

- S タンパク質 S1 及び RBD に対する特異的 IgG 抗体の検討 (ELISA 法)

検討された測定時点 (本剤投与 7～28 日後) の血清中 S1 特異的 IgG 抗体及び RBD 特異的 IgG 抗体を測定した結果、用量依存的な抗原特異的抗体の産生が認められた。

- シュードウイルスを用いた中和抗体の検討 (中和法)

検討された測定時点 (本剤投与 14～28 日後) の血清中の中和抗体をシュードウイルス⁷⁾を用いて測定した結果、用量依存的な中和抗体の産生が認められた。

- IgG サブタイプの検討 (ELISA 法)

本剤投与 28 日後の血清中 IgG サブタイプ (IgG1 及び IgG2a) について検討した結果、Th2 細胞優位の免疫応答は認められなかった。

- 脾臓細胞におけるサイトカイン産生の検討 (Luminex 法及び細胞内サイトカイン染色法)⁸⁾

本剤投与 28 日後の脾臓細胞を S1 又は RBD ペプチドにより刺激した結果、IFN- γ 、TNF- α 、IL-2、IL-6、IL-18 及び GM-CSF の産生が認められた一方で、IL-4、IL-5 及び IL-13 の産生はわずかであり、Th1 細胞優位の免疫応答が示唆された。また、対照群 (緩衝液投与 28 日目の脾臓細胞) と比較して、本剤投与群における IFN- γ 、TNF- α 又は IL-2 を産生する CD4 又は CD8 陽性 T 細胞の割合は増加したが、IL-4 を産生する CD4 陽性 T 細胞の割合に有意な増加は認められなかった (IL-4 は CD4 陽性 T 細胞のみで評価された)。

3.1.3 サル攻撃試験 (CTD 4.2.1.1.4)

アカゲザル (雄 6 例/群) に、本剤を 21 日間隔で 2 回筋肉内投与したときの免疫応答、及び SARS-CoV-2 曝露後の感染防御/発症予防効果が評価された。

- S1 特異的 IgG 抗体及び中和抗体の検討 (ELISA 法及び中和法)⁹⁾

本剤 (RNA 量として 30 又は 100 μ g) 2 回目投与 35 日後における血清中 S1 特異的 IgG 抗体及び中和抗体を測定した結果、表 4 のとおり、いずれの抗体産生も認められた。

表 4 本剤 2 回目投与 35 日後の血清中 S1 特異的 IgG 抗体及び中和抗体

本剤投与量	S1 特異的 IgG 抗体 GMC [両側 95%CI] (U/mL)	中和抗体 GMT [両側 95%CI]
30 μ g	4,236 [1,380, 13,003]	285 [136, 598]
100 μ g	6,317 [3,877, 10,291]	310 [175, 549]
回復者血清 ^{a)}	631	94

a) PCR 検査により SARS-CoV-2 陽性が確認された日から 14 日後以上経過し、無症状となったドナー 38 例から採取された血清

⁷⁾ SARS-CoV-2 由来 S タンパク質遺伝子を挿入した水疱性口内炎ウイルス

⁸⁾ サイトカイン産生量は蛍光抗体法 (Luminex 法)、サイトカイン産生細胞数は細胞内サイトカイン染色法で検討された。

⁹⁾ S1 特異的 IgG 抗体は ELISA 法で、中和抗体は SARS-CoV-2 (USA-WA1/2020 株) を用いた中和法で評価された。

● 末梢血単核球におけるサイトカイン産生の検討（ELISpot 法及び細胞内サイトカイン染色法）¹⁰⁾

本剤（RNA 量として 30 又は 100 µg）を投与したサルから採取した末梢血単核球を S タンパク質ペプチドにより刺激し、サイトカイン産生量（IFN-γ 及び IL-4）及びサイトカイン産生細胞数が評価された。IFN-γ は、本剤 2 回目投与 7 日以降の末梢血単核球において高値であったが、IL-4 はいずれの時点でも低値であった。また、本剤 1 回目投与 14 日以降に IFN-γ、IL-2 又は TNF-α を産生する CD4 陽性 T 細胞数及び IFN-γ を産生する CD8 陽性 T 細胞数の増加が認められたが、IL-4 を産生する CD4 陽性 T 細胞数の増加はわずかであった。以上の結果から、申請者は、本剤を投与したサルにおいて Th1 細胞優位の免疫応答が誘導されたと説明している。

● SARS-CoV-2 曝露後の感染防御／発症予防効果の検討

本剤（RNA 量として 100 µg）又は生理食塩水を 2 回目投与 55 日後のサル（本剤群 6 例、対照群 3 例）の鼻腔及び気管内に、SARS-CoV-2（USA-WA1/2020 株、 1.05×10^6 PFU）を曝露させた後の観察及び検査結果は表 5 のとおりであった。申請者は、本剤群では対照群に比べて気道から検出されたウイルス RNA は低値であったことから、本剤投与による感染防御効果が示されたと説明している。

