

平成 25 年 5 月 27 日

細胞培養法ワクチン実生産施設整備等推進事業実施計画
進捗・変更 **終了** 報告書

会社名：北里第一三共ワクチン株式会社

担当者：服部 信章

1. 実生産施設整備事業終了報告

(1) 施設、設備及び建築工事の進捗状況

平成 23 年 8 月 19 日に細胞培養法ワクチン実生産施設整備等推進事業（以下、細胞培養法開発第 2 次事業）の採択を受け、施設建築及び設備施工業者の選定を開始した。施設、設備の整備計画においては、採択された事業の目標とした「半年間で 4000 万人分以上のワクチン生産量が供給可能な製造施設を整備すること」を達成するために、臨床用量を 15 µg HA/dose で 2 回接種を予定し、この臨床用量から 4000 万人分以上のワクチン生産を、可能とする施設及び設備の整備計画を立てた。

施工の実施については、第一三共株式会社（以下、第一三共）及びそのグループ会社と協力・連携を図り、新ワクチン研究生産棟を細胞培養法開発第 2 次事業対象期間内の平成 25 年 3 月末までに完工させることを目標とし、当社内に施工プロジェクトチームを発足させた。また、XXXXXXXXXX、XXXXXXXXXXとも協力体制を敷き、建設の推進を図ることとした。

上記体制の下、平成 23 年 9 月 1 日の着工後、免震基礎工及び躯体基礎工事を完了し、鉄骨の組み立ては、平成 24 年 3 月末に全体の約 60%となる 3 階までの床設置を完了した。同 4 月より各階の柱へのコンクリート打設を鉄骨組み立てと同時に並行で開始し、同 5 月末までにほぼ完了させた。また、同 4 月より附属棟の特高受電施設及び排水処理施設の基礎工事を開始した。

平成 24 年 8 月末に各階の柱へのコンクリート打設及び床の設置を完了した。同 9 月からの培養設備に関する搬入設置開始にあわせ、培養設備設置エリアの床仕上げ及び区画間仕切りの配管設置等、内装工事と外壁の設置を進めた。同 9 月末から製剤設備設置エリアの内装工事を開始するとともに、バイアル製剤及びシリンジ製剤の両設備の搬入にあわせて躯体工事の仕上げを進め、同 12 月末までに全体の躯体工事を完了させた。内装工事については、1 階エントランスも含め平成 25 年 2 月末で全て完了し、生産施設の工事を終えた。また、排水配管等を含む外構工事は同 1 月から開始し、3 月 16 日に完了した。

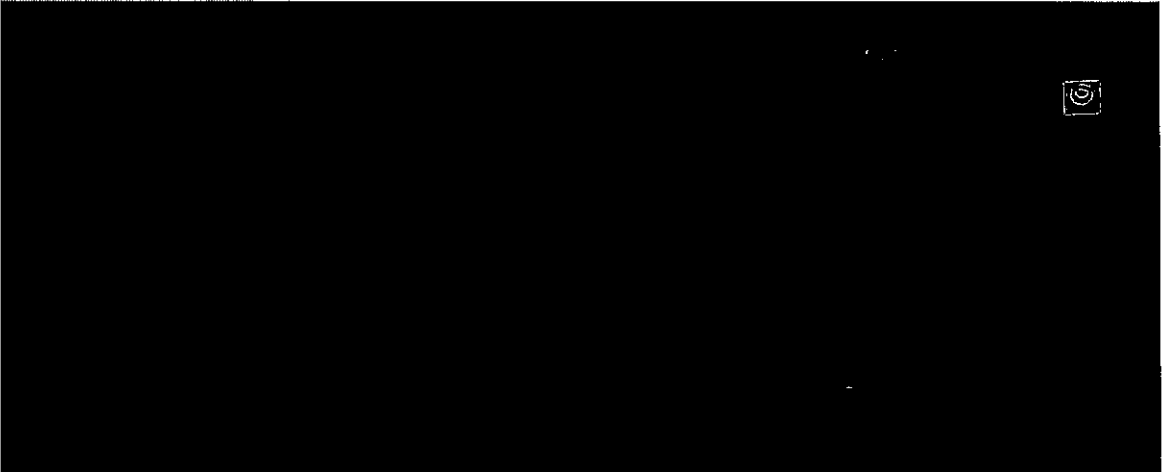
平成 24 年 11 月 24 日に高圧電力の受電を完了し、同 12 月 8 日に水道の受水を開始した。空調、電気及び衛生設備等の生産施設の付帯工事は平成 25 年 1 月末に完了し、同 2 月から電力の配線及び空調の HEPA フィルター取り付けを開始、同 3 月 10 日に生産施設及び附属棟（受電棟、ポンプ棟及び排水処理棟）のすべての工事を完了した。

各室の生産機器の設置取付後、平成 25 年 3 月中旬より各施設設備の完了検査を開始した。XXXXXXXXXXによる築完了検査、消防による消防用設備検査及び経済産業省による受変電設備の使用前検査を 3 月中にすべて完了し、生産施設及び附属棟を使用可能な状態とした。

平成 25 年 4 月以降、生産施設及び附属棟の取り扱いに関する説明を施工業者から受け、7 月末の設

備引渡し後、PQを実施する予定である。

平成 25 年 3 月 29 日における建築工事の状況を写真で示すと下記の通りとなる。



(2) 生産設備製作及び設置状況、分析機器・動物飼育機の設置スペース確保

細胞培養及びウイルス培養設備検討において、[REDACTED] から [REDACTED] へ平成 23 年 7 月に変更し、これに合わせ、平成 24 年 3 月末までに設備変更の設計を終え、培養設備の製作を開始した。同 5 月から各設備の工場検収および製作設備の製作確認と搬入予定の調整を開始し、同 9 月から培養設備の搬入と設置を進め、同 12 月に完了した。設備の搬入、設置と同時に設置検証も開始し、平成 25 年 3 月末で完了した。ウイルス精製設備は、平成 24 年 10 月末に製作を終え、工場での検収後、同 12 月に施設に搬入し、設置を完了した。平成 25 年 1 月には監視制御システムの設置を終え、原薬製造に関する全設備及び監視制御システムの設置がすべて完了となった。

細胞培養設備、ウイルス培養設備及びウイルス不活化精製設備は、平成 24 年 9 月以降、搬入設置した設備から設置検証を実施し、監視制御システムの設置完了後、平成 25 年 3 月末にすべての培養設備の設置検証を完了させた。設置後の届け及び必要な法定検査も終え、すべての設備を稼動可能な状態とした。

稼動検証は同 4 月から開始し、設備ユーティリティとの調整を含め、同 7 月末での稼動検証の完了を予定している。

製剤生産設備は、調整設備、充てん設備、包装設備及び滅菌設備について、平成 24 年 9 月から各設備の工場検収を開始し、海外及び国内での製作設備の確認は同 12 月末でほぼ終え、同 12 月から搬入設置も進め、平成 25 年 3 月末に設置検証を完了した。一部の包装設備および海外メーカーで製作したバイアル充てん設備については、平成 25 年 1 月に検収を完了した。この包装設備の設置は同 1 月末、バイアル充てん設備の設置は同 2 月末に完了し、いずれも 3 月末に設置検証を完了した。

追加計画した品質試験用分析機器の設置場所確保のための既存試験施設拡張工事は、平成 25 年 2 月に着工、同 3 月に完了、分析機器の設置も終えた。同じく追加計画した動物試験用の飼育機設置エリア拡張工事は、平成 24 年 12 月に着工、平成 25 年 3 月に完了、動物飼育機の設置を終えた。

設置した主要な生産設備等は次頁の通りである。下記設備の設置により当初計画した 15 µg HA/dose、

2 回接種を 1 人分として半年で、10mL バイアル製剤が 3500 万人分、シリンジ製剤が 500 万人分の 4000 万人分のワクチンを生産可能な実生産設備の整備を完了した。

主要生産設備・ 分析機器等	生産機器・分析機器
原薬製造設備	<培地・バッファー調整設備> 培地調製タンク (■t×■基・■t×■基) バッファー調製タンク (■t×■基・■t×■基)
	<細胞培養設備> 細胞培養タンク (■L×■基・■L×■基・■t×■基)
	<ウイルス培養設備> ウイルス培養タンク (■t×■基；■基×■系統)
	<ウイルス精製設備> ウイルス培養液ろ過機 (■機) ウイルス培養液濃縮機 (■機) ウイルス不活化タンク (■L) 超遠心機 (■機) ホルマリン処理タンク (■L×■基) 脱ホルマリン・脱糖用限外ろ過装置
製剤化設備	<シリンジ充てんライン> 電子線除染装置・シリンジ充填機・シリンジ自動検査機・アイソレータ
	<バイアル充てんライン> 乾熱滅菌装置・バイアル充填機・バイアル自動検査機・アイソレータ
	<シリンジ包装ライン> ロッド装着/ラベラー・プリスター包装機・ピロー包装機・カートニング装置・まとめ包装機・ダンボール梱包機
	<バイアル包装ライン> ラベリング装置・カートニング装置・まとめ包装機・ダンボール梱包機
	<薬液調製設備> アルミゲル調製滅菌タンク・PBS 調製タンク・最終バルク構成タンク
倉庫 (自動ラック倉庫)	資材原料自動ラック倉庫：1 機 1~4F 最終製品用自動ラック倉庫(冷蔵)：1 機 1~3F 中間製品用自動ラック倉庫(冷蔵)：1 機 2~3F
分析機器等	無菌試験用アイソレーター (無菌試験装置含む) インキュベーター リアルタイム PCR ウサギ飼育ラック

2. 臨床試験等実施事業終了報告

2-1. インフルエンザウイルス A/Indonesia/5/2005 (H5N1)の弱毒株 PR8-IBCDC-RG2 株を用いた製法確立検討及び治験薬製造

細胞培養法開発第 2 次事業助成期間内に実施した、製造プロセス改良や試験製造による製法確立検討

の経過、及び治験薬製造実績を表1に概括して示す。平成23年度には、細胞培養法開発第2次事業申請時の計画であった[]から[]への変更、実験用生産施設（第1次公募事業にて導入。以下「パイロットプラント」と記す。）に設置した[]L培養設備へのスケールアップ（[]倍）、[]Lスケールにおける試験製造で判明した種々の課題点の改良を行い、パイロットスケールにおける原液製造方法を確立した。平成24年度は実生産設備（[]Lスケール）へのスケールアップへ向け、培地改良（[]）及び培養時の[]の検討を行い、[]Lスケールの実生産における製造プロセスを確定した。また、上記のプロセス検討と並行して、治験薬の製造及び安定性試験用検体の製造を実施した。安定性試験については助成期間終了後も継続中である。

表1. 製法確立検討及び治験薬製造の概要

	平成23年度				平成24年度			
	1Q	2Q	3Q	4Q	1Q	2Q	3Q	4Q
主なプロセス改良								
試験製造								
原液								
治験薬製造 ／安定性試験 製剤								

以下に製法確立検討及び治験薬製造について詳述する。

2-1-1. 製法確立に関する検討

(1) プロセス改良検討

① 培養方法の変更（平成23年4月～同6月）

実生産における培養工程及び培養設備の簡素化を目的に、従来の[]から[]への変更に関する検討を行った。フラスコスケールでの培養実験によって[]の条件検討を行い、得られた培養条件により[]L培養槽を用いた[]の評価を行った。その結果、[]において、フラスコスケールにて想定された十分な細胞増殖並びにウイルス収量が確認された。実生産を想定した場合、[]と同程度のウイルス産生（ヘムアグルチニン（HA）換算）並びに比活性が得られることが示唆されたため、パイロットプラントの[]L培養設備を用いた試験製造では、[]を採用することとした。

② パイロットプラント（ $\blacksquare$ L 設備）における試験製造（平成 23 年 7 月～同 11 月）

製造プロセス検討（ $\blacksquare$ への変更、拡大培養法の確立）及びパイロットプラント整備（IQ/OQ、水試運転）を完了させ、 $\blacksquare$ L スケールにおける試験製造（2 バッチ）に臨んだ。IOQ の文書整備の完了について、記載する。本試験製造は、パイロットプラントの実液試運転による工程作業上の課題抽出及び解決、GMP 製造へ向けた製造パラメータの取得、実生産設備設計への反映を主目的とした。以下に結果概要を示す。

