

特例承認に係る報告書

平成 21 年 12 月 22 日

独立行政法人医薬品医療機器総合機構

承認申請のあった下記の医薬品について、医薬品医療機器総合機構で作成した資料の概要及び専門協議の結果は、以下のとおりである。

記

[販 売 名]	乳濁細胞培養 A 型インフルエンザ HA ワクチン H1N1「ノバルティス」筋注用
[一 般 名]	乳濁細胞培養 A 型インフルエンザ HA ワクチン (H1N1 株)
[申 請 者 名]	ノバルティス ファーマ株式会社
[申 請 年 月 日]	平成 21 年 11 月 06 日 (製造販売承認申請)
[剤 形 ・ 含 量]	1 回接種分 0.25mL 中に不活化サブユニット A 型インフルエンザウイルス (A/カリフォルニア/7/2009 (H1N1)) を 3.75 μ g (HA 含量) 含有する懸濁性注射剤
[申 請 区 分]	医療用医薬品 (1) 新有効成分含有医薬品
[特 記 事 項]	薬事法第十四条の三の規定による特例承認の検討対象 本申請は、平成 21 年 11 月 4 日にドイツで承認され、薬事法第十四条の三の規定による同法第十四条の承認が検討されているため、本報告は、時間等の制約の中で、提出された資料の概略をとりまとめ、専門協議を実施した結果をまとめたものであって、通常の審査報告とは異なる。
[審査担当部]	生物系審査第二部

特例承認に係る報告 (1)

平成 21 年 12 月 17 日

I. 申請品目

[販 売 名]	乳濁細胞培養 A 型インフルエンザ HA ワクチン H1N1「ノバルティス」筋注用
[一 般 名]	乳濁細胞培養 A 型インフルエンザ HA ワクチン (H1N1 株)
[申 請 者]	ノバルティス ファーマ株式会社
[申請年月日]	平成 21 年 11 月 06 日 (製造販売承認申請)
[剤型・含量]	1 回接種分 0.25mL 中に不活化スプリット A 型インフルエンザウイルス (A/カリフォルニア/7/2009 (H1N1)) を 3.75 μ g (HA 含量) 含有する懸濁性注射剤
[申請時効能・効果]	新型インフルエンザ (H1N1) の予防
[申請時用法・用量]	通常、0.25ml をおおよそ 3 週間の間隔をおいて、筋肉内に 2 回注射する。
[特記事項]	薬事法第十四条の三の規定による特例承認の検討対象

II. 提出された資料の概略

本申請において、申請者から提出された資料の概略は、下記のとおり。なお、本申請は、薬事法第十四条の三に基づく申請として扱った。

1. 起源又は発見の経緯及び外国における使用状況等に関する資料

インフルエンザは、オルソミクソウイルス科に属するインフルエンザウイルスの感染によって起こる急性呼吸器疾患である。インフルエンザウイルスは、血清型により、A、B 及び C 型に分類される。このうち A 型インフルエンザウイルスは、ウイルス表面に存在する赤血球凝集素 (ヘムアグルチニン (Hemagglutinin: HA) とノイラミニダーゼ (Neuraminidase: NA)) の抗原性の違いにより亜型 (H1 から H16 及び N1 から N9) に分類される。例年、ヒト社会で流行を繰り返している A 型ウイルスは H1N1 型と H3N2 型であるが、同じ亜型の中でも抗原連続変異 (抗原ドリフト) による抗原性の変化により、ヒトが有するインフルエンザ特異的抗体によって完全に中和できず、流行を繰り返すとされている。

2009 年 4 月、WHO はメキシコにおいて A (H1N1) 2009 ウイルスに起因するブタ由来インフルエンザ (以下、新型インフルエンザ (A/H1N1)) の発生を発表した。A (H1N1) 2009 ウイルスは、従来の A 型 H1N1 ウイルスと異なり NA 及び HA がブタ由来であり、近年ヒ

ト社会で広範な感染を引き起こしていない新しいウイルスであった。その後の発生状況に鑑み、WHOにより警戒水準の引き上げが行われ、2009年6月11日には世界的大流行（パンデミック）を意味するフェーズ6が宣言された。

国内においては、H5N1型高病原性鳥インフルエンザを念頭に「新型インフルエンザ対策行動計画」（以下「行動計画」という。2009年2月改訂）が取りまとめられており、2009年5月16日には国内の発生段階は第二段階（国内発生早期）とされたが、新型インフルエンザ（A/H1N1）は季節性インフルエンザと症状等類似する点が多いことに鑑み、行動計画をそのまま適用するのではなく、「基本的対処方針」（平成21年5月22日発出、平成21年10月1日改定）（<http://www.mhlw.go.jp/kinkyu/kenkou/influenza/dl/infu091002-07.pdf>）により柔軟な対応を行っていくこととされている。

インフルエンザの重症化防止等にはワクチン接種が有効と考えられており、新型インフルエンザ（A/H1N1）ワクチン接種の基本方針（平成21年10月1日発出）

（<http://www.mhlw.go.jp/kinkyu/kenkou/influenza/dl/infu091002-11.pdf>）において優先接種対象者が定められ、該当する者は計約5400万人と想定されている。また、優先接種対象者への接種事業の状況等を踏まえ、それ以外の者にも対応することとされている。今後の感染の拡大やウイルスの変異等の可能性を踏まえると、優先的に接種する者以外における重症例の発生があり得るため、健康危機管理の観点から、国内産ワクチンに加えて、海外企業から緊急に輸入することを決定し、ワクチンを確保することが政府の基本方針として示されている。

本剤は、細胞基材としてメイディン・ダービー・イヌ腎臓細胞（Madin Darby Canine Kidney cell：MDCK細胞）、ウイルス株としてA/California/7/2009（H1N1）γ-like strain（X-179A）を用いた細胞培養法により製造された抗原に、免疫賦活化剤としてMF59 C.1 アジュバント（以下、MF59）が添加されたスプリット化インフルエンザワクチンである。ノバルティス社製インフルエンザワクチンを表1に示すが、本剤に含まれる抗原は、EUを含む31ヶ国で承認されているOptaflyと同じ製造方法により製造されると申請者は説明しており、また本剤に含まれるMF59は、EUを含む30ヶ国で承認されているFocetria（A/H5N1）及び欧州12ヶ国を含む29ヶ国で高齢者を対象として承認されているFluadに添加されている（表1参照）。本剤は、ドイツ及びスイスにおいて迅速に審査され¹、それぞれ2009年11月4日付け及び11月13日付けで「新型インフルエンザ（H1N1）の予防」を効能として承認され、承認後にも臨床試験成績等を順次提出することとされている。ドイツでの承認を受け、2009年11月6日付けでノバルティスファーマ株式会社より本邦への製造販売承認申請がなされた。

国内においては、2009年9月より健康成人を対象とした臨床試験が、■月からは小児を対象とした臨床試験が実施されている。本申請は薬事法第十四条の三の規定による特例承

¹ ドイツ：Emergency use procedure with rolling submission and review. Timely accelerated authorization procedure.

スイス：Rolling submission and review with timely accelerated authorization procedure.

