

試験を実施することが最低限必要であると考えられた。今後策定したデザイン案の妥当性について、規制当局であるPMDAの薬事戦略相談で相談を行って、最終的に実施する非臨床試験の内容を最終化する予定である。

#### 6) PMDA薬事戦略相談

プラスミドDNAをワクチン成分とする治療用DNAワクチンの国内開発は初めてのケースとなる。また、アジュバントとして使用するHVJ-Eについても、アジュバントとしての臨床応用は国内で初めてとなるため、適切に医師主導治験を実施するには規制当局であるPMDAと、治験開始前に密接に相談を行い、開発内容や方向性について合意形成を進める必要がある。

PMDAでは薬事戦略相談の制度があり、医師主導治験の実施内容や、新規医薬品開発に関する個別面談、事前相談、対面助言を実施している。本研究で開発するプラスミドDNAをワクチン成分とする治療用DNAワクチンについては、新規性が高いため、薬事戦略相談の制度を利用し、規制当局と開発内容に関して密接に事前相談しながら医師主導治験の準備を進めることが重要であると考えられた。

そこで、プラスミドDNAの規格及び安全性と、治験デザインの骨子、非臨床試験のデータパッケージ案について、PMDAの薬事戦略相談・個別面談を平成25年5月31日に、事前面談を平成25年6月20日にそれぞれ実施し、開発の方向性の妥当性について相談を行った。当初は、「感染症予防ワクチンの非臨床試験ガイドライン」について（薬食審査発0527第1号、平成22年5月27日付）、ICHのバイオ医薬に関するガイドラインである「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」について（薬食審査発0323第1号、平成24年3月23日付）、「遺伝子治療用医薬品の品質及び安全性の確保に関する指針について」（薬発第1062号薬務局長通知、平成7年11月15日付、平成14年3月29日付の医薬発第0329004号および平成16年12月28日付の薬食発第1228004号でそれぞれ一部改定、以下遺伝子治療指針）を参考にして試験デザイン案を策定していたが、薬事戦略相談の結果、参考となるガイドラインの選定（WHOのガイド

ラインなども参考にすること）、治験前に実施が必要な動物試験のレベル（GLP、信頼性基準適合）、プラスミドDNAの規格及び安全性と製造レベル（GMP）などについて、適切なコメントを得ることが出来た。そのため、実施した事前面談でのコメントに従って、非臨床試験デザイン案の改定を行い、より適切な非臨床試験のデータパッケージ案の策定を完了した。改定した内容については、再度PMDA相談を実施して最終化した上、試験を実施する予定である。

更に、アジュバント成分であるHVJ-Eについては、平成26年2月13日に対面助言を実施し、規格及び安全性の確保に関して相談を実施した。具体的にはアジュバント成分であるHVJ-Eについて治験薬GMP製造を行う際に必要な、品質管理項目、工程管理項目の設定に関して、一部追加データの取得を進めることで合意した。これにより、治験届けまでに必要なデータがより明確になったため、現在追加データの取得を進めている状況である。

以上のようにしてPMDAの薬事戦略相談を活用し、国内で初めてとなる治験の実施に必要な項目に関して相談を行い、規制当局との合意形成を進めた。これらの成果を活用し、実際に治験を実施することで、引き続き国内のガイドライン策定に向けた準備を進める事とした。

(3) GMPレベルのpVAX/HSP65 DNA+ ヒトIL-12 DNAを100mg作製した(1バッチ)。これをサルに用いてこのワクチンの安全性試験・毒性試験を行う計画を立案中（岡田、中島、井上）（表8）。

(4) pVAX/HSP65 DNA+ マウスIL-12 DNAを70mg作製した（岡田、井上）（表9）。

(5) マウスでこのワクチンの平成26年度信頼性基準適合用試験のための用法用量試験の予備試験を井上、露口、中島、朝野、熊ノ郷と共同研究で実施中（表10）（図2、3、4、5、6、7、8、9）。