- フラスコスケールでの検討結果から、拡大培養時の継代における拡大率を従来の $\blacksquare$ 倍程度から $\blacksquare$ 倍に設定した。試験製造 1 バッチ目（TR-1）において、継代数、及び特にタンク培養では課題であった継代後の培養槽への $\blacksquare$ を低減できることが確認された。なお、 $\blacksquare$ は $\blacksquare$ であり、マイクロキャリアに付着した細胞を剥離して継代するために使用する。これにより、拡大培養は、ワーキングセルバンク（WCB）解凍→静置培養 $\blacksquare$ 日間（ $\blacksquare$ フラスコ× $\blacksquare$ 本）→静置培養 $\blacksquare$ 日間（ $\blacksquare$ フラスコ× $\blacksquare$ 本）→攪拌培養 $\blacksquare$ 日間（ $\blacksquare$ L スピナーフラスコ× $\blacksquare$ 本）→ $\blacksquare$ L 培養 $\blacksquare$ 日間→ $\blacksquare$ L 培養、というフローとなり、プロセス全体期間の短縮につながった。
- TR-1 における $\blacksquare$ L 培養ではマイクロキャリアへの細胞接着が不均一であった。これは $\blacksquare$ L から $\blacksquare$ L 培養に継代する際の、 $\blacksquare$ L 槽での $\blacksquare$ による細胞剥離条件に問題があると考えられた。このため、試験製造 2 バッチ目（TR-2）では $\blacksquare$ L 槽から $\blacksquare$ L 槽への継代時に、 $\blacksquare$ L 槽における $\blacksquare$ 処理後の攪拌条件を変更し（攪拌： $\blacksquare$ rpm）、細胞を均一分散させた。その結果 $\blacksquare$ L 槽内で均一なキャリアへの細胞接着及びより良好な細胞増殖を実現し、到達細胞密度は約 $\blacksquare$ 倍になった。
- $\blacksquare$ L スケールでの試験製造 2 バッチにより、設備及びプロセスのチューニングを行い、治験薬原液の製造へ向けたプロセスパラメータを取得した。また、得られたデータは実生産設備設計に反映させた。
- TR-2 において細胞到達密度は TR-1 と比較して約 $\blacksquare$ 倍に増加したが、ウイルス産生は約 $\blacksquare$ 倍に留まった。中間体（ $\blacksquare$ ）の SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動（PAGE）分析を行ったところ、TR-2 では大部分の HA たん白質が $\blacksquare$ であることが分かった。 $\blacksquare$ による HA たん白質の $\blacksquare$ はウイルス感染及び増殖に寄与するため、TR-2 ではウイルス増殖培地に添加している $\blacksquare$ 濃度が、細胞密度の増加に伴う潜在的なウイルス産生能の $\blacksquare$ に対して $\blacksquare$ していることが示唆された。フラスコスケールにてウイルス増殖培地への $\blacksquare$ 添加濃度の最適化検討を行った結果、適正な添加量は従来の $\blacksquare$ %ではなく、 $\blacksquare$ %であることが明らかになった。ウイルス増殖培地の変更（ $\blacksquare$ ）は、次項のパイロットプラントにおける治験薬原液の製造から適用することとした。

③ 追加第 I 相及び第 II/III 相試験用原液の製造（平成 23 年 11 月～平成 24 年 3 月）

上述した検討結果に基づき、追加第 I 相及び第 II/III 相試験薬原液を $\blacksquare$ L スケールにて 3 バッチ製造した（バッチ番号：PCI-II/III-1～3）。本原液製造において、申請用実測値測定及び製造プロセスのバリ

デーション並びに製法変更 ()・スケールアップ (L→ L) に伴う原液品質の確認を実施した。

本原液製造 バッチの結果概要を表 2 に示す。培養工程は何れのバッチも WCB 解凍から L 培養槽におけるウイルス培養の終了まで、再現良く想定通りの細胞増殖を示し、ウイルス培養時の到達細胞密度も安定して cells/mL に達した。また、ウイルス培養終了時の培養上清中の HA 価もほぼ同様の値を示した。精製工程についても、3 バッチ共に同様の工程作業が再現良く実施でき、原液の収量はバッチあたり g HA 程度となった。また、表 2 には L スケールの 培養 (3 バッチ) の実績も比較対象として記載しているが、本製造における原液の収量 (総 SRID : 一元放射免疫拡散試験により測定された HA 総量) はスケールアップ倍率の 倍を超える値 (倍) となっており、本製造によって L から L へのスケールアップと共に原液の収量増を達成した。なお、本製造における収量の増加は、②に示したウイルス培地の改良 (添加量の変更) が主要因となったと推定している。

製法変更 () 及びスケールアップ (L→ L) に伴う原液品質の変化の有無については、製造プロセス、原液品質規格及び有効性の観点から評価した。製造プロセスについては製造における各工程パラメータが基準値内にあること、原液品質については品質規格に適合していること、さらに、品質規格には設定していないが、マウスにおいて従来と同程度の免疫原性を示すことが確認された。従って、本製造における原液品質は従来の原液品質と変わらないと判断した。

表 2. L スケールにおける治験用原液製造まとめ

項目	バッチ番号			平均	L スケール, 培養 (3 バッチ平均)
	PCI-P11/III-1	PCI-P11/III-2	PCI-P11/III-3		
製造日	平成 23 年 12 月 27 日	平成 24 年 2 月 24 日	平成 24 年 3 月 12 日	—	(平成 23 年 度 1Q)
到達細胞密度 (cells/mL)	x	x	x	x	x
培養上清 (ウイルス浮遊液)	容量 (L)				
	HA 価				
原液	総 SRID (mg HA)				
	総たん白質量 (mg)				
	比活性 (HA/protein)				

以下は、平成 25 年度の実生産設備での製造を目指した製造プロセス検討結果である。(実施期間：平成 24 年 3 月～同 25 年 3 月)

④ 培地改良検討 (添加の検討)

動物細胞培養において細胞の保護作用が報告されている の 細胞増殖及びウイルス産生に対する影響について、 L スピナーフラスコを用いて検討した。 の添

加は、培養後期の細胞増殖を抑制し、それに伴ってウイルス収量も低下する結果となり、実生産への適用は困難と判断した。

⑤ 培地改良検討 ([]、[]、[] の除去)

実生産においては、[]、[] 及び [] の培地への添加は不要・不適であると考えられたため、これら薬剤の培地成分からの除去について小スケール ([] L スピナーフラスコ～ [] L 培養槽) にて検討した。その結果、上記の成分を除去した培地 (改良培地) は、従来培地と同等の細胞増殖並びにウイルス産生をもたらすことが確認されたため、実生産への適用を目指し、[] L スケールでの検証実験を行うこととした。

⑥ [] L スケールでの試験製造 (バッチ FPP1T-12-1 / 改良培地の検証)

表 3 に一連の [] L スケールにおける試験製造 3 バッチの結果概要を示す。前項の小スケール実験結果と同様に、[] L スケールにおいても改良培地は従来培地と同等の細胞増殖及びウイルス産生を示すことが確認された。

⑦ [] L スケールでの試験製造 (バッチ FPP1T-12-2 / 攪拌回転数の検討)

実生産規模である [] L 培養においては、[] L 培養結果に基づくシミュレーションにより、[] rpm の攪拌を想定している。現在 [] L 培養槽の攪拌についても同シミュレーションから [] rpm としているが、培養槽の上部と下部で [] % 程度の細胞 (マイクロキャリア) 濃度の差が生じており、回転数の不足が確認されていた。実生産での [] L 培養においては培養槽内の不均一性は更に顕著になること、及び培養槽の容量増加によりガス交換効率が低下すること ([]) が予想され、確実なスケールアップのためには [] の増加が望まれた。そこで [] L 培養槽での攪拌回転数を [] rpm に設定し (従来は [] rpm)、培養工程に与える影響を検討した (培地は⑥の改良培地を用いた)。この値は実生産規模の [] L 培養槽では [] rpm に相当する。その結果、到達細胞密度は従来の約 [] 倍にあたる [] × [] cells/mL まで上昇し、ウイルス収量も従来の [] 倍となるバッチあたり [] g HA に達した。

⑧ [] L スケールでの試験製造 (バッチ FPP1T-12-3 / その他の検討)

[] L 培養槽による培養実績から、ウイルス培養 [] 日目における培地中の [] の低下が懸念されていた。このため本バッチでは、ウイルス培地への [] 強化 (従来 [] mM → 変更 [] mM) を検討した。また、従来、培養時の [] 制御に [] として [] % [] を用いているが、特に実生産培養槽では [] が低下するため培養液中の [] が [] L 培養槽よりも上昇することが懸念された。そこで [] を抑制するために [] 制御用 [] を [] に変更することが可能であるかについても併せて検討した。なお、上記以外の培養条件は⑦と同様とした。 [] 濃度は予備実験結果から [] L 培養では [] M、[] L 培養結果から [] L 培養では [] M とした。本実験結果は⑦と比較して [] 並びに [] も [] を示した。今回、 [] が⑦の結果より [] を示したのは、 [] 濃度が最適化されておらず、

培養槽内への本溶液の流入量が従来の[]よりも多量になったことが主要因であると判断している。また、[]の[]に伴って、[]も[]を示したと判断している。一方、ウイルス培地への[]の強化については、有効性を認めなかった。

なお、⑥～⑧で示した製法改良によって得られた原液品質については、③と同様の観点から評価し、改良前（追加第Ⅰ相試験用及び第Ⅱ/Ⅲ相試験用原液製造）と比較して変わりはないことを確認した。

表 3. 平成 24 年度の [] L スケール試験製造結果の概要

項目	従来法： Ⅱ/Ⅲ相試験 用原液製造 時の平均 (PCI-PII/III-1 ～3)	パッチ番号		
		FPP1T-12-1	FPP1T-12-2	FPP1T-12-3
		培地変更	培地/攪拌回 転数変更	培地/攪拌 回転数変更 []
工程作業終了日	—	平成 24 年 8 月 16 日	平成 24 年 9 月 17 日	平成 24 年 10 月 11 日
到達細胞密度 (cells/mL)	[]	[]	[]	[]
培養上清 (ウイルス浮遊液)	容量 (L)	[]	[]	[]
	HA 価	[]	[]	[]
原液	総 SRID (mg HA)	[]	[]	[]
	総たん白質量 (mg)	[]	[]	[]
	比活性 (HA/protein)	[]	[]	[]

⑨ 実生産設備における製造プロセスの設計

上述の平成 23 年 4 月から平成 25 年 3 月の製造プロセス検討を通じて、最も良好な細胞増殖並びにウイルス産生を示した⑦の条件に基づき、実生産設備における原液製造プロセスを設定することとした。想定する実生産プロセスの骨子を以下に示す。

- 拡大培養時の継代における拡大率を細胞培養法開発第 2 次事業申請時の [] 倍程度から [] 倍に増加させ、拡大培養の効率化（次代への [] の低減、継代数及び拡大培養期間の短縮）を図る。
- 拡大培養時のタンク間の継代においては、[] による細胞剥離後の攪拌回転数を増加して細胞を均一に分散させ、次タンク内でのマイクロキャリアへの均一な細胞接着を促す。
- タンク培養（[] ～ [] L 培養）で用いる培地（細胞培養培地及びウイルス培養培地）は、[]、[]、及び [] 不含とする。
- [] L ウイルス培養槽での細胞培養／ウイルス培養においては、
 ✓ [] を採用する。これにより培養期間は [] 日間（細胞培養 [] 日間、ウイルス培養 [] 日間）となり、当初計画の [] での所用期間（[] 日間）から [] 日間短縮

される。また、培地使用量も低減できる。

- ✓ 培養時の攪拌回転数は ■ rpm を基本とする（試運転結果を以って確定予定）。
- ✓ ウイルス培養培地への ■ 添加量は ■ % とする。
- 精製工程は、パイロットスケールにおける実績を踏まえてスケールアップする。
- その他の工程については、基本的に細胞培養法開発第2次事業申請時と同様とする。

