

trol (13), and should be consulted. For example, in the recently developed guidelines for DNA (16) and synthetic peptide vaccines (18, 35), as well as for particular vaccines such as Hib conjugated vaccine (26), the issues relevant for nonclinical testing are discussed and should be considered in the development of an appropriate design for the nonclinical study of the vaccine in question.

6.1 *Live attenuated vaccines*

An assessment of the degree of attenuation, and the stability of the attenuated phenotype, are important considerations for the nonclinical testing programme of a live attenuated vaccine. Laboratory markers of attenuation are invaluable for this purpose. These markers should be capable of distinguishing the attenuated vaccine from fully virulent wild-type strains and, ideally, of detecting partial reversion to full virulence. To assess the stability of the attenuation phenotype, the vaccine may be passaged under production conditions beyond the maximum passage number to be used for production. Stability of attenuation may also be assessed by passage under conditions that are outside the conditions to be used for vaccine production. For example, higher or lower temperatures may exert selection pressure for reversion to virulence. The marker(s) of attenuation may subsequently be used to qualify new vaccine seed preparations and to monitor the effect of any significant changes in production conditions of the attenuated phenotype.

If the wild-type organism is neurotropic, or if passages through neural tissue have been used in the attenuation of a virus vaccine, then a test for neurovirulence should be performed at least at the level of the vaccine seed. A neurovirulence test is not necessarily required for all live attenuated vaccines. The specifications for an appropriate neurovirulence test depend on the organism under test and should be capable of distinguishing the attenuated vaccine from fully virulent wild-type strains and, ideally, of detecting partial reversion to full virulence. Specific reference preparations may be needed for this purpose. Neurovirulence tests in small animal models may be acceptable.

If the live attenuated vaccine is based on a genetically modified organism, then an environmental risk assessment may be required as part of the preclinical evaluation. An investigation into the possible shedding of vaccine organisms following administration contributes to the environmental risk assessment. For all live attenuated vaccines, information on the likelihood of exchange of genetic information with non-vaccine strains may be required and suitable nonclinical tests may be designed to provide data for this purpose.

6.2 *Combined vaccines*

New combinations produced either by formulation or at the time of reconstitution of antigens or serotypes should be studied for appropriate immunogenicity in an animal model, if available, before initiation of human clinical trials (36, 37). Combined antigens should be examined by appropriate physicochemical means to evaluate possible changes to antigen properties on combination, such as degree of adsorption to aluminium adjuvants, as well as stability of the combination.

The immune response to each of the antigens in the vaccine should be assessed, including the quality of response and any potential interference and incompatibilities between combined antigens. It is preferable to study a new combination in comparison with the individual antigens in animals to determine whether augmentation or diminution of response occurs.

The need to evaluate the safety of the new combination in an animal model should be considered on a case-by-case basis. Such evaluation is likely to be necessary if there is concern that combining antigens and/or adjuvants may lead to problems of toxicity (e.g. novel adjuvant).

Similar consideration for nonclinical testing will also apply to cases where a new candidate single-component vaccine is developed from an already licensed combined vaccine (e.g. monovalent oral polio vaccine versus trivalent oral polio vaccine).

Authors

The first draft of these Guidelines on preclinical evaluation of vaccines was prepared by the members of the WHO drafting group following the meeting held at the National Institute of Public Health and the Environment (RIVM), the Netherlands 14–15 March 2002 attended by:

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.

A second draft was prepared following a discussion on special immunological considerations held at Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de

Santé, Lyon, France, 17 June 2002 attended by the following: 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, and a further meeting of drafting group held in Geneva from 1–2 July 2002.

A third draft was prepared by the drafting group after an informal WHO Consultation on preclinical evaluation of vaccines: regulatory expectations, held in Geneva from 12–13 December 2002, attended by the following participants:

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 Calidad 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 secretariat: Dr M.P. Kiény, 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. Kioy, 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.