(6) 用量検討(DNAワクチン投与量検討) C57BL/6マウスやDBA/1マウスにワクチンを25 $\mu$ g~280 $\mu$ gで投与した。4~6w後の脾細胞を抗原Hsp65蛋白でin vitro刺激しIFN- $\gamma$ 、IL-2、IL-6、TNF $\alpha$ （T細

胞免疫能)産生をELISAで解析中。DNA量が $25\mu\text{g}$ でもIFN- $\gamma$ 産生を増強しワクチン効果有効(図5、7、8、9)。

(7)用法検討(DNAワクチン投与回数検討)。治療ワクチン1回投与、3回投与、6回投与群で治療効果比較(図2、5、6)。

(8)PMDA対面助言を計画中。①中島、井上、岡田が打ち合わせ(会議:当臨床研究センター)2013年10月21日 ②三上、井上、岡田が打ち合わせ(会議:当臨床研究センター)2013年10月22日(表11)

(9)HVJ-Eへの遺伝子封入効率は15%程度であった。希釈しないF抗血清とHVJ-Eを混合し、37度で30分インキュベートして、HEK293細胞にかけルシフェラーゼ遺伝子発現を調べた。コントロールとしてPreimmune serumを用いた。Preimmune serumを用いた場合の遺伝子発現は約90%であったが、F抗血清の場合は、0になった。抗血清を4倍希釈すると約10%の遺伝子発現であった。次に、F抗血清とHVJ-Eを混合し、インキュベートなしに直接HEK293細胞に作用させた。ルシフェラーゼ遺伝子発現は全く阻害されなかった。マウスの骨格筋での遺伝子発現については、遺伝子を封入しないHVJ-Eを1週間隔で2回前脛骨筋に注射し48時間後の遺伝子発現は、遺伝子未封入のHVJ-Eの連続投与した場合の遺伝子発現と比較して、有意差のない同じ値が得られ、抗HVJ抗体が存在する個体における遺伝子発現は全く阻害されなかった(金田)。

(10)近畿地区の結核診療施設の結核患者の臨床試験統括。結核ワクチンの薬効解析基盤の確立に着手した。マウスを用いた細胞性免疫、液性免疫双方の測定基盤の立ち上げ。関連施設連携を行った(熊ノ郷)。

(11)NHO茨城東病院MDR-TB症例は男性9例、女性1例の10例、平均年齢57.2歳(34歳~86歳)、日本人9例(1例、インドネシア在住30年)、韓国人1例であった。それらの予後は、生存2例(1例肺切除、1例内服加療)、死亡5例(全例、切除できず)、不明3例であった。MDR-TBは6例で超多剤耐性結核(以下、XDR-TB)は4例であった。

複十字病院例については、221例で、性別は男性

150例、女性71例で、一般の結核症例と男女差は見られなかった。平均年齢は47.8歳(range 18歳~99歳)であった。国籍は、日本人164例、中国人25例、韓国人10例、その他のアジア16例、その他の地域6例であった。多剤耐性結核のうち、XDR-TBは32例でXDR以外は189例であった。2013年11月現在の予後は、治癒107例(うち3例は治癒後再発再治療治癒、1例は転出=母国帰国後再入国時再発有再治療治癒)、死亡27例(うち10例は菌陰性化ののち死亡)、治療失敗入院中2例、菌陽性転出7例、菌陰性転出51例、治療中断10例、順調に治療中15例、不明2例であった(齋藤)。

(12)平成25年度の実施状況としては、大阪大学医学部府附属病院内に、健常人に対する臨床試験専用病棟を設置し、健常人を対象とするPETマイクロドーズ臨床試験及びマラリアワクチンのフェーズI医師主導試験の経験を結核ワクチン開発に応用する(朝野)。

(13)近畿中央胸部疾患センター(2006年1月~2012年12月)の多剤耐性結核症例55例の平均年齢は58.9歳で、男性37例、女性18例であった。初回治療例が26例、既治療例が29例であった。55例中、超多剤耐性結核(XDR-TB)例は20例であった。治癒は22例、排菌陰性化は17例、治療失敗は3例、結核死は9例、非結核死は2例、脱落は2例であった。治癒+排菌陰性化を治療成功とすると、全体の治療成功率は70.9%であったが、XDR-TB例での治療成功率は45%にとどまった。手術を行った例は14例あり治療成功率は92.9%であった(露口)。