認が検討されているため、ドイツに提出された申請データパッケージが国内申請資料として提出された。

表1 本剤及びノバルティス社製インフルエンザワクチンの特徴

販売名等	ウイルス株	増殖用基材*1	抗原量/dose*2	アジュバント*3	海外承認年月日 (現時点の承認国/地域)
Fluad	3価季節性ワクチン	鶏卵	各株 7.5µgHA	MF59 全量	1997年5月15日イタリア (計29カ国)
Agrippal	3価季節性ワクチン		各株 15µgHA	なし	1986年10月11日イタリア (計30カ国)
Focetria/ Aflunov*4	パンデミックワクチン (A/H5N1)		7.5µgHA	MF59 全量	2007年5月2日*5 EU (計30カ国)
Optaflu	3価季節性ワクチン	MDCK 細胞	各株 15µgHA	なし	2007年6月1日 EU (計31カ国)
FCC/MF59-H5N1	プレパンデミック/パンデ ミックワクチン (A/H5N1)		(未定)	MF59 (用量未 定)	開発中
本剤 (Celtura*6)	プレパンデミック/パンデ ミックワクチン (A/H1N1)		3.75µgHA	MF59 半量	2009年11月4日ドイツ 2009年11月13日スイス

*1 鶏卵培養ワクチンと細胞培養ワクチンとは、ウイルスの不活化方法等の基材以外の製造方法も異なっている。

*2 本剤は 0.25mL/dose、その他のワクチンは全て 0.5mL/dose

*3 MF59 全量の組成：スクワレン 9.75mg、ポリソルベート 80 1.175mg、トリオレイン酸ソルビタン 1.175mg
MF59 半量の組成：スクワレン 4.88mg、ポリソルベート 80 0.588mg、トリオレイン酸ソルビタン 0.588mg
クエン酸緩衝液を媒体として使用

*4 Aflunov は Focetria と同一製剤でありプレパンデミックワクチンとして開発中

*5 同商品名 (Focetria) で製造株として A/H1N1 を用いたワクチンが 2009 年 9 月 29 日 EU で承認された

*6 ドイツでの販売名

2. 品質に関する資料

<提出された資料の概略>

本剤は、インフルエンザウイルス A/H1N1 株：A/California/7/2009 (H1N1) v-like strain (X-179A) を MDCK 細胞で増殖させ、精製したウイルス粒子を不活化、スプリットした表面抗原を有効成分とするワクチンである。1回接種量 0.25mL あたり、インフルエンザ HA 抗原量として 3.75µg (以下 3.75µg HA) を含有し、スクワレン、トリオレイン酸ソルビタン、ポリソルベート 80 及びクエン酸緩衝液からなる水中油滴型乳濁性アジュバント (免疫補助剤) の MF59 が添加されている。

原薬の製造方法は、欧州で承認されている季節性インフルエンザワクチン Optaflu の単価抗原バルクと同一の製造方法と説明されている。また、本剤に含まれる MF59 は、Fluad (鶏卵培養季節性インフルエンザワクチン) 及び Focetria (パンデミックインフルエンザワクチン) にも添加されている。

(1) 原薬

1) 製造方法

① シードウイルスの起源と管理 (シード/ロットシステム)

EMEA のガイダンス (EMEA/CHMP/BWP/340831/2009/Rev 1) に基づき、ワクチン株として選択された A/California/7/2009 (H1N1) v-like strain (X-179A) (以下、A/California/7/2009

株) は、A/California/7/2009 (H1N1) v (ドナー株) と X-157 (H3N2) を用いてニューヨーク医療センター (NYMC) で鶏卵培養により作製されたリアソータントウイルスである。この株の HA 及び NA 遺伝子は、血清学的検査及び RT-PCR の結果より、ドナー株由来であることが確認されている。

米国疾病予防管理センター (CDC) から入手した A/California/7/2009 株を、製造用の MDCK 細胞 (MDCK 細胞) ワーキング・セルにより 中で 代継代培養し、適切な増殖性を得たものがワーキング・シードウイルス (WSV) とされた。当該シードロットシステムは WSV のみから成り、ロットの WSV が調製され、表 2 に示す管理試験が実施された。

表 2 WSV の管理試験

試験項目	規格
HA 価 (赤血球凝集試験)	陽性
確認試験 (HA、NA 塩基配列解析)	参照ウイルスと同一
ウイルス含量 ^{※1}	規格値内
無菌試験 (メンブレンフィルター法)	適合
外来性ウイルス否定試験 1 (単純ヘルペスウイルス、JC ウイルス、BK ウイルス、ヒトアデノウイルス、ヒトエンテロウイルス、ヒト RS ウイルス、パラインフルエンザウイルス: PCR 法)	検出されない
外来性ウイルス否定試験 2 (ほ乳類オルトレオウイルス: PCR 法)	検出されない
マイコプラズマ否定試験 (培養法及び指標細胞を用いた DNA 染色法)	検出されない

^{※1} 付着 MDCK 細胞への接種による 50% 感染希釈率を測定

WSV は -60°C 以下で保存される。WSV は更新されない。保存期間中の安定性評価については、数ヶ月以内で使い切るため評価しないと説明されている。

② MDCK 細胞の起源と管理 (セルバンクシステム)

1958 年にカリフォルニア大学でイヌ腎臓細胞より樹立された MDCK 細胞は、19 年にカイロン (現ノバルティス) 社に供与され、回以上継代して、培養、地培養に馴化させた。その後さらに地培養に馴化させた MDCK 細胞を用いて、マスターセルバンク (MCB) が作製された。MCB は、Optaflu の製造にも使用されている。MCB を継代培養し、ワーキングセルバンク (WCB) が作製された。MCB 及び WCB は、液体窒素気相中 (-140°C 以下) で凍結保存される。MCB は更新されない。

MCB、WCB 及び WCB の解凍からの細胞倍加レベル (PDL) の実製造培養後条件のセルバンク (End of production cells: EoP) について表 3 に示す試験が実施されている。