表 5 ウイルス曝露後の観察及び検査結果

評価項目	本剤群	対照群
ウイルス RNA（気管支肺胞洗浄液、鼻腔スワブ及び中咽頭スワブ） ^{a)}	気管支肺胞洗浄液：検出されず 鼻腔スワブ：1 日目（5/6 例）に検出 中咽頭スワブ：1 日目（3/6 例）、3 日目（2/6 例）、7 又は 8 日目（1/6 例）に検出	気管支肺胞洗浄液：3 日目（2/3 例）、6 日目（1/3 例）に検出 鼻腔スワブ：1 日目（2/3 例）、3 日目（2/3 例）、6 日目（1/3 例）に検出 中咽頭スワブ：1 日目（3/3 例）、3 日目（3/3 例）、10 日目（1/3 例）に検出
臨床徴候 ^{b)}	異常なし	異常なし
胸部 X 線及び CT 検査 ^{c)}	正常又は軽度な肺の異常所見 ^{d)}	軽度から中等度の肺の異常所見 ^{d)}
肉眼的観察 ^{e)}	異常なし	異常なし
病理組織学的検査	肺に炎症性細胞浸潤 ^{f)}	肺に炎症性細胞浸潤

a) 気管支肺胞洗浄液採取日：ウイルス曝露後 3 及び 6 日目、並びに 7 又は 8 日目（7 又は 8 日目は本剤群のみ）、鼻腔スワブ及び中咽頭スワブ採取日：ウイルス曝露後 1、3 及び 6 日目、並びに本剤群は 7 又は 8 日目、対照群は 10 日目

b) 体重、体温、SpO₂ 及び心拍数、観察日：ウイルス曝露後 1、3 及び 6 日目、並びに本剤群は 7 又は 8 日目、対照群は 10 日目

c) 検査日：ウイルス曝露後 1、3 及び 6 日目、並びに本剤群は 7 又は 8 日目、対照群は 10 日目

d) 対照群ではウイルス曝露後 3 日目をピークに、軽度から中等度の間質影、軟部組織の多発性結節陰影、横隔膜面に沿った限局性肺胞疾患が認められたが、本剤群ではこれらの所見は軽度又は認められなかった。

e) 剖検日：ウイルス曝露後 7 又は 8 日目

f) 本剤群では、対照群と比べて肺における炎症面積が低下する傾向が認められ、炎症部位における好酸球浸潤もわずかであった。

3.2 安全性薬理試験

本剤を用いた安全性薬理試験は実施されていないが、本剤の安全性薬理は、ラット反復筋肉内投与毒性試験（CTD 4.2.3.2.2）における一般状態観察等から評価され、申請者は、本剤投与による心血管系、呼吸器系、中枢神経系等の生理機能への影響は認められていないと説明している。

¹⁰⁾ IFN-γ 及び IL-4 産生は ELISpot 法で、サイトカイン産生細胞数は細胞内サイトカイン染色法で評価された。

3.R 機構における審査の概略

提出された資料及び以下の検討より、機構は、本剤の非臨床薬理に特段の問題はないと判断した。

3.R.1 本剤の作用機序について

機構は、本剤の作用機序について申請者に説明を求め、申請者は以下のように説明した。

本剤の *in vitro* の検討で、産生された S タンパク質の宿主細胞での発現（3.1.1 参照）、マウス及びサルでの検討で、中和抗体の産生、Th1 細胞優位の免疫応答及び IFN- γ を産生する CD8 陽性 T 細胞の増加（3.1.2 及び 3.1.3 参照）、並びにサルでの検討で、SARS-CoV-2 曝露に対する一定の感染防御効果が確認された（3.1.3 参照）。

本剤は SARS-CoV-2 の全長 S タンパク質をコードする mRNA を有効成分として含有しており、これにより中和抗体の標的である S タンパク質が宿主細胞内で産生される。産生された S タンパク質により液性免疫及び細胞性免疫が惹起されることで、SARS-CoV-2 による感染症の予防効果が期待できると考えられる。

機構は、本剤の作用機序に関する申請者の説明を了承した。

3.R.2 変異株に対する中和作用について

本剤の開発が開始されてから現在までに様々な SARS-CoV-2 変異株が報告されていることを踏まえ、機構は、これらの変異株に対する本剤の中和作用について説明を求めた。