(14)アンケートを作成(年齢、性別、罹病期間、薬剤感受性、手術歴、排菌陰性化の有無、入院年数)を行い関西圏の結核病棟を有する病院に依頼する。初年度は、近畿中央胸部疾患センター、大阪府立呼吸器・アレルギー医療センター、結核予防会大阪病院に関して行った。

2000~2001年には45人を上回っていた大阪府立呼吸器・アレルギー医療センターの多剤耐性結核排菌のべ患者数は徐々に減少し2011年には15人になった。

2004年から2009年まで大阪府立呼吸器・アレルギー医療センターの新規MDR-TB患者数をみると13名から5名へ減少。XDR-TB患者数は、2004年が7名で、2008年は1名、2009年は0と減少した。

また、DNAワクチン投与対象患者は、大阪府結核予防会大阪病院では0であったが、大阪府立呼吸器・アレルギー医療センターにおいては結核診断から15年以上たったADL良好なXDR-TB患者を少なくとも1名確認出来た（松本）。

(15) 2004年～2013年（10月末現在）までに、国立病院機構東京病院に入院し、多剤耐性結核と診断さ

れ治療を受けた患者の総数は40名であった。性別は、男性33名、女性7名であった。多剤耐性結核治療後の退院時の転帰別にみると、治療完了9名、治療中断脱落1名、死亡7名（退院後の死亡は含まず）、転出（帰国含む）10名、治療継続8名（内3名は後に死亡、他の5名は東京病院で治療中あるいは観察中）、現在東京病院入院中1名、不明4名（計40名）であった（庄司）。



表9

平成25年度 研究進捗状況

3. pVAX/HSP65 DNA+マウスIL-12 DNAを作成した。  
(70mgを作成した)

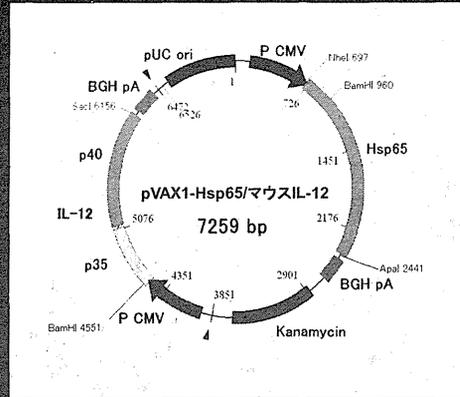


表10

平成25年度 研究進捗状況

4. マウスでこのワクチンの平成26年度信頼性基準適合用試験のための用法用量試験の予備試験を実施中。  
井上、露口、中島、朝野、熊ノ郷と共同研究で実施中。

表11

平成25年度 研究進捗状況

5. PMDA対面助言を計画中。

①中島俊洋、井上義一、岡田全司  
が打ち合わせ

(会議:当臨床研究センター)

2013年10月21日

②三上礼子、井上義一、岡田全司  
が打ち合わせ

(会議:当臨床研究センター)

2013年10月22日

用法検討(DNAワクチン投与回数検討)

