Paul Ehrlich Institute, 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, Bilthoven, the Netherlands; Dr J.W. van der Laan, National Institute of Public Health and the Environment, 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, France; Dr R. Mignolet, RLM Consulting, Wavre, Belgium; Dr P. Minor, Head, Division of Virology, National Institute for Biological Standards and Control, Potters Bar, Herts., England; Dr G. Orefici, Istituto Superiore di Sanità, Rome, Italy; Dr M. Pallardy, Agence française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé, Veille Toxicologique/Vigilance, St Denis, France; Dr J. Petriccioni, 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, Berne, Switzerland; Dr J. Robertson, National Institute for Biological Standards and Control, Potters Bar, Herts., England; 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 Laboratories, 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.

WHO 事務局 : Dr M.P. Kieny, Director, Initiative to Vaccine Research; Dr L. Rago, Coordinator, Quality Assurance and Safety of Medicines; Dr D. Wood, Acting Coordinator, Quality Assurance and Safety of Biologicals; Mr L. Belgharbi, Access to Technologies; Dr N. Dellepiane, Access to Technologies; Dr P. Duclos, Vaccine Assessment and Monitoring; Dr D. Kiyo, Tropical Disease Research; Dr I. Knezevic, Quality Assurance and Safety of Biologicals; Dr E. Uramis Diaz, Access to Technologies; Dr S. Osmanov, Initiative to Vaccine Research/HVI.

最終草案 (WHO/BS/03.1969) は、ジュネーブで 2003 年 6 月 9～10 日に開催された会議後に、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、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。

## 参考文献

1. WHO guidelines for clinical evaluation of vaccines: regulatory expectations. In: *WHO Expert Committee on Biological Standardization. Fifty-second Report*. Geneva, World Health Organization, 2004 (WHO Technical Report Series, No. 924 Annex 1).
2. *Biological standardization and control. A scientific review commissioned by the UK National Biological Standards Board*. Geneva, World Health Organization, 1997 (WHO/BLG/97.1).
3. *Biotechnology and world health. Risks and benefits of vaccines and other medical products produced by genetic engineering. Proceedings of a WHO meeting*. Geneva, World Health Organization, 1997 (WHO/VRD/BLG/97.01).
4. *WHO Manual of laboratory methods for testing vaccines used in the WHO Expanded Programme on Immunization*. Geneva, World Health Organization, 1997, Annex 1 (WHO/VSQ/97.04).
5. World Health Organization. *Laboratory biosafety manual*, 2nd ed. (revised) Geneva, World Health Organization, 2003.
6. *OECD principles on Good Laboratory Practice* (revised 1997). Paris, Organisation for Economic Co-operation and Development, 1997 (ENV/MC/CHEM (98) 17).
7. Good manufacturing practices for biological products. In: *WHO Expert Committee on Biological Standardization. Forty-second Report*. Geneva, World Health Organization, 1992 (WHO Technical Report Series, No. 822):20–30.
8. Good manufacturing practice: supplementary guidelines for the manufacture of the investigational pharmaceutical products for clinical trials in humans. In: *WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations: Thirty-Fourth Report*. Geneva, World Health Organization, 1996, Annex 7 (WHO Technical Report. Series, No. 863).
9. Good manufacturing practices for pharmaceutical products. In: *WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations. Thirty-second Report*. Geneva, World Health Organization, 1992 Annex 1 (WHO Technical Report Series, No. 823).
10. *Note for guidance on comparability of medicinal products containing biotechnology-derived proteins as drug substance*. London, Committee for Proprietary Medicinal Products, 2000