表3 MDCK セルバンクに関する規格試験及び特性解析試験

試験項目	試験方法	試験対象セルバンク			
		MCB	WCB	EoP	
細胞の安定性	倍加時間と生存率	◎	△	—	
	継代数の異なる時点での細胞形態	◎	△	—	
	液体窒素保管後の倍加時間	◎	△	—	
細胞の増殖	細胞培養	—	—	○	
確認試験	アイソザイム分析	◎	◎	○	
	DNA フィンガープリント法	◎	◎	—	
	細胞遺伝学的解析	◎	—	○	
腫瘍原性	新生ラットへの細胞懸濁液の皮下投与による腫瘍形成の観察	—	—	○	
純度試験	無菌試験	直接法	◎	◎	○
		直接法による静菌性/静真菌性	◎	—	—
	マイコプラズマ否定試験	培養法及び指標細胞を用いた DNA 染色法	◎	◎	○
	<i>In vivo</i> 外来性ウイルス否定試験	成熟マウス、モルモット、乳飲みマウス及び発育鶏卵を用いた外来性ウイルスの否定試験	◎	◎ ^{*9}	○
	<i>In vitro</i> 外来性ウイルス否定試験	検出細胞 ^{*1} を用いた <i>in vitro</i> におけるウイルス検出	◎	◎ ^{*9}	○
	共培養試験	指標細胞と共培養後のライセート中の外来性ウイルスを <i>In vitro</i> 法にて検出	—	◎ ^{*9}	—
	ウシウイルス否定試験	<i>In vitro</i> 法 (ウシ鼻甲介細胞)	◎	—	—
		9CFR113.53 のウシウイルス検出試験	◎	—	○
		RT-PCR 法 ^{*2}	○	—	○
	ブタウイルス否定試験	<i>In vitro</i> 法 (ブタ腎初代培養細胞 (PPK 細胞) (9CFR 変法))	◎	—	—
		ブタパルボウイルス <i>In vitro</i> 法 (ブタ精巣細胞)	◎	—	—
		<i>In vitro</i> 法 (PPK 細胞)	◎	—	○
	透過型電子顕微鏡観察	TEM による細胞の形態及びウイルス様粒子の観察	◎	—	○
	レトロウイルス否定試験	逆転写酵素活性高感度検出法 (PERT 法)	◎	—	○
	外来性ウイルス否定試験	縮重 PCR 法 ^{*3}	○	—	○
	好酸菌否定試験	培養法 (<i>Mycobacterium spp</i>)	○	—	○
	イヌウイルス否定試験	<i>In vitro</i> 法によるイヌ由来ウイルスの否定試験 ^{*4}	○	—	○
	ウマウイルス否定試験	<i>In vitro</i> 法によるウマ由来ウイルスの否定試験 ^{*5}	○	—	○
		RT-PCR 法 ^{*6}	○	—	○
	ヒトウイルス否定試験	RT-PCR 法 ^{*7}	○	—	○
げっ歯類ウイルス否定試験	マウス抗体産生試験 (MAP)	○	—	○	
	RT-PCR 法 ^{*8}	○	—	—	

◎：規格試験 (specification)、○：特性解析 (Extended Characterization)、△：工程内管理試験、—：試験実施せず

*1: 検出細胞; MRC-5細胞、Vero細胞、MDCK細胞 (ATCC)、*2: ウシ/ブタサーコウイルス及びウシポリオマウイルス、*3: ヘルペスウイルス及びポリオマウイルス、*4: イヌ由来ウイルス (canine distemper, canine parvovirus, canine coronavirus)、*5: ウマ由来ウイルス (rabies virus, vesicular stomatitis virus, equine herpesvirus 1,2,3,4, equine arteritis virus, equine infectious anemia virus 他)、*6: ポルナウイルス及び西ナイルウイルス、*7: 以下に示す人病原性ウイルス等 (HCV, HBV, HIV-I,II, HTLV, HHV-6,7,8, EBV, hCMV, SV40, herpes simplex virus, HSRV-A,B, varicella zoster, adenovirus, measles, parainfluenza-1,2,3, enterovirus, influenza-C 等)、*8: リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス (LCMV)、*9: EoP で試験を実施

WCB は残数が少なくなった場合に更新され、表3の規格試験及び工程内管理試験項が実施される。

MCB 及び WCB の安定性は、WCB 作製に用いる際に解凍した MCB の細胞の生存率及び原薬製造に用いる際に解凍した WCB の細胞の生存率と増殖速度 (倍加時間の測定) により、評価されている。

MDCK セルバンクについて、表3に示した品質管理試験及び特性解析試験の他、MCB、WCB 及び EoP のアイソザイム分析並びに MCB 及び WCB の DNA フィンガープリント法等の解析により、当該セルバンクがイヌ由来であり他種の混在は認められないこと、MCB 及び EoP の核型及び表現型分析により遺伝的安定性が確認された。また、MDCK 株樹立以前の初期の継代培養で使用された動物由来成分 (ウシ、ブタ、ウマ) の動物種由来ウイルス、細胞起源である犬由来ウイルス及び人由来の病原性ウイルス並びにマイコ

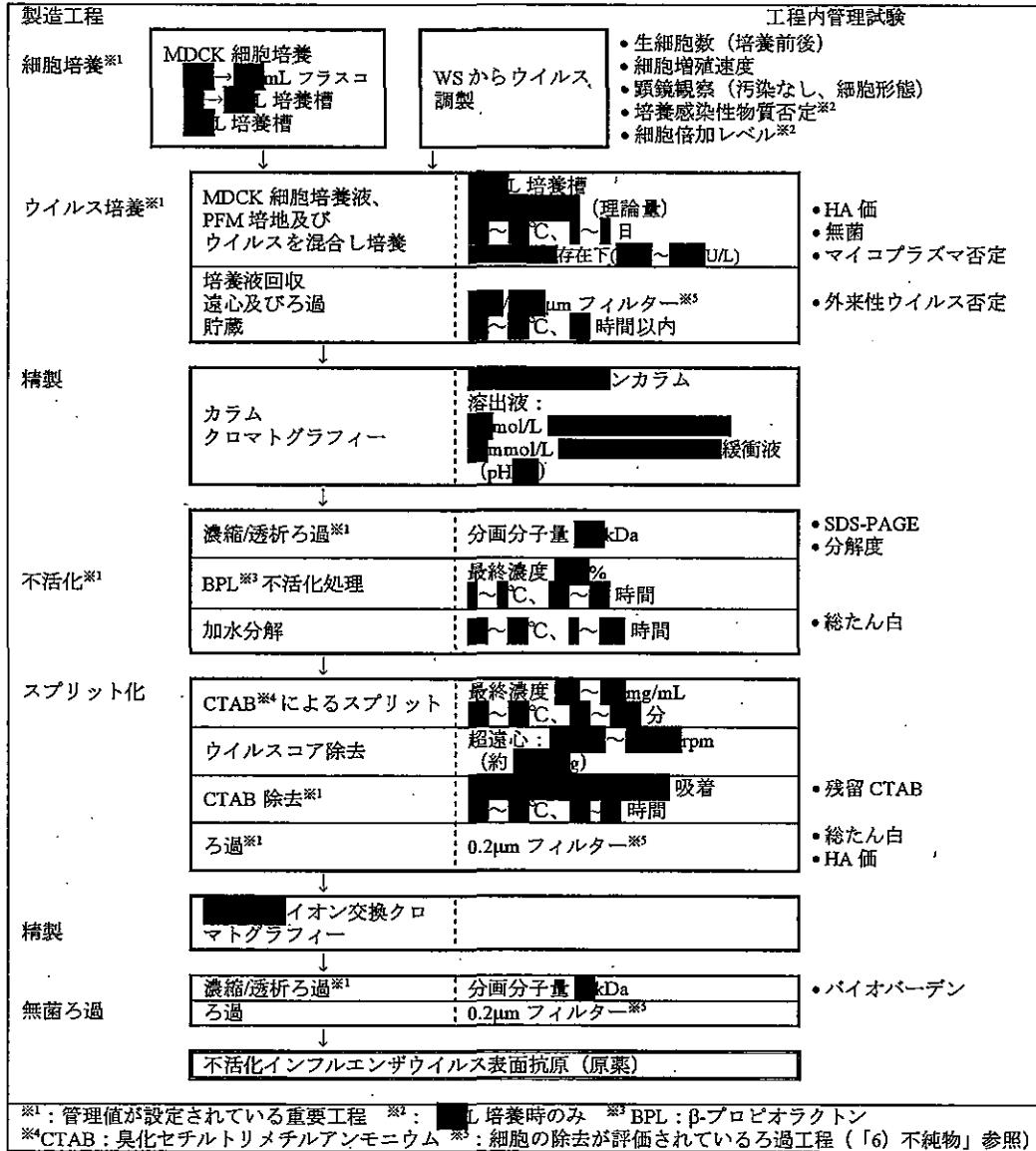
ラズマ等の否定試験が実施され、汚染は確認されなかった。TSE のリスクについては、欧州の TSE ガイドライン (EMEA/410/01/ver2) に準拠して評価されており、当該細胞は犬由来であり、██████培地で継代されていることから、当該セルバンクの樹立前に使用された反芻動物由来成分は十分に希釈されており、さらに、PrP^{sc} の発現解析等詳細な解析により、MDCK ██████ 細胞を媒体として TSE が伝播する可能性は非常に低いとする報告 (*Vaccine*, 26: 2601-2614, 2008) から、TSE のリスクは極めて低いとされている。