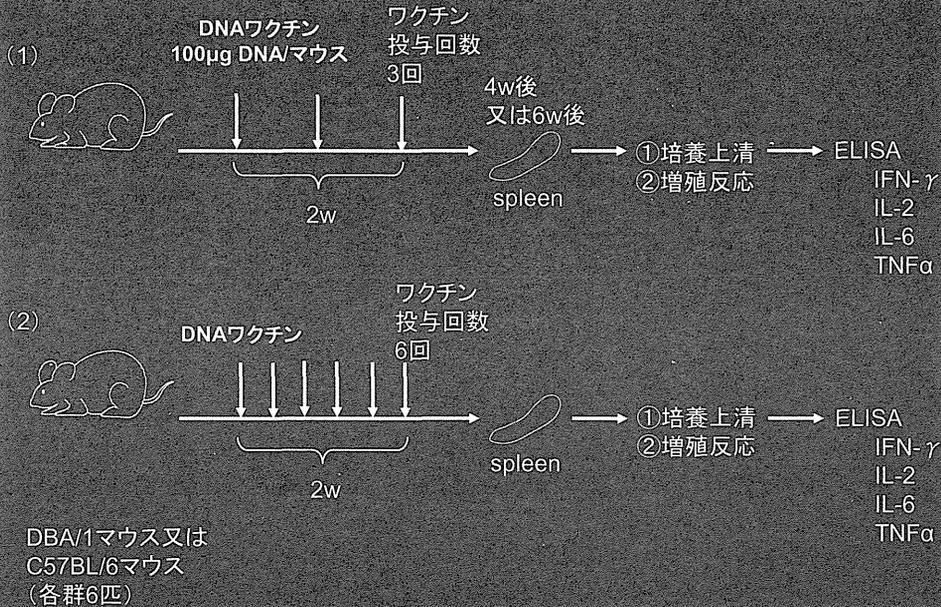


図2

## 用量検討(DNAワクチン投与量検討)

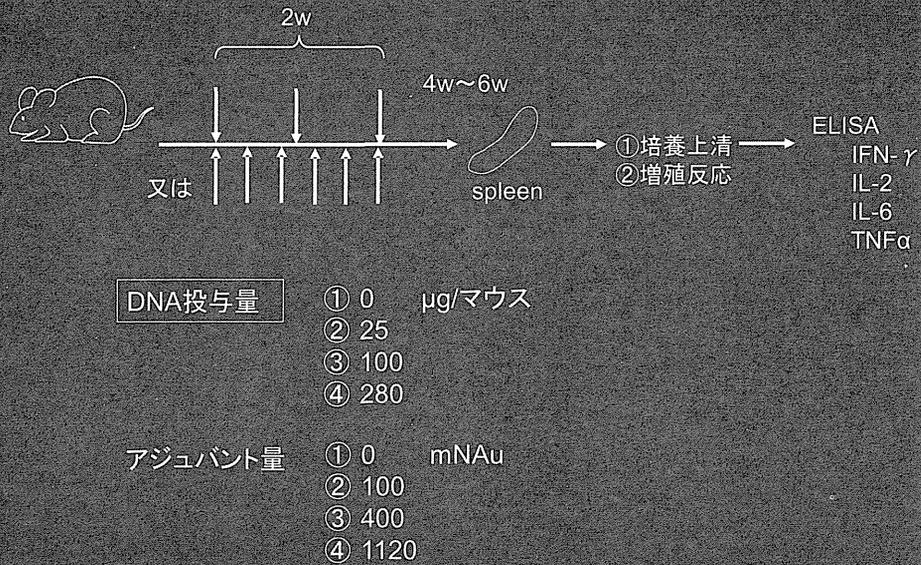