The final draft (WHO/BS/03.1969) was prepared by Dr E. Griffiths, Dr M. Gruber, Dr D. Masset, Dr F. Verdier, Dr D. Wood and Dr I. Knezevic, following a meeting held in Geneva, 9–10 June 2003, and taking into account comments made by the Expert Committee on Biological Standardization at its meeting in February 2003 as well as comments made by the reviewers of the document.

References

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.

Appendix
List of tissues to be collected in a repeated dose toxicity study

adrenal glands
aorta
bone (femur) and articulation
bone (sternum) with bone marrow
bone marrow smears¹
brain
bronchi (main-stem)
caecum
colon
duodenum
epididymides
eyes
heart
ileum
injection site(s) (a sample should be taken from the area of injection)
jejunum
kidneys and ureters
larynx
liver
lungs
lymph node (mandibular)
lymph node (mesenteric)
mammary gland
oesophagus
optic nerves

¹ Bone marrow smears should be prepared at the scheduled necropsy for all animals including any moribund animals killed during the study. The smears should be fixed in methanol and then stained by the May-Grunwald-Giemsa method.

ovaries and oviducts
pancreas
parathyroid glands
Peyer's patches
pituitary gland
prostate
rectum
salivary glands (mandibular, parotid, sublingual)
sciatic nerves
seminal vesicles
skeletal muscle
skin
spinal cord (cervical, thoracic, lumbar)
spleen
stomach
testes
thymus
thyroid glands
tongue
trachea
ureters
urinary bladder
uterus (horns + cervix)
vagina
all gross lesions



欧州医薬品評価庁
ヒト用医薬品評価部門

ロンドン、1997年12月17日
CPMP/SWP/465/95

EU 医薬品委員会
(CPMP)

ワクチンの前臨床薬理および毒性試験に
関する指針に対する注釈

安全性作業部会における討議 (バイオテクノロジー作業部会と共同)	1995年11月～1997年2月
CPMP への伝達	1997年2月
関係者への伝達	1997年2月
コメントに対する最終期限	1997年8月
安全性作業部会における討議 (バイオテクノロジー作業部会と共同)	1997年11月
CPMP による最終承認	1997年12月
施行日	1998年6月

7 Westferry Circus, Canary Wharf, London E14 4HB, UK
Tel: (+44-171) 418 84 00 Fax: (+44-171) 418 85 51
E-Mail: mail@emea.europa.eu <http://www.europa.eu/emea.html>

ワクチンの前臨床薬理および毒性試験

緒言

ヒト用ワクチンは、感染物質または毒素あるいはそれにより生成された抗原に対し特異的で能動的な免疫を誘導できる抗原物質を含有する製剤である。

ヒト用ワクチンには以下が含まれることがある：

- 化学的または物理的手段により不活化され、適切な免疫原性を維持している微生物
- 適切な免疫原性を維持しているが、自然に非病原性であるか、病原性を弱めるよう処理された生微生物
- 微生物から抽出された、微生物により分泌された、または組み換え DNA 技術により製造された抗原

抗原は、その自然の状態、あるいは化学的または物理的手段により病原性を弱くして利用される。また、その免疫原性を増加するために、凝集化、重合化、または担体と結合させることがある。

ワクチンは不均質の物質の集合体であるので、修正された Directive 73/318 に示されているとおり、ワクチンの前臨床および毒性試験を当該製品に適合させることができる。薬理－毒性専門家報告書に、最終プログラムを記載し、それを正当とする理由を示すこと。

指針に対する注釈の範囲

本指針に対する注釈は、上記の全てのワクチンを対象とするよう意図されている。本指針に対する注釈は、複合ワクチンを含む新ワクチン製品の臨床評価を重点的に取り上げる。本指針に対する注釈の範囲内では、新ワクチンは、欧州薬局方モノグラフまたは WHO 要求事項にまだ記載されていない抗原を含有するか、既知の抗原に対する新結合物 (new conjugate) または既知および／または新抗原を新たに複合して利用するものである。本指針に対する注釈では、インフルエンザワクチンの年次更新 (yearly update) に対する試験手順は記載しない。