申請者は以下のように説明した。

COVID-19 の流行は、当初 SARS-CoV-2 の S タンパク質が D614（614 番目のアミノ酸がアスパラギン酸）であるウイルスが主流であり、本剤に用いられている mRNA 配列も D614 をコードする。一方、2020 年 2 月頃より D614G（614 番目のアスパラギン酸がグリシンに置換）であるウイルスが増加し、同年 11 月時点において D614G が世界的に最も累積頻度（89.0%）の高い変異とされている¹¹⁾。また、同年 12 月には、S タンパク質に複数変異を有し、感染性がより高いとされる変異株が、英国（VOC-202012/01¹²⁾）及び南アフリカ（501Y.V2¹³⁾）で報告されている。

本剤の被接種者より得られた血清の変異株に対する中和作用を確認するために、Wuhan-Hu-1 株の S タンパク質（本剤の mRNA がコードする SARS-CoV-2 の S タンパク質と同じ配列を有する）にアミノ酸変異を加えた 19 種類の S タンパク質遺伝子を用いてシュードウイルスを作製し、本剤の被接種者より得られた血清を用いて各シュードウイルスに対する中和活性を測定した（図 1）。

¹¹⁾ SARS-CoV-2 臨床分離株のアミノ酸配列情報を有するデータベース（Global Initiative on Sharing All Influenza Data）において、2020 年 11 月 24 日までに世界的に収集された 208,147 株のアミノ酸配列情報を解析した結果を利用した。なお、D614G に次いで累積頻度が高かった変異は、A222V（14.0%）、L18F（6.7%）、S477N（6.4%）、L5F（1.2%）等であった。また、同データベースを利用した国内臨床分離株（913 株）の解析では、D614G（63.3%）、M153T（6.1%）、S12F（1.4%）、Q613H（1.2%）等であった。

¹²⁾ 69-70 番目及び 144 番目のアミノ酸が欠損、N501Y、A570D、D614G、P681H、T716I、S982A 及び D1118H

¹³⁾ L18F、D80A、D215G、L242H、R246I、E484K、K417N、N501Y、D614G、A701V 及び H227V

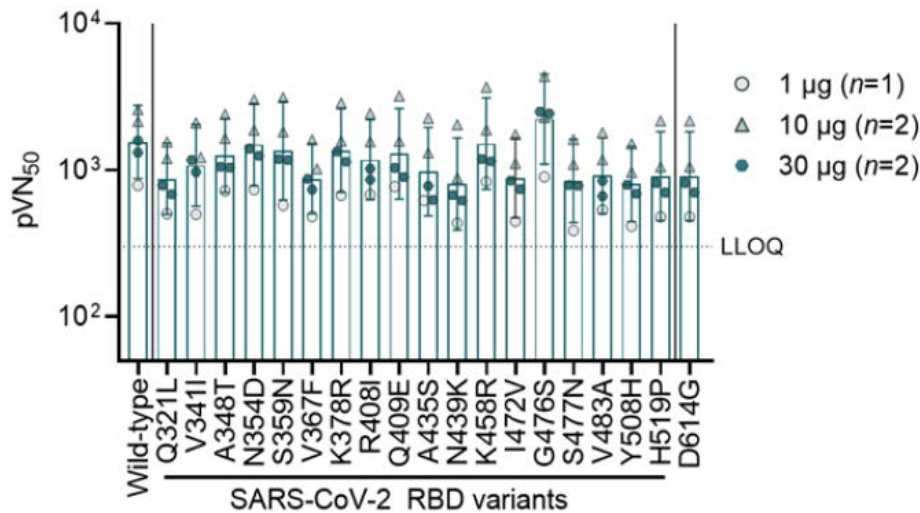


図1 本剤被接種者血清を用いた変異Sタンパク質を発現するシュードウイルス中和試験

Wild-type (Wuhan-Hu-1 株) のSタンパク質遺伝子、及びアミノ酸変異を加えた19種類のSタンパク質遺伝子をそれぞれ挿入したシュードウイルス（水痘性口内炎ウイルス）に対する、本剤被接種者（5例）の血清におけるpVN₅₀（シュードウイルス感染細胞が50%低下したときの中和抗体価）を示す（定量下限値（LLOQ）は300）。

その結果、検討したすべてのシュードウイルスに対する中和作用が確認された。また、英国及び南アフリカで報告された変異株に共通するN501Yのアミノ酸変異を有するSタンパク質遺伝子、K417N、E484K及びN501Yの複数の変異を同時に持つSタンパク質遺伝子、英国で報告された変異株と同じ変異を有するSタンパク質遺伝子を挿入したシュードウイルスに対しても、本剤の被接種者より得られた血清で一定の中和作用が確認されたことから（<https://doi.org/10.1101/2021.01.07.425740>、<https://doi.org/10.1101/2021.01.15.426911>、<https://doi.org/10.1101/2021.01.18.426984>（最終確認日：2021年1月27日））、本剤は種々のSタンパク質変異ウイルスに対して一定の有効性を示すことが期待できると考える。ただし、現在流行しているSARS-CoV-2の一部には、中和作用を有するモノクローナル抗体の反応性が低い変異が報告されていること（Cell 2020; 182: 1284-94）、今後も新たな変異株が出現する可能性があることも考慮すると、変異株に対する本剤の評価は現時点で網羅されているわけではなく、変異株に対する本剤の中和作用については、製造販売後に引き続き情報収集する予定である。