図 3

## 用量検討(アジュバント添加量)

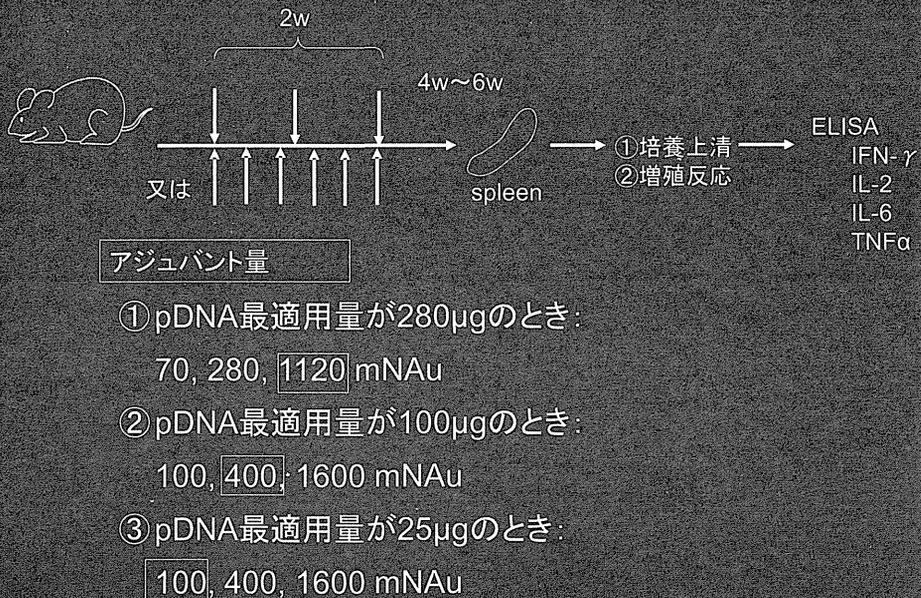


図 4

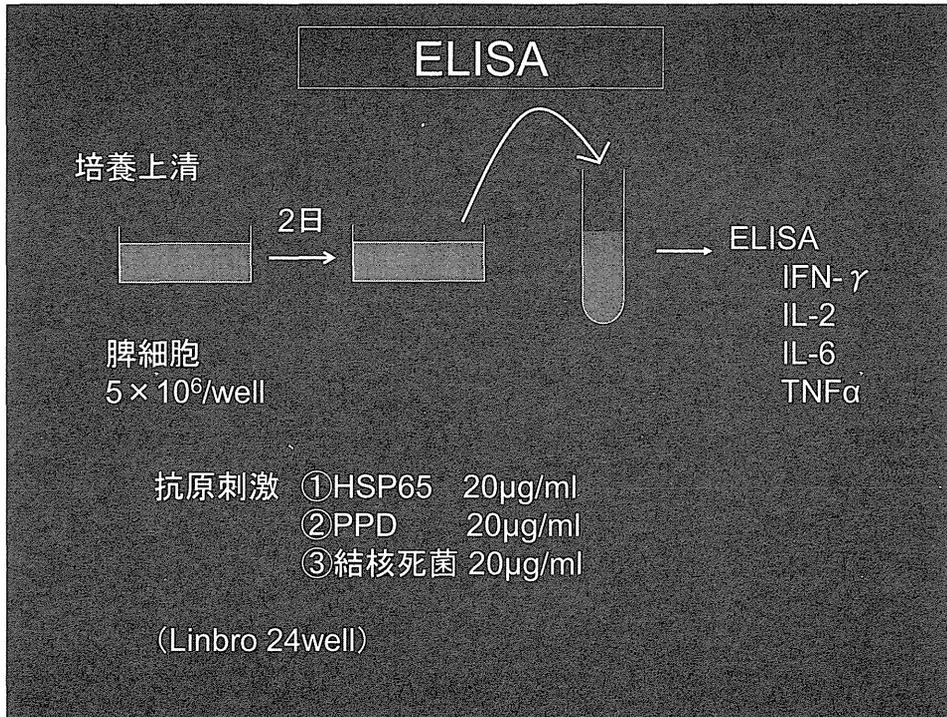