- (CPMP/BWP/3207/00).
11. European Commission Regulations No. 541/95, 542/95, 1146/98 and 1069/98.
  12. Griffiths E. Efficacy of whole-cell pertussis vaccine. In: Wardlaw AC, Parton R, eds. *Pathogenesis and immunity in pertussis*. Chichester, Wiley, 1988: pp. 353–374.
  13. Recommendations and guidelines for biological substances used in medicine and other documents. Geneva, World Health Organization, 2002 (WHO Technical Report Series, No. 910):99–102.
  14. Requirements for the use of animal cells as in vitro substrates for the production of biologicals. In: *WHO Expert Committee on Biological Standardization. Forty-seventh Report*. Geneva, World Health Organization, 1998, Annex 1 (WHO Technical Report Series, No. 878).
  15. *Guidelines on transmissible spongiform encephalopathies in relation to biological and pharmaceutical products*. Geneva, World Health Organization, 2003 (WHO/BCT/QSD/03.01).
  16. Guidelines for assuring quality of DNA vaccines. In: *WHO Expert Committee on Biological Standardization. Forty-seventh Report*. Geneva, World Health Organization, 1998, Annex 3 (WHO Technical Report Series, No. 878).
  17. Guidelines for assuring the quality of pharmaceutical and biological products prepared by recombinant DNA technology. In: *WHO Expert Committee on Biological Standardization. Forty-first Report*. Geneva, World Health Organization, 1991, Annex 3 (WHO Technical Report Series, No. 814).
  18. Guidelines for the production and quality control of synthetic peptide vaccines. In: *WHO Expert Committee on Biological Standardization. Forty-eighth Report*. Geneva, World Health Organization, 1999, Annex 1 (WHO Technical Report Series, No. 889).
  19. *Guidance for industry: content and format of chemistry, manufacturing and controls information and establishment description information for a vaccine or related product*. *Federal Register*, 1999, 2:518–519 (Center for Biologics Evaluation and Research, US Food and Drug Administration).
  20. Guidelines for national authorities on quality assurance for biological products. In: *WHO Expert Committee on Biological Standardization. Forty-second Report*. Geneva, World Health Organization, 1992 (WHO Technical Report Series, No. 822):31–46.
  21. Regulation and licensing of biological products in countries with newly developing

- regulatory authorities. In: *WHO Expert Committee on Biological Standardization. Forty-fifth Report*. Geneva, World Health Organization, 1995 (WHO Technical Report Series No. 858):21–35.
22. Scientific considerations for the regulation and clinical evaluation of HIV/AIDS preventive vaccines: report from a WHO–UNAIDS Consultation 13–15 March 2001, Geneva Switzerland. *AIDS*, 2002, 16:W15–W25.
  23. *Note for guidance on repeated dose toxicity*. London, Committee for Proprietary Medicinal Products, 1999 (CPMP/SWP/1042/99).
  24. *Note for guidance on non-clinical local tolerance testing of medicinal products*. London, Committee for Proprietary Medicinal Products, 2000 (CPMP/SWP/2145/00).
  25. Wraith DC, Goldman M, Lambert PH. Vaccination and autoimmune disease: what is the evidence? *Lancet*, 2003, 362:1659–1666.
  26. Recommendations for *Haemophilus influenzae* type b conjugate vaccines. In: *WHO Expert Committee on Biological Standardization. Forty-ninth Report*. Geneva, World Health Organization, 2000 (WHO Technical Report Series, No. 897).
  27. *Note for guidance for reproductive toxicology: detection of toxicity to reproduction for medicinal products*. London, Committee for Proprietary Medicinal Products (CPMP/ICH/386/95).
  28. *Note for guidance on genotoxicity: a standard battery for genotoxicity testing of pharmaceuticals*. London, Committee for Proprietary Medicinal Products, 1995 (CPMP/ICH/174/95).
  29. *Note for guidance on safety pharmacology studies for human pharmaceuticals*. London, Committee for Proprietary Medicinal Products (CPMP/ICH/539/00).
  30. ICH M3(M) *Nonclinical safety studies for the conduct of human clinical trials for pharmaceuticals*. London, Committee for Proprietary Medicinal Products, 2000 (CPMP/ICH/286/95 modification).
  31. Guidance for industry: nonclinical studies for development of pharmaceutical excipients. Draft. September 2002.
  32. Note for guidance on excipients, antioxidants and antimicrobial preservatives in the dossier for application for marketing authorisation of a medicinal product. London, Committee for Proprietary Medicinal Products, 2003 (CPMP/QWP/419/03).