新投与経路および／または新デリバリー様式の場合は、特定の安全性問題に重点を置いた試験が必要なことがある。

ワクチンの製造に重大な変更を行う場合は、前臨床試験が必要かどうかを再検討すること。

本指針に対する注釈は、生微生物を含有する新ワクチン製品の開発にも適用される。前欧州指針 1988 「バイオテクノロジー由来医薬品の臨床安全性試験」の章 (3.4) を置き換えるために、本注釈を発表する。

モノクローナル抗体も免疫原、すなわち抗イディオタイプワクチンとして使用できるので、CPMP/ICH/302/95: ICH S6 'Note for Guidance on Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-derived Pharmaceuticals' (「バイオテクノロジー応用医薬品の臨床安全性評価に関する指針に対する注釈」) の範囲内に入るとみなすこと。同様に、組み換え DNA 蛋白ワ

クチンも同指針に対する注釈で取り上げられている。

DNA ワクチン、遺伝子療法または遺伝子組み換え体細胞療法は、本指針に対する注釈では取り上げない。

一般的な考え方

適切な動物モデルが必ずしも利用可能とは限らず、こうしたモデルでの反応が必ずしもヒトにおいても予測されるわけではないことが認識されている。したがって、個別に動物種の選択を行うべきである。

ワクチンに関連する潜在的な安全上の問題には、一般的な全身毒性、(矛盾した)対象疾患の亢進、局所毒性の誘発、発熱性、自己免疫または感作などの有害な免疫反応、および場合によっては催奇形性/生殖作用が含まれる。

歴史的には、重篤な神経学的イベントが一部のワクチンの使用に伴って生じている。

ワクチンの開発では、これらの問題を検討するための動物の利用可能性を考慮するべきである。

新ワクチン製品については(上記を参照)、従来の医薬品に対し要請される程度まで詳細な試験が必要ない可能性が認識されてはいるが、前臨床安全性試験は常に試験プログラム的一部分とすべきである。しかし、既知の抗原を含む複合ワクチンの場合は、前臨床毒性試験は必ずしも必要でないことがある。それでも、免疫原性試験は推奨される (§F.1 を参照)。

投与経路は、申請臨床経路にできる限り近いものであること。実際的な理由から、これが可能でない場合は、別の投与経路も容認される場合があるが、これを正当とする理由を示すこと。特定の安全上の問題を検討する試験(例えば、神経病原性、毒素の完全な無毒化)には他の投与経路を必要とすることが多い。関連薬局方モノグラフに記載された方法が適用可能かどうかを検討するべきである。

アジュバント、保存剤および賦形剤などの添加物に注意を払うこと (§R を参照)。

前臨床試験

上記に定義する「ワクチン」に対する前臨床文書 (Part III) を作成する際、以下の問題を検討しなければならない。

A.1 単回投与毒性

ヒト用量に関して適切な安全マージンを与える用量で、少なくとも1種類の動物種の単回投与毒性試験を実施する。しかし、この試験で毒性所見が認められる場合は、さらに用量反応関係を検討すること。重要臓器の組織病理が含まれる場合は、これらのデータは動物免疫原性試験 (§F.1.一次薬力学を参照) または安全薬理学試験 (§F.2.安全薬理を参照) の一部となるかもしれない。

異常毒性否定試験または発熱試験での通常の製造工程における品質に関する試験については、本指針に対する注釈の §Q を参照。

A.2 反復投与毒性

臨床状況で反復投与を必要とするワクチンには、通常は動物種1種での反復毒性試験が要求される。臨床使用で単回投与のみが投与される場合であっても、反復投与毒性試験が必要な場合がある。個別に適切な動物種の選択を慎重に検討すべきである。

経路および投与方法は意図した臨床用途を反映しなければならない。そのデザインは、動物とヒトでの反応時間の潜在的な差を考慮すべきである（例えば、ヒトにおける1カ月間隔での反復投与は、動物における1カ月間隔での反復投与と同じ反応が得られないことがある）。