機構は、以下のように考える。

現在の主流のウイルスで認められるD614G及び各種の変異を有するSタンパク質遺伝子を挿入した様々なシュードウイルスに対して、本剤の被接種者より得られた血清の中和作用が確認されていること等の研究結果を踏まえると、2021年1月27日時点で流行している種々の変異株に対して本剤の一定の有効性は期待できると考える。しかしながら、SARS-CoV-2のRNAウイルスとしての生物学的特性や、COVID-19回復者血清の反応性が低い変異株が報告されていること（<https://doi.org/10.1101/2021.01.18.427166>（最終確認日：2021年1月27日））等も考慮すると、今後の流行において、本剤による免疫応答を回避する変異株が出現する可能性もあり、各変異株に対する本剤の中和作用については、製造販売後も引き続き情報収集し、新たな知見が得られた場合には必要に応じて情報提供する等、適切に対応する必要がある。

3.R.3 疾患増強リスクについて

機構は、本剤接種による免疫応答により、SARS-CoV-2 感染時の症状がワクチン非接種時よりも増強するリスク（疾患増強リスク）について、申請者に説明を求め、申請者は以下のように説明した。

SARS-CoV-2 ワクチン接種による疾患増強リスクの有無は現時点で不明であるが、SARS-CoV-2 に類似する SARS-CoV では動物試験においてワクチン接種による疾患増強リスクが報告されており、Th2 型細胞優位の免疫応答が関連することが示唆されている（PLoS ONE 2012; 7: e35421）。したがって、SARS-CoV ワクチンと同様の Th2 型細胞優位の免疫応答による疾患増強を想定すると、SARS-CoV-2 ワクチン接種により Th1 型細胞優位の免疫応答が惹起されれば、SARS-CoV-2 感染時の疾患増強リスクは低くなると考えられている（Vaccine 2020; 38: 4783-91）。

本剤の免疫応答を評価した非臨床薬理試験では、本剤投与によりマウス及びサルで Th1 型細胞優位の免疫応答が惹起された（3.1.2 及び 3.1.3 参照）。また、サル攻撃試験では、本剤接種後 SARS-CoV-2 を曝露しても、気管支、肺胞、鼻腔及び中咽頭においてウイルス RNA 量の速やかな低下が認められ、本剤非接種の対照群と比較して、胸部 X 線及び CT 画像診断による肺の異常所見の程度は軽度であった。さらに、肺の病理組織学的検査でも Th2 型細胞優位の免疫応答を示唆する好酸球浸潤を伴う炎症性所見の増悪は認められなかった。

加えて、ヒトでの本剤接種によるサイトカイン産生の評価を行った。海外第 I 相試験（BNT162-01 試験、CTD 5.3.5.1.2）では、本剤接種後の被験者から得られた末梢血単核細胞を S タンパク質のペプチドで刺激したところ、CD8 陽性 T 細胞では INF- γ の増加が、また CD4 陽性 T 細胞では INF- γ 及び IL-2 の増加が確認されたが、IL-4 の増加はほとんど確認されず、Th1 型細胞優位の免疫応答が認められた。

以上を踏まえると、本剤接種による疾患増強リスクは低いと考える。

機構は、薬理の観点からの申請者の説明を了承するが、ヒトでの疾患増強リスクについては 7.R.3.6 で引き続き検討する。

4. 非臨床薬物動態試験に関する資料及び機構における審査の概略

本剤又は本薬を用いた非臨床薬物動態試験は実施されていない。

本剤に含有される LNP 又はその構成脂質である ALC-0159 及び ALC-0315 を用いた非臨床薬物動態試験として、吸収、分布、代謝及び排泄に関する試験の成績が提出された。

ラットの血漿、肝臓、尿及び糞中における ALC-0159 及び ALC-0315 の濃度は LC-MS/MS 法（定量下限：血漿及び尿：4.88 ng/mL，糞：6.592 ng/mL，肝臓：19.53 ng/g）により測定された。マウスの生体内におけるルシフェラーゼ遺伝子発現量は *in vivo* イメージングシステムにより測定された。LNP を ^3H で標識したルシフェラーゼ遺伝子発現 mRNA-LNP をラットに投与したときの生体試料中の放射能濃度は液体シンチレーション計数法により測定された。*in vivo* イメージングシステム及び液体シンチレーション計数法の定量下限は評価されていない。

なお、特に記載のない限り、PK パラメータは平均値で示している。