（2）製造プロセス検証のための委託試験

① ウイルスクリアランス試験

本試験は ■ に委託して実施した。ウイルススクリアランス試験に用いたモデルウイルスは表4に示す通りである。本試験は、バイオテクノロジー応用医薬品のウイルス安全性評価のために必要な、原材料、工程および製品における評価のうち、工程の評価「製造工程の感染性ウイルス不活化／除去能力を評価する」目的で実施した。現行のパイロット製造設備で設定した ■ による化学処理に基づき評価試験法を確定し、ウイルス不活化工程の効果を評価した。表5に示す結果により、■ °C・■ 時間及び ■ °C・■ 時間の ■ 処理で構成した不活化工程がクリアランスに有効であることが確認された。■ に関しては LRV（Logarithmic Reduction Value）が ■ （■ に感染価を低下させる）程度と ■ を示しているが、製造プロセスへの外来ウイルス混入のリスクを考えると ■ や ■ に感染する ■ といった ■ ウイルスに有効であることから、本工程は効果的に機能すると判断している。

表4. ウイルスクリアランス試験に用いたモデルウイルス

ウイルス名	■	■	■	■
略号	■	■	■	■
ゲノム構造	■	■	■	■
エンベロープの有無	■	■	■	■
粒子サイズ	■ nm	■ nm	■ nm	■ nm

表5. ウイルスクリアランス試験結果

■ 工程	Log ₁₀ reduction value (LRV)				
	■	■	■	■	■
	Run 1 Run 2	Run 1 Run 2	Run 3 Run 4	Run 1 Run 2	Run 1 Run 2
■ min at ■ °C	■	■	■	■	■
■ min at ■ °C and ■ h at ■ °C	■	■	■	■	■

② フィルターろ過工程のバクテリアチャレンジ試験

培地等のろ過滅菌及び原液の最終ろ過工程について、フィルターのバクテリアチャレンジ試験を外部委託により実施し、各フィルターの除菌性能を評価・確認した。

- 培地等のろ過滅菌工程（平成 25 年 1 月～2 月）：PBS（Phosphate buffered saline：リン酸緩衝生理食塩液）、細胞増殖用培地及びウイルス培地のろ過滅菌に使用するフィルターについて、バクテリアチャレンジ試験を[]に委託し実施した。何れも良好な除菌性能を確認した。
- 原液最終ろ過工程（平成 24 年 12 月～平成 25 年 1 月）：原液最終ろ過工程に使用するフィルターについて、バクテリアチャレンジ試験を[]に委託し実施した。良好な除菌性能を確認した。

（３）申請用安定性試験

製造販売承認申請用として、原液及び製剤の安定性試験を実施した。バイアル製剤についてはいずれの申請用量にも対応できるように、[]、[]及び[] µg HA/mL のバイアル製剤（[]及び[] mL 充填）を製造し、本試験を実施した。申請用量が[] µg HA/mL となった場合においても、[] µg HA/mL 製剤を[] mL 接種するため、[] µg HA/mL の安定性データがあれば申請可能である。一方、シリンジ製剤については、実生産用の充填・包装設備の設計・導入のタイムラインの観点から想定用量を[] µg HA/dose に絞り、[] µg HA/mL の[] mL 充填シリンジを本試験用検体とした。以下に詳述する。

① 原液

表 2 に示した原液 3 ロット（PCI-P11/III-1a、PCI-P11/III-2、PCI-P11/III-3）を、実生産時と同様の材質のディスポーザブルバッグ（50 mL 容）に充填し、長期保存試験を開始した（平成 24 年 3 月）。なお、原液ロット PCI-P11/III-1a は、表 2 の PCI-P11/III-1 から派生させたロットである。平成 25 年 3 月時点で、長期保存 9 ヶ月の安定性を確認しており、平成 25 年度内に長期保存 1 年の安定性を評価する予定である。

② バイアル製剤

表 2 に示した原液 3 ロット（PCI-P11/III-1a、PCI-P11/III-2、PCI-P11/III-3）から、以下のバイアル製剤を製造し（表 6）、長期保存試験、加速試験、光安定性試験を開始した（平成 24 年 6 月）。加速試験は、保存 6 ヶ月の試験が終了した。加速 3 ヶ月目において力価の低下が顕著になり、6 ヶ月時点（試験終了時）では判定基準を下回ることが確認された。光安定性試験では、直接暴露させた製剤で力価が著しく低下し測定不能となったが、包装製剤（市販品相当）及びアルミホイルで遮光した製剤については、通常の貯法で保存した対照品との差は認められなかった。その他の試験項目については、直接暴露させた製剤も含め、対照品との差は認められなかった。長期保存試験については、平成 25 年 3 月末時点で保存 9 ヶ月の安定性を確認している。なお、何れの製剤においても上記に記載した傾向が示されている。

表 6. 安定性試験用バイアル製剤

製剤処方	容量	ロット番号	製造日	製造本数
■ µg HA/mL 製剤	■ mL	CR-PCI-010	平成 24 年 6 月 3 日	■
		CR-PCI-011	平成 24 年 6 月 4 日	■
		CR-PCI-012	平成 24 年 6 月 5 日	■
■ µg HA/mL 製剤	■ mL	CR-PCI-022	平成 24 年 6 月 9 日	■
■ µg HA/mL 製剤	■ mL	CR-PCI-013	平成 24 年 6 月 3 日	■
		CR-PCI-014	平成 24 年 6 月 4 日	■
		CR-PCI-015	平成 24 年 6 月 5 日	■
■ µg HA/mL 製剤	■ mL	CR-PCI-016	平成 24 年 6 月 6 日	■
		CR-PCI-017	平成 24 年 6 月 6 日	■
		CR-PCI-018	平成 24 年 6 月 6 日	■
■ µg HA/mL 製剤	■ mL	CR-PCI-019	平成 24 年 6 月 6 日	■
		CR-PCI-020	平成 24 年 6 月 6 日	■
		CR-PCI-021	平成 24 年 6 月 6 日	■

※治験薬を含む

③ シリンジ製剤

表 2 に示した原液 3 ロット (PCI-PH/III-1a、PCI-PH/III-2、PCI-PH/III-3) から、以下のシリンジ製剤を製造し (表 7)、長期保存試験、加速試験、光安定性試験を開始した (平成 24 年 8 月)。平成 25 年 3 月時点で、長期保存試験 6 ヶ月、加速試験 6 ヶ月 (終了)、光安定性試験 (終了) の結果を取得しており、何れの試験についてもバイアル製剤と概ね同様の結果となっている。

上記のシリンジ製剤 3 ロットは、■ と
なっていたことから、■ 処方にて同製剤を再製造し (表 8)、上記と同様の安定性試験を別途開始した (平成 24 年 11 月)。平成 25 年 3 月時点で、長期保存 3 ヶ月の結果が得られ、安定であることが確認されている。また、加速試験及び光安定性試験についてはバイアル製剤と同様の挙動を示している。

表 7. 安定性試験用シリンジ製剤

製剤処方	容量	ロット番号	製造日	製造本数
■ µg HA/mL 製剤	■ mL	CR-PCI-023	平成 24 年 7 月 28 日	■
		CR-PCI-024	平成 24 年 7 月 29 日	■
		CR-PCI-026	平成 24 年 7 月 30 日	■

表 8. 安定性試験用シリンジ製剤()

製剤処方	容量	ロット番号	製造日	製造本数
μg HA/mL 製剤	mL	CR-PCI-027	平成 24 年 11 月 21 日	
		CR-PCI-028	平成 24 年 11 月 20 日	
		CR-PCI-029	平成 24 年 11 月 19 日	

2-1-2. 治験薬の製造

(1) 第 I 相試験用治験薬の製造 (平成 23 年 4 月～同 6 月)

第 I 相試験用の原液製造 (バッチ番号: PCI-PI-7) を、L スケールの既存の治験薬生産設備にて
を採用して実施した。製造した原液は表 9 に示す通りであり、原液の品質規格に適合した。
本原液を使用して製剤化を行い、表 10 に示す第 I 相用治験薬を製造した。何れも製剤の品質規格に適合することを確認した。

表 9. 第 I 相試験用原液

バッチ番号	PCI-PI-7
製造日	平成 23 年 6 月 6 日
総 SRID (HA mg)	
総たん白質量 (mg)	
比活性 (HA/protein)	

表 10. 第 I 相試験 (01 試験) 用治験薬

ロット番号	CR-PCI-004	CR-PCI-005	CR-PCI-006
製造日	平成 23 年 6 月 20 日	平成 23 年 6 月 20 日	平成 23 年 6 月 20 日
治験薬名 (KIB-PCI)	A 剤	B 剤	C 剤
用量	10 μg HA/mL	20 μg HA/mL	30 μg HA/mL
たん白質含量	μg/mL	μg/mL	μg/mL
HA 含量 (SRID)	μg HA/mL	μg HA/mL	μg HA/mL
バイアル本数			

(2) 追加第 I 相試験用治験薬の製造 (平成 24 年 1～3 月)

追加第 I 相試験用の治験薬を原液バッチ PCI-PII/III-1 を用いて製造した (表 11)。

表 11. 追加第 I 相試験 (02 試験) 用治験薬

ロット番号	CR-PCI-009
製造日	平成 24 年 1 月 6 日
治験薬名 (KIB-PCI)	E 剤
用量	60 μg HA/mL
たん白質含量	μg/mL
HA 含量 (SRID)	μg HA/mL
バイアル本数	

(3) J301 試験用治験薬の製造

1 mL バイアル製剤として、表 12 に示す治験薬を製造した。なお、本治験薬製造にあたっては、表 3 に示した治験用原液ロット PCI-PII/III-2 及び PCI-PII/III-3 を使用した。

表 12. J301 試験用治験薬

ロット番号	CR-PCI-012	CR-PCI-015
製造日	平成 24 年 6 月 5 日	平成 24 年 6 月 5 日
用量	30 µg HA/mL	60 µg HA/mL
たん白質含量	■ µg/mL	■ µg/mL
HA 含量 (SRID)	■ µg HA/mL	■ µg HA/mL
バイアル本数	■	■

(4) J302 試験用治験薬の製造

1 mL バイアル製剤として、表 13 に示す治験薬及び対照薬を製造した。治験薬 (CR-PCI-012) については、J301 試験用の 30 µg HA/mL 製剤と同一製剤である。対照薬 (CR-PIA-102) は、既承認の鶏卵培養由来のインフルエンザワクチン原液 (インドネシア株) を用いて製剤化した。

表 13. J302 試験用治験薬

ロット番号	CR-PCI-012	CR-PIA-102
製造日	平成 24 年 6 月 5 日	平成 24 年 8 月 11 日
用量	30 µg HA/mL	30 µg HA/mL
たん白質含量	■ µg/mL	■ µg/mL
HA 含量 (SRID)	■ µg HA/mL	■ µg HA/mL
バイアル本数	■	■

2-2. 製法確立検討及び治験薬製造の総括

細胞培養法開発第 2 次事業助成期間内に実施した製造プロセス検討によって、パイロットプラント (■ L スケール) における安定した製法を確立した。これにより、実生産設備における生産方法の確立の目処をつけた。また、臨床試験計画に従って治験薬を供給すると共に、製造販売承認申請を見据えた安定性試験を実施した。これらの試験データをまとめて申請資料とし、申請準備を進めた。

パイロットプラントにおける製造実績から、バッチあたり ■ g HA の収量が達成された。実生産設備においては ■ L 培養槽 ■ 基で 1 バッチを構成するため、実生産 1 バッチあたりの収量は ■ g HA と推定される。細胞培養法開発第 2 次事業申請時の 1 人あたり ■ µg HA/dose x 2 の接種と仮定すると、実生産 1 バッチで ■ 万人分のワクチン供給が見込まれるため、■ バッチ (細胞培養法開発第 2 次事業申請時は半年で ■ バッチの計画) で 4000 万人分を供給することが可能となった。

しかしながら、後述するように臨床試験結果から ■ µg HA/dose を申請用量とする場合には、半年以内に 4000 万人分のワクチン供給を達成するための方策を検討することが必要となる。

■ 平成 25 年度は、上記課題への対応も想定しながら、実生産設備の立上げ及びバリデーションを確実に実施する。

2-3. 臨床試験

(1) 臨床試験の概要

KIB-PCI の臨床試験を表 14 に一覧する。

国立感染症研究所より分与を受けたインフルエンザウイルス A/Indonesia/5/2005 (H5N1) の弱毒株 PR8-IBCCD-RG2 株を用いて製造したワクチン KIB-PCI (不活化全粒子ワクチン、アルミニウムアジュバント添加した沈降剤) を用いて、以下 4 つの臨床試験を実施した。