前臨床毒性試験で通常実施される測定（すなわち、体重、摂餌量、臨床病理、肉眼剖検および組織病理）を含めるように反復投与免疫原性試験を拡大することにより、有用な情報を得ることができる。ワクチンの全重要成分に対する抗体反応を同時に測定することにより（免疫原性試験）、通常はプロトコルの価値が高まる。

これらの試験のデザインに安全薬理エンドポイントを組み込むことを検討すべきである（§F.2.も参照）。

申請者は、個別に以下の点を検討すべきである：

- 必要に応じて、宿主免疫グロブリンとの複合体形成（例えば、疾患の抗体依存性亢進）や免疫機能性分子（例えば、サイトカイン）の放出など、免疫系の機能に影響を与える毒性の免疫学的側面を検討する。
- 新たな方法（新無毒化法、抗原-担体複合体または微量の不純物の存在による方法）で修飾された抗原（毒素）、または添加剤（アジュバント/賦形剤/保存剤）によって、抗原自体により誘発される過敏反応が増加することがある（特に、複数回注射用のワクチンに対して）
- 抗原性物質がヒト組織と交差反応して有害作用を起こす可能性のある抗体を誘導する可能性がまれにあり、問題に対処するために動物モデルの利用可能性を検討する。

B. 生殖機能の検査

通常、生殖機能（受精能）に関するデータは必要ない。毒性試験における組織病理から、生殖器官の完全性に関する十分な情報が得られるであろう。

C. 胚/胎児および周産期毒性

ほとんどの場合、ヒトのワクチン接種は小児期に行われる。したがって、通常、胚/胎児および周産期毒性試験は必要ない。妊娠する可能性のある年齢の女性または妊娠中の使用向けである場合のみ必要である。

一部の既存のワクチンは妊娠していない女性での使用に安全であるが、妊婦では奇形や流産をもたらす胎児感染を引き起こす可能性がある。妊娠中の感染物質や関連ワクチンへの曝露に関する臨床および/または疫学データに関する記録を提供することで当該危険性を評価するのに、十分と考えられるが、しかし、これらの記録で十分でない場合には、適切な動物モデルの利用可能性を検討すべきである。

D/E. 変異原性および癌原性

通常、遺伝毒性およびがん原性試験は必要ない。

F. 薬力学

F.1 一次薬力学（免疫原性および防御）

「抗原－防御反応」に関する一次薬力学試験を適切な動物種で実施する。ヒトでの感染を反映する動物モデルが存在する場合は、こうした試験におけるエンドポイントは病原微生物の攻撃に対する防御とすべきである。ほとんどの場合で免疫反応の定量のみでは防御の十分な指標とはならない。

免疫機能を評価する試験には、予想される免疫原性の評価（抗体生成レベル、生成された抗体のクラスおよびサブクラス、細胞媒介性免疫および免疫反応持続期間）を含めるべきである。加えて、機能障害をおこす中和抗体の形成、免疫複合体形成、免疫細胞との相互作用、および免疫系に影響を及ぼす他の分子の放出も検討すべきである。動物で個別の抗原と比較して新複合ワクチンを検討して、反応の増強または減弱が生じるかどうかを明らかにすることが望ましい。

特定のワクチンと他のワクチンの相互作用から、相互拮抗が生じることがある。2種類以上のワクチンの同時投与後に一部の場合に、例えばコレラワクチンと黄熱病ワクチン、麻疹ワクチンと髄膜炎菌 A+C ワクチン間で認められる。

F.2 二次薬力学（安全性薬理）

新ワクチン（「範囲」に規定するとおり）については、例えば、循環系および呼吸系に対する望ましくない薬理活性の可能性を考慮にいれて、適切な動物モデルで検討すべきである。必要に応じて、毒性および／または臨床試験のデザインに、これらの活性のモニタリングを組み入れてもよい。中枢神経系パラメータならびに野性型微生物病理と関係する器官に対する影響も含める。