当該セルバンクの元となったオリジナルの MDCK 細胞 (██████培地で培養された ██████細胞) は腫瘍原性を示さないが、いくつかの MDCK 細胞亜株は腫瘍原性を有することが知られている (*Cancer*, 26: 1022-1028, 1970)。MDCK ██████セルバンク由来の細胞も腫瘍原性を有すること並びに当該細胞抽出物及び DNA のがん原性はないこと等が確認されている (「3.非臨床に関する資料 (iii) 毒性試験成績の概要」参照)。しかし、製造工程で MDCK 細胞は除去できることから、最終製剤でのリスクは極めて低いとされている。(「6) 不純物の除去」参照)

2) 製造方法

原薬の製造方法の概略は以下の図1に示すとおりであり、Optafluと同じ製造方法と説明されている。

図1 原薬の製造方法の概略



3) プロセスバリデーション/評価

①重要工程・重要中間体

図1のフローにて※1を付した重要工程について、工程の管理値が設定されている。原薬の製造には、Line1 (Optafluの原薬製造時に使用されるライン) 又はLine2 (本剤等の生産量を増やすために増設された、Line1と同スケールの培養槽を3基備えるライン) が使用さ

れる。Line1では、培養工程及びたん白質精製工程について、季節性インフルエンザウイルス株（ 株及び 株）を用いたプロセスバリデーション/評価により、プロセスパラメータの妥当性及び品質の恒常性が確認された。Line2では、培養工程及び精製工程について、A/California/7/2009株を用いたバリデーションにより、培養工程の適切性及び不純物の除去等が評価され、工程内管理試験及び原薬の規格試験に適合し、A/California/7/2009株を用いても一定した品質の原薬が製造されることが確認された。

BPLによるインフルエンザウイルス不活化工程の評価については、A/California/7/2009株の実製造スケール3バッチについて、 ~ °Cで 時間続いて ~ °Cで 時間処理によりウイルスが検出されなくなることが確認された。また、実製造スケールで製造されたA/California/7/2009株ウイルス液について、不活化工程をスケールダウンしたBPL処理の経時的不活化曲線（Inactivation Kinetics）を検討したところ、BPL処理 分でウイルスが検出されなくなり、 時間の不活化処理は十分であることが確認された。

その他、不純物の除去は、季節性インフルエンザウイルス株のバリデーション成績に基づき評価されている（「6）不純物の除去」参照）。

②製造方法開発の経緯（同等性/同質性）

本剤の製造方法について、Optaflyの製造方法からの変更の有無等が明確にされていないため、本剤の開発時における変更について現在確認中である。

③外来性感染性物質の安全性評価

製造工程にはウイルス不活化あるいは除去の効果がある工程として、β-プロピオラクトン（BPL）による不活化、臭化セチルトリメチルアンモニウム（CTAB）処理によるスプリット化、クロマトグラフィーの3工程が含まれている。BPL不活化工程のウイルスクリアランス能の評価には、MDCK細胞で増殖する可能性がある関連ウイルスやヒト由来のウイルス、2重鎖の核酸を保有する化学的処理に耐性なウイルスを含む、12種のDNAウイルス、18種のRNAウイルス、クラミジア及びマイコプラズマが用いられた。CTAB処理工程については、CTAB処理、 、 処理の各段階のクリアランス能力が測定され、最終的にそれらの合計が評価された（表4）。

表 4-1 製造工程における外来性感感染性物質のクリアランス指数 (log₁₀) (DNA ウィルス他)

DNA 型 ¹⁾	ss	ss	ss	ds	ds	ds	ds	ds	ds	ds	その他	
ENV ²⁾	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
ウィルス ³⁾	MVM	CPV	PCircov	SV40	HPyV	APV	HHSV	PRV	HAdV	CAdV	C. trachomatis	M. hyorhinis
BPL 不活化 ⁴⁾	≧	≧	≧	≧	≧	≧	≧	≧	≧	≧	≧	≧
CTAB 処理 ⁵⁾	≧	≧	≧	≧	≧	≧	≧	≧	≧	≧	≧	≧
合計	≧9.7 ~≧14.3	6.8 ~11.6	≧5.5 ~≧10.3	6.5~8.4	5.1~7.0	4.5~6.4	≧9.5 ~≧10.1	≧9.9	5.5~7.7	6.7~8.6	≧12.8	≧12.5

¹⁾ ss: 一本鎖、ds: 二本鎖

²⁾ +: エンベロープ有り、-: エンベロープなし

³⁾ MVM: Minute Virus of Mice, CPV: Canine Parvovirus, PCircov: Porcine Circovirus, SV40: Simian Polyomavirus, HPyV: Human Polyomavirus, APV: Avian Polyomavirus, HHSV: Human Herpesvirus, PRV: Pseudorabies Virus, HAdV: Human Adenovirus, CAdV: Canine Adenovirus 1, C. trachomatis: Chlamydia trachomatis, M. hyorhinis: Mycoplasma hyorhinis

⁴⁾ BPL 不活化: %、℃ 時間、℃ 時間

⁵⁾ CTAB 処理条件: %、℃ (mM、 mM、 pH、 g/L)、℃ 分

表 4-2 製造工程における外来性感感染性物質のクリアランス指数 (log₁₀) (RNA ウィルス)

RNA 型 ¹⁾	ds	ds	ds	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+
ENV ²⁾	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+
ウィルス ³⁾	MReoV	AReoV	ABV	CoV	S-CoV	PV	EchV	CxA	CxB	RV	sPIV	RSV A	RSV B	ARV
BPL 不活化 ⁴⁾	≧	≧	≧	≧	≧	≧	≧	≧	≧	≧	≧	≧	≧	≧
CTAB 処理 ⁵⁾	≧	≧	≧	≧	≧	≧	≧	≧	≧	≧	≧	≧	≧	≧
合計	8.7 ~≧9.9	≧12.8 ~≧14.0	8.3 ~≧9.5	≧13.5	≧14.9	≧7.3 ~≧12.1	≧8.4 ~≧13.2	7.3 ~12.1	5.5 ~10.3	≧7.7 ~≧13.0	≧10.5 ~≧15.6	≧12.4	≧12.3	≧11.2