表 14. 臨床試験一覧

試験名 (治験実施 計画書番号)	01 試験 (KIB-PCI01)	02 試験 (KIB-PCI02)	J301 試験 (KIBPCI-A-J301)	J302 試験 (KIBPCI-A-J302)
試験デザイン	オープン試験	オープン試験	無作為化二重盲検 用量群間比較試験	無作為化二重盲検 並行群間比較試験
対象	20 歳以上 40 歳以下 健康成人男性	20 歳以上 40 歳以下 健康成人男性	20 歳以上 65 歳未満 健康成人	20 歳以上 65 歳未満 健康成人
登録被験者数	各群 30 名、計 90 名	各群 30 名、計 60 名	30 µg 群 300 名、 60 µg 群 302 名、 計 602 名	KIB-PCI 群 401 名、 鶏卵培養ワクチン群 401 名、計 802 名
用量/HA 含量 (接種液量)	Step1 : 5 µg (0.5 mL) Step2 : 10 µg (0.5 mL) Step3 : 15 µg (0.5 mL)	Step1 : 30 µg (0.5 mL) Step2 : 60 µg (1.0 mL)	30 µg 群 : 30 µg (1.0 mL) 60 µg 群 : 60 µg (1.0 mL)	KIB-PCI 群 : 15 µg (0.5 mL) 鶏卵培養ワクチン群 : 15 µg (0.5 mL)
用法	3 週間±7 日の間隔をおいて 2 回、筋肉内接種			
実施医療機関 数	1 施設	1 施設	3 施設	5 施設
治験期間	平成 23 年 9 月～ 平成 23 年 12 月	平成 24 年 4 月～ 平成 24 年 5 月	平成 24 年 8 月～ 平成 25 年 4 月 *	平成 24 年 10 月～ 平成 24 年 12 月
治験依頼者	北里第一三共ワクチン	北里第一三共ワクチン	第一三共	第一三共

* : 2 回接種後観察期間 : ～平成 24 年 12 月、追跡観察期間 : ～平成 25 年 4 月

不活化全粒子ワクチンは、抗体産生誘導以外に pDC (plasmacytoid dendritic cell) の活性化やそれに伴う I 型インターフェロンの産生等による自然免疫賦活作用も発揮し、インフルエンザ発症予防に寄与していることが最近の研究で明らかになってきている。しかし、インフルエンザワクチンの自然免疫応答を始めとする詳細な作用メカニズムの全容は明らかにされておらず、また、これらの測定法も臨床試験に実用化されていない。このような中で、誘導された抗体がウイルスの感染を中和する機能を有するかどうかを測定する中和抗体価は、不活化全粒子ワクチンの発症予防効果を評価する上で重要な評価指標である。

また、第 I 相臨床試験開始直後の平成 23 年 10 月 31 日に、「パンデミックインフルエンザに備えたプロトタイプワクチンの開発等に関するガイドライン」(以下、プロトタイプワクチンガイドライン) が公表されたことから、最終的に SRH 抗体価を主として評価することとしたが、HI 抗体価及び中和抗体価も重要な指標としてあわせて評価することとした。この経緯については、第 I 相試験の項に記載する。

(2) 第Ⅰ相試験

① 第Ⅰ相試験計画

第Ⅰ相試験は、平成 23 年 5 月に独立行政法人医薬品医療機器総合機構（以下、総合機構）と実施した対面助言を受けて、KIB-PCI の第Ⅱ/Ⅲ 相試験で検証するための用量及び安全性を見極めることを主たる目的として実施した。

01 試験では日本人健康成人男性を対象に、5 µg、10 µg 又は 15 µg の KIB-PCI を 2 回筋肉内接種した際の安全性及び免疫原性を検討した。また、より高用量での免疫原性を検討するため 02 試験を実施し、30 µg 又は 60 µg の KIB-PCI を 2 回筋肉内接種した際の安全性及び免疫原性を検討した。免疫原性の評価に関しては、国内において主に HI 抗体価や中和抗体価がインフルエンザワクチンの有効性評価の指標として用いられてきたことから、KIB-PCI の第Ⅰ相臨床試験では、HI 及び中和抗体価を評価項目として検討を開始した。

なお、抗体価測定のための採血は、治験薬 1 回目接種前、治験薬 2 回目接種前（治験薬 1 回目接種 21 日後）及び事後検査（治験薬 2 回目接種 21 日後）に実施した。KIB-PCI の開発では 2 回接種を基本としたため、事後検査時を主要評価とした。

② 第Ⅰ相試験結果

01 試験の結果、免疫原性（HI 抗体価及び中和抗体価）は 2 回目接種前より 2 回目接種後（事後検査）の方が高い傾向を示した。また、抗原量に相関して幾何平均抗体価（GMT）が高くなる傾向を示した。2007 年 10 月に承認を取得した鶏卵培養法による沈降インフルエンザワクチン（H5N1 株）（現販売名：沈降インフルエンザワクチン H5N1「北里第一三共」、以下、鶏卵培養ワクチン）の承認用量 15 µg/回と同用量の 15 µg 群の中和抗体価の成績から、KIB-PCI が鶏卵培養ワクチンと同程度の免疫原性を有することが示唆された（表 15）。以上の 01 試験の結果を踏まえ、総合機構と事前面談で協議した。その結果、KIB-PCI の HI 抗体価における免疫原性の用量相関性が十分確認できていないことを理由として、より高用量を用いた臨床試験の実施を推奨され、第Ⅰ相試験の追加試験となる 02 試験を実施した。

01 試験及び 02 試験の事後検査時の免疫原性を表 15 に示す。HI 抗体価の成績から、以下 2 点が明らかとなった。

- 北里第一三共ワクチンにおける HI 抗体価測定は、七面鳥血球に加えニワトリ血球を用いて実施したが、七面鳥血球で適切に測定できること
- HI 抗体価の結果をプロトタイプワクチンガイドラインの評価基準に照らし合わせた場合、60 µg 群は抗体陽転率及び GMT 変化率においては適合するが、これ以外の用量では基準を満たしていないこと

表 15. 免疫原性成績 (01 試験及び 02 試験) (北里第一三共ワクチン測定)

解析対象：免疫原性解析対象集団 (PPS)

率は有効数字 2 桁下を切り捨て

事後検査		01 試験			02 試験	
		5µg 群	10µg 群	15µg 群	30 µg 群	60 µg 群
評価項目	解析対象例数	30	30	30	29	30
A(H5)、HI 抗体価 (七面鳥血球)						
	抗体陽転率	10.0%	0.0%	16.6%	10.3%	56.6%
	GMT 変化率	1.82	1.74	2.35	2.14	5.52
	抗体保有率	10.0%	0.0%	16.6%	10.3%	56.6%
A(H5N1)、中和抗体価						
	抗体変化率 4 倍以上の割合	36.6%	70.0%	56.6%	72.4%	86.6%

科学的な観点からは、H5N1 亜型インフルエンザウイルスに対する抗体は HI 試験では検出感度が低く、SRH 試験の方が優れているという報告がある。また、SRH 抗体価は中和抗体価とも相関することが知られている。また、プロトタイプワクチンガイドラインにおいて、中和抗体価の重要性が述べられていることに加え、HI 抗体価あるいは SRH 抗体価を主要評価項目とすることが規定されている。これらのことから、科学的にも、医薬品の評価としても、SRH 抗体価は KIB-PCI の免疫原性評価に適用可能であるが、SRH 抗体価は国内で測定実績はなく測定できる国内検査機関がない。そこで、第 II/III 相試験における抗体価測定系について探索する目的を含めて、SRH 抗体の測定経験が豊富な [] に委託することとした。

[] 測定による 01 及び 02 試験の免疫原性成績を表 16 に示す。

表 16. 免疫原性成績 (01 試験及び 02 試験) ([] 測定)

解析対象：免疫原性解析対象集団 (PPS)

率は有効数字 2 桁下を切り捨て

事後検査		01 試験			02 試験	
		5µg 群	10µg 群	15µg 群	30 µg 群	60 µg 群
評価項目	解析対象例数	23	21	24	29	30
A(H5)、SRH 抗体価						
	抗体陽転率	43.4%	57.1%	58.3%	65.5%	76.6%
	GMT 変化率	3.26	3.94	4.21	6.11	10.17
	抗体保有率	43.4%	57.1%	62.5%	65.5%	76.6%
A(H5)、HI 抗体価 (七面鳥血球)						
	抗体陽転率	34.7%	42.8%	45.8%	58.6%	73.3%
	GMT 変化率	3.33	4.10	3.64	5.95	9.03
	抗体保有率	39.1%	57.1%	50.0%	75.8%	86.6%
A(H5N1)、中和抗体価						
	抗体変化率 4 倍以上の割合	39.1%	42.9%	54.2%	69.0%	83.3%

追加測定の結果、SRH 抗体価において用量に依存した抗体産生誘導が確認された。SRH 抗体価は、60 µg 群ではプロトタイプワクチンガイドラインの 3 つの評価基準を満たしており、十分な抗体価が得られると考えられた。また 30 µg 群は、抗体保有率のみ評価基準をわずかに下回っているが、臨床推奨用量としての候補になり得ると判断した。

先述したように、H5N1 インフルエンザウイルスに対する抗体価の測定においては、HI 抗体価よりも SRH 抗体価の方が優れているとした学術的な論文もあることから、第 II/III 相試験では本剤の免疫

原性の主要評価項目を SRH 抗体価に設定し、HI 抗体価及び中和抗体価を副次的評価項目として評価することとした。

また、[] による測定では HI 抗体価も良好な結果が得られた。HI 抗体価は、インフルエンザウイルスの HA たん白質が動物の赤血球レセプターに結合して赤血球凝集を起こす性質を利用した測定法であるため、測定に用いる赤血球とインフルエンザウイルスとの結合親和性が測定に大きく影響する。このため、HI 抗体価測定に用いる赤血球の選択は特に重要である。また、インフルエンザウイルスの赤血球との結合親和性は、動物種のみならず、同一種であっても生育環境や遺伝的な要因にも影響される。[] では、測定期間を通じて、できるだけ同一品質の赤血球が供給可能となるように七面鳥の飼育及び血球採取タイミングなどを厳密に管理している。七面鳥血球が、北里第一三共ワクチンにおける HI 抗体価測定で適切と判断されたことに加えて、[] で用いられた七面鳥血球は適切に管理されていると判断し、以後、第 II/III 相試験での HI 抗体価測定についても副次的評価として、[] で行うことを決定した。

以上の 2 つの第 I 相試験（01 及び 02 試験）の結果、いずれの接種群でも臨床的に問題となる副反応は認められず、また、副反応の発現率と用量に相関は認められなかった。

なお、第 I 相臨床試験は平成 24 年 5 月までに終了し、細胞培養法開発第 2 次事業期間内に評価を完了した。

（3）検証試験

① 第 II/III 相試験

第 I 相試験の結果から、プロトタイプワクチンとしての免疫原性の 3 つの評価基準を達成する可能性が最も高いと予想される 60 µg/回（接種液量 1.0 mL）と、より少ない抗原量での実用化の可能性を検討するための 30 µg/回（接種液量 1.0 mL）の 2 用量を設定し、日本人健康成人を対象とした無作為化二重盲検用量群間比較試験（以下、J301 試験）を実施することとした。

さらに、01 試験の結果から、KIB-PCI 15 µg/回の接種は、既承認の鶏卵培養ワクチンと同等の効果が得られると期待されたことから、KIB-PCI 15 µg/回と鶏卵培養ワクチン 15 µg/回との非劣性を検証することで最終申請用量を 15 µg/回とすることも可能と考え、日本人健康成人を対象とした KIB-PCI 15 µg/回と鶏卵培養ワクチン 15 µg/回との無作為化並行群間比較試験（以下、J302 試験）を実施することとした。

J301 試験においては、SRH 抗体価を免疫原性の主要評価項目として、抗体陽転率、幾何平均抗体変化率、抗体保有率が、EMA ガイドラインの評価基準（抗体陽転率>40%、GMT 変化率>2.5 及び抗体保有率>70%）を満たすことを確認することとした。

J302 試験では、鶏卵培養ワクチンとの非劣性を検証するため、FDA が公表しているパンデミックインフルエンザワクチンの臨床開発に関するガイドラインに規定されている非劣性の基準に従い、SRH 抗体価の抗体陽転率の差及び GMT 変化率の比を主要評価項目とした。鶏卵培養ワクチンとの非劣性が検証とされる条件は、抗体陽転率の差（鶏卵培養ワクチン－KIB-PCI）の 95%信頼区間の上限が 10%を下回り、かつ GMT 変化率の比（鶏卵培養ワクチン／KIB-PCI）の 95%信頼区間の上限が 1.5 を下回る場合とした。