申請する投与計画（§A.2 を参照）に留意した反復投与試験からは、単回投与試験以上の有意な影響が示される可能性がある。

G. 薬物動態

通常、薬物動態試験（例えば、抗原の血清中濃度を測定）は必要ない。個別に必要な試験を検討し、注射部位への滞留およびその後の分布を評価する局所沈着（deposition）試験；ワクチンの貯留（depot）特性を示しうる排出リンパ節（注射部位付近）の組織病理試験；および生ワクチンのウイルス排出などの検討を含めることができる。新製剤、新アジュバントの場合、または代替投与経路（例えば、経口または鼻腔内）を使用する意図のある場合は、分布試験を考慮すること。

H. 局所忍容性

ほとんどの場合、ワクチンは筋肉内、皮下または皮内注射されるので、局所忍容性を評価すべきである。臨床で使用される剤形を試験することが望ましい。場合によっては、製品の潜在的な局所作用を単回または反復毒性試験で評価することにより、別個に局所忍容性試験を行う

必要を回避することができる。

Q. 他の側面

1. 異常毒性否定試験はワクチンの品質管理の一部であるので、薬理-毒性開発プログラムに属さない。いくつかのワクチンについては、欧州薬局方では最終製品の異常毒性否定試験はもはや要求されない。
2. ワクチン（単独または複合のいずれか）は発熱性作用を引き起こす物質、例えば、リボ多糖体、エンドトキシンおよび糖蛋白質やテイコ酸など、を含有することがある。したがって、一般的に、バッチごとに各製品について発熱試験またはエンドトキシン試験を行って、潜在的な汚染の検出や許容できるレベルを確認すべきである。

R. 添加剤（アジュバント／賦形剤／保存剤）

製剤化したワクチンでは、保存剤（非経口医薬品（parental medicinal products）に使用される物質）、賦形剤（安定剤などの不活性成分）および／またはアジュバント（免疫反応を増加することを目標とする物質）を免疫原性物質に加えることができる。保存剤の使用が適切な場合は、保存剤の安全性を文書化して、考察する。新保存剤を使用する場合は、安全性を裏付ける記録を提出し、新保存剤を新医薬品賦形剤として取り扱うこと。新添加剤の安全性は「模擬」ワクチン（すなわち、抗原を含まない、確立された製造工程に従った総ワクチン製剤）を使用することにより評価できる。新アジュバントについては、免疫-毒性作用（例えば、過敏性など）を評価することが特に推奨される。

特定の添加剤が既存のワクチンで重要な全身または局所反応を起こしたことがない場合であっても、他の抗原と共に用いたとき、同じ添加剤が重篤な副作用を引き起こす可能性は除外されない。添加剤は常にこうした物質に対する指針に適合しなければならない（EEC75/318、Part III、p.5）。

欧州薬局法に記載されているように、ワクチンは種々の化合物に吸着される可能性がある。吸着剤を含むワクチンで局所反応が生じるが、一般的に吸着剤を含有するワクチンの安全性は広範な前臨床および臨床使用で証明されている。認可ワクチンで構成されていないアジュバントの一部は、最近ではより効果的な免疫促進剤を開発する目的で前臨床試験で検討されてきた。こうした場合は、個別に適切な前臨床試験を開発するべきである。以下の点を考慮すること。

- 治験アジュバントに対する安全上の問題には、注射部位反応、熱、免疫媒介イベント（例えばアナフィラキシー）などの他の全身作用、催奇形性および遺伝毒性を含めるべきである。
- 添加剤／複合アジュバントの安全性プロフィールを評価するために前臨床試験を行うべきである。可能な場合には意図した添加剤／抗原の組み合わせを用いて、アジュバントのみまたはアジュバントを含まないワクチン製剤と比較することが推奨される。