33. Note for guidance on preclinical pharmacological and toxicological testing of vaccines. London, Committee for Proprietary Medicinal Products, 1998 (CPMP/SWP/465/95).
34. Goldenthal KL, Cavagnaro JA, Alving CR, Vogel FR. Safety evaluation of vaccine adjuvants: National Cooperative Vaccine Development Meeting Working Group. AIDS Research and Human Retroviruses, 1993, 9(suppl 1):S47-S51.
35. Guidance for industry for the submission of chemistry, manufacturing, and controls information for synthetic peptide substances. Center for Drug Evaluation and Research and Center for Biologics Evaluation and Research, 1994.
36. Verdier F, Patriarca C, Descotes J. Autoantibodies in conventional toxicity testing. Toxicology, 1997, 119:51-58.
37. Guidance for industry for the evaluation of combination vaccines for preventable diseases: production, testing and clinical studies. US Food and Drug Administration, 1997.
38. Note for guidance on pharmaceutical and biological aspects of combined vaccines. London, Committee for Proprietary Medicinal Products, 1999 (CPMP/BWP/477/97). Geneva, World Health Organization, 2003.

## 添付資料

### 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）と骨髄

骨髄塗抹標本<sup>1</sup>

脳

気管支（主管）

盲腸

結腸

十二指腸

精巣上部

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

---

<sup>1</sup> 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、骨髄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

膵臓

副甲状腺

パリエル板

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）

膣

全肉眼病変

## Annex 1

# WHO guidelines on nonclinical evaluation of vaccines

This document provides guidance to national regulatory authorities (NRAs) and vaccine manufacturers on the nonclinical evaluation of vaccines by outlining the international regulatory expectations in this area. It should be read in conjunction with the Guidelines on clinical evaluation of vaccines: regulatory expectations (1), in order to complete the understanding of the whole process of vaccine evaluation. Vaccines are a diverse class of biological products and their nonclinical testing programmes will depend on product-specific features and clinical indications. The following text has therefore been written in the form of guidelines rather than recommendations. Guidelines allow greater flexibility than recommendations with respect to specific issues related to particular vaccines.

Introduction	32
1 General remarks	32
1.1 Scope	34
1.2 Glossary	34
2 Characterization of candidate vaccines	37
3 Immunogenicity and other pharmacodynamic studies	43
4 Toxicity assessment	44
4.1 Basic toxicity assessment	45
4.2 Additional toxicity assessments	48
5 Special considerations	51
5.1 Adjuvants	51
5.2 Additives (excipients and preservatives)	52
5.3 Vaccine formulation and delivery device	52
5.4 Alternative routes of administration	53
6 Specific considerations for particular types of vaccines	54
Authors	56
References	58
Appendix	
List of tissues to be collected in a repeated dose toxicity study	62

## Introduction

Recent progress in biotechnology and basic immunology has led to the development of a broad range of novel vaccines raising exciting possibilities for the prevention of infectious diseases (2, 3). Improvements to already licensed vaccines are also being considered; such improvements will lead to new products as well as to the introduction of new adjuvants. However, the complexity and novelty of these products presents scientific and regulatory challenges because criteria for their safety, potency and quality assessment may not exist. Product diversity and new approaches, technologies and methodologies develop over time; therefore, judgement based on the best science available should always form the basis for deciding on the type and extent of nonclinical evaluation for these products.

Although nonclinical evaluation plays an essential part in the overall development of vaccine candidates, there is at present limited guidance regarding nonclinical evaluation programmes for these products. In this guidance document, the general principles of nonclinical evaluation of vaccines are discussed, with particular attention being given to the regulatory expectations for new and novel vaccines.

Preclinical testing is a prerequisite to moving a candidate vaccine from the laboratory to the clinic and includes all aspects of testing, product characterization, proof of concept/immunogenicity studies and safety testing in animals conducted prior to clinical testing of the product in humans. Nonclinical evaluation, within the context of this document, refers to all *in vivo* and *in vitro* testing performed before and during the clinical development of vaccines. For example, nonclinical evaluation may be necessary when changes in the manufacturing process or product formulations are made or to further study potential safety concerns that may have arisen from phase I and II trials or that have been described in the literature for similar products.