これら 2 つの検証試験の成績から、先行して申請を計画している H5N1 インフルエンザワクチンと

しての用量を決定するとともに、追加申請を予定しているプロトタイプワクチンとしての用量を決定することとした。

J302 試験は、鶏卵ワクチンの準備を含め、試験デザインについて総合機構との医薬品第Ⅱ相試験終了後相談（平成 24 年 10 月 5 日、書面相談）を経たことから、J301 試験よりも遅れて開始することとなった。

また、交叉免疫反応について評価するため、J301 試験及び J302 試験の被験者から採取した血清を用いて、ワクチン製造に用いたウイルス株と同じ H5N1 亜型内の異なるクレードに属するウイルス株に対する抗体価を測定した。

なお、これら試験計画のうち、プロトタイプワクチンとしての評価に必要である交叉免疫反応の評価を除いて、平成 24 年 12 月に免疫原性及び安全性の評価を完了した。

② J301 試験（第Ⅱ/Ⅲ相試験）成績

日本人健康成人を対象とした無作為化二重盲検用量群間比較試験として平成 24 年 8 月～12 月に実施した。

本試験は、30 µg 又は 60 µg となる KIB-PCI を、3 週間±7 日の間隔で 2 回筋肉内接種した。接種液量は盲検性を確保するために、いずれも 1.0 mL/回（アジュバント含量は 300 µg/回）で実施した。事後検査における、免疫原性成績を表 17 に示す。

表 17. 免疫原性成績(J301 試験)

解析対象：FAS		判定結果は実値で判定	
事後検査		30µg 群	60 µg 群
評価項目	解析対象例数	288	288
主要評価項目	A(H5)、SRH 抗体価		
	抗体陽転率	65.97%	78.13%
	GMT 変化率	5.595	7.014
	抗体保有率	65.97%	77.08%
副次評価項目	A(H5)、HI 抗体価		
	抗体陽転率	48.26%	53.82%
	GMT 変化率	3.343	4.310
	抗体保有率	62.50%	67.01%
	A(H5N1)、中和抗体価 1:20		
	抗体陽転率	82.99%	88.54%
	GMT 変化率	6.731	8.808
	抗体保有率	83.33%	88.54%
	A(H5N1)、中和抗体価 1:40		
	抗体陽転率	56.25%	73.26%
	GMT 変化率	6.731	8.808
	抗体保有率	56.25%	73.26%

SRH抗体価において、30 µg群は抗体陽転率及びGMT変化率はプロトタイプワクチンガイドラインの基準に適合し、かつ抗体保有率は基準の70%をわずかに下回ったものの、65.97%に達した。60 µg群は3基準すべてに適合した。

また、HI抗体価においては、どちらの用量とも抗体陽転率及びGMT変化率の2基準に適合した。

一方、中和抗体価については評価基準が確立されていないが、1:20以上を陽性基準とした場合には

8割以上の被験者で、1:40以上を陽性基準とした場合には7割以上の被験者で中和抗体価の誘導が認められた。なお、中和抗体価が陽性基準1:20以上で8割以上の被験者に中和抗体価の誘導が見られたことは、本剤の非臨床試験（マウスの攻撃試験）において、血清中のヒト中和抗体価が約1:20で肺内ウイルス力価を90%抑制したことからも臨床的に意義があると考えられた。

J301 試験の結果、KIB-PCI は H5N1 株に対して 30 µg/回接種以上の用量で発症予防効果が期待できると考えられた。最終的な申請用量の決定については、事項に示す J302 試験の成績とあわせて第5項で後述する。

J301 試験における治験薬接種期間に発現した有害事象の発現率は 30 µg 群で 84.9% (253/298)、60 µg 群で 85.8% (259/302) であり、両接種群の安全性に大きな問題はないと判断した。

③ J302 試験（第Ⅲ相試験）成績

日本人健康成人を対象とした無作為化二重盲検並行群間比較試験を平成 24 年 10 月～11 月に実施した。用いた用量はどちらも 15µg/回、アジュバント量は 0.3mg/mL と同一であり、3 週間±7 日の間隔で 2 回筋肉内接種した。

主要評価項目である事後検査における SRH 抗体価の抗体陽転率及び GMT 変化率の成績を表 18 に示す。非劣性解析は抗体陽転率の差及び GMT 変化率の比で行い、陽転率の差における 95%信頼区間の上限が 10%を下回る、また変化率の比における 95%信頼区間の上限が 1.5 を下回る場合とした。

表 18. 免疫原性成績(J302 試験 主要評価項目:SRH 抗体価の抗体陽転率及び GMT 変化率)

解析対象：FAS

事後検査	KIB-PCI	鶏卵培養 ワクチン	接種群間の比較	
			抗体陽転率の差及び GMT 変化率の比	非劣性の 判定結果
評価項目 解析対象例数	388	381		
抗体陽転率(95%信頼区間)	55.67% (50.57～60.68)	95.54% (92.95～97.38)	39.87 (34.37～45.11)	n.s.
GMT 変化率(95%信頼区間)	3.816 (3.432～4.242)	9.85 (9.136～10.621)	2.582 (2.281～2.922)	n.s

n.s.:非劣性が検証されなかったことを示す。

非劣性解析は、主要評価項目である SRH 抗体価において、抗体陽転率の差（鶏卵培養ワクチン－KIB-PCI）の 95%信頼区間の上限が 10%を下回り、かつ GMT 変化率の比（鶏卵培養ワクチン／KIB-PCI）の 95%信頼区間の上限が 1.5 を下回る場合に非劣性であると判定できるとした。その結果、抗体陽転率及び GMT 変化率にいても KIB-PCI 群の鶏卵培養ワクチン群に対する非劣性は検証できなかった。

副次評価項目である事後検査における、HI 抗体価及び中和抗体価の抗体陽転率及び GMT 変化率の成績を表 19 及び 20 に示す。

表 19. 免疫原性成績(J302 試験 副次評価項目:HI 抗体価の抗体陽転率及び GMT 変化率)

解析対象 : FAS

事後検査	KIB-PCI	鶏卵培養 ワクチン	接種群間の比較	
			抗体陽転率の差及び GMT 変化率の比	非劣性の 判定結果
評価項目 解析対象例数	388	381		
抗体陽転率(95%信頼区間)	43.81% (38.81~48.91)	81.1% (76.80~84.91)	37.29 (30.76~43.34)	n.s.
GMT 変化率(95%信頼区間)	3.358 (2.830~3.984)	12.245 (10.397~ 14.422)	3.647 (3.035~4.382)	n.s

n.s.:非劣性が検証されなかったことを示す。

表 20. 免疫原性成績(J302 試験 副次評価項目:中和抗体価の抗体陽転率及び GMT 変化率)

解析対象 : FAS

解析対象：FAS

事後検査	KIB-PCI	鶏卵培養 ワクチン	接種群間の比較	
			抗体陽転率の差及び GMT 変化率の比	非劣性の 判定結果
評価項目 解析対象例数	388	381		
抗体陽転率(95%信頼区間)				
	74.74% (13.78~21.47)	70.87% (66.02~75.38)	-3.88 (-10.13~2.41)	*
	50.52% (45.42~55.60)	45.41% (40.33~50.56)	-5.11 (-12.09~1.95)	*
GMT 変化率(95%信頼区間)				
	6.462 (5.873~7.110)	5.971 (5.363~6.649)	0.924 (0.801~1.066)	*

* : 非劣性が検証されたことを示す。

副次評価項目であるHI抗体価における同様の解析においても非劣性は認められなかった(表19)。一方、副次評価項目である中和抗体価における抗体陽転率の差の95%信頼区間の上限は、1:20以上、及び1:40以上のいずれで評価した場合でも10%を下回り、かつGMT変化率の比の95%信頼区間の上限も1.5を下回ったことから、中和抗体価における非劣性は確認できた(表20)。

副次評価項目である SRH 抗体価、HI 抗体価及び中和抗体価の抗体保有率の結果を表 21 に示す。

表 21. 免疫原性成績 (J302 試験 副次評価項目: 抗体保有率)

解析対象: FAS

事後検査		KIB-PCI	鶏卵培養ワクチン
		抗体保有率 (95%信頼区間)	抗体保有率 (95%信頼区間)
評価項目	解析対象例数	388	381
A(H5)、SRH 抗体価		57.22% (52.13~62.20)	96.85% (94.56~98.36)
A(H5)、HI 抗体価		56.44% (51.35~61.44)	88.19% (84.52~91.25)
A(H5N1)、中和抗体価			
	1:20 以上	75.26% (70.65~79.47)	70.87% (66.02~75.38)
	1:40 以上	50.52% (45.42~55.60)	45.41% (40.33~50.56)

SRH抗体価の抗体保有率は、KIB-PCI群では57.22% (95%信頼区間: 52.13~62.20)、鶏卵培養ワクチン群では96.85% (95%信頼区間: 94.56~98.36) であり、鶏卵培養ワクチン群の方が高かった。

HI抗体価の抗体保有率は、KIB-PCI群では56.44% (95%信頼区間: 51.35~61.44)、鶏卵培養ワクチン群では88.19% (95%信頼区間: 84.52~91.25) であり、鶏卵培養ワクチン群の方が高かった。

中和抗体価 (中和抗体価が1:20以上) の抗体保有率は、KIB-PCI群では75.26% (95%信頼区間: 70.65~79.47)、鶏卵培養ワクチン群では70.87% (95%信頼区間: 66.02~75.38) であり、KIB-PCI群の方が高かった。

以上のように、中和抗体価による評価では、SRH抗体価及びHI抗体価と相反する結果となった。

鶏卵培養ワクチン群では、SRH抗体価と中和抗体価との相関が弱く、中和抗体価が低値でもSRH抗体価は高値を示す傾向が認められたことより、鶏卵培養ワクチン群におけるSRH抗体は必ずしもウイルス感染・発症の予防に必要な中和活性を有さない可能性が示唆された。

J302試験では、目的とする鶏卵培養ワクチンとの非劣性が検証できなかった。しかし、その原因として鶏卵培養ワクチンの抗体測定系に何らかの問題がある可能性も考えられたため、キーオープン後の事後検討ではあるが原因究明を進めた。この原因究明については、本剤の最終的な用量を決定する上でも重要と判断し、平行して当局と協議を進めた。本件については第(5)項で詳述する。

なお、J302試験における有害事象の発現率は、KIB-PCI 群で79.5% (318/400)、鶏卵培養ワクチン群で88.3% (353/400) であり、KIB-PCI 群の有害事象発現率は鶏卵培養ワクチン群を上回るものではなかった。

(4) 安全性の概括評価

KIB-PCI による臨床試験 4 試験での安全性は、治験薬 1 回目接種後 (Day 0) から事後検査 (治験薬 2 回目接種 21 日後、Day 42) までに発現した有害事象で評価した。有害事象のうち、治験薬との因果関係が否定できないものを副反応とした。

① 安全性解析対象集団

安全性解析対象集団は、治験に登録された被験者のうち、以下の被験者を除いた集団とした。

- 1) 重大な GCP 違反被験者（同意取得違反、治験手続き上の重大な違反）
- 2) 治験薬を 1 回も接種していない被験者
- 3) 治験薬接種開始後に安全性データが全く収集されなかった被験者

各試験の安全性解析対象被験者数を表 22 に示す。登録された被験者 1554 名から治験薬を全く接種されなかった 4 名（J301 試験：2 名、J302 試験：2 名）を除いた 1550 名（01 試験：90 名、02 試験：60 名、J301 試験：600 名、J302 試験：400 名）を安全性解析対象集団とした。

表 22. 各試験の安全性解析対象被験者数

治験薬 用量 (接種液量)	KIB-PCI						鶏卵培養 ワクチン	合計
	5 µg (0.5 mL)	10 µg (0.5 mL)	15 µg (0.5 mL)	30 µg (0.5 mL)	30 µg (1.0 mL)	60 µg (1.0 mL)	15 µg (0.5 mL)	
01 試験	30	30	30	—	—	—	—	90
02 試験	—	—	—	30	—	30	—	60
J301 試験	—	—	—	—	298	302	—	600
J302 試験	—	—	400	—	—	—	400	800
合計	30	30	430	30	298	332	400	1550

*：割り付けられた群（30 µg 群）と異なる群（60 µg 群）の治験薬を接種された被験者 1 名は、接種群（60 µg 群）にて安全性の解析を行った。

② 比較的良好に見られる重篤でない有害事象

J301 試験及び J302 試験の有害事象発現率を表 23 に、副反応発現率を表 24 に示す。J301 試験及び J302 試験の KIB-PCI 接種群では、15 µg 群で 79.5%、30 µg 群で 84.9%、60 µg 群で 85.8%の被験者に有害事象が発現した。J302 試験の鶏卵培養ワクチン群では 88.3%の被験者に有害事象が発現した。KIB-PCI 群の副反応は 15 µg 群で 75.0%、30 µg 群で 80.5%、60 µg 群で 85.1%に認められた。鶏卵培養ワクチン群の副反応は 86.5%に認められた。

このうちいずれかの群で発現率が 10%以上の有害事象を表 25 に示す。

表 23. 有害事象発現率

有害事象	15 µg 群		30 µg 群		60 µg 群		鶏卵培養 ワクチン群	
	発現率 (%)	発現被 験者数	発現率 (%)	発現被 験者数	発現率 (%)	発現被 験者数	発現率 (%)	発現被 験者数
解析対象被験者数	400		298		302		400	
全体	79.5	318	84.9	253	85.8	259	88.3	353
接種部位	72.8	291	76.8	229	79.5	240	82.3	329
全身性	40.3	161	42.6	127	46.0	139	46.5	186
臨床検査	3.3	13	4.4	13	1.7	5	2.5	10

*：30 µg 群及び 60 µg 群は J301 試験結果、15 µg 群及び鶏卵培養ワクチン群は J302 試験結果

表 24. 副反応発現率

有害事象	15 µg 群		30 µg 群		60 µg 群		鶏卵培養 ワクチン群	
	発現率 (%)	発現被 験者数	発現率 (%)	発現被 験者数	発現率 (%)	発現被 験者数	発現率 (%)	発現被 験者数
解析対象被験者数	400		298		302		400	
全体	75.0	300	80.5	240	85.1	257	86.5	346
接種部位	72.5	290	76.8	229	79.5	240	82.3	329
全身性	27.5	110	33.6	100	39.1	118	35.5	142
臨床検査	1.5	6	2.7	8	1.7	5	0.8	3

* : 30 µg 群及び 60 µg 群は J301 試験結果、15 µg 群及び鶏卵培養ワクチン群は J302 試験結果

表 25. 主な有害事象発現率

有害事象名	15 µg 群		30 µg 群		60 µg 群		鶏卵培養 ワクチン群	
	発現率 (%)	発現被 験者数	発現率 (%)	発現被 験者数	発現率 (%)	発現被 験者数	発現率 (%)	発現被 験者数
解析対象被験者数	400		298		302		400	
全体	79.5	318	84.9	253	85.8	259	88.3	353
接種部位	72.8	291	76.8	229	79.5	240	82.3	329
注射部位疼痛	60.0	240	70.5	210	74.8	226	75.8	303
注射部位紅斑	35.3	141	25.8	77	25.8	78	37.0	148
注射部位腫脹	15.3	61	14.4	43	14.6	44	15.5	62
注射部位熱感	14.0	56	17.4	50	18.2	55	16.0	64
注射部位硬結	11.5	46	6.4	19	7.6	23	12.3	49
全身性	40.3	161	42.6	127	46.0	139	46.5	186
倦怠感	22.5	90	26.5	79	29.1	88	30.3	121
頭痛	15.8	63	18.5	55	19.9	60	20.8	83
鼻咽頭炎	12.0	48	4.7	14	3.0	9	8.5	34
臨床検査	3.3	13	4.4	13	1.7	5	2.5	10

* : 30 µg 群及び 60 µg 群は J301 試験結果、15 µg 群及び鶏卵培養ワクチン群は J302 試験結果

接種部位反応や倦怠感、頭痛などの症状が比較的多く認められたが、いずれも重篤な事象は認められなかった。本剤に特有の有害事象は認められなかった。また発現率が 10%以上の臨床検査値異常変動は認められなかった。

KIB-PCI 接種群では、用量の増加に伴い有害事象及び副反応発現率が増加する傾向が認められ、有害事象発現率は、60 µg において他の用量よりもわずかに高かった。症状の持続期間は用量間で大きな差は認められておらず、いずれの用量も安全性に問題はないと考えた。

③ 重篤な有害事象発現状況

安全性評価を実施した 4 試験で認められた KIB-PCI の重篤な有害事象は以下のとおりである。

KIB-PCI 接種被験者に死亡は認めなかった。

その他の重篤な有害事象は、2 名に各 1 件認められた。

1 名は 30 µg 群 (J301 試験) の被験者 (39 歳、男性) で、腸閉塞が認められた。当該被験者は「入院又は入院期間の延長」を伴ったため重篤と判断したが、治験薬との因果関係は関連なしと判定された。

他の1名は、15 µg 群（J302 試験）の被験者（34 歳、男性）で、第7脳神経麻痺（報告事象名：右顔面神経麻痺）が認められた。本被験者は治験薬2回目接種8日後に右眼の痛みを自覚し、その翌日より右顔面麻痺が出現したので、詳細な検査及び治療のため9日間入院し、約2ヶ月後に回復した。抗体価検査結果からヘルペスウイルスの再活性化によるものと考えられるが、発症が2回目接種8日後であることから治験薬との因果関係は関連ありと判定された。

全試験を通じ、治験薬接種30分後の診察時にショックやアナフィラキシー症状などの所見は認められず、既承認の沈降インフルエンザワクチン（H5N1 株）や類薬であるインフルエンザ HA ワクチンの添付文書に記載されている重大な副反応に該当するものも認められなかった。

なお、鶏卵培養ワクチン群（J302 試験）の被験者1名が自殺により死亡した。治験薬の作用機序及び母親の情報から治験薬との因果関係は関連なしと判定された。

（5）細胞培養法開発第2次事業助成期限（平成25年3月末）までの状況（申請用量の決定及び医薬品承認申請）

以下の理由により、細胞培養法開発第2次事業助成期限（平成25年3月末）までに申請用量の決定及び医薬品承認申請は果たせなかった。

① 15 µg の申請用量としての可能性検討

（J302 試験における鶏卵ワクチン群の抗体価測定についての原因究明）

J302 試験の結果、主要評価項目である SRH における抗体陽転率の差及び GMT 変化率の比で、KIB-PCI 15 µg 群の鶏卵培養ワクチン群に対する非劣性は検証できなかった。

結果を精査したところ、鶏卵培養ワクチン群において、過去に鶏卵培養ワクチンを開発した際の成績からは考えられない高い HI 抗体反応がみられた。

表 26. 鶏卵培養ワクチン接種による HI 抗体価及び中和抗体価における GMT

（J302 試験成績と鶏卵培養ワクチン開発時（第 III 相試験）の成績比較）

	鶏卵培養ワクチン（J302 試験） インドネシア株 [A/Indonesia/5/2005 (H5N1)]		鶏卵培養ワクチン（開発時第 III 相） ベトナム株 [A/Viet Nam/1194/2004 (H5N1)]	
	HI 抗体価	中和抗体価	HI 抗体価	中和抗体価
事後検査	117.97	30.075	13.5	29.8

表 26 は、J302 試験の鶏卵培養ワクチン群と、既承認の鶏卵培養ワクチン開発時の第 III 相試験における免疫原性（HI 抗体価及び中和抗体価）結果を示したものである。どちらの鶏卵培養ワクチンも同一の H5N1 株の全粒子ワクチンではあるが、異なるクレード（J302 試験：インドネシア株、クレード 2.1.3.2、既承認の鶏卵培養ワクチン開発時：ベトナム株、クレード 1）である。また、測定条件も異なることから直接比較することはできないが、中和抗体ではほぼ同じ結果であるにもかかわらず、事後検査の HI 抗体価では、今回の J302 試験において非常に高い結果であった。

インフルエンザワクチンの有効性評価のサロゲートマーカーとされている SRH 抗体価あるいは HI 抗体価は、誘導された抗体がウイルスの感染を中和する機能を有するかどうかを評価する中和抗体価との相関が高いと考えられるが、J302 試験において、SRH 抗体価と中和抗体価との相関が弱く、中和抗体価が低値でも SRH 抗体価で高値を示す傾向が認められた（図 1）。鶏卵培養ワクチン群では、

誘導された抗体がウイルスの赤血球への結合を阻害する活性はあっても、ウイルス感染防御に必要な中和活性を有さない可能性があると考えた。

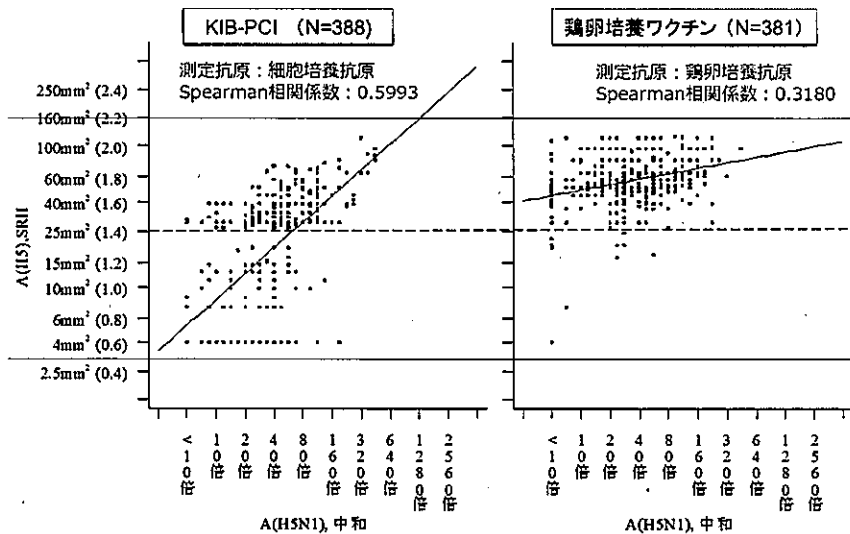


図1 当初計画の抗体価測定条件による SRH 抗体価と中和抗体価の相関

一方、KIB-PCI 群の SRH 抗体価はワクチンと同一の細胞培養抗原を用いて測定したが、表 14 に示した 4 つの臨床試験すべてにおいて、中和抗体価とよく相関する結果であった。

SRH 抗体価や HI 抗体価の測定では、通常ワクチンと同じ抗原を用いることが一般的であるため、J302 試験においても鶏卵培養ワクチン群の SRH 抗体価測定にはワクチンと同じ鶏卵培養由来抗原を用いたが、J302 試験で観察された鶏卵培養抗原での測定で非常に高い結果となった原因を検討するため、キーオープン後の事後検討ではあるものの、KIB-PCI 群及び鶏卵培養ワクチン群ともに、あらためて全検体を細胞培養抗原を用いて同時測定し、解析を行った。

細胞培養抗原を用いた追加測定の結果、図 2 に示すように鶏卵培養ワクチン群の SRH 抗体価は、中和抗体価との相関性は改善されることが確認された。

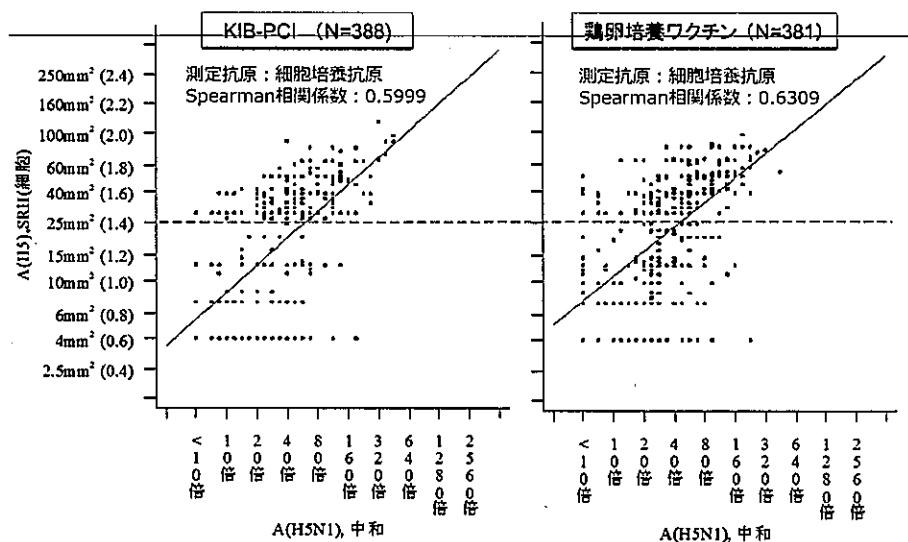


図2 細胞培養抗原を用いた抗体価測定による SRH 抗体価と中和抗体価の相関 (事後検討)

中和抗体価の測定試験では、生ウイルスを用いて測定しているため、抗原による測定への影響はなく、ウイルス感染防御に必要な中和活性を反映しているものと考えられ、SRH 抗体価にて KIB-PCI と鶏卵培養ワクチンの免疫原性を正しく比較するためには、特に鶏卵培養ワクチン群の中和抗体価が低値の検体に対して、SRH 抗体価も上昇しない試験条件が必要であると考えられる。このことから、鶏卵培養ワクチン群に対しても KIB-PCI 群に対しても、細胞培養抗原を用いた SRH 抗体の測定には信頼性があると考えた。SRH 試験において鶏卵培養ワクチン群が鶏卵培養抗原に対して示す高い抗体価は、発症予防効果には寄与しない免疫反応を測定している可能性も考えられたため、SRH 試験は細胞培養抗原を用いて評価することが適切と判断した。細胞培養抗原を用いた追加測定結果を表 27 及び 28 に示す。

表 27. SRH 抗体価の抗体陽転率 FAS: J302 試験 (細胞培養抗原)

解析対象: FAS

項目	時期	KIB-PCI				鶏卵培養ワクチン				鶏卵培養ワクチンと KIB-PCI の比較		
		解析対象被験者数	抗体陽転 ^{a)} 被験者数	抗体陽転 ^{a)} 率 (%)	95%信頼区間	解析対象被験者数	抗体陽転 ^{a)} 被験者数	抗体陽転 ^{a)} 率 (%)	95%信頼区間	抗体価陽転 ^{a)} 率の差	抗体価陽転 ^{a)} 率の差の 95%信頼区間	非劣性の判定結果
A(H5)	2回目接種前	397	48	12.09	9.05~15.71	395	31	7.85	5.39~10.95	-4.24	-8.47~-0.05	*
SRH	事後検査	388	216	55.67	50.57~60.68	381	194	50.92	45.78~56.05	-4.75	-11.73~2.29	*

a) 「抗体価が接種前に4mm²以下でかつ接種後25mm²以上」又は

「接種前4mm²より大きく接種後50%の面積増」

*: 非劣性が検証されたことを示す

表 28. SRH 抗体価の GMT 変化率 FAS: J302 試験 (細胞培養抗原)

解析対象: FAS

項目	時期	KIB-PCI				鶏卵培養ワクチン				鶏卵培養ワクチンと KIB-PCI の比較		
		解析対象被験者数	GMT ^{a)}	GMT 変化率 ^{b)}	GMT 変化率 ^{b)} の 95%信頼区間	解析対象被験者数	GMT ^{a)}	GMT 変化率 ^{b)}	GMT 変化率 ^{b)} の 95%信頼区間	GMT 変化率 ^{b)} の比	GMT 変化率 ^{b)} の比の 95%信頼区間	非劣性の判定結果
A(H5)	1回目接種前	398	4.345(0.638)			396	4.195(0.623)					
SRH	2回目接種前	397	5.885(0.770)	1.354	1.250~1.467	395	5.448(0.736)	1.298	1.215~1.388	0.959	0.879~1.046	*
	事後検査	388	16.904(1.228)	3.898	3.512~4.326	381	19.425(1.288)	4.622	4.189~5.099	1.186	1.033~1.361	*

a) 抗体価の幾何平均値、()内は対数変換値(Log10)の平均値

b) 各時点の幾何平均値/1回目接種前の幾何平均値

*: 非劣性が検証されたことを示す

細胞培養抗原で測定した場合、事後検査での SRH 抗体価の抗体陽転率は、KIB-PCI 群で 55.67%、鶏卵培養ワクチン群で 50.92%であり、抗体陽転率の差 (鶏卵培養ワクチン-KIB-PCI) (95%信頼区間) は-4.75 (-11.73~2.29) であった。95%信頼区間の上限は、試験計画時に設定した 10%以下であった。また、事後検査での SRH 抗体価の GMT 変化率は、KIB-PCI 群で 3.898、鶏卵培養ワクチン群で 4.622 であり、GMT 変化率の比 (鶏卵培養ワクチン/KIB-PCI) (95%信頼区間) は 1.186 (1.033~1.361) であった。95%信頼区間の上限は、試験計画時に設定した 1.5 以下であった。

細胞培養抗原で測定した場合、抗体陽転率の差及び GMT 変化率の比のいずれの検定においても非劣性検定条件を満足し、KIB-PCI の鶏卵培養ワクチンに対する非劣性が確認された。

以上のように、当初計画した鶏卵培養ワクチン群の抗体価測定系に対する疑義が生じ、原因究明のための追加検討に時間を要した。また、SRH 抗体価を測定する条件として、ワクチンの感染・発症予防効果をサロゲートする中和抗体価との相関性が高い細胞培養抗原を用いた結果を最終結論とす

ることが妥当と考え、KIB-PCI の 15 µg を臨床用量とすることについての当局確認に時間を要したことから、細胞培養法開発第 2 次事業助成期限（平成 25 年 3 月末）までに最終用量を確定することはできなかった。

② 30 µg を最終用量と仮定した医薬品承認申請準備

上述したとおり、H5N1 インフルエンザワクチンについては、15 µg での申請の可能性について追加検討し当局と協議を進めていたものの、細胞培養抗原を用いた測定結果は当初計画した測定法ではない事後測定となるため、受け入れられない可能性があった。申請までの時間的な制限から、J301 試験の結果から 30 µg を最終臨床用量とすることも視野に入れて申請準備を進めた。30 µg を最終用量とする根拠を以下のとおり定めて申請資料準備を行った。

KIB-PCI 30 µg を最終用量とする主な根拠

- EMA 3 基準のうち、抗体保有率のみ基準 (>70%) をやや下回ったものの、65%を達成していることから、KIB-PCI の 30 µg による発症防御効果が期待できる。
- EMA 基準を参照した場合、KIB-PCI の 30 µg は、鶏卵培養ワクチン群との非劣性を検証できなかった KIB-PCI の 15 µg と同様に 2 基準（抗体陽転率及び GMT 変化率）を満たすにとどまったが、SRH 抗体価における逆累積度数分布においては、KIB-PCI の 30 µg は 15 µg の結果とは違いがあり、むしろ 60 µg に近似した成績であった。すなわち、30 µg を接種された集団と 60 µg を接種された集団は、ほぼ同じ分布を示す SRH 抗体を獲得していることから、30 µg によって賦与される免疫レベルは、60 µg によるそれと集団レベルではほぼ同じであると考えられる。
- KIB-PCI 30 µg 接種による中和抗体価は、非臨床試験で確認された 1:20 倍（4 倍以上の上昇）として EMA 3 基準を参照した場合、3 項目すべてを満たした。
- 非臨床試験（マウスを用いた攻撃試験）において、コントロール（生理食塩液）群と同様に SRH 抗体の応答が観察されなかった低用量（KIB-PCI 0.00048 µg）接種群でも、A/Indonesia/5/2005 (H5N1) の弱毒株及び野生株による攻撃試験において、肺内ウイルス増殖あるいは死亡は観察されなかった。なお、KIB-PCI 0.00048 µg をマウスに接種した場合でも中和抗体の上昇が観察されたことから、ヒトにおいて中和抗体価 1:20 倍（4 倍以上の上昇）での評価も重要であると考えられた。
- 安全性評価において KIB-PCI 60 µg までの用量で、特に大きな問題は認めなかったが、全身性反応の有害事象の発現率は 60 µg に比べて 30 µg でやや低かった。
- KIB-PCI は、全粒子不活化ワクチンであることから、主要な感染防御効果の指標となる HI 活性以外に、細胞免疫機能の賦活化も期待できる。

以上のことから、KIB-PCI の 15 µg の申請が受け入れられなかった場合にも対応できるように、上記根拠に基づいた 30 µg /回を KIB-PCI の接種用量として申請資料作成を進めた。

当初、平成 25 年 1 月までに第 II/III 相試験すべての成績が得られ、最終用量を決定し、平成 25 年 3 月末までに医薬品製造販売承認申請を行う計画であったが、上述した理由により平成 25 年 3 月末時点までに申請用量の決定ができず、当該申請はできなかった。しかし、H5N1 インフルエンザワクチンとして、KIB-PCI の 15 µg が申請用量として当局協議にて受け入れられなかった場合には、上述した根拠

により KIB-PCI の 30 µg での申請を果たすべく併行して準備を進めており、平成 25 年度末（平成 26 年 3 月）までに承認が得られる申請期限であると思われる平成 25 年 6 月までに当該用量での医薬品製造承認申請を果たすことは可能であると判断している。

③ プロトタイプワクチンとしての医薬品承認申請準備について

細胞培養法開発第 2 次事業の要件として、「新型インフルエンザワクチンの開発をプロトタイプとしても開発する意思を有すること」が規定されている。プロトタイプワクチンとして承認審査を受けるためには、プロトタイプワクチンガイドラインに従い、1) 臨床試験による異なる亜型に対する交叉免疫原性の確認、2) 臨床試験における長期免疫持続及び長期安全性の確認、3) 異なる亜型の品質確認、及び 4) 非臨床試験における異なる亜型を用いた攻撃試験が求められており、成績を提出しなければならない。

プロトタイプワクチンの申請に必要な臨床データ（1）、2）については、J301 及び J302 試験を継続して収集しているところである。また、プロトタイプワクチンの申請用として、H5N1 とは異なる亜型 [] のウイルス株を平成 [] 年 [] 月入手を目標に準備を進めており、株入手後にワクチンを製造して品質の評価（3）並びにその免疫原性及び発症予防効果の評価（4）を平成 [] 年度中に実施する計画である。総合機構との申請相談を予定するなど、申請についても準備を進めており、公募要件に沿った事業を推進している。

3. 助成金の支出状況

採択時に決定された助成金は全体で基準額 299 億 59 百万円であったが、最終の支出実績は 299 億 63 百万円となり、4 百万円の超過となった。この超過分は自己資金で支払いを行った。臨床試験等実施事業は、第Ⅱ相/Ⅲ臨床試験を当初計画の CRO 委託から第一三共との共同研究に変更するなど外部委託費用が低減した一方、実生産施設整備事業において各種の仕様変更や工程管理機器の追加購入等が発生したため、全体として超過となった。

4. 細胞培養法開発第 2 次事業終了時における事業目標の達成について

本事業である細胞培養法開発第 2 次事業の事業目標は、①半年間で 4000 万人分以上のワクチン生産量が供給可能な製造施設を整備する、②細胞培養法による新型インフルエンザワクチンの薬事法上の承認申請を平成 24 年度中に行うこと、③平成 25 年度中の実用化を目指すこと、④新型インフルエンザワクチンの開発をプロトタイプとしても開発する意思を有すること、とされている。

本報告のとおり、製造設備については当初の計画通り整備を行ったが、細胞培養法開発第 2 次事業終了時点で申請用量が決定できなかったことから、半年間で 4000 万人分の供給ができるか否かの結論には至らなかった。当社は、平成 25 年度中の実用化を目指すための最終目標である平成 25 年度 3 月末までに医薬品製造販売承認を得るため、継続して対応を図っており、その対応状況を別紙にまとめた。更にプロトタイプワクチンの開発については継続して行っており、別紙の状況と合わせ、細胞培養法開発第 2 次事業の目的は実質的にほぼ達成できたと判断している。

以上

細胞培養法ワクチン実生産施設整備等推進事業終了後の進捗及び対応について

平成 25 年 6 月 25 日

北里第一三共ワクチン株式会社

平成 25 年 3 月末の細胞培養法ワクチン実生産施設整備等推進事業（以下、細胞培養法開発第 2 次事業）の実施期間終了後の状況は次の通りである。

1. H5N1 亜型インフルエンザワクチンとしての申請時期について

平成 25 年 5 月 27 日付けで提出した細胞培養法ワクチン実生産施設整備等推進事業に関する事業実施計画終了報告書（以下、終了報告書）にて報告したように、H5N1 亜型ワクチンは申請用量が事業期間内に決定できなかったことから、平成 24 年度内の薬事申請はできなかった。このことに対するその後の対応について説明する。

H5N1 亜型ワクチンの申請対応について、J302 試験（鶏卵培養ワクチンとの非劣性検証試験）において、KIB-PCI 15 µg の鶏卵培養ワクチン群に対する非劣性が検証できなかった。しかし、終了報告書の臨床試験の実施状況の項で述べたとおり、鶏卵培養ワクチン群の抗体測定において感染防御効果を示さないと考えられる抗体を測定している可能性があり、別途細胞培養抗原で測定したところ非劣性が確認できた。このことから、当社は本剤 15 µg での申請を主張し、独立行政法人医薬品医療機器総合機構および厚生労働省医薬食品局審査管理課と協議を重ねてきたが、最終的に受け入れられなかった。一方、J301 試験（H5N1 型を含むプロトタイプワクチンの開発を目的とした臨床試験）における 30 µg の有効性結果から、H5N1 インフルエンザワクチンの申請用量として当局から否定的な見解はなかったことを受けて、平成 〇〇 年 〇 月 〇 日に 30 µg で申請することを社内決定した。

平成 〇〇 年 〇 月以降に申請資料全体の社内レビューを進め、申請用量の妥当性の根拠を充実させて、平成 25 年 6 月 19 日に申請した。KIB-PCI は、平成 24 年 12 月 11 日に H5N1 株及びプロトタイプワクチンそれぞれの希少疾病用医薬品指定を受けた（平成 24 年 10 月 19 日申請、同年 12 月 11 日指定取得）。オーファン指定医薬品の審査期間（申請日から承認日までの目標値）の標準期間から判断して、平成 25 年度中に薬事承認が取得できると見込まれる。なお、この製剤はバイアル製剤である。

2. 供給量の確保について

平成 〇〇 年 〇 月に H5N1 亜型インフルエンザワクチンの申請用量を 30 µg と決定したことに伴い、当社に課せられた半年間で 4000 万人分のワクチン供給を可能にする方策について、原液製造プロセス検討による 1 バッチあたりの製造能力向上と期間短縮を反映した半年間のワクチン生産計画を以下の 2 点を踏まえて詳細に検討した（表 1）。

- 原液製造能力：30 µg/dose を 2 回接種する場合、実生産 1 バッチの製造能力は 〇〇 g と算定されることから（終了報告書 2-2）、〇〇 万人分に相当する原液が製造可能である。

- 半年間の生産計画：半年間の実生産期間において、原液工程期間は当初の計画と比較して短縮化が可能となるが、その期間を具体的かつ詳細に検証し、生産計画に反映した。

- ① 培養工程の期間短縮：実生産における種培養（拡大培養）工程は細胞培養法開発第2次事業申請時の計画より ■日間短縮され、■日間で実施可能である。また、生産計画上律速となる ■L培養槽（主培養槽）における細胞/ウイルス培養（主培養）工程は ■日間短縮され、■日間の工程となった（終了報告書2-1-1(1)）。上記によって、製剤1ロットを製造するまでの全工程日数は、細胞培養法開発第2次事業申請時の ■日から ■日へ短縮した。
- ② 実生産設備における系列別稼働期間：実生産用の原液設備は ■を設置しており、実生産時には ■系列で製造開始後、各系列間を ■日間隔で順次製造を行う。ここで、同一系列の主培養槽で次バッチの培養を開始するためには準備期間（主培養槽の洗浄・滅菌（CIP/SIP））に ■日が必要である。細胞培養法開発第2次事業申請時の計画では主培養工程期間が ■日間であったため、準備期間の ■日を加えて、同一系列の主培養（＝製造）は ■日間隔で繰り返す生産計画であり、■系列から ■系列の製造に戻る際には ■日間が必要であった。プロセス改良によって主培養期間が ■日間となったことで、同一系列の製造が ■日間隔で実施することが可能となったため、■系列から ■系列の製造に移る期間は ■日となり、ワクチン製造は全てのバッチについて ■日間隔で遂行できることになった。
- ③ 生産期間の延長：細胞培養法開発第2次事業申請時の計画では、半年（180日）間のうち ■日間を生産期間としていたが、新生産計画ではこれに ■日間延長して ■日間とした。

上記のすべてを反映した新たな生産計画においては、工程期間短縮（■日間）により ■バッチ、主培養期間短縮（■日間）により ■バッチ、更に製造期間の ■日間延長により ■バッチの合計 ■バッチの増産が可能となり、■日間で ■バッチのワクチン製造を実施できることが明らかになった（表1）。

ここで、新生産計画は、プロセス改良により可能となった製造工程期間の短縮を合理的に反映させた結果であり、過度な作業の詰め込みを前提としたものではないため、細胞培養法開発第2次事業申請時の生産計画と比較して製造作業遂行上のリスクを増大させるものではない。一方、生産期間を ■日間延長し ■日としたことはリスク要因になるが、製造設備における次に示す対策によって、リスクヘッジを図っている。即ち、電力については、安定的に供給される専用の特別高圧での受電を計画している。また、万一の停電時のために非常用自家発電設備を設置しており、無給油で ■時間の設備稼働が可能であり、給油による連続稼働も可能としている。施設、設備については、大規模震災においても生産の機能が維持されるよう、免震装置を設置している。更に、北本市の水道本管から本施設専用として原水を受水していることによって、製造用水の安定確保を図っている。

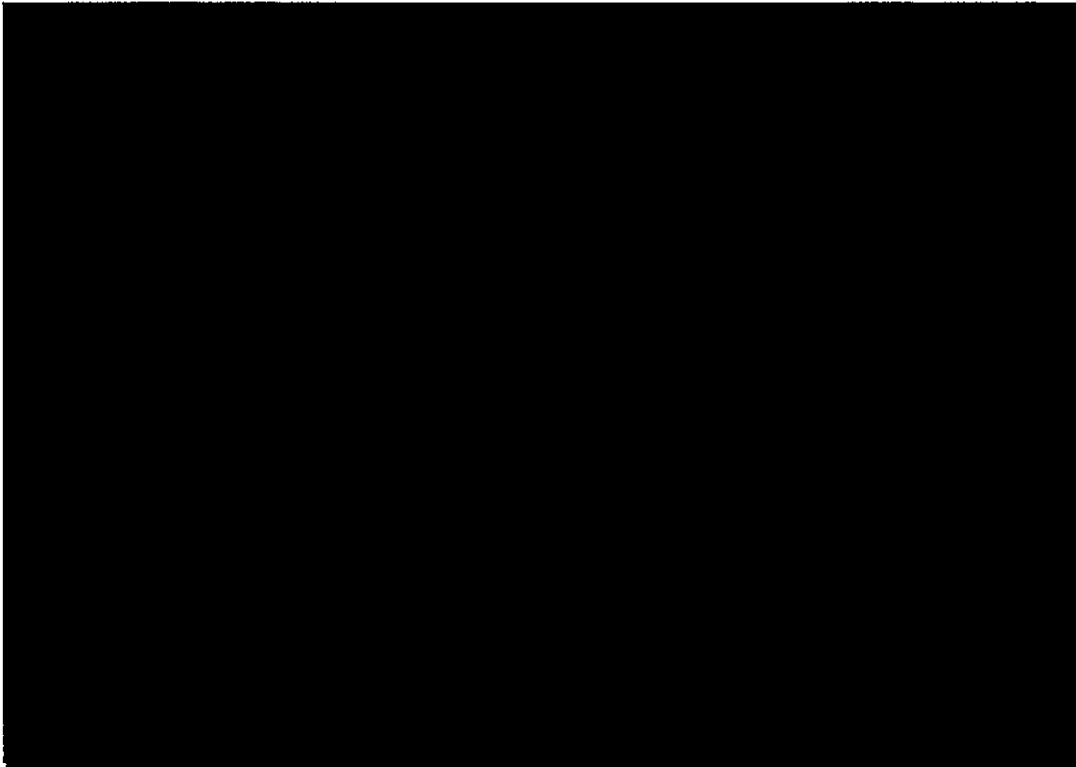
以上により、申請用量 30 µg において、半年以内に供給可能なワクチン数量は、

4030 万人分

であることを確認した。

以上により、当面はバイアル製剤で 4000 万人分の供給を確保する。なお、後述するようにシリンジ製剤の承認取得後は、バイアル及びシリンジ両製剤で合計 4000 万人分のワクチンを供給する。

表 1. 新生産計画

The table content is completely redacted with a solid black box.

3. シリンジ製剤の開発計画について

当社では、細胞培養法開発第 2 次事業申請時の事業計画に従い、15 $\mu\text{g}/\text{dose}$ (30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 製剤、0.5 mL 接種)を開発するため、0.5 mL 充填シリンジの充填・包装設備を設計・導入すると共に、申請用安定性試験についても 0.5 mL 充填シリンジを対象に実施した。

今般、申請用量を 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 製剤を 1 mL 接種)とした。これに伴い、新たに 1 mL 充填シリンジ製剤を開発・実用化するために、既に設置した 0.5 mL 充填シリンジ用の充填・包装設備を 1 mL 充填シリンジ用に一部改造する計画、並びに 1 mL 充填シリンジの申請用安定性データの取得計画を表 2 に示す。

表 2. シリンジ製剤の開発スケジュール

暦年	平成25年				平成26年				平成27年			
	10	20	30	40	10	20	30	40	10	20	30	40
設備												
シリンジ申請 スケジュール												

設備面では、■年■月よりシリンジ充填・包装設備を 0.5 mL から 1 mL 充填仕様に改造するための設計を開始し、今年度内に製作・設置（IOQ 含む）を完了する。また、製剤化プロセスのバリデーション■は平成■年■～■月に実施する。

一方、製造販売承認申請のための安定性データを取得するため、■年■～■月に予定する原液製造プロセスのバリデーション■から得る原液を用い、同■～■月に安定性試験用の 1 mL 充填シリンジ製剤（30 µg/mL）3 ロットを製造（充填工程のみ）し、直ちに安定性試験を開始する（光安定性試験、加速試験、長期保存試験）。

承認申請は、平成■年■～■月に 6 ヶ月の安定性データが得られた時点で実施し、GMP 適合性調査は平成■年■～■月、承認取得は同年■～■月の見込みである。

4. プロトタイプワクチンとしての医薬品承認申請について

プロトタイプワクチンの申請に必要な臨床データ（異なる亜型に対する交叉免疫原性及び長期免疫持続及び長期安全性の確認）については、■月■日にデータを入手し、現在解析中である。プロトタイプワクチンとして必要な臨床試験データ入手はすべて完了した。また、臨床試験以外にプロトタイプワクチンの申請に必要なデータを得るために、H5N1 とは異なる亜型■のウイルス株を平成■年■月■日に入手し、ワクチン製造を開始している。今後、このワクチンの品質の評価、並びに非臨床攻撃試験による免疫原性及び発症予防効果の評価を行い、平成■年度中に完了する計画である。

プロトタイプワクチンとしての申請について医薬品医療機器総合機構と■月■日に相談を行い、その結果を踏まえて申請方針、申請時期について社内協議を進めている。

5. 細胞培養法開発第 2 次事業終了後の進捗及び対応を踏まえた事業目標の達成について

H5N1 亜型ワクチンの承認申請は平成 24 年度中に行うことはできなかったが、細胞培養法開発第 2 次事業終了後の対応により臨床用量を 30 µg のバイアルで平成 25 年 6 月 19 日に申請した。既にオーファン指定を受けたことによる審査期間■を考慮し、平成 25 年度中に承認取得の見込みである。

細胞培養法による新型インフルエンザワクチンの実生産施設及び附属棟は、平成 25 年 3 月末に完成した。臨床用量が 30 µg に増加したことに伴い、培養工程の短縮および生産計画の見直しを細胞培養法開発第 2 次事業終了後に検討し、製造バッチ数を増加させ、バイア

ルで事業目標通りの 4000 万人分のワクチン供給量を確保できることを確認した。今後、実生産バリデーションを確実に推進するとともに、H5N1 亜型ワクチンの薬事承認を取得し、平成 25 年度中に実生産体制の整備を完了する見込みである。プロトタイプワクチン及びシリンジ製剤についても申請に向けた対応を進めており、細胞培養法開発第 2 次事業の要件に沿った事業を推進している。以上の通り、細胞培養法開発第 2 次事業の助成期間以降においても、全社を挙げ、事業目的達成に向けて取り組んでいく所存である。