- 新複合ワクチンに含めるために検討している添加剤について毒性データがないか十分でない場合、添加剤のみに関する毒性試験を実施することが望ましい。
- 適切な動物モデルが利用可能な場合、免疫反応に対するアジュバント作用も評価するようにこれらの前臨床試験をデザインすることが推奨される。



The European Agency for the Evaluation of Medicinal
Products
Human Medicines Evaluation Unit

London, 17 December 1997
CPMP/SWP/465/95

**COMMITTEE FOR PROPRIETARY MEDICINAL PRODUCTS
(CPMP)**

**NOTE FOR GUIDANCE ON
PRECLINICAL PHARMACOLOGICAL AND TOXICOLOGICAL
TESTING OF VACCINES**

DISCUSSION IN THE SAFETY WORKING PARTY (in co-operation with the Biotechnology Working Party)	November 1995 - February 1997
TRANSMISSION TO THE CPMP	February 1997
TRANSMISSION TO INTERESTED PARTIES	February 1997
DEADLINE FOR COMMENTS	August 1997
DISCUSSION IN THE SAFETY WORKING PARTY (in co-operation with the Biotechnology Working Party)	November 1997
FINAL APPROVAL BY THE CPMP	December 1997
DATE FOR COMING INTO OPERATION	June 1998

PRECLINICAL PHARMACOLOGICAL AND TOXICOLOGICAL TESTING OF VACCINES

INTRODUCTION

Vaccines for human use are preparations that contain antigenic substances capable of inducing a specific and active immunity against the infecting agent or the toxin or the antigen produced by it.

Vaccines for human use may contain:

- organisms which have been inactivated by chemical or physical means and maintain adequate immunogenic properties
- living organisms that are naturally avirulent or that have been treated to attenuate their virulence whilst retaining adequate immunogenic properties
- antigens extracted from organisms, secreted by them, or produced by recombinant DNA technology.

Antigens may be used in their native state or may be detoxified by chemical or physical means and may be aggregated, polymerised or conjugated to a carrier to increase their immunogenicity.

As vaccines represent a heterogeneous class of agents, preclinical pharmacological and toxicological testing of vaccines may be adapted for the product in question as pointed out in Directive 75/318, as amended. The final programme should be described and justified in the pharmacological-toxicological expert report.

SCOPE OF THE NOTE FOR GUIDANCE

This Note for Guidance is intended to cover all vaccines as defined above. It focuses on the preclinical evaluation of new vaccine products including combined vaccines. Within the context of this Note for Guidance, new vaccines are those containing antigens not yet described in the European Pharmacopoeia monographs or in WHO requirements, or using a new conjugate for a known antigen, or any new combination of known and/or new antigens. This Note for Guidance does not describe test procedures for the yearly update of influenza vaccines.

New routes of administration and / or modes of delivery may necessitate studies focusing on specific safety concerns.

When a major change in the manufacture of a vaccine is being made, the need for preclinical testing should be reconsidered.

The present Note for Guidance applies also to development of new vaccine products containing live organisms. It is presented to replace the chapter (3.4) of the former EU guideline 1988 "Preclinical safety testing of medicinal products derived from biotechnology".

Monoclonal antibodies may also be used as immunogens, i.e. anti-idiotypic vaccines and should be considered to fall within the scope of CPMP/ICH/302/95: ICH S6 'Note for Guidance on Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-derived Pharmaceuticals'. Similarly, recombinant DNA protein vaccines are addressed in the same Note for Guidance.

DNA-vaccines, gene therapy or genetically altered somatic cell therapy are not addressed in this Note for Guidance.

GENERAL REMARKS

It is recognised that suitable animal models are not always available and responses in such models are not always predictive of human responses. Therefore, selection of animal species should be made on a case by case basis.

Potential safety concerns associated with vaccines include general systemic toxicity, (paradoxical) enhancement of the intended disease, induction of local toxicity, pyrogenicity, adverse immunologic effects such as autoimmunity or sensitisation, and in some cases teratogenic/reproductive effects.