### 1 General remarks

Nonclinical studies are aimed at defining the *in vitro* and *in vivo* characteristics of candidate vaccines including those relating to safety and immunogenicity. Nonclinical studies in animals are valuable tools for identifying possible risks to the vaccinees and helping to plan protocols for subsequent clinical studies in human subjects. However, in all cases, when safety testing in animals is performed, there should be a clear rationale for doing so and the study should be performed in

compliance with the national and international laws for the protection of laboratory animals (4), biosafety requirements (5) and with good laboratory practice (GLP) (6). However, there may be situations where full compliance with GLP is not possible. If the study, or part of the study, was not conducted in compliance with GLP, areas of noncompliance should be defined and a statement of the reason for noncompliance should be drawn up.

Potential safety concerns for a vaccine product include those due to inherent toxicities of the product, toxicities of impurities and contaminants, and toxicities that result from interactions between the vaccine components present in the vaccine formulation. In addition, the immune response induced by the vaccine may lead to toxic side-effects.

Despite efforts to maximize the predictive value of nonclinical toxicity studies there is always the possibility that not all risks are identified. The limitations of animal testing in reflecting clinical safety and efficacy in humans should be recognized as pathogenesis and immune responses are frequently species-specific. Moreover, potential safety concerns identified during animal testing may not necessarily indicate a problem in humans. However, any signal observed in nonclinical toxicity studies should be carefully addressed in human clinical trials and may require additional nonclinical testing. It should be noted that the absence of detectable toxicity in animal studies does not necessarily mean a vaccine will be safe in humans. Potential safety concerns related to specific types of vaccine candidate are considered in section 6.

The development and subsequent validation of *in vitro* tests for use as alternatives to nonclinical evaluation of vaccine candidates in animals is encouraged as it may lead to the improvement of nonclinical testing as well as to a reduction of animal usage.

The need for and extent of nonclinical testing will depend on the product under consideration. For example, for a product for which there is no prior nonclinical and clinical experience, nonclinical testing would be expected to be more extensive than for those vaccines previously licensed and used in humans. In some cases, it may not be necessary to perform preclinical safety studies prior to the initiation of phase 1 clinical trials. For example, in the case of transfer of technology, where access to the database of the originally developed vaccine is available, data from nonclinical bridging studies (e.g. physicochemical characterization and abbreviated *in vivo* studies) may be an acceptable basis for further development of the product.

Early communication between the vaccine manufacturer and the responsible national regulatory authority to agree on the requirements for and type of nonclinical testing is recommended.

### 1.1 **Scope**

For the purposes of this document, vaccines are considered to be a heterogeneous class of medicinal products containing immunogenic substances capable of inducing specific, active and protective host immunity against infectious disease.

Although most vaccines are being developed for pre- and post-exposure prophylaxis, in some cases, they may be indicated for therapeutic use against infectious diseases, e.g. human immunodeficiency virus (HIV), and human papillomavirus (HPV). Both prophylactic and therapeutic vaccines for infectious disease indications are considered in this document.

Vaccines for human use include one or more of the following: microorganisms inactivated by chemical and/or physical means that retain appropriate immunogenic properties; living microorganisms that have been selected for their attenuation whilst retaining immunogenic properties; antigens extracted from microorganisms, secreted by them or produced by recombinant DNA technology; chimeric microorganisms; antigens produced in vivo in the vaccinated host following administration of a live vector or nucleic acid or antigens produced by chemical synthesis in vitro. The antigens may be in their native state, truncated or modified following introduction of mutations, detoxified by chemical or physical means and/or aggregated, polymerized or conjugated to a carrier to increase immunogenicity. Antigens may be presented plain or in conjunction with an adjuvant, or in combination with other antigens, additives and other excipients.

Therapeutic vaccines for non-infectious diseases (e.g. certain cancer vaccines) and monoclonal antibodies used as immunogens (e.g. anti-idiotypic antibodies) are *not* considered here.

### 1.2 **Glossary**

The definitions given below apply to the terms used in these guidelines. They may have different meanings in other contexts.

#### *Adjuvants*

Substances that are intended to enhance relevant immune response and subsequent clinical efficacy of the vaccine.