¹⁾ ds: 二本鎖、+一本鎖プラス鎖、-一本鎖マイナス鎖

²⁾ +: エンベロープ有り、-: エンベロープなし

³⁾ MReoV: Mammalian Reovirus, AReoV: Avian Reovirus, ABV: Avian Birnavirus, CoV: Coronavirus, S-CoV: SARS- Coronavirus, PV: Poliovirus, EchV: Echovirus, CxA: Coxsackievirus A, CxB: Coxsackievirus B, RV: Rhinovirus, sPIV: Simian Parainfluenza/Parainfluenza virus 3, RSV A: Respiratory Syncytial virus A, RSV B: Respiratory Syncytial Virus B, ARV: Avian C-Type Retrovirus

⁴⁾ BPL 不活化: %、℃ 時間、℃ 時間

⁵⁾ CTAB 処理条件: %、℃ (mM、 mM、 pH、 g/L)、℃ 分

その他、XXXXXXXXXX 及び XXXXXXXXXX による各クロマトグラフィー工程についてもウィルスクリアランス能が評価されている。

4) 生物由来原料

原薬の製造には、MDCK XXXXXXXXXX 細胞及びインフルエンザウィルス A/California/7/2009 株の他に表 5 に示す生物由来原料が使用されている。

MDCK XXXXXXXXXX 細胞については、「1) 製造方法 ②MDCK 細胞の起源と管理 (セルバンクシステム)」の項に示すセルバンクの管理試験である純度試験により、外来性感感染因子が混入していないことが確認されている。

表 5 生物由来原料

原料	動物	部位	原産国	用途	処理条件
トリプシン	ブタ	膵臓	米国、カナダ	培養細胞にインフルエンザウィルスを感染 (HA を開裂) させるため、培養槽に添加される。なお、トリプシン (ブタ由来) に乳糖 (ウシ由来) が含まれる	製造時に酵素粉末はγ線照射処理 (25-40kGy) されている。また、トリプシン製造工程で溶液は一晚 pH1.0 とした後 pH7.5 に調整される。
	ウシ	乳	米国		
遺伝子組換えインスリン	ブタ	膵臓	欧州 米国 韓国	MDCK 培地には遺伝子組換えインスリンが含まれる。遺伝子組換えインスリンの製造にブタ膵臓由来原料が使用される。	申請者に確認中

トリブシンについては、パルボウイルス等をモデルウイルスとして、トリブシン製造工程のウイルスクリアランスが評価されており、本剤の製造工程におけるBPLによる不活化工程も含めるとレオウイルス3型でlog₁₀8.45以上のクリアランスが確認されている。その他、CTAB除去の工程に使用されるカラムに用いられるゼラチン(ブタ、皮由来)は、申請資料では生物由来原料とされていたが、本邦においては高度精製品とされており、動物由来原料基準は適用されない。

5) 特性解析

A/California/7/2009株及びOptafluの原薬を用いた特性解析の詳細な成績は示されていないが、以下のように説明されている。

本剤の原薬について、一元放射免疫拡散試験(SRD)及び逆相HPLCにより、インフルエンザウイルスのHAであることが確認されている。また、HA及びNAの構造について以下の検討がなされている。A/California/7/2009株の原薬と同じ製造方法で製造されるOptafluの単価抗原バルク(HINI()株)について、鶏卵培養法で製造されるAgrippalとHA及びNAたん白質を比較したところ、1次及び2次元のゲル解析においてOptafluのHA及びNAの分子量はAgrippalに比べ()が、()では差異は認められなかったため、分子量の()によると考えられた。Optaflu又はAgrippalの原薬をマウスに免疫したところ、HI抗体価は同様であったとされている(「3.非臨床に関する資料 (i)薬理試験成績の概要 (1)効力を裏付ける試験 1)免疫原性試験 ②細胞培養及び鶏卵由来ワクチンの比較」参照)。

6) 不純物

原薬中に残留する不純物については、Optaflu製造時のバリデーション成績に基づいて説明されており、不純物の管理方法の概略は表6に示すとおりであるが、原薬の規格値はOptafluと異なっている。

表6 原薬の不純物の管理

不純物	管理
MDCK細胞(生細胞)	規格値は設定されていないが、ろ過工程等により細胞が除去可能であることは、Optaflu製造時にバリデーションされている。
宿主細胞由来DNA	残存DNA量は原薬の規格試験()で管理されている。
宿主細胞由来たん白質(HCP)	原薬の規格試験()により管理されている。
β-プロピオラクトン(BPL)	ウイルス不活化工程に続く()時間の工程で速やかにβ-ヒドロキシプロピオン酸に加水分解される。透析ろ過工程のバリデーションにより、除去可能であることが確認されている。残留濃度を管理する試験は設定されていない。
臭化セチルトリメチルアンモニウム(CTAB)	スプリット後、CTABは重合体への吸着工程で除去される。本剤の製造においては残存量は吸着工程後の工程内管理及び原薬の規格試験()で管理されている。
ポリソルベート80	原薬の規格試験()で管理されている。
組換えヒトインスリン	Optaflu単価バルク及び製剤において、ELISA法により測定したところ検出限界以下であった。残留濃度を管理する試験は設定されていない。
トリス(2-アミノ-2-ヒドロキシメチル-1,3-プロパンジオール)	()クロマトグラフィーによる濃縮/透析ろ過工程で除去される。残留濃度を管理する試験は設定されていない。

MDCK 細胞はウイルス感染に伴う細胞溶解により破壊され、ろ過工程等により ■%以上除去される。ろ過工程については、培養後の清澄化工程に用いられる ■ μm 及び無菌ろ過等に用いられる 0.22 μm について、MDCK 細胞よりも小さい酵母及び細菌を用いてバリデーションが実施された ■回のろ過工程（原薬の製造工程における ■回のろ過（「1」製造方法 図 1」参照）及び最終バルク調製時の 1 回のろ過）により、35.6log のクリアランスが確認されており、走査電子顕微鏡でも細胞がろ過膜を通過しないことが確認されている。また、BPL 及び CTAB 処理の化学的な処理によっても 6log の生きた MDCK 細胞の減少が確認されている。

宿主細胞由来 DNA については、■株を用いてバリデーションが実施され、BPL 処理後は残存 DNA の 96%、原薬では 100%が 200bp 以下に断片化されていた。DNA の残存量は、BPL 処理後に 1.287 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、原薬では 15ng/ml（製剤中の 1 価あたり 0.996ng/ドーズ相当量）であった。また、■株製造時の中間体に残留するゲノム DNA の生物活性について、PCR による複製の鋳型機能がほぼ消失していることが確認されている。さらに、■ μg （1 ドーズの製造に必要な細胞数 10^7 個分に相当）/200 μl に調整した MDCK 細胞由来 DNA のがん原性は否定されている。（「3.非臨床に関する資料（iii）毒性試験成績の概要」参照）