Historically, serious neurological events have been associated with the use of some vaccines. The availability of animal models to address these issues should be considered in the development of a new vaccine.

For new vaccine products (see above), preclinical safety tests should always be part of the testing programme, even though it is recognized that full testing may not be necessary to the extent requested for conventional medicinal products. However, in the case of combined vaccines containing known antigens, preclinical toxicity testing may not always be necessary. Immunogenicity testing is still recommended (see § F.1.).

The route of administration should be as close as possible to the proposed clinical route. If this is for practical reasons not possible, another route of administration may be acceptable but this should be justified. Studies to address specific safety concerns (e.g. neurovirulence, testing for complete detoxification of toxins) will often need other routes of administration. It should be considered if methods described in relevant pharmacopoeial monographs are applicable.

Attention should be paid to additives including adjuvants, preservatives, and excipients (see § R).

PRECLINICAL TESTING

When preparing the preclinical documentation (PART III) for “vaccines” as defined above, the following issues have to be taken into account:

A.1 Single dose toxicity

Single dose toxicity data from at least one animal species should be performed with a dose providing an adequate safety margin in relation to the human dose. However, if toxic findings are seen in this study, the dose response relationship should be further characterised. These data may be part of animal immunogenicity studies (see § F.1. Primary Pharmacodynamics) or of safety pharmacology studies (see § F.2. Safety Pharmacology), provided that histopathology of important organs is included.

For the routine production testing of abnormal toxicity or of a pyrogenicity test, see § Q of this Note for Guidance.

A.2 Repeated dose toxicity

A study on repeated dose toxicity in one animal species is normally requested for vaccines that will require multiple doses in the clinical setting. Even in cases where only single doses will be administered in clinical use, a repeated dose toxicity study may nevertheless be appropriate. The selection of an appropriate animal species should be carefully evaluated on a case by case basis.

The route and dosing regimen should reflect the intended clinical use. Its design should take into account potential differences in response time between animals and humans (e.g. repeated doses at monthly intervals in humans may not give the same response as repeated doses at monthly intervals in animals).

Valuable information can be obtained by expanding multiple-dose immunogenicity studies to include measurements normally conducted in preclinical toxicity studies (i.e. body weight, food consumption, clinical pathology, gross necropsy and histopathology). The value of the protocol would normally be enhanced by concurrent measurement of the antibody response to all important components of the vaccine (immunogenicity studies).

Incorporation of safety pharmacology endpoints in the design of these studies should be considered (see also § F.2.).

The applicant should consider the following points on a case by case basis:

- Where appropriate, specific consideration should be given to immunological aspects of toxicity, such as production of complexes with host immunoglobulins (e.g. antibody-dependent enhancement of disease) or release of immunofunctional molecules, (e.g. cytokines) affecting functions of the immune system.
- Hypersensitivity reactions, induced by the antigen itself, by antigens (toxins) modified in new ways (new detoxification procedure, by antigen-carrier complex or presence of minute amounts of impurities) or by additives (adjuvants/excipients/preservatives) may be increased (especially for vaccines proposed to be injected more than once).
- In some rare cases, antigenic substances can induce antibodies that can cross-react with human tissue resulting in possible adverse effects and the availability of an animal model to address these issues should be considered.

B. Examination of reproductive function.

Data on reproductive function (fertility) are usually not necessary. Histopathology in toxicity studies may provide sufficient information concerning the integrity of reproductive organs.

C. Embryo/foetal and perinatal toxicity

In most cases, vaccination of humans occurs during childhood. Therefore, embryo/foetal and perinatal toxicity studies are usually not necessary. Only if a vaccine is intended for use in women of child bearing age or during pregnancy may such studies become necessary.

Some existing vaccines, although safe for use in women who are not pregnant, may cause foetal infection resulting in malformations or abortions in women who are pregnant. Documentation on clinical and/or epidemiological data on exposure to the infectious agent or related vaccines during pregnancy should be provided, and may be sufficient to evaluate the risk. In other cases, the availability of appropriate animal models should be considered.