図5

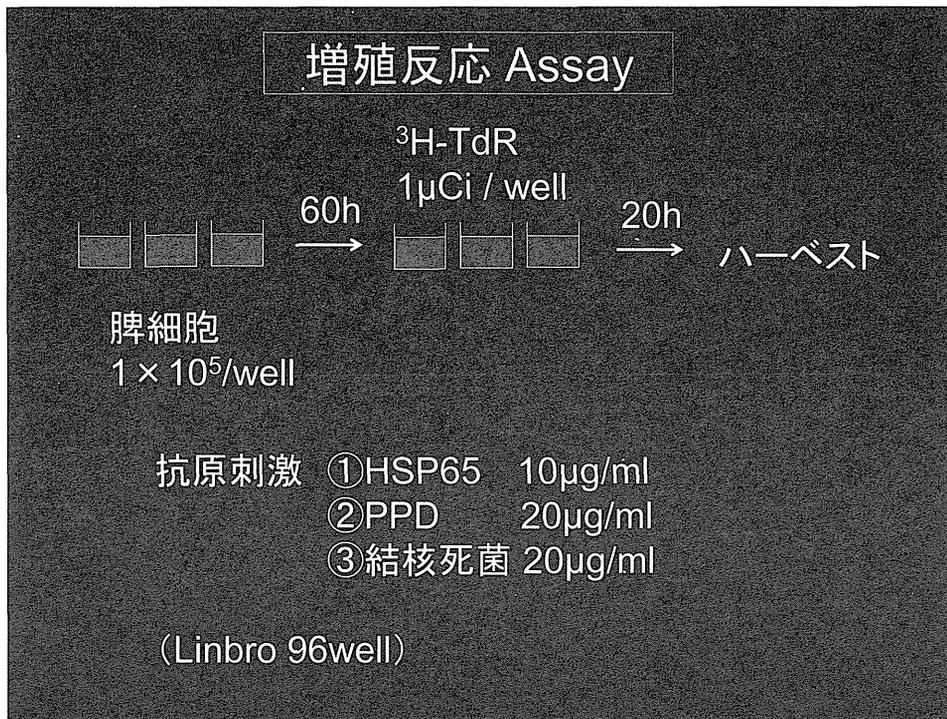


図6

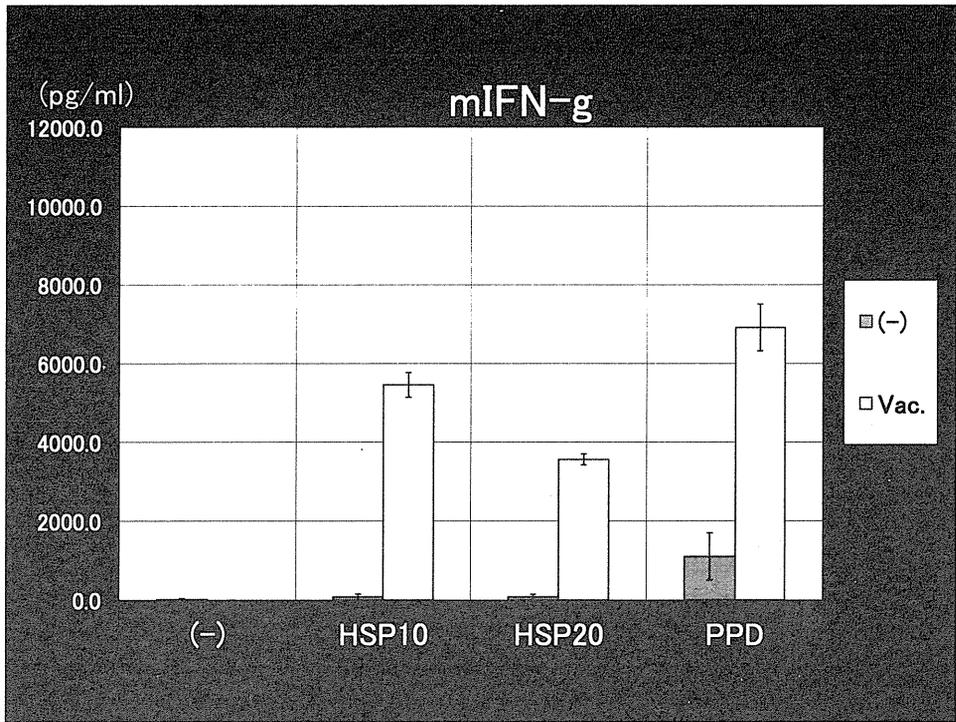