宿主細胞由来たん白質（HCP）の残量は、Optafly の単価バルク ■ロットについて、製剤中の 1 価あたり ■ \sim ■ μg /ドーズ相当量であった。

β -プロピオラクトン（BPL）は、変異誘導及び発がん物質であり、BPL 処理工程において ■ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 添加されるが、BPL の経時的分解曲線（BPL Kinetics）から、■ \sim ■ $^{\circ}\text{C}$ 時間及び ■ $^{\circ}\text{C}$ で ■時間処理後に ■ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以下まで加水分解されることが説明されている。また、Optafly の BPL 加水分解工程のバリデーション結果（■ロット）から、原薬においては、BPL 濃度は最初の ■ロットでは ■ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以下、他 ■ロットでは ■ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以下であったことから、Optafly の規格試験項目には設定されていない。

7) 規格及び試験方法

原薬の規格及び試験方法として、HA 含量（SRD 又は HPLC）、NA 確認（酵素反応法）、無菌試験（メンブランフィルター法）、ウイルス不活化確認（MDCK 細胞培養法：欧州薬局方）、総たん白質（BCA 法）、抗原純度 I（HA 及び NA）（SDS-PAGE）、抗原純度 II（総たん白質含量（BCA 法）に対する HA 含量（SRD 又は HPLC）比）、ポリソルベート 80 含量（HPLC）、CTAB 含量（比色法）、残留 DNA（Threshold 法：DNA 結合活性の動的解析）、pH（電位差測定）及び HCP たん白質（ELISA）が設定されている。

8) 標準品又は標準物質

原薬の HA 含量試験の標準品として、英国国立生物学的製剤研究所 (NIBSC) から供給された参照抗原 (精製全粒子ウイルス) 及び参照抗血清 (ヒツジ抗 HA 抗体) が用いられる。

9) 安定性

本剤の原薬 7 ロット (A/California/ [] ロットを含む) について HA 含量、抗原純度 I (SDS-PAGE)、pH、総たん白質 (BCA 法) を試験項目とした 2~8°C の長期保存試験が 12 ヶ月間、また 23~27°C、相対湿度 55~65% での加速試験が 3 ヶ月間行われる計画であり、現在 0、1、2 及び 3 ヶ月時点の 3 ロットの成績が示されているが、長期保存試験の 3 ヶ月において HA 含量は 3 ロットでそれぞれ [] から [] µg/mL、[] から [] µg/mL、[] から [] µg/mL と約 20~40% の減少が認められている。原薬の有効期間は [] ~ [] °C にて [] ヶ月間とされており、[] ヶ月時点の成績が提出されるのは 20 [] 年 [] 月の予定である。

なお、参考として、Optafu の季節性インフルエンザ H1N1 株 ([] 株) の単価バルク 3 ロットについて、HA 抗原含量、純度 (SDS-PAGE による HA の均一性)、pH (電位差測定法)、総たん白 (BCA 法) を試験項目とした 2~8°C の長期保存試験が [] ヶ月まで、23~27°C、相対湿度 55~65% での加速試験が [] ヶ月まで実施された成績から、Optafu の単価バルクは [] ヶ月まで安定であると説明されている。

(2) 製剤

本剤は、1 回接種量 0.25mL 中に、A 型インフルエンザウイルス (A/California/7/2009 (H1N1)) 表面抗原 (HA 及び NA) を HA 抗原量として 3.75µg、水中油滴型エマルジョンからなるアジュバントの油相にスクワレン 4.875mg、乳化剤としてトリオレイン酸ソルビタン 0.588mg、水相にポリソルベート 80 0.588mg、緩衝剤としてクエン酸ナトリウム二水和物 0.331mg 及びクエン酸一水和物 0.021mg を含有する。他に、保存剤としてチメロサル 25µg、等張化剤、緩衝剤、安定化剤及び溶剤を含む。本申請の国内及び海外の臨床試験にはプレフィルドシリンジ製剤 (シングルドーズ製剤) が用いられたが、承認後に本邦に供給される製剤は [] mL マルチドーズバイアル製剤であり、チメロサルはバイアル製剤にのみ添加されている。

(機構注) MF59 のスクワレンは、本邦においては新添加物に該当するが、特例承認の範囲で使用を認めるものであり、使用前例としては取り扱わない。なお、MF59 に関する毒性試験が提出されている。(「3. 非臨床に関する資料 (iii) 毒性試験成績の概要」参照)

1) 製造方法

製剤の製造方法は、原薬と緩衝液、注射用水、保存剤及びアジュバントである MF59C.1 (以下 MF59) を混合する最終バルクの製造工程、充てん工程及び包装工程より構成される。最終バルク調製及び充てんは同一の製造所で実施される。本剤で使用されている MF59 は、既承認の MF59 添加ワクチン Flud、Focetria、Aflunov で使用している MF59 と製造所、製造方法及び組成は同じである。本剤は、17 回接種分 (接種量 0.25mL 及び注射シリンジ内デ

ッドボリューム ■ mL として) が ■ mL バイアル (目標充填量 6.0mL) に充てんされているマルチドーズバイアル製剤である。

①MF59

水中油滴型エマルジョンの MF59 バルクは、クエン酸緩衝液にポリソルベート 80 を希釈した水相に、トリオレイン酸ソルビタンを混合したスクワレン (サメ肝油由来) を添加、混合したのち、乳化され、ろ過 (0.2 μ m) を経て充てんされる。なお、混合後は窒素ガス下において製造される。MF59 バルクの重要工程である乳化、ろ過滅菌及び充てん工程では、平均粒子径、バイオバーデン及びエンドトキシン、pH 及び性状が工程内で管理されている。

MF59 バルクの規格及び試験方法として、性状、pH (電位差測定法)、平均粒子径 (動的光散乱法)、■~■ μ m の粒子数 (単一粒子光学検知法)、スクワレン含量 (HPLC)、スクワレン確認 (HPLC)、ポリソルベート 80 含量 (HPLC)、トリオレイン酸ソルビタン含量 (HPLC)、エンドトキシン (カイネティック比色法)、バイオバーデン及び純度試験 (ホルムアルデヒド、アセトアルデヒド、アセトン) (HPLC) の各試験が設定されている。

MF59 バルクについては光安定性試験、2~8 $^{\circ}$ C の長期保存試験及び 23~27 $^{\circ}$ C での加速試験が実施されている。長期安定性試験については、上記の MF59 バルクの規格及び試験方法からポリソルベート 80 含量、トリオレイン酸ソルビタン含量、エンドトキシンを除いた 8 項目の試験項目で評価され、ガラス容器及びエチレンビニルアセテートバック保存条件下、それぞれ 3 ロット以上の長期安定性試験成績から、保存期間は 2~8 $^{\circ}$ C、遮光下で製造日より ■ ヶ月とされている。

②製剤

HA 含量が最終濃度 ■ μ g/mL になるように、0.2 μ m フィルターでろ過された原薬、緩衝液 A (■ 緩衝液)、溶液 B (■ 溶液) 及び MF59 バルク (■) を混合攪拌し、次いで最終濃度 100 μ g/mL になるようにチメロサールを添加、混合攪拌して最終バルクが調製される。最終バルクは充てん施設で室温にてガラスバイアルに充てんされる。

最終バルク調製工程の ■ 時間及び ■ 速度 (■ 分、■ 回転/分)、充てん工程のバイアルの ■ が工程管理項目とされている。また、最終バルクの規格試験として無菌試験が設定されている。