図 7

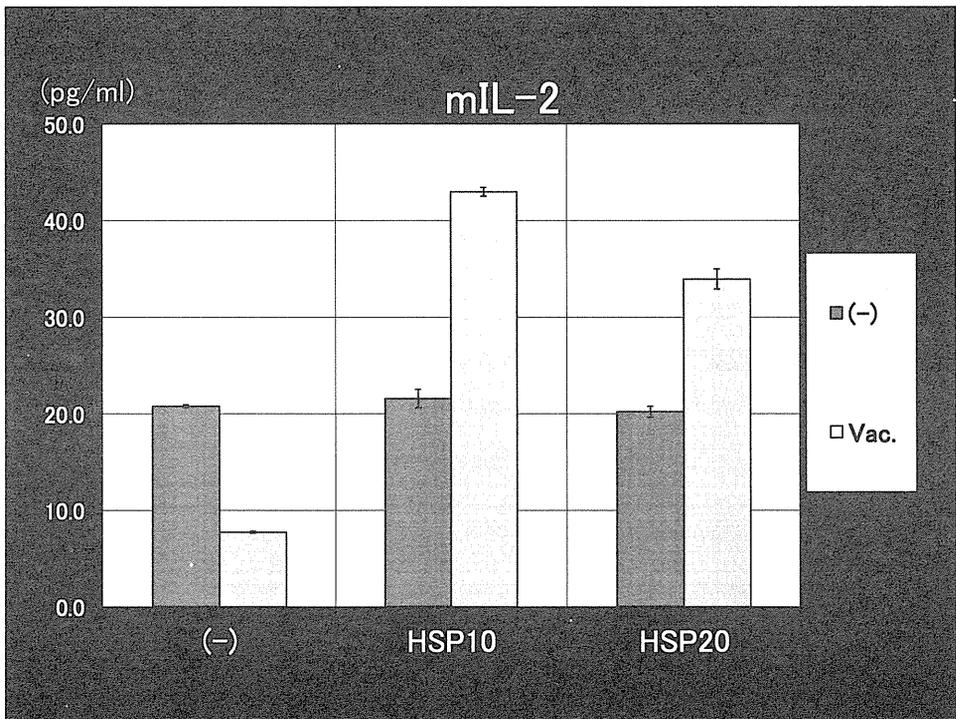


図 8

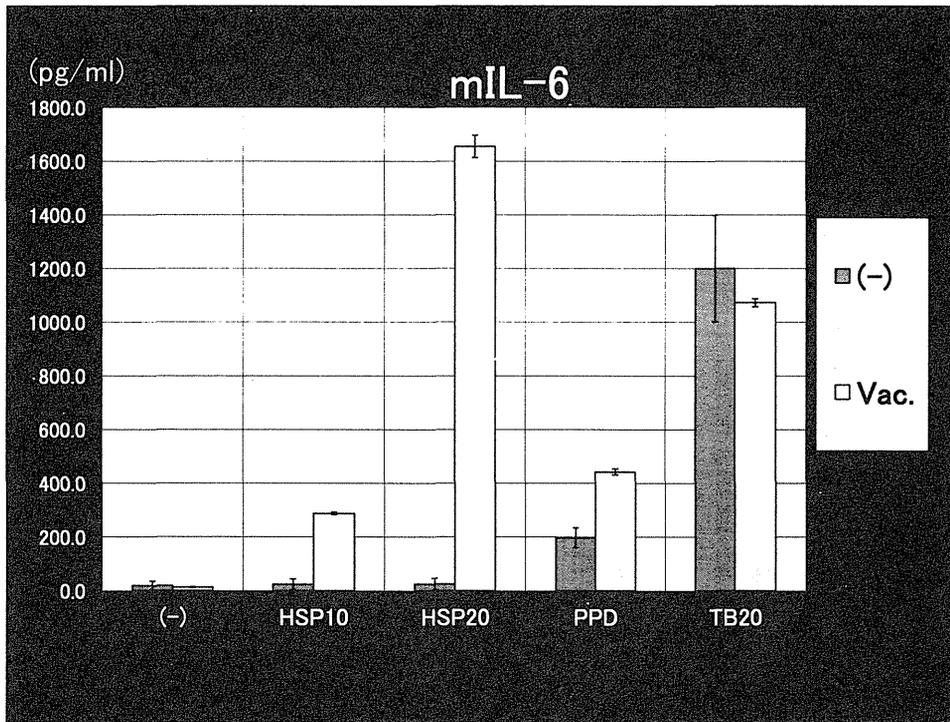


図 9