2) 規格及び試験方法

製剤の規格及び試験方法として、性状、確認試験 ((1) ヘムアグルチニン (HA)、(2) スクワレン)、pH、純度試験 (ホルムアルデヒド、アセトアルデヒド、アセトン) (HPLC)、スクワレン含量 (HPLC)、チメロサール (原子吸光光度法)、エンドトキシン (カイネティック比色法)、採取容量、平均粒子径 (動的光散乱法)、1.2~400 μ m の粒子数 (単一粒

子光学検知法)、無菌試験(メンブランフィルター法)、異常毒性否定試験(マウス、モルモット(欧州薬局方 Abnormal toxicity))及び力価試験(SRD 又は HPLC)が設定されている。ロット分析結果として3ロット(プレフィルドシリンジ製剤)の結果が示されている。

3) 標準物質

力価試験には原薬の標準品と同一のものが使用される。

4) 安定性

無菌試験、HA 含量、性状、pH、平均粒子径、粒子数、カルボニル含量及びチメロサル含量を安定性の評価項目とする2~8℃で■ヶ月の長期保存試験、及び23~28℃、相対湿度55~65%の加速試験が計画されている。製剤の長期保存試験については、試作用3ロットの6ヶ月時点の成績が2010年3月下旬に、バリデーション用3ロットの2ヶ月時点の成績が2010年3月下旬に提出される予定である。ドイツでの承認時には、4ヶ月及び6ヶ月時点の成績が取得されたら速やかに提出することを条件に、製剤の有効期間を暫定的に6ヶ月とすることが認められたと説明されている。

マルチドーズバイアル製剤である本剤に添加されているチメロサールの保存効力については、本剤を用いた欧州薬局方に準じた保存効力試験により、開封後の使用期限は初回の薬液採取から6時間以内とされた。

3. 非臨床に関する資料

非臨床試験においては、本剤を用いた試験は実施されておらず、FCC/MF59-H5N1、Optaflu、Aflunov、Agrippal及びFluad等を用いた試験成績が提出されている。FCC/MF59-H5N1及びOptafluには、本剤と同じ細胞培養法で製造された抗原が含有されており、またFCC/MF59-H5N1、Aflunov及びFluadは本剤と同じくMF59が添加されたインフルエンザワクチンであることから、これらの試験結果を本剤に外挿することが可能とされている。なお、各ワクチンのウイルス培養基材及びMF59含有量については、表1を参照されたい。

(i) 薬理試験成績の概要

<提出された資料の概略>

(1) 効力を裏付ける試験

1) 免疫原性試験

① MF59 添加培養細胞由来ワクチンを用いた免疫原性試験 (466122 試験、4.2.3.2-1)

本試験は反復投与毒性試験の一部として実施された。ウサギ(雌雄各8匹/群)に対し、15µgHA及びMF59(0.25mL、申請製剤含有量の2倍)を含有するFCC/MF59-H5N1(A/Indonesia/5/2005(H5N1))が試験1、15、29日に筋肉内投与された。対照群としてリ

ン酸緩衝液 (PBS) 投与群、PBS+MF59 投与群が設定された。FCC/MF59-H5N1 投与群の全ての個体において、1 回目投与 2 週間後にはわずかな免疫応答しか認められなかったが、2 回目及び 3 回目投与 2 週間後ではベテロウイルス株 (A/Vietnam/1203/2004 (H5N1)) に対する HI 抗体価は 160 以上となった。一方、PBS 投与群又は PBS+MF59 投与群では、2 回目投与 2 週間後に抗体価が 20 であった PBS+MF59 投与群の雌 3 匹を除き、抗体価は 10 以下であった。ホモウイルス株に対する免疫原性については、試験開始後にインドネシア政府により A/Indonesia 株の使用が制限されたため、検討できなかったとされている。

② 細胞培養及び鶏卵由来抗原の免疫原性の比較 (KOE050601 試験、4.2.1.1-2)

NMRI マウス (雌 13 匹/群) に対し、Optaflu 単価バルク抗原又は Agrippal 単価バルク抗原 (A/New Caledonia/20/99 (H1N1)、A/Panama/2007/99 (H3N2)、B/Guadong/120/00) をそれぞれ 15 μ gHA、あるいは Optaflu の 3 価抗原 45 μ gHA (各株 15 μ gHA) が、試験 1、8、22 日に腹腔内投与された。2 回目投与 2 週間後 (21 日) に、全ての群でホモウイルス株に対して高い血中 HI 抗体価が認められ、抗原の製造基材の違いによる影響は認められなかった。

③ Optaflu を用いた免疫原性試験 (191-44 試験、4.2.3.2-2)

本試験は反復毒性試験の一部として実施された。ウサギ (雌雄各 6 匹/群) に対し、Optaflu (45 μ gHA : A/New Caledonia/20/99 (H1N1)、A/Panama/2007/99 (H3N2)、B/Guadong/120/00 から製造された抗原各 15 μ gHA)、対照群として Agrippal (45 μ gHA : Optaflu と同じ 3 株から製造された抗原各 15 μ gHA)、プラセボ群として PBS がそれぞれ試験 1、8 日に筋肉内投与された。Optaflu 及び Agrippal 投与群では 2 回目投与 2 週間後に A/New Caledonia/20/99 (H1N1) 株及び B/Guadong/120/00 株に対する HI 抗体価の上昇が認められたが、プラセボ群では認められなかった。一方、A/Panama/2007/99 (H3N2) 株に対し、投与前から全ての投与群で非特異的と考えられる高い HI 抗体価が認められたが、Optaflu 及び Agrippal 投与群においては 2 回目投与 2 週間後にプラセボ群よりも HI 抗体価が高い傾向が認められた。

2) 攻撃試験

① Optaflu を用いた攻撃試験 (CBI-PCS-007 試験、4.2.1.1-8)

フェレット (雄 8 匹/群) に対し、プライミング投与として A/Panama/2007/99 (H3N2) 株 5.12 HAU (hemagglutinin unit; 血球凝集を示す最大希釈倍数の逆数) が鼻腔内に投与された。プライミング投与 28 及び 49 日後に、Optaflu 又は Agrippal (45 μ gHA : A/New Caledonia/20/99 (H1N1)、A/New York/55/04 (H3N2)、B/Jiangsu/10/03 から製造された抗原各 15 μ gHA)、あるいは対照群として注射用水が 2 回筋肉内投与された。プライミング投与 56 日後、A/New Caledonia/20/99 (H1N1) 株 ($10^{5.12}$ TCID₅₀) が鼻腔内投与され、その後プライミング投与 61 日まで 5 日間観察された。プライミング投与による体重減少により、5 日目に安楽死処置が

なされた対照群の1匹を除き、全ての個体は試験終了日まで生存した。56日から61日のチャレンジ感染期間中、個体の健康状態を示すスコア（鼻水、くしゃみ、活動性の減少等）は3群間で統計学的な有意差は認められなかったが、鼻腔洗浄液中のウイルス排出量は、対照群に比べて Agrippal 投与群では有意に減少し、Optaflu 群でも低い傾向が認められた。また、A/New Caledonia/20/99 (H1N1) ウイルス感染に伴いインフルエンザ様症状は認められたものの、Optaflu 投与群及び Agrippal 投与群では対照群と比較して鼻腔中の最大リンパ球数は有意に減少した。

血中抗体価については、HI 抗体価が4倍以上増加した個体の割合は、1回目投与後に Optaflu 投与群では75%、Agrippal 投与群では63%であり、2回目投与後では両群とも100%となった。

② Aflunov を用いた攻撃試験 (NIH Mouse Study, 4.2.1.1-7)

以下の i) ~ (iii) では、A/Vietnam/1194/2004 (H5N1) 株から鶏卵を用いて製造された、MF59 無添加又は 50 μ l (申請製剤の 1/2.5 量) 添加した抗原 (Aflunov) 0.2 μ gHA あるいは対照群として PBS が、BALB/c マウスに試験 1、29 日に筋肉内投与された。

i) Experiment 1 : 免疫原性の評価

本試験には BALB/c (雌 3 匹/群) が用いられた。ホモウイルス株 (A/Vietnam/1203/2004 (H5N1)) に対する抗体価は、1回目投与 28 日後では全ての群で血清中和抗体価の上昇は認められなかった。2回目投与 14 日後では MF59 添加及び無添加群ともに血清中和抗体価が上昇し、MF59 添加群の平均抗体価は無添加群の約 16 倍であった。ヘテロウイルス株 (A/Indonesia/5/2005 (H5N1)) に対する血清中和抗体価の上昇も確認され、MF59 添加群の平均抗体価では無添加群の約 8 倍であった。2回目投与 14 日後に脾細胞を採取し、抗原刺激によるサイトカイン産生細胞数を評価したところ、MF59 添加群では無添加群に比べ、抗原特異的な CD4+T 細胞数の上昇が認められ、MF59 は、T 細胞応答も誘導することが示唆された。

ii) Experiment 2 : 攻撃試験 (生存率)

本試験には BALB/c マウス (雌 16 匹/群) が用いられた。1回目投与 46 日後に、致死量 (10^5 TCID₅₀) のホモウイルス株 (A/Vietnam/1203/2004 (H5N1)) 又はヘテロウイルス株 (A/Indonesia/5/2005 (H5N1)) がマウス (8 匹/群、対照群は 6 匹) の鼻腔内に投与 (チャレンジ感染) され、その後 11 日間の体重や生存率について評価された。なお、マウスの体重がチャレンジ感染前の 20%を超えて減少した場合は安楽死させた。対照群では、ホモウイルス株感染により感染 4 日までに全個体が安楽死させられたが、抗原投与群では MF59 添加の有無に関わらず全個体が生存し、体重減少も認められなかった。ヘテロウイルス株感染に対しては、対照群では感染 4 日までに全個体が安楽死させられたが、MF59 無添加群

では5日後に4/8匹が軽度な立毛、体重減少等の症状を示し、7日後に1/8匹が死亡したが、MF59添加群では全個体が生存し体重減少も認められなかった。

iii) Experiment3：攻撃試験（チャレンジウイルスの増殖）

本試験にはBALB/cマウス（雌16匹/群）が用いられた。Experiment2と同様にホモウイルス株又はヘテロウイルス株が投与され、チャレンジ感染2日及び4日後に、それぞれ各群4匹から脳、肺及び脾臓を摘出し、各臓器中のウイルス力価（TCID₅₀/g）が測定された。ホモウイルス株感染に対して、対照群では感染2日及び4日後に脳、肺、脾臓の全ての臓器でウイルスが検出された。MF59無添加群では、2日後に1/4匹のマウスの肺にウイルスが検出されたが力価は低く、MF59添加群では2日及び4日後ともにいずれの臓器においてもウイルスは検出限界以下であった。ヘテロウイルス株感染に対して、対照群では4日後の脳を除き、2日及び4日後の全ての臓器でウイルスが検出され、MF59無添加群では2日後に1/4匹の肺にウイルスが検出されたが力価は低く、MF59添加群では2日及び4日後にウイルスは検出されなかった。

3) MF59の作用機序

FCC H1N1 sw、FCC/MF59-H5N1及びOptafluを用いた薬物動態試験は実施されていないが、MF59の構成成分であるスクワレンの分布及び消失が検討されている。

マウスに対し、MF59と2型HSV由来の可溶性抗原gD2が同時に大腿部に筋肉内投与され、4時間後には、MF59の投与量の36%が四頭筋に、約50%が鼠径部の筋肉周囲の脂肪に検出され、筋肉内のMF59の半減期は42時間であった。流入領域リンパ節では投与2日後に最大量となり、投与量の0.1±0.3%であった。gD2は、4時間後に投与量の12%が筋肉で検出された。MF59を同時に投与してもgD2の分布に大きな影響はなかった。以上の結果から、筋肉内投与後の分布及び消失について、MF59とgD2とは独立した挙動をとることが示された。

¹²⁵Iでスクワレンを標識したMF59をウサギに筋肉内投与した結果、投与6時間後の投与部位では、投与されたスクワレンの10%、120時間後には5%まで減少していた。

その他、公表文献（*Expert Rev Vaccines*, 6: 699-710, 2007等）を引用して以下のように説明されている。抗原投与1時間前のMF59投与によってアジュバント効果が認められたが、抗原投与1時間後のMF59投与ではアジュバント効果は大幅に減少したことから、MF59のアジュバント効果は抗原との直接的な結合によらず、MF59が免疫細胞を活性化させることにより得られることが示唆されている（*Vaccine Design: The Subunit and Adjuvant Approach*, 1995）。また、MF59が*in vivo*におけるサイトカインのレベルに影響を及ぼすことから、MF59のアジュバント効果は抗原のデリバリーシステムとしての作用では説明できないことが示唆されている（*J Immunol.*, 153: 4029-4039, 1994）。

(2) 安全性薬理試験 (4.2.1.3)

FCC H1N1 sw、FCC/MF59-H5N1、Optaflu を用いた安全性薬理試験は実施されていないが、MF59 の開発過程においてイヌを用いた局所刺激性試験が 2 試験 (89-6193 試験、90-6231 試験) 実施され、その中で安全性薬理試験としての評価が行われている。

イヌ(雌雄各 2 匹/群)に対し、MF59W(媒体としてクエン酸緩衝液でなく水を使用) 0.5mL (スクワレン 21.5mg、ポリソルベート 80 2.5mg、トリオレイン酸ソルビタン 2.4mg) が試験 1、16、29 日に筋肉内投与された試験 (89-6193 試験) 及び MF59W : 媒体 (1 : 1) 溶液 0.5mL (スクワレン 10.75mg、ポリソルベート 80 1.25mg、トリオレイン酸ソルビタン 1.2mg) が試験 1、15、29 日に筋肉内投与された試験 (90-6231 試験) において、心血管及び神経系に対する影響は認められなかった。また、両試験において、呼吸機能 (1 回換気量、ヘモグロビン酸素飽和度等) は評価されていないが、呼吸器系組織の肉眼的及び病理組織学検査において異常は認められなかった。

提出されたその他の薬理試験の概略を表 7